



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201247694 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：101113292

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 13 日

(51)Int. Cl.：

C07H19/10 (2006.01)

C07H19/11 (2006.01)

C07H19/207 (2006.01)

C07H19/213 (2006.01)

A61K31/7068 (2006.01)

A61K31/7072 (2006.01)

A61K31/7076 (2006.01)

A61K31/708 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2011/04/13 美國

61/475,071

(71)申請人：默沙東公司 (美國) MERCK SHARP & DOHME CORP. (US)

美國

(72)發明人：吉拉賈沃伯翰 維納 GIRIJAVALLABHAN, VINAY (US)；尼喬洛吉 F 喬治 NJOROGÉ, F. GEORGE (US)；柏根 史蒂芬 BOGEN, STEPHANE (US)；克拉克 斯 安琪拉 KEREKES, ANGELA (US)；伯納特 法蘭克 BENNETT, FRANK (GB)；黃瑩 HUANG, YING (US)；奈爾 拉薩 NAIR, LATHA (US)；皮薩尼斯基 德密特 PISSARNITSKI, DMITRI (US)；沃瑪 維斯爾 VERMA, VISHAL (US)；單權 DANG, QUN (US)；丹維斯 伊恩 DAVIES, IAN (GB)；歐森 大衛 B OLSEN, DAVID B. (US)；史丹佛 安德魯 STAMFORD, ANDREW (AU)；瓦卡 喬瑟夫 P VACCA, JOSEPH P. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：24 項 圖式數：0 共 191 頁

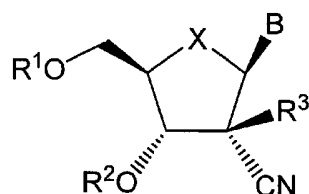
(54)名稱

2'-氰基經取代核苷衍生物及其用於治療病毒性疾病之方法

2'-CYANO SUBSTITUTED NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND METHODS OF USE THEREOF FOR THE TREATMENT OF VIRAL DISEASES

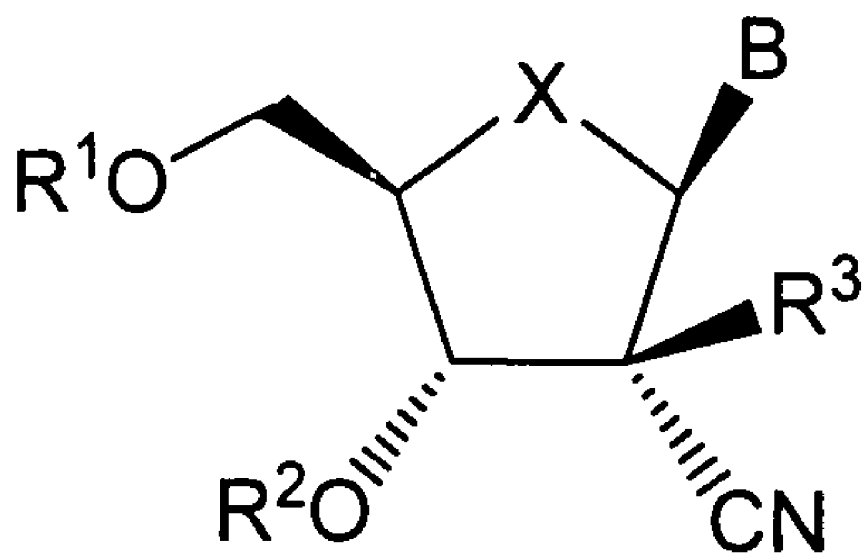
(57)摘要

本發明係關於式(I)之 2'-氰基取代之核苷衍生物：



(I)

及其醫藥學上可接受之鹽，其中 B、X、R¹、R² 及 R³ 如本文所定義。本發明亦關於包含至少一種 2'-氰基取代之核苷衍生物之組合物，及使用該等 2'-氰基取代之核苷衍生物於治療或預防患者之 HCV 感染的方法。



(I)



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201247694 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：101113292

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 04 月 13 日

(51)Int. Cl.：

C07H19/10 (2006.01)

C07H19/11 (2006.01)

C07H19/207 (2006.01)

C07H19/213 (2006.01)

A61K31/7068 (2006.01)

A61K31/7072 (2006.01)

A61K31/7076 (2006.01)

A61K31/708 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2011/04/13 美國

61/475,071

(71)申請人：默沙東公司 (美國) MERCK SHARP & DOHME CORP. (US)

美國

(72)發明人：吉拉賈沃伯翰 維納 GIRIJAVALLABHAN, VINAY (US)；尼喬洛吉 F 喬治 NJOROGÉ, F. GEORGE (US)；柏根 史蒂芬 BOGEN, STEPHANE (US)；克拉克 斯 安琪拉 KERÉKES, ANGELA (US)；伯納特 法蘭克 BENNETT, FRANK (GB)；黃瑩 HUANG, YING (US)；奈爾 拉薩 NAIR, LATHA (US)；皮薩尼斯基 德密特 PISSARNITSKI, DMITRI (US)；沃瑪 維斯爾 VERMA, VISHAL (US)；單權 DANG, QUN (US)；丹維斯 伊恩 DAVIES, IAN (GB)；歐森 大衛 B OLSEN, DAVID B. (US)；史丹佛 安德魯 STAMFORD, ANDREW (AU)；瓦卡 喬瑟夫 P VACCA, JOSEPH P. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：24 項 圖式數：0 共 191 頁

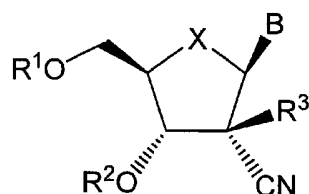
(54)名稱

2'-氟基經取代核苷衍生物及其用於治療病毒性疾病之方法

2'-CYANO SUBSTITUTED NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND METHODS OF USE THEREOF FOR THE TREATMENT OF VIRAL DISEASES

(57)摘要

本發明係關於式(I)之 2'-氟基取代之核苷衍生物：



(I)

及其醫藥學上可接受之鹽，其中 B、X、R¹、R² 及 R³ 如本文所定義。本發明亦關於包含至少一種 2'-氟基取代之核苷衍生物之組合物，及使用該等 2'-氟基取代之核苷衍生物於治療或預防患者之 HCV 感染的方法。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種2'-氟基取代之核苷衍生物、包含至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物之組合物及2'-氟基取代之核苷衍生物用於治療或預防患者之HCV感染之方法。

【先前技術】

C型肝炎病毒(HCV)感染為導致大量感染個體(估計為世界人口之2-15%)產生慢性肝病(諸如肝硬化及肝細胞癌)的嚴重健康問題。根據美國疾病控制中心(U.S. Center for Disease Control)，僅美國即有估計450萬人受感染。根據世界衛生組織(World Health Organization)，全球範圍內有超過2億感染個體，其中每年至少300至400萬人感染。一旦感染，約20%人可清除病毒，但其餘人在其餘生均帶有HCV。10%至20%慢性感染個體最終產生肝破壞性肝硬化或癌症。該病毒性疾病藉由受污染之血液及血液產品、受污染之針非經腸傳播，或藉由性接觸傳播，以及由受感染母體或母體攜帶者垂直傳播至其後代。HCV感染之當前療法(其僅限於用重組干擾素- α 單獨或與核苷類似物病毒唑(ribavirin)組合進行免疫療法)具有有限臨床效益。此外，尚未製備出HCV疫苗。因此，急需有效對抗慢性HCV感染之改良治療劑。已評述治療HCV感染之目前先進技術，且參考以下出版物：B. Dymock等人，「Novel approaches to the treatment of hepatitis C virus infection」，*Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, 11:79-96 (2000)；H. Rosen等

人，「Hepatitis C virus: current understanding and prospects for future therapies」, *Molecular Medicine Today*, 5:393-399 (1999)；D. Moradpour等人，「Current and evolving therapies for hepatitis C」, *European J. Gastroenterol. Hepatol.*, 11:1189-1202 (1999)；R. Bartenschlager，「Candidate Targets for Hepatitis C Virus-Specific Antiviral Therapy」, *Intervirology*, 40:378-393 (1997)；G.M. Lauer及B.D. Walker，「Hepatitis C Virus Infection」, *N. Engl. J. Med.*, 345:41-52 (2001)；B.W. Dymock，「Emerging therapies for hepatitis C virus infection」, *Emerging Drugs*, 6:13-42 (2001)；及C. Crabb，「Hard-Won Advances Spark Excitement about Hepatitis C」, *Science*, 06-507 (2001)；其全部內容以全文引用的方式併入本文中。

已採取HCV療法之不同方法，其包括抑制病毒絲胺酸蛋白酶(NS3蛋白酶)、解螺旋酶及RNA依賴性RNA聚合酶(NS5B)及疫苗開發。

HCV病毒粒子為包膜正股RNA病毒，其具有編碼具有約3,010個胺基酸之聚合蛋白質的具有約9600個鹼基的單個寡核糖核苷酸基因組序列。HCV基因之蛋白質產物由結構蛋白C、E1及E2以及非結構蛋白NS2、NS3、NS4A及NS4B及NS5A及NS5B組成。咸信非結構(NS)蛋白提供病毒複製之催化機構。NS3蛋白酶自聚合蛋白質鏈釋放NS5B(RNA依賴性RNA聚合酶)。HCV NS5B聚合酶為自充當HCV複製

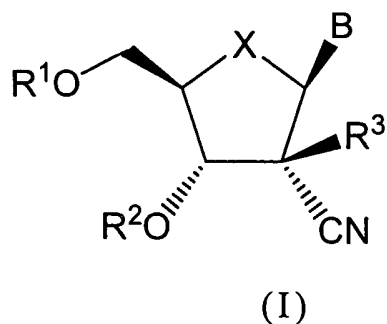
週期中之模板的單股病毒RNA合成雙股RNA所需。因此，認為NS5B聚合酶為HCV複製複合物中之基本組分[參見K. Ishi等人，「Expression of Hepatitis C Virus NS5B Protein: Characterization of Its RNA Polymerase Activity and RNA Binding」，*Hepatology*, **29**:1227-1235 (1999)及V. Lohmann等人，「Biochemical and Kinetic Analyses of NS5B RNA-Dependent RNA Polymerase of the Hepatitis C Virus」，*Virology*, **249**:108-118 (1998)]。抑制HCV NS5B聚合酶可阻止雙股HCV RNA形成，因此構成開發HCV特異性抗病毒療法的具吸引力之方法。

開發具有治療HCV感染之潛力的HCV NS5B聚合酶抑制劑評述於M.P. Walker等人，「Promising candidates for the treatment of chronic hepatitis C」，*Expert Opin. Invest. Drugs*, **12**:1269-1280 (2003)及P. Hoffmann等人，「Recent patents on experimental therapy for hepatitis C virus infection (1999-2002)」，*Expert Opin. Ther. Patents*, **13**:1707-1723 (2003)中。針對HCV聚合酶之嘌呤核糖核苷的活性由A.E. Eldrup等人，「Structure-Activity Relationship of Purine Ribonucleosides for Inhibition of HCV RNA-Dependent RNA Polymerase」，*J. Med. Chem.*, **47**:2283-2295 (2004)報導。

仍需要結構不同之作為HCV聚合酶抑制劑之核苷衍生物作為HCV療法之治療方法。本發明響應於此需要。

【發明內容】

在一個態樣中，本發明提供式(I)化合物：

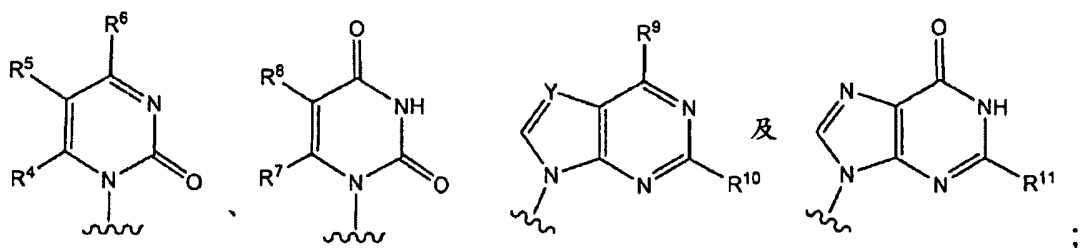


及其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

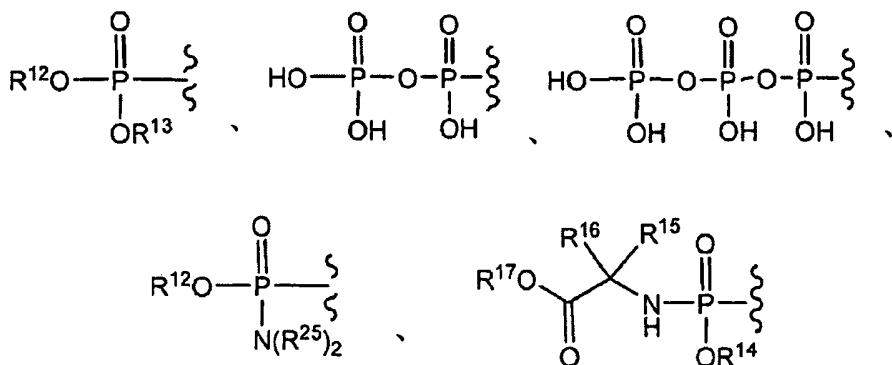
X為O、S或CH₂；

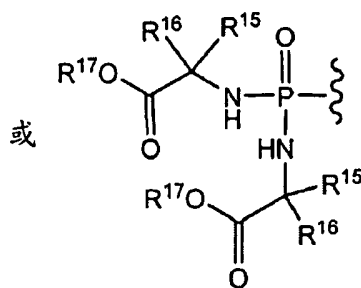
B為天然或非天然嘌呤或嘧啶鹼基，或B選自如下基團之一：



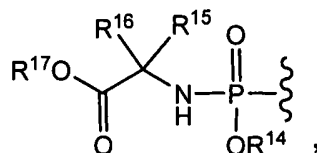
Y為N或-C(R¹⁹)-；

R¹為H、

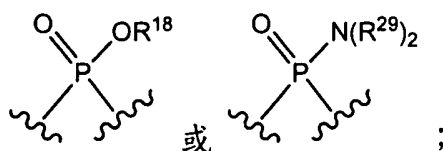




R^2 為 H 或



或 R^1 與 R^2 接合形成具有下式之基團：



R^3 為 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或 C_3 - C_7 環烷基；

R^4 、 R^5 、 R^7 及 R^8 各獨立地為 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 或 $-N(R^{20})_2$ ；

R^6 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 各獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_7 環烷基、5 或 6 員單環雜芳基、9 或 10 員雙環雜芳基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 $-S(O)R^{20}$ 、 $-S(O)_2R^{20}$ 、 $-S(O)_2N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)OR^{20}$ 、 $-NHC(O)N(R^{20})_2$ 、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6 \text{ 鹵烷基})$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-NH(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})$ -(5 或 6 員單環雜芳基)、 $-NH(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})$ -(9 或 10 員雙環雜芳基)、 $-C(O)R^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ，其中該 C_2 - C_6 烯基及該 C_2 - C_6

炔基可視情況經鹵基取代；

R^{12} 為 H 或 $-(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})-T-R^{21}$ ；

R^{13} 為 H 或 $-(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})-T-R^{21}$ ，或 R^{12} 與 R^{13} 可接合而在 R^{12} 及 R^{13} 所連接之氧原子之間形成 C_2-C_4 伸烷基，其中該 C_2-C_4 伸烷基經至少一個 C_6-C_{10} 芳基取代；

R^{14} 為 H、 C_6-C_{10} 芳基、5 或 6 員單環雜芳基或 9 或 10 員雙環雜芳基，其中該 C_6-C_{10} 芳基、該 5 或 6 員單環雜芳基及該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經 R^{22} 取代；

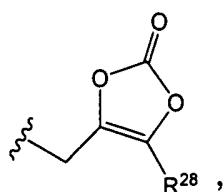
R^{15} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基、苯基或苯甲基，其中該 C_1-C_6 烷基可視情況經選自鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、胍基、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)R^{20}$ 、5 或 6 員單環雜芳基及 9 或 10 員雙環雜芳基之基團取代，且其中該苯基及該苯甲基可視情況經至多 2 個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、鹵基及 $-OR^{20}$ ；

R^{16} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基、苯基或苯甲基，其中該 C_1-C_6 烷基可視情況經選自鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、胍基、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)R^{20}$ 、5 或 6 員單環雜芳基及 9 或 10 員雙環雜芳基之基團取代，且其中該苯基及該苯甲基可視情況經至多 2 個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、鹵基及 $-OR^{20}$ ；

R^{17} 為 H、 C_1-C_{20} 烷基、 C_2-C_{20} 烯基、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_3-C_7 \text{ 環烷基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_6-C_{10} \text{ 芳基})$ 或金剛烷基，其中該 C_1-C_{20} 烷基、該 C_2-C_{20} 烯基、該 C_6-C_{10} 芳基及該金剛烷基可視情況經至多三個基團取代，該等基團各獨立地

選自鹵基、 $-\text{OR}^{20}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{20}$ 、 CN 、 NO_2 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 鹵烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 羥基烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 環烷基、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、5或6員單環雜芳基、9或10員雙環雜芳基、 $-\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 、 $-\text{SR}^{20}$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{R}^{20}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{20}$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{20}$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})\text{OR}^{20}$ 及 $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{20})_2$ ；及

R^{18} 為 H 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 環烷基、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m$ 、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、5或6員單環雜芳基、9或10員雙環雜芳基或：



其中該 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、該5或6員單環雜芳基及該9或10員雙環雜芳基可視情況經至多五個基團取代，該等基團各獨立地選自 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基、鹵基、 $-\text{OR}^{20}$ 、 $-\text{SR}^{20}$ 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 鹵烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 羥基烷基、 $-\text{O}-(\text{C}_1\text{-C}_6\text{鹵烷基})$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{20}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 及 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{20}$ ；

R^{19} 為 H 、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 鹵烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 羥基烷基、鹵基、 $-\text{OR}^{20}$ 、 $-\text{SR}^{20}$ 、 $\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 、 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 環烷基、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、5或6員單環雜芳基或9或10員雙環雜芳基；

R^{20} 在每次出現時獨立地為 H 、 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 鹵烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 羥基烷基、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m$ 、 $-(\text{C}_3\text{-C}_7\text{環烷基})$ 、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m$ 、 $-(\text{C}_6\text{-C}_{10}\text{芳基})$ 、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m$ 、 $-(4\text{至}7\text{員雜環烷基})$ 、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m$ 、 $-(5\text{或}6\text{員單環雜芳基})$ 或 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m$ 、 $-(9\text{或}10\text{員雙環雜芳基})$ ，其中該 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 環烷基、該 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、該4至7員雜環烷基、該5或6員單環雜芳基或該9或

10員雙環雜芳基可視情況經 R^{26} 取代；

R^{21} 在每次出現時獨立地為H、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_7 環烷基、 C_3-C_7 環烯基、5或6員單環雜芳基、9或10員雙環雜芳基、 $-OR^{20}$ 、 $-O-(C_1-C_6\text{鹵烷基})$ 或 $-N(R^{20})_2$ ，其中該 C_2-C_6 烯基、該 C_2-C_6 炔基、該 C_3-C_7 環烷基、該 C_3-C_7 環烯基、該 C_6-C_{10} 芳基、該5或6員單環雜芳基及該9或10員雙環雜芳基可視情況經至多五個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6\text{鹵烷基})$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)R^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ；

R^{22} 表示一至五個取代基，各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6\text{鹵烷基})$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ，或相鄰環碳原子上之任何兩個 R^{22} 基團可組合形成 $-O-R^{23}-O-$ ；

R^{23} 為 $-[C(R^{24})_2]_n-$ ；

R^{24} 在每次出現時獨立地為H或 C_1-C_6 烷基；

R^{25} 在每次出現時獨立地為H、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_7 環烷基、 $-(C_1-C_3\text{伸烷基})_m-(C_6-C_{10}\text{芳基})$ 、4至7員雜環烷基、5或6員單環雜芳基或9或10員雙環雜芳基，其中該 C_1-C_6 烷基、該 C_2-C_6 烯基、該 C_2-C_6 炔基、該 C_3-C_7 環烷基、該 C_6-C_{10} 芳基、該4至7員雜環烷基、該5

或6員單環雜芳基或該9或10員雙環雜芳基可視情況經 R^{26} 取代；或兩個 R^{25} 基團與其所連接之共同氮原子一起接合形成4至7員雜環烷基；

R^{26} 表示一至五個取代基，各獨立地選自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{27}$ 、 SR^{27} 、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{27})_2$ 、 $-C(O)OR^{27}$ 、 $-C(O)N(R^{27})_2$ 及 $-NHC(O)R^{27}$ ；

R^{27} 在每次出現時獨立地為H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(C_3-C_7 環烷基)、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(C_6-C_{10} 芳基)、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(4至7員雜環烷基)、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(5或6員單環雜芳基)或 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(9或10員雙環雜芳基)；

R^{28} 為H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_7 環烷基、 C_3 - C_7 環烯基、5或6員單環雜芳基、9或10員雙環雜芳基、 $-OR^{20}$ 、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)或 $-N(R^{20})_2$ ，其中該 C_2 - C_6 烯基、該 C_2 - C_6 炔基、該 C_3 - C_7 環烷基、該 C_3 - C_7 環烯基、該 C_6 - C_{10} 芳基、該5或6員單環雜芳基及該9或10員雙環雜芳基可視情況經至多五個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)R^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ；

R^{29} 在每次出現時獨立地為H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(C_3-C_7 環烷基)、

$-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_6-C_{10} \text{ 芳基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(4 \text{ 至 } 7 \text{ 員雜環烷基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(5 \text{ 或 } 6 \text{ 員單環雜芳基})$ 或 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(9 \text{ 或 } 10 \text{ 員雙環雜芳基})$ ，其中該 C_3-C_7 環烷基、該 C_6-C_{10} 芳基、該 4 至 7 員雜環烷基、該 5 或 6 員單環雜芳基或該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經 R^{26} 取代；

T 在每次出現時獨立地為 $-S-$ 、 $-O-$ 、 $-SC(O)-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-OC(O)-$ 及 $-OC(S)-$ ；

m 在每次出現時獨立地為 0 或 1；及

n 在每次出現時獨立地為 1 或 2。

式 (I) 化合物 (在本文中亦稱作「2'-氟基取代之核苷衍生物」) 及其醫藥學上可接受之鹽可用於例如在患者中抑制 HCV 病毒複製或複製子活性且用於治療或預防 HCV 感染。在不受任何特定理論限制之情況下，咸信 2'-氟基取代之核苷衍生物藉由抑制 HCV NS5B 而抑制 HCV 病毒複製。

因此，本發明提供治療或預防患者之 HCV 感染的方法，其包含投與患者有效量之至少一種 2'-氟基取代之核苷衍生物。

本發明之詳情闡述於如下隨附【實施方式】中。

儘管任何類似於本文所述之方法及材料可用於本發明之實踐或測試，但現在描述說明性方法及材料。本發明之其他實施例、態樣及特徵進一步描述於後續描述、實例及隨附申請專利範圍中或由此而顯而易見。

【實施方式】

本發明係關於一種 2'-氟基取代之核苷衍生物、包含至少

一種2'-氰基取代之核苷衍生物之組合物及2'-氰基取代之核苷衍生物用於治療或預防患者之HCV感染之方法。

定義及縮寫

本文所用術語具有其一般含義且該等術語之含義在其每次出現時係獨立的。儘管如此且除非另外說明，否則以下定義適用於整篇說明書及申請專利範圍。化學名稱、通用名稱及化學結構可互換使用來描述同一結構。若使用化學結構與化學名稱提及化合物且結構與名稱之間存在分歧，則以結構為準。除非另外指明，否則此等定義均適用，無論術語單獨使用抑或與其他術語組合使用。因此，「烷基」之定義適用於「烷基」以及「羥基烷基」、「鹵烷基」、「-O-烷基」等之「烷基」部分。

除非另外指明，否則如本文及本發明通篇使用之以下術語應理解為具有以下含義：

「患者」為人類或非人類哺乳動物。在一個實施例中，患者為人類。在另一實施例中，患者為黑猩猩(chimpanzee)。

如本文所用之術語「有效量」係指2'-氰基取代之核苷衍生物及/或另一治療劑或其組合物在投與至罹患病毒感染或病毒相關病症之患者時有效產生所要治療性、改善性、抑制性或預防性作用之量。在本發明之組合療法中，有效量可指各個別藥劑或整個組合，其中所投與之所有藥劑之量一起有效，但其中組合之各組分藥劑可能不個別地以有效量存在。

如本文關於HCV病毒感染或HCV病毒相關病症所用之術語「預防」係指降低HCV感染之可能性或嚴重性。

如本文所用之術語「烷基」係指氫原子之一經一鍵置換之脂族烴基。烷基可為直鏈或分支鏈且含有約1至約20個碳原子。在一個實施例中，烷基含有約1至約12個碳原子。在不同實施例中，烷基含有1至6個碳原子(C₁-C₆烷基)或約1至約4個碳原子(C₁-C₄烷基)。烷基之非限制性實例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、第二丁基、異丁基、第三丁基、正戊基、新戊基、異戊基、正己基、異己基及新己基。烷基可未經取代或經一或多個可相同或不同之取代基取代，各取代基獨立地選自由以下組成之群：鹵基、烯基、炔基、芳基、環烷基、氰基、羥基、-O-烷基、-O-芳基、-伸烷基-O-烷基、烷基硫基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(環烷基)、-O-C(O)-烷基、-O-C(O)-芳基、-O-C(O)-環烷基、-C(O)OH及-C(O)O-烷基。在一個實施例中，烷基為直鏈烷基。在另一實施例中，烷基為分支鏈烷基。除非另外指明，否則烷基未經取代。

如本文所用之術語「烯基」係指含有至少一個碳碳雙鍵且氫原子之一經一鍵置換的脂族烴基。烯基可為直鏈或分支鏈且含有約2至約15個碳原子。在一個實施例中，烯基含有約2至約12個碳原子。在另一實施例中，烯基含有約2至約6個碳原子。烯基之非限制性實例包括乙烯基、丙烯基、正丁烯基、3-甲基丁-2-烯基、正戊烯基、辛烯基及癸烯基。烯基可未經取代或經一或多個可相同或不同之取代

基取代，各取代基獨立地選自由以下組成之群：鹵基、烯基、炔基、芳基、環烷基、氰基、羥基、-O-烷基、-O-芳基、-伸烷基-O-烷基、烷基硫基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(環烷基)、-O-C(O)-烷基、-O-C(O)-芳基、-O-C(O)-環烷基、-C(O)OH及-C(O)O-烷基。術語「C₂-C₆烯基」係指具有2至6個碳原子之烯基。除非另外指明，否則烯基未經取代。

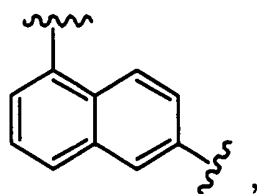
本文所用之術語「炔基」係指含有至少一個碳-碳參鍵且氫原子之一經一鍵置換的脂族烴基。炔基可為直鏈或分支鏈且含有約2至約15個碳原子。在一個實施例中，炔基含有約2至約12個碳原子。在另一實施例中，炔基含有約2至約6個碳原子。炔基之非限制性實例包括乙炔基、丙炔基、2-丁炔基及3-甲基丁炔基。炔基可未經取代或經一或多個可相同或不同之取代基取代，各取代基獨立地選自由以下組成之群：鹵基、烯基、炔基、芳基、環烷基、氰基、羥基、-O-烷基、-O-芳基、-伸烷基-O-烷基、烷基硫基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(環烷基)、-O-C(O)-烷基、-O-C(O)-芳基、-O-C(O)-環烷基、-C(O)OH及-C(O)O-烷基。術語「C₂-C₆炔基」係指具有2至6個碳原子之炔基。除非另外指明，否則炔基未經取代。

本文所用之術語「伸烷基」係指如上文所定義之烷基中烷基之氫原子之一經一鍵置換。伸烷基之非限制性實例包括-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂CH₂-、-CH(CH₃)CH₂CH₂-、-CH(CH₃)-及-CH₂CH(CH₃)CH₂-。在一

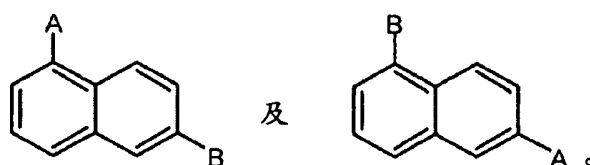
個實施例中，伸烷基具有1至約6個碳原子。在另一實施例中，伸烷基為分支鏈伸烷基。在另一實施例中，伸烷基為直鏈伸烷基。在一個實施例中，伸烷基為 $-\text{CH}_2-$ 。術語「 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 伸烷基」係指具有1至6個碳原子之伸烷基。

本文所用之術語「芳基」係指包含約6至約14個碳原子之芳族單環或多環系統。在一個實施例中，芳基含有約6至約10個碳原子。芳基可視情況經一或多個可相同或不同且如下文所定義之「環系統取代基」取代。在一個實施例中，芳基可視情況與環烷基或環烷鹽基稠合。芳基之非限制性實例包括苯基及萘基。在一個實施例中，芳基為苯基。除非另外指明，否則芳基未經取代。

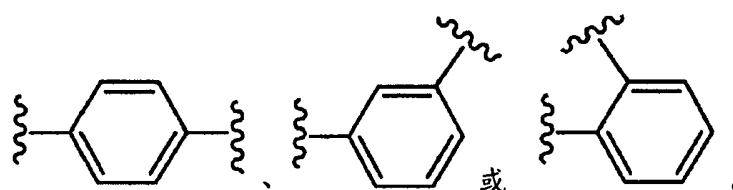
本文所用之術語「伸芳基」係指由上文定義之芳基的一個環碳移除一個氫原子所衍生之芳基的二價基團。伸芳基可衍生自包含約6至約14個碳原子之單環或多環系統。在一個實施例中，伸芳基含有約6至約10個碳原子。在另一實施例中，伸芳基為伸萘基。在另一實施例中，伸芳基為伸苯基。伸芳基可視情況經一或多個可相同或不同且如下文所定義之「環系統取代基」取代。伸芳基為二價基團且伸芳基上之任一可用鍵可連接於任一側接伸芳基之基團。舉例而言，基團「A-伸芳基-B」，其中伸芳基為：



應理解為表示：



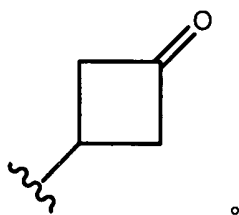
在一個實施例中，伸芳基可視情況與環烷基或環烷鹼基稠合。伸芳基之非限制性實例包括伸苯基及伸萘基。在一個實施例中，伸芳基未經取代。在另一實施例中，伸芳基為：



除非另外指明，否則伸芳基未經取代。

如本文所用之術語「環烷基」係指包含3至約10個環碳原子之非芳族單環或多環系統。在一個實施例中，環烷基含有約5至約10個環碳原子。在另一實施例中，環烷基含有3至約7個環原子。在另一實施例中，環烷基含有約5至約6個環原子。術語「環烷基」亦涵蓋與芳基(例如苯)或雜芳基環稠合之如上文所定義之環烷基。單環環烷基之非限制性實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基及環辛基。多環環烷基之非限制性實例包括1-十氫萘基、降蒎基及金剛烷基。環烷基可視情況經一或多個可相同或不同且如下文所定義之「環系統取代基」取代。在一個實施例中，環烷基未經取代。術語「3至6員環烷基」係指具有3至6個環碳原子之環烷基。除非另外指明，否則環烷基未經取代。環烷基之環碳原子可官能化為羰基。該環烷基

(在本文中亦稱作「環烷醯基」)之一說明性實例包括(但不限於)環丁醯基：



如本文所用之術語「鹵基」意謂-F、-Cl、-Br或-I。

如本文所用之術語「鹵烷基」係指如上文所定義之烷基，其中烷基之一或多個氫原子經鹵素置換。在一個實施例中，鹵烷基具有1至6個碳原子。在另一實施例中，鹵烷基經1至3個F原子取代。鹵烷基之非限制性實例包括-CH₂F、-CHF₂、-CF₃、-CH₂Cl及-CCl₃。術語「C₁-C₆鹵烷基」係指具有1至6個碳原子之鹵烷基。

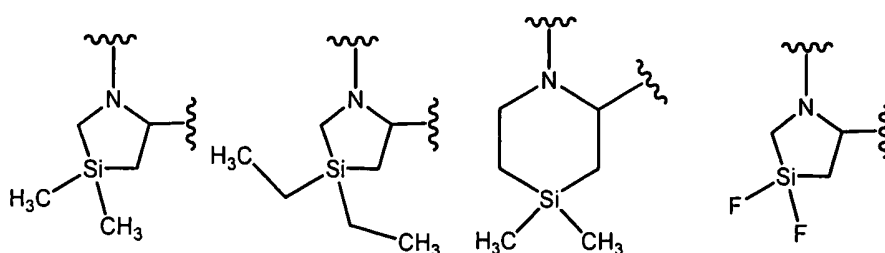
如本文所用之術語「羥基烷基」係指如上文所定義之烷基，其中烷基之一或多個氫原子經-OH基團置換。在一個實施例中，羥基烷基具有1至6個碳原子。羥基烷基之非限制性實例包括-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH₂CH₂CH₂OH及-CH₂CH(OH)CH₃。術語「C₁-C₆羥基烷基」係指具有1至6個碳原子之羥基烷基。

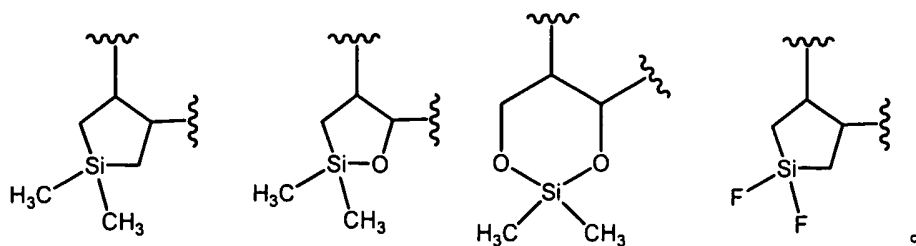
如本文所用之術語「雜芳基」係指包含約5至約14個環原子之芳族單環或多環系統，其中1至4個環原子獨立地為O、N或S，且剩餘環原子為碳原子。在一個實施例中，雜芳基具有5至10個環原子。在另一實施例中，雜芳基為單環且具有5或6個環原子。在另一實施例中，雜芳基為雙

環。雜芳基可視情況經一或多個可相同或不同且如下文所定義之「環系統取代基」取代。雜芳基經由環碳原子接合，且雜芳基之任何氮原子可視情況氧化成相應N-氧化物。術語「雜芳基」亦涵蓋與苯環稠合之如上文所定義之雜芳基。雜芳基之非限制性實例包括吡啶基、吡嗪基、呋喃基、噻吩基、嘧啶基、吡啶酮(包括N上經取代之吡啶酮)、異噁唑基、異噻唑基、噁唑基、噁二唑基、噻唑基、吡唑基、呋咕基、吡咯基、三唑基、1,2,4-噻二唑基、吡嗪基、噻嗪基、喹啉基、酞嗪基、羥基吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、咪唑并[2,1-b]噻唑基、苯并呋咕基、吡啶基、氮雜吡啶基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、噻啉基、咪唑基、苯并咪唑基、噻吩并吡啶基、噻啉基、噻吩并嘧啶基、吡咯并吡啶基、咪唑并吡啶基、異噻啉基、苯并氮雜吡啶基、1,2,4-三嗪基、苯并噻唑基及其類似基團及其所有異構形式。術語「雜芳基」亦指部分飽和之雜芳基部分，諸如四氫異噻啉基、四氫噻啉基及其類似基團。在一個實施例中，雜芳基為5員雜芳基。在另一實施例中，雜芳基為6員雜芳基。在另一實施例中，雜芳基包含與苯環稠合之5至6員雜芳基。除非另外指明，否則雜芳基未經取代。

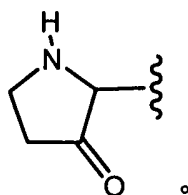
如本文所用之術語「雜環烷基」係指包含3至約11個環原子之非芳族飽和單環或多環系統，其中1至4個環原子獨立地為O、S、N或Si，且其餘環原子為碳原子。雜環烷基可經由環碳、環矽原子或環氮原子接合。在一個實施例

中，雜環烷基為單環且具有3至約7個環原子。在另一實施例中，雜環烷基為單環且具有約4至約7個環原子。在另一實施例中，雜環烷基為雙環且具有約7至約11個環原子。在另一實施例中，雜環烷基為單環且具有5或6個環原子。在一個實施例中，雜環烷基為單環。在另一實施例中，雜環烷基為雙環。環系統中不存在相鄰氧及/或硫原子。雜環烷基環中之任何-NH基團可以諸如保護為-N(BOC)、-N(Cbz)、-N(Tos)基團及其類似基團之形式存在；該等經保護雜環烷基為本發明之考慮部分。術語「雜環烷基」亦涵蓋與芳基(例如苯)或雜芳基環稠合之如上文所定義之雜環烷基。雜環烷基可視情況經一或多個可相同或不同且如下文所定義之「環系統取代基」取代。雜環烷基之氮或硫原子可視情況氧化成相應N-氧化物、S-氧化物或S,S-二氧化物。單環雜環烷基之非限制性實例包括氧雜環丁烷基、哌啶基、吡咯啶基、哌嗪基、嗎啉基、硫代嗎啉基、噻唑啶基、1,4-二氧雜環己烷基、四氫呋喃基、四氫噻吩基、 δ -內醯胺、 δ -內酯、矽雜環戊烷、矽雜吡咯啶及其類似基團及其所有異構體。含有矽烷基之雜環烷基的非限制性說明性實例包括：





雜環烷基之環碳原子可官能化為羰基。該雜環烷基之一說明性實例為：



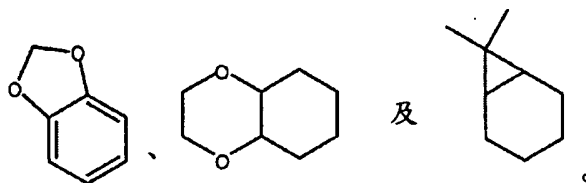
在一個實施例中，雜環烷基為5員單環雜環烷基。在另一實施例中，雜環烷基為6員單環雜環烷基。術語「3至6員單環環烷基」係指具有3至6個環原子之單環雜環烷基。術語「4至6員單環環烷基」係指具有4至6個環原子之單環雜環烷基。術語「7至11員雙環雜環烷基」係指具有7至11個環原子之雙環雜環烷基。除非另外指明，否則雜環烷基未經取代。

術語「天然或非天然嘌呤或嘧啶鹼基」包括(但不限於)腺嘌呤、 N^6 -烷基嘌呤、 N^6 -鹵基嘌呤(其中鹵基為C(O)(烷基、芳基、烷基芳基或芳基烷基))、 N^6 -苯甲基嘌呤、 N^6 -鹵基嘌呤、 N^6 -乙烯基嘌呤、 N^6 -炔基嘌呤、 N^6 -鹼基嘌呤、 N^6 -羧基烷基嘌呤、 N^6 -磺基烷基嘌呤、 N^2 -烷基嘌呤、 N^2 -烷基-6-硫代嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶、5-氟胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、6-氮雜嘧啶(包括6-氮雜胞嘧啶)、2-巰基嘧啶及/或4-巰基嘧啶、尿嘧啶、5-鹵尿嘧啶(包括5-氟尿嘧啶)、 C^5 -烷基嘧啶、 C^5 -苯甲基嘧啶、 C^5 -鹵基嘧啶、 C^5 -乙烯基嘧啶、

C⁵-炔基嘧啶、C⁵-酯基嘧啶、C⁵-烷基烷基嘌呤、C⁵-酯胺基嘧啶、C⁵-氨基嘧啶、C⁵-硝基嘧啶、C⁵-胺基嘧啶、N²-烷基嘌呤、N²-烷基-6-硫代嘌呤、5-氮雜胞苷基、5-氮雜尿嘧啶基、三唑并吡啶基、咪唑并吡啶基、吡咯并嘧啶基及吡唑并嘧啶基。嘌呤鹼基包括(但不限於)鳥嘌呤、腺嘌呤、次黃嘌呤、2,6-二胺基嘌呤及6-氯嘌呤。鹼基上之官能性氧及氮基團可視需要或在必要時進行保護。適合保護基為熟習此項技術者所熟知，且包括三甲基矽烷基、二甲基己基矽烷基、第三丁基二甲基矽烷基及第三丁基二苯基矽烷基、三苯甲基、烷基、鹽基(諸如乙鹽基及丙鹽基)、甲烷磺鹽基及對甲苯磺鹽基。

如本文所用之術語「環系統取代基」係指連接於芳族或非芳族環系統之取代基，其例如置換環系統上之可用氫。環系統取代基可相同或不同，各獨立地選自由以下組成之群：烷基、烯基、炔基、芳基、雜芳基、-伸烷基-芳基、-伸芳基-烷基、-伸烷基-雜芳基、-伸烯基-雜芳基、-伸炔基-雜芳基、-OH、羥基烷基、鹵烷基、-O-烷基、-O-鹵烷基、-伸烷基-O-烷基、-O-芳基、-O-伸烷基-芳基、鹽基、-C(O)-芳基、鹵基、-NO₂、-CN、-SF₅、-C(O)OH、-C(O)O-烷基、-C(O)O-芳基、-C(O)O-伸烷基-芳基、-S(O)-烷基、-S(O)₂-烷基、-S(O)-芳基、-S(O)₂-芳基、-S(O)-雜芳基、-S(O)₂-雜芳基、-S-烷基、-S-芳基、-S-雜芳基、-S-伸烷基-芳基、-S-伸烷基-雜芳基、-S(O)₂-伸烷基-芳基、-S(O)₂-伸烷基-雜芳基、-Si(烷基)₂、-Si(芳基)₂、-Si(雜芳基)₂、-Si(烷基)(芳基)、-Si(烷基)(環烷基)、-Si(烷基)(雜

芳基)、環烷基、雜環烷基、 $-O-C(O)-$ 烷基、 $-O-C(O)-$ 芳基、 $-O-C(O)-$ 環烷基、 $-C(=N-CN)-NH_2$ 、 $-C(=NH)-NH_2$ 、 $-C(=NH)-NH$ (烷基)、 $-N(Y_1)(Y_2)$ 、 $-$ 伸烷基 $-N(Y_1)(Y_2)$ 、 $-C(O)N(Y_1)(Y_2)$ 及 $-S(O)_2N(Y_1)(Y_2)$ ，其中 Y_1 及 Y_2 可相同或不同且獨立地選自由氫、烷基、芳基、環烷基及 $-$ 伸烷基-芳基組成之群。「環系統取代基」亦可意謂同時置換環系統上之兩個相鄰碳原子上之兩個可用氫(每個碳上一個H)的單一部分。該部分之實例為亞甲基二氧基、伸乙基二氧基、 $-C(CH_3)_2-$ 及其形成諸如以下之部分的類似部分：



術語「經取代」意謂指定原子上之一或多個氫經指定群中所選基團置換，其限制條件為不超出現有情形下指定原子之正常原子價，且取代產生穩定化合物。取代基及/或變數之組合僅在該等組合產生穩定化合物時為允許的。

「穩定化合物」或「穩定結構」意謂足夠穩固以能夠經受住自反應混合物分離為適用純度且調配成有效治療劑的化合物。

如本文所用之術語「實質上經純化形式」係指在化合物自合成製程(例如自反應混合物)、天然來源或其組合分離後化合物之物理狀態。術語「實質上經純化形式」亦指在化合物以足以由本文所述或熟習此項技術者熟知之標準分析技術表徵之純度自本文所述或熟習此項技術者熟知之純

化製程(例如層析、再結晶及其類似製程)獲得後化合物之物理狀態。

亦應注意，在本文之正文、流程、實例及表格中，假定具有不飽和原子價之任何碳以及雜原子具有足夠數目之氫原子來滿足原子價。

當化合物之官能基稱作「經保護」時，此意謂該基團呈經修飾形式以在使該化合物進行反應時阻止經保護位點處之不當副反應。適合保護基為一般技術者所瞭解以及可參考標準教科書(諸如 T. W. Greene 等人, *Protective Groups in Organic Synthesis* (1991), Wiley, New York)來瞭解。

除非另外指明，否則當任何取代基或變數(例如烷基、 R^6 、 R^a 等)在任何組分或在式(I)中出現一次以上時，其在每次出現時之定義獨立於其在所有其他出現時之定義。

如本文所用之術語「組合物」意欲涵蓋包含指定量之指定成分的產品以及自指定量之指定成分的組合直接或間接產生之任何產品。

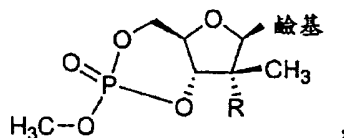
本文亦涵蓋本發明化合物之前藥及溶劑合物。T. Higuchi及 V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems* (1987) 14, A.C.S. Symposium Series, 及 *Bioreversible Carriers in Drug Design*, (1987) Edward B. Roche 編, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press 中提供對前藥之論述。術語「前藥」意謂在活體內轉化而提供2'-氟基取代之核苷衍生物或該化合物之醫藥學上可接受之鹽的化合物(例如藥物前驅物)。該轉化可藉由各種機

制(例如藉由代謝或化學過程)發生，諸如經由在血液中水解。

舉例而言，若2'-氰基取代之核苷衍生物或該化合物之醫藥學上可接受之鹽、水合物或溶劑合物含有羧酸官能基，則前藥可包含用以下基團置換酸基之氫原子所形成之酯：諸如(C₁-C₈)烷基、(C₂-C₁₂)烷醯氧基甲基、具有4至9個碳原子之1-(烷醯氧基)乙基、具有5至10個碳原子之1-甲基-1-(烷醯氧基)-乙基、具有3至6個碳原子之烷氧基羧氧基甲基、具有4至7個碳原子之1-(烷氧基羧氧基)乙基、具有5至8個碳原子之1-甲基-1-(烷氧基羧氧基)乙基、具有3至9個碳原子之N-(烷氧基羧基)胺基甲基、具有4至10個碳原子之1-(N-(烷氧基羧基)胺基)乙基、3-酞基、4-巴豆酸內酯基、 γ -丁內酯-4-基、二-N,N-(C₁-C₂)烷基胺基(C₂-C₃)烷基(諸如 β -二甲基胺基乙基)、胺甲醯基-(C₁-C₂)烷基、N,N-二(C₁-C₂)烷基胺甲醯基-(C₁-C₂)烷基及哌啶基-、吡咯啶基-或嗎啉基(C₂-C₃)烷基及其類似基團。

類似地，若2'-氰基取代之核苷衍生物含有醇官能基，則前藥可藉由用以下基團置換醇基之一或多個氫原子來形成：諸如(C₁-C₆)烷醯氧基甲基、1-((C₁-C₆)烷醯氧基)乙基、1-甲基-1-((C₁-C₆)烷醯氧基)乙基、(C₁-C₆)烷氧基羧氧基甲基、N-(C₁-C₆)烷氧基羧基胺基甲基、丁二醯基、(C₁-C₆)烷醯基、 α -胺基(C₁-C₄)烷基、 α -胺基(C₁-C₄)伸烷基-芳基、芳基醯基及 α -胺基醯基或 α -胺基醯基- α -胺基醯基，其中各 α -胺基醯基獨立地選自天然產生之L-胺基酸或糖基(移

除碳水化合物之半縮醛形式之羥基所產生的基團)。醇衍生之前藥的其他非限制性實例包括 $-P(O)(OH)_2$; $-P(O)(-O-C_1-C_6\text{烷基})_2$; $-P(O)(-NH-(\alpha\text{-胺基鹽基}))(-O\text{-芳基})$; $-P(O)(-O-(C_1-C_6\text{伸烷基})-S\text{-鹽基})(-NH\text{-芳基烷基})$; 在兩個核糖羥基之間形成橋之任何環狀磷酸酯, 諸如:



其中環狀磷酸酯在3'-OH基團與5'-OH基團之間形成橋; 及以下中所述之前藥: 美國專利第7,879,815號; 國際公開案第 WO2005/003047 號、第 WO2008/082602 號、第 WO2010/0081628 號、第 WO2010/075517 號及第 WO2010/075549號; Mehellou, *Chem. Med. Chem.*, 5:1841-1842 (2005); Bobeck等人, *Antiviral Therapy* 15:935-950 (2010); Furman等人, *Future Medicinal Chemistry*, 1:1429-1452 (2009); 及 Erion, *Microsomes and Drug Oxidations, Proceedings of the International Symposium*, 第17屆, Saratoga Springs, NY, United States, 2008年7月6-10日, 7-12 (2008)。

