

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480036793.7

[51] Int. Cl.

C07D 209/52 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 409/12 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 417/12 (2006.01)
C07K 5/107 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 7 月 8 日

[11] 授权公告号 CN 100509784C

[51] Int. Cl. (续)

A61K 31/401 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

[22] 申请日 2004. 12. 9

[21] 申请号 200480036793.7

[30] 优先权

[32] 2003. 12. 11 [33] US [31] 60/528,845

[86] 国际申请 PCT/US2004/041579 2004. 12. 9

[87] 国际公布 WO2005/058821 英 2005. 6. 30

[85] 进入国家阶段日期 2006. 6. 9

[73] 专利权人 先灵公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 F·维拉奎斯 S·范卡卓曼

F·G·恩裘洛吉 A·亚拉沙潘

[56] 参考文献

US2003/0216325 A1 2003. 11. 20

WO03/062262 A2 2003. 7. 31

WO02/48172 A2 2002. 6. 20

WO02/08244 A2 2002. 1. 31

WO0218369 A2 2002. 3. 7

审查员 胡 振

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 温宏艳 李连涛

权利要求书 12 页 说明书 88 页

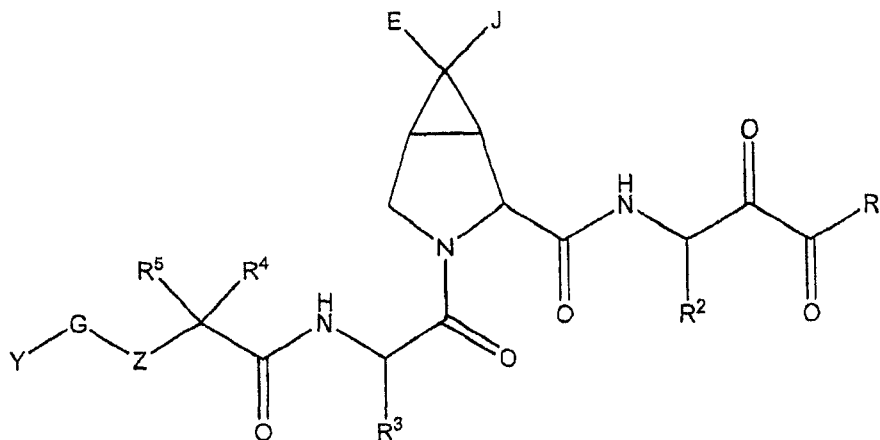
[54] 发明名称

丙型肝炎病毒 NS3/NS4A 丝氨酸蛋白酶的抑制剂

[57] 摘要

本发明公开了具有 HCV 蛋白酶抑制活性的新的化合物以及制备所述化合物的方法。在另一个实施方案中,本发明公开了包括所述化合物的药用组合物以及它们用于治疗与 HCV 蛋白酶有关的病症的方法。

1. 一种化合物，或所述化合物的立体异构体，或所述化合物的可药用盐，所述化合物具有式 I 中所示的一般结构：



式 I

其中

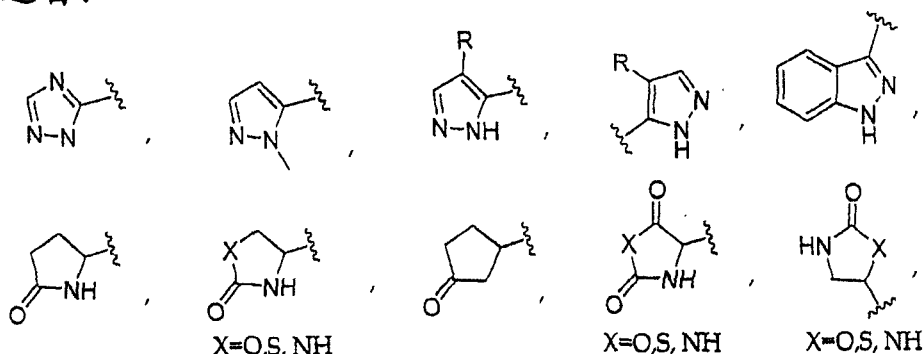
R^1 为 NR^9R^{10} ，其中 (i) R^9 和 R^{10} 可相同或不同，各自独立地选自 H、烷基-、芳基-、杂烷基-、杂芳基-、环烷基-、芳烷基-和杂芳烷基；或 (ii) R^9 为 H， R^{10} 为 H 或 R^{14} ，其中 R^{14} 为烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、烷基-芳基-、烷基-杂芳基-、芳基-烷基-、烯基、炔基或杂芳基-烷基-；

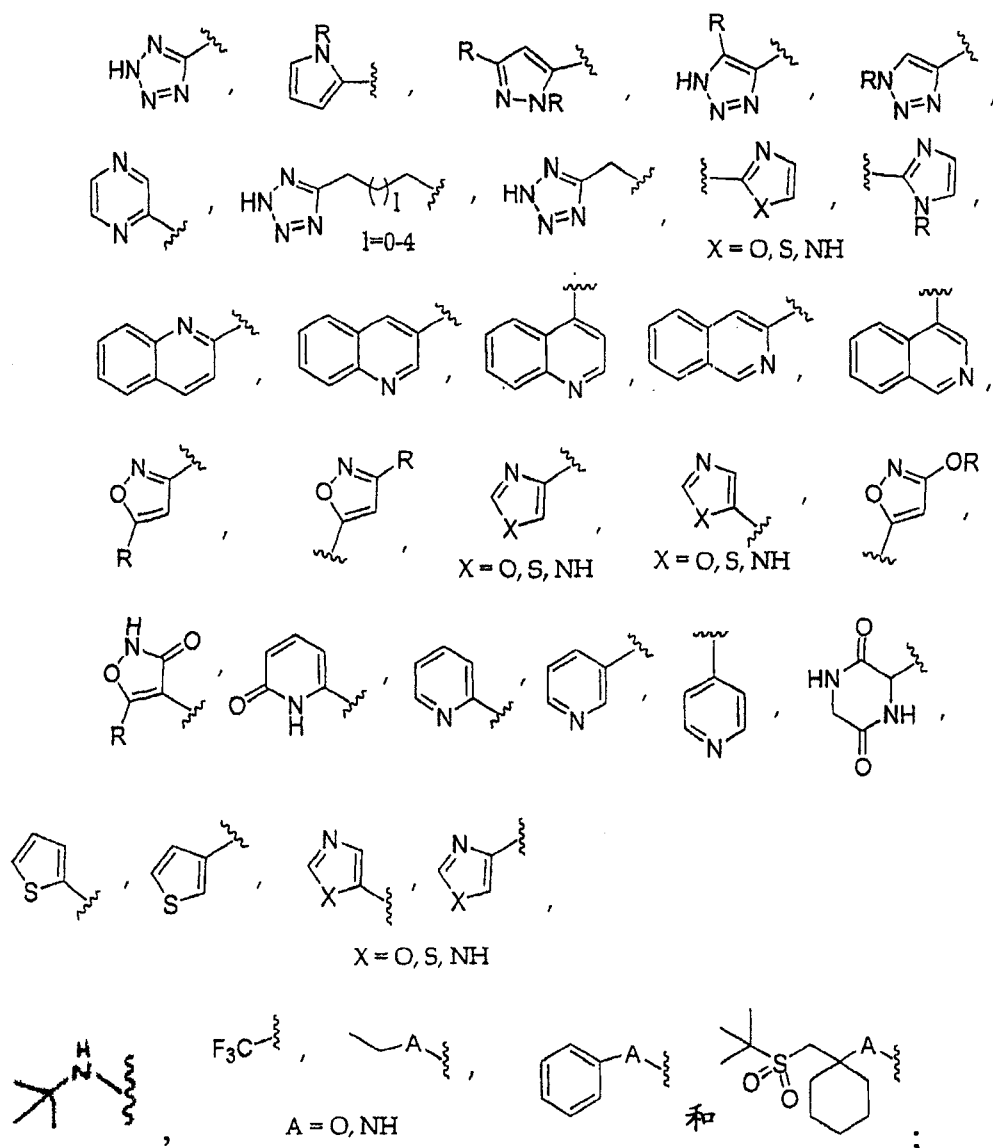
E 和 J 可相同或不同，各自独立地选自 R，或者 E 和 J 可彼此直接连接以形成 3-8 元环烷基；

Z 为 N(H) 或 N(R)；

G 为 C(=O) 或 S(O₂)；

Y 选自：





R、R⁷、R²、R³、R⁴和 R⁵可相同或不同，各自独立地选自 H、烷基-、烯基-、炔基-、环烷基-、芳基-、(环烷基)烷基-、和芳基-烷基-；

其中每个所述的烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基和杂环基部分可未被取代或任选地独立地被一个或多个选自以下的部分取代：烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、环烷基、杂环基、卤代、羟基、硫代、烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、氨基、酰胺基、酯、羧酸、氨基甲酸酯、脲、酮、醛、氰基、硝基、氨磺酰基、亚砷、砷、磺酰脲、酰肼、和异羟肟酸酯；

其中“烷基”是指可为直链或支链并且在链中包括 1-20 个碳原子的脂肪族烃基；

“烯基”是指包含至少一个碳-碳双键并且可为直链或支链并且在链中包括 2-15 个碳原子的脂肪族烃基；

“炔基”是指包含至少一个碳-碳三键并且可为直链或支链并且在链中包括 2-15 个碳原子的脂肪族炔基；

“芳基”是指包括 6-14 个碳原子的单环或多环环系统；“杂芳基”是指包括 5-14 个环原子的单环或多环的环系统，其中一个或多个环原子为不同于碳的元素；

“芳烷基”或“芳基烷基”是指芳基-烷基-基团；

“烷基芳基”是指烷基-芳基-基团；

“环烷基”是指包括 3-10 个碳原子的非芳香族的单环或多环的环系统；“杂环基”是指包括 3-10 个环原子的非芳香族饱和的单环或多环的环系统，其中环系统中的一个或多个原子为不同于碳的元素，并且在环系统中不存在相邻的氧和/或硫原子；

“炔基烷基”是指炔基-烷基-基团；

“杂芳烷基”或“杂芳基烷基”是指杂芳基-烷基-基团；

“烷氧基”是指烷基-O-基团；

“芳氧基”是指芳基-O-基团；

“烷硫基”是指烷基-S-基团；

“芳硫基”是指芳基-S-基团。

2. 一种包括至少一种权利要求 1 的化合物作为活性组分的药用组合物。

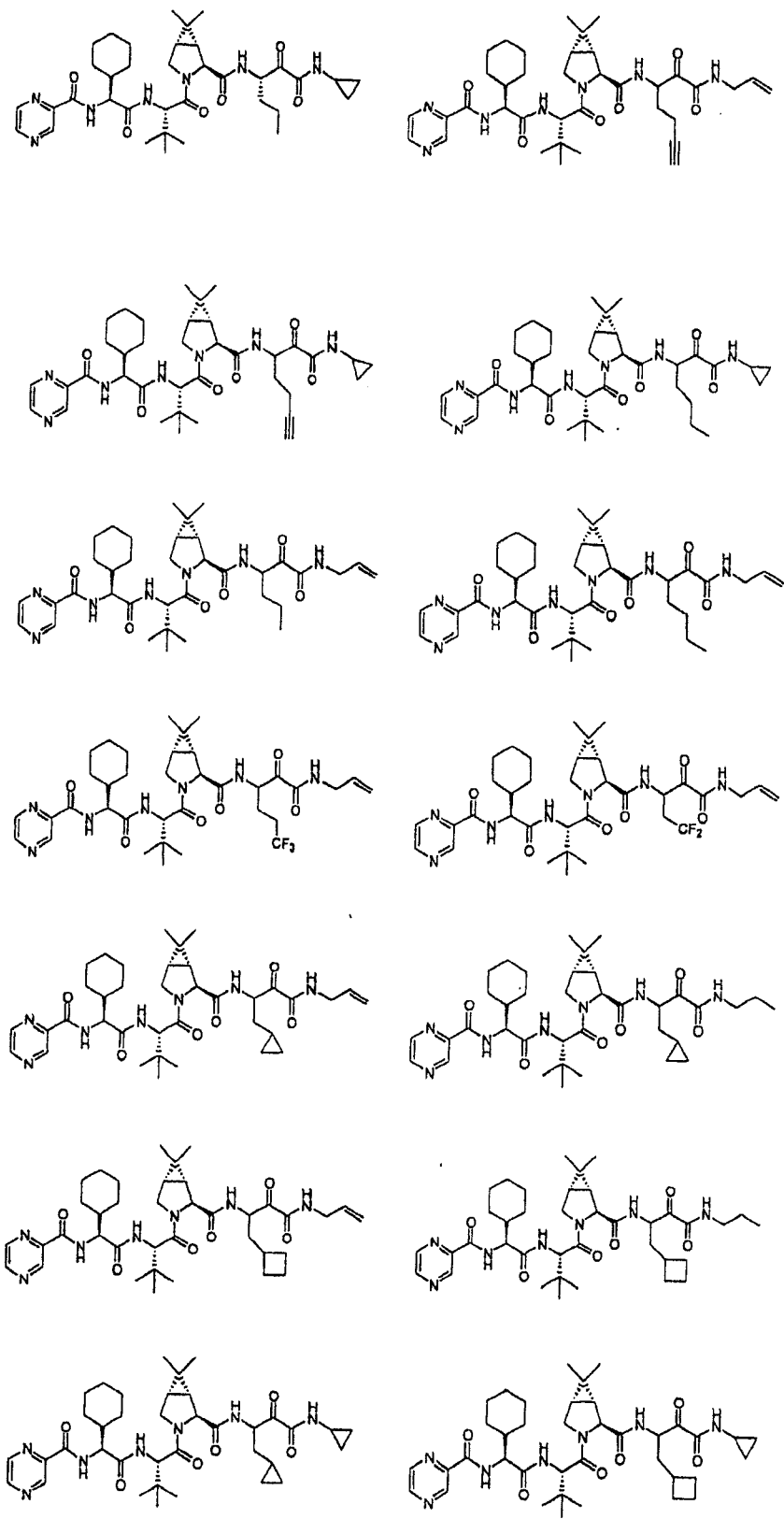
3. 权利要求 2 的药用组合物，其用于治疗与 HCV 有关的病症。

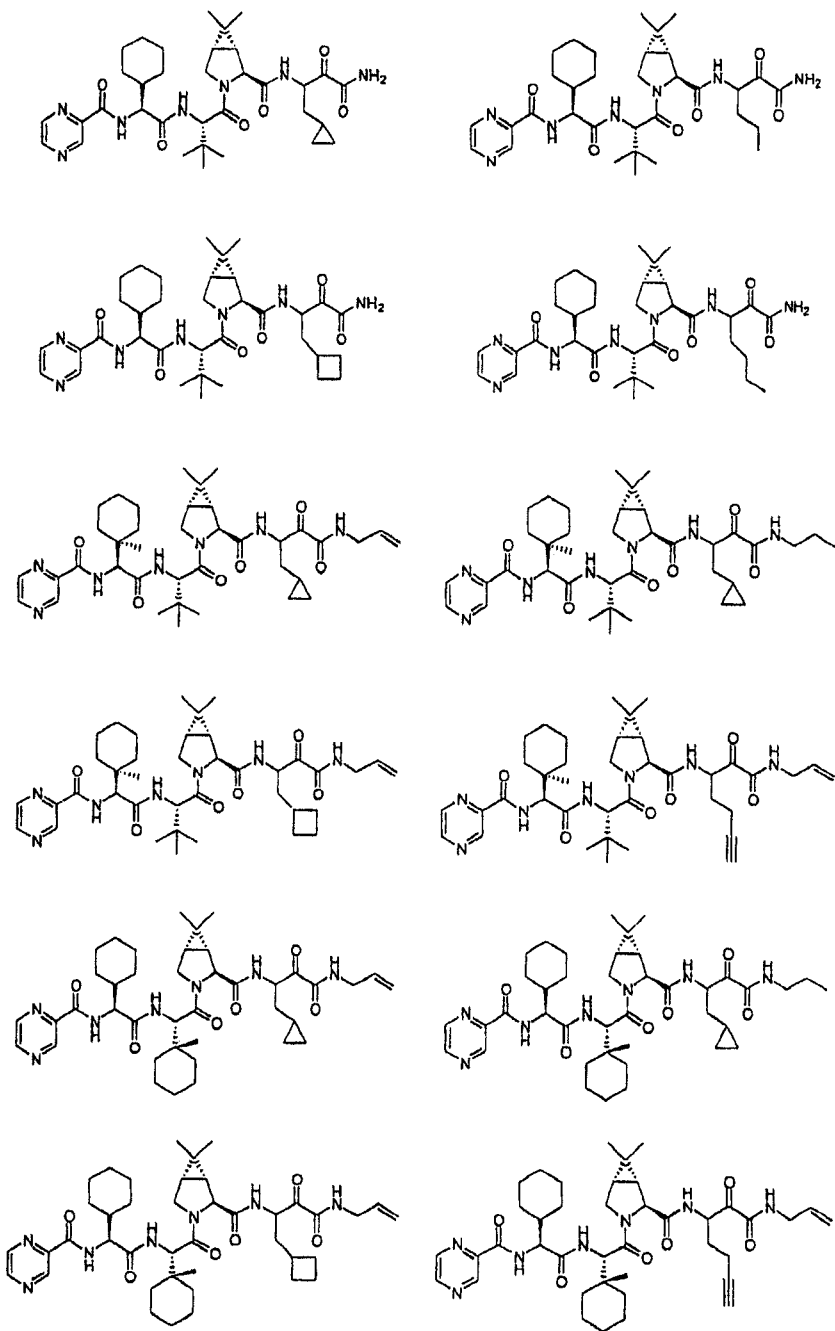
4. 权利要求 2 的药用组合物，其另外包括至少一种可药用载体。

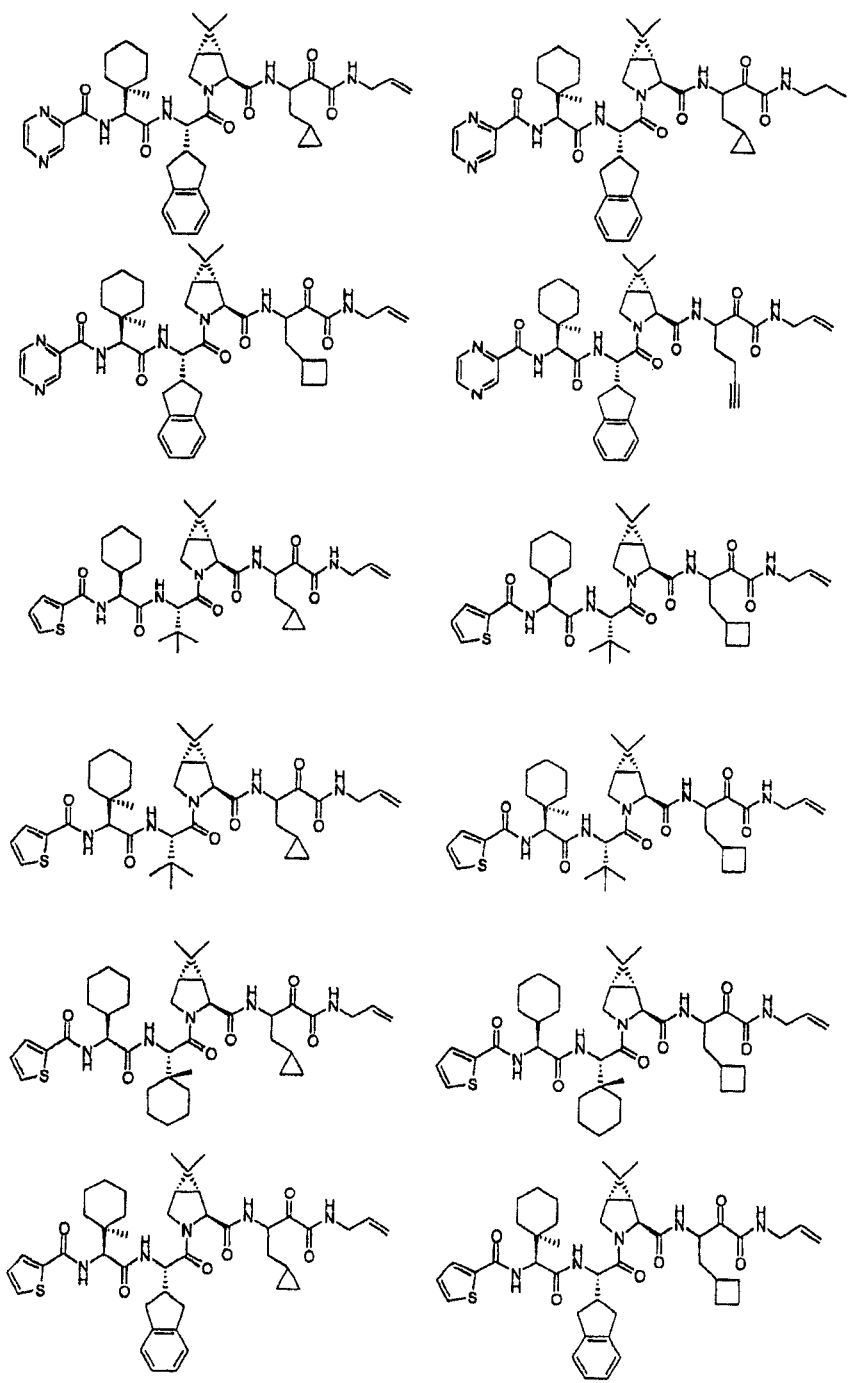
5. 药用组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗与 HCV 有关的病症，所述药用组合物包括治疗有效量的至少一种权利要求 1 的化合物。