若2'-氟基取代之核苷衍生物併有胺官能基, 則前藥可藉由用以下基團置換胺基之氫原子來形成: 諸如R-羰基-、RO-羰基-、NRR'-羰基-, 其中R及R'各獨立地為(C₁-C₁₀)烷基、(C₃-C₇)環烷基、苯甲基; 天然 α -胺基鹽基; $-C(OH)C(O)OY^1$, 其中Y¹為H、(C₁-C₆)烷基或苯甲基; $-C(OY^2)Y^3$, 其

中 Y^2 為 (C_1-C_4) 烷基，且 Y^3 為 (C_1-C_6) 烷基；羧基 (C_1-C_6) 烷基；胺基 (C_1-C_4) 烷基或單 $-N-(C_1-C_6)$ 烷基胺基烷基或二 $-N,N-(C_1-C_6)$ 烷基胺基烷基； $-C(Y^4)Y^5$ ，其中 Y^4 為 H 或甲基，且 Y^5 為單 $-N-(C_1-C_6)$ 烷基胺基嗎啉基或二 $-N,N-(C_1-C_6)$ 烷基胺基嗎啉基；哌啶-1-基或吡咯啶-1-基；及其類似基團。

本發明化合物之醫藥學上可接受之酯包括以下組群：

(1)藉由酯化羥基化合物之羥基獲得的羧酸酯，其中酯基之羧酸部分的非羰基部分選自直鏈或分支鏈烷基(例如甲基、乙基、正丙基、異丙基、第三丁基、第二丁基或正丁基)、烷氧基烷基(例如甲氧基甲基)、芳烷基(例如苯甲基)、芳氧基烷基(例如苯氧基甲基)、芳基(例如視情況經例如鹵素、 C_{1-4} 烷基、 $-O-(C_{1-4}$ 烷基)或胺基取代之苯基)；(2)磺酸酯，諸如烷基磺醯基或芳烷基磺醯基(例如甲烷磺醯基)；(3)胺基酸酯(例如 L-纈胺醯基或 L-異白胺醯基)；(4)膦酸酯及(5)單磷酸酯、二磷酸酯或三磷酸酯。磷酸酯可由例如 C_{1-20} 醇或其反應性衍生物或由 2,3-二 (C_{6-24}) 醯基甘油進一步酯化。

一或多種本發明化合物可以非溶劑化形式以及與醫藥學上可接受之溶劑(諸如水、乙醇及其類似物)形成之溶劑化形式存在，且預期本發明涵蓋溶劑化形式與非溶劑化形式。「溶劑合物」意謂本發明化合物與一或多個溶劑分子之物理締合。此物理締合涉及不同程度之離子鍵結及共價鍵結，包括氫鍵結。在特定情況下，例如當一或多個溶劑

分子併入結晶固體之晶格中時，溶劑合物將能夠分離。

「溶劑合物」涵蓋溶液相與可分離之溶劑合物。溶劑合物之非限制性實例包括乙醇化物、甲醇化物及其類似物。

「水合物」為溶劑分子為水之溶劑合物。

一或多種本發明化合物可視情況轉化為溶劑合物。溶劑合物之製備一般已知。因此，例如，M. Caira等人，*J. Pharmaceutical Sci.*, **93**(3), 601-611 (2004)描述抗真菌氟康唑(fluconazole)於乙酸乙酯以及水中之溶劑合物的製備。E. C. van Tonder等人，*AAPS PharmSciTech.*, **5**(1), 第12節, (2004)；及A. L. Bingham等人，*Chem. Commun.*, 603-604 (2001)描述溶劑合物、半溶劑合物、水合物及其類似物之類似製備。典型的非限制性製程涉及在高於室溫下將本發明化合物溶解於所要量之所要溶劑(有機溶劑或水或其混合物)中，且以足以形成晶體之速率冷卻溶液，隨後藉由標準方法分離晶體。分析技術(諸如IR光譜法)展示呈溶劑合物(或水合物)形式之晶體中溶劑(或水)的存在。

2'-氟基取代之核苷衍生物可形成亦屬於本發明之範疇的鹽。除非另外指明，否則在本文中提及2'-氟基取代之核苷衍生物應理解為包括提及其鹽。如本文所用之術語「鹽」表示與無機酸及/或有機酸形成之酸性鹽以及與無機鹼及/或有機鹼形成之鹼性鹽。另外，當2'-氟基取代之核苷衍生物含有鹼性部分(諸如(但不限於)吡啶或咪唑)與酸性部分(諸如(但不限於)羧酸)時，可形成兩性離子(「內鹽」)且其包括於如本文所用之術語「鹽」內。在一個實施例中，鹽

為醫藥學上可接受(亦即無毒、生理學上可接受)之鹽。在另一實施例中，鹽不為醫藥學上可接受之鹽。可例如藉由使2'-氟基取代之核苷衍生物與一定量(諸如等量)之酸或鹼在介質(諸如使鹽沈澱之介質)中或在水性介質中反應，繼而凍乾來形成式(I)化合物之鹽。

例示性酸加成鹽包括乙酸鹽、抗壞血酸鹽、苯甲酸鹽、苯磺酸鹽、硫酸氫鹽、硼酸鹽、丁酸鹽、檸檬酸鹽、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、反丁烯二酸鹽、鹽酸鹽、氫溴酸鹽、氫碘酸鹽、乳酸鹽、順丁烯二酸鹽、甲烷磺酸鹽、萘磺酸鹽、硝酸鹽、草酸鹽、磷酸鹽、丙酸鹽、水楊酸鹽、丁二酸鹽、硫酸鹽、酒石酸鹽、硫氰酸鹽、甲苯磺酸鹽(toluenesulfonate)(亦稱作甲苯磺酸鹽(tosylate))及其類似鹽。另外，一般視為適用於自鹼性醫藥化合物形成醫藥學上適用之鹽的酸論述於例如以下文獻中：P. Stahl等人，Camille G. (編) *Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use*. (2002) Zurich: Wiley-VCH；S. Berge等人，*Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1-19；P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201-217；Anderson等人，*The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, New York；及 *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C.,在其網站上)。此等揭示內容以引用的方式併入本文中。

例示性鹼性鹽包括銨鹽；鹼金屬鹽，諸如鈉鹽、鋰鹽及

鉀鹽；鹼土金屬鹽，諸如鈣鹽及鎂鹽；與有機鹼(例如有機胺)形成之鹽，該等有機鹼諸如二環己胺、第三丁胺、膽鹼；及與胺基酸形成之鹽，該等胺基酸諸如精胺酸、離胺酸及其類似胺基酸。可用諸如以下試劑使鹼性含氮基團四級銨化：低碳烷基鹵化物(例如甲基、乙基及丁基氯化物、溴化物及碘化物)、硫酸二烷酯(例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯及硫酸二丁酯)、長鏈鹵化物(例如癸基、月桂基及硬脂醯基氯化物、溴化物及碘化物)、芳烷基鹵化物(例如苯甲基溴及苯乙基溴)及其他試劑。

出於本發明之目的，所有該等酸鹽及鹼鹽均意欲為屬於本發明範疇之醫藥學上可接受之鹽且所有酸鹽及鹼鹽均視為等效於相應化合物之游離形式。

非對映異構混合物可基於其個別非對映異構體之物理化學差異而藉由熟習此項技術者所熟知之方法(諸如藉由層析及/或分步結晶)分離為其個別非對映異構體。對映異構體可藉由以下步驟來分離：藉由使對映異構混合物與適當光學活性化合物(例如對掌性助劑，諸如對掌性醇或莫舍氏酸氯化物(Mosher's acid chloride))反應將該對映異構混合物轉化為非對映異構混合物，分離非對映異構體，且將個別非對映異構體轉化(例如水解)為相應純對映異構體。立體化學純化合物亦可藉由使用對掌性起始物質或藉由使用鹽解析技術來製備。此外，一些2'-氰基取代之核苷衍生物可為滯轉異構體(例如經取代之聯芳)，且其視為本發明之一部分。對映異構體亦可使用對掌性層析技術直接分

離。

2'-氟基取代之核苷衍生物亦可能以不同互變異構形式存在且所有該等形式均涵蓋於本發明之範疇內。舉例而言，該等化合物之所有酮-烯醇及亞胺-烯胺形式均包括於本發明中。

本發明化合物之所有立體異構體(例如幾何異構體、光學異構體及其類似物)(包括該等化合物之鹽、溶劑合物、水合物、酯及前藥以及前藥之鹽、溶劑合物及酯的立體異構體)，諸如因各種取代基上之不對稱碳而可能存在之立體異構體，包括對映異構形式(其甚至在無不對稱碳的情況下亦可能存在)、旋轉異構形式、滯轉異構體及非對映異構形式，均涵蓋在本發明之範疇內。若2'-氟基取代之核苷衍生物併有雙鍵或稠環，則順式與反式以及混合物均涵蓋於本發明之範疇內。

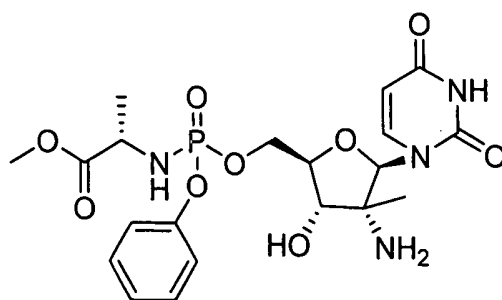
本發明化合物之個別立體異構體可例如實質上不含其他異構體，或可例如以外消旋體形式混合或與所有其他立體異構體或其他所選立體異構體混合。本發明之對掌性中心可具有如 *IUPAC* 1974 Recommendations 所定義之 S 或 R 組態。術語「鹽」、「溶劑合物」、「酯」、「前藥」及其類似術語之使用欲同樣適用於本發明化合物之對映異構體、立體異構體、旋轉異構體、互變異構體、位置異構體、外消旋體或前藥之鹽、溶劑合物、酯及前藥。

在式(I)化合物中，原子可展現其天然同位素豐度，或一或多個原子可人為地富含具有相同原子序數但原子質量或

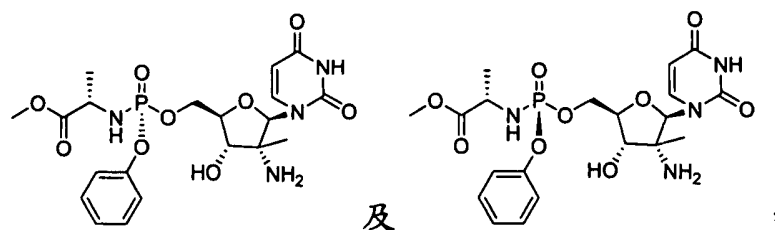
質量數不同於自然界中主要存在之原子質量或質量數的特定同位素。本發明意欲包括通式I化合物之所有適合同位素變化形式。舉例而言，氫(H)之不同同位素形式包括氕(^1H)及氘(^2H)。氕為自然界中存在之主要氫同位素。富含氕可提供特定治療優勢，諸如延長活體內半衰期或降低劑量需要，或可提供適用作表徵生物樣品之標準物的化合物。富含同位素之式(I)化合物可不經過度實驗而藉由熟習此項技術者熟知之習知技術或藉由類似於本文流程及實例中所述之製程使用適當富含同位素之試劑及/或中間物製備。在一個實施例中，式(I)化合物之一或多個氫原子經氕置換。

2'-氟基取代之核苷衍生物及2'-氟基取代之核苷衍生物之鹽、溶劑合物、水合物、酯及前藥的多晶形式意欲包括於本發明中。

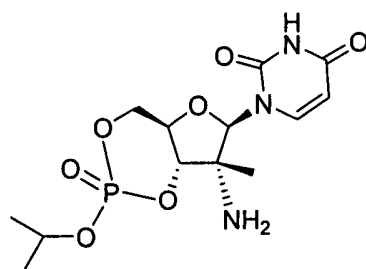
在一些情況下，本發明化合物稱作「異構體1」及「異構體2」。此命名係指關於如下文對於環狀及非環狀前藥所說明之5'-前藥部分之對掌性磷原子的立體異構體，其中結構：



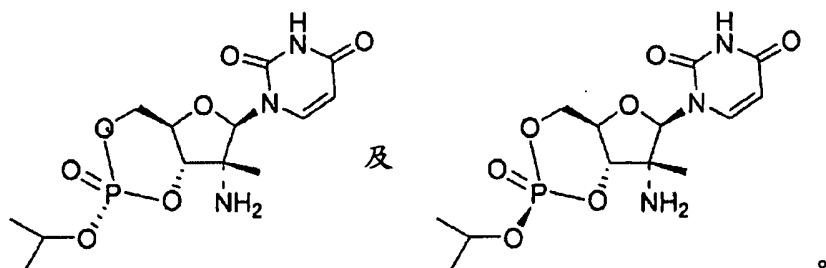
視為表示以下兩種磷立體異構體：



且結構：



視為表示以下兩種磷立體異構體：



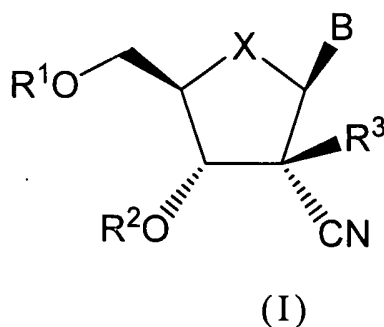
術語「異構體1」及「異構體2」可指定為已知絕對組態之異構體或可用於描述未知絕對組態之立體異構體。因此，使用術語「異構體1」及「異構體2」不應解釋為表明兩種異構體之絕對組態已知。

下文使用以下縮寫且該等縮寫具有以下含義：Ac為乙醯基或 $-C(O)CH_3$ ， Ac_2O 為乙酸酐；Bu為丁基；t-BuMgCl為氯化第三丁基鎂；DCM為二氯甲烷；戴斯-馬丁高碘烷 (Dess-Martin Periodinane) 為 1,1,1-三乙醯氧基-1,1-二氫-1,2-苯并碘氧雜環戊-3(1H)-酮；DIBAL-H為氫化二異丁銨；

DMAP為N,N-二甲基胺基吡啶；EtOAc為乙酸乙酯；EtOH為乙醇；HPLC為高效液相層析；KHMDs為六甲基二矽烷胺基鉀；KOBut為第三丁醇鉀；LCMS為液相層析/質譜；MeOH為甲醇；NMI為N-甲基咪唑；Pd(OH)₂為氫氧化鈹；TBAF為氟化四正丁銨；TEMPO為(2,2,6,6-四甲基-哌啶-1-基)氧基；THF為四氫呋喃；TIPDSiCl₂為1,3-二氯-1,1,3,3-四異丙基二矽氧烷；且TLC為薄層層析。

式(I)化合物

本發明提供式(I)之2'-氰基取代之核苷衍生物：



及其醫藥學上可接受之鹽，其中B、X、R¹、R²及R³如上文對於式(I)化合物所定義。

在一個實施例中，X為O。

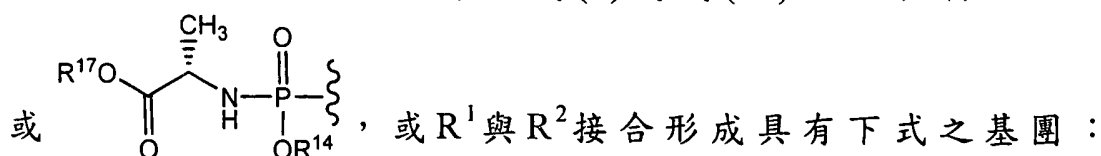
在另一實施例中，X為S。

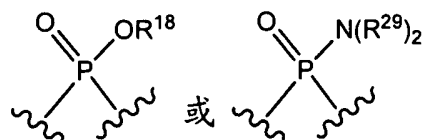
在另一實施例中，X為CH₂。

在一個實施例中，R³為C₁-C₆烷基。

在另一實施例中，R³為甲基。

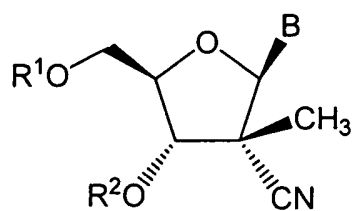
在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，R¹為H





，其中 R^{14} 為 C_6-C_{10} 芳基，其可視情況如技術方案 1 所述經取代； R^{17} 為 C_1-C_6 烷基； R^{18} 為 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基或 C_6-C_{10} 芳基；且 R^{29} 如對於式 (I) 化合物所定義。

在一個實施例中，式 (I) 化合物具有式 (Ia)：

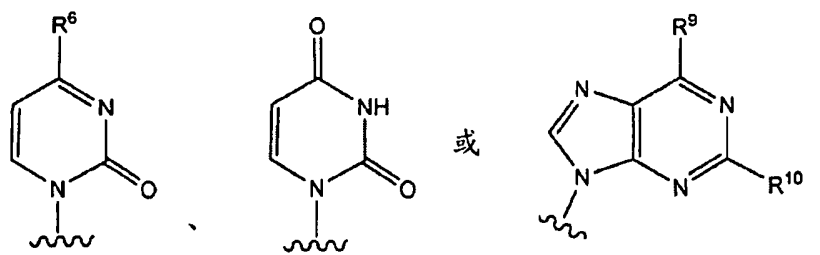


(Ia)

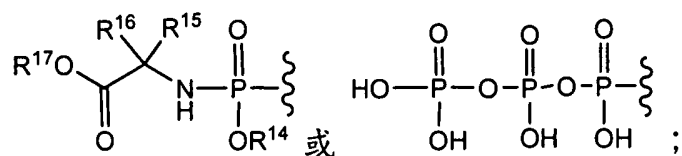
及其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

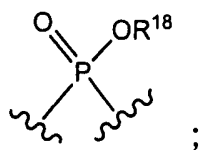
B 為：



R^1 為 H、



R^2 為 H，或 R^1 與 R^2 接合形成具有下式之基團：



R^6 及 R^{10} 各獨立地為 $-N(R^{20})_2$ ；

R^9 為 $-O-(C_1-C_6\text{烷基})$ ；

R^{14} 為 C_6-C_{10} 芳基，其可視情況經鹵基取代；

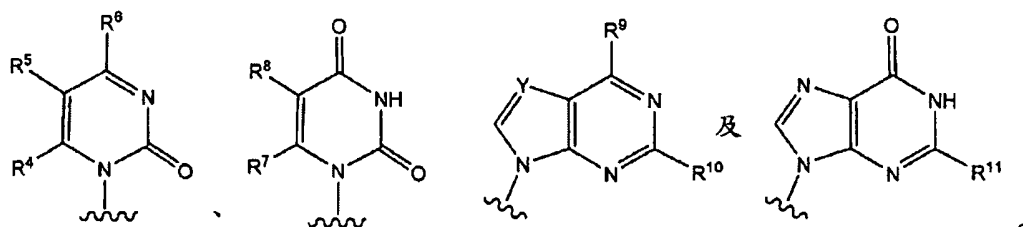
R^{15} 及 R^{16} 各獨立地為H或 C_1-C_6 烷基；

R^{17} 為 C_1-C_6 烷基；

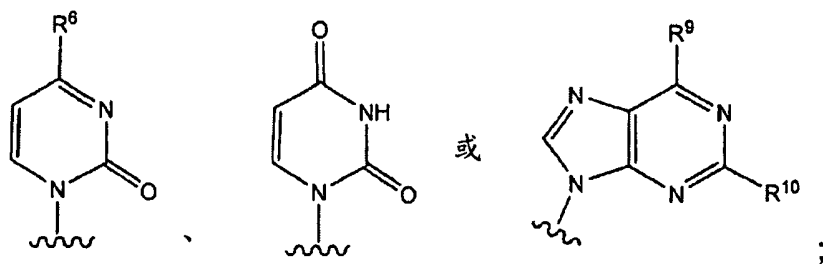
R^{18} 為 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基或 C_6-C_{10} 芳基；及

R^{20} 在每次出現時獨立地為H或 $-C(O)-(C_1-C_6\text{烷基})$ 。

在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B選自以下基團之一：

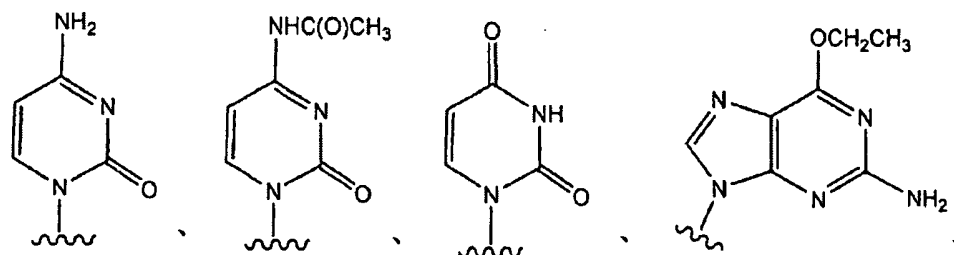


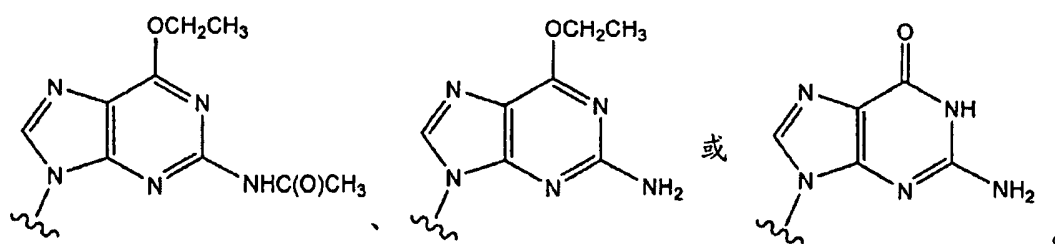
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B為：



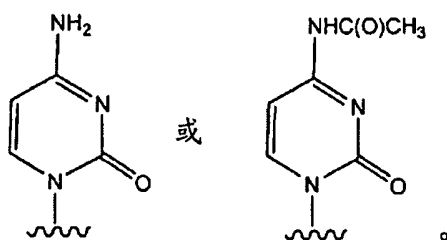
其中 R^6 及 R^{10} 各獨立地為 $-NH_2$ 或 $-NHC(O)CH_3$ ，且 R^9 為 $-O-(C_1-C_6\text{烷基})$ 。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B為：

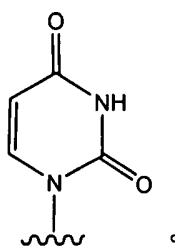




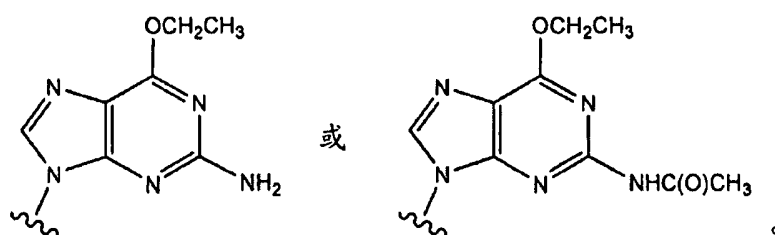
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B為：



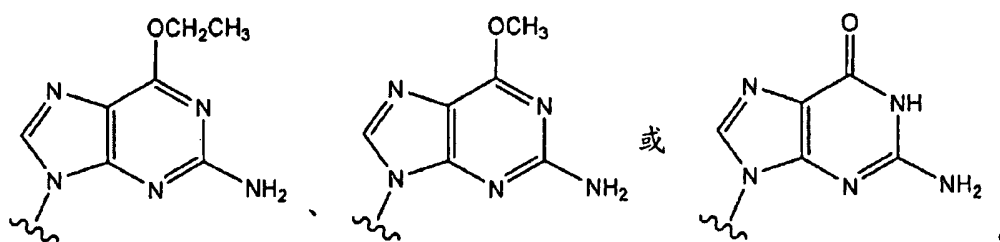
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B為：



在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B為：



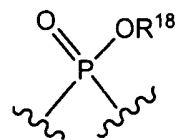
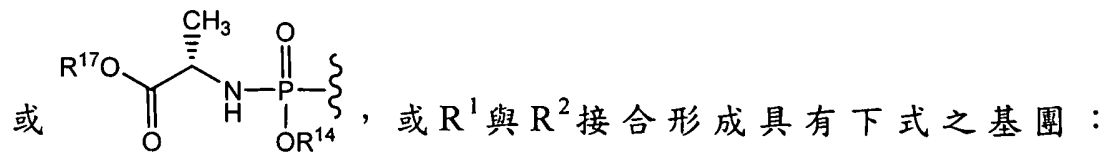
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，B為：



在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，R¹為

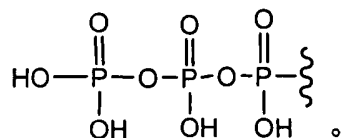
H。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為H

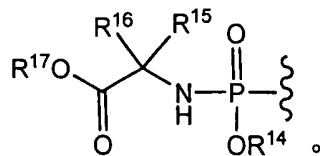


，其中 R^{14} 為 C_6 - C_{10} 芳基，其可視情況如技術方案1所述經取代； R^{17} 為 C_1 - C_6 烷基；且 R^{18} 為 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_7 環烷基或 C_6 - C_{10} 芳基。

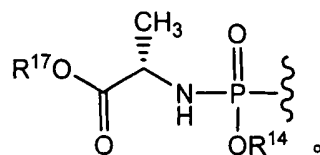
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：



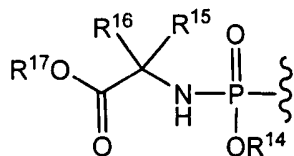
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：



在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：

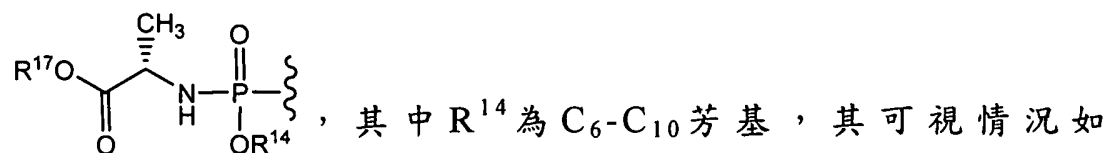


在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：



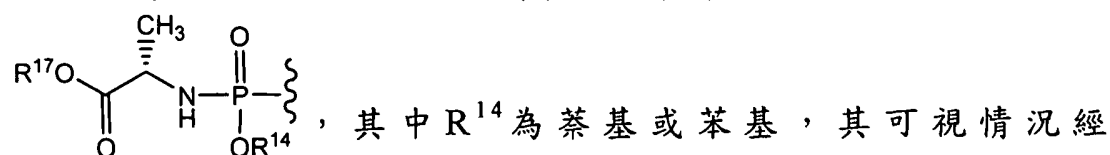
，其中 R^{14} 為 C_6 - C_{10} 芳基，其可視情況如技術方案1所述經取代； R^{15} 及 R^{16} 中之一者為H且另一者為 C_1 - C_6 烷基；且 R^{17} 為 C_1 - C_6 烷基。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：



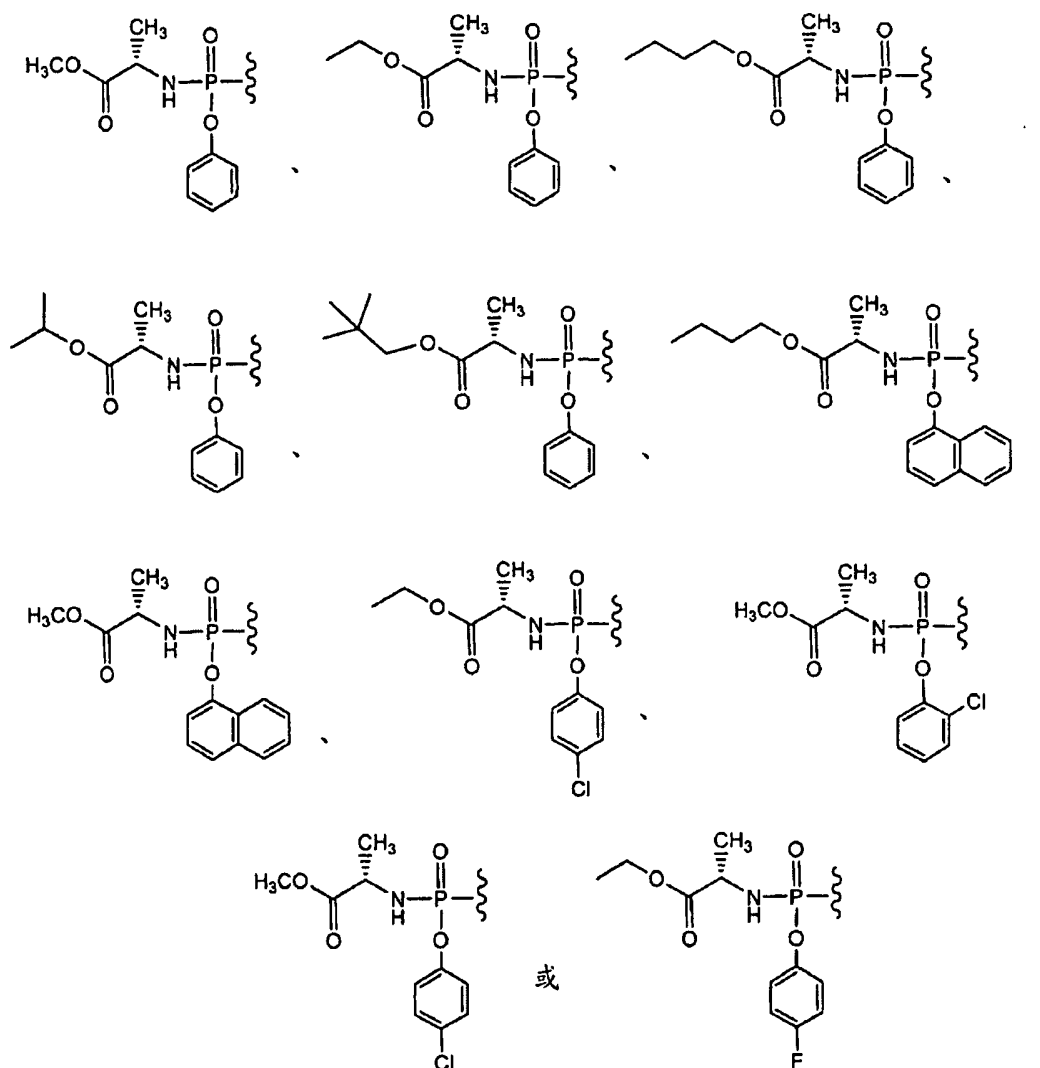
技術方案1所述經取代；且 R^{17} 為 C_1 - C_6 烷基。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：

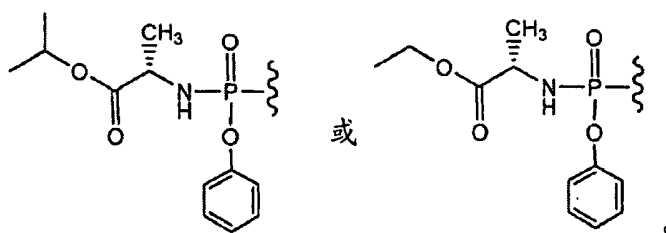


F或Cl取代；且 R^{17} 為甲基、乙基、異丙基、正丁基或新戊基。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：



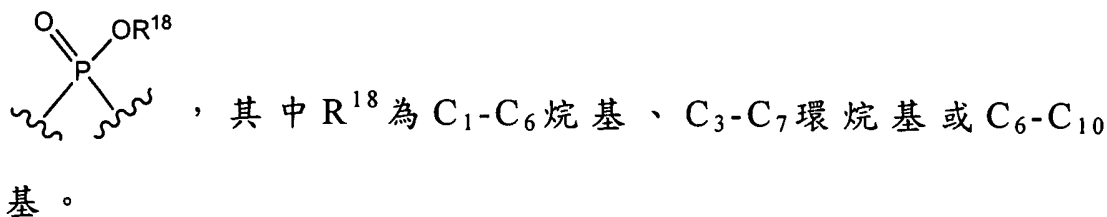
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 為：



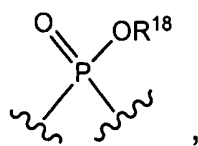
在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^2 為H。

在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 及 R^2 各為H。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 及 R^2 接合形成具有下式之基團：

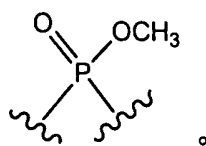


在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 及 R^2 接合形成具有下式之基團：

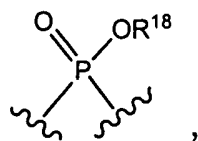


其中 R^{18} 為甲基、乙基、異丙基、環丁基或苯基。

在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 及 R^2 接合形成具有下式之基團：

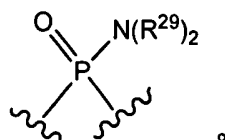


在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 及 R^2 接合形成具有下式之基團：

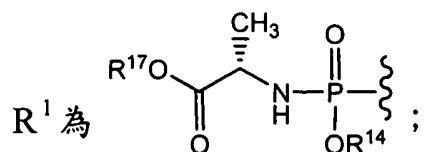


其中 R^{18} 為甲基、乙基、異丙基、環丁基或苯基。

在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物， R^1 及 R^2 接合形成具有下式之基團：



在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，



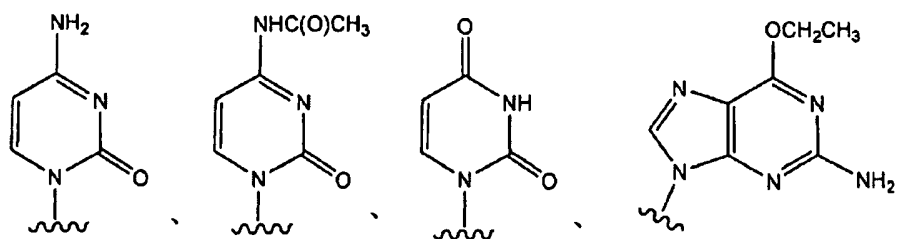
R^{14} 為萘基、苯基或經氯取代之苯基；及

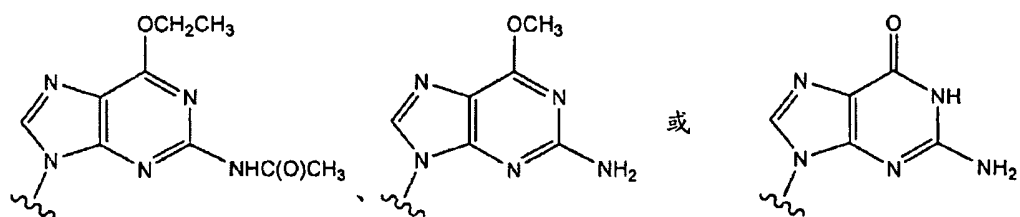
R^{17} 為甲基、乙基、異丙基、正丁基或新戊基。

在一個實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，

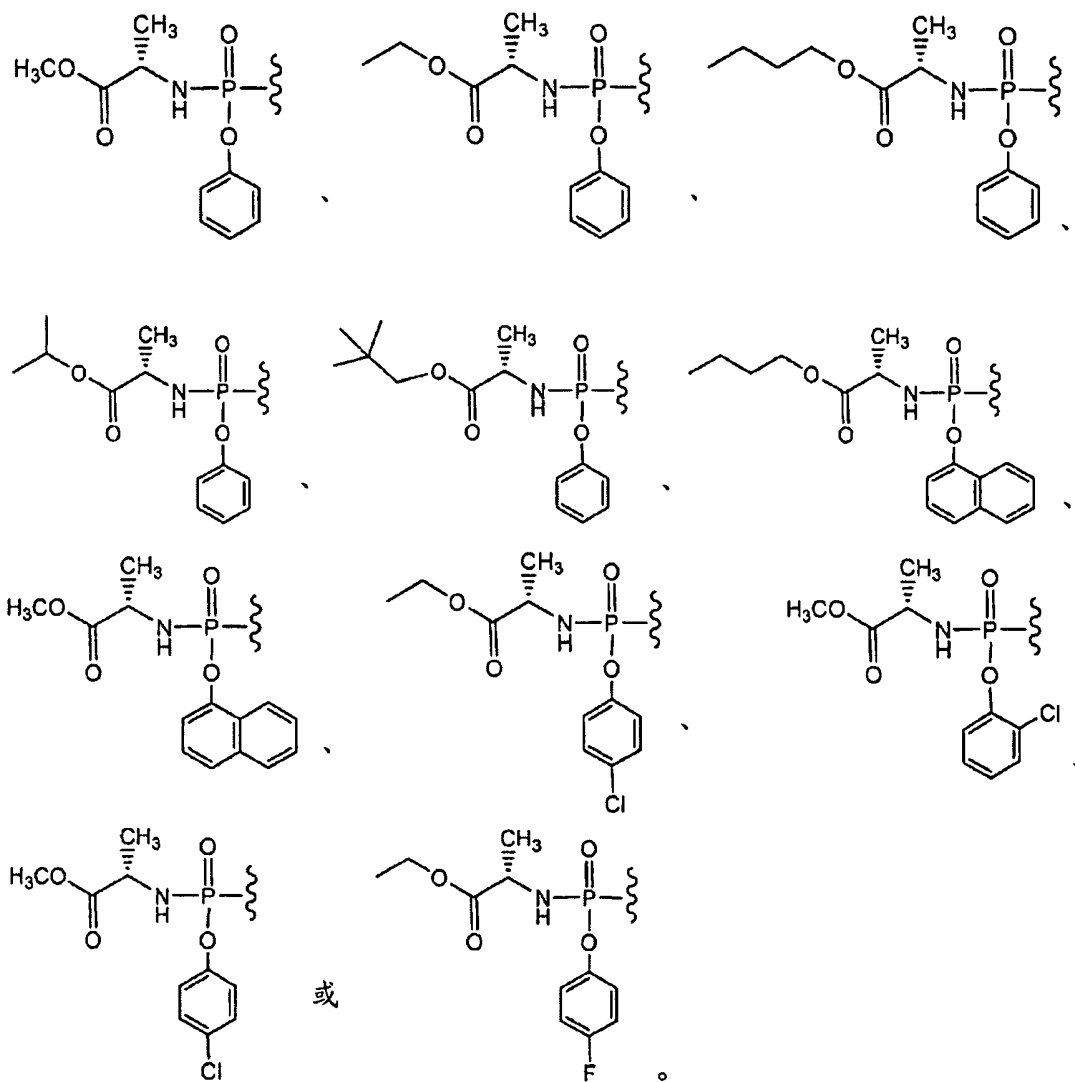
R^2 為H；

B為：





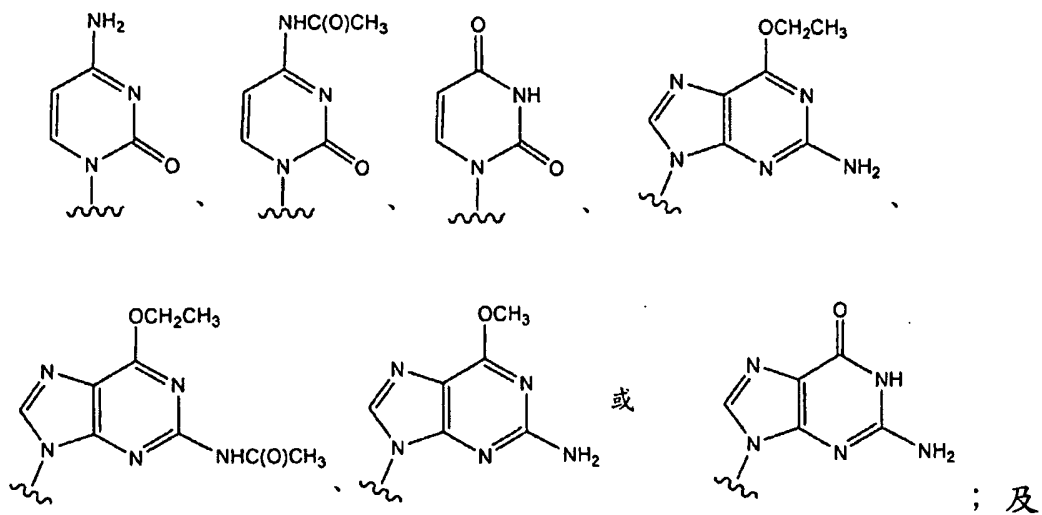
R¹ 為：



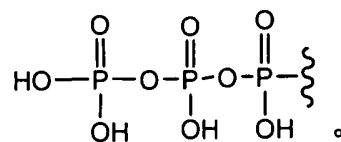
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，

R² 為 H；

B 為：

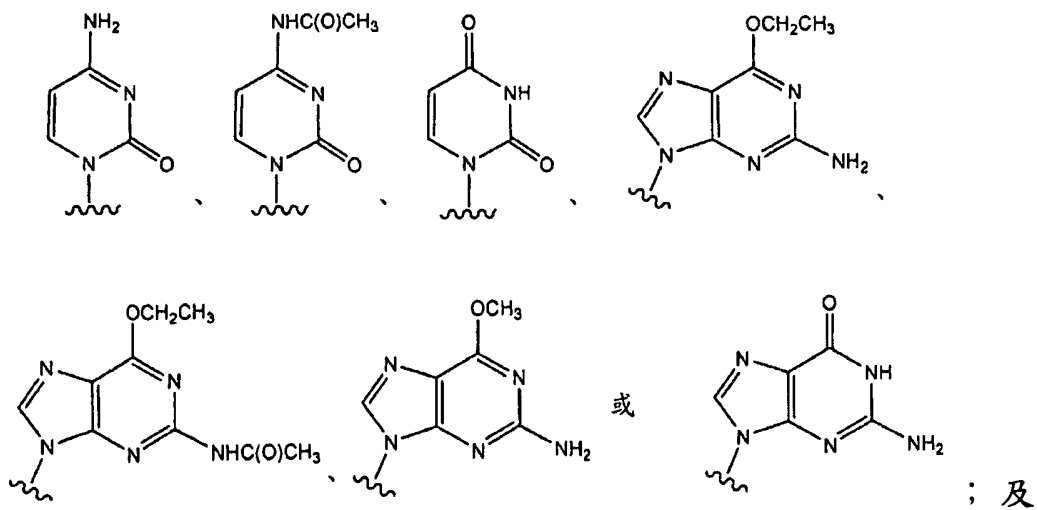


R^1 為：

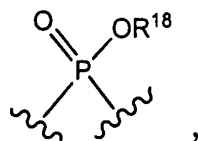


在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，

B 為：



R^1 及 R^2 接合形成具有下式之基團：

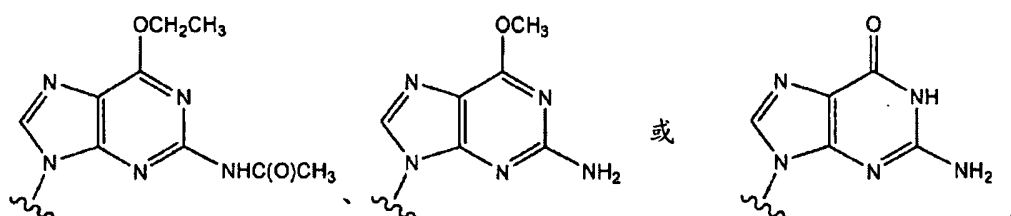
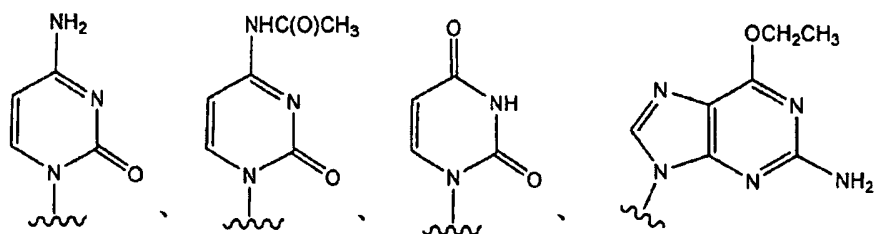


其中 R^{18} 為甲基、乙基、異丙基、環丁基或苯基。

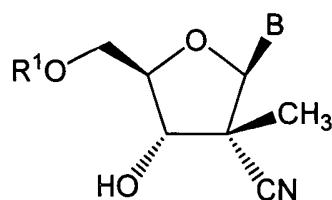
在另一實施例中，對於式(I)或式(Ia)之化合物，

R^1 及 R^2 各為H；及

B為：



在一個實施例中，式(I)化合物具有式(Ib)：

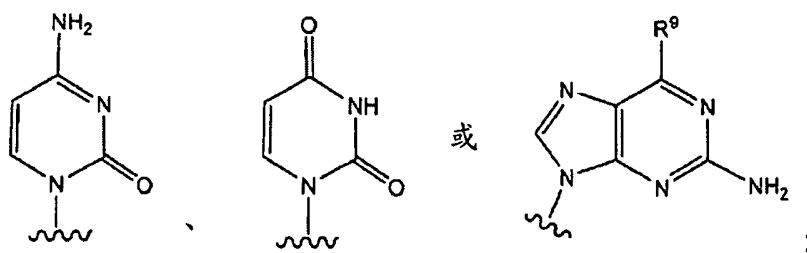


(Ib)

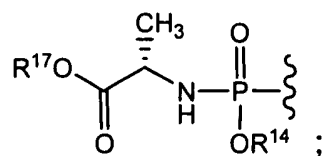
或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

B為：



R¹為：



R⁹為 -OH 或 -O-(C₁-C₆烷基)；

R¹⁴為苯基，其可視情況經至多2個可相同或不同之鹵基取代；及

R¹⁷為 C₁-C₆烷基。

在一個實施例中，對於式(Ib)化合物，R¹⁴為未經取代之苯基。

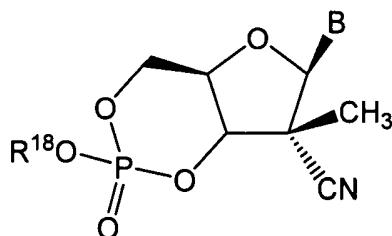
在另一實施例中，對於式(Ib)化合物，R¹⁷為乙基或異丙基。

在一個實施例中，對於式(Ib)化合物，R¹⁴為未經取代之苯基且 R¹⁷為乙基或異丙基。

在另一實施例中，對於式(Ib)化合物，R¹⁴為未經取代之苯基且 R¹⁷為乙基。

在另一實施例中，對於式(Ib)化合物，R¹⁴為未經取代之苯基且 R¹⁷為異丙基。

在一個實施例中，式(I)化合物具有式(Ic)：

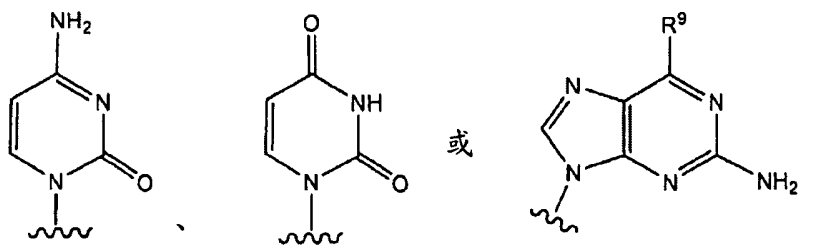


(Ic)

或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

B為：



R^9 為 $-OH$ 或 $-O-(C_1-C_6\text{烷基})$ ；及

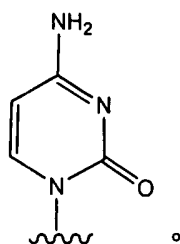
R^{18} 為芳基或 C_1-C_6 烷基。

在一個實施例中，對於式 (Ib) 化合物， R^{18} 為 C_1-C_6 烷基。

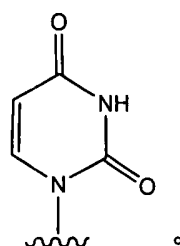
在另一實施例中，對於式 (Ic) 化合物， R^{18} 為異丙基。

在另一實施例中，對於式 (Ic) 化合物， R^{18} 為甲基。

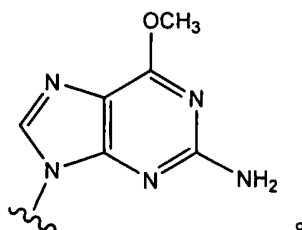
在一個實施例中，對於式 (Ib) 或式 (Ic) 之化合物，B為



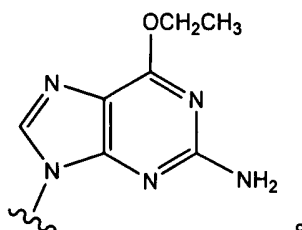
在另一實施例中，對於式 (Ib) 或式 (Ic) 之化合物，B為



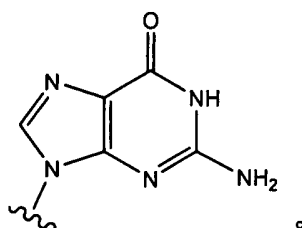
在另一實施例中，對於式 (Ib) 或式 (Ic) 之化合物，B為



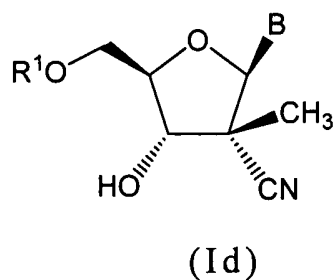
在另一實施例中，對於式(Ib)或式(Ic)之化合物，B為



在另一實施例中，對於式(Ib)或式(Ic)之化合物，B為



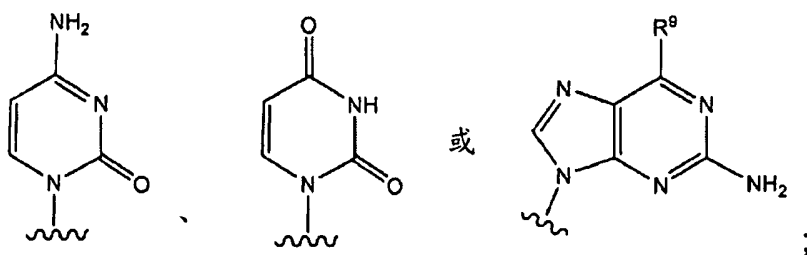
在一個實施例中，式(I)化合物具有式(Id)：



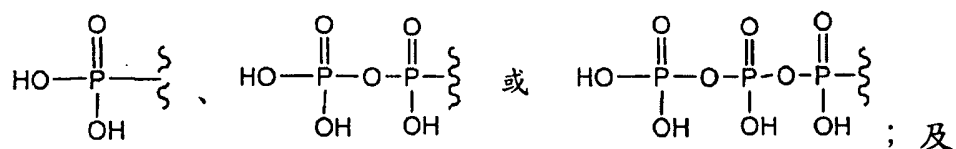
或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