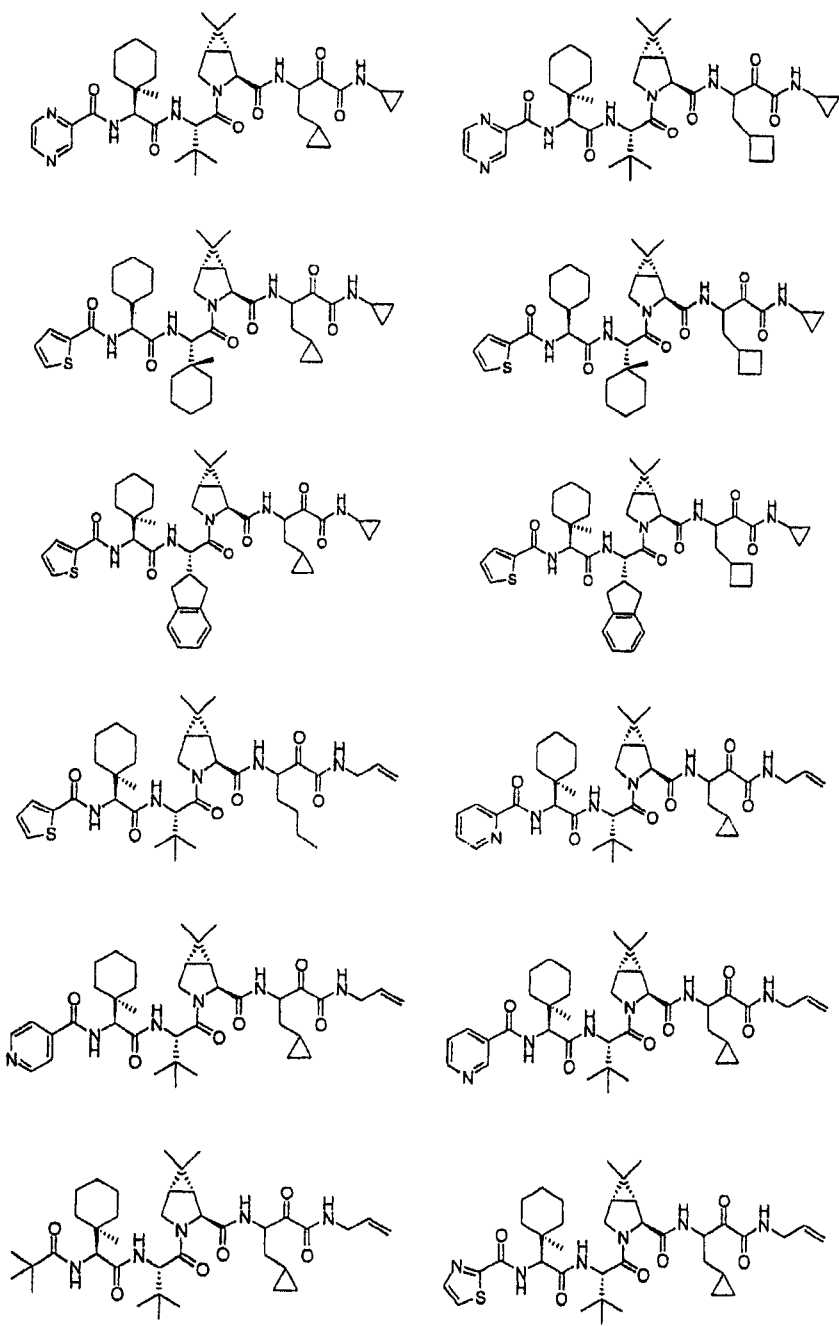
6. 权利要求 1 的化合物在制备用于治疗与 HCV 有关的病症的药物中的应用。

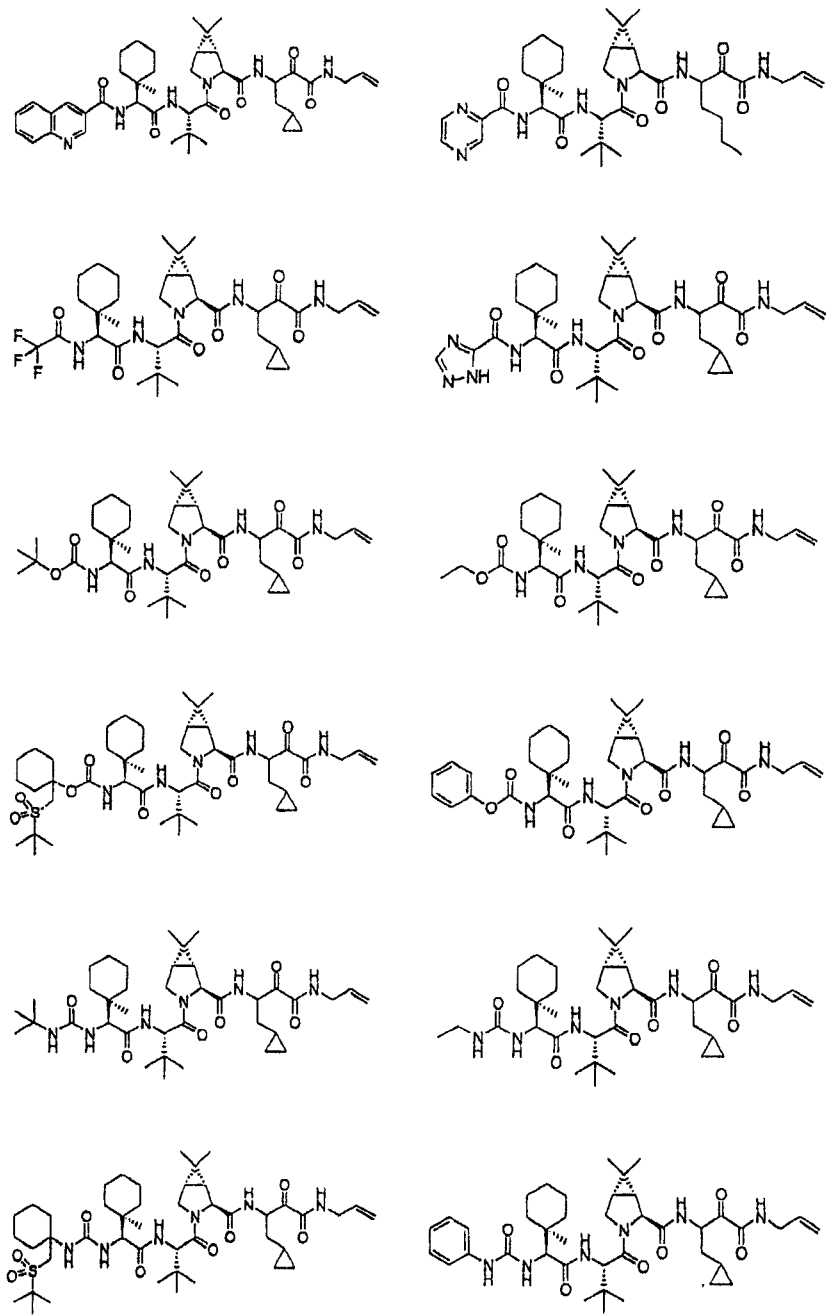
7. 一种表现出 HCV 蛋白酶抑制活性的化合物，或所述化合物的立体异构体，或所述化合物的可药用盐，所述化合物为选自具有下列结构的化合物：