B為：



R¹ 為：



R⁹ 為 -OH 或 -O-(C₁-C₆烷基)。

在一個實施例中，式(I)化合物之變數B、X、R¹、R²及R³彼此獨立地進行選擇。

在另一實施例中，式(I)化合物為實質上經純化形式。

本發明之其他實施例包括以下：

(a) 一種醫藥組合物，其包含有效量之式(I)化合物或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑。

(b) 如(a)之醫藥組合物，其進一步包含選自由HCV抗病毒劑、免疫調節劑及抗感染劑組成之群的第二治療劑。

(c) 如(b)之醫藥組合物，其中該HCV抗病毒劑為選自由HCV蛋白酶抑制劑、HCV NS5B聚合酶抑制劑及HCV NS5A抑制劑組成之群的抗病毒藥。

(d) 一種醫藥組合，其為(i)式(I)化合物與(ii)選自由HCV抗病毒劑、免疫調節劑及抗感染劑組成之群的第二治療劑；其中該式(I)化合物及該第二治療劑各以使得該組合可有效抑制HCV複製或治療HCV感染及/或降低HCV感染之可能性或HCV感染症狀之嚴重性的量使用。

(e) 如(d)之組合，其中該HCV抗病毒劑為選自由HCV蛋白酶抑制劑、HCV NS5B聚合酶抑制劑及HCV NS5A抑制劑組成之群的抗病毒藥。

(f)一種抑制有需要之個體之HCV複製的方法，其包含投與該個體有效量之式(I)化合物。

(g)一種治療有需要之個體之HCV感染及/或降低有需要之個體之HCV感染之可能性或HCV感染症狀之嚴重性的方法，其包含投與該個體有效量之式(I)化合物。

(h)如(g)之方法，其中該式(I)化合物係與有效量之至少一種選自由HCV抗病毒劑、免疫調節劑及抗感染劑組成之群的第二治療劑組合投與。

(i)如(h)之方法，其中該HCV抗病毒劑為選自由HCV蛋白酶抑制劑、HCV NS5B聚合酶抑制劑及HCV NS5A抑制劑組成之群的抗病毒藥。

(j)一種抑制有需要之個體之HCV複製的方法，其包含投與該個體如(a)、(b)或(c)之醫藥組合物或如(d)或(e)之組合。

(k)一種治療有需要之個體之HCV感染及/或降低有需要之個體之HCV感染的可能性或HCV感染症狀之嚴重性的方法，其包含投與該個體如(a)、(b)或(c)之醫藥組合物或如(d)或(e)之組合。

本發明亦包括本發明化合物，其係(i)用於如下用途，(ii)用作用於如下用途之藥物或(iii)用於製備供如下用途用之藥物：(a)藥物，(b)抑制HCV複製或(c)治療HCV感染及/或降低HCV感染之可能性或HCV感染症狀之嚴重性。在此等用途中，本發明化合物可視情況與一或多種選自HCV抗病毒劑、抗感染劑及免疫調節劑之第二治療劑組合使用。

本發明之其他實施例包括以上(a)-(k)中所述之醫藥組合物、組合及方法及前段中所述之用途，其中所用本發明化合物為上述化合物之實施例、態樣、類別、子類或特徵之一的化合物。在所有此等實施例中，化合物可視情況視需要以醫藥學上可接受之鹽或水合物形式使用。應瞭解提及化合物適當時應包括其本發明形式以及不同形式(諸如多晶型物、溶劑合物及水合物)的化合物。

在一個實施例中，本發明包括本發明化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其係用於抑制HCV NS5A活性或預防及/或治療有需要之患者之HCV感染的醫藥組合物。

此外，應瞭解，以上(a)至(k)提供之組合物及方法的實施例應視為包括化合物之所有實施例，包括由實施例組合產生之該等實施例。

在本文中，式(I)化合物可由化學結構及/或化學名稱提及。在提供式(I)化合物之結構與名稱且發現化學結構與相應化學名稱之間存在差異的情況下，應瞭解將以化學結構為準。

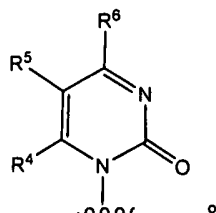
式(I)化合物之非限制性實例包括以下實例中所述之化合物1-243及其醫藥學上可接受之鹽。

製備式(I)化合物之方法

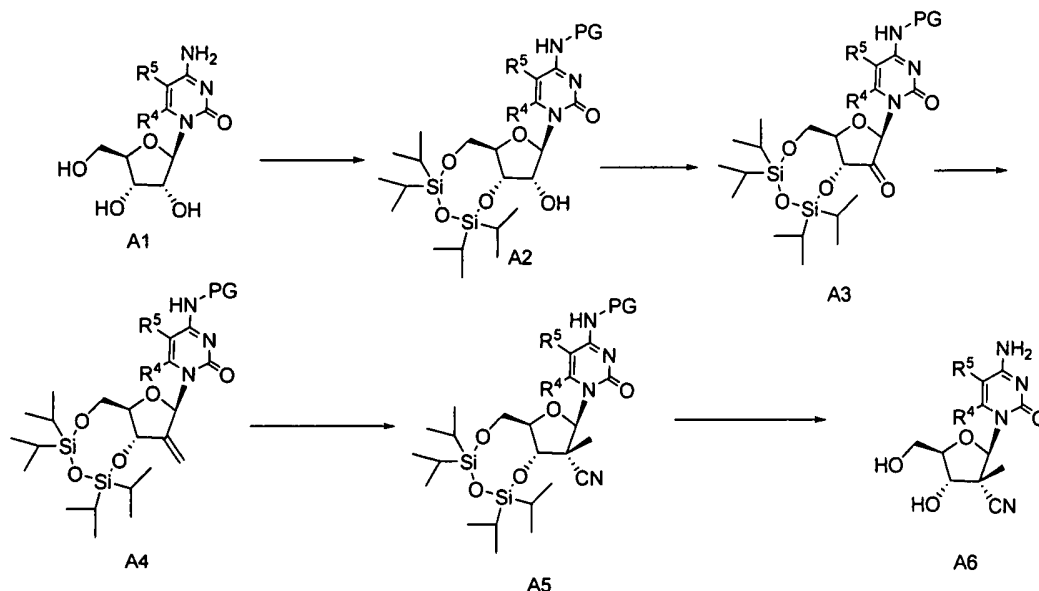
式(I)化合物可由已知或易於製備之起始物質根據熟習有機合成之技術者已知之方法製備。適用於製備式(I)化合物之方法闡述於以下實例中且概括於以下流程A-E中。替代性合成路徑及類似結構對於熟習有機合成之技術者顯而易

見。

流程A展示適用於製備式A6之核苷化合物的方法，該等化合物對應於式(I)化合物，其中X為O； R^1 及 R^2 各為H； R^3 為甲基且B為：



流程 A

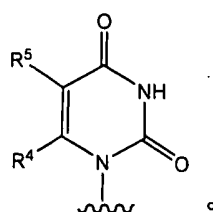


其中PG為保護基且 R^4 及 R^5 如上文對於式(I)化合物所定義。

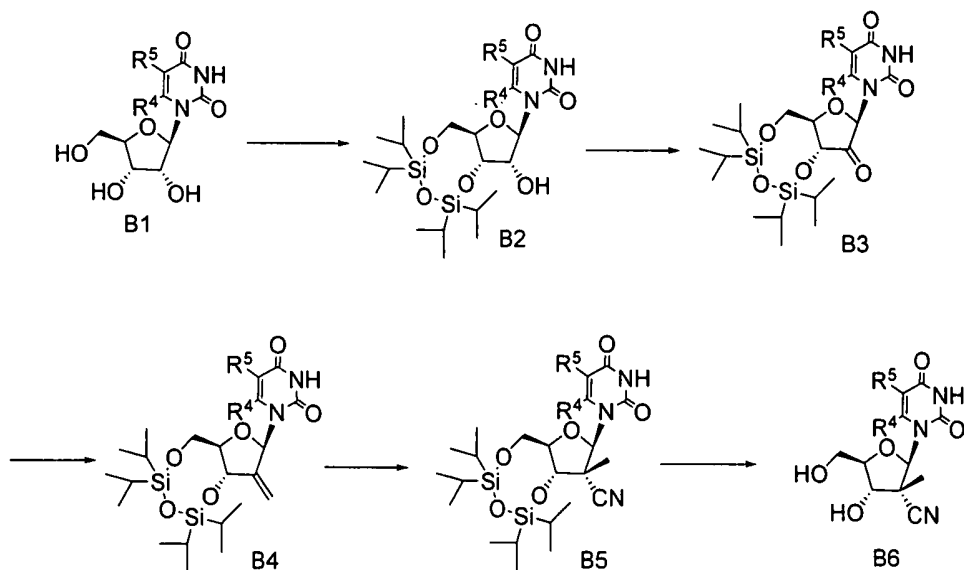
可使用四異丙基二矽氧烷基在核糖3'及5'位置處使式A1之核苷化合物經雙保護，得到式A2化合物。隨後，使用例如戴斯-馬丁高碘烷氧化式A2化合物，得到式A3之2'-酮。用溴化甲基三苯基磷/六甲基二矽烷胺基鉀進行維蒂希烯化(Wittig olefination)，得到式A4化合物。可在市售甲苯磺醯基氰化物及苯基矽烷存在下，用適當鈷催化劑(本文

詳細描述之合成方法)處理式A4化合物之烯烴部分，得到式A5之2'-CN化合物。隨後，使用氟化四丁銨移除矽烷基保護基，且隨後用甲醇氨移除胞苷保護基，得到式A6化合物。

流程B展示適用於製備式B6之核苷化合物的方法，該等化合物對應於式(I)化合物，其中X為O； R^1 及 R^2 各為H； R^3 為甲基且B為：



流程 B

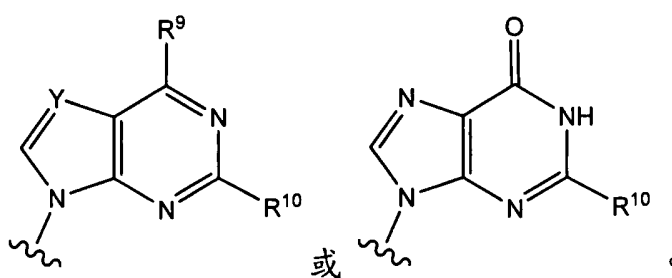


其中 R^4 及 R^5 如上文對於式(I)化合物所定義。

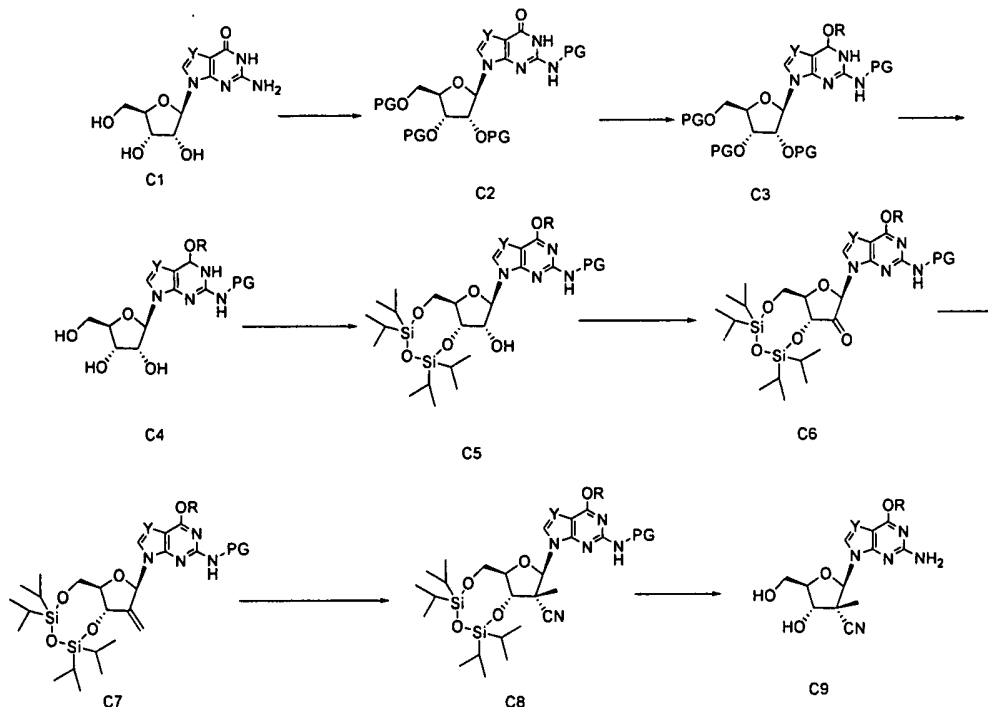
使用四異丙基二矽氧烷基在核糖3'及5'位置處使式B1化合物經保護，得到式B2化合物。用戴斯-馬丁高碘烷處理式B2化合物，得到所要式B3之2'-酮。用溴化甲基三苯基磷/六甲基二矽烷胺基鉀進行維蒂希烯化，得到式B4化合物。

物。在市售甲苯磺醯基氰化物及苯基矽烷存在下，用適當催化劑(諸如鈷催化劑)處理式B4化合物中之烯烴，得到所要化合物B5。使用氟化四丁銨移除矽烷基保護基，得到式B6化合物。

流程C展示適用於製備式C9之核苷化合物的方法，該等化合物對應於式(I)化合物，其中X為O； R^1 及 R^2 各為H； R^3 為甲基且B為：



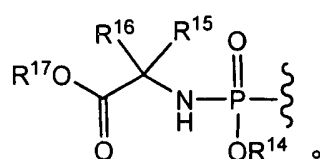
流程 C



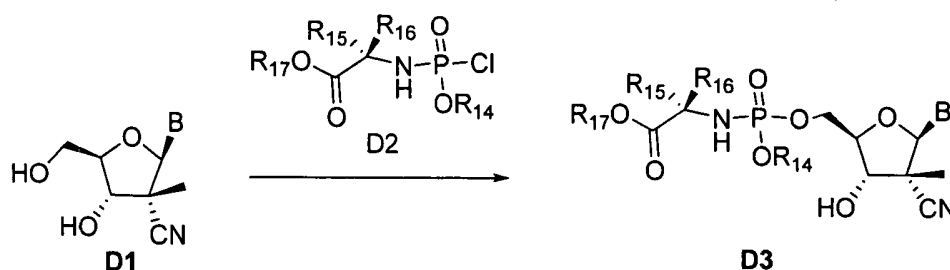
其中PG為保護基且 R^4 及 R^5 如上文對於式(I)化合物所定義。

可使用熟知方法使式C1化合物之所有羥基經保護，得到式C2化合物。可隨後使式C2化合物經受光延條件(Mitsunobu condition)，得到式C3之嘌呤醚。隨後去除C3之保護基羥基，得到式C4化合物，接著可使用四異丙基二矽氧烷基使其3'-OH及5'-OH經保護，得到式C5化合物。隨後，使用例如戴斯-馬丁高碘烷氧化式C5化合物，得到式C6之2'-酮化合物。用溴化甲基三苯基磷/六甲基二矽烷胺基鉀進行維蒂希烯化，得到式C7化合物。在市售甲苯磺醯基氰化物及苯基矽烷存在下，用適當鈷催化劑(本文詳細描述之合成方法)處理式C7化合物中之烯烴，得到所要化合物C8。隨後使用氟化四丁銨移除矽烷基保護基，繼而去除經保護芳基胺基之保護基，得到式C9化合物。

流程D展示適用於製備式D3之核苷化化合物的方法，該等化合物對應於式(I)化合物，其中X為O；R²為H；R³為甲基；B如上文對於式(I)化合物所定義；且R¹為：



流程 D

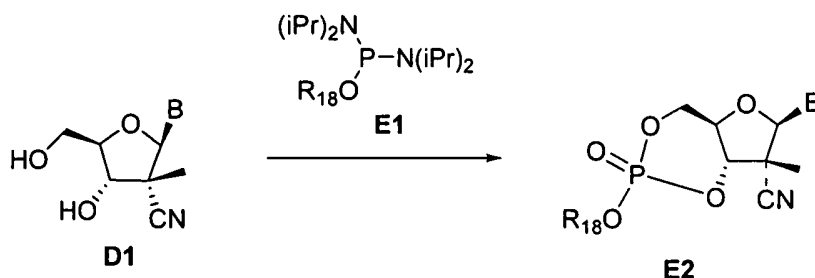


其中B、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶及R¹⁷如上文對於式(I)化合物所定

義。

可在溴化第三丁基鎂或N-甲基咪唑存在下使式D1化合物與式D2化合物(式D2化合物可使用US 7,879,815 B2號中所述之方法合成)偶合，得到式D3化合物。

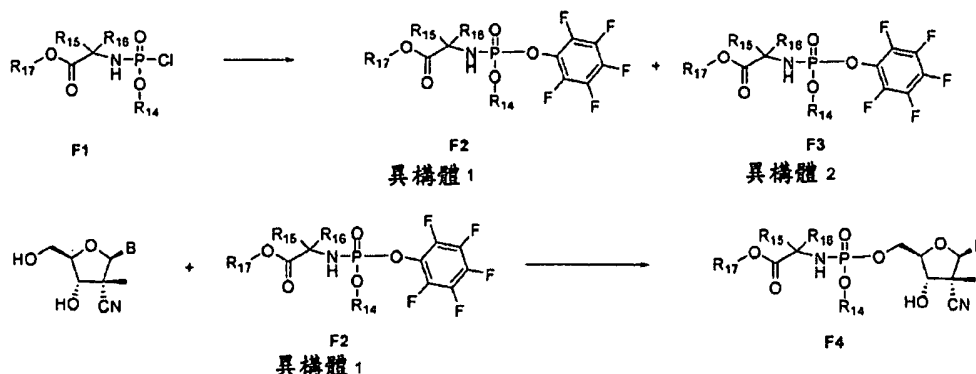
流程 E



其中B及R¹⁸如上文對於式(I)化合物所定義。

式D1化合物可與式E1之胺基磷酸酯化合物反應，繼而用例如間氯過苯甲酸氧化，得到式E2之環狀磷酸酯。

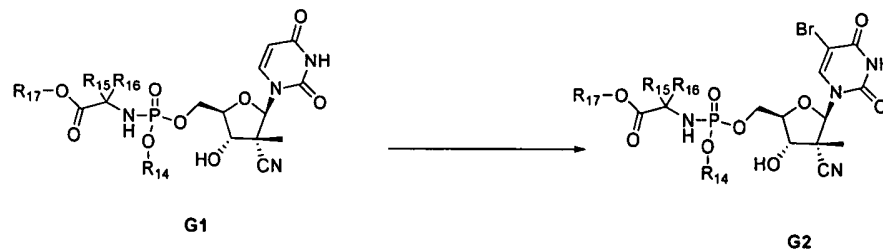
流程 F



其中B、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶及R¹⁷如上文對於式(I)化合物所定義。

可用五氟苯酚處理類型F1之化合物，得到兩種異構體F2及F3。此等異構體可個別地與F3反應，得到類型F4之化合物。

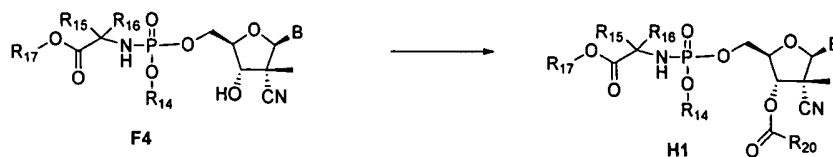
流程 G



其中 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 及 R^{17} 如上文對於式(I)化合物所定義。

可用諸如 N-溴代丁二醯亞胺之試劑溴化類型 **G1** 之化合物，得到類型 **G2** 之化合物。

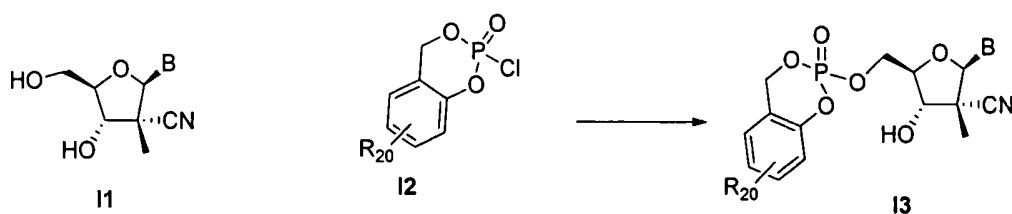
流程 H



其中 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 及 R^{20} 如上文對於式(I)化合物所定義。

可使類型 **F4** 之化合物與各種乙醯基化試劑反應，得到類型 **H1** 之化合物。

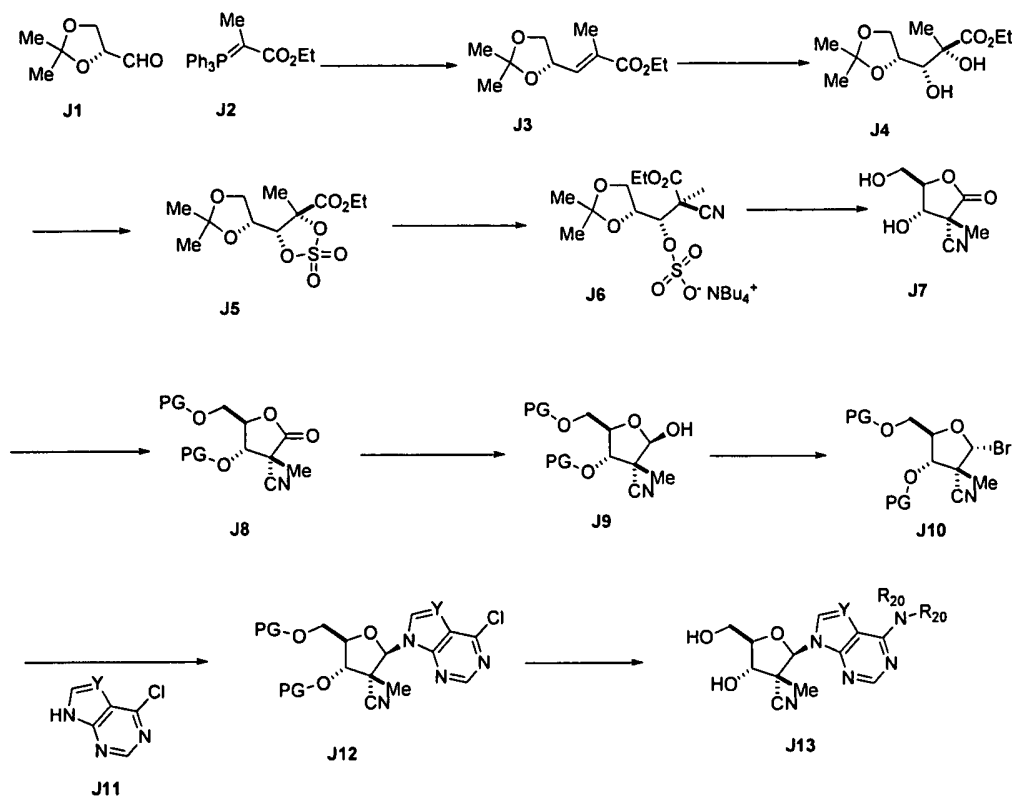
流程 I



其中 B 及 R^{20} 如上文對於式(I)化合物所定義。

可用類型 **I2** 之化合物處理類型 **I1** 之化合物，得到類型 **I3** 之化合物。

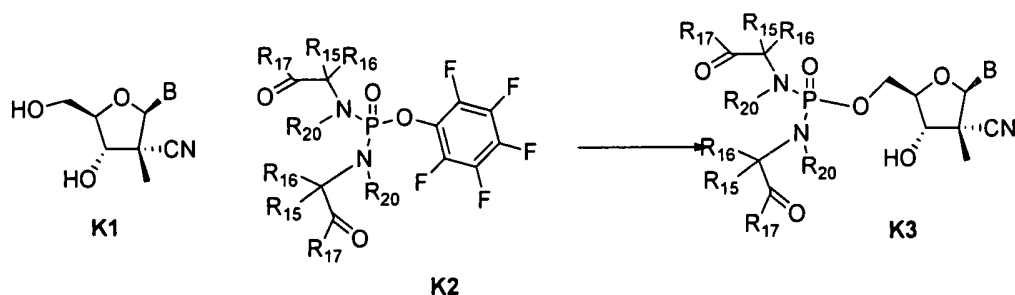
流程 J



其中 Y 及 R^{20} 如上文對於式 (I) 化合物所定義。

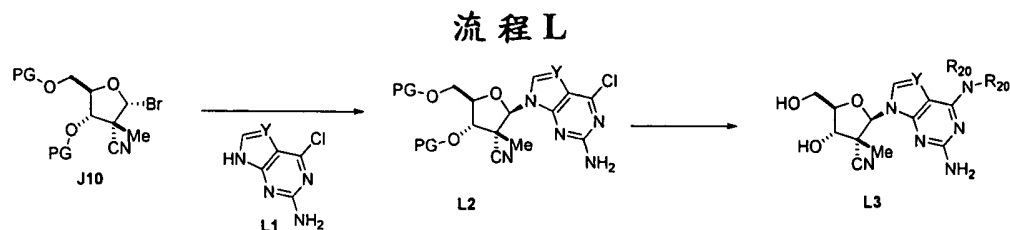
化合物 J1 與 J2 反應，得到 J3。此化合物可用適當試劑二羟基化，得到化合物 J4。使用硫醯氯使醇磺醯化，得到化合物 J5。可使用氰化物源打開環狀硫酸酯，得到 J6。用酸性條件處理化合物 J6，得到化合物 J7。可用各種保護基保護 J7 之二醇，得到 J8。用氫化物源(諸如第三丁氧基氫化鋰鋁)處理 J8，得到醇 J9。1'-羟基可轉化為溴化物 J10，其可用類型 J11 之鹼基置換，得到類型 J12 之化合物。去除 J12 之所有保護基，得到 J13。

流程 K



其中B及R²⁰如上文對於式(I)化合物所定義。

可用類型K2之化合物處理類型K1之化合物，得到類型K3之化合物。



其中R²⁰如上文對於式(I)化合物所定義。

可用類型L1之化合物處理類型J10之化合物，得到類型L2之化合物。L2可隨後與各種胺反應，得到類型L3之化合物。

式A6、B6、C9、D3、E2、F4、G2、H1、I3、J13、K3及L3之化合物可使用熟習有機合成之技術者熟知之方法或例如以下實例中所述之方法進一步闡述以構成式(I)化合物之完整範疇。

熟習有機合成之技術者應認識到合成具有多個反應官能基(諸如-OH及NH₂)之化合物可能需要保護特定官能基(亦即，出於與特定反應條件化學相容之目的進行衍生)。此等化合物之各種官能基的適合保護基及其安裝及移除方法為有機化學技術中所熟知。諸多此等方法之概述可見於Greene中。

熟習有機合成之技術者亦應認識到視附接取代基之選擇而定，合成式(I)化合物之一種途徑可能較適宜。另外，熟習相關技術者應認識到，在一些情況下，反應次序可能不

同於本文所提供之反應次序以避免官能基不相容性，由此相應地調整合成途徑。

所用起始物質及使用流程A-L中所述之方法製備的中間物必要時可使用習知技術(包括(但不限於)過濾、蒸餾、結晶、層析及其類似技術)分離且純化。該等物質可使用習知方法(包括物理常數及光譜數據)表徵。

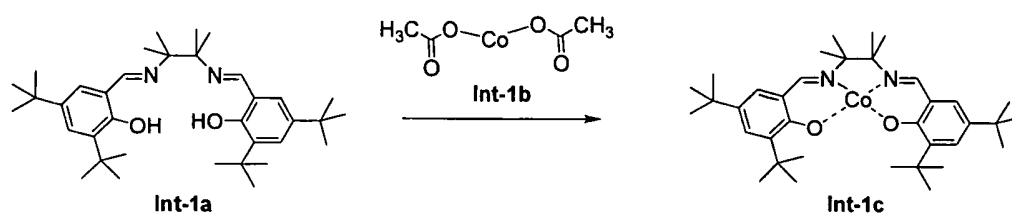
實例

通用方法

市售溶劑、試劑及中間物原樣使用。無法購得之試劑及中間物以下述方式製備。¹H NMR譜在Varian VNMR系統400(400 MHz)上獲得，且以相對於Me₄Si之低磁場百萬分率形式報導，同時在括號中表明質子數、多峰性及偶合常數(赫茲)。若提供LC/MS資料，則使用Agilent 6110A MSD或Applied Biosystems API-100質譜儀及Shimadzu SCL-10A LC管柱執行分析：Altech platinum C18，3微米，33 mm×7 mm ID；梯度流：0分鐘-10% CH₃CN，5分鐘-95% CH₃CN，5-7分鐘-95% CH₃CN，7分鐘-停止。提供母離子。使用預裝填正相二氧化矽(來自Isco, Biotage, Inc.)或散裝二氧化矽(來自Fisher Scientific)執行矽膠急驟層析。除非另外指明，否則矽膠急驟層析係使用己烷/乙酸乙酯之梯度溶離由100%己烷至100%乙酸乙酯執行。

實例1

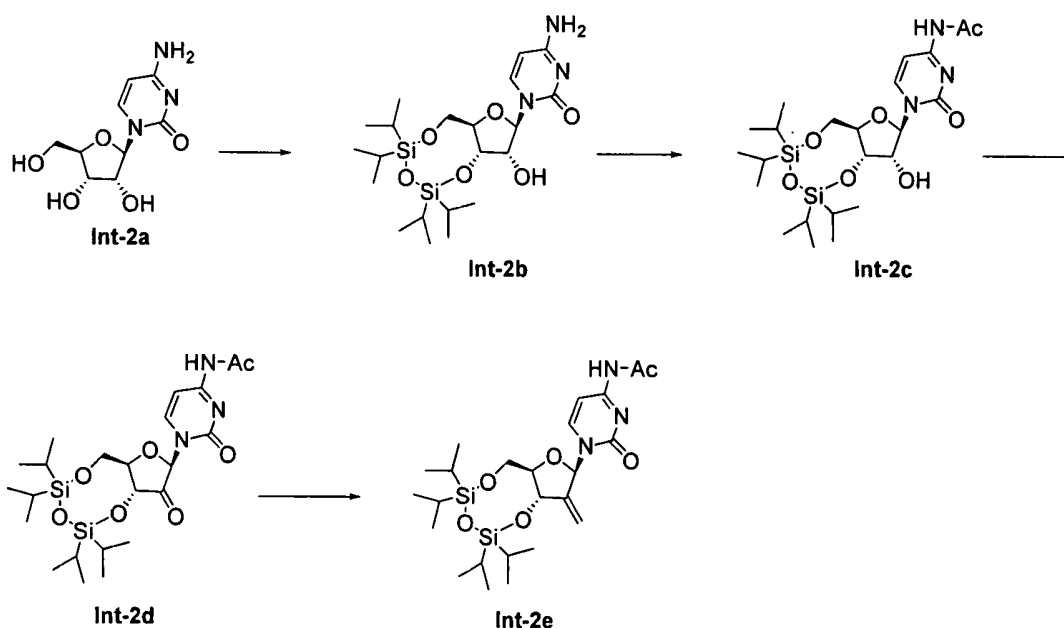
製備中間化合物Int-1c



將化合物 **Int-1a** (733 mg, 1.33 mmol) 懸浮於乙醇 (10 mL) 中，加熱所得懸浮液至 80℃ 且攪拌 5 分鐘。隨後添加化合物 **Int-1b** (236 mg, 1.33 mmol) 且在 80℃ 下再攪拌所得反應物 2 小時。隨後使用冰浴冷卻反應物至室溫且過濾反應混合物。在真空下乾燥所收集之紅色固體，得到化合物 **Int-1c** (579 mg, 72%)。

實例 2

製備中間化合物 **Int-2e**



步驟 A- 合成化合物 **Int-2b**

使胞苷 (**Int-2a**, 8.0 g, 32.89 mmol) 與吡啶 (2×15 mL) 一起共沸，隨後懸浮於吡啶 (25 mL) 中。經十五分鐘向懸浮液中逐滴添加二氯化四異丙基二矽氧烷 (12.0 mL, 35.4 mmol) 且在室溫下攪拌所得反應物約 15 小時。用水稀釋反

應混合物且用乙酸乙酯萃取。用鹽水洗滌有機萃取物，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。用庚烷濕磨所得殘餘物，得到 13.5 g 呈白色固體狀之化合物 **Int-2b**， $[M+H]=486.5$ 。

步驟B-合成化合物 *Int-2c*

將化合物 **Int-2b** (13.5 mmol, 27.8 mmol) 溶解於乙醇 (200 mL) 中且用乙酸酐 (10 mL) 處理。加熱所得反應物至 65°C 且在此溫度下攪拌 3 小時，隨後在真空中濃縮反應混合物。在冰浴中冷卻所得殘餘物至 0°C 且用飽和碳酸氫鈉處理，隨後用乙酸乙酯萃取。經硫酸鈉乾燥有機萃取物，過濾且在真空中濃縮，得到 14.5 g 化合物 **Int-2c**，其不經進一步純化即可使用。 $[M+H]=528.6$

步驟C-合成化合物 *Int-2d*

冷卻化合物 **Int-2c** (8.0 g, 15.15 mmol) 於二氯甲烷 (120 mL) 中之溶液至 0°C，隨後添加戴斯馬丁高碘烷 (15 g, 34.3 mmol)。在室溫下攪拌所得反應物約 15 小時，隨後用乙醚 (400 mL) 稀釋。用飽和碳酸氫鈉與 10% 硫代硫酸鈉之混合物 (1:1) 洗滌所得溶液。收集有機相且經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到 7.8 g 化合物 **Int-2d**，其不經純化即可使用。 $[M+H]=526$ 。

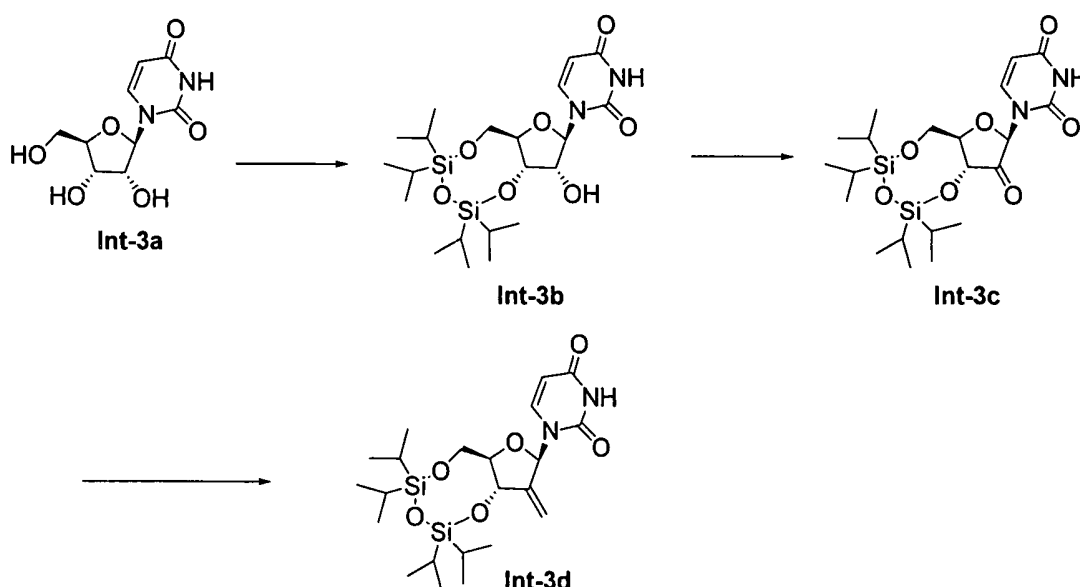
步驟D-合成化合物 *Int-2e*

用四氫呋喃 (25 mL) 稀釋溴化甲基三苯基磷 (2.72 g, 7.6 mmol)，且向所得懸浮液中添加 KHMDs (0.5 M, 14.5 mL, 7.22 mmol)。在室溫下攪拌所得反應物 20 分鐘，隨後使用

冰浴冷卻反應物至0℃且逐滴添加化合物 **Int-2d** (1.0 g, 1.9 mmol) 於四氫呋喃 (5 mL) 中之溶液。使所得反應物升溫至室溫且攪拌4小時，隨後用飽和氯化銨淬滅反應且用乙酸乙酯萃取。用鹽水洗滌有機萃取物，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。使用矽膠急驟層析 (2:1 己烷/乙酸乙酯) 純化所得殘餘物，得到 750 mg 化合物 **Int-2e**。[M+H]=524.5

實例 3

製備中間化合物 **Int-3d**



步驟A-合成化合物 **Int-3b**

使尿苷 (**Int-3a**, 5.0 g, 18.0 mmol) 與吡啶 (2×15 mL) 一起共沸，隨後懸浮於吡啶 (25 mL) 中。經十五分鐘逐滴添加二氯化四異丙基二矽氧烷 (6.06 mL, 18.95 mmol) 且在室溫下攪拌反應物約15小時。用水稀釋反應物且用乙酸乙酯萃取。用鹽水洗滌有機層，經硫酸鈉乾燥且在真空中濃縮。使殘餘物與甲苯 (2×50 mL) 一起共沸，得到 7.8 g 呈白

色固體狀之化合物 **Int-3b**，其不經純化即可使用。
 $[M+H]=487.42$ 。

步驟B-合成化合物 **Int-3c**

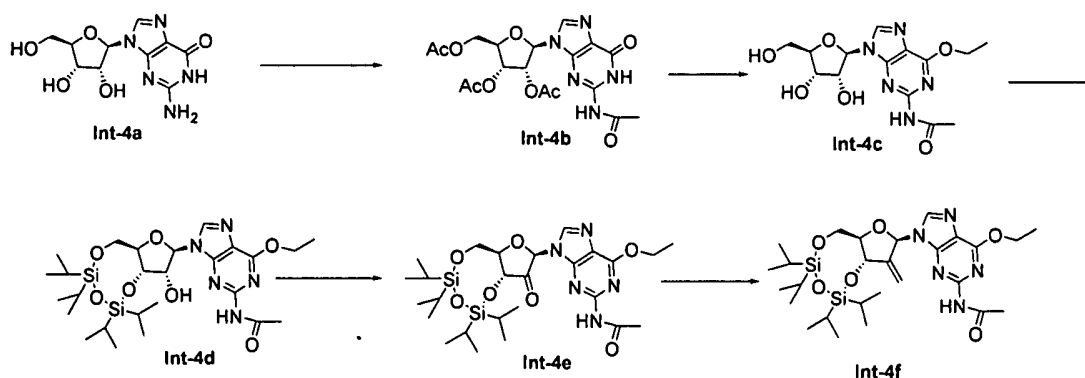
使用實例2步驟C中所述之方法將化合物 **Int-3b**轉化為化合物 **Int-3c** (3.8 g)。 $[M+H]=485.2$

步驟C-合成化合物 **Int-3d**

使用實例2步驟D中所述之方法將化合物 **Int-3c**轉化為化合物 **Int-3d** (750 mg)。 $[M+H]=505.2$ 。

實例4

製備中間化合物 **Int-4f**



步驟A-合成化合物 **Int-4b**

將鳥苷水合物(**Int-4a**，15 g，53 mmol)溶解於吡啶(120 mL)及乙酸酐(60 mL)中。添加N,N-二甲基氨基吡啶(6.46 g，53 mmol)，加熱反應物至70℃且在此溫度下攪拌3小時。隨後於冰浴中冷卻反應物且用甲醇(60 mL)逐滴處理。隨後在真空中部分濃縮反應混合物至其體積之一半。用二氯甲烷稀釋所得溶液且依序用0.2 M硫酸二氫鉀、水及碳酸氫鈉洗滌。隨後經硫酸鈉乾燥有機相，過濾且在真

空中濃縮，得到殘餘物，使用矽膠急驟層析(5%甲醇之二氯甲烷溶液)純化，得到22 g化合物**Int-4b**。[M+H]=452.2

步驟B-合成化合物**Int-4c**

將化合物**Int-4b**(3.2 g, 7.09 mmol)溶解於二噁烷(50 mL)中且用三苯基膦(2.23 g, 8.5 mmol)、偶氮二甲酸二異丙酯(1.65 mL, 8.5 mmol)及乙醇(391 mg, 8.5 mmol)處理。在室溫下攪拌反應物十五分鐘，隨後在真空中濃縮反應混合物。將所得殘餘物溶解於甲醇(15 mL)及氫氧化銨(15 mL)中且攪拌3小時。過濾反應混合物且在真空中乾燥所收集之固體，得到1.4 g化合物**Int-4c**。隨後在真空中濃縮濾液且用氮仿濕磨所得殘餘物，又得到0.5 g化合物**Int-4c**。[M+H]=354.2

步驟C-合成化合物**Int-4d**

使化合物**Int-4c**(1.46 g, 4.13 mmol)與吡啶(2×20 mL)一起共沸，隨後懸浮於吡啶(30 mL)中。經十五分鐘逐滴添加二氯化四異丙基二矽氧烷(1.43 g, 4.43 mmol)且在室溫下攪拌反應物3小時。用水(1 mL)稀釋反應物且在真空中濃縮所得溶液。用水及乙酸乙酯稀釋所得殘餘物，收集有機層且用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。使所得殘餘物與甲苯(2×50 mL)一起共沸且使用矽膠急驟層析(5%甲醇之二氯甲烷溶液)純化，得到2.25 g呈白色固體狀之化合物**Int-4d**，[M+H]=596.2。

步驟D-合成化合物**Int-4e**

使用實例2步驟C中所述之方法將化合物**Int-4d**轉化為化

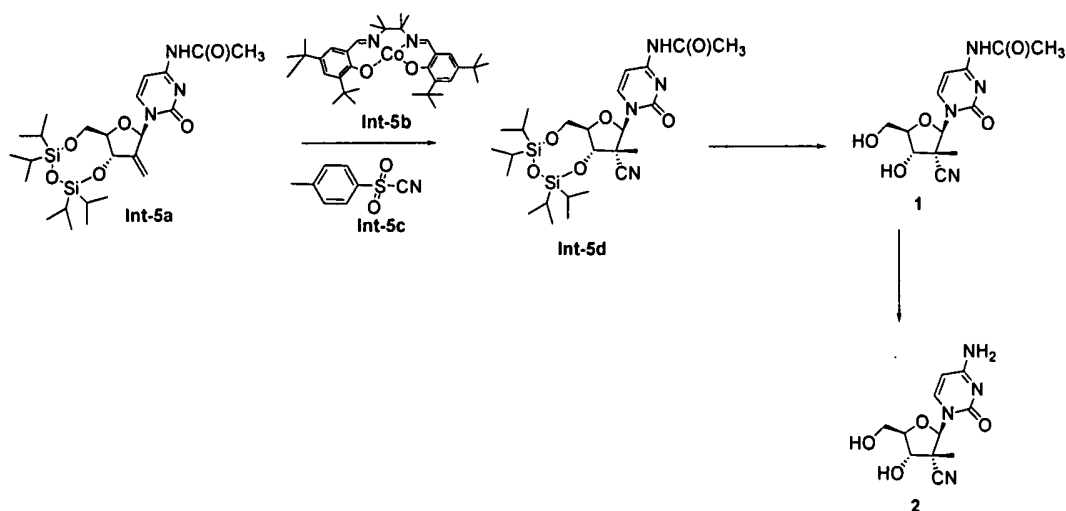
合物 **Int-4e**。使用矽膠急驟層析(己烷/乙酸乙酯 0%→100%)
純化產物，得到 260 mg 化合物 **Int-4e**。[M+H]=594.2

步驟E-合成化合物 *Int-4f*

使用實例2步驟D中所述之方法將化合物 **Int-4e** 轉化為化合物 **Int-4f**，進行矽膠急驟層析(2:1 己烷/乙酸乙酯)純化，
得到 170 mg 化合物 **Int-4f**。[M+H]=592.2

實例 5

製備化合物 1 及 2



步驟A-合成化合物 *Int-5d*

將化合物 **Int-5a** (300 mg, 0.57 mmol)、化合物 **Int-1c** (10 mg) 及化合物 **Int-5c** (3.1 g, 17.1 mmol) 溶解於二噁烷 (2 mL) 中且在室溫下攪拌所得反應物 5 分鐘。隨後經 2 分鐘逐滴添加苯基矽烷 (68 mg, 0.63 mmol) 於乙醇 (1 mL) 中之溶液且再攪拌反應物 30 分鐘。隨後用鹽水淬滅反應且用乙酸乙酯萃取。用鹽水洗滌有機萃取物，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。使用矽膠急驟層析(2:1 己烷/乙酸乙酯)純化所得殘餘物，得到化合物 **Int-5d** (80 mg)。[M+H]=

551.5

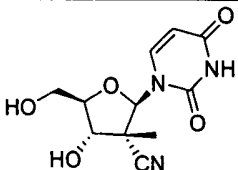
步驟B-合成化合物1

將化合物 **Int-5d** (23 mg, 0.042 mmol) 溶解於四氫呋喃 (1 mL) 中且向所得溶液中添加 TBAF (1.0 M, 0.1 mmol)。攪拌反應物 1 小時，隨後在真空中濃縮反應混合物且使用矽膠急驟層析 (20% 甲醇之二氯甲烷溶液) 純化粗殘餘物，得到 5.0 mg 化合物 1。

步驟C-合成化合物2

將化合物 1 (3.8 mg, 0.012 mmol) 溶解於 7 M 氨之甲醇溶液 (2 mL) 中且在室溫下攪拌 3 小時。在真空中濃縮反應物且使用矽膠急驟層析 (25% 甲醇之二氯甲烷溶液) 純化殘餘物，得到 3.0 mg 化合物 2。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ : 8.11 (d, 1H, J=7.58 Hz), 6.38 (s, 1H), 5.90 (bs, 1H), 4.0 (m, 3H), 3.8 (m, 1H), 1.27 (s, 3H)。

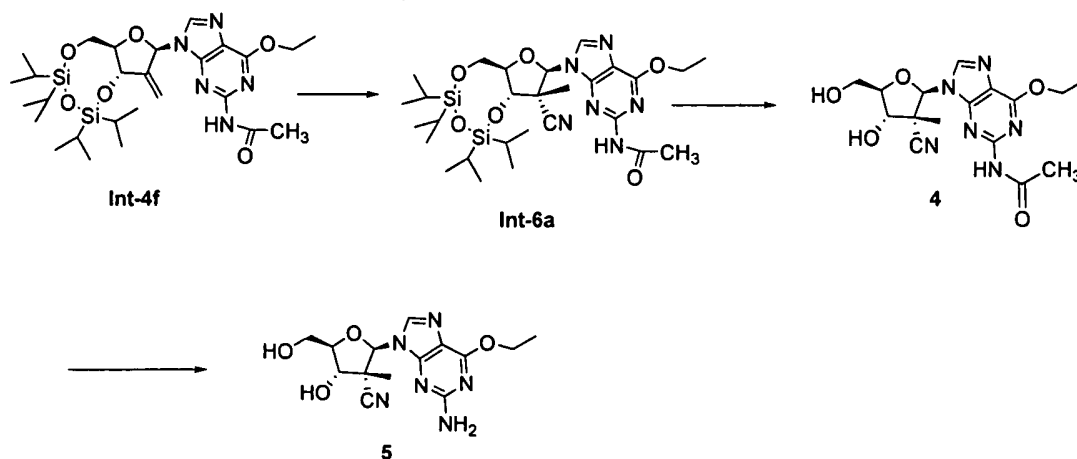
使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。

化合物編號	結構	MS (M + H)
3		290.2

化合物 3 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ : 8.13 (d, 1H, J=8.0 Hz), 6.33 (s, 1H), 5.7 (d, 1H, J=8.0 Hz), 4.06 (m, 1H), 4.0-3.95 (m, 2H), 3.79 (m, 1H), 1.33 (s, 3H)。

實例 6

製備化合物4及5



步驟A-合成化合物Int-4f

使用實例5步驟A中所述之方法將化合物**Int-4f**轉化為化合物**Int-6a**。

步驟B-合成化合物4

使用實例5步驟B中所述之方法將化合物**Int-6a**轉化為化合物**4**。

步驟C-合成化合物5

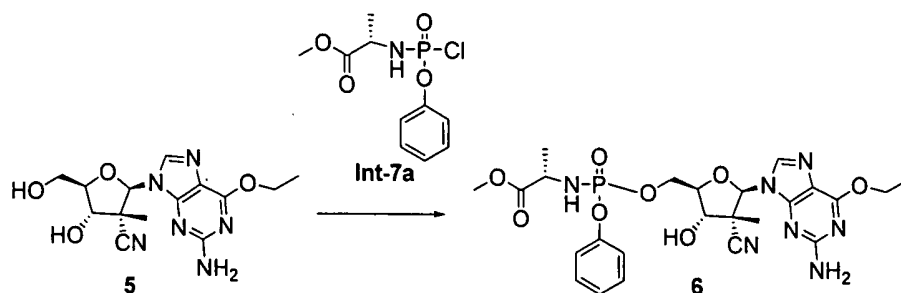
將化合物 4 (8 mg, 0.021 mmol) 溶解於 7 M 氨之甲醇溶液 (3 mL) 中且在 100°C 下在壓力管中攪拌隔夜。濃縮反應物且藉由管柱層析 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 0%-->5%) 純化, 得到 6 mg 化合物 5。[M+H]=335.2。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD): δ : 8.3 (s, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.52 (m, 2H), 4.4 (d, 1H), 4.0 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 1.42 (m, 3H), 1.13 (s, 3H)。

化合物編號	結構	MS (M + H)
31		321.2

化合物 31: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ : 8.32 (s, 1H), 6.46(s, 1H), 4.40 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 4.04 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 1.14 (s, 3H)。

實例 7

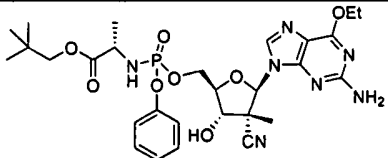
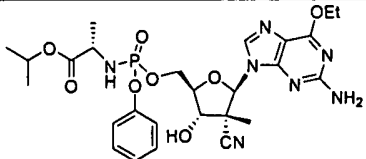
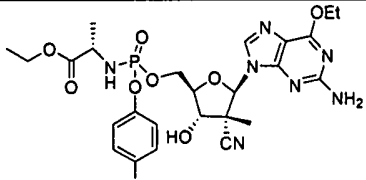
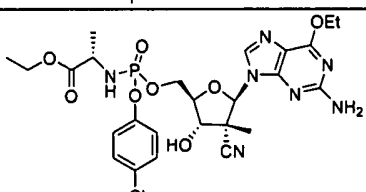
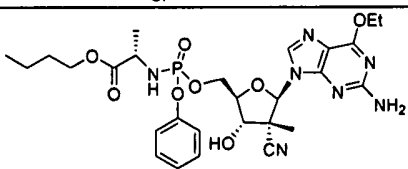
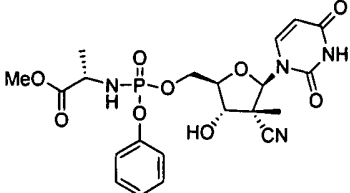
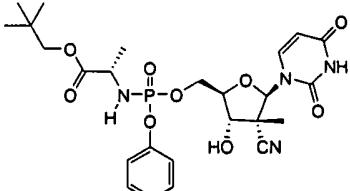
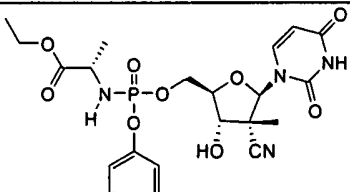
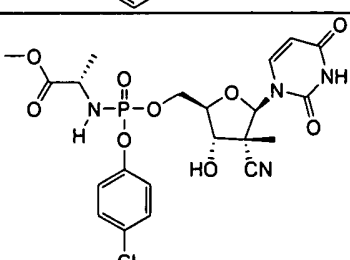
製備化合物 6

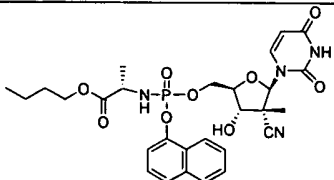
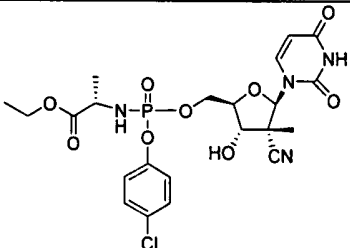
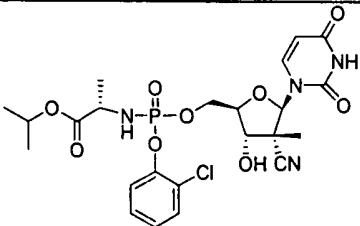


向化合物 5 (8 mg, 0.024 mmol) 及 N-甲基咪唑 (8 mg, 0.096 mmol) 於四氫呋喃 (2 mL) 中之溶液中逐滴添加化合物 Int-7a (26 mg, 0.096 mmol, 使用美國專利第 7,879,815 號中所述之方法製備) 於四氫呋喃 (1 mL) 中之溶液。在室溫下攪拌所得反應物 12 小時，隨後在真空中濃縮反應混合物且使用矽膠急驟層析 (5% 二氯甲烷 / 甲醇) 純化所得殘餘物，得到化合物 6 (3.5 mg)。

使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及 / 或試劑製備以下本發明化合物。

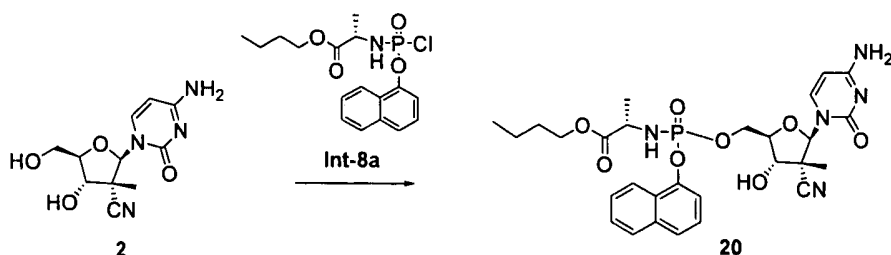
化合物編號	結構	MS (M + H)
7		668.7
8		590.2

9		631.7
10		603.7
11		607.7
12		623.7
13		617.7
14		509.2
15		565
16		523
17		543

18		601.2
19		557.0
30		571.2

實例 8

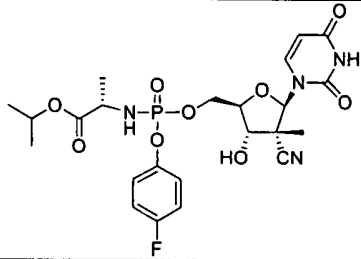
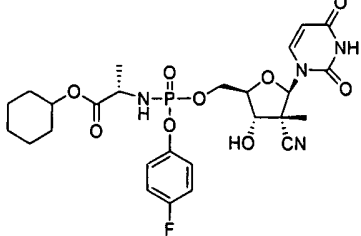
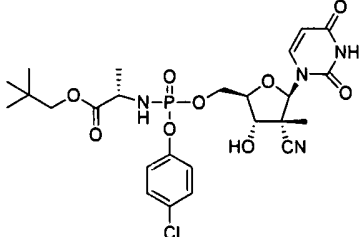
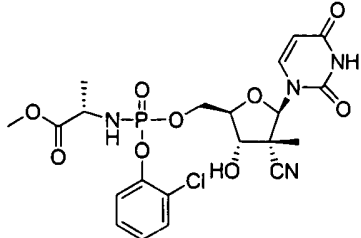
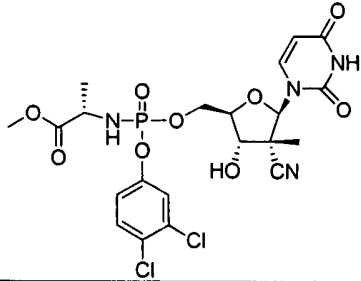
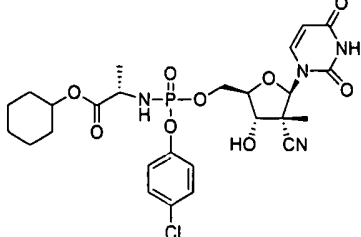
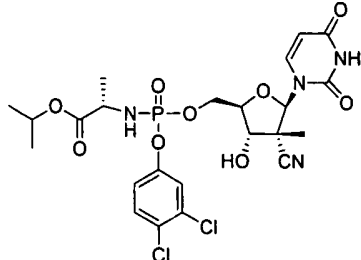
製備化合物 20

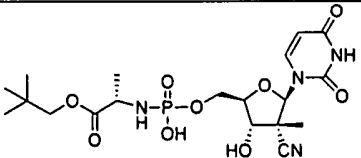
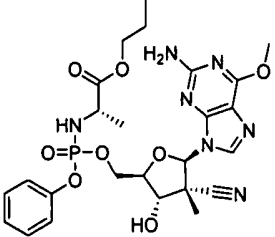
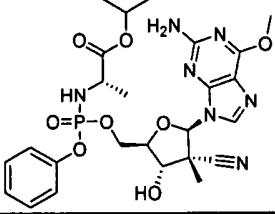
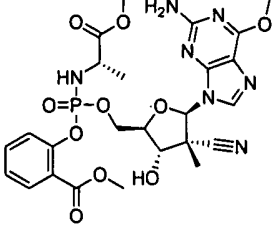
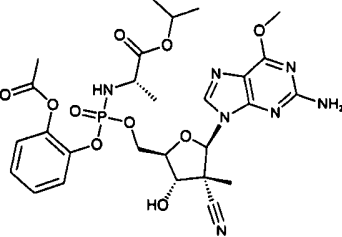
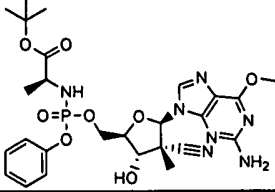
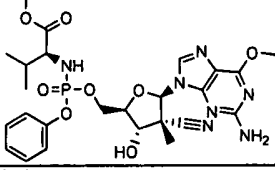
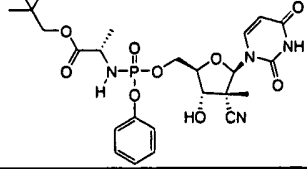
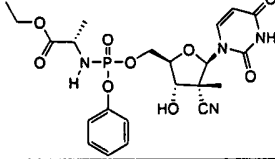


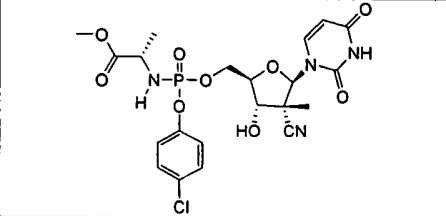
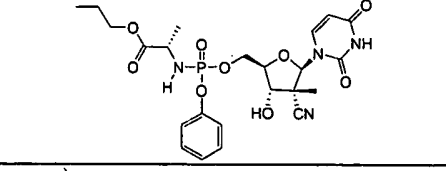
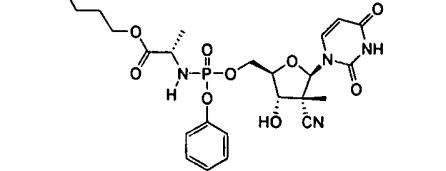
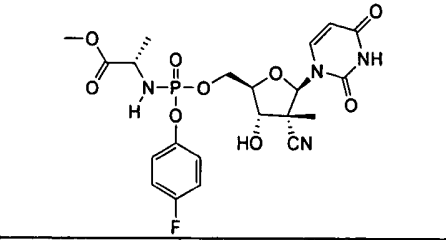
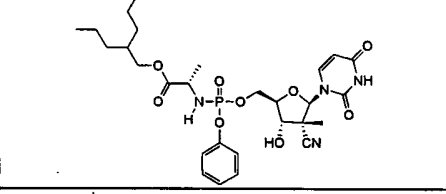
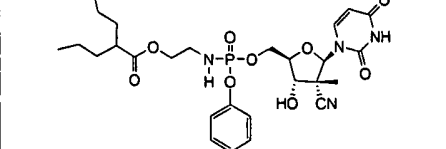
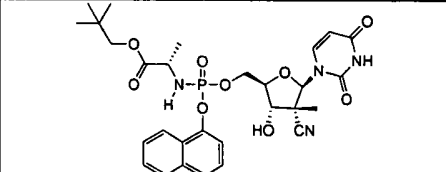
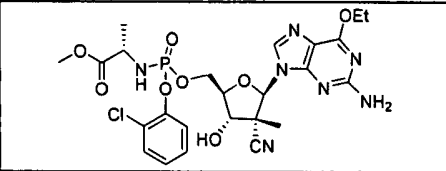
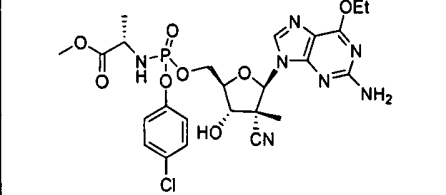
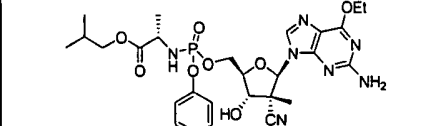
向化合物 2 (30 mg, 0.112 mmol) 於四氫呋喃 (2 mL) 中之懸浮液中添加氯化第三丁基鎂 (1.0 M, 0.394 mL, 0.394 mmol)。攪拌所得反應物 5 分鐘，隨後逐滴添加化合物 Int-8a (146 mg, 0.394 mmol, 使用美國專利第 7,879,815 號中所述之方法製備) 於四氫呋喃 (1 mL) 中之溶液。在室溫下攪拌所得反應物 12 小時，隨後用飽和氯化銨淬滅反應且用乙酸乙酯萃取。用鹽水洗滌有機萃取物，經硫酸鈉乾燥，過濾，在真空中濃縮且使用矽膠急驟層析 (10% 二氯甲烷/甲醇) 純化所得殘餘物，得到化合物 20 (6 mg)。

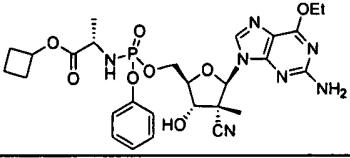
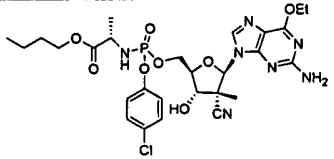
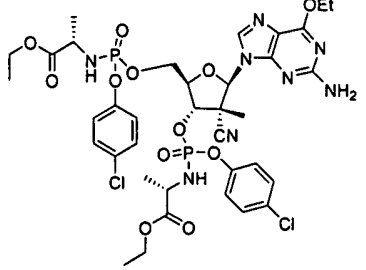
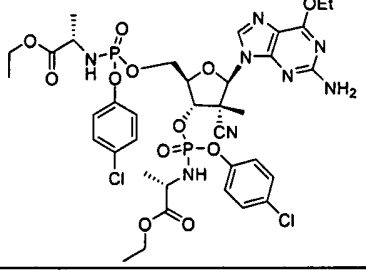
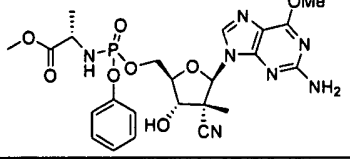
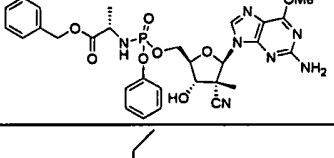
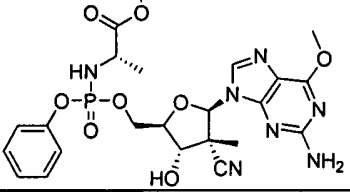
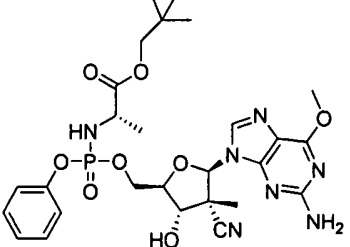
使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。

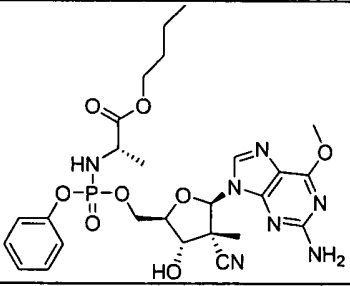
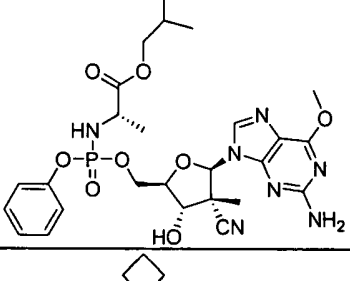
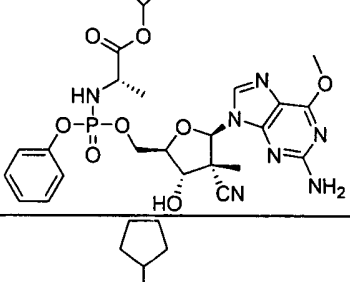
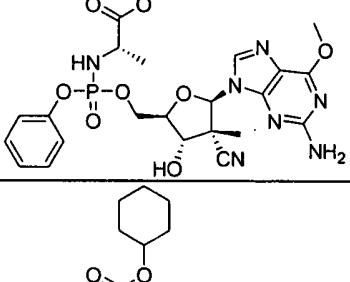
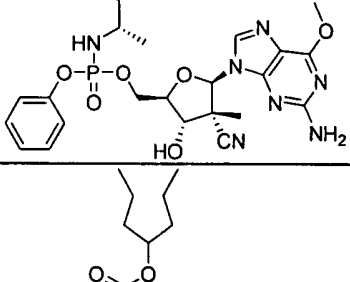
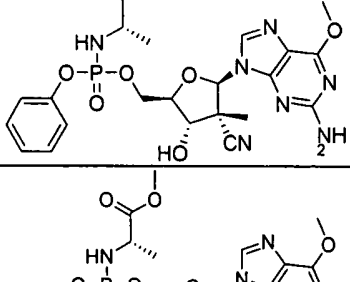
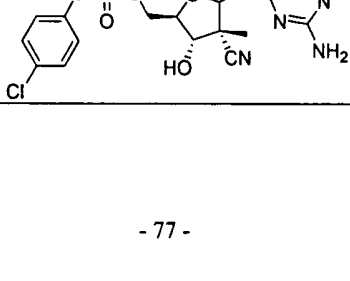
化合物編號	結構	MS (M + H)
21		508.2
22		564.2
59		537.2
65		585.2
68		577.2
71		559.0
78		541.2

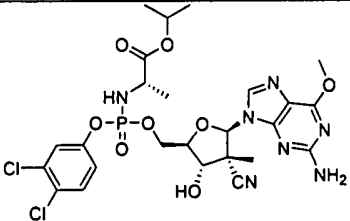
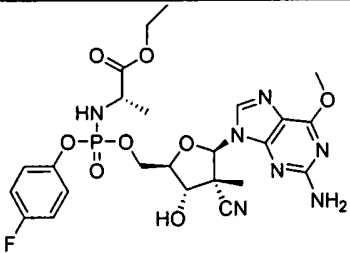
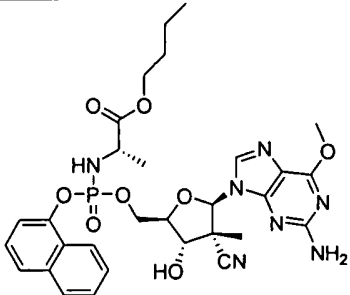
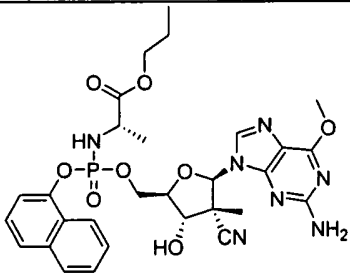
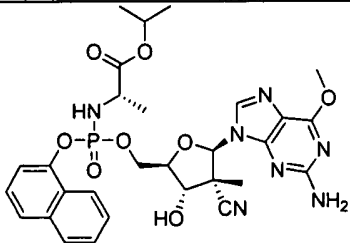
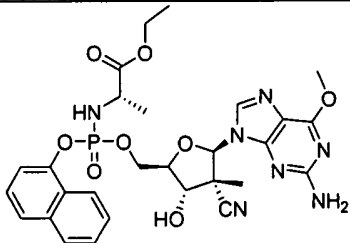
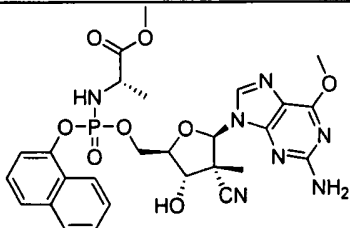
79		555.0
80		595.2
81		599.2
82		542.7
83		576.6
84		611.0
85		605.0

86		489.2
87		590.2
88		590.2
89		620.2
96		648.2
104		604.2
105		590.2
108		565
111		523

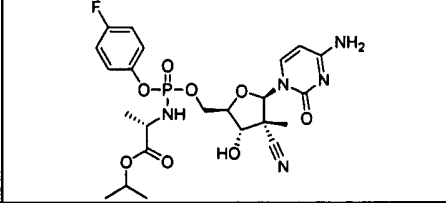
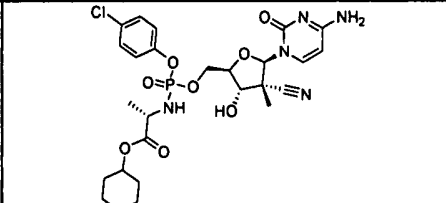
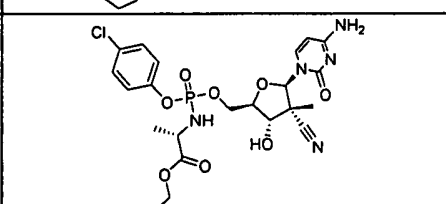
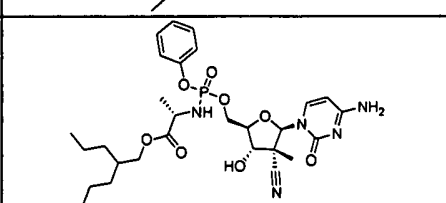
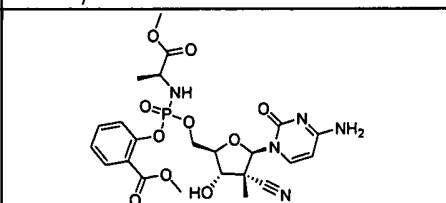
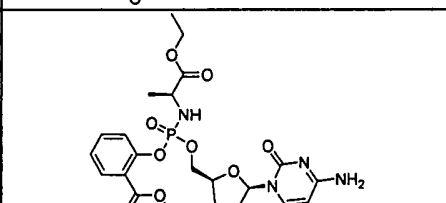
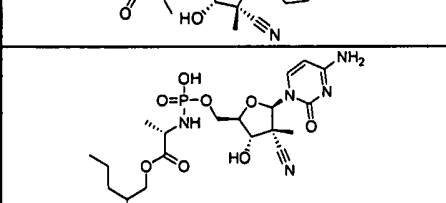
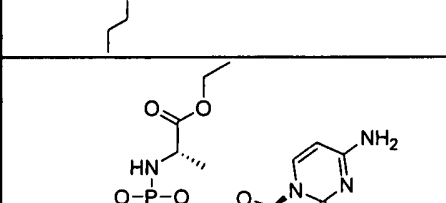
112		543
115		537
116		551
117		527
118		607
119		593
122		615
124		610.0
125		610.6
126		619.2

129		616.2
131		652.7
132		914.5
133		914.5
140		562.1
143		638.2
147		575.9
150		618.2

153		604.2
156		604.2
157		602.2
158		616.2
161		630.2
162		660.2
165		596.2

168		660.0
169		594.2
170		654.2
173		640.2
174		640.2
175		626.2
178		612.2

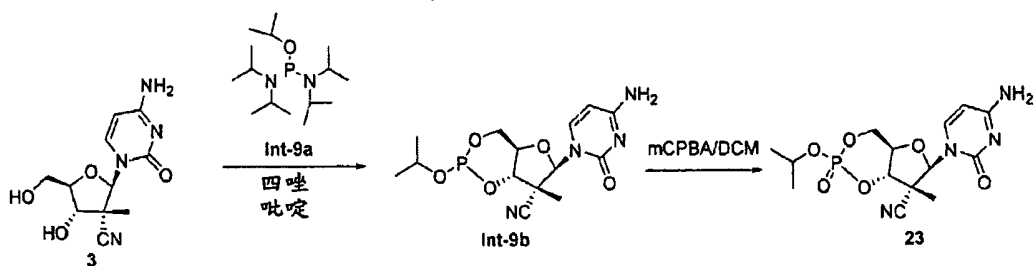
181		831.2
182		955.2
183		700.8
184		668.2
187		682.3
194		749.1
200		460.2

201		554.2
202		610.2
204		556.2
205		606.2
207		566
208		580
211		529.8
213		540.2

215		594.2
216		584.2
224		590.2
225		590.2
226		604.2
227		604.2

實例 9

製備化合物 23



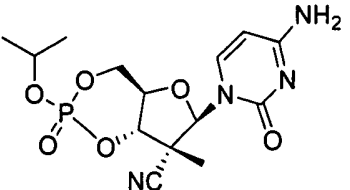
步驟A-合成化合物Int-9b

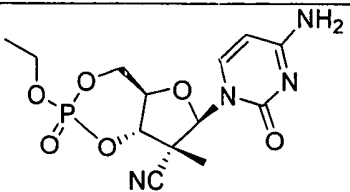
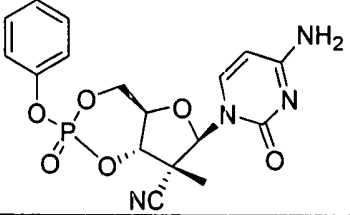
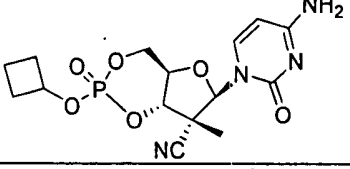
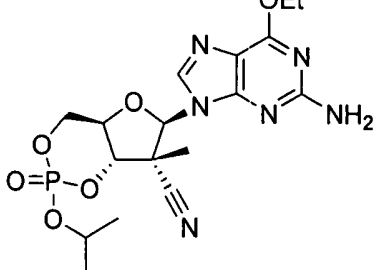
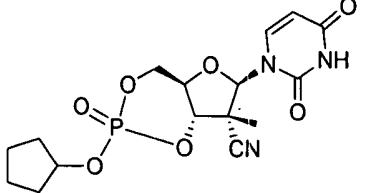
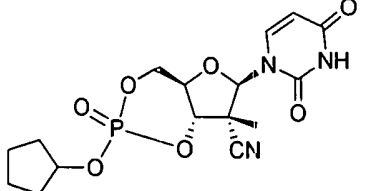
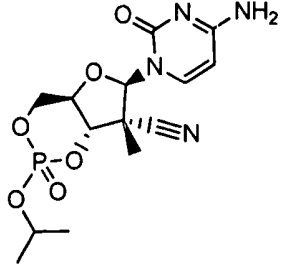
向化合物3(44 mg, 0.165 mmol)於吡啶(1 mL)中之溶液中依序添加四唑(0.92 mL, 0.413 mmol)於乙腈(1 mL)中之溶液及1-異丙氧基-N,N,N',N'-四異丙基磷二胺(Int-9a)。攪拌反應混合物2小時，隨後在真空中濃縮反應混合物且用EtOAc濕磨所得殘餘物。藉由過濾移除所形成之沈澱物且在真空中濃縮濾液，得到殘餘物，使用矽膠急驟層析(二氯甲烷/甲醇)純化，得到呈白色固體狀之化合物Int-9b(20 mg)，其不經進一步純化即可使用。

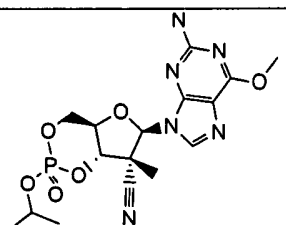
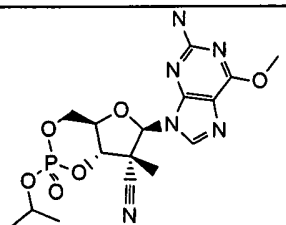
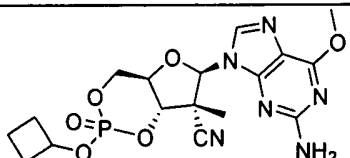
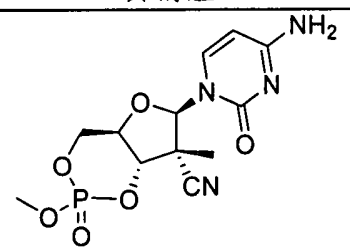
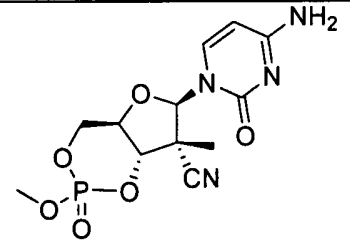
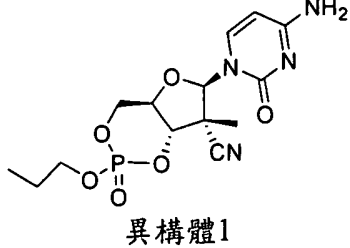
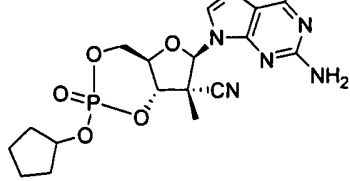
步驟B-合成化合物23

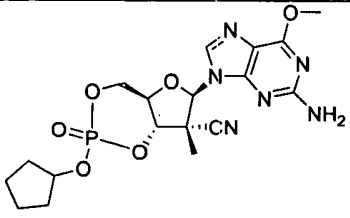
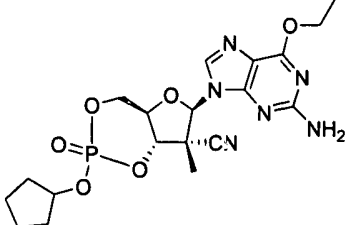
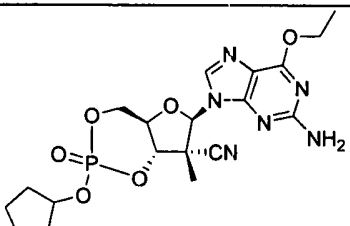
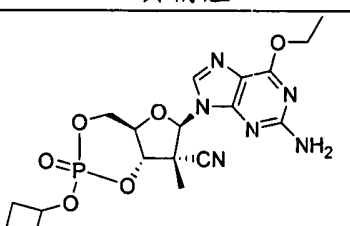
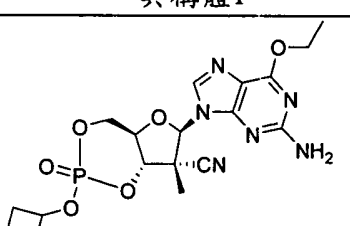
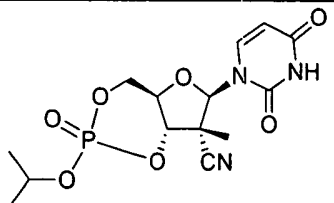
向化合物Int-9b(20 mg, 0.056 mmol)於二氯甲烷(2 mL)中之溶液中添加間氯過苯甲酸(15.2 mg, 0.068 mmol)且在室溫下攪拌所得反應物10分鐘。隨後用水稀釋反應混合物且用二氯甲烷(2×10 mL)萃取。在真空中濃縮經合併之有機萃取物且使用矽膠急驟層析(二氯甲烷/甲醇)純化所得殘餘物，得到白色固體產物。將白色固體產物溶解於CH₃CN(0.8 mL)及甲醇(0.2 mL)中且使用逆相HPLC再純化，得到化合物23(1.8 mg)，M+H=371.2。

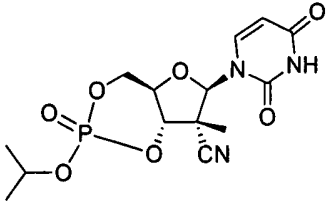
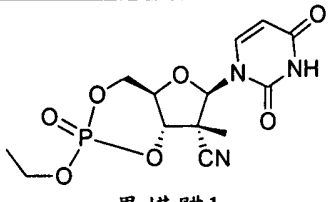
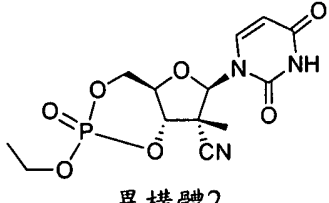
使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。

化合物編號	結構	MS (M + H)
24		371.2

25		357.2
26		405.2
27		383.2
28		438.9
32	 異構體1	420.0
33	 異構體2	420.0
34	 異構體2	371.2

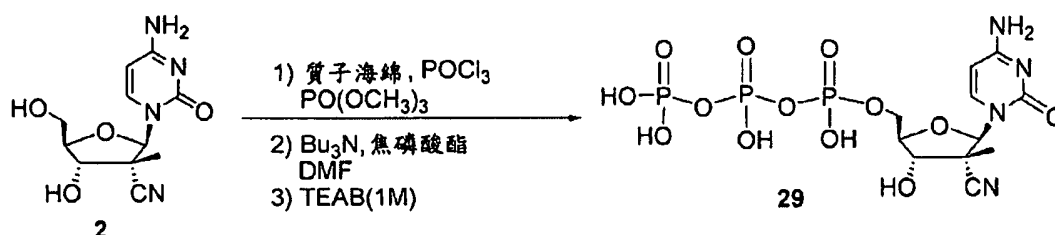
35	 異構體1	424.3
36	 異構體2	424.3
37	 異構體1	437.2
38	 異構體1	343.2
39	 異構體1	343.3
40	 異構體1	371.2
41	 異構體1	451.0

42	 異構體2	451.0
43	 異構體1	465.0
44	 異構體2	465.0
45	 異構體1	451.0
46	 異構體2	451.0
47	 異構體1	394.2 (M+Na)

48	 異構體2	394.2 (M+Na)
49	 異構體1	380.2 (M+Na)
50	 異構體2	380.2 (M+Na)

實例 10

製備化合物 29



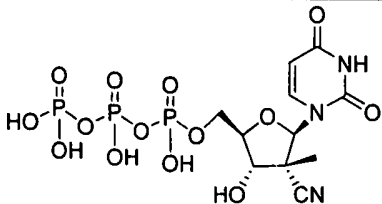
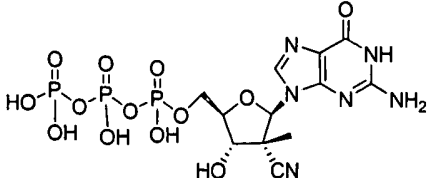
將 1-[(2R,3R,4S,5R)-3-氰基-4-羥基-5-(羥基甲基)-3-甲基氧雜環戊烷-2-基]-1,2,3,4-四氫嘓啶-2,4-二酮(2, 15 mg, 0.05 mmol, 1.00當量)於磷酸三甲酯(1.0 mL)中之溶液置於氮氣氛圍下。向此溶液中添加質子海綿(17 mg, 0.08 mmol, 1.50當量)且冷卻所得反應物至 0°C 。向冷卻溶液中添加磷醯三氯(32 mg, 0.21 mmol, 4.50當量)且在 0°C 下攪拌所得反應物4小時。隨後將焦磷酸酯(200 mg, 0.37 mmol, 5.00當量)、N,N-二甲基甲醯胺(1.0 mL)及三丁胺(0.03 mL, 10.00當量)添加至反應混合物中且在 0°C 下再攪

拌所得反應物1小時。隨後藉由添加3.0 mL碳酸氫三乙銨緩衝液(1 M)淬滅反應且在真空中濃縮所得溶液。使用如下製備型HPLC(1#-Pre-HPLC-001(SHIMADZU))純化所得殘餘物：管柱，1#-PrepC-008(Atlantis HILIC 二氧化矽 19×150 186003959 0110182551kk 03)，移動相：乙腈及含有50 mmol碳酸氫銨之水；偵測器，UV 220及254 nm。得到0.7 mg呈淡黃色固體狀之化合物**29**。¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ 7.96 (d, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.16 (d, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.31 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 1.31 (s, 3H)。

³¹P-NMR (162 MHz, D₂O): δ -10.01 (d, 1P), -10.62 (d, 1P), -22.28 (t, 1 P)

MS (ESI) m/z 506.7 [M]

使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。

化合物編號	結構	MS (M + H)
51		507.0
52		545.8

NMR化合物**51**：

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ 7.95 (d, 1H), 6.43 (s, 1H), 5.97 (d, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.32 (m, 1H),

4.19 (m, 1H), 1.38 (s, 3H)。

^{31}P -NMR (162 MHz, D_2O): δ -9.72 (bs, 1P), -10.7 (d, 1P), -22.3 (t, 1P)

MS (ESI) m/z 506.9 [M]。

NMR化合物 52：

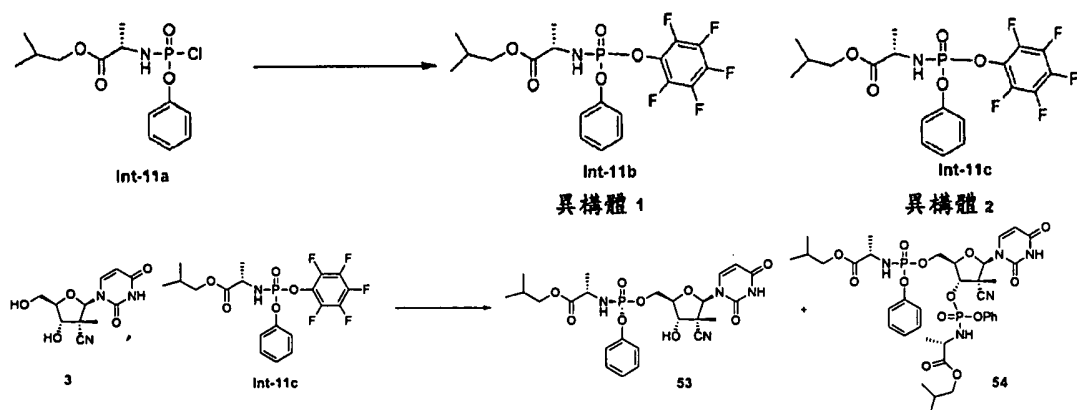
^1H -NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.09 (s, 1H), 6.5 (s, 1H), 4.62 (m, 1H), 4.39 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 1.23 (s, 3H)。

^{31}P -NMR (162 MHz, D_2O): δ -9.57 (bs, 1P), -10.6 (d, 1P), -22.18 (t, 1P)

MS (ESI) m/z 546.5 [M]。

實例 11

製備化合物 53、54



步驟A：合成Int-11b及11c

類型Int-11a之磷醯胺基氯化物反應物可使用美國專利第7,879,815號中所述之方法製備。

向經攪拌之Int-11a(14.2 g, 46.4 mmol)於二氯甲烷(112 mL)中之溶液中整份添加五氟苯酚(8.55 g, 46.4 mmol)。

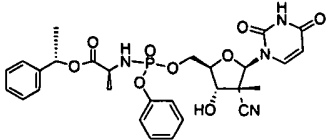
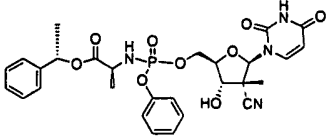
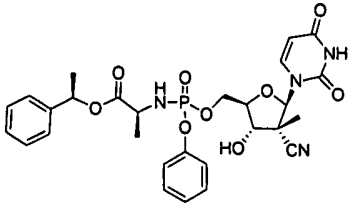
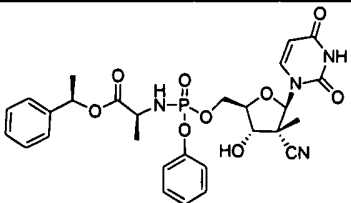
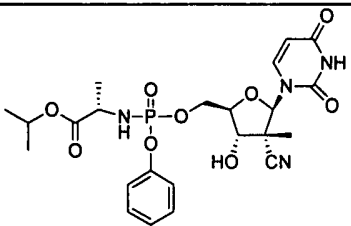
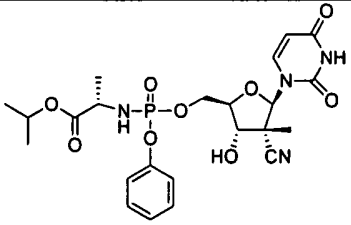
冷卻溶液至0°C且在氮氣下逐滴添加三乙胺(6.47 mL, 46.4

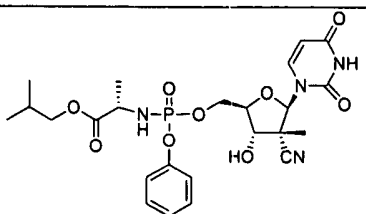
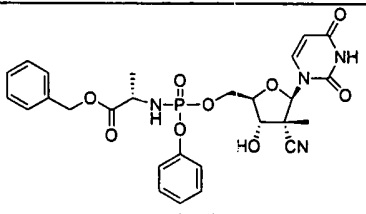
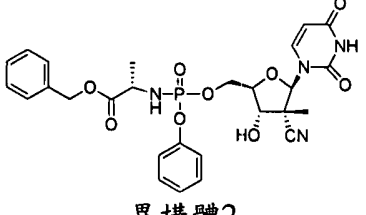
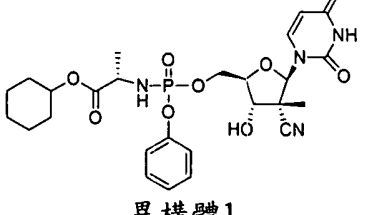
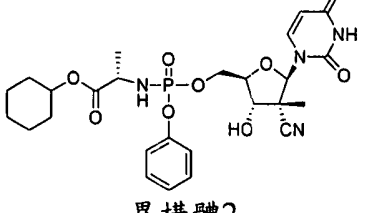
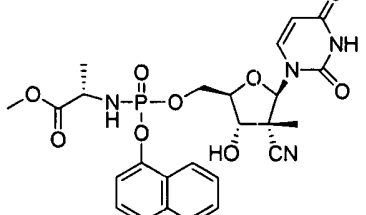
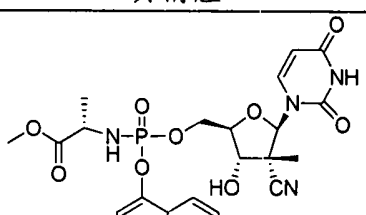
mmol)。在室溫下攪拌反應物隔夜。LCMS顯示主要為產物。用水(50 mL)洗滌反應混合物，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由矽膠層析(0-30%乙酸乙酯/己烷)純化殘餘物，得到12.56 g白色固體。使用10% MBTE/己烷使固體再結晶，得到6.15 g呈白色固體狀之**Int-11b**。在真空中濃縮母液且藉由矽膠層析(1:1己烷/乙酸乙酯)純化，得到4.04 g異構體**Int-11c**及805 mg額外**Int-11b**。

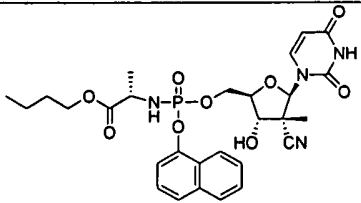
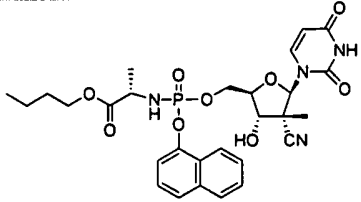
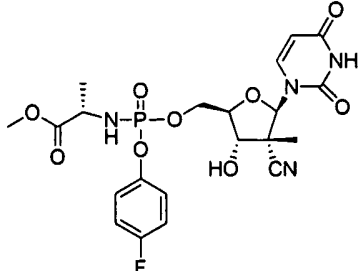
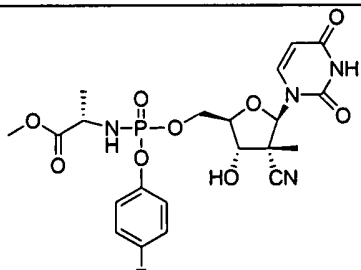
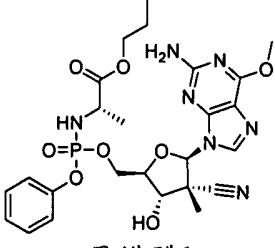
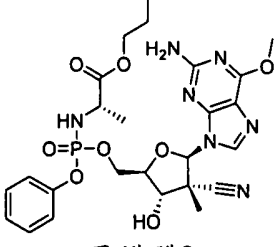
步驟B：合成53及54

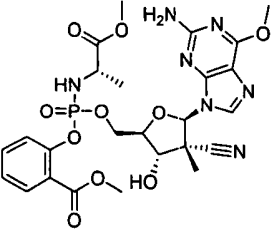
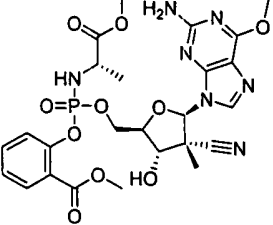
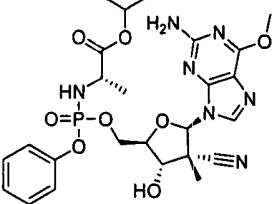
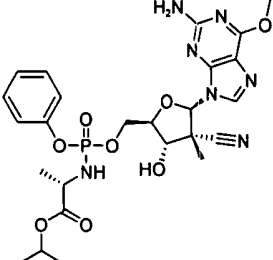
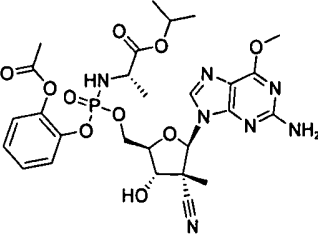
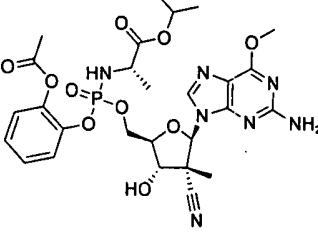
在0℃下用氯化第三丁基鎂之溶液(4.49 mL, 4.49 mmol)處理核苷**3**(500 mg, 1.87 mmol)於THF(10 mL)中之溶液。在0℃下攪拌反應物15分鐘，隨後逐滴添加**Int-11c**(962 mg, 2.06 mmol)於THF(13 mL)中之溶液。使反應物緩慢升溫至室溫且攪拌18小時。用飽和NH₄Cl溶液(20 mL)淬滅反應且用EtOAc(2×20 mL)萃取。經Na₂SO₄乾燥有機相，過濾且在真空中濃縮。藉由SiO₂層析(0-10% MeOH/DCM)純化，得到694.3 mg(67%產率)**53**、98.4 mg(6%產率)**54**及55.5 mg(11%)回收之**3**。¹H NMR **53** (400 MHz, CD₃OD) δ 7.66 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.40-7.36 (m, 2H), 7.28-7.21 (m, 3H), 6.34 (s, 1H), 5.65 (d, *J*=8.0 Hz), 4.50 (ddd, *J*=12.0, 6.4, 2.0 Hz, 1H), 4.38 (ddd, *J*=8.8, 6.4, 3.6 Hz, 1H), 4.13-4.00 (m, 1H), 4.03-3.97 (m, 2H), 3.93-3.84 (m, 2H), 1.91 (m, 1H), 1.38 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 1.30 (s, 3H), 0.93 (d, *J*=6.8 Hz, 6H)。式C₂₄H₃₁N₄O₉P之質量計算值550.2；觀測值MH⁺ (LCMS) 551.0 (*m/z*)。

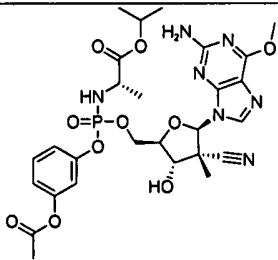
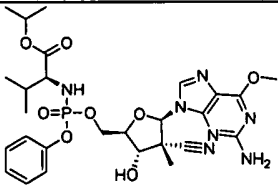
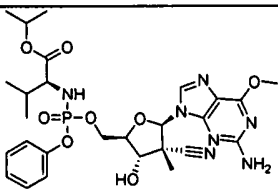
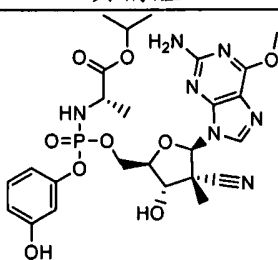
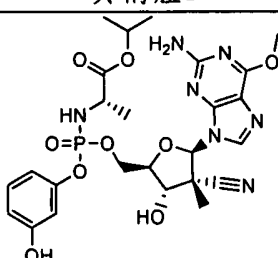
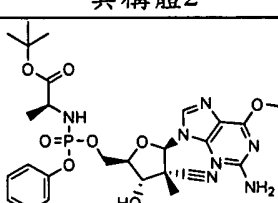
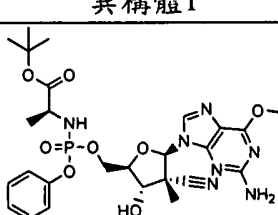
使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。請注意，異構體之命名為任意的且僅表明化合物為單一異構體。