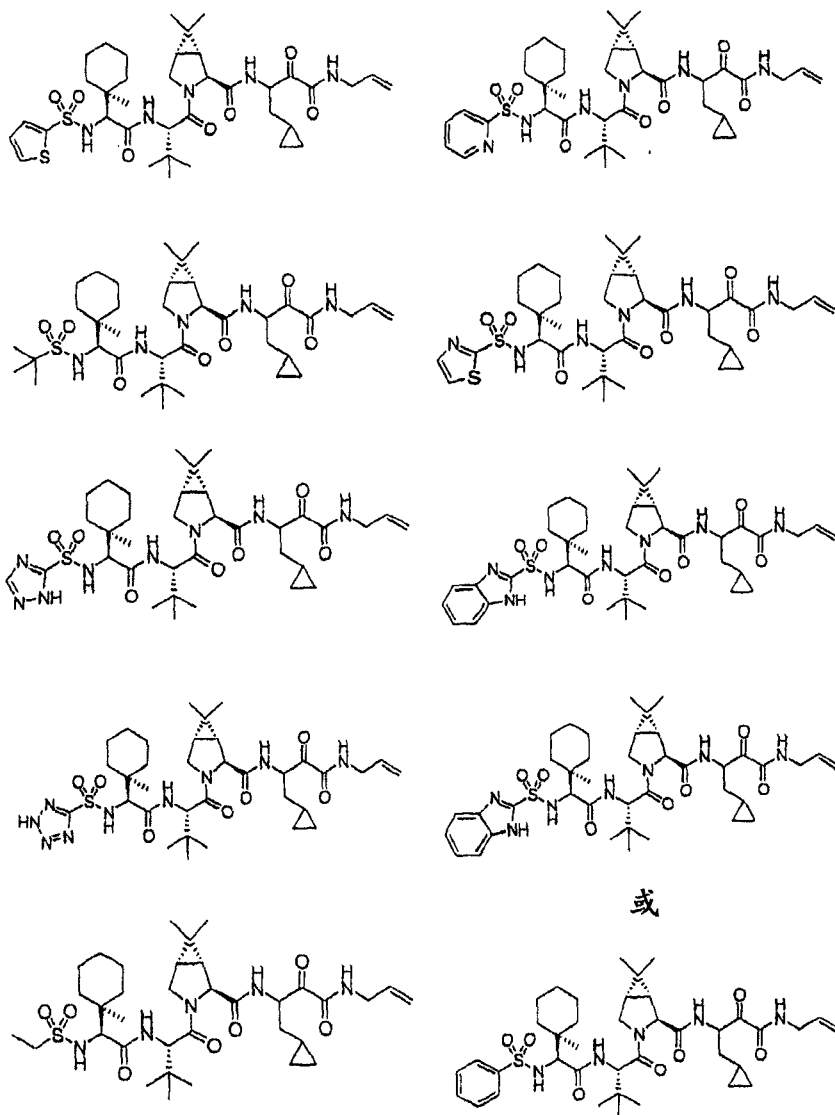




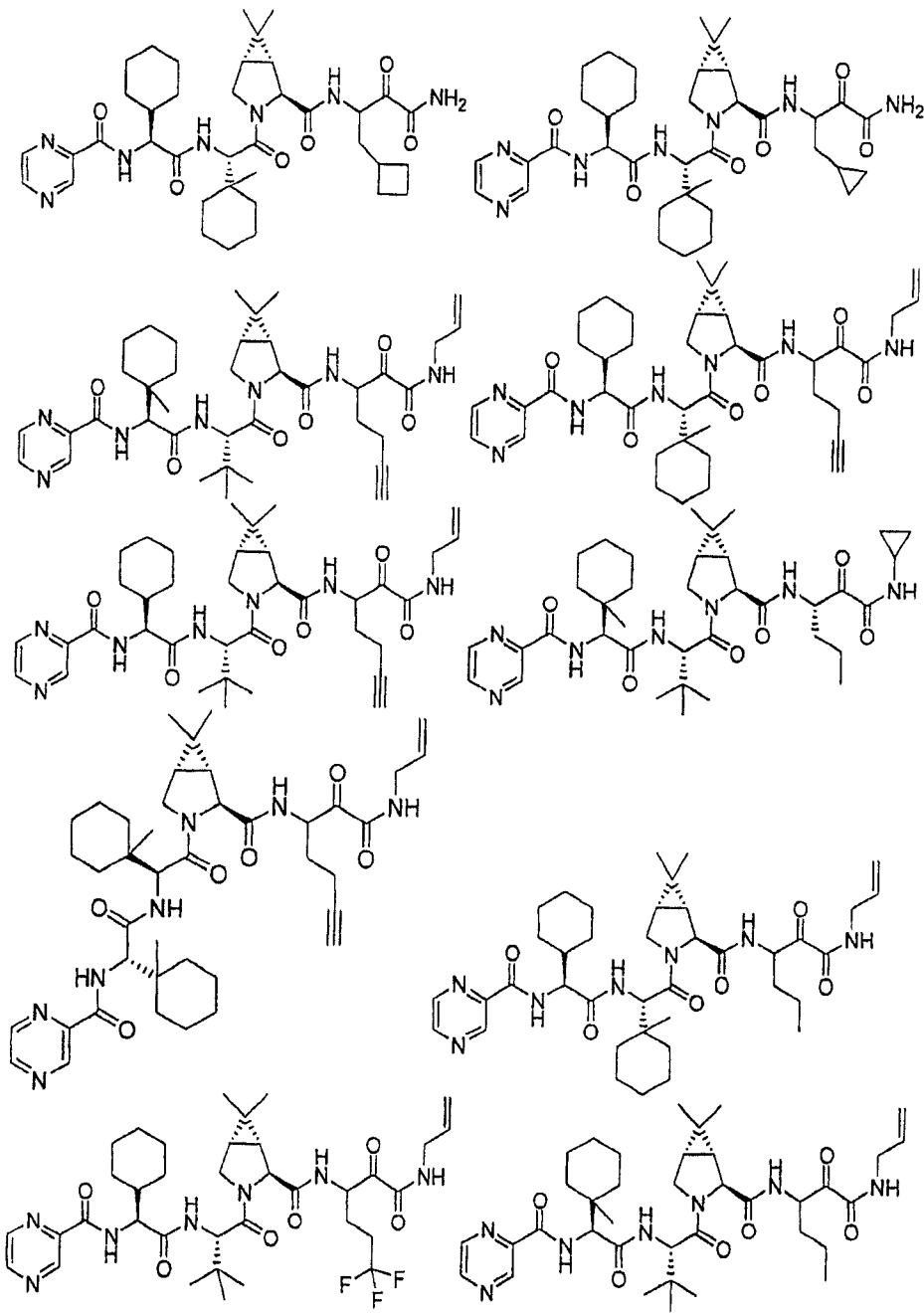


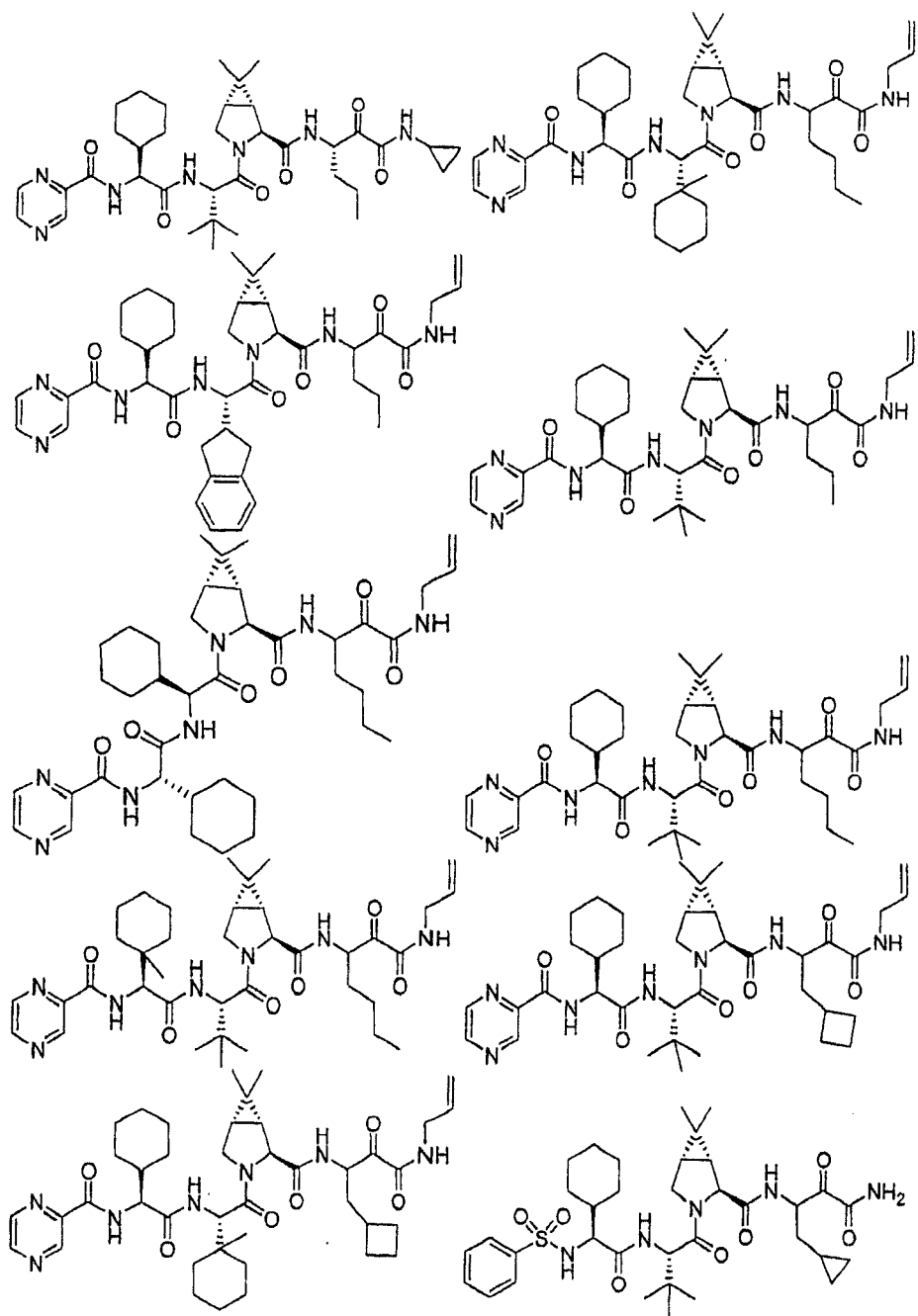


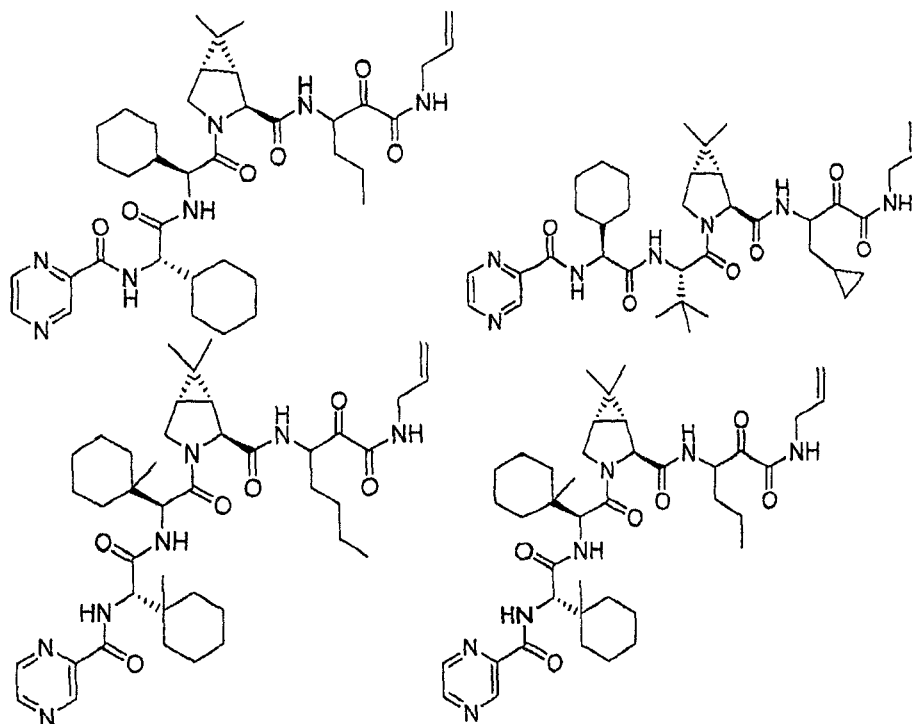




8. 一种化合物，或所述化合物的立体异构体，或所述化合物的可药用盐，所述化合物选自具有下列结构的化合物：







9. 一种用于治疗与 HCV 有关的病症的药用组合物，所述组合物包括治疗有效量的一种或多种权利要求 8 的化合物和可药用载体。

10. 一种或多种权利要求 8 的化合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗丙型肝炎病毒相关病症。

11. 一种或多种权利要求 8 的化合物 在 制 备 药 物 中 的 用 途，所 述 药 物 用 于 调 节 丙 型 肝 炎 病 毒 蛋 白 酶 的 活 性。

12. 一种或多种权利要求 8 的化合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗、预防、或改善丙型肝炎的一种或多种症状。

丙型肝炎病毒 NS3/NS4A 丝氨酸蛋白酶的抑制剂

技术领域

本发明涉及新的丙型肝炎病毒(“HCV”)蛋白酶抑制剂,包含一种或多种所述抑制剂的药用组合物,制备所述抑制剂的方法,和所述抑制剂用于治疗丙型肝炎和相关病症的用法。本发明另外公开了作为 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶抑制剂的新的环状化合物。本申请要求 2003 年 12 月 11 日提交的美国临时专利申请档案号 60/528845 的优先权。

背景技术

丙型肝炎病毒(HCV)为(+)-有义单链核糖核酸病毒,其在非甲非乙型肝炎(NANBH)中,特别是在血液相关的 NANBH(BB-NANBH)中为主要的病原体(参见国际专利申请公开 WO 89/04669 和欧洲专利申请公开 EP 381 216)。NANBH 与其它类型的病毒诱导型肝炎,如甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、 δ 型肝炎病毒(HDV)、巨细胞病毒(CMV)和埃-巴二氏病毒(EBV),以及其它形式的肝病如酒精中毒和原发性胆汁肝硬化不同。

最近,已经鉴定、克隆和表达了多肽加工和病毒复制所必需的 HCV 蛋白酶(参见例如,美国专利 5,712,145)。这个约 3000 个氨基酸的多蛋白包含从 N 端到 C 端的核壳蛋白(C)、包膜蛋白(E1 和 E2)和若干非结构蛋白(NS1、2、3、4a、5a 和 5b)。NS3 为约 68 千道尔顿(kda)的蛋白质,由 HCV 基因组的约 1893 个核苷酸编码并且具有两个不同的结构域:(a)丝氨酸蛋白酶域,其包括约 200 个 N 端氨基酸;和(b)在蛋白的 C 端的 RNA-依赖性腺苷三磷酸酶(ATPase)域。由于蛋白序列、总的立体结构和催化机制上的相似性,NS3 蛋白酶被认为是胰凝乳蛋白酶家族的成员。其它胰凝乳蛋白酶样酶为弹性蛋白酶、Xa 因子、凝血酶、胰蛋白酶、血纤维蛋白溶酶、尿激酶、tPA 和 PSA。HCV NS3 丝氨酸蛋白酶负责 NS3/NS4a、NS4a/NS4b、NS4b/NS5a 和 NS5a/NS5b 接合处的多肽(多蛋白)的蛋白质水解并因此负责在病毒复制过程中生成四种病毒蛋白。这使得 HCV NS3 丝氨酸蛋白酶成为抗病毒化学疗法的有吸引力的目标。本发明的化合物可以抑制这种蛋白酶。它们还可以调节丙

型肝炎病毒(HCV)多肽的加工。

已经确定, 作为约 6 kda 多肽的 NS4a 蛋白质为 NS3 的丝氨酸蛋白酶活性的辅因子。NS3/NS4a 接合处因 NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶的自动断裂在分子内发生(即, 顺式), 而其它断裂位点在分子间进行(即, 反式)。

对 HCV 蛋白酶的自然断裂位点的分析显示, 在 P1 存在半胱氨酸, 在 P1' 存在丝氨酸, 并且这些残基在 NS4a/NS4b、NS4b/NS5a 和 NS5a/NS5b 接合处严格保存。NS3/NS4a 接合处在 P1 处包含苏氨酸, 在 P1' 处包含丝氨酸。在 NS3/NS4a 的 Cys→Thr 取代被假定是造成下述必要条件的原因, 即, 在该接合处进行的 cis 加工的必要条件而不是反式加工的必要条件。参见例如, Pizzi 等人的(1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 91:888-892; Failla 等人的(1996) *Folding & Design* 1: 35-42。NS3/NS4a 断裂位点还比其它位点更能够耐受突变发生。参见例如 Kollykhalov 等人的(1994) *J. Virol.* 68 : 7525-7533。还发现断裂位点上游区域中的酸性残基是有效断裂所需要的。参见例如, Komoda 等人的(1994) *J. Virol.* 68 : 7351-7357。

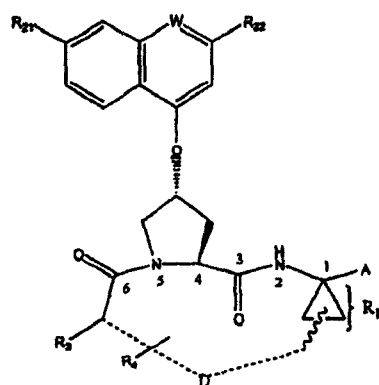
已经被报导的 HCV 蛋白酶抑制剂包括抗氧化剂(参见国际专利申请公开 WO 98/14181)、某些肽和肽类似物(参见国际专利申请公开 WO 98/17679; Landro 等人的(1997) *Biochem.*, 36 : 9340-9348; Ingallinella 等人的(1998) *Biochem.*, 37 : 8906-8914; Llinàs-Brunet 等人的(1998) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 8 : 1713-1718); 基于 70 个氨基酸多肽水蛭抑制剂 c 的抑制剂(Martin 等人的(1998) *Biochem.*, 37: 11459-11468); 选自人胰分泌型胰蛋白酶抑制剂(hPSTI-C3)和微抗体清单(minibody repertoires)(MBip)的抑制剂亲合性(Dimasi 等人的(1997) *J. Virol.*, 71: 7461-7469); cV_hE2 (“载运的(camelized)”可变域抗体片段)(Martin 等人的(1997) *Protein Eng.*, 10: 607-614); 和 α 1-抗胰凝乳蛋白酶(ACT)(Elzouki 等人(1997) *J. Hepat.*, 27: 42-28)。最近公开了设计用于选择性地破坏丙型肝炎病毒 RNA 的核酶(参见, *BioWorld Today*, 9(217):4(1998 年 11 月 10 日))。

还参考 1998 年 4 月 30 日公开的 PCT 公开 WO 98/17679(Vertex Pharmaceutical Incorporated); 1998 年 5 月 28 日公开的 WO

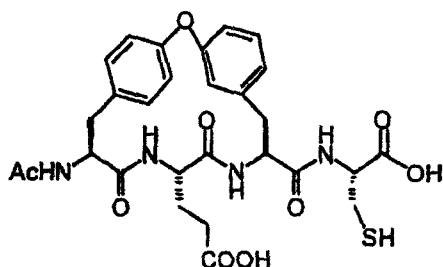
98/22496 (F. Hoffmann-La Roche AG); 和 1999 年 2 月 18 日公开的 WO 99/07734 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd.).

HCV 牵涉肝的肝硬化和肝细胞癌的诱发。受到 HCV 感染的患者的预后目前较差。由于缺乏与 HCV 感染有关的免疫或免除而使 HCV 感染比其它形式的肝炎更难治疗。目前的数据表明在肝硬化确诊之后的四年存活率小于 50%。诊断患有局部可切除的肝细胞癌的患者具有 10-30% 的五年存活率，而患有局部不可切除的肝细胞癌的患者五年存活率小于 1 %。

参考 WO 00/59929 (US 6, 608, 027, 受让人:Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd.; 2000 年 10 月 12 日公开)，其公开了下式表示的肽衍生物：



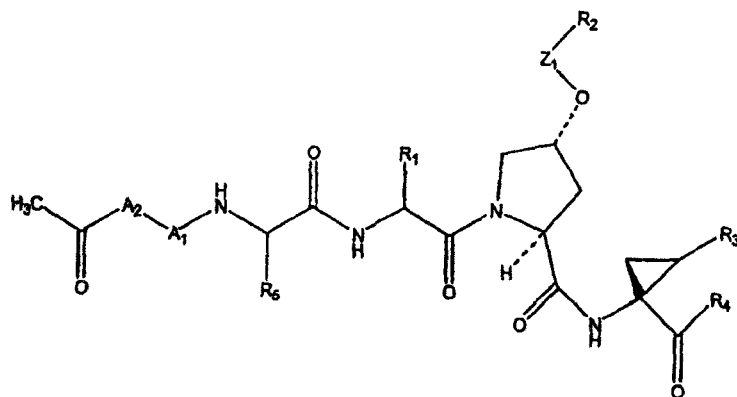
参见 A. Marchetti 等人的 Synlett, S1, 1000-1002 (1999)，其描述了作为 HCV NS3 蛋白酶抑制剂的双环类似物的合成。其中公开的化合物具有下式结构：