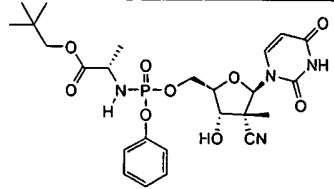
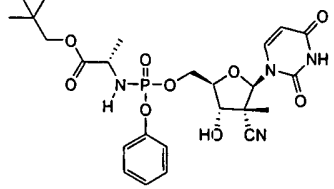
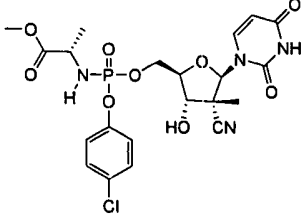
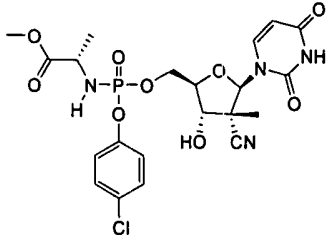
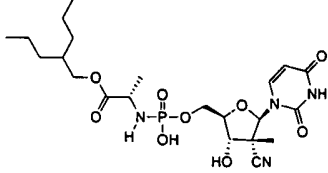
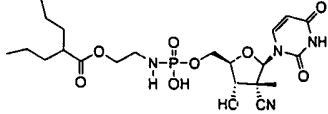
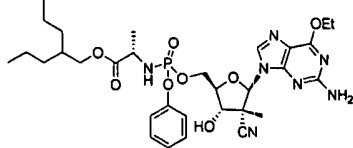
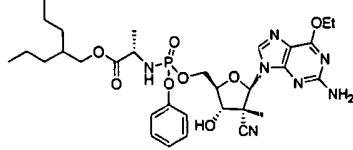
化合物編號	結構	MS (M + H)
55	 異構體1	620.7
56	 異構體2	620.8
57	 異構體1	621.2 (M+Na)
58	 異構體2	621.2 (M+Na)
60	 異構體1	537.2
61	 異構體2	537.2

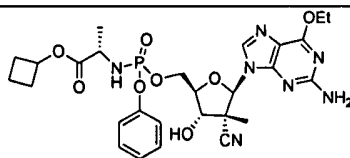
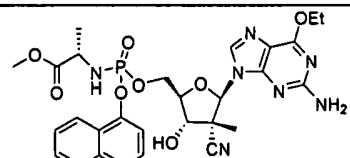
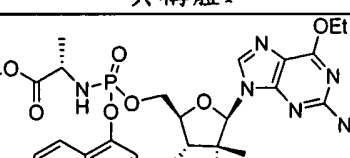
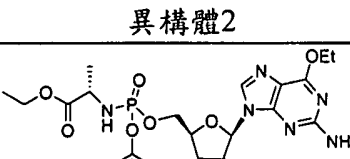
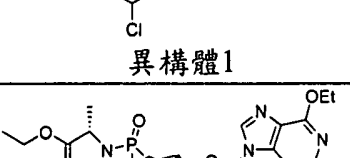
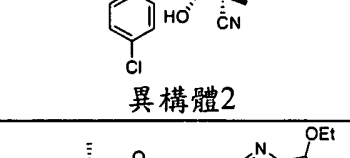
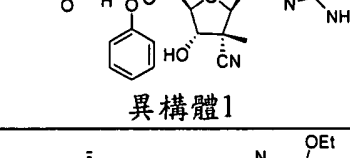
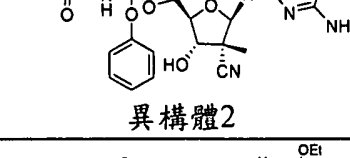
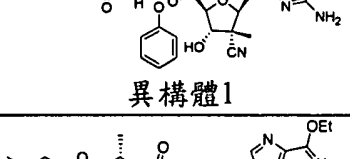
63	 異構體1	550.5
66	 異構體1	585.2
67	 異構體2	585.2
69	 異構體1	577.0
70	 異構體2	577.0
72	 異構體1	558.8
73	 異構體2	558.8

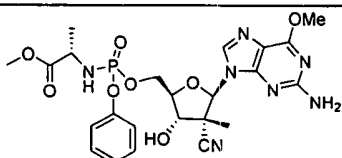
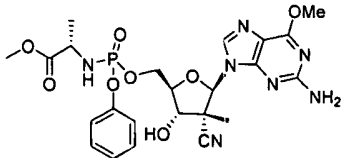
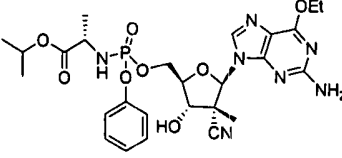
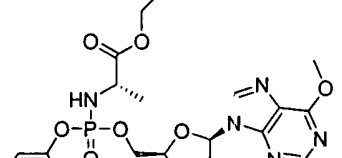
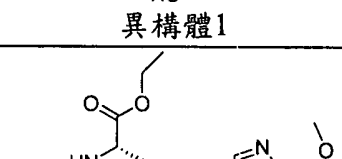
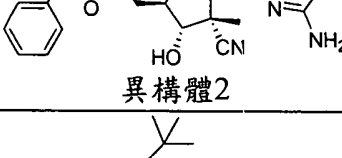
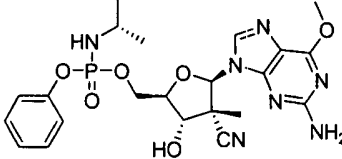
74	 異構體1	601.0
75	 異構體2	601.0
76	 異構體1	527.0
77	 異構體2	527.0
90	 異構體1	590.2
91	 異構體2	590.2

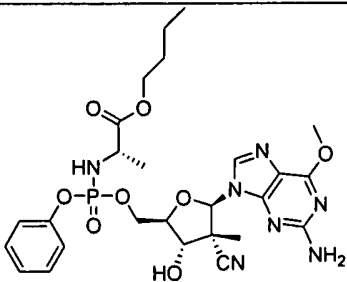
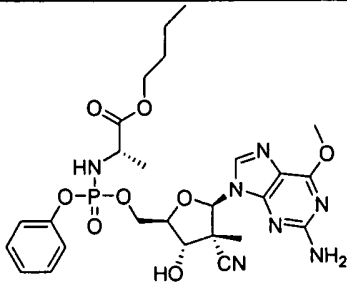
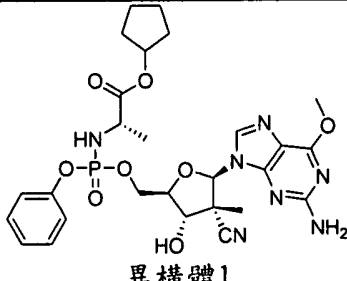
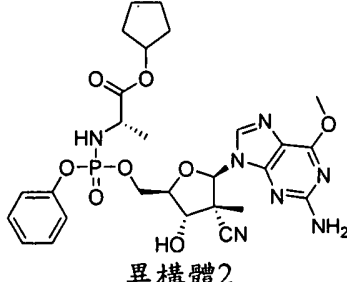
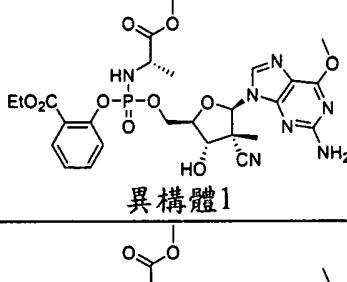
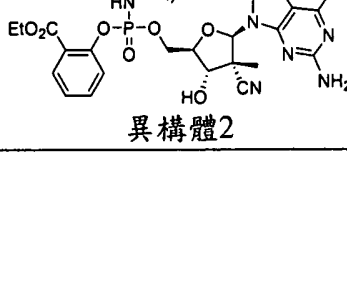
92	 異構體1	620.2
93	 異構體2	620.2
94	 異構體1	590.2
95	 異構體2	590.2
97	 異構體1	648.2
98	 異構體2	648.2

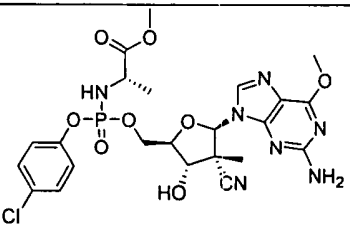
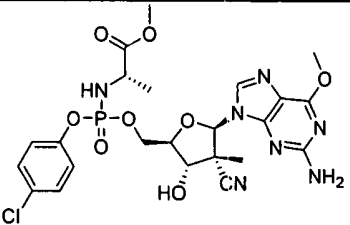
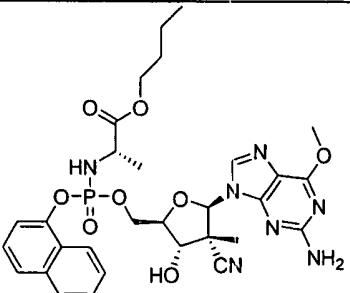
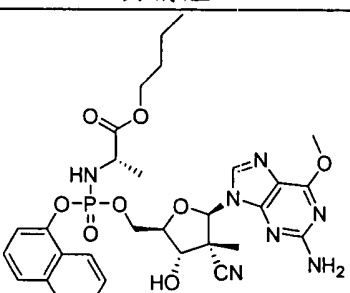
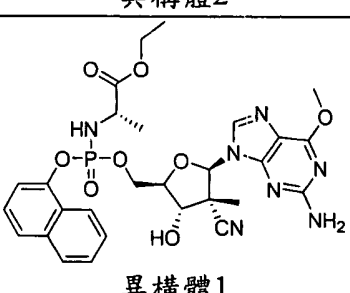
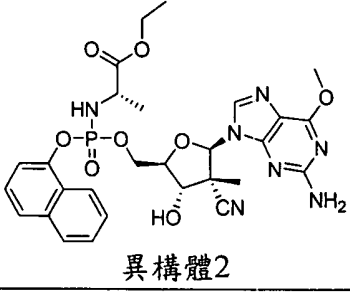
99	 異構體1	648.2
100	 異構體1	618.2
101	 異構體2	618.2
102	 異構體1	606.2
103	 異構體2	606.2
106	 異構體1	604.2
107	 異構體2	604.2

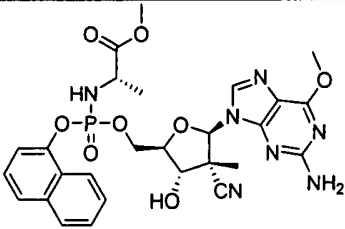
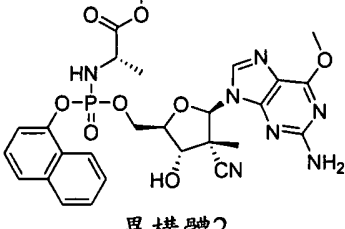
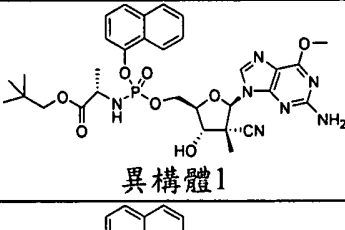
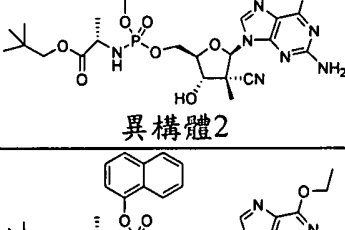
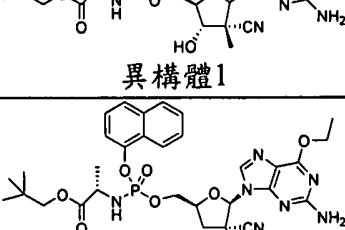
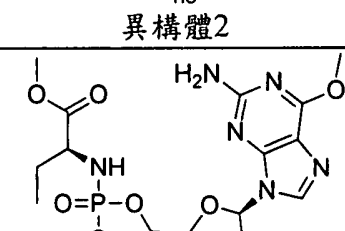
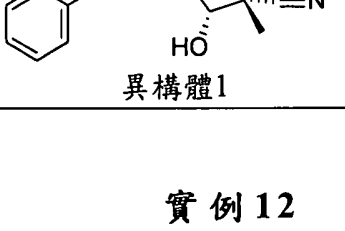
109	 異構體1	565
110	 異構體2	565
113	 異構體1	543
114	 異構體2	543
120	 異構體1	531
121	 異構體2	517
127	 異構體1	674.1
128	 異構體2	674.1

130	 異構體1	616.2
134	 異構體1	626.1
135	 異構體2	626.2
136	 異構體1	623.7
137	 異構體2	623.7
138	 異構體1	589.7
139	 異構體2	589.7
141	 異構體1	617.7
142	 異構體1	617.7

	異構體2	
144	 異構體1	562.0
145	 異構體2	562.0
146	 異構體1	604, 626.2[M+Na]
148	 異構體1	576.2
149	 異構體2	576.2
151	 異構體1	618.2
152	 異構體2	618.2

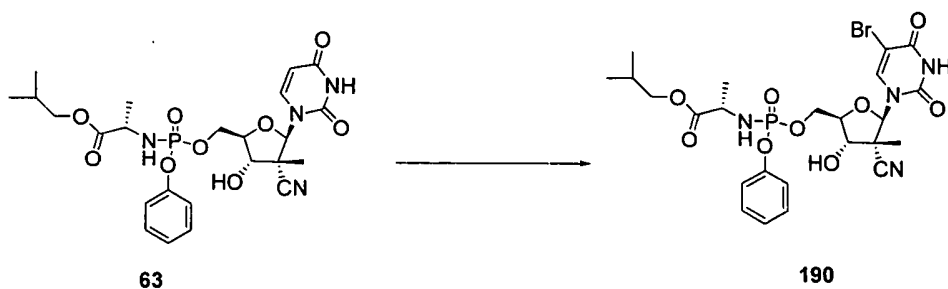
154	 異構體1	604.2
155	 異構體2	604.2
159	 異構體1	616.2
160	 異構體2	616.2
163	 異構體1	634.2
164	 異構體2	634.2

166	 異構體1	596.2
167	 異構體2	596.2
171	 異構體1	654.2
172	 異構體2	654.2
176	 異構體1	626.2
177	 異構體2	626.2

179	 異構體1	612.2
180	 異構體2	612.2
185	 異構體1	668.2
186	 異構體2	668.2
188	 異構體1	682.3
189	 異構體2	682.3
228	 異構體1	576.19

實例 12

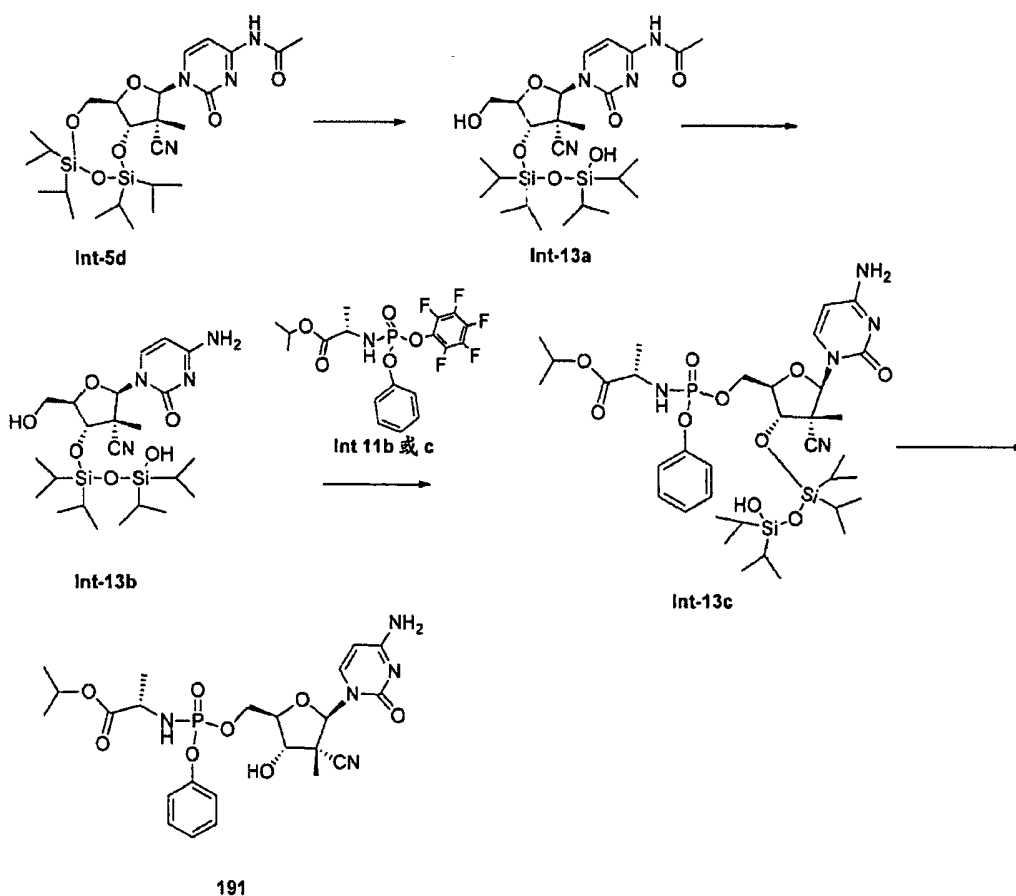
製備化合物 190



向於冰浴中冷卻之經攪拌之化合物 **63** (21 mg, 0.038 mmol) 於 DMF (2 mL) 中之溶液中添加 NBS (10.18 mg, 0.57 mmol)。用乙酸乙酯 (50 mL) 及水 (50 mL) 淬滅反應。經硫酸鈉乾燥有機層，過濾且在真空中濃縮。藉由矽膠管柱層析 (0-10% 甲醇/二氯甲烷) 純化殘餘物，得到 **190** (20.5 mg, 85%)。

實例 13

製備化合物 191



步驟A：合成Int-13a

在0℃下向經攪拌之**Int-5d**(337 mg, 0.61 mmol)於四氫呋喃(1.1 mL)與水(0.37 mL)之混合溶劑中之溶液中逐滴添加TFA(0.68 mL, 9.2 mmol)。在0℃下攪拌混合物3小時。用EtOAc(10 mL)稀釋反應物，隨後添加飽和NaHCO₃至pH 6。用EtOAc(2×30 mL)萃取混合物。合併有機層，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到**Int-13a**(330 mg, 95%)。粗產物不經進一步純化即可用於下一步驟。

步驟B：合成Int-13b

在室溫下將氨(7 M之MeOH溶液，8 mL, 58 mmol)添加至起始物質**Int-13a**(330 mg, 0.58 mmol)中且在室溫下攪拌混合物4小時。在真空中濃縮混合物。藉由在1小時內用10%甲醇/二氯甲烷溶離之矽膠管柱層析純化殘餘物，得到呈白色固體狀之**Int-13b**(250 mg, 82%)。

步驟C：合成Int-13c

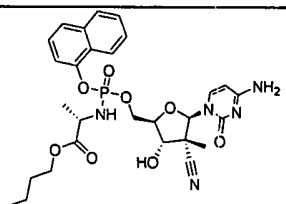
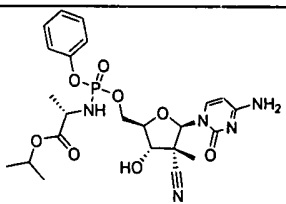
在0℃下向單保護核苷**Int-13b**(550 mg, 1.04 mmol)於NMP(6.0 mL)與THF(33 mL)之混合物中之溶液中添加氯化第三丁基鎂(1 M之THF溶液，2.71 mL)且攪拌反應物30分鐘。添加**Int-11b**或**11c**(471 mg, 1.04 mmol)於THF(2 mL)中之溶液且攪拌反應物2小時。用飽和NH₄Cl溶液(20 mL)淬滅反應，用EtOAc(2×20 mL)萃取，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由矽膠管柱層析(0-10% MeOH/DCM)純化殘餘物，得到所要白色固體產物**Int-13c**(715 mg, 86%)。

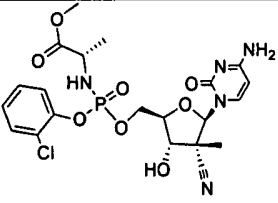
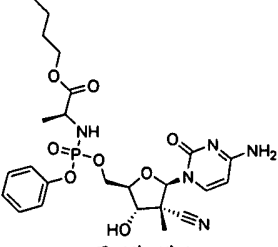
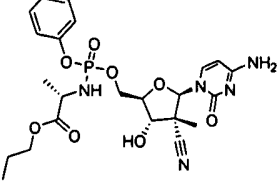
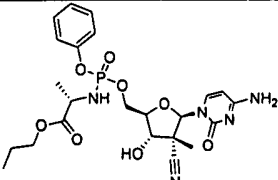
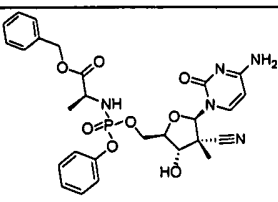
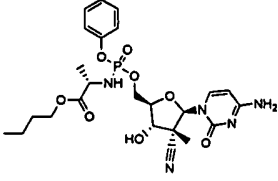
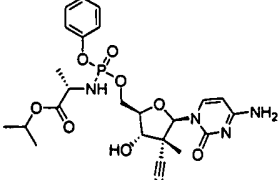
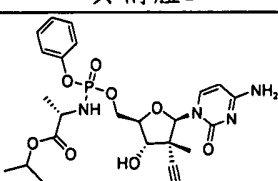
步驟D：合成化合物191

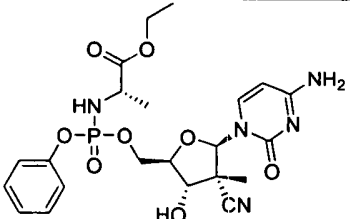
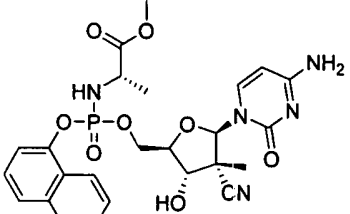
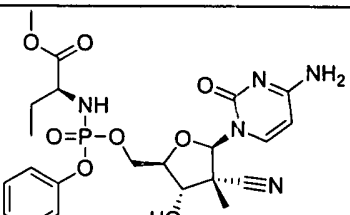
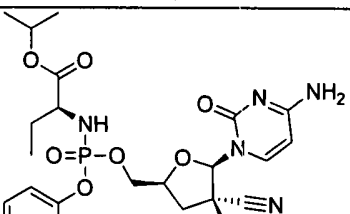
在室溫下向經攪拌之起始物質 **Int-13c** (980 mg, 1.23 mmol) 於四氫呋喃 (22.0 mL) 及 MeOH (26.0 mL) 中之溶液中添加甲酸 (8.0 mL, 209 mmol)。將 CsF (1.12 g, 7.39 mmol) 添加至反應混合物中且在 50°C 下攪拌 8 小時。用乙酸乙酯 (3×30 mL) 萃取反應混合物，用水及鹽水洗滌，經 MgSO₄ 乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由用 0-10% MeOH/CH₂Cl₂ 溶離之矽膠層析純化殘餘物，得到產物 **191**，凍乾隔夜，得到白色乾燥粉末 (293 mg, 44%)。

¹H NMR: 7.66 (1H, d, J=7.58), 7.38 (2H, m), 7.27 (2H, m), 7.21 (1H, m), 6.37 (1H, s), 5.85 (1H, d, J=7.57), 4.96 (1H, m), 4.52 (1H, m), 4.37 (1H, m), 4.10 (1H, m), 3.93 (2H, m), 1.35 (3H, d, J=7.14), 1.22 (6H, s), 1.20 (3H, s)。

使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。請注意，異構體之命名為任意的且僅表明化合物為單一異構體。

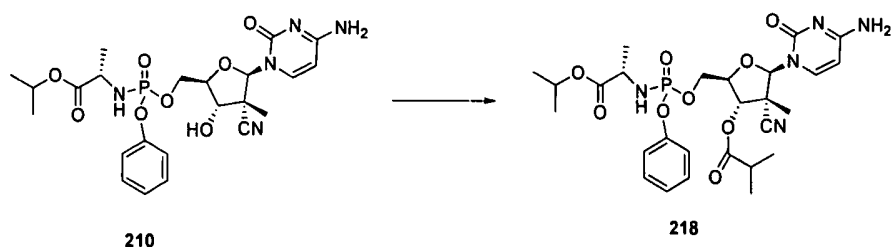
化合物編號	結構	MS (M + H)
193	 異構體1	600.2
195	 異構體1	536.2

196	 異構體1	542.2
197	 異構體1	550.2
198	 異構體1	536.2
199	 異構體2	536.2
203	 異構體1	584.2
209	 異構體1	549.8
210	 異構體1	535.8
212		535.8

	異構體2	
214	 異構體1	522.2
217	 異構體1	558.1
229	 異構體1	576.19
230	 異構體1	550.2

實例 14

製備化合物 218

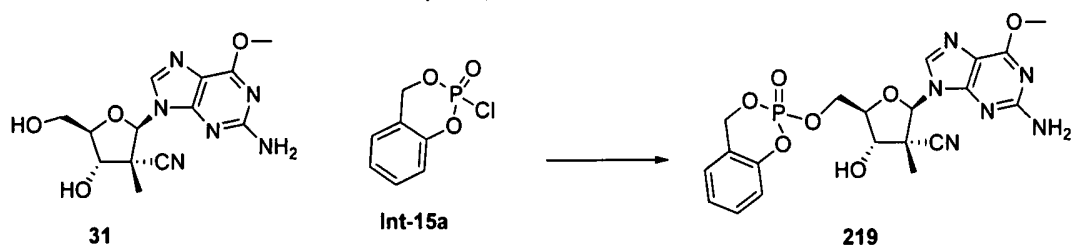


在 0℃ 下向經攪拌之起始物質 **210** (20 mg, 0.037 mmol) 與 DMAP (0.502 mg, 4.11 μmol) 於四氫呋喃 (1.0 mL) 中之混合物中添加 Et₃N (0.016 mL, 0.112 mmol) 及水 (0.7 mL) 且在

0℃下攪拌混合物5分鐘。將異丁醯氯(0.037 mmol)緩慢添加至反應混合物中。在0℃下攪拌反應物30分鐘，隨後用HCl水溶液(1 M)酸化至pH 6-7。用EtOAc(2×20 mL)萃取混合物，用水及鹽水洗滌，經MgSO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由在45分鐘內用10% MeOH/DCM溶離之矽膠製備型TLC純化殘餘物，得到白色固體。自乙腈/水凍乾固體，得到乾燥粉末**218**(17 mg, 75%)。

實例15

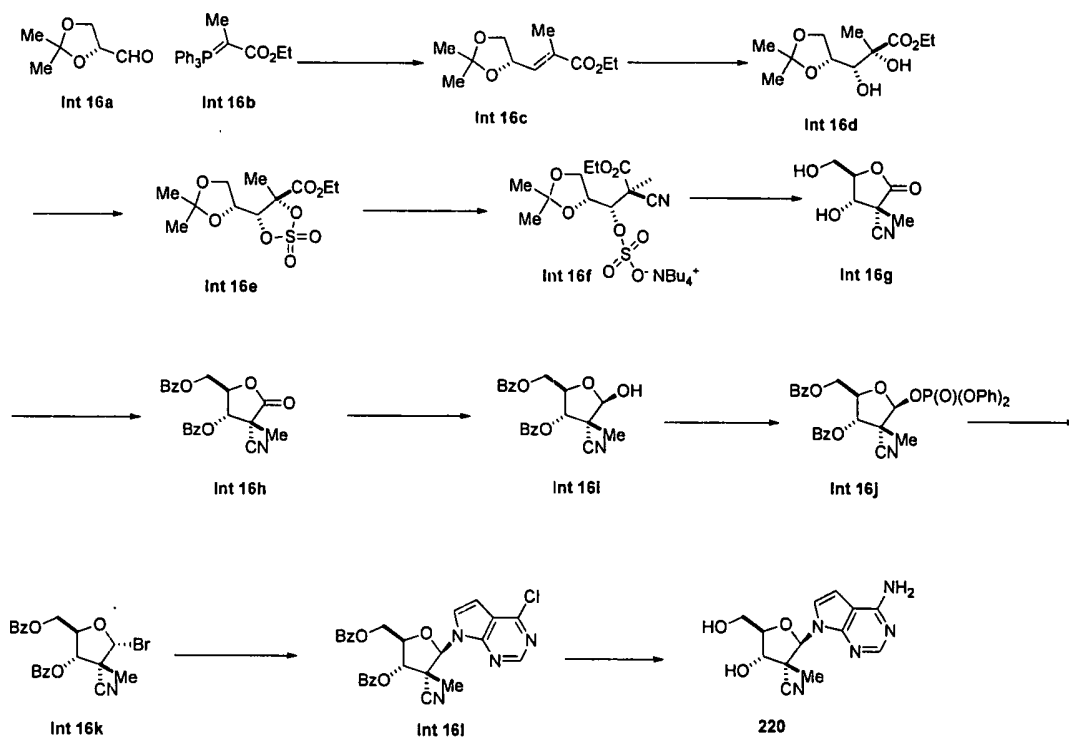
製備化合物**219**



在室溫下向經攪拌之起始物質**31**(20 mg, 0.062 mmol)於四氫呋喃(1 mL)中之混合物中添加N-甲基咪唑(0.035 mL, 0.437 mmol)且在35℃下攪拌混合物3分鐘。逐滴添加氯磷酸酯Int-15a(51 mg, 0.25 mmol於0.5 mL THF中)且在35℃下攪拌反應混合物1小時。用水(20 mL)淬滅反應且用乙酸乙酯(2×30 mL)萃取混合物，用鹽水(25 mL)洗滌，用EtOAc(30 mL)反萃取水層。用MgSO₄乾燥經合併之有機層，過濾且濃縮。藉由矽膠製備型TLC(10% MeOH/DCM)純化殘餘物，得到所要產物**219**(4.1 mg, 13.4%)。

實例16

製備化合物**220**



步驟A：合成Int-16c

將Int-16b(5.5 kg, 15.2 mol, 1.00當量)於DCM(15.4 L)中之溶液置於50 L反應器中，且將Int-16a(2.35 kg, 18.1 mol, 1.19當量)於DCM(2.8 L)中之溶液添加至上述溶液中，同時維持溫度在 -5°C 約0.5小時來完成添加。使混合物在 -5°C 下反應3小時直至LCMS顯示Int-16a之含量不超過5%。在 40°C 下在真空中濃縮反應溶液。用石油醚(5 L)處理殘餘物，過濾不溶性固體且用EtOAc:PE(1:15, $3 \times 5\text{L}$)洗滌。在 40°C 下在真空中濃縮濾液。藉由在真空(10 mm Hg)下蒸餾純化殘餘物且收集 $>90^{\circ}\text{C}$ 之餾份，得到白色油狀物Int-16c(2.6 kg, 產率：81%)。該物質不經任何進一步純化即可用於下一步驟。

步驟B：合成16d

用乙-1,2-二醇(3.0 kg, 12.76 mol, 4.00當量)及

NaHCO₃(3.06 kg, 36.45 mol, 3.00當量)於H₂O(5.2 L)中之溶液處理**Int-16c**(2.6 kg, 12.15 mol, 1.00當量)於丙酮(40 L)中之溶液。將KMnO₄(2.02 kg, 12.76 mol, 1.05當量)分數份添加至以上溶液中，同時維持溫度在-15℃~-10℃(約1小時來完成添加)。使混合物在-15℃~-10℃下反應1小時直至SM完全消耗。用NaHSO₃(25% w/w水溶液, 5 L)淬滅所得溶液，同時維持溫度低於4℃。執行過濾且用丙酮(3×1.0 L)洗滌濾餅。在真空中濃縮濾液且用EtOAc(1×10 L, 2×5 L)萃取殘餘物。合併有機層，經Na₂SO₄(3.0 kg)乾燥，過濾且在真空中濃縮。用甲苯(1.5 L)及石油醚(9 L)處理殘餘物。在-10℃~0℃下攪拌漿液10小時。收集固體，在40℃下乾燥，得到呈白色固體狀之純產物**Int-16d**(1.8 kg, 產率：60%)。

步驟C：合成 16e

用TEA(2.11 kg, 20.93 mol, 3.00當量)處理**Int-16d**(1.73 kg, 6.97 mol, 1.00當量)於DCM(17 L)中之溶液。隨後用SOCl₂(1.08 kg, 9.06 mol, 1.30當量)逐滴處理反應物，同時維持溫度在-5℃~15℃(約0.5小時來完成添加)。在15℃~25℃下攪拌混合物1小時。用水(20 L)淬滅所得溶液。用飽和NaHCO₃(1×10 L)洗滌經分離之有機層。將有機層置於50 L反應器中且用MeCN(1.8 L)稀釋，繼而逐滴添加NaOCl水溶液(6.9%, 20 L)，同時維持溫度在5℃~20℃(約1小時來完成添加)。隨後使混合物在15℃~25℃下反應40小時。用Na₂SO₃水溶液(15%, 10 L)淬

滅所得溶液。用水(6×5 L)、飽和NaHCO₃(1×15 L)及飽和鹽水(1×15 L)洗滌經分離之有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈油狀之產物**Int-16e**(1.6 kg，產率：74%)。

步驟D：合成16f

添加**Int-16e**(900 g，2.9 mol，1.00當量)於DMF(8.1 L)及H₂O(900 mL)中之溶液且用KCN(226 g，3.5 mol，1.20當量)處理。使混合物升溫至50℃且使其反應5小時直至TLC顯示**Int-16e**完全消耗。用水浴冷卻所得溶液至30℃且整份添加K₂HPO₄(782 g，4.5 mol，1.55當量)及Bu₄NHSO₄(1.08 kg，3.2 mol，1.10當量)。使混合物反應隔夜。用EtOAc(20 L)及水(10 L)稀釋反應混合物。用EtOAc(2×5 L)萃取水層。合併有機層，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈棕色油狀之粗產物**Int-16f**(1.3 kg，DMF之含量為28% w/w，分離產率：65%)，其不經任何進一步純化即可用於下一步驟。

步驟E：合成16g

用HCl(10 M，233 g，2.3 mol，1.42當量)處理**Int-16f**(1.3 kg，1.6 mol，1.00當量)於EtOH(7.8 L)中之溶液。使混合物在20℃~30℃下反應15小時。藉由TLC監測反應進展直至**Int-16f**完全消耗。用NaHCO₃(193 g，2.3 mol，1.42 mol)於水(193 g)中之溶液淬滅所得溶液。在真空中濃縮所得溶液以移除大部分EtOH。用EtOAc(2×3 L，2×1.3 L)萃取殘餘物。合併有機層，經Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮，得到呈棕色油狀之粗產物**Int-16g**(550 g，理論產

量：277 g)，其不經任何進一步純化即可用於下一步驟。

步驟F：合成Int-16h

用TEA(360 g, 3.6 mol, 1.00當量)及DMAP(12.2 g, 0.1 mol, 0.06當量)處理**Int-16 g**(550 g, 理論產量：277 g, 1.6 mol, 1.00當量)於CH₃CN(1.4 L)中之溶液。將BzCl(508 g, 3.6 mol, 2.20當量)逐滴添加至以上溶液中，同時維持溫度在0~25℃下(約1.5小時來完成添加)。使混合物在10℃~25℃下反應1小時直至LCMS顯示**Int-16g**完全消耗。用水(5 L)稀釋所得溶液，隨後用EtOAc(4×2 L)萃取。合併有機層，用鹽水(35%，1×1 L)洗滌，經Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。用丙-2-醇(6 L)處理殘餘物(600 g)且在20℃~30℃下攪拌1小時。執行過濾且藉由自EtOAc(600 mL)及丙-2-醇(6000 mL)再結晶純化濾餅(300 g)，得到呈白色固體狀之純產物**Int-16h**(270 g, 產率：44%，純度：97.6%)。

步驟G：合成Int-16i

在-30℃下在攪拌下向**Int-16h**(1 g, 2.64 mmol, 1.00當量)於THF(15 mL)中之溶液中逐滴添加Li(t-BuO)₃AlH(1 g, 3.92 mmol, 1.50當量)於THF(10 mL)中之溶液。在-30℃下於液氮浴中攪拌所得溶液2小時。隨後藉由添加飽和NH₄Cl(30 mL)淬滅反應。用EtOAc(3×50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用10-20% EtOAc/己烷溶離，得到呈白色固體狀之**Int-16i**。(800 mg, 80%)。¹H-

NMR-Int-16i (300 MHz, CD₃OD, ppm): δ 8.14-8.17 (m, 2H), 8.02-8.05 (m, 2H), 7.39-7.65 (m, 6H), 5.62-5.63 (m, 1H), 5.41-5.42 (m, 1H), 4.61-4.83 (m, 3H), 1.66 (s, 3H)。

步驟H：合成16j

向Int-16i(3 g, 7.87 mmol, 1.00當量)於甲苯(60 mL)中之溶液中添加TEA(3.2 g, 31.62 mmol, 4.00當量)及氯膦酸二苯酯(4.2 g, 15.63 mmol, 2.00當量)。在室溫下攪拌所得溶液5小時後，用DCM(200 mL)稀釋。隨後藉由添加飽和Na₂CO₃(40 mL)淬滅反應。用DCM(3×50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用10-20% EtOAc/己烷溶離，得到呈無色油狀之Int-16j(5.0 g)。¹H-NMR-Int-16j: (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 8.10-8.12 (m, 2H), 7.99-8.00 (m, 2H), 7.53-7.69 (m, 2H), 7.43-7.52 (m, 4H), 7.14-7.37 (m, 10H), 6.02 (d, J =1.5 Hz, 1H), 5.21 (d, J =1.5 Hz, 1H), 4.61-4.66 (m, 2H), 4.31 (q, J =1.5 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H)。

步驟I：合成16k

將Int-16j(500 mg, 0.81 mmol, 1.00當量)及33%溴化氫/乙酸(5 mL)置於用惰性氬氣氛圍吹洗且維持之25 mL圓底燒瓶中。在室溫下攪拌所得溶液3小時，隨後用DCM(50 mL)稀釋。隨後藉由添加水/冰淬滅反應且用DCM(50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，用飽和Na₂CO₃(50 mL)洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用(5-20%)EtOAc/己烷溶離，得到呈灰白色泡沫狀之Int-16k(0.25 g, 69%)。¹H-NMR-Int-16k:

(300 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ 8.25 (d, $J=11.4$ Hz, 2H), 8.17 (d, $J=5.3$ Hz, 2H), 7.59-7.77 (m, 2H), 7.44-7.50 (m, 4H), 6.39 (s, 1H), 5.35 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 4.73-4.92 (m, 3H), 1.76 (s, 3H)。

步驟J：合成16l

向經攪拌之4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(2.0 g, 13.02 mmol, 1.00當量)於乙腈(10 mL)中之溶液中添加KOBt(1.46 g, 1.30當量)於第三丁醇(10 mL)中之溶液。在室溫下攪拌所得溶液30分鐘。將Int-16k(4.4 g, 9.90 mmol, 1.30當量)於乙腈(10 mL)中之溶液添加至混合物中。再攪拌所得溶液3.5小時，同時在油浴中維持溫度在50℃。隨後冷卻反應混合物至室溫。用二氯甲烷(100 mL)稀釋所得溶液且隨後藉由添加飽和 NH_4Cl (50 mL)淬滅反應。用DCM(3×50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用5-30% EtOAc/石油醚溶離，得到2.9 g(43%)呈白色固體狀之Int-16l。

$^1\text{H-NMR-Int-16l}$: (300 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ 8.73 (s, 1H), 8.14-8.19 (m, 2H), 8.06-8.09 (m, 2H), 7.60-7.70 (m, 2H), 7.46-7.55 (m, 5H), 6.97 (s, 1H), 6.66 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.79-5.81 (m, 1H), 4.92-4.96 (m, 1H), 4.71-4.79 (m, 2H), 1.60 (s, 3H)。

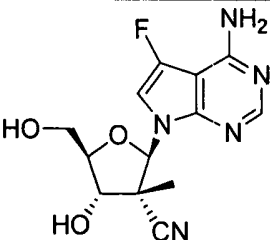
步驟K：合成220

將Int-16l(50 mg, 0.10 mmol, 1.00當量)於氬飽和之i-

PrOH(10 mL)中之溶液置於25 mL密封管中。在50℃下於油浴中攪拌所得溶液2天。在真空中濃縮所得混合物。藉由製備型HPLC用以下條件(1#-Pre-HPLC-011(Waters))純化粗產物(40 mg)：管柱，SunFire Prep C18，19×150 mm 5 μm；移動相：水及CH₃CN(在6分鐘內5.0% CH₃CN升至23.0%，在4分鐘內升至83.0%，在1分鐘內升至100.0%，在2分鐘內降至3.0%)；偵測器，UV 254及220 nm。得到呈灰白色固體狀之化合物**220**。(20 mg, 71%)

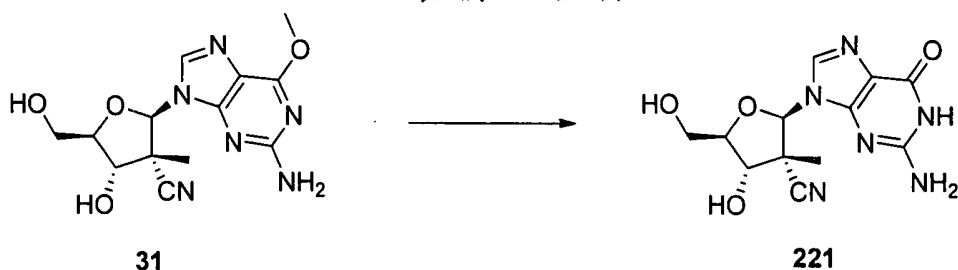
LC-MS-**220**(ES, *m/z*): 290 [M+H]⁺ ¹H-NMR-**220**: (300 MHz, CD₃OD, *ppm*): δ 8.12 (s, 1H), 7.59 (d, *J*=1.8 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.65 (d, *J*=1.8Hz, 1H), 4.30-4.35 (m, 1H), 3.98-4.06 (m, 2H), 4.85-3.90 (m, 1H), 0.99 (s, 3H)。

使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。

化合物編號	結構	MS (M + H)
222		308

實例 17

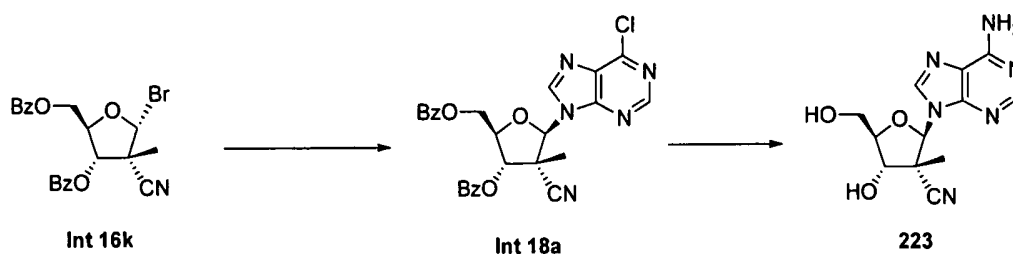
製備化合物 221



向經攪拌之化合物 31(110 mg, 0.343 mmol)於 THF(6 mL)中之溶液中添加 1 N HCl(6 mL)。在 50°C 下加熱溶液 48 小時。在真空中移除溶劑。藉由 HPLC(5% 水/乙腈)純化殘餘物，得到化合物 221。(71 mg)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ : 8.48 (s, 1H), 6.41(s, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.05-4.0 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 1.19 (s, 3H)。

實例 18

製備化合物 223



步驟 A：合成 Int-18a

向經攪拌之 6-氯-9H-嘌呤(348 mg, 2.25 mmol, 2.00 當量)於第三丁醇(5 mL)中之溶液中添加 t-BuOK(253 mg, 2.26 mmol, 2.00 當量)。在室溫下攪拌所得溶液 30 分鐘。隨後添加 Int-16k(500 mg, 1.13 mmol, 1.00 當量)於 MeCN(5 mL)中之溶液。在室溫下再攪拌所得溶液 2.0 小時。用 1 N HCl 調節溶液之 pH 值至 7，隨後在真空中濃縮。用乙酸乙酯(10 mL)稀釋所得溶液，用飽和 NH₄Cl(2×10 mL)及飽和 NaCl(2×10 mL)洗滌。經無水 Na₂SO₄ 乾燥有機相，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用 EtOAc/石油醚(1:3)溶離，得到呈灰白色固體狀之 Int-18a(180 mg, 31%)。¹H-NMR-Int-18a: (300 MHz, CDCl₃,

ppm): δ 8.82(s, 1H), 8.32(s, 1H), 8.18-8.13(m, 2H), 8.10-8.02(m, 2H), 7.77-7.42(m, 7H), 6.75(s, 1H), 5.91(d, $J=6.0$ Hz, 1H), 5.31(s, 1H), 4.95-4.72(m, 3H), 1.39(s, 3H)。

步驟B：合成223

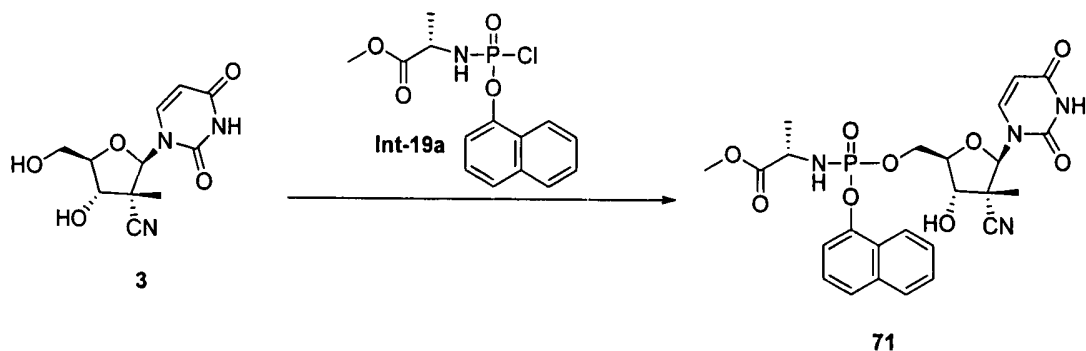
將 **Int-18a**(180 mg, 0.35 mmol, 1.00 當量)及 $\text{NH}_3(1)(8 \text{ mL})$ 於 *i*-PrOH(2 mL)中之溶液置於10 mL密封管中。在50℃下於油浴中攪拌所得溶液2天，隨後在真空中濃縮。藉由製備型HPLC用以下條件(1#-Pre-HPLC-001(SHIMADZU))純化粗產物(80 mg)：管柱，1#-PrepC-014(Atlantis T3 19×150 186003698 012139334114 02)，N；移動相：水及 CH_3CN (在7分鐘內2.0% CH_3CN 升至25.0%，在1分鐘內升至100.0%，在2分鐘內降至2.0%)；偵測器，UV 254及220 nm。得到呈白色固體狀之化合物**223**(50 mg, 50%)。

LC-MS-223: (ES, m/z): 291 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

^1H -NMR-223: (300 MHz, CD_3OD , *ppm*): δ 8.65(s, 1H), 8.23(s, 1H), 6.63(s, 1H), 4.46(d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.13-4.04(m, 2H), 3.98-3.88(m, 1H), 1.13(s, 3H)。

實例19

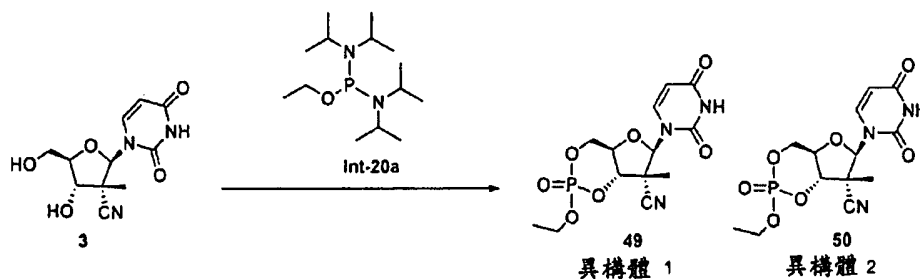
製備化合物71



在0℃下用甲基咪唑(0.19 mL, 2.29 mmol)逐滴處理化合物3(75.8 mg, 0.28 mmol)於四氫呋喃(2.5 mL)中之溶液。攪拌反應物5分鐘，隨後逐滴添加前藥Int-19a(499 mg, 1.52 mmol, 使用實例11中所述之方法製備)於四氫呋喃(1.0 mL)中之溶液。使反應物升溫至室溫且攪拌1.5小時。在真空中濃縮反應物。經由用10%甲醇/二氯甲烷溶離之製備型TLC純化粗物質。藉由逆相HPLC進一步純化該物質，得到非對映異構體之混合物，藉由SFC分離法分離，得到呈灰白色固體狀之化合物71(36.5 mg)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.19-8.18 (m, 1H), 7.92-7.89 (m, 1H), 7.73 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.60-7.55 (m, 2H), 7.52-7.43 (m, 3H), 6.29 (s, 1H), 5.35 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.62 (ddd, *J*=12.0, 4.8, 2.0 Hz, 1H), 4.50 (ddd, *J*=12.0, 6.4, 3.2 Hz, 1H), 4.15-4.12 (m, 1H), 4.09-4.01 (m, 1H), 3.94 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 1.35 (d, *J*=7.2 Hz, 3H), 1.18 (s, 3H)。式C₂₅H₂₇N₄O₉P之質量計算值558.5; 觀測值MH⁺ (LCMS) 559.0 (*m/z*)。