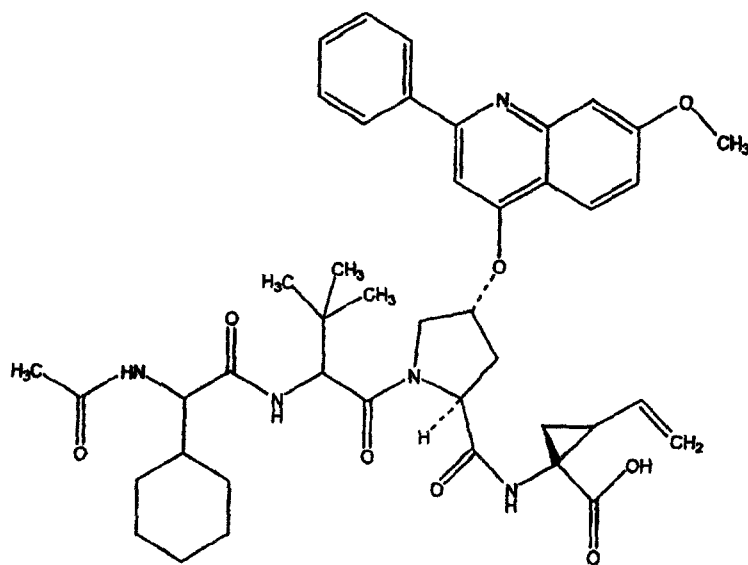
参见 W. Han 等人的 Bioorganic & Medicinal Chem. Lett, (2000) 10, 711-713, 其描述了包含烯丙基和乙基官能团的某些 α -酮酰胺、 α -酮酯、和 α -二酮的制备。

还参见 WO 00/09558 (受让人:Boehringer Ingelheim Limited;

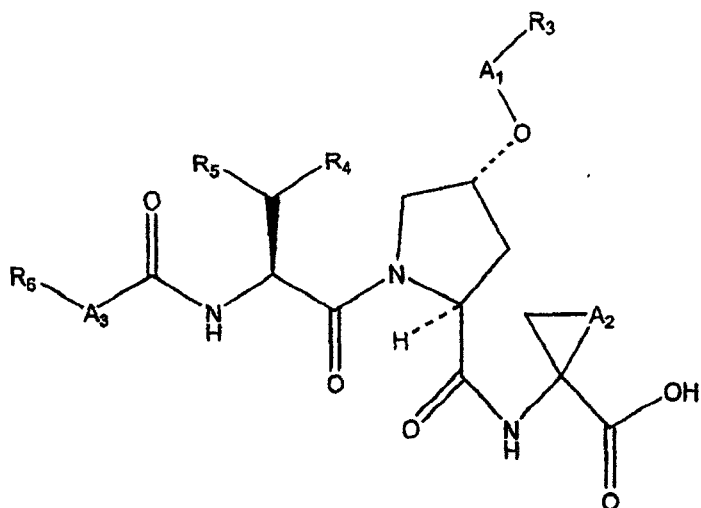
2000年2月24日公开), 其公开了下式表示的肽衍生物:



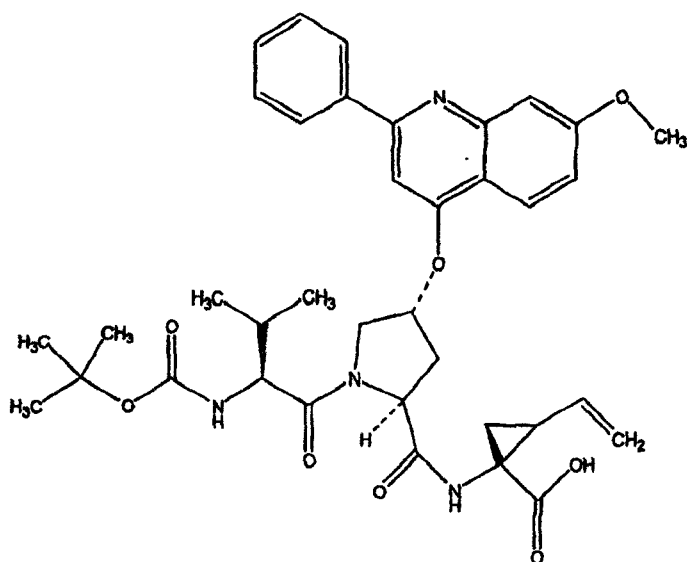
其中各组成部分的定义参见所述文献。该系列的说明性化合物为:



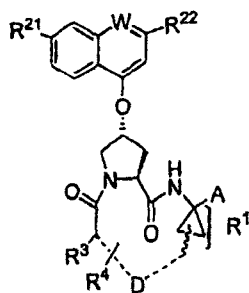
还参见 WO 00/09543 (受让人: Boehringer Ingelheim Limited; 2000年2月24日公开), 其公开了下式表示的肽衍生物:



其中各组成部分的定义参见所述文献。该系列的说明性化合物为：



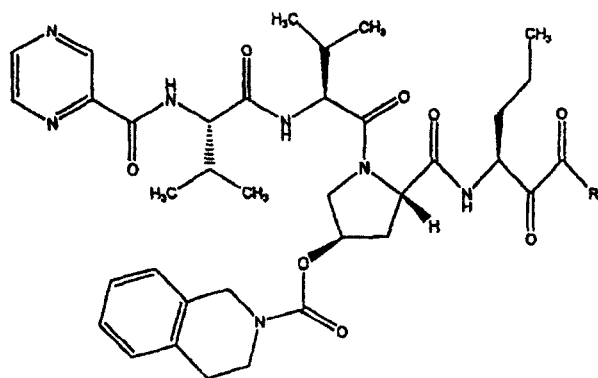
还参见 US6,608,027 (Boehringer Ingelheim, Canada), 其公开了以下类型的 NS3 蛋白酶抑制剂:



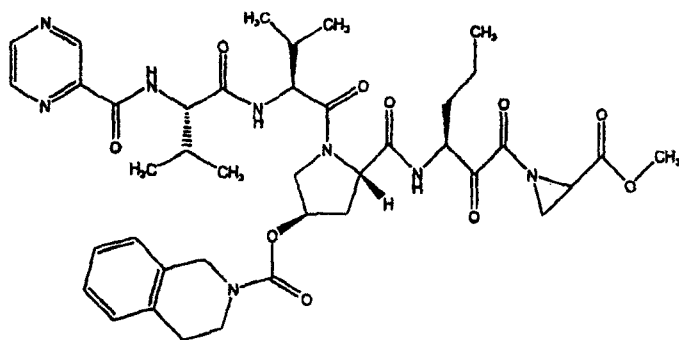
其中不同部分的定义参见所述文献。

当前的对丙型肝炎的治疗包括干扰素- α (INF α), 以及利巴韦林和干扰素的联合治疗。参见例如 Beremguer 等人的 (1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2):98-112。这些治疗具有低的持续响应速率和时常发生副作用的缺点。参见例如, Hoofnagle 等人的 (1997) N. Engl. J. Med. 336: 347。目前, 对于 HCV 感染没有疫苗。

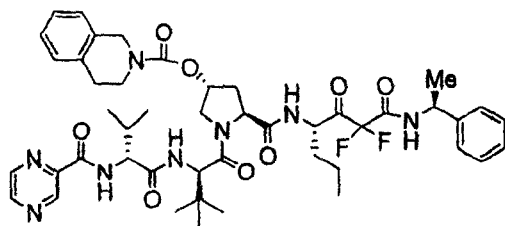
进一步参考 2001 年 10 月 11 日公开的 W0 01/74768 (受让人: Vertex Pharmaceuticals Inc), 其公开了以下通式表示的某些化合物 (R 的定义参见该文献) 作为丙型肝炎病毒的 NS3-丝氨酸蛋白酶抑制剂:



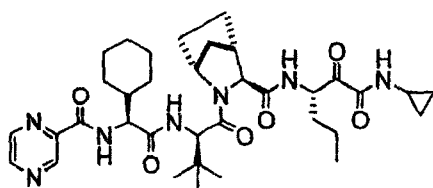
在所述 W0 01/74768 中公开的具体化合物具有下式结构:



还参见 W002/18369 (Eli Lilly and Company), 其公开了蛋白酶抑制剂。其中公开的说明性化合物具有以下结构:



还参见 W003/006490 (Vertex Pharmaceutical), 其公开了桥接的双环蛋白酶抑制剂。其中公开的说明性化合物具有以下结构:



PCT 公开 WO 01/77113; WO 01/081325; WO 02/08198; WO 02/08256; WO 02/08187; WO 02/08244; WO 02/48172; WO 02/08251 和 2002 年 1 月 18 日提交的待决的美国专利申请 10/052,386 公开了作为丙型肝炎病毒的 NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶抑制剂的多种类型的肽和/或其它化合物。另外, 2003 年 9 月 26 日提交的待决的美国专利申请 60/506,637、2003 年 8 月 26 日提交的 60/497,749、和 2003 年 11 月 20 日提交的 60/----- (代理人案号 1N06122) 公开了多种类型的蛋白酶抑制剂。这些申请的公开内容都被并入本文作为参考。

需要用于 HCV 感染的新的处理法和治疗法。需要可用于治疗或预防或改善丙型肝炎的一种或多种症状的化合物。

需要可用于治疗或预防或改善丙型肝炎的一种或多种症状的方法。

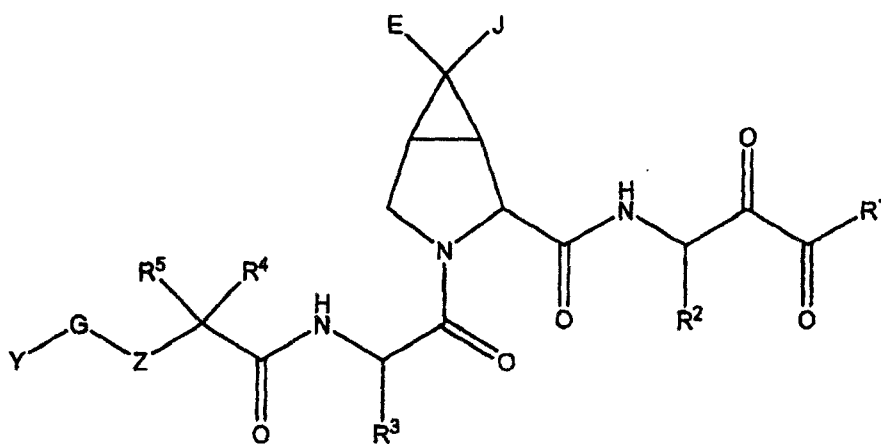
需要使用本文提供的化合物调节丝氨酸蛋白酶类、特别是 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶的活性的方法。

需要使用本文提供的化合物调节 HCV 多肽的加工的方法。

发明内容

前述的 WO 02/08244 出版物广泛地公开了若干种化合物。申请人发现, 特定类型的化合物令人惊讶地表现出良好的 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶抑制活性。因此, 在其许多实施方案中, 本发明提供新的类别的 HCV 蛋白酶抑制剂、包含一种或多种该化合物的药用组合物、制

备包括一种或多种这种化合物的药物制剂的方法、和使用一种或多种这种化合物或一种或多种这种制剂治疗或预防 HCV 或改善丙型肝炎的一种或多种症状的方法。还提供调节 HCV 多肽与 HCV 蛋白酶相互作用的方法。在本文提供的化合物中, 优选抑制 HCV NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶活性的化合物。因此, 本发明公开了一种化合物, 或所述化合物的对映异构体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、非对映异构体、或外消旋物, 或所述化合物的可药用盐、溶剂合物、或酯, 所述化合物具有式 I 中所示的一般结构:



式 I

其中

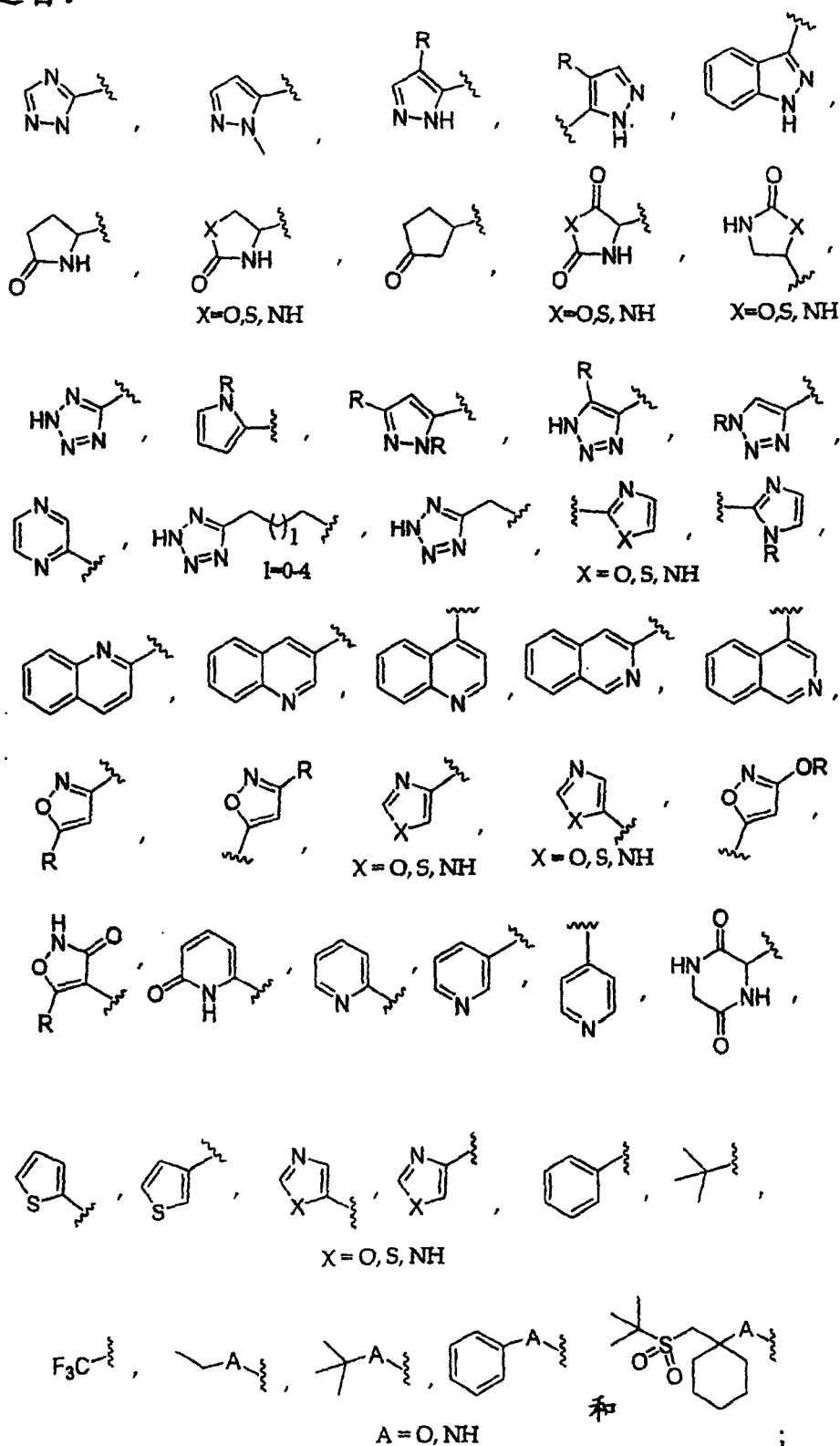
R^1 为 H、 OR^8 、 NR^9R^{10} 、或 CHR^9R^{10} , 其中 R^8 、 R^9 和 R^{10} 可相同或不同, 各自独立地选自 H、烷基-、芳基-、杂烷基-、杂芳基-、环烷基-、环烷基-、芳烷基-、和杂芳烷基;

E 和 J 可相同或不同, 各自独立地选自 R、OR、NHR、 NRR^7 、SR、卤代、和 $S(O_2)R$, 或者 E 和 J 可彼此直接连接以形成 3-8 元环烷基、或 3-8 元杂环基部分;

Z 为 N(H)、N(R)、或 O, 条件是当 Z 为 O 时, G 存在或不存在, 并且如果当 Z 为 O 而 G 存在时, 则 G 为 C(=O);

G 可存在或不存在, 并且如果 G 存在, 则 G 为 C(=O) 或 $S(O_2)$, 并且当 G 不存在时, Z 与 Y 直接连接;

Y选自:



R、R⁷、R²、R³、R⁴和R⁵可相同或不同，各自独立地选自H、烷基-、烯基-、炔基-、环烷基-、杂烷基-、杂环基-、芳基-、杂芳基-、(环烷基)烷基-、(杂环基)烷基-、芳基-烷基-、和杂芳基-烷基-，其中每

个所述的杂烷基、杂芳基和杂环基独立地具有 1-6 个氧、氮、硫、或磷原子；

其中每个所述的烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、环烷基和杂环基部分可未被取代或任选地独立地被一个或多个选自以下的部分取代：烷基、烯基、炔基、芳基、芳烷基、环烷基、杂环基、卤代、羟基、硫代(thio)、烷氧基、芳氧基、烷硫基、芳硫基、氨基、酰胺基、酯、羧酸、氨基甲酸酯、脲、酮、醛、氰基、硝基、氨基磺酰基(sulfonamido)、亚砷、砷、磺酰脲、酰肼、和异羟肟酸酯。

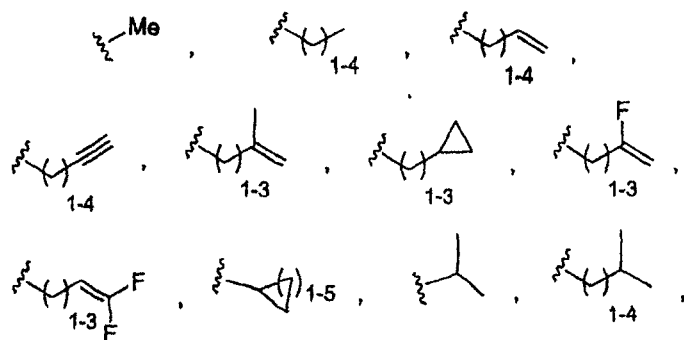
式 I 表示的化合物，单独地或与本文公开的一种或多种其它另外的适当的药物组合，可用于治疗疾病，诸如例如 HCV、HIV、(AIDS 或获得性免疫缺损综合症)、和相关病症，以及用于调节丙型肝炎病毒(HCV)蛋白酶的活性、预防 HCV、或改善丙型肝炎的一种或多种症状。所述的调节、治疗、预防或改善可使用本发明的化合物以及包括这种化合物的药用组合物或制剂进行。不限于理论，认为 HCV 蛋白酶可为 NS3 或 NS4a 蛋白酶。本发明的化合物可以抑制这些蛋白酶。它们还可以调节丙型肝炎病毒(HCV)多肽的加工。