實例 20

製備化合物 49 及 50

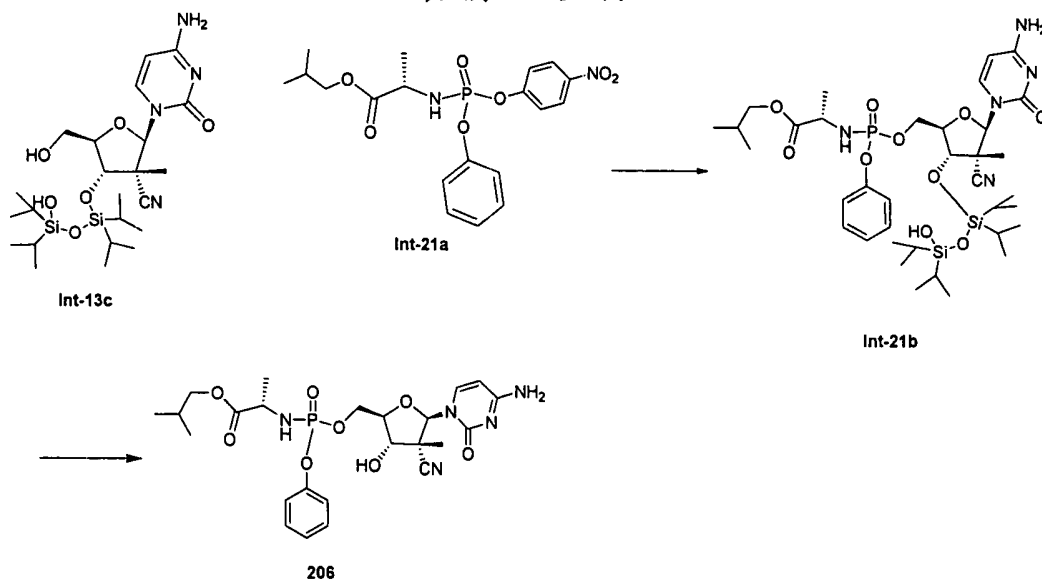


將化合物3(50.0 mg, 0.19 mmol)添加至密封管中且溶解於四氫呋喃(1.5 mL)中。將中間物20a(67.2 mg, 0.24 mmol)溶解於四氫呋喃(2.0 mL)中且添加至密封管中，繼

而添加 5-(乙基硫基)-1*H*-四唑(24.3 mg, 0.187 mmol)。將管密封且加熱至 100℃ 後維持 2.5 小時。冷卻反應物至室溫且將第三丁基氫過氧化物(2.34 mL, 18.7 mmol)添加至反應物中。持續攪拌反應物 16 小時。將反應物轉移至圓底燒瓶中且在真空中濃縮。經由製備型 TLC 於 5% 甲醇/二氯甲烷中純化該物質，得到非對映異構體之混合物。藉由 SFC 分離非對映異構體，得到化合物 **49**(8.4 mg) 及 **50**(16.3 mg)。¹H NMR: **49** (400 MHz, CD₃OD) δ 7.65 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 5.77 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.84-4.77 (m, 1H), 4.70-4.62 (m, 2H), 4.50-4.47 (m, 1H), 4.33-4.25 (m, 2H), 1.43 (s, 3H), 1.41 (t, *J*=7.2 Hz, 3H); LC-MS: **49**: (ES, *m/z*): 358.2。¹H NMR: **50** (400 MHz, CD₃OD) δ 7.67 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 5.74 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 4.78-4.68 (m, 1H), 4.63-4.58 (m, 2H), 4.43-4.40 (m, 1H), 4.32-4.22 (m, 2H), 1.43-1.39 (m, 6H); LC-MS: **50**: (ES, *m/z*): 358.2。

實例 21

製備化合物 206



步驟A：合成Int-21b

在 0°C 下向化合物 **Int-13c**(350 mg, 0.664 mmol) 於 NMP(1.0 mL) 與 THF(5 mL) 之混合溶劑中之溶液中添加氯化第三丁基鎂(1.99 mL, 1 M 之 THF 溶液)。在 0°C 下在氮氣下攪拌溶液 30 分鐘。添加 **Int-21a**(561 mg, 1.33 mmol, 使用實例 11 中所述之方法製備) 於 THF(2 mL) 中之溶液。在 0°C 下在 N₂ 下攪拌溶液至室溫後維持 3 小時。用 NH₄Cl 水溶液(10 mL) 淬滅反應, 用 EtOAc(2×40 mL) 萃取, 乾燥(MgSO₄), 過濾且濃縮。藉由矽膠管柱層析(在 1 小時內 0-10% MeOH/CH₂Cl₂ 且繼續保持 30 分鐘) 純化粗產物, 得到白色固體 **Int-21b**(480 mg, 89%)。

步驟B：合成化合物 206

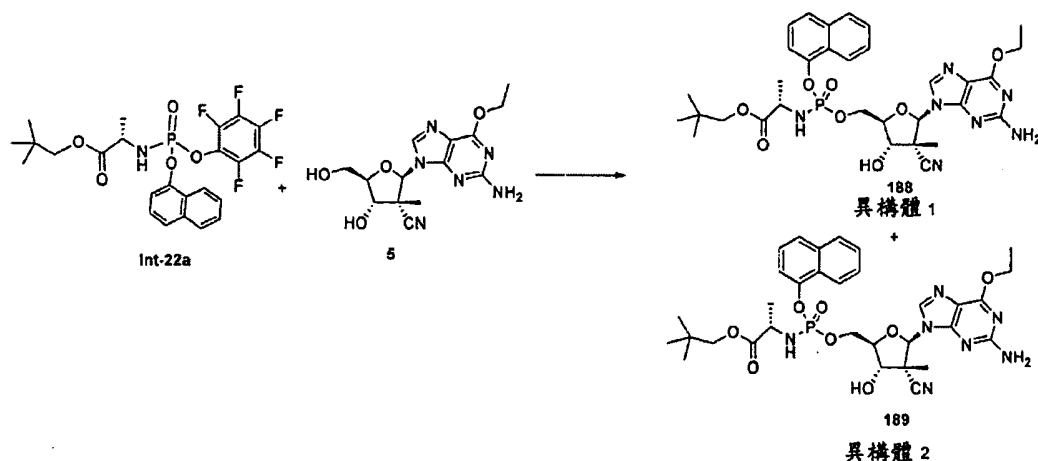
在室溫下向經攪拌之起始物質 **Int-21b**(478 mg, 0.59 mmol) 於四氫呋喃(2.3 mL) 及 MeOH(4.3 mL) 中之混合物中添加甲酸(3.92 mL, 102 mmol)。將 CsF(448 mg, 2.95 mmol) 添加至反應混合物中且在 50°C 下攪拌 6 小時。用水(10 mL) 淬滅反應混合物且用乙酸乙酯(3×30 mL) 萃取, 用水及鹽水洗滌, 乾燥(MgSO₄), 過濾且濃縮。藉由在 45 分鐘內用 0-10% MeOH/CH₂Cl₂ 溶離之矽膠管柱層析純化殘餘物, 得到所要產物。將產物溶解於 0.3 mL CH₃CN 及 2.0 mL 水中, 凍乾隔夜, 得到白色粉末狀產物 **206**(128 mg, 39.5%)。

¹H NMR: 7.64 (d, 1H, J=7.56), 7.37 (m, 2H), 7.24 (m, 3H), 6.36 (s, 1H), 5.84 (d, 1H, J=7.57), 4.51 (m, 1H), 4.37

(m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.8-4.0 (m, 4H), 1.90 (m, 1H), 1.37 (d, 3H, J=7.18), 1.22 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.90 (s, 3H)。

實例 22

製備化合物 188 及 189

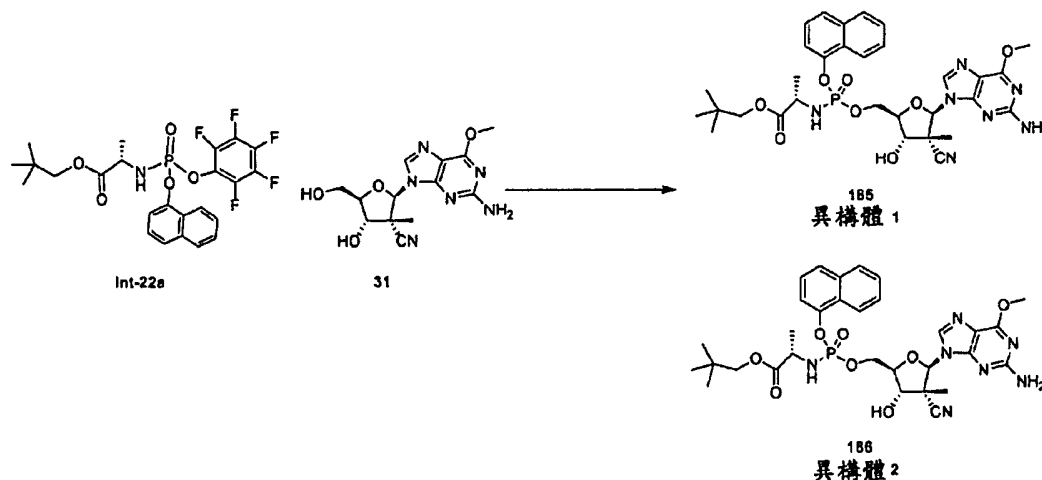


在氮氣下於冰浴中冷卻化合物 5 (100 mg, 0.299 mmol) 於 NMP (1.5 mL) 及 THF (9 mL) 中之溶液。向反應物中添加氯化第三丁基鎂 (1.017 mL, 1.017 mmol) 且在 0°C 下攪拌反應物 20 分鐘。將 Int 22a (175 mg, 0.329 mmol, 使用實例 11 中所述之方法製備) 溶解於 THF (1 mL) 中之溶液逐滴添加至此混合物中。在室溫下攪拌反應混合物 1.5 小時。用乙酸乙酯 (20 mL) 稀釋反應物且用水 (20 mL)、飽和 NH₄Cl (20 mL) 洗滌。經無水硫酸鈉乾燥有機層，過濾且在真空中濃縮。藉由用 20 g 矽膠管柱 (在 40 分鐘內用 0-7% MeOH/CH₂Cl₂ 溶離，隨後在 10 分鐘內用 7% MeOH/DCM 溶離) 進行管柱層析來純化殘餘物，得到 100 mg 產物。藉由超臨界流體分離法分離兩種異構體，得到 188 (26 mg) 及 189 (43 mg)。¹H NMR 188: (400 MHz, CDCl₃): δ 8.12-8.08 (m, 1H), 7.66 (s, 0.5H), 7.64 (s, 0.5H), 7.54-7.49 (m, 3H),

7.48-7.44 (m, 1H), 7.37 (t, $J=7.86$ Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.96-4.81 (m, 3H), 4.50 (s, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.46-4.41 (m, 2H), 4.17-4.10 (m, 1H), 3.82-3.66 (m, 3H), 1.42 (t, $J=7.09$ Hz, 3H), 1.30 (d, $J=7.13$ Hz, 3H), 1.09 (s, 3H), 0.86 (s, 9H)。

實例 23

製備化合物 185 及 186

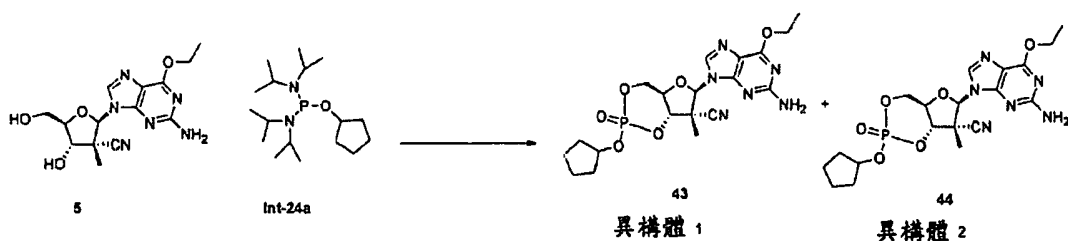


於冰浴中冷卻化合物 31 (50 mg, 0.156 mmol) 於 NMP (4 mL) 及 THF (16 mL) 中之溶液且用氯化第三丁基鎂 (0.531 mL, 0.531 mmol) 處理。攪拌溶液 20 分鐘後，將溶解於 THF (1 mL) 中之 Int 22a (100 mg, 0.187 mmol, 使用實例 11 中所述之方法製備) 逐滴添加至此混合物中。在室溫下攪拌反應混合物 1.5 小時。用乙酸乙酯 (20 mL) 稀釋反應物且用水 (20 mL)、飽和 NH_4Cl (20 mL) 洗滌。經無水硫酸鈉乾燥有機層，過濾且在真空中濃縮。藉由用 20 g 矽膠管柱 (在 40 分鐘內用 0-10% MeOH/ CH_2Cl_2 溶離，隨後在 10 分鐘內用 7% MeOH/DCM 溶離) 進行管柱層析來純化殘餘物，得到 43 mg 兩種非對映異構體之混合物。藉由超臨界流體分離法分

離兩種異構體，得到**185**(6.1 mg)及**186**(24 mg)。¹H NMR **185**: (400 MHz, CDCl₃): δ 8.11-8.09 (m, 1H), 7.84-7.81 (m, 1H), 7.67-7.63 (m, 1H), 7.54-7.50 (m, 3H), 7.49-7.44 (m, 1H), 7.39-7.32 (m, 1H), 6.25 (s, 1H), 5.25 (s, 1H), 4.92-4.84 (m, 1H), 4.80-4.77 (m, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 4.29-4.24 (m, 1H), 4.15-4.10 (m, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.82 (s, 0.5H), 3.79 (s, 0.5H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.70 (s, 0.5H), 3.67 (s, 0.5H), 1.34-1.26 (m, 3H), 1.07 (s, 3H), 0.86 (s, 9H)。

實例 24

製備化合物 43 及 44

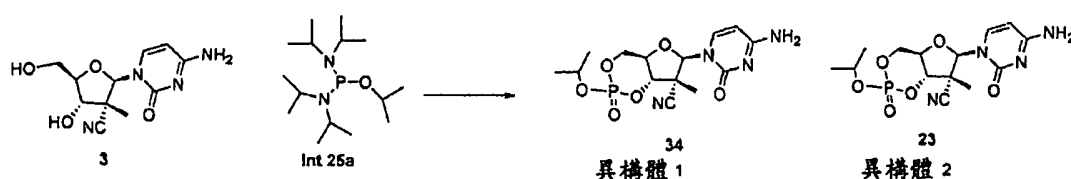


用 5-(乙基硫基)-1H-四唑 (7.79 mg, 0.060 mmol) 處理化合物 5 (20 mg, 0.060 mmol) 及 Int-24a (49.2 mg, 0.156 mmol) 於四氫呋喃 (1 mL) 中之混合物。在 93℃ 下於密封管中加熱反應物 2.5 小時。冷卻反應混合物至室溫且用第三丁基氫過氧化物 (0.828 mL, 5.98 mmol) 處理。攪拌隔夜後，用水 (10 mL) 稀釋混合物且用 EtOAc (2×20 mL) 萃取。用鹽水 (20 mL) 洗滌經合併之有機層，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。藉由用乙腈/水+0.1% TFA (10~95~30%) 溶離之製備型 HPLC 純化殘餘物，得到化合物 43 (3.82 mg) 及化合物 44 (2.5 mg)。¹H NMR **43**: (400 MHz, CDCl₃):

δ 7.55 (s, 1H), 6.34 (s, 1H), 5.11-5.06 (m, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.67-4.57 (m, 1H), 4.56-4.48 (m, 2H), 4.39-4.35 (m, 1H), 1.99-1.86 (m, 4H), 1.83-1.72 (m, 2H), 1.73-1.55 (m, 4H), 1.45 (t, $J=7.04$ Hz, 3H), 1.27 (s, 3H)。

實例 25

製備化合物 34



在 80°C 下於密封管中加熱化合物 3 (263 mg, 0.988 mmol)、Int 25a (516 mg, 1.778 mmol) 及 5-(乙基硫基)-1H-四唑 (141 mg, 1.08 mmol) 於 18.8 mL 乙腈中之懸浮液 2 小時。冷卻混合物至室溫且用第三丁基氫過氧化物 (70% 之 *t*-BuOH 溶液, 636 mg, 4.94 mmol) 處理。攪拌混合物 30 分鐘且用 DCM (20 mL) 及飽和 NaHCO_3 (20 mL) 稀釋。經 Na_2SO_4 乾燥有機相, 過濾且在真空中濃縮。使用 C-18 管柱上逆相層析使用水-乙腈梯度 (添加 0.1 甲酸作為改質劑) 分離非對映異構體, 得到化合物 34 (38 mg) 及化合物 23 (73 mg)。

^1H NMR 34: (400 MHz, CD_3OD) δ 7.70 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.95 (m, 1H), 4.80 (m, 2H), 4.61 (m, 1H), 4.3 (m, 2H), 1.4 (m, 6H), 1.3 (s, 3H)。ESI MS $[\text{M}+\text{H}]=371.2$

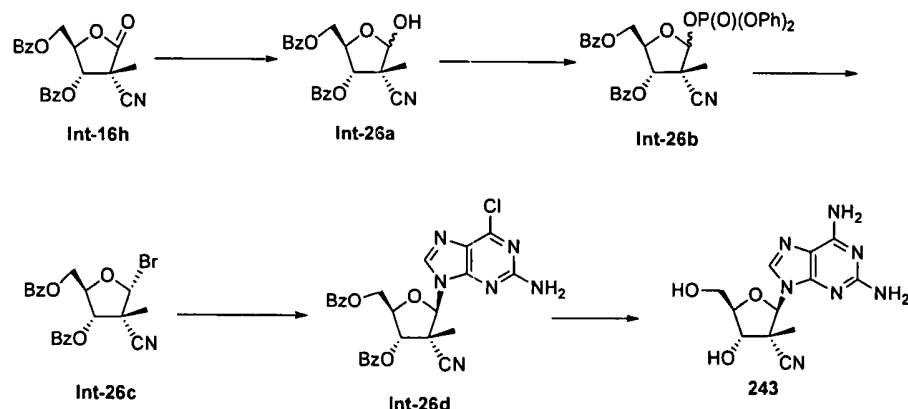
^1H NMR 23: NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.66 (d, $J=4.0$ Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 5.94 (m, 1H), 4.80 (m, 2H), 4.70 (m,

1H), 4.45 (m, H), 4.40 (m, 1H), 1.4 (m, 6H), 1.3 (s, 3H)。

ESI MS [M+H]=371.2

實例 26

製備化合物 243



步驟 A：合成 Int-26a

在 -30°C 下在攪拌下藉由逐滴添加 2-(第三丁氧基)-2-甲基丙烷側氧基-2-亞鋁錳基 (alumanyl) 第三丁基鋰水合物 (1 g, 3.92 mmol, 1.50 當量) 於氧雜環戊烷 (10 mL) 中之溶液來處理 Int-16h (1 g, 2.64 mmol, 1.00 當量) 於氧雜環戊烷 (15 mL) 中之溶液。在 -30°C 下於液氮浴中攪拌所得溶液 2 小時。隨後藉由添加飽和氯化銨水溶液 (30 mL) 淬滅反應且用乙酸乙酯 (3×50 mL) 萃取。合併有機層，經無水 Na_2SO_4 乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用乙酸乙酯/石油醚 (10-20%) 溶離，得到 800 mg (80%) 呈白色固體狀之 Int-26a。

^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ 8.14-8.17 (m, 2H), 8.02-8.05 (m, 2H), 7.39-7.65 (m, 6H), 5.62-5.63 (m, 1H), 5.41-5.42 (m, 1H), 4.61-4.83 (m, 3H), 1.66 (s, 3H)。

步驟B：合成Int-26b

用三乙胺(3.2 g, 31.62 mmol)及氯膦酸二苯酯(4.2 g, 15.63 mmol)處理Int-26a(3 g, 7.87 mmol)於甲苯(60 mL)中之溶液。在室溫下攪拌所得溶液5小時，隨後用二氯甲烷(200 mL)稀釋且藉由添加飽和Na₂CO₃(40 mL)淬滅。用二氯甲烷(3×50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，經無水硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用乙酸乙酯/石油醚(5-20%)溶離，得到5 g呈無色油狀之Int-26b。

¹H-NMR-Int-26b: (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 8.10-8.12 (m, 2H), 7.99-8.00 (m, 2H), 7.53-7.69 (m, 2H), 7.43-7.52 (m, 4H), 7.14-7.37 (m, 10H), 6.02 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 5.21 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 4.61-4.66 (m, 2H), 4.31 (q, *J*=1.5 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H)。

步驟C：合成Int-26c

將Int-26b(500 mg, 0.81 mmol, 1.00當量)及33%溴化氫/乙酸(5 mL)置於用惰性氫氣氛圍吹洗且維持之25 mL圓底燒瓶中。在室溫下攪拌所得溶液3小時，隨後用二氯甲烷(50 mL)稀釋且藉由添加水/冰淬滅。用二氯甲烷(50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，用飽和Na₂CO₃(水溶液)洗滌，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用乙酸乙酯/石油醚(5-20%)溶離，得到0.25 g(69%)呈灰白色泡沫狀之Int-26c。

¹H-NMR-Int-26c: (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 8.25 (d, *J*=11.4 Hz, 2H), 8.17 (d, *J*=5.3 Hz, 2H), 7.59-7.77 (m, 2H),

7.44-7.50 (m, 4H), 6.39 (s, 1H), 5.35 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 4.73-4.92 (m, 3H), 1.76 (s, 3H)。

步驟D：合成Int-26d

在室溫下攪拌6-氯-9H-嘌呤-2-胺(382 mg, 2.25 mmol)於KO^tBu(2.25 mL, 1 N之第三丁醇溶液)中之溶液30分鐘。在室溫下將**Int-26c**(500 mg, 1.13 mmol)於乙腈(5 mL)中之溶液添加至混合物中。在油浴中維持溫度在50℃的同時再攪拌所得溶液2天後，用二氯甲烷(30 mL)稀釋所得溶液且藉由添加飽和NH₄Cl(30 mL)淬滅反應。用二氯甲烷(3×50 mL)萃取所得溶液。合併有機層，經無水Na₂SO₄乾燥，過濾且在真空中濃縮。將殘餘物施用於矽膠管柱且用二氯甲烷/甲醇(2-10%)溶離，得到390 mg(65%)呈灰白色固體狀之**Int-26d**。

¹H-NMR-**Int-26d**: (CDCl₃, 400 MHz, ppm): 8.09-8.14 (m, 2H), 7.98-8.06 (m, 2H), 7.91 (s, 1H), 7.64-7.67 (m, 1H), 7.44-7.58 (m, 2H), 7.36-7.42 (m, 2H), 6.50 (s, 1H), 6.12 (d, $J=3.6$ Hz, 1H), 5.72 (br s, 2H), 5.05-5.10 (m, 1H), 4.68-4.75 (m, 2H), 1.39 (s, 3H)。

步驟E：合成化合物243

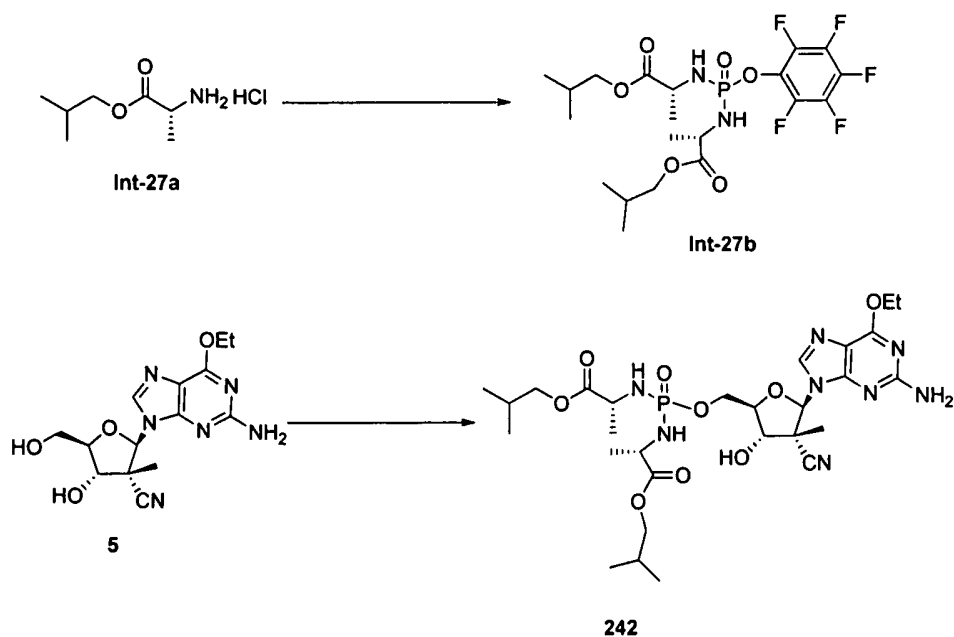
用氨(10 mL)處理**Int-26d**(140 mg, 0.26 mmol)於丙-2-醇(2 mL)中之溶液。在50℃下於油浴中攪拌所得溶液2天。在真空中濃縮所得混合物。將殘餘物施用於矽膠管柱且用二氯甲烷/甲醇(2-20%)溶離。得到30 mg(37%)呈灰白色固體狀之化合物**243**。

LC-MS-243: (ES, m/z): 306 $[M+H]^+$

$^1\text{H-NMR-243}$: (CD_3OD , 400 MHz, ppm): 8.23 (s, 1H), 6.43 (s, 1H), 4.45 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 4.04-4.08 (m, 2H), 3.88-3.91 (m, 1H), 1.13 (s, 3H)。

實例 27

製備化合物 242



步驟 A：合成 Int-27b

在 -78°C 下在攪拌下藉由逐滴添加磷醯氯 (840 mg, 5.48 mmol) 處理 Int-27a (2.0 g, 11.01 mmol) 於二氯甲烷 (20 mL) 中之溶液。在 -78°C 下向其中添加第一批 N,N-二異丙基乙胺 (1.41 g, 2.00 當量)。在 -78°C 下攪拌所得混合物 30 分鐘。在 -78°C 下向其中添加第二批 N,N-二異丙基乙胺 (1.41 g, 2.00 當量)。在室溫下攪拌所得混合物 2 小時。在 0°C 下在攪拌下向混合物中逐滴添加五氟苯酚 (907 mg, 4.93 mmol) 於二氯甲烷 (2 mL) 中之溶液且隨後在 0°C 下在攪拌下

逐滴添加N,N-二異丙基乙胺(637 mg, 4.93 mmol)。在25℃下攪拌所得溶液隔夜，隨後在真空中濃縮。將殘餘物溶解於50 mL乙醚中。濾出固體且在真空中濃縮濾液。將殘餘物施用於矽膠管柱且用乙酸乙酯/石油醚(1:1)溶離，得到900 mg(32%)呈白色固體狀之**Int-27b**。

LCMS04-**Int-27b**: 519[M+H]⁺

¹H-NMR **Int-27b**: (300 MHz, CD₃OD, ppm): 4.05-4.16(m, 2H), 3.86-3.98(m, 4H), 3.69-3.77(m, 2H), 1.87-2.00(m, 2H), 1.42-1.60(m, 6H), 0.79-1.00(m, 12H) ³¹P-NMR **Int-27b** (300 MHz, CD₃OD, ppm): 10.012(s)

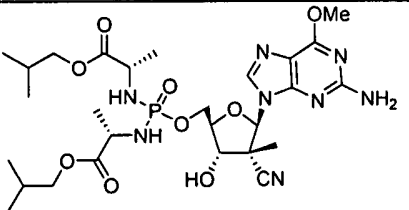
步驟B：合成化合物242

在0℃下在攪拌下用氯化第三丁基鎂(0.09 mL, 1.7 M)逐滴處理化合物**5**(50 mg, 0.15 mmol, 1.00當量)於DMF(8 mL)中之溶液。在0℃下攪拌所得混合物30分鐘。在0℃下在攪拌下向其中逐滴添加**Int-27b**(78 mg, 0.15 mmol, 1.01當量)於DMF(2 mL)中之溶液。在0℃下攪拌所得溶液隔夜，隨後用30 mL二氯甲烷稀釋且用10 mL飽和氯化銨洗滌。在真空中濃縮有機相。藉由製備型HPLC用以下條件(1#-Pre-HPLC-011(Waters))純化粗產物(70 mg)：管柱，SunFire Prep C18, 19×150 mm 5 μm；移動相：水及乙腈(在8分鐘內20.0%乙腈升至71.0%，在2分鐘內升至100.0%，在1分鐘內降至20.0%)；偵測器，UV 254及220 nm。得到24.1 mg(24%)呈白色固體狀之化合物**242**。

LCMS-**242**: (ES, m/z): 669 [M+H]⁺

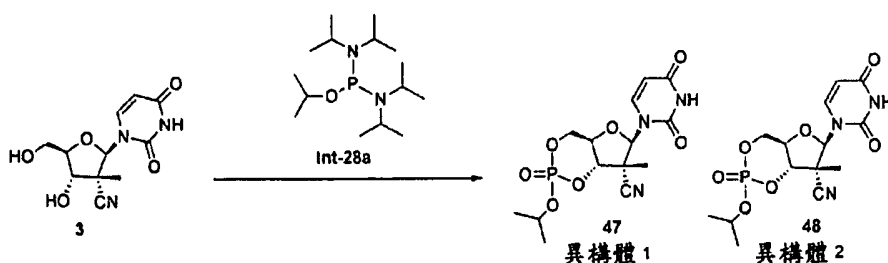
$^1\text{H-NMR}$ **242**: (300 MHz, CD_3OD , ppm): 7.95(s, 1H), 6.44(s, 1H), 4.47-4.58(m, 3H), 4.34-4.37(m, 2H), 4.15-4.18(m, 1H), 3.71-3.94(m, 6H), 1.83-1.91(m, 2H), 1.29-1.42(m, 9H), 1.15(s, 3H), 0.85-0.91(m, 12H) ^{31}P NMR-**242**: (300 MHz, CD_3OD , ppm): 14.053(s)

使用以上實例中所述之方法且替代適當反應物及/或試劑製備以下本發明化合物。

化合物編號	結構	MS (M + H)
241		655

實例 28

製備化合物 47 及 48



將化合物 **3** (20.8 mg, 0.078 mmol) 添加至密封管中。將中間物 **Int-28a** (36.7 mg, 0.126 mmol) 溶解於四氫呋喃 (1 mL) 中且添加至密封管中，繼而添加 5-(乙基硫基)-1*H*-四唑 (13.4 mg, 0.103 mmol)。將管密封且加熱至 100°C 後維持 2.5 小時。冷卻反應物至室溫且將第三丁基氫過氧化物 (1 mL) 添加至反應物中。持續攪拌反應物 16 小時。將反應物轉移至圓底燒瓶中且在真空中濃縮。藉由逆相 HPLC 經 20

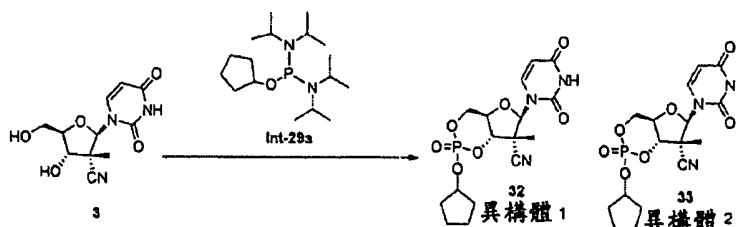
分鐘使用 10% H₂O(0.1% TFA)/CH₃CN 至 90% CH₃CN/H₂O (0.1% TFA) 之溶劑梯度純化該物質，得到 **47**(1.7 mg) 及 **48**(1.9 mg)。

¹H NMR: **47** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.65 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.78 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.82-4.58 (m, 5H), 4.48-4.42 (m, 1H), 1.45-1.39 (m, 9H); LC-MS: **47**: (ES, m/z): 371.1。

¹H NMR: **48** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.81-4.71 (m, 2H), 4.63-4.59 (m, 1H), 4.38 (d, $J=9$ Hz), 4.33-4.30 (m, 1H), 1.45-1.42 (m, 9H); LC-MS: **48**: (ES, m/z): 371.1。

實例 29

製備化合物 **32** 及 **33**



將化合物 **3**(0.50 g, 1.89 mmol) 添加至密封管中且溶解於四氫呋喃(8.0 mL)中。將中間物 **Int-29a**(0.78 g, 2.48 mmol) 溶解於四氫呋喃(8.0 mL)中且添加至密封管中。將 5-(乙基硫基)-1*H*-四唑(0.26 g, 1.99 mmol) 添加至管中，密封且加熱至 100°C 後維持 3 小時。冷卻反應物至室溫且將第三丁基氫過氧化物(15.0 mL, 120 mmol) 添加至反應物中且攪拌 16 小時。將反應物轉移至圓底燒瓶中且在真空中濃

縮。經由管柱層析用 2-10% 甲醇/二氯甲烷之梯度純化該物質，得到非對映異構體之混合物，藉由 SFC 分離法分離，得到呈白色固體狀之化合物 32 (64.2 mg) 及呈白色固體狀之化合物 33 (279 mg)。化合物 32: ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.65 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 5.77 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 5.10-5.04 (m, 1H), 4.83-4.75 (m, 1H), 4.72-4.65 (m, 1H), 4.64-4.57 (m, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 1.98-1.87 (m, 4H), 1.86-1.77 (m, 2H), 1.71-1.64 (m, 2H), 1.44 (s, 3H)。LC-MS: 32: (ES, m/z): 371.1 $[\text{M-CN}]^+$ 。化合物 33: ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 5.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 5.05-5.01 (m, 1H), 4.83-4.76 (m, 1H), 4.62-4.57 (m, 2H), 4.34-4.32 (m, 1H), 2.02-1.93 (m, 4H), 1.87-1.82 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.44 (s, 3H)。LC-MS: 33: (ES, m/z): 371.1 $[\text{M-CN}]^+$ 。

實例 30

基於細胞之 HCV 複製子分析法

為量測所選本發明化合物的基於細胞之抗 HCV 活性，在測試化合物存在下將複製子細胞以每孔 5000 個細胞接種於 96 孔塗有膠原蛋白 I 之 Nunc 盤中。將各種濃度之測試化合物 (通常以 10 次連續 2 倍稀釋液形式) 添加至分析混合物中，起始濃度在 250 μM 至 1 μM 範圍內。在分析培養基中，二甲亞砜之最終濃度為 0.5%，胎牛血清為 5%。在第 3 天藉由添加 1 $\times$ 細胞溶解緩衝液 (Ambion 目錄號 8721) 收集細胞。使用即時 PCR (Taqman 分析法) 量測複製子 RNA 含量。擴增子

位於 5B。PCR 引子為：5B.2F, ATGGACAGGCGCCCTGA (SEQ ID. NO. 1)；5B.2R, TTGATGGGCAGCTTGGTTTC (SEQ ID. NO. 2)；探針序列為經 FAM 標記之 CACGCCATGCGCTGCGG (SEQ ID. NO. 3)。使用 GAPDH RNA 作為內源對照物，且使用製造商 (PE Applied Biosystem) 推薦之引子及經 VIC 標記之探針以與 NS5B 相同之反應 (多重 PCR) 擴增。使用以下程式在 ABI PRISM 7900HT 序列偵測系統上操作即時 RT-PCR 反應：48°C 30 分鐘，95°C 10 分鐘，95°C 15 秒 × 40 個循環，60°C 1 分鐘。將 ΔCT 值 ($CT_{5B} - CT_{GAPDH}$) 對測試化合物之濃度繪圖且使用 XLfit4(MDL) 擬合 S 形劑量-反應模型。 EC_{50} 定義為相較於投影基線達成 $\Delta CT=1$ 所必需之抑制劑濃度； EC_{90} 定義為相較於基線達成 $\Delta CT=3.2$ 所必需之濃度。或者，為定量複製子 RNA 之絕對量，藉由在 Taqman 分析法中包括複製子 RNA 之連續稀釋 T7 轉錄物而建立標準曲線。所有 Taqman 試劑均來自 petroleum ether Applied Biosystems。該分析程序詳細描述於例如 Malcolm 等人，*Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50: 1013-1020 (2006) 中。

使用此方法計算本發明化合物之 HCV 複製子分析資料且所得複製子 EC_{50} 資料提供於下表中。

化合物	1b EC_{50} (μM)	化合物	1b EC_{50} (μM)	化合物	1b EC_{50} (μM)
1	14	11	17	21	25
2	12.6	12	1.7	22	18
3	>66	13	1.5	23	6.7
4	100	14	11	24	7.9
5	>100	15	5	25	>100

6	1.4	16	51	26	62
7	1	17	13	27	>100
8	11.7	18	1	28	2.7
9	0.7	19	15	29	NS5b IC ₅₀ =0.5 μ M
10	15	20	16	30	571.2

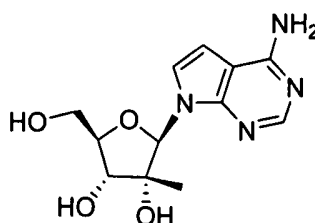
實例 31

前藥活體外轉化為三磷酸核苷

使用下述程序量測本發明之前藥化合物活體外轉化為其相應三磷酸核苷之程度。

在 5% DMSO/95% MeOH 中製備前藥測試化合物之 2 mM 儲備溶液，得到 10 μ M 之最終樣品濃度。由此儲備溶液移出 5 μ L 等分試樣且添加至 1 mL 大鼠或人類低溫保存之肝細胞樣品中，得到濃度為每毫升 1 百萬個細胞之對照樣品。一式三份地分析此樣品且用作測試樣品。

在 5% DMSO/95% MeOH 中製備化合物 A 之 2 mM 儲備溶液，得到 10 μ M 之最終樣品濃度。



化合物 A

由此儲備溶液移出 5 μ L 等分試樣且添加至 1 mL 大鼠或人類低溫保存之肝細胞樣品中，得到濃度為每毫升 1 百萬個細胞之對照樣品。一式三份地分析此樣品且用作對照標準物。

自液氮儲罐移出人類及大鼠肝細胞且藉由將肝細胞管浸

於經預熱之37°C水浴中且輕輕地來回震盪管直至解凍來解凍。隨後將經解凍之肝細胞輕輕地傾入肝細胞基本培養基(50 mL, 預先升溫至37°C)之容器中且洗滌。隨後用預先升溫之肝細胞基本培養基沖洗肝細胞管, 合併經洗滌之肝細胞及沖洗物且在室溫下在500 rpm下離心4分鐘。隨後丟棄上清液且將所得肝細胞集結粒用肝細胞基本培養基(預先升溫至37°C)再懸浮且調節最終肝細胞濃度至每毫升1百萬個細胞, 得到最終肝細胞懸浮液。

自每毫升1百萬個細胞之最終肝細胞懸浮液移出1 mL等分試樣, 一式三份地分析且置於20 mL無蓋閃爍小瓶中。隨後將2 mM前藥測試樣品添加至肝細胞懸浮液中, 於1 mL肝細胞樣品中得到10 μ M最終濃度。隨後在37°C/5% CO₂下培育樣品4小時。亦以此方式培育空白肝細胞樣品以及對照標準物。

使用移液管將所培育之肝細胞懸浮液樣品轉移至微型離心管中且在室溫下在500 rpm下離心4分鐘。丟棄上清液, 使所得肝細胞集結粒再懸浮且用0.25 mL 70%甲醇/30%(20 mM EDTA/20 mM EGTA)之4°C溶液(已使用氫氧化鈉調節至pH 8)提取細胞。隨後將所得提取溶液儲存於冰箱中4°C下直至準備使用, 彼時首先將樣品進行渦旋/音波處理以確保所有肝細胞均破裂。隨後將樣品在4°C下在4000 rpm下離心10分鐘, 且將所得上清液之100 μ L等分試樣添加至生物分析盤(2 mL正方形96孔盤, 含有100 μ L錐形儲集器)中, 剩餘上清液立即儲存在-80°C下以供必要時再分析。

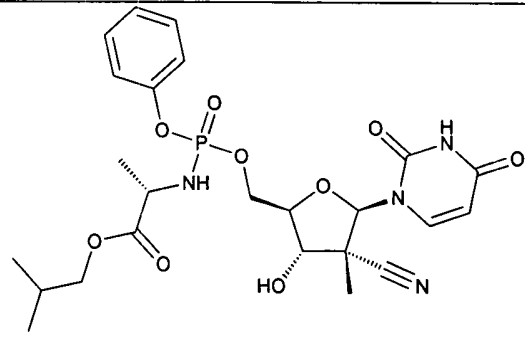
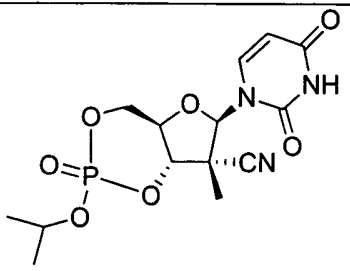
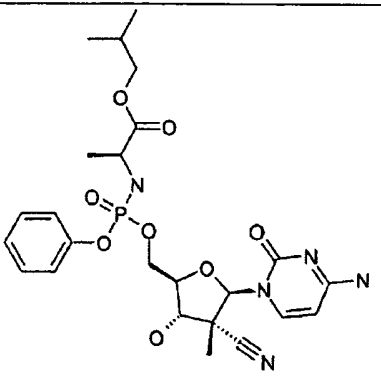
將空白對照上清液轉移至新管中以用作標準曲線之對照基質。

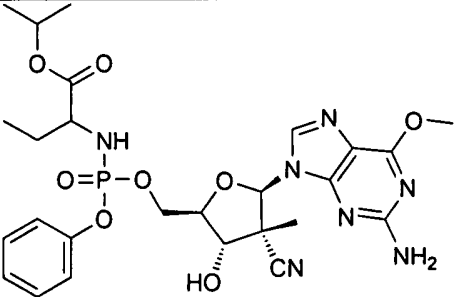
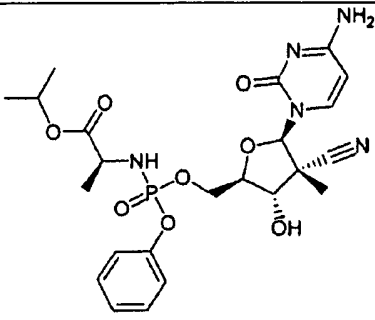
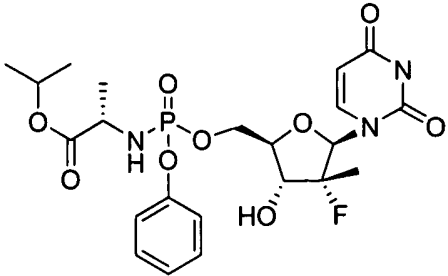
或者，自 Celsis-In Vitro Technologies(Baltimore, MD)獲得低溫保存之可塗佈肝細胞，且在抑制劑處理前三小時根據製造商之方案以每毫升 0.7×10^6 個細胞塗佈於 InVitro GRO CP培養基中(6孔盤中每孔 1.75×10^6 個細胞)。在 $t=0$ 時將含指定濃度之抑制劑 DMSO 溶液的 InVitro GRO CP培養基添加至肝細胞中。在給藥後至多 48 小時之指定時間，用冰冷 PBS 洗滌細胞，用冰冷 1 mL 70% 甲醇:30% 20 mM EDTA/EGTA 提取且離心。將上清液儲存在 -80°C 下直至分析。對於細胞內 NTP 分析，首先藉由添加具有已知濃度之 NTP 標準物的空白提取緩衝液產生 NTP 校準曲線。在耦接於 Shimazu UFLC 系統且以正離子模式操作之 QTRAP 5500 LC/MS/MS 系統(Applied Biosystems, Foster City, CA)上執行 LC/ESI-MS 分析。HPLC 系統由溶劑傳遞模組(LC20-AD XR)、自動注射器(SIL-20ACXR)及光電二極體陣列偵測器(SPD-M20A PDA)(Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan)組成。在 40°C 下執行所有 HPLC 分離。在 BioBasic AX 管柱($5\text{ }\mu\text{m}$ 粒徑， $100 \times 2.1\text{ mm}$ I.D.，Thermo Scientific)上使用 A(乙腈:10 mM NH_4Ac =30:70，v:v，pH=6)及 B(乙腈:1 mM NH_4Ac =30:70，v:v，pH=10)作為移動相以 1.0 mL/min 之流速分析測試樣品。注射體積為 50 μL 。移動相梯度以 0% B 開始，且經 6 分鐘線性增加至 100% B。所有 NTP 之 MS 分析在相同 QTRAP 5500 MS 儀器上以多離子監測模式(MRM)用

Turbo-Ion-Spray電離執行。所有分析物及標準物之碰撞能量均為40 eV。四極質譜分析儀設定為單位解析。

結果以每微升細胞三磷酸酯之皮莫耳數報導。為估算三磷酸核苷之細胞內濃度(μM)，利用以下轉化方法： 1×10^6 個肝細胞之體積為3 μL 。

使用此方法獲得以10 μM 測試之所選本發明化合物之資料且呈現於下表中。此資料表明該等化合物可在活體外有效轉化為其相應NTP，從而對於其固有效能(K_i)產生顯著覆蓋。亦呈現比較化合物(標記為化合物B)之資料。

化合物	人類肝細胞(4小時, 10 μM , NTP)/ K_i
 53	282×
 47	20×
 206	8277×

 228	9×
 195	3333×
 化合物B	約80×

實例32

前藥活體內轉化為三磷酸核苷之測定

使用下述程序量測本發明之前藥化合物活體內轉化為其相應三磷酸核苷之程度。

經由冷凍鉗程序(經由異氟烷使動物麻醉，用於液氮中冷凍之改良鉗鉗夾肝臟，隨後將所夾肝片置於液氮中以確保完全冷凍；重複肝鉗夾程序以獲得第二片肝樣品；將樣品儲存在-80℃下)自給與前藥的韋斯漢諾威大鼠(Wistar Hannover Rat)或比格爾犬(Beagle Dog)收集肝樣品。使用Spex樣品製備冷凍器/研磨機(Cryomill)將肝樣品均質化；低溫研磨操作之設定為：1個循環，2分鐘預冷凍時間，2

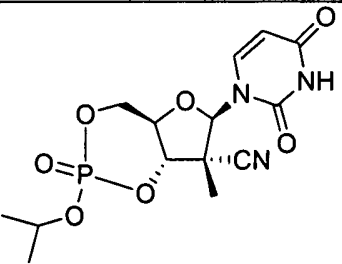
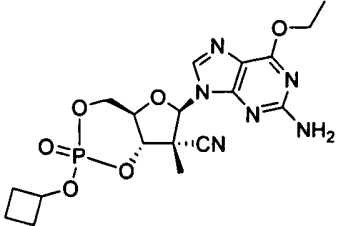
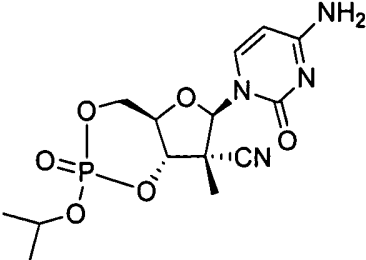
分鐘操作時間，1分鐘冷卻時間，且速率為15個循環/秒(cps)。以相同方式低溫研磨自給與媒劑之大鼠收集的對照肝樣品。在此過程期間，重要的是使與肝樣品接觸之任何物質(諸如所有Cryomill樣品容器/蓋及刮勺)一直保持冷凍於乾冰上。

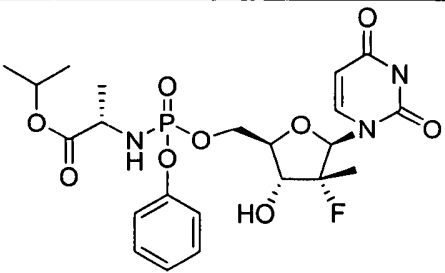
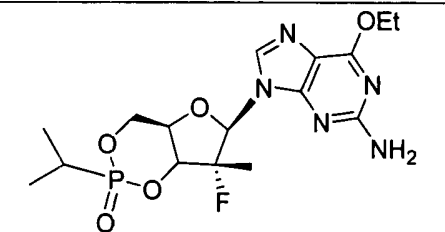
使用經低溫研磨之對照肝樣品產生標準曲線。視需要標準曲線數而定，稱量適當量之經低溫研磨對照肝樣品至錐形管中，置於濕冰上，且用已用氫氧化鈉調節至pH 8之冷70%甲醇/30%(20 mM EDTA/EGTA)以1:4(肝:MeOH/EDTA-EGTA)之比率懸浮。將懸浮肝勻漿渦旋直至獲得均勻懸浮液。標準曲線在10 ng/mL至50,000 ng/mL NTP標準物範圍內，且QC樣品為10,000 ng/mL。將標準曲線上各點及各QC之懸浮對照肝勻漿之500 μ L等分試樣移出且置於1.5 mL離心管中，且將125 μ L各相應標準曲線或QC標準溶液添加至各個別對照等分試樣中且再渦旋。在4°C下以3645 $\times$ g離心肝樣品等分試樣10分鐘，且將450 μ L上清液等分至2 mL正方形96孔生物分析盤中。亦使用以上程序由懸浮對照肝勻漿產生單一及雙重空白樣品，但用125 μ L水替代125 μ L標準溶液。

稱量約1-2公克經低溫研磨肝樣品至50 mL錐形管中，置於濕冰上，且用已用氫氧化鈉調節至pH 8之冷70%甲醇/30%(20 mM EDTA/EGTA)以1:4(肝:MeOH/EDTA-EGTA)之比率懸浮；將剩餘經低溫研磨之肝樣品儲存在-80°C下以在必要時供可能之再分析。將懸浮肝勻漿渦旋直至獲得均

勻懸浮液。移出各未知肝樣品之500 μL 等分試樣且置於1.5 mL離心管中，將125 μL 水添加至各等分試樣中且再渦旋。在4°C下以3645 $\times g$ 離心標準曲線/QC肝樣品等分試樣10分鐘，將450 μL 上清液等分至2 mL正方形96孔生物分析盤中且將適當內標添加至所有樣品孔、標準曲線/QC孔及單一空白孔中。將樣品盤儲存在-80°C下直至分析，且結果以所量測之NTP的微米數報導。

使用此方法獲得以10 μM 測試之所選本發明化合物之資料且呈現於下表中。此資料表明該等化合物可在活體內有效轉化為其相應NTP，從而對於其固有效能(K_i)產生顯著覆蓋。亦呈現比較化合物(標記為化合物B及化合物C)之資料。

化合物	活體內大鼠NTP(50 mpk, 4小時)/ K_i
 47	5 $\times$
 45	14 $\times$
 34	15 $\times$

 化合物B	10×
 化合物C	1400×

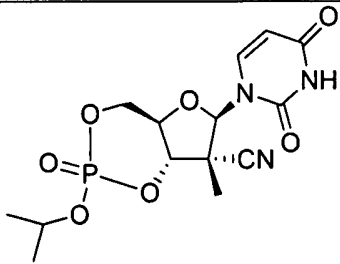
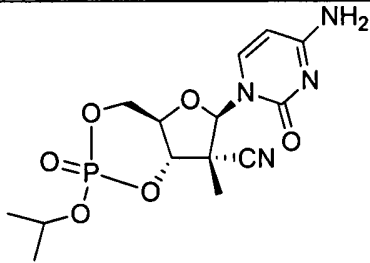
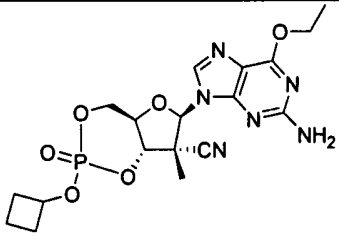
實例 34

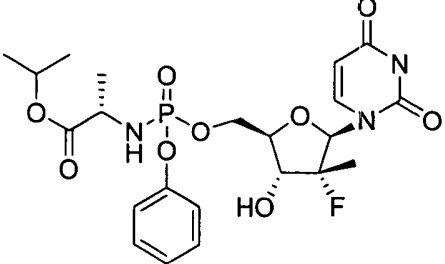
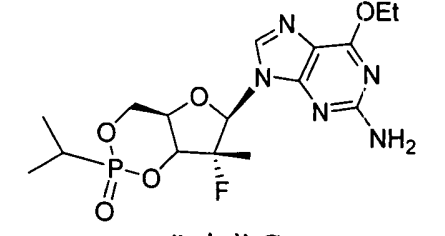
三磷酸核苷類似物對HCV NS5B聚合酶之抑制

為量測本發明之三磷酸核苷化合物對HCV NS5B RNA依賴性RNA聚合酶之酶活性的抑制，使用經放射性標記之核苷酸併入分析法。此分析法為國際公開案第WO2002/057287號中所述之分析法的改良形式。簡言之，在室溫下培育50 μ L含有20 mM HEPES(pH 7.3)；7.5 mM DTT；20單位/毫升RNasin；各1 μ M之ATP、GTP、UTP及CTP；20 μ Ci/mL [33 P]-CTP；10 mM MgCl；60 mM NaCl；100 μ g/ml BSA；0.021 μ M DCoH雜聚物RNA模板；及5 nM NS5B (1b-BK Δ 55)酶的反應物1小時。隨後藉由添加500 mM EDTA(50 μ L)終止分析。將反應混合物轉移至Millipore DE81過濾盤中且使用Packard TopCount測定經標記CTP之併入。可隨後由實驗用抑制劑之10次連續3倍稀釋液一式兩份地計算化合物IC₅₀值。NTP抑制劑之固有效能(Ki)由其NS5B IC₅₀值使用如Cheng等人，*Biochem*

Pharmacol 22:3099-3108 (1973)所述之如下競爭性抑制劑之鄭-普魯索夫方程 (Cheng-Prusoff equation) 獲得： $K_i = IC_{50} / (1 + [S] / K_m)$ ，其中 $[S] = 1 \mu M$ ，且 K_m 為在不存在外源抑制劑之分析法中產生最大酶活性一半之同源NTP濃度。

使用此方法獲得本發明之以下所選化合物之NTP類似物的資料，且如下所闡述。此資料表明該等化合物之三磷酸核苷(NTP)為HCV NS5B聚合酶之強力有效抑制劑。亦呈現比較化合物(標記為化合物B及化合物C)之資料。

化合物	NTP K_i (μM)
 47	0.3
 34	0.003
 45	0.1

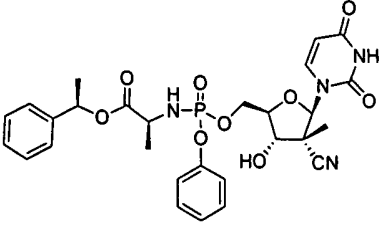
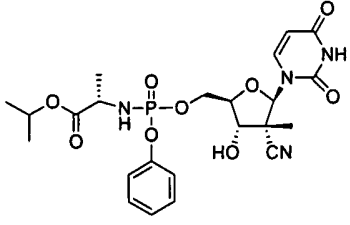
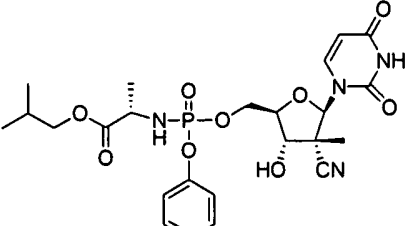
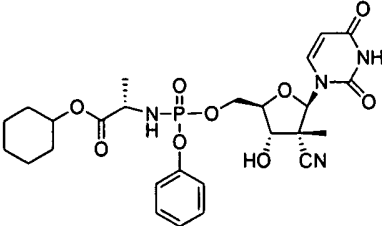
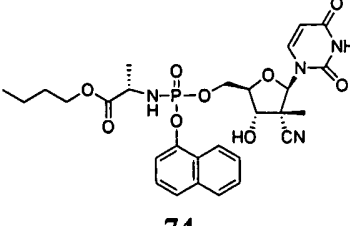
 化合物B	1.5
 化合物C	0.03

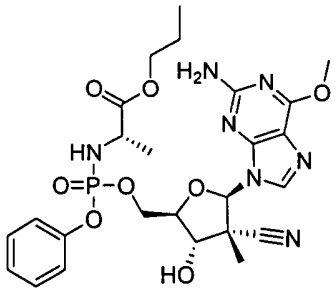
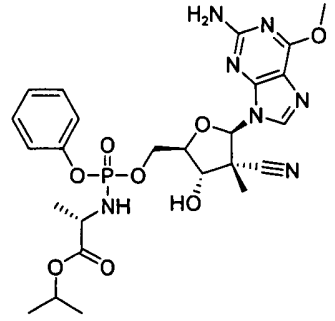
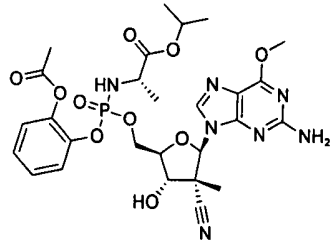
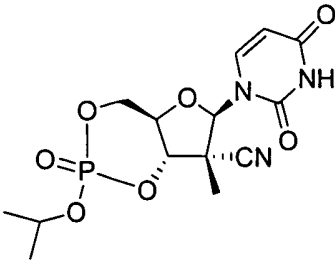
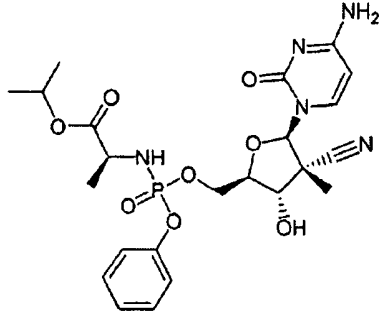
實例 35

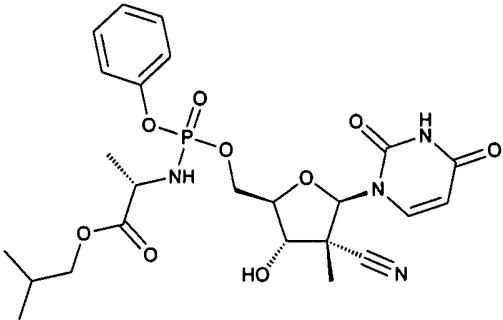
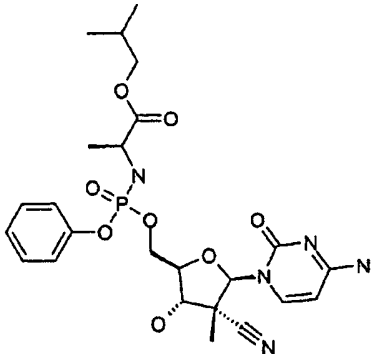
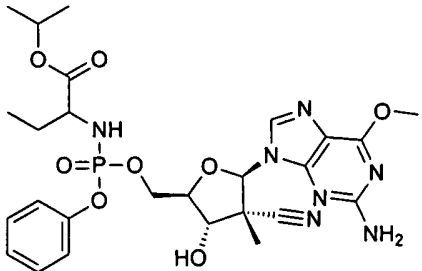
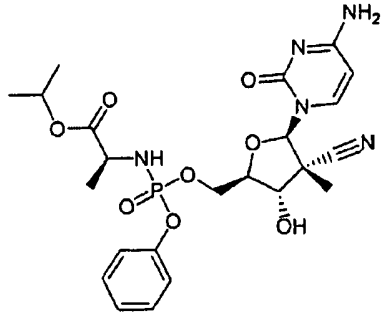
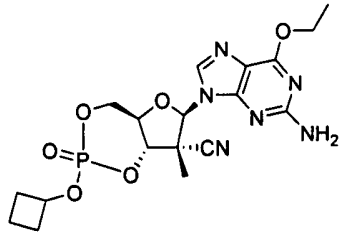
複製子活性及細胞毒性分析法

為量測本發明化合物的基於細胞之抗HCV活性，在用本發明化合物處理前一天將複製子細胞(1b-Con1)以每孔5000個細胞接種於96孔盤中。隨後將各種濃度之本發明測試化合物之DMSO溶液添加至複製子細胞中，其中DMSO在分析培養基中之最終濃度為0.5%且胎牛血清為10%。給藥後三天收集細胞，且使用即時RT-PCR(Taqman分析)以GAPDH RNA作為內源對照物來測定複製子RNA含量。由實驗用抑制劑之10次連續兩倍稀釋液一式三份地計算EC₅₀值。為量測抑制劑在複製子細胞中之細胞毒性，在給藥後三天根據製造商之用於CellTiter 96單水溶液細胞增殖分析法之方案(Promega，目錄號G3580)對經與複製子活性分析法中相同之處理之細胞執行MTS分析法。CC₅₀為相較於媒劑處理細胞產生50%抑制之抑制劑濃度。可使用相同MTS方案量測其他類型細胞中之細胞毒性。

使用此方法獲得所選本發明化合物之資料且如下闡述。
 此資料表明該等化合物對複製子活性具有顯著細胞毒性窗。

化合物	複製子(1b) EC ₅₀ (μ M)	細胞毒性 (μ M)
 57	34	>100
 61	8.3	>100
 64	1.4	>100
 70	2.4	NA
 74	2.7	>100

 90	2.1	NA
 95	2.2	>100
 98	8.9	15
 47	1.3	>100
 210	5.2	>100

 53	1.3	>100
 206	0.4	92
 228	2.2	>100
 195	0.9 (1a)	>100
 45	1.2	>100

NA=未獲得

實例 36

粒線體毒性分析法

抑制劑在複製子細胞中之粒線體毒性可藉由其相對於核基因對照物對粒線體基因組複本數之影響來評估。在抑制劑處理前一天將複製子細胞以每孔 60,000 個細胞接種於 6 孔盤中。在處理第一日添加含各種濃度抑制劑之培養基且之後每三天更新給藥培養基。在給藥後指定日收集細胞；使用 DNeasy 血液及組織套組 (Qiagen, 目錄號 69504) 分離總 DNA 且藉由標準分光光度法定量。可使用兩個替代性粒線體特異性 DNA 引子組：1) 5'-CACCCAAGAACAGGGTTTGT-3' (SEQ. ID. NO. 3) (F3212, 正向)、5'-TGGCCATGGGTATGTTGTAA-3' (SEQ. ID. NO. 4) (R3319, 反向)、6-FAM-5'-TTACCGGGCTCTGCCATCT-3'-TAMRA (SEQ. ID. NO. 5) (探針) (參見 Bai 等人, *Ann NY Acad Sci* 1011:304-309 (2004))；或 2) 5'-TGCCCGCCATCATCCTA-3' (SEQ. ID. NO. 6) (COX II, 正向)、5'-CGTCTGTTATGTAAAGGATGCGT-3' (SEQ. ID. NO. 7) (COX II, 反向), 6-FAM-5'-TCCTCATCGCCCTCCCATCCC-3'-TAMRA (SEQ. ID. NO. 8) (探針) (參見 Stuyver 等人, *Antimicrob Agents Chemother* 46:3854-3860 (2002))。在 Taqman 定量 PCR 分析中使用 500 nM 之引子及 200 nM 之探針。同時使用 ABI PDAR 部件號 4310875 (20X) 進行 18S DNA 之核基因對照物定量。將抑制劑處理細胞之 ΔCT 值 (mt DNA 與 18S DNA 之間的 CT 差值) 與媒劑處理細胞相比較。可使用相同方案量測其他類型細胞

中之粒線體毒性。

2'-氟基取代之核苷衍生物之用途

2'-氟基取代之核苷衍生物適用於人類及獸醫學以治療或預防患者之病毒感染。在一個實施例中，2'-氟基取代之核苷衍生物可為病毒複製之抑制劑。在另一實施例中，2'-氟基取代之核苷衍生物可為HCV複製之抑制劑。因此，2'-氟基取代之核苷衍生物適用於治療病毒感染(諸如HCV)。根據本發明，2'-氟基取代之核苷衍生物可投與至需要治療或預防病毒感染之患者。

因此，在一個實施例中，本發明提供治療患者之病毒感染的方法，其包含投與患者有效量之至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物或其醫藥學上可接受之鹽。

治療或預防黃病毒(Flaviviridae Virus)

2'-氟基取代之核苷衍生物可用於治療或預防由黃病毒科病毒引起之病毒感染。

可使用本發明方法治療或預防之黃病毒感染之實例包括(但不限於)登革熱(dengue fever)、日本腦炎(Japanese encephalitis)、卡薩努森林病(Kyasanur Forest disease)、澳洲馬勒谷腦炎(Murray Valley encephalitis)、聖路易斯腦炎(St. Louis encephalitis)、蜱媒腦炎(Tick-borne encephalitis)、西尼羅河腦炎(West Nile encephalitis)、黃熱病及C型肝炎病毒(HCV)感染。

在一個實施例中，所治療之黃病毒感染為C型肝炎病毒感染。

治療或預防HCV感染

2'-氟基取代之核苷衍生物適用於在基於細胞之系統中抑制HCV、治療HCV感染及/或降低HCV感染之可能性或HCV感染症狀之嚴重性以及抑制HCV病毒複製及/或HCV病毒產生。舉例而言，2'-氟基取代之核苷衍生物適用於在懷疑曾經因諸如輸血、體液交換、咬傷、意外針刺之方式而暴露於HCV或在手術或其他醫療程序期間暴露於患者血液後治療HCV感染。

在一個實施例中，C型肝炎感染為急性C型肝炎。在另一實施例中，C型肝炎感染為慢性C型肝炎。

因此，在一個實施例中，本發明提供治療患者之HCV感染的方法，該等方法包含投與患者有效量之至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物或其醫藥學上可接受之鹽。在一特定實施例中，投與量可有效治療或預防患者之HCV感染。在另一特定實施例中，投與量可有效抑制患者之HCV病毒複製及/或病毒產生。

2'-氟基取代之核苷衍生物亦適用於製備抗病毒化合物及執行抗病毒化合物之篩選分析。舉例而言，2'-氟基取代之核苷衍生物適用於鑑別NS5B中具有突變之抗HCV複製子細胞株，該等細胞株為更有效抗病毒化合物之極佳篩選工具。此外，2'-氟基取代之核苷衍生物適用於建立或確定其他抗病毒藥與HCV NS5B聚合酶之結合位點。

本發明之組合物及組合可用於治療罹患與任何HCV基因型有關之感染的患者。HCV類型及亞型的抗原性、病毒血

症等級、所致疾病之嚴重性及對干擾素療法之反應可能不同，如Holland等人，*Pathology*, 30(2):192-195 (1998)中所述。廣泛使用Simmonds等人，*J Gen Virol*, 74(第11部分):2391-2399 (1993)中所述之命名法且其將分離株分成六種主要基因型1至6，其中有兩種或兩種以上相關亞型(例如1a及1b)。已提出其他基因型7-10及11，然而此分類所依據之系譜基礎受到質疑，由此類型7、8、9及11分離株再指定為類型6，且類型10分離株再指定為類型3(參見Lamballerie等人，*J Gen Virol*, 78(第1部分):45-51 (1997))。當對NS-5區域測序時，主要基因型定義為具有55%至72%(平均值64.5%)之序列類似性，且類型內之亞型定義為具有75%-86%類似性(平均值80%)(參見Simmonds等人，*J Gen Virol*, 75(第5部分):1053-1061 (1994))。

組合療法

在另一實施例中，治療或預防HCV感染之本發明方法可進一步包含投與一或多種不為2'-氟基取代之核苷衍生物之其他治療劑。

在一個實施例中，其他治療劑為抗病毒劑。

在另一實施例中，其他治療劑為免疫調節劑，諸如免疫抑制劑。

因此，在一個實施例中，本發明提供治療患者之病毒感染的方法，該方法包含投與患者：(i)至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物(其可包括兩種或兩種以上不同2'-經取代核苷衍生物)或其醫藥學上可接受之鹽，及(ii)至少一種不為

2'-氟基取代之核苷衍生物之其他治療劑，其中投與量一起有效治療或預防病毒感染。

當投與患者本發明之組合療法時，組合中之治療劑或包含治療劑之醫藥組合物可以任何次序(諸如依序、共同、一起、同時)投與。該組合療法中各種活性劑之量可為不同量(不同劑量)或相同量(相同劑量)。由此，出於非限制性說明之目的，2'-氟基取代之核苷衍生物及其他治療劑可以固定量(劑量)存在於單一劑量單位(例如膠囊、錠劑及其類似物)中。

在一個實施例中，至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物在其他治療劑發揮其預防或治療作用之時間期間投與，或反之亦然。

在另一實施例中，至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物及其他治療劑以該等藥劑用作治療病毒感染之單一療法時通常所用之劑量投與。

在另一實施例中，至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物及其他治療劑以小於該等藥劑用作治療病毒感染之單一療法時通常所用之劑量的劑量投與。

在另一實施例中，至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物及其他治療劑起協同作用，且以小於該等藥劑用作治療病毒感染之單一療法時通常所用之劑量的劑量投與。

在一個實施例中，至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物及其他治療劑存在於同一組合物中。在一個實施例中，此組合物適用於經口投與。在另一實施例中，此組合物適用於

靜脈內投與。在另一實施例中，此組合物適用於皮下投與。在另一實施例中，此組合物適用於非經腸投與。

可使用本發明之組合治療方法治療或預防之病毒感染及病毒相關病症包括(但不限於)上列病症。

在一個實施例中，病毒感染為HCV感染。

至少一種2'-氘基取代之核苷衍生物及其他治療劑可起加和或協同作用。協同組合可允許使用較低劑量之一或多種藥劑及/或以較低頻率投與組合療法之一或多種藥劑。一或多種藥劑之較低劑量或較低頻率投藥可降低療法毒性，而不會降低療法功效。

在一個實施例中，投與至少一種2'-氘基取代之核苷衍生物及其他治療劑可抑制病毒感染對此等藥劑之抗性。

適用於本發明組合物及方法之其他治療劑之非限制性實例包括干擾素、免疫調節劑、病毒複製抑制劑、反義藥劑、治療性疫苗、病毒聚合酶抑制劑、核苷抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、病毒解螺旋酶抑制劑、病毒粒子產生抑制劑、病毒進入抑制劑、病毒組裝抑制劑、抗體療法(單株或多株)及適用於治療RNA依賴性聚合酶相關病症之任何藥劑。

在一個實施例中，其他治療劑為病毒蛋白酶抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為病毒複製抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS3蛋白酶抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS5B聚合酶抑制

劑。

在另一實施例中，其他治療劑為核苷抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為干擾素。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV複製酶抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為反義藥劑。

在另一實施例中，其他治療劑為治療性疫苗。

在另一實施例中，其他治療劑為病毒粒子產生抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為抗體療法。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS2抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS4A抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS4B抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS5A抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV NS3解螺旋酶抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV IRES抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV p7抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV進入抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑為HCV組裝抑制劑。

在一個實施例中，其他治療劑包含病毒蛋白酶抑制劑及病毒聚合酶抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑包含病毒蛋白酶抑制劑及免疫調節劑。

在另一實施例中，其他治療劑包含聚合酶抑制劑及免疫調節劑。

在另一實施例中，其他治療劑包含病毒蛋白酶抑制劑及核苷。

在另一實施例中，其他治療劑包含免疫調節劑及核苷。

在一個實施例中，其他治療劑包含HCV蛋白酶抑制劑及HCV聚合酶抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑包含核苷及HCV NS5A抑制劑。

在另一實施例中，其他治療劑包含病毒蛋白酶抑制劑、免疫調節劑及核苷。

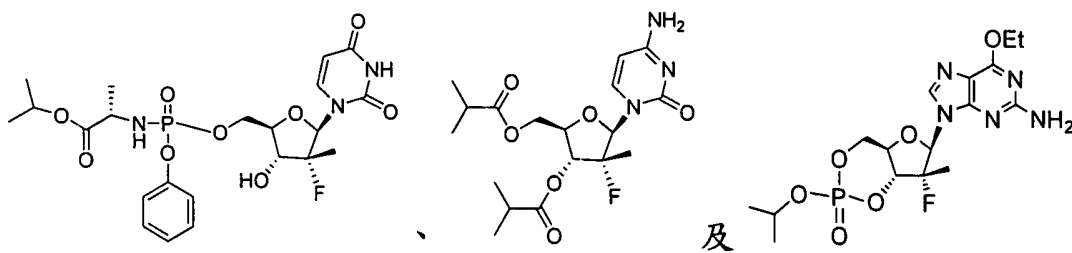
在另一實施例中，其他治療劑包含病毒蛋白酶抑制劑、病毒聚合酶抑制劑及免疫調節劑。

在另一實施例中，其他治療劑為病毒唑。

適用於本發明之組合物及方法的HCV聚合酶抑制劑包括(但不限於)VP-19744(Wyeth/ViroPharma)、PSI-7851(Pharmasset)、RG7128(Roche/Pharmasset)、PSI-7977(Pharmasset)、PSI-938(Pharmasset)、PSI-879(Pharmasset)、PSI-661(Pharmasset)、PF-868554/非利布韋(filibuvir)(Pfizer)、VCH-759/VX-759(ViroChem Pharma/Vertex)、HCV-371(Wyeth/ViroPharma)、HCV-796(Wyeth/ViroPharma)、IDX-184(Idenix)、IDX-375(Idenix)、NM-283(Idenix/Novartis)、GL-60667(Genelabs)、JTK-109(Japan Tobacco)、PSI-6130(Pharmasset)、R1479(Roche)、R-1626(Roche)、R-7128(Roche)、MK-0608(Isis/Merck)、INX-8014(Inhibitex)、INX-8018(Inhibitex)、INX-189(Inhibitex)、GS 9190(Gilead)、A-848837(Abbott)、ABT-333(Abbott)、ABT-

072(Abbott)、A-837093(Abbott)、BI-207127(Boehringer-Ingelheim)、BILB-1941(Boehringer-Ingelheim)、MK-3281(Merck)、VCH-222/VX-222(ViroChem/Vertex)、VCH-916(ViroChem)、VCH-716(ViroChem)、GSK-71185(Glaxo SmithKline)、ANA598(Anadys)、GSK-625433(Glaxo SmithKline)、XTL-2125(XTL Biopharmaceuticals), 及 Ni 等人, *Current Opinion in Drug Discovery and Development*, 7(4):446 (2004); Tan 等人, *Nature Reviews*, 1:867 (2002); 及 Beaulieu 等人, *Current Opinion in Investigational Drugs*, 5:838 (2004)中所揭示之HCV聚合酶抑制劑。

適用於本發明之組合物及方法的其他HCV聚合酶抑制劑包括(但不限於)國際公開案第WO 08/082484號、第WO 08/082488號、第WO 08/083351號、第WO 08/136815號、第WO 09/032116號、第WO 09/032123號、第WO 09/032124號及第WO 09/032125號中所揭示之HCV聚合酶抑制劑; 及以下化合物:



及其醫藥學上可接受之鹽。

適用於本發明之組合物及方法的干擾素包括(但不限於)干擾素 α -2a、干擾素 α -2b、干擾素 α con-1及PEG-干擾素 α 結合物。「PEG-干擾素 α 結合物」為共價連接於PEG分子之

干擾素 α 分子。說明性PEG-干擾素 α 結合物包括呈聚乙二醇化干擾素 α -2a形式之干擾素 α -2a(Roferon™, Hoffman La-Roche, Nutley, New Jersey)(例如以商標名Pegasys™出售)、呈聚乙二醇化干擾素 α -2b形式之干擾素 α -2b(Intron™, 來自Schering-Plough Corporation)(例如以商標名PEG-Intron™自Schering-Plough Corporation出售)、干擾素 α -2b-XL(例如以商標名PEG-Intron™出售)、干擾素 α -2c(Berofer Alpha™, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Germany)、PEG-干擾素 λ (Bristol-Myers Squibb及ZymoGenetics)、干擾素 α -2b α 融合多肽、與人類血液蛋白質白蛋白融合之干擾素(Albuferon™, Human Genome Sciences)、 ω 干擾素(Intarcia)、羅特隆(Locteron)控制釋放干擾素(Biolex/OctoPlus)、拜奧門德(Biomed)-510(ω 干擾素)、Peg-IL-29(ZymoGenetics)、羅特隆CR(Octoplus)、R-7025(Roche)、IFN- α -2b-XL(Flamel Technologies)、伯利羅豐(beleroferon)(Nautilus)及藉由測定天然產生之干擾素 α 的共同序列所定義之複合干擾素(Infergen™, Amgen, Thousand Oaks, California)。

適用於本發明之組合物及方法的抗體治療劑包括(但不限於)對IL-10具特異性之抗體(諸如美國專利公開案第US2005/0101770號中所揭示之抗體-人類化12G8, 一種針對人類IL-10之人類化單株抗體, 含有編碼人類化12G8輕鏈及重鏈之核酸的質體分別以寄存編號PTA-5923及PTA-5922寄存於美國菌種保存中心(American Type Culture

Collection, ATCC))及其類似物。

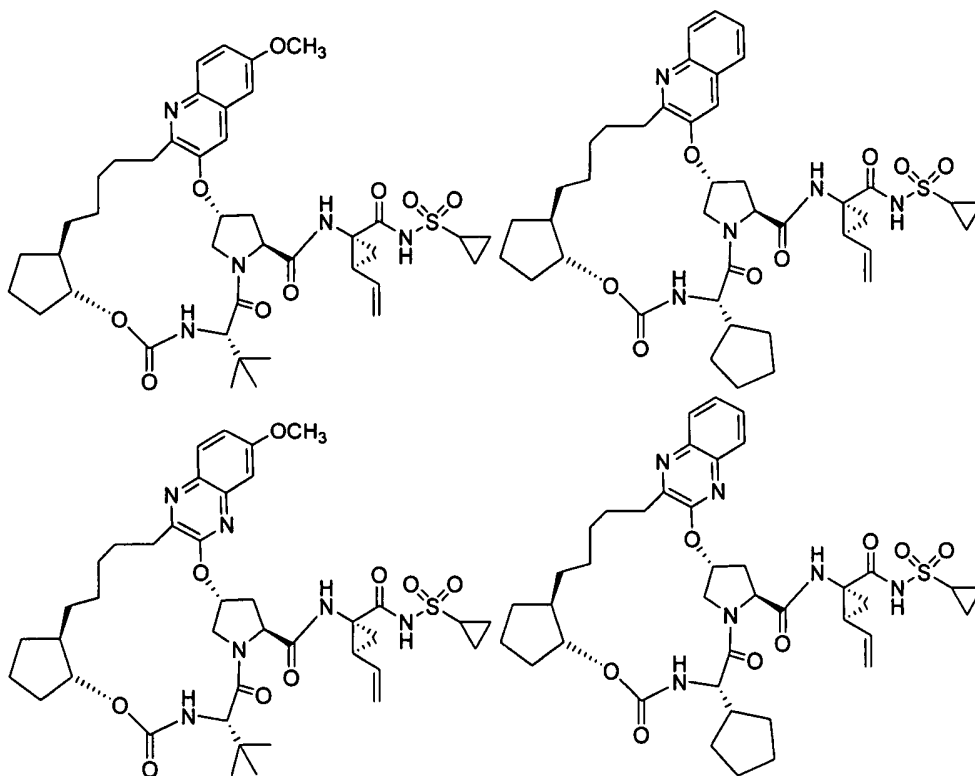
適用於本發明之組合物及方法的病毒蛋白酶抑制劑的實例包括(但不限於)HCV蛋白酶抑制劑。

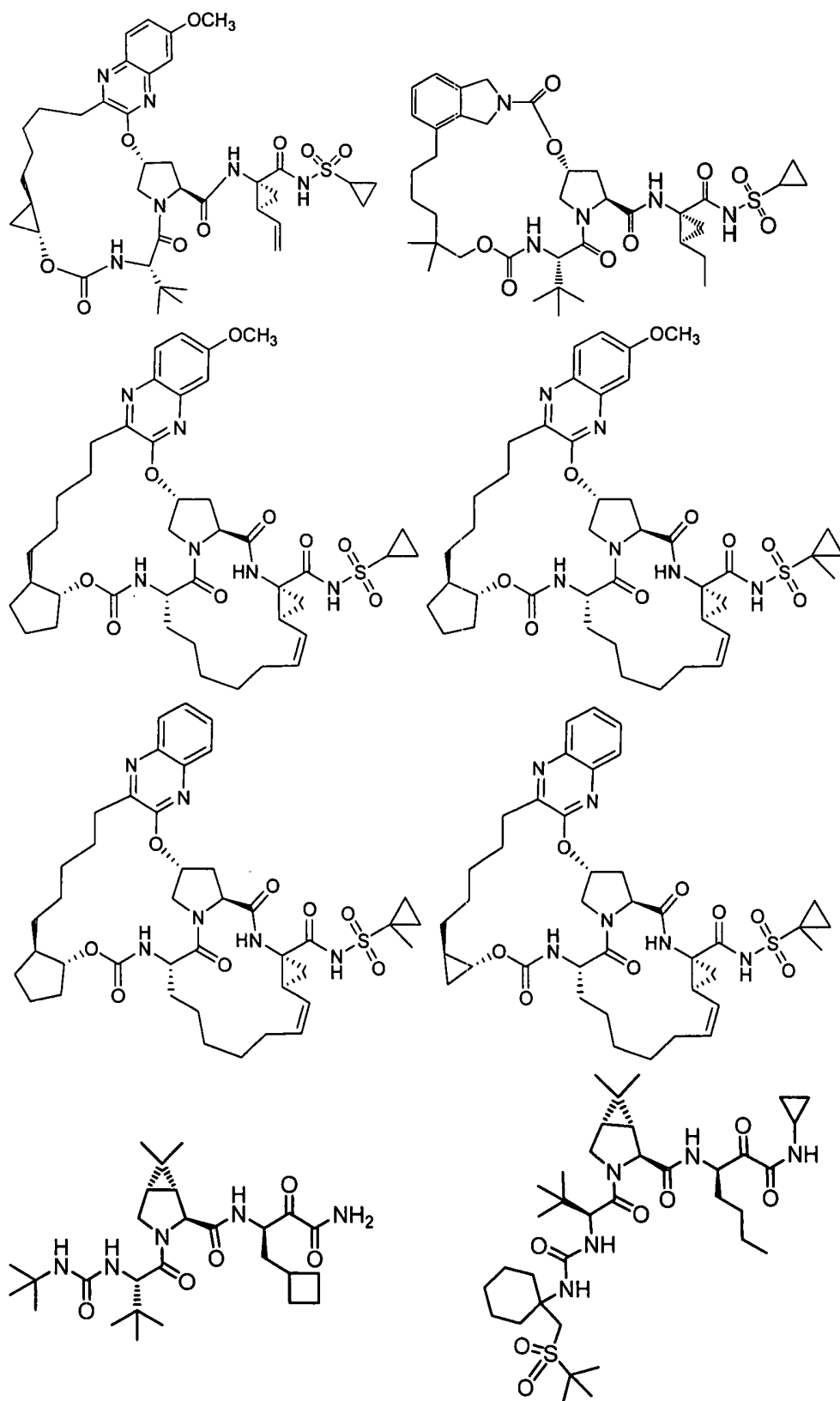
適用於本發明之組合物及方法的HCV蛋白酶抑制劑包括(但不限於)以下中所揭示之HCV蛋白酶抑制劑：美國專利第 7,494,988 號、第 7,485,625 號、第 7,449,447 號、第 7,442,695 號、第 7,425,576 號、第 7,342,041 號、第 7,253,160 號、第 7,244,721 號、第 7,205,330 號、第 7,192,957 號、第 7,186,747 號、第 7,173,057 號、第 7,169,760 號、第 7,012,066 號、第 6,914,122 號、第 6,911,428 號、第 6,894,072 號、第 6,846,802 號、第 6,838,475 號、第 6,800,434 號、第 6,767,991 號、第 5,017,380 號、第 4,933,443 號、第 4,812,561 號及第 4,634,697 號；美國專利公開案第 US20020068702 號、第 US20020160962 號、第 US20050119168 號、第 US20050176648 號、第 US20050209164 號、第 US20050249702 號及第 US20070042968 號；及國際公開案第 WO 03/006490 號、第 WO 03/087092 號、第 WO 04/092161 號及第 WO 08/124148 號。

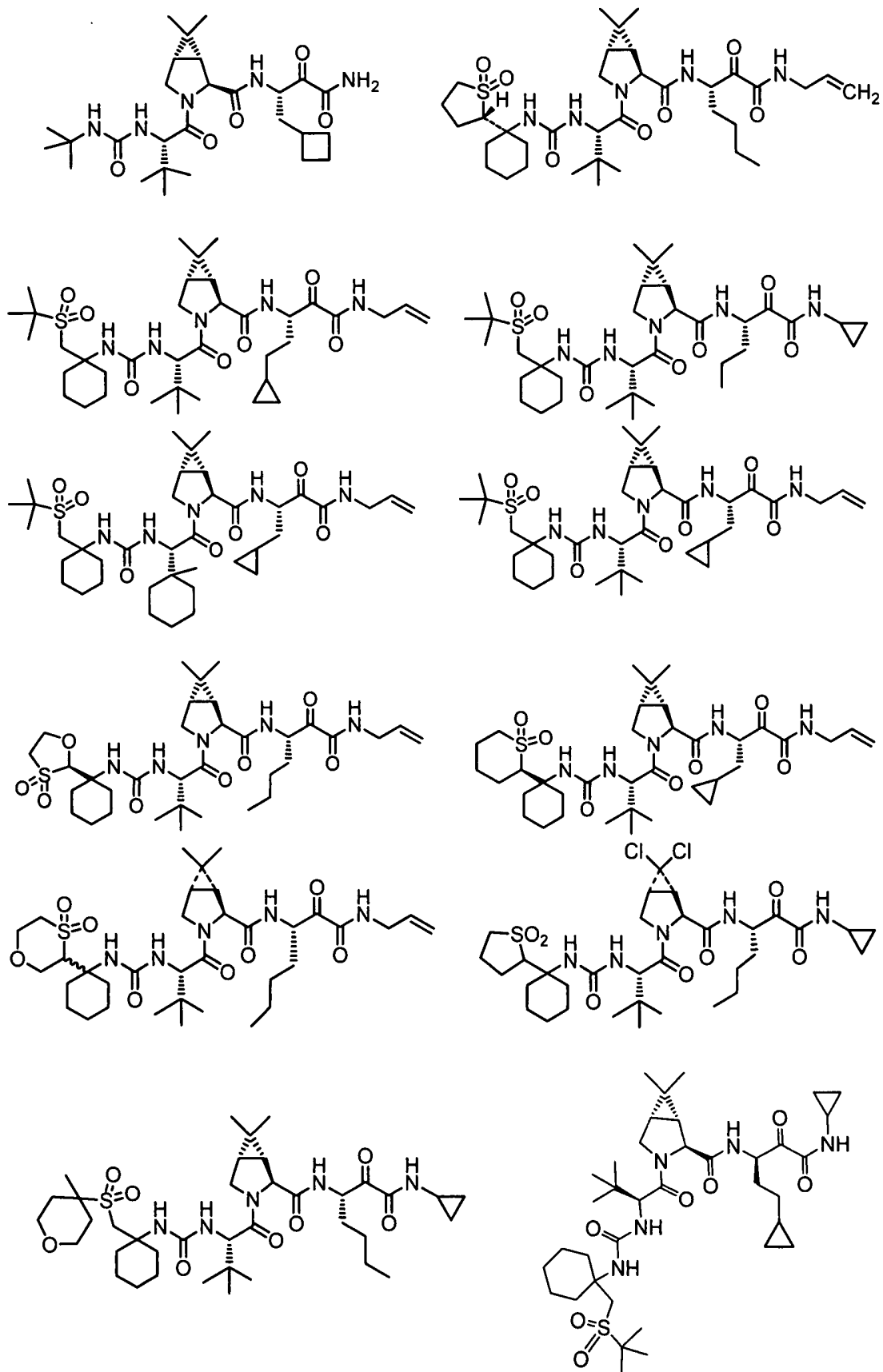
適用於本發明之組合物及方法的其他HCV蛋白酶抑制劑包括(但不限於)VX-950(特拉派韋(Telaprevir), Vertex)、VX-500(Vertex)、VX-813(Vertex)、VBY-376(Virobay)、BI-201335(Boehringer Ingelheim)、TMC-435(Medivir/Tibotec)、ABT-450(Abbott/Enanta)、TMC-435350(Medivir)、RG7227(丹諾普韋(Danoprevir), InterMune/Roche)、EA-058

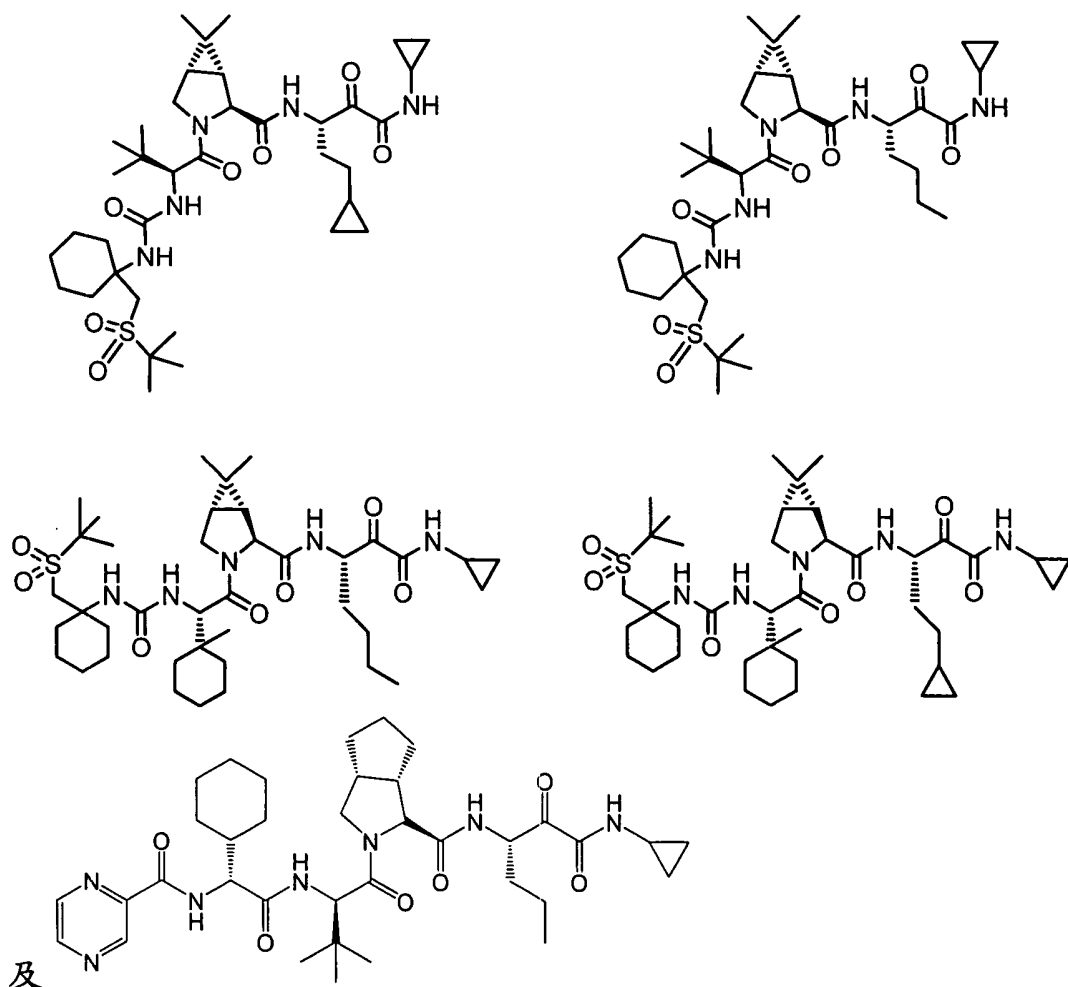
(Abbott/Enanta) 、 EA-063(Abbott/Enanta) 、 GS-9256 (Gilead)、 IDX-320(Idenix)、 ACH-1625(Achillion)、 ACH-2684(Achillion) 、 GS-9132(Gilead/Achillion) 、 ACH-1095(Gilead/Achillion) 、 IDX-136(Idenix) 、 IDX-316(Idenix) 、 ITMN-8356(InterMune) 、 ITMN-8347(InterMune) 、 ITMN-8096(InterMune) 、 ITMN-7587(InterMune) 、 BMS-650032 (Bristol-Myers Squibb) 、 VX-985(Vertex) 及 PHX1766 (Phenomix)。

適用於本發明之組合物及方法的HCV蛋白酶抑制劑的其他實例包括(但不限於)以下化合物：









及其醫藥學上可接受之鹽。

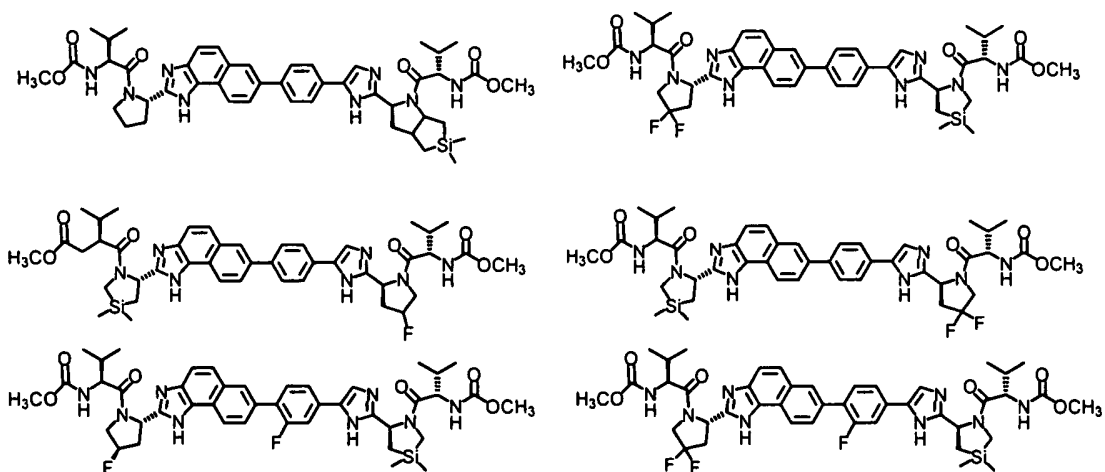
適用於本發明之組合物及方法的病毒複製抑制劑包括(但不限於)HCV複製酶抑制劑、IRES抑制劑、NS4A抑制劑、NS3解螺旋酶抑制劑、NS5A抑制劑、NS5B抑制劑、病毒唑、AZD-2836(Astra Zeneca)、偉拉咪定(viramidine)、A-831(Arrow Therapeutics)、EDP-239(Enanta)、ACH-2928(Achillion)、GS-5885(Gilead)；反義藥劑或治療性疫苗。

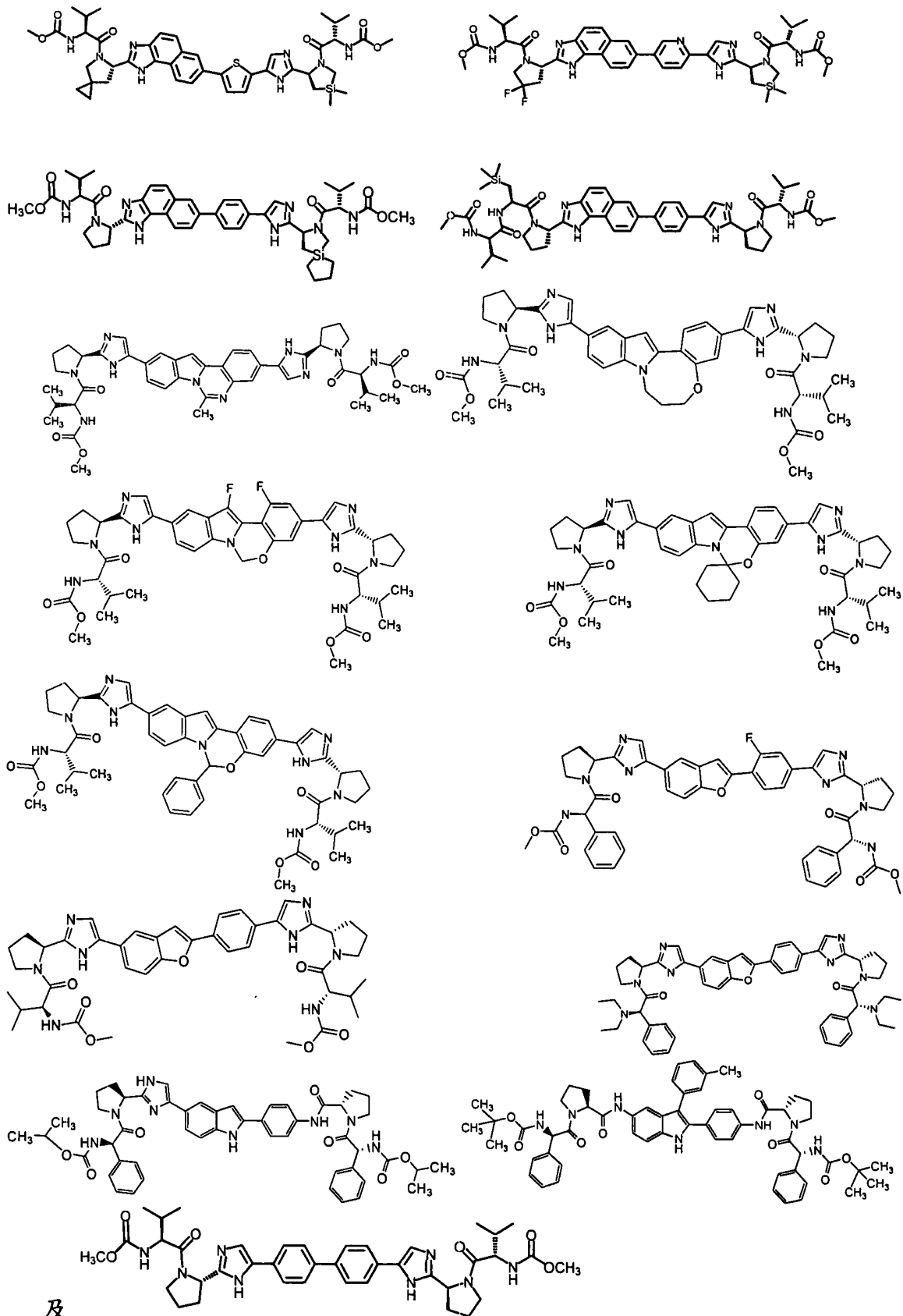
適用作本發明之組合物及方法中之第二其他治療劑的病毒進入抑制劑包括(但不限於)PRO-206(Progenics)、REP-9C(REPICor)、SP-30(Samaritan Pharmaceuticals)及 ITX-

5061(iTherx)。

適用於本發明之組合物及方法的HCV NS4A抑制劑包括(但不限於)美國專利第7,476,686號及第7,273,885號；美國專利公開案第US20090022688號；及國際公開案第WO 2006/019831號及第WO 2006/019832號中所揭示之HCV NS4A抑制劑。適用作本發明之組合物及方法中之第二其他治療劑的其他HCV NS4A抑制劑包括(但不限於)AZD2836(Astra Zeneca)、ACH-1095(Achillion)及ACH-806(Achillion)。

適用於本發明之組合物及方法的HCV NS5A抑制劑包括(但不限於)ACH-2928(Achilon)、A-832(Arrow Therapeutics)、AZD-7295(Astra Zeneca/Arrow)、GS-5885(Gilead)、PPI-461(Presidio)、PPI-1301(Presidio)、BMS-824383(Bristol-Myers Squibb)及BMS-790052(Bristol-Myers Squibb)。適用作本發明之組合物及方法中之第二其他治療劑的其他HCV NS4A抑制劑包括(但不限於)國際公開案第WO 2010/111483號中所揭示之HCV NS4A抑制劑及以下化合物：





及其醫藥學上可接受之鹽。

適用於本發明之組合物及方法的HCV複製酶抑制劑包括

(但不限於)美國專利公開案第US20090081636號中所揭示之HCV複製酶抑制劑。

適用於本發明之組合物及方法的治療性疫苗包括(但不限於)IC41(Intercell Novartis)、CSL123(Chiron/CSL)、GI 5005(Globeimmune)、TG-4040(Transgene)、GNI-103(GENimmune)、亥帕瓦西(Hepavaxx)C(ViRex Medical)、ChronVac-C(Inovio/Tripep)、PeviPRO™(Pevion Biotect)、HCV/MF59(Chiron/Novartis)、MBL-HCV1(MassBiologics)、GI-5005(GlobeImmune)、CT-011(CureTech/Teva)及西瓦司(Civacir)(NABI)。

適用於本發明之組合物及方法的其他治療劑之實例包括(但不限於)利托那韋(Ritonavir)(Abbott)、TT033(Benitec/Tacere Bio/Pfizer)、司瑞那(Sirna)-034(Sirna Therapeutics)、GNI-104(GENimmune)、GI-5005 (GlobeImmune)、IDX-102(Idenix)、Levovirin™(ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, California)；胡瑪司(Humax)(Genmab)、ITX-2155(Ithrex/Novartis)、PRO 206(Progenics)、HepaCide-I(NanoVirocides)、MX3235(Migenix)、SCY-635(Scynexis)；KPE02003002(Kemin Pharma)、來諾塔(Lenocta)(VioQuest Pharmaceuticals)、IET-干擾素增強療法(Transition Therapeutics)、日達仙(Zadaxin)(SciClone Pharma)、VP 50406™(Viropharma, Incorporated, Exton, Pennsylvania)；他立韋林(Taribavirin)(Valeant Pharmaceuticals)；硝唑尼特(Nitazoxanide)(Romark)；德彪(Debio)025(Debiopharm)；

GS-9450(Gilead) ; PF-4878691(Pfizer) ; ANA773(Anadys) ; SCV-07(SciClone Pharmaceuticals) ; NIM-881(Novartis) ; ISIS 14803™(ISIS Pharmaceuticals, Carlsbad, California) ; Heptazyme™(Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, Colorado) ; Thymosin™(SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, California) ; Maxamine™(Maxim Pharmaceuticals, San Diego, California) ; NKB-122(JenKen Bioscience Inc., North Carolina) ; 阿利那 (Alinia)(Romark Laboratories) 、 INFORM-1(R7128與ITMN-191之組合) ; 及黴酚酸嗎啉乙酯(mycophenolate mofetil)(Hoffman-LaRoche, Nutley, New Jersey) 。

用於治療或預防HCV感染之本發明組合療法中所用之其他藥劑的劑量及給藥方案可由主治臨床醫師在考慮以下因素下確定：藥品說明書中之批准劑量及給藥方案；患者之年齡、性別及一般健康狀況；及病毒感染或相關疾病或病症之類型及嚴重性。當組合投與時，2'-氟基取代之核苷衍生物及其他藥劑可同時或依序投與(亦即，於同一組合物中或於相繼投與之各別組合物中)。此在組合之組分以不同給藥時程給與(例如一種組分每日投與一次且另一種組分每六小時投與一次)時或在較佳醫藥組合物不同(例如一者為錠劑且一者為膠囊)時尤其適用。因此，包含各別劑型之套組為有利的。

一般而言，至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物單獨或以組合療法投與時之總日劑量可在約1至約2500毫克/天範圍

內，但視治療目標、患者及投藥途徑而定將必然發生變化。在一個實施例中，劑量為約10至約1000毫克/天，以單次劑量或2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約1至約500毫克/天，以單次劑量或2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約1至約100毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約1至約50毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約500至約1500毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約500至約1000毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約100至約500毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。

在一個實施例中，當其他治療劑為INTRON-A干擾素 α 2b(可購自Schering-Plough Corp.)時，此藥劑係藉由每週三次以3 MIU(12 mcg)/0.5 mL經皮下注射24週或48週(對於第一次治療)來投與。

在另一實施例中，當其他治療劑為聚乙二醇化PEG-INTRON干擾素 α 2b(可購自Schering-Plough Corp.)時，此藥劑係藉由每週以1.5 mcg/kg(每週40至150 mcg範圍內)經皮下注射至少24週來投與。

在另一實施例中，當其他治療劑為ROFERON A干擾素 α 2a(可購自Hoffmann-La Roche)時，此藥劑係藉由每週三次以3 MIU(11.1 mcg/mL)經皮下或肌肉內注射至少48至52週，或者每週三次以6 MIU注射12週、繼而每週三次以3

MIU注射36週來投與。

在另一實施例中，當其他治療劑為聚乙二醇化PEGASUS干擾素 $\alpha 2a$ (可購自 Hoffmann-La Roche)時，此藥劑係藉由每週一次以180 mcg/1 mL或180 mcg/0.5 mL經皮下注射至少24週來投與。

在另一實施例中，當其他治療劑為INFERGEN干擾素 $\alpha con-1$ (可購自 Amgen)時，此藥劑係藉由每週三次以9 mcg經皮下注射24週(對於第一次治療)來投與且每週三次以至多15 mcg經皮下注射24週(對於非反應性或復發治療)來投與。

在另一實施例中，當其他治療劑為病毒唑(以REBETOL病毒唑購自 Schering-Plough或以 COPEGUS病毒唑購自 Hoffmann-La Roche)時，此藥劑係以約600至約1400毫克/天之日劑量投與至少24週。

在一個實施例中，一或多種本發明化合物與一或多種選自以下之其他治療劑一起投與：干擾素、免疫調節劑、病毒複製抑制劑、反義藥劑、治療性疫苗、病毒聚合酶抑制劑、核苷抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、病毒解螺旋酶抑制劑、病毒聚合酶抑制劑、病毒粒子產生抑制劑、病毒進入抑制劑、病毒組裝抑制劑、抗體療法(單株或多株)及適用於治療RNA依賴性聚合酶相關病症之任何藥劑。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與一或多種選自以下之其他治療劑一起投與：HCV蛋白酶抑制劑、HCV聚合酶抑制劑、HCV複製抑制劑、核苷、干擾素、聚乙二

醇化干擾素及病毒唑。組合療法可包括此等其他治療劑之任何組合。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與一種選自HCV蛋白酶抑制劑、干擾素、聚乙二醇化干擾素及病毒唑之其他治療劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與兩種選自HCV蛋白酶抑制劑、HCV複製抑制劑、核苷、干擾素、聚乙二醇化干擾素及病毒唑之其他治療劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與HCV蛋白酶抑制劑及病毒唑一起投與。在另一特定實施例中，一或多種本發明化合物與聚乙二醇化干擾素及病毒唑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與三種選自HCV蛋白酶抑制劑、HCV複製抑制劑、核苷、干擾素、聚乙二醇化干擾素及病毒唑之其他治療劑一起投與。

在一個實施例中，一或多種本發明化合物與一或多種選自HCV聚合酶抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、干擾素及病毒複製抑制劑之其他治療劑一起投與。在另一實施例中，一或多種本發明化合物與一或多種選自HCV聚合酶抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、干擾素及病毒複製抑制劑之其他治療劑一起投與。在另一實施例中，一或多種本發明化合物與一或多種選自HCV聚合酶抑制劑、HCV NS5A抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、干擾素及病毒唑之其他治療劑一起投與。

在一個實施例中，一或多種本發明化合物與一種選自

HCV聚合酶抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、干擾素及病毒複製抑制劑之其他治療劑一起投與。在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑一起投與。

在一個實施例中，一或多種本發明化合物與兩種選自HCV聚合酶抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑、干擾素及病毒複製抑制劑之其他治療劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑、干擾素及另一治療劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑、干擾素及另一治療劑一起投與，其中該另一治療劑選自HCV聚合酶抑制劑、病毒蛋白酶抑制劑及病毒複製抑制劑。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑、干擾素及病毒蛋白酶抑制劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑、干擾素及HCV蛋白酶抑制劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑、干擾素及保斯派韋(boceprevir)或特拉派韋一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與病毒唑、干擾素及HCV聚合酶抑制劑一起投與。

在另一實施例中，一或多種本發明化合物與聚乙二醇化干擾素 α 及病毒唑一起投與。

組合物及投藥

2'-氟基取代之核苷衍生物由於其活性而適用於獸醫及人類醫學。如上所述，2'-氟基取代之核苷衍生物適用於治療

或預防有需要之患者的HCV感染。

當投與至患者時，2'-氟基取代之核苷衍生物可作為包含醫藥學上可接受之載劑或媒劑之組合物的組分來投與。本發明提供醫藥組合物，其包含有效量之至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物及醫藥學上可接受之載劑。在本發明之醫藥組合物及方法中，活性成分通常以與針對預期投藥形式適當選擇之適合載劑物質混合且按照習知醫藥實踐來投與，該投藥形式亦即口服錠劑、膠囊(固體填充、半固體填充或液體填充膠囊)、粉末構造、口服凝膠、酏劑、分散性顆粒、糖漿、懸浮液及其類似形式。舉例而言，對於以錠劑或膠囊形式經口投與，活性藥物組分可與任何口服無毒醫藥學上可接受之惰性載劑組合，諸如乳糖、澱粉、蔗糖、纖維素、硬脂酸鎂、磷酸氫鈣、硫酸鈣、滑石、甘露糖醇、乙醇(液體形式)及其類似物。固體形式製劑包括粉末、錠劑、分散性顆粒、膠囊、扁囊劑(cachets)及栓劑。粉末及錠劑可包含約0.5至約95%本發明組合物。錠劑、粉末、扁囊劑及膠囊可以適用於經口投與之固體劑型使用。

此外，需要或必要時，亦可將適合黏合劑、潤滑劑、崩解劑及著色劑併入混合物中。適合黏合劑包括澱粉、明膠、天然糖、玉米甜味劑、天然及合成膠(諸如阿拉伯膠(acacia))、海藻酸鈉、羧甲基纖維素、聚乙二醇及蠟。對於用於此等劑型之潤滑劑，尤其可提及硼酸、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉及其類似物。崩解劑包括澱粉、甲基纖維

素、瓜爾膠及其類似物。適當時，亦可包括甜味劑、調味劑及防腐劑。

液體形式製劑包括溶液、懸浮液及乳液，且對於非經腸注射液，可包括水或水-丙二醇溶液。

液體形式製劑亦可包括供鼻內投與之溶液。

亦包括欲在臨用前不久轉化為供經口或非經腸投與之液體形式製劑的固體形式製劑。該等液體形式包括溶液、懸浮液及乳液。

為製備栓劑，首先使低熔點蠟(諸如脂肪酸甘油酯或可可脂之混合物)熔融，且藉由攪拌使活性成分均勻地分散於其中。隨後將熔融之均勻混合物傾入適當尺寸模具中，使其冷卻且從而固化。

另外，本發明之組合物可以持續釋放形式調配以提供任何一或多種組分或活性成分的控速釋放來最佳化治療作用(亦即，抗病毒活性及其類似治療作用)。用於持續釋放之適合劑型包括含有具不同崩解速率之層的分層錠劑或浸漬有活性組分且定形為錠劑形式或膠囊的控制釋放聚合物基質，該等錠劑形式或膠囊含有該等經浸漬或經囊封之多孔聚合物基質。

在一個實施例中，經口投與一或多種2'-氘基取代之核苷衍生物。

在另一實施例中，經靜脈內投與一或多種2'-氘基取代之核苷衍生物。

在一個實施例中，包含至少一種2'-氘基取代之核苷衍生

物之醫藥製劑呈單位劑型。在該劑型中，製劑再分為含有有效量活性組分之單位劑量。

組合物可分別根據習知混合、製粒或塗佈方法來製備，且在一個實施例中，本發明組合物可含有約0.1%至約99%之2'-氟基取代之核苷衍生物(以重量或體積計)。在各實施例中，本發明組合物在一個實施例中可含有約1%至約70%或約5%至約60%之2'-氟基取代之核苷衍生物(以重量或體積計)。

單位劑量製劑中2'-氟基取代之核苷衍生物之量可在約1 mg至約2500 mg之間變化或調整。在各實施例中，該量為約10 mg至約1000 mg、1 mg至約500 mg、1 mg至約100 mg及1 mg至約100 mg。

為方便起見，必要時，總日劑量可在日間分成數份且逐份投與。在一個實施例中，日劑量以整份投與。在另一實施例中，總日劑量以兩個分次劑量經24小時之時期投與。在另一實施例中，總日劑量以三個分次劑量經24小時之時期投與。在另一實施例中，總日劑量以四個分次劑量經24小時之時期投與。

2'-氟基取代之核苷衍生物之投藥量及頻率將根據主治臨床醫師在考慮諸如患者年齡、病狀及體型以及所治療症狀之嚴重性的因素下所作出之判斷來調節。一般而言，2'-氟基取代之核苷衍生物之總日劑量在約0.1至約2000毫克/天之範圍內，但視治療目標、患者及投藥途徑而定將必然發生變化。在一個實施例中，劑量為約1至約200毫克/天，

以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約10至約2000毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約100至約2000毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。在另一實施例中，劑量為約500至約2000毫克/天，以單次劑量或以2-4個分次劑量投與。

本發明之組合物可進一步包含一或多種選自上文所列治療劑之其他治療劑。因此，在一個實施例中，本發明提供如下組合物，其包含：(i)至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物或其醫藥學上可接受之鹽；(ii)一或多種不為2'-氟基取代之核苷衍生物之其他治療劑；及(iii)醫藥學上可接受之載劑，其中該等物質在組合物中之量可一起有效治療HCV感染。

在一個實施例中，本發明提供包含式(I)化合物及醫藥學上可接受之載劑的組合物。

在另一實施例中，本發明提供如下組合物，其包含式(I)化合物、醫藥學上可接受之載劑及選自由HCV抗病毒劑、免疫調節劑及抗感染劑組成之群的第二治療劑。

在另一實施例中，本發明提供如下組合物，其包含式(I)化合物、醫藥學上可接受之載劑及兩種其他治療劑，該等其他治療劑各獨立地選自由HCV抗病毒劑、免疫調節劑及抗感染劑組成之群。

套組

在一個態樣中，本發明提供一種套組，其包含治療有效

量之至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物或該化合物之醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、酯或前藥及醫藥學上可接受之載劑、媒劑或稀釋劑。

在另一態樣中，本發明提供一種套組，其包含一定量之至少一種2'-氟基取代之核苷衍生物或該化合物之醫藥學上可接受之鹽、溶劑合物、酯或前藥及一定量之至少一種上列其他治療劑，其中該兩種或兩種以上活性成分之量產生所要治療作用。在一個實施例中，在同一容器中提供一或多種2'-氟基取代之核苷衍生物及一或多種其他治療劑。在一個實施例中，在各別容器中提供一或多種2'-氟基取代之核苷衍生物及一或多種其他治療劑。

本發明不欲受實例中所揭示且意欲作為本發明之數個態樣之說明的特定實施例所限制，且功能上等效之任何實施例均屬於本發明之範疇。實際上，除本文所示及所述以外，本發明之各種修改將為熟習此項技術者顯而易見且欲屬於隨附申請專利範圍之範疇。

本文中已引用許多參考文獻，其全部揭示內容以引用的方式併入本文中。

序 列 表

<110>	美商默沙東公司	
<120>	2'-氧基經取代核苷衍生物及其用於治療病毒性疾病之方法	
<130>	23065-WO-PCT	
<140>	101113292	
<141>	2012-04-13	
<150>	61/475,071	
<151>	2011-04-13	
<160>	9	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	5B.2F引子	
<400>	1	
	atggacaggc gccctga	17
<210>	2	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	5B.2R引子	
<400>	2	
	ttgatgggca gcttggtttc	20
<210>	3	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	經FAM標記之探針	
<400>	3	
cacgccatgc	gctgcgg	17
<210>	4	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	F3212，正向引子	
<400>	4	
caccaagaa	cagggtttgt	20
<210>	5	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	R3319，反向引子	
<400>	5	
tggccatggg	tatgttggttaa	21
<210>	6	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	經FAM-TAMRA標記之探針1	
<400>	6	
ttaccgggct	ctgccatct	19
<210>	7	
<211>	17	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	COX II，正向引子	
<400>	7	
tgcccgccat	catccta	17

201247694

<210> 8
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> COX II，反向引子

<400> 8
cgtctgttat gtaaaggatg cgt

23

<210> 9
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 經FAM-TAMRA標記之探針2

<400> 9
tcctcatcgc cctcccatcc c

21

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：

101113292

C07H 19/10 (2006.01)

C07H 19/11 (2006.01)

C07H 19/207 (2006.01)

C07H 19/213 (2006.01)

※申請日：

101. 4. 13

※IPC 分類：

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 31/7072 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K31/7076 (2006.01)

A61K31/708 (2006.01)

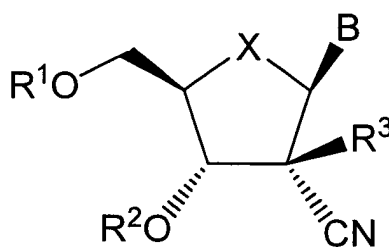
A61P31/14 (2006.01)

2'-氰基經取代核苷衍生物及其用於治療病毒性疾病之方法

2'-CYANO SUBSTITUTED NUCLEOSIDE DERIVATIVES AND
METHODS OF USE THEREOF FOR THE TREATMENT OF VIRAL
DISEASES

二、中文發明摘要：

本發明係關於式(I)之2'-氰基取代之核苷衍生物：

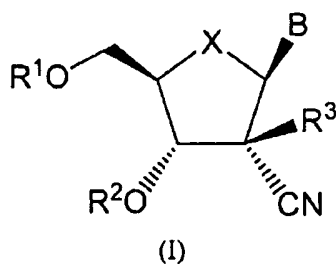


(I)

及其醫藥學上可接受之鹽，其中B、X、R¹、R²及R³如本文所定義。本發明亦關於包含至少一種2'-氰基取代之核苷衍生物之組合物，及使用該等2'-氰基取代之核苷衍生物於治療或預防患者之HCV感染的方法。

三、英文發明摘要：

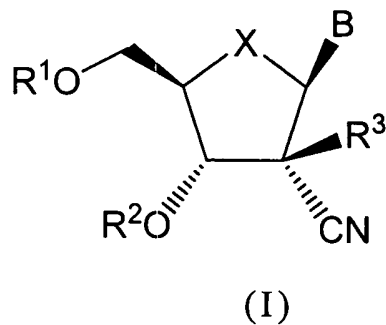
The present invention relates to 2'-Cyano Substituted Nucleoside Derivatives of Formula (I):



and pharmaceutically acceptable salts thereof, wherein B, X, R¹, R² and R³ are as defined herein. The present invention also relates to compositions comprising at least one 2'-Cyano Substituted Nucleoside Derivative, and methods of using the 2'-Cyano Substituted Nucleoside Derivatives for treating or preventing HCV infection in a patient.

七、申請專利範圍：

1. 一種化合物，其具有結構：



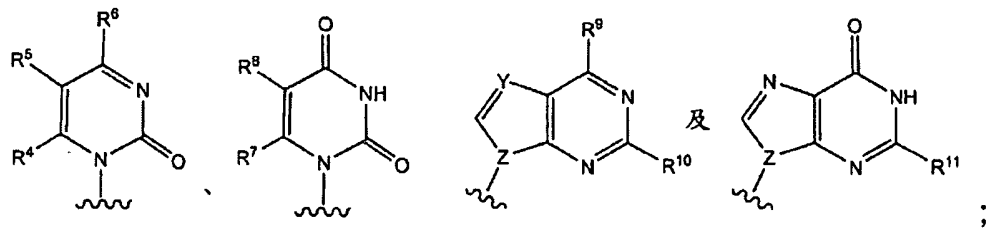
或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

X為O、S或CH₂；

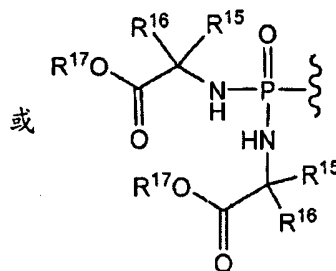
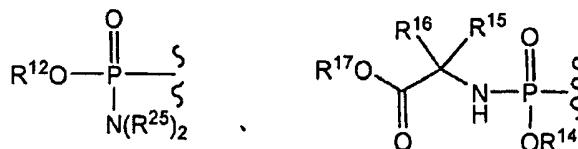
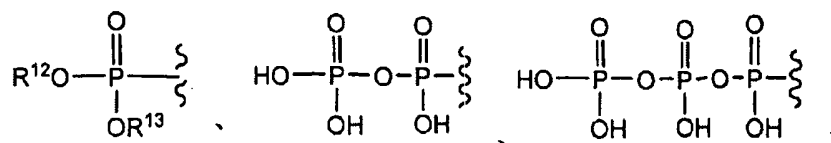
B為天然或非天然嘌呤或嘧啶鹼基，或B選自下列基

團之一：

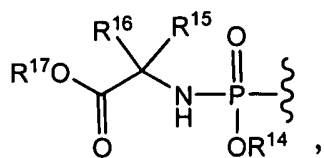


Y為N或-C(R¹⁹)-；

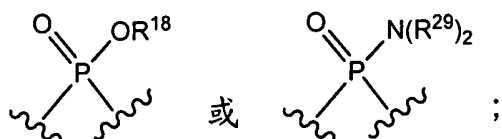
R¹為H、



R^2 為 H 或



或 R^1 與 R^2 接合形成具有下式之基團：



R^3 為 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基或 C_3 - C_7 環烷基；

R^4 、 R^5 、 R^7 及 R^8 各獨立地為 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 或 $-N(R^{20})_2$ ；

R^6 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 各獨立地選自 H、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_3 - C_7 環烷基、5 或 6 員單環雜芳基、9 或 10 員雙環雜芳基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 $-S(O)R^{20}$ 、 $-S(O)_2R^{20}$ 、 $-S(O)_2N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)OR^{20}$ 、 $-NHC(O)N(R^{20})_2$ 、 C_1 - C_6 鹵烷基、 C_1 - C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6 \text{ 鹵烷基})$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-NH(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})$ -(5 或 6 員單環雜芳基)、 $-NH(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})$ -(9 或 10 員雙環雜芳基)、 $-C(O)R^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ，其中該 C_2 - C_6 烯基及該 C_2 - C_6 炔基可視情況經鹵基取代；

R^{12} 為 H 或 $-(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})-T-R^{21}$ ；

R^{13} 為 H 或 $-(C_1-C_6 \text{ 伸烷基})-T-R^{21}$ ，或 R^{12} 與 R^{13} 可接合而在 R^{12} 及 R^{13} 所連接之氧原子之間形成 C_2 - C_4 伸烷基，

其中該 C_2-C_4 伸烷基經至少一個 C_6-C_{10} 芳基取代；

R^{14} 為 H、 C_6-C_{10} 芳基、5 或 6 員單環雜芳基或 9 或 10 員雙環雜芳基，其中該 C_6-C_{10} 芳基、該 5 或 6 員單環雜芳基及該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經 R^{22} 取代；

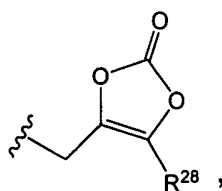
R^{15} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基、苯基或苯甲基，其中該 C_1-C_6 烷基可視情況經選自鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、胍基、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)R^{20}$ 、5 或 6 員單環雜芳基及 9 或 10 員雙環雜芳基之基團取代，且其中該苯基及該苯甲基可視情況經多至 2 個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、鹵基及 $-OR^{20}$ ；

R^{16} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基、苯基或苯甲基，其中該 C_1-C_6 烷基可視情況經選自鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、胍基、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)R^{20}$ 、5 或 6 員單環雜芳基及 9 或 10 員雙環雜芳基之基團取代，且其中該苯基及該苯甲基可視情況經多至 2 個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、鹵基及 $-OR^{20}$ ；

R^{17} 為 H、 C_1-C_{20} 烷基、 C_2-C_{20} 烯基、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_3-C_7 \text{ 環烷基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_6-C_{10} \text{ 芳基})$ 或金剛烷基，其中該 C_1-C_{20} 烷基、該 C_2-C_{20} 烯基、該 C_6-C_{10} 芳基及該金剛烷基可視情況經多至三個基團取代，該等基團各獨立地選自鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、CN、 NO_2 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 C_3-C_7 環烷基、

C_6-C_{10} 芳基、5或6員單環雜芳基、9或10員雙環雜芳基、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2-SR^{20}$ 、 $-S(O)R^{20}$ 、 $-S(O)_2R^{20}$ 、 $-S(O)_2N(R^{20})_2$ 、 $-NHC(O)R^{20}$ 、 $-NHC(O)OR^{20}$ 及 $-NHC(O)N(R^{20})_2$ ；及

R^{18} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ - C_6-C_{10} 芳基、5或6員單環雜芳基、9或10員雙環雜芳基或：



其中該 C_6-C_{10} 芳基、該5或6員單環雜芳基及該9或10員雙環雜芳基可視情況經多至五個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ；

R^{19} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 $N(R^{20})_2$ 、 C_3-C_7 環烷基、 C_6-C_{10} 芳基、5或6員單環雜芳基或9或10員雙環雜芳基；

R^{20} 在每次出現時獨立地為 H、 C_1-C_{10} 烷基、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(C_3-C_7 環烷基)、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(C_6-C_{10} 芳基)、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(4至7員雜環烷基)、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(5或6員單環雜芳基)或 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(9或10員雙環雜芳基)，其中該

C_3-C_7 環烷基、該 C_6-C_{10} 芳基、該 4 至 7 員雜環烷基、該 5 或 6 員單環雜芳基或該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經 R^{26} 取代；

R^{21} 在每次出現時獨立地為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_7 環烷基、 C_3-C_7 環烯基、5 或 6 員單環雜芳基、9 或 10 員雙環雜芳基、 $-OR^{20}$ 、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)或 $-N(R^{20})_2$ ，其中該 C_2-C_6 烯基、該 C_2-C_6 炔基、該 C_3-C_7 環烷基、該 C_3-C_7 環烯基、該 C_6-C_{10} 芳基、該 5 或 6 員單環雜芳基及該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經多至五個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)R^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ；

R^{22} 表示一至五個取代基，各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6$ 鹵烷基)、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)OR^{20}$ 、 $-C(O)N(R^{20})_2$ 及 $-NHC(O)R^{20}$ ，或相鄰環碳原子上之任何兩個 R^{22} 基團可組合形成 $-O-R^{23}-O-$ ；

R^{23} 為 $-[C(R^{24})_2]_n-$ ；

R^{24} 在每次出現時獨立地為 H 或 C_1-C_6 烷基；

R^{25} 在每次出現時獨立地為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_7 環烷基、 $-(C_1-C_3$ 伸烷基) $_m$ -(C_6-C_{10} 芳基)、4 至 7 員雜環烷基、5 或 6 員單環雜芳基或 9 或 10

員雙環雜芳基，其中該 C_1-C_6 烷基、該 C_2-C_6 烯基、該 C_2-C_6 炔基、該 C_3-C_7 環烷基、該 C_6-C_{10} 芳基、該 4 至 7 員雜環烷基、該 5 或 6 員單環雜芳基或該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經 R^{26} 取代；或兩個 R^{25} 基團與其所連接之共同氮原子一起接合形成 4 至 7 員雜環烷基；

R^{26} 表示一至五個取代基，各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{27}$ 、 SR^{27} 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6 \text{ 鹵烷基})$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{27})_2$ 、 $-C(O)OR^{27}$ 、 $-C(O)N(R^{27})_2$ 及 $-NHC(O)R^{27}$ ；

R^{27} 在每次出現時獨立地為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_3-C_7 \text{ 環烷基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(C_6-C_{10} \text{ 芳基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(4 \text{ 至 } 7 \text{ 員雜環烷基})$ 、 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(5 \text{ 或 } 6 \text{ 員單環雜芳基})$ 或 $-(C_1-C_3 \text{ 伸烷基})_m-(9 \text{ 或 } 10 \text{ 員雙環雜芳基})$ ；

R^{28} 為 H、 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_3-C_7 環烷基、 C_3-C_7 環烯基、5 或 6 員單環雜芳基、9 或 10 員雙環雜芳基、 $-OR^{20}$ 、 $-O-(C_1-C_6 \text{ 鹵烷基})$ 或 $-N(R^{20})_2$ ，其中該 C_2-C_6 烯基、該 C_2-C_6 炔基、該 C_3-C_7 環烷基、該 C_3-C_7 環烯基、該 C_6-C_{10} 芳基、該 5 或 6 員單環雜芳基及該 9 或 10 員雙環雜芳基可視情況經多至五個基團取代，該等基團各獨立地選自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、鹵基、 $-OR^{20}$ 、 $-SR^{20}$ 、 C_1-C_6 鹵烷基、 C_1-C_6 羥基烷基、 $-O-(C_1-C_6 \text{ 鹵烷基})$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N(R^{20})_2$ 、 $-C(O)R^{20}$ 、 $-C(O)OR^{20}$

、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{20})_2$ 及 $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{20}$ ；

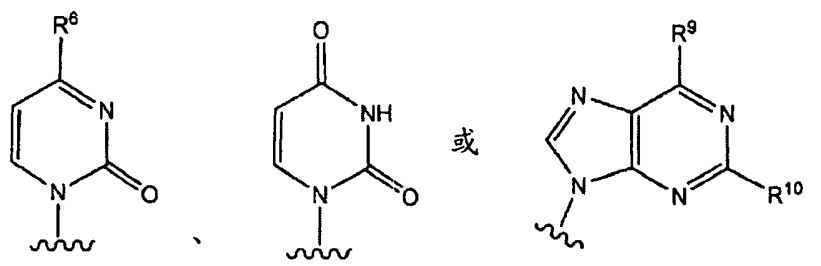
R^{29} 在每次出現時獨立地為H、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 鹵烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 羥基烷基、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m-(\text{C}_3\text{-C}_7\text{環烷基})$ 、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m-(\text{C}_6\text{-C}_{10}\text{芳基})$ 、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m-(4\text{至}7\text{員雜環烷基})$ 、 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m-(5\text{或}6\text{員單環雜芳基})$ 或 $-(\text{C}_1\text{-C}_3\text{伸烷基})_m-(9\text{或}10\text{員雙環雜芳基})$ ，其中該 $\text{C}_3\text{-C}_7$ 環烷基、該 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、該4至7員雜環烷基、該5或6員單環雜芳基或該9或10員雙環雜芳基可視情況經 R^{26} 取代；

T在每次出現時獨立地為 $-\text{S}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{SC}(\text{O})-$ 、 $-\text{SC}(\text{S})-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 及 $-\text{OC}(\text{S})-$ ；

m在每次出現時獨立地為0或1；及

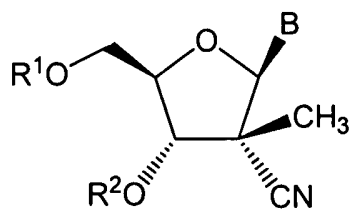
n在每次出現時獨立地為1或2。

2. 如請求項1之化合物，其中X為O。
3. 如請求項1或2之化合物，其中B為：



R^6 及 R^{10} 各獨立地為 $-\text{NH}_2$ 或 $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ ；且 R^9 為 $-\text{O}-$ ($\text{C}_1\text{-C}_6$ 烷基)。

4. 如請求項1至3中任一項之化合物，其中 R^3 為甲基。
5. 如請求項1之化合物，其具有式：

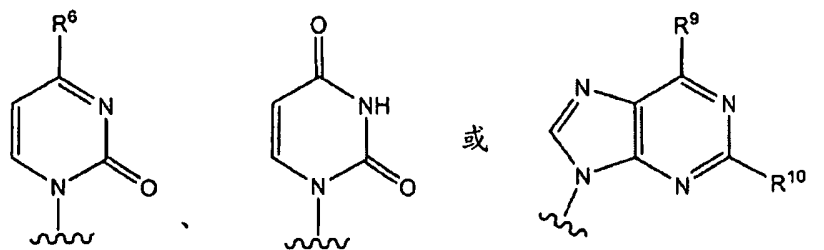


(Ia)

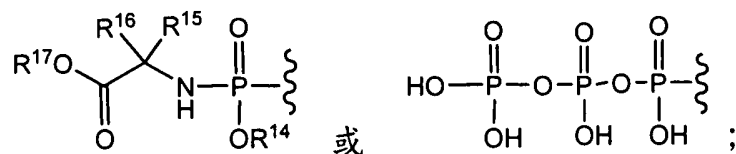
或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

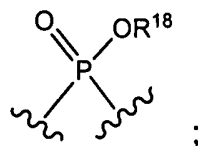
B為：



R^1 為H、



R^2 為H，或 R^1 與 R^2 接合形成具有下式之基團：



R^6 及 R^{10} 各獨立地為 $-N(R^{20})_2$ ；

R^9 為 $-O-(C_1-C_6\text{烷基})$ ；

R^{14} 為 C_6-C_{10} 芳基，其可視情況經鹵基取代；

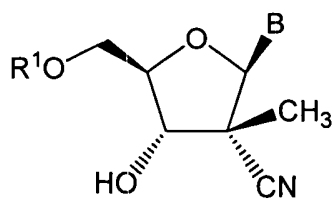
R^{15} 及 R^{16} 各獨立地為H或 C_1-C_6 烷基；

R^{17} 為 C_1-C_6 烷基；

R^{18} 為 C_1-C_6 烷基、 C_3-C_7 環烷基或 C_6-C_{10} 芳基；及

R^{20} 在每次出現時獨立地為H或 $-C(O)-(C_1-C_6\text{烷基})$ 。

6. 如請求項1之化合物，其具有式：

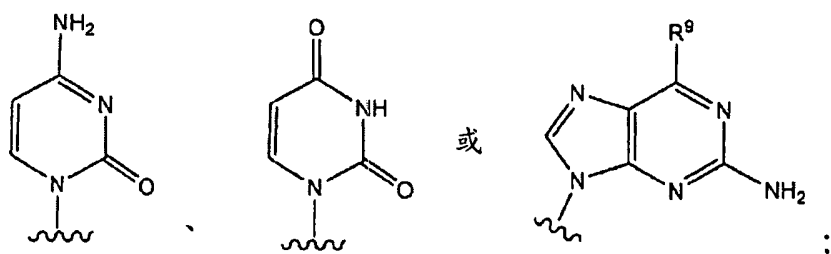


(Ib)

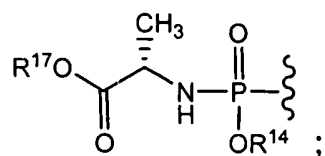
或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

B為：



R¹為：

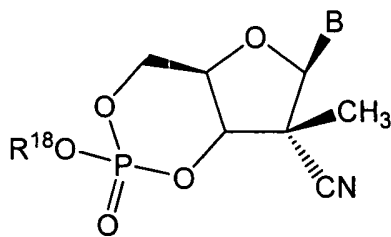


R⁹為 -OH 或 -O-(C₁-C₆烷基)；

R¹⁴為苯基，其可視情況經多至2個可相同或不同之鹵基取代；及

R¹⁷為 C₁-C₆烷基。

7. 如請求項1之化合物，其具有式：

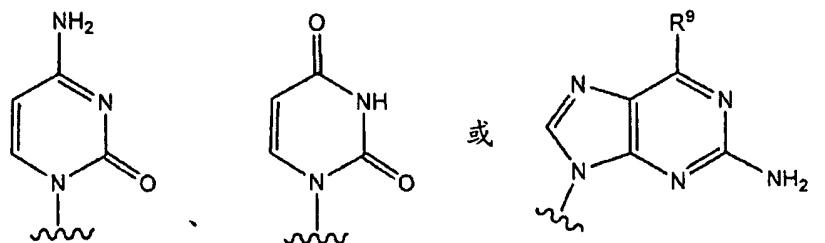


(Ic)

或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

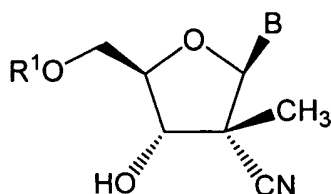
B為：



R⁹為 -OH 或 -O-(C₁-C₆烷基)；及

R¹⁸為芳基或 C₁-C₆烷基。

8. 如請求項1之化合物，其具有式：

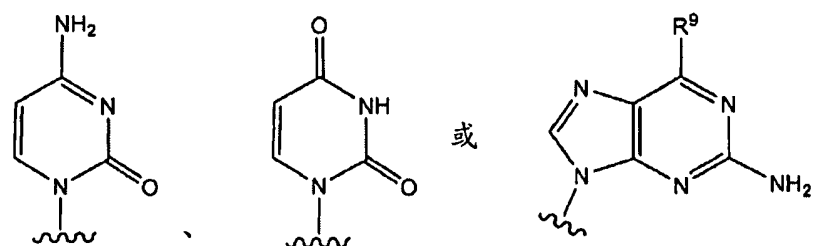


(Id)

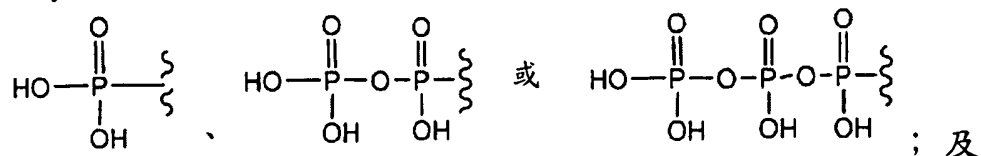
或其醫藥學上可接受之鹽，

其中：

B為：

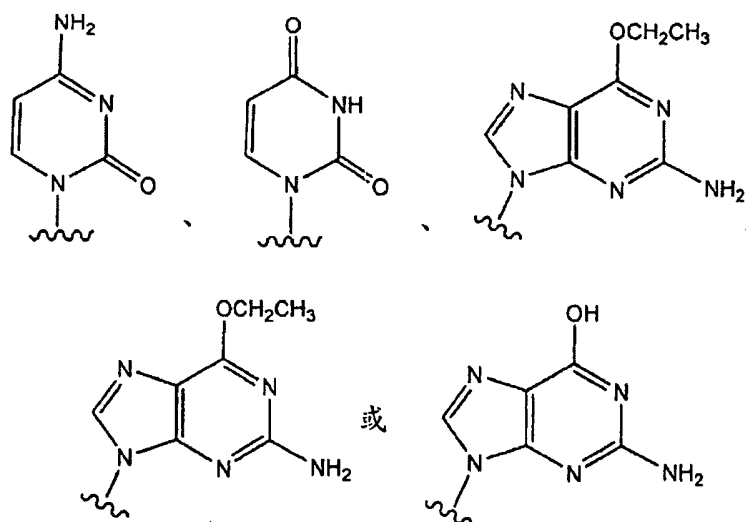


R¹為：

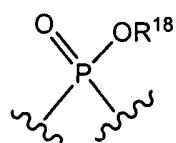
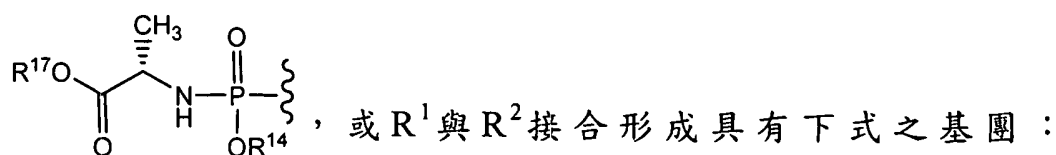


R⁹為 -OH 或 -O-(C₁-C₆烷基)。

9. 如請求項1至8中任一項之化合物，其中B為：

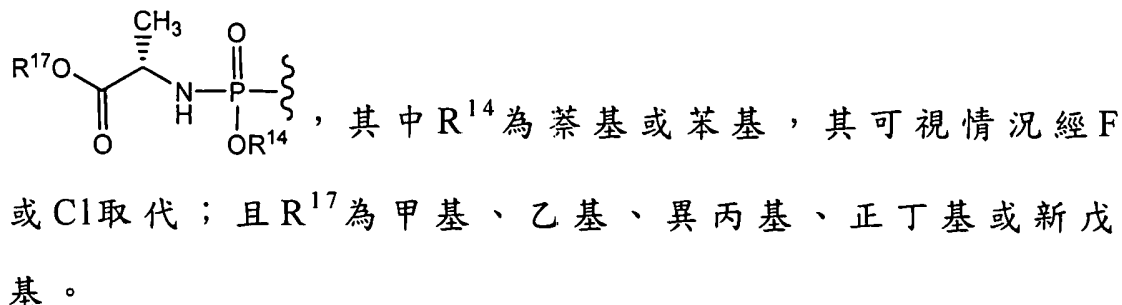


10. 如請求項1至4中任一項之化合物，其中 R^1 為H或



，其中 R^{14} 為 C_6 - C_{10} 芳基，其可視情況如請求項1中所述經取代； R^{17} 為 C_1 - C_6 烷基；且 R^{18} 為 C_1 - C_6 烷基、 C_3 - C_7 環烷基或 C_6 - C_{10} 芳基。

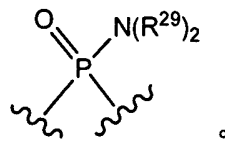
11. 如請求項1至6中任一項之化合物，其中 R^1 為



12. 如請求項7之化合物，其中 R^{18} 為 C_1 - C_6 烷基。

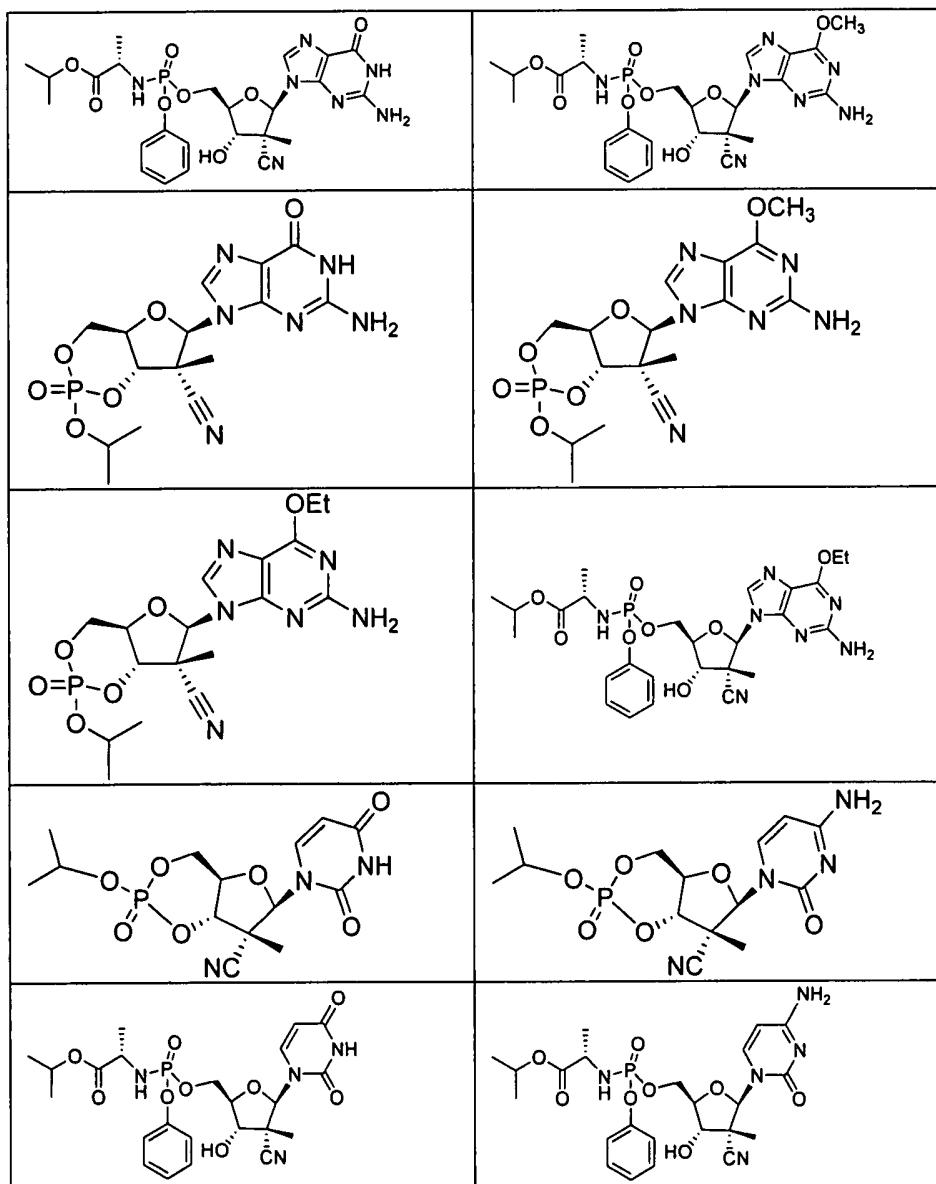
13. 如請求項1至4中任一項之化合物，其中 R^1 及 R^2 接合形成

具有下式之基團：



14. 如請求項1之化合物，其為以上說明書中編號1-243之化合物中之任一者。

15. 如請求項1之化合物，其具有如下結構：



或其醫藥學上可接受之鹽。

16. 一種醫藥組合物，其包含有效量之如請求項1至15中任

一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽及醫藥學上可接受之載劑。

- 17 如請求項16之醫藥組合物，其進一步包含選自由HCV抗病毒劑、免疫調節劑及抗感染劑組成之群的第二治療劑。
18. 如請求項17之醫藥組合物，其進一步包含選自由HCV蛋白酶抑制劑、HCV NS5A抑制劑及HCV NS5B聚合酶抑制劑組成之群的第三治療劑。
19. 一種如請求項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其係用於製備在有需要之患者中抑制HCV NS5A活性或預防及/或治療HCV感染的藥物。
20. 一種治療感染HCV之患者的方法，其包含投與有效預防及/或治療該患者HCV感染之量的(i)如請求項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽或(ii)如請求項16至18中任一項之組合物的步驟。
21. 如請求項20之方法，其進一步包含投與該患者聚乙二醇化干擾素 α 及HCV蛋白酶的步驟。
22. 如請求項20之方法，其進一步包含投與該患者病毒唑(ribavirin)之步驟。
23. 如請求項21之方法，其進一步包含投與該患者病毒唑之步驟。
24. 一種如請求項1至15中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽的用途，其係用於有需要之患者中抑制HCV NS5A活性或預防及/或治療HCV感染的醫藥組合物中。

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