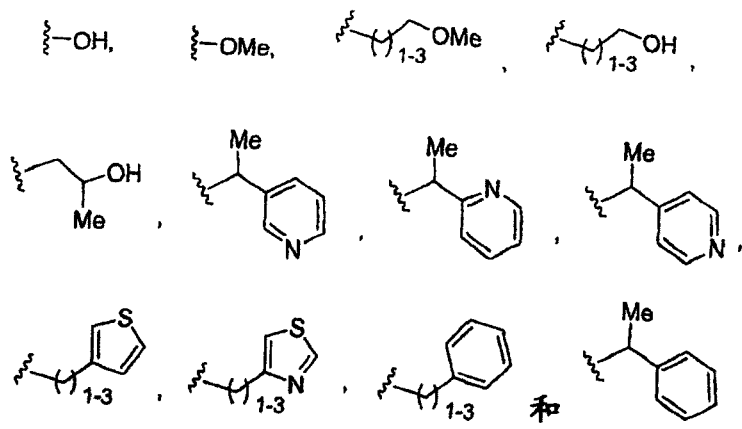
详细说明

在一个实施方案中，本发明公开了结构式 1 表示的化合物或其可药用盐、溶剂合物、或酯，其中各个部分如上定义。

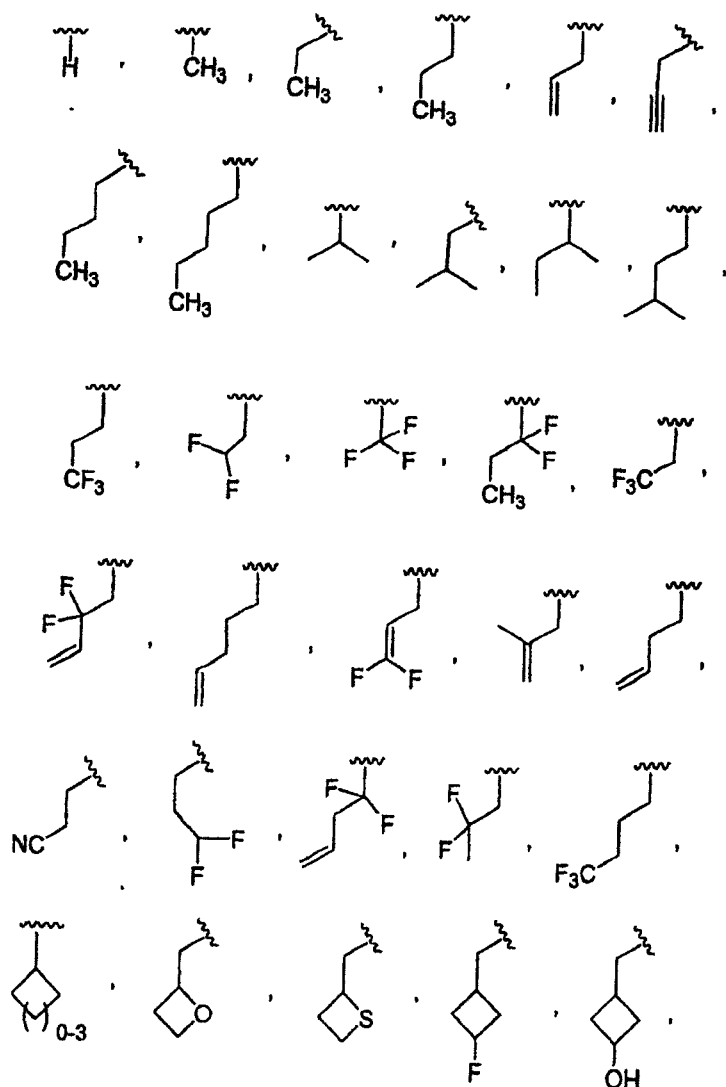
在另一个实施方案中， R^1 为 NR^9R^{10} ，其中 R^9 为 H， R^{10} 为 H 或 R^{14} ，其中 R^{14} 为烷基、芳基、杂烷基、杂芳基、环烷基、烷基-芳基-、烷基-杂芳基-、芳基-烷基-、烯基、炔基、或杂芳基-烷基-。

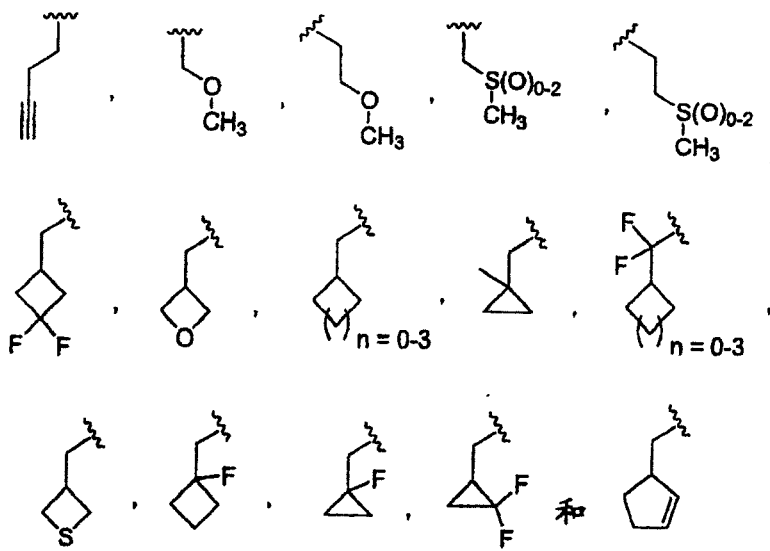
在另一个实施方案中， R^{14} 选自以下：



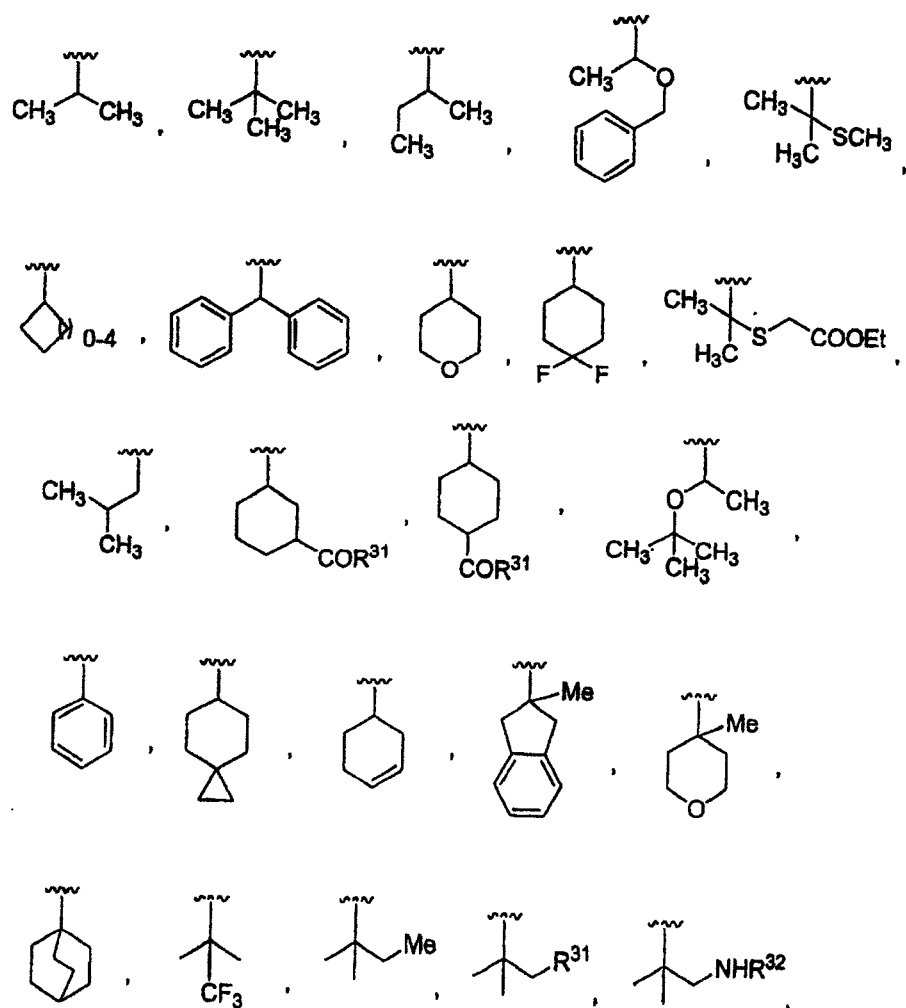


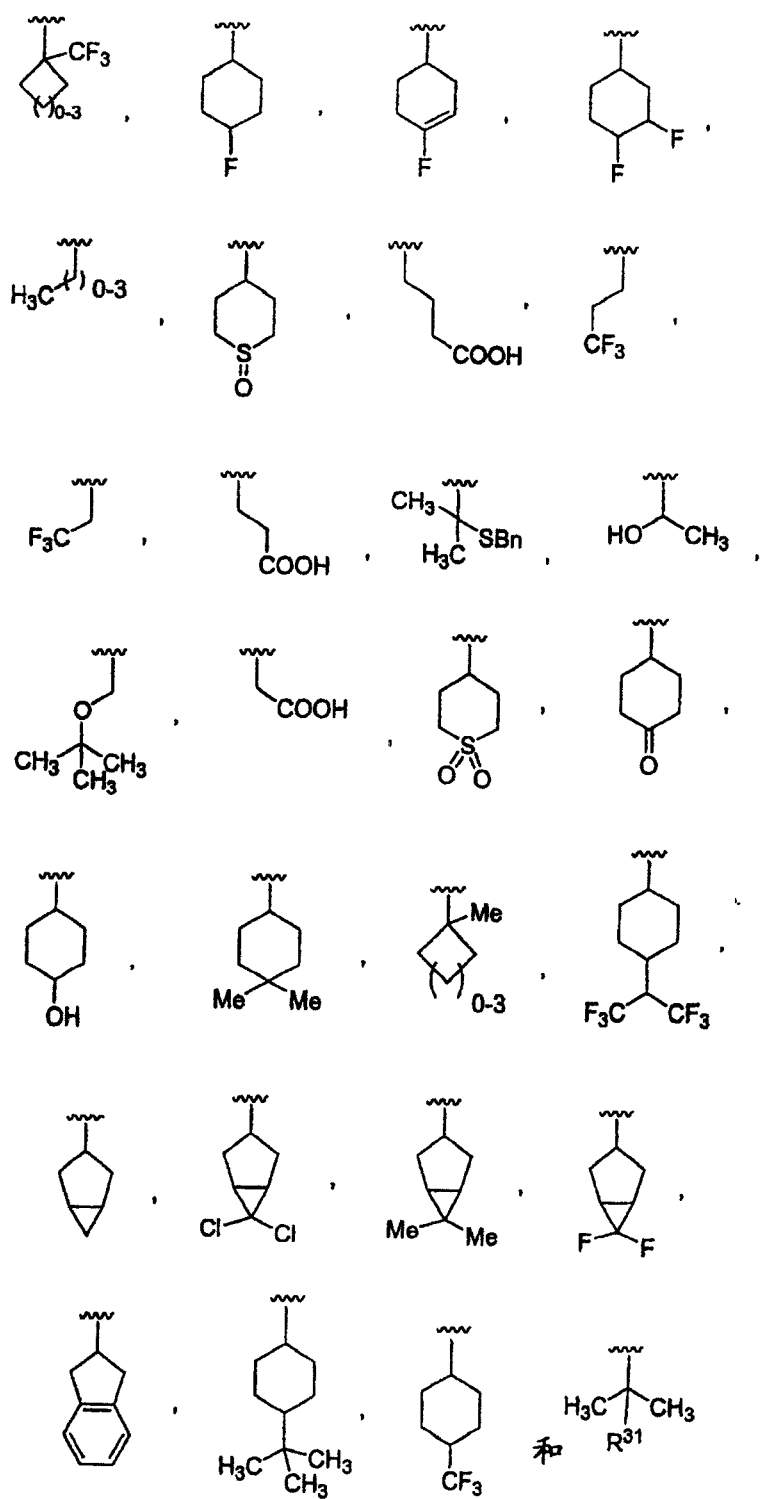
在另一个实施方案中， R^2 选自以下部分：





在另一个实施方案中， R^3 选自以下：

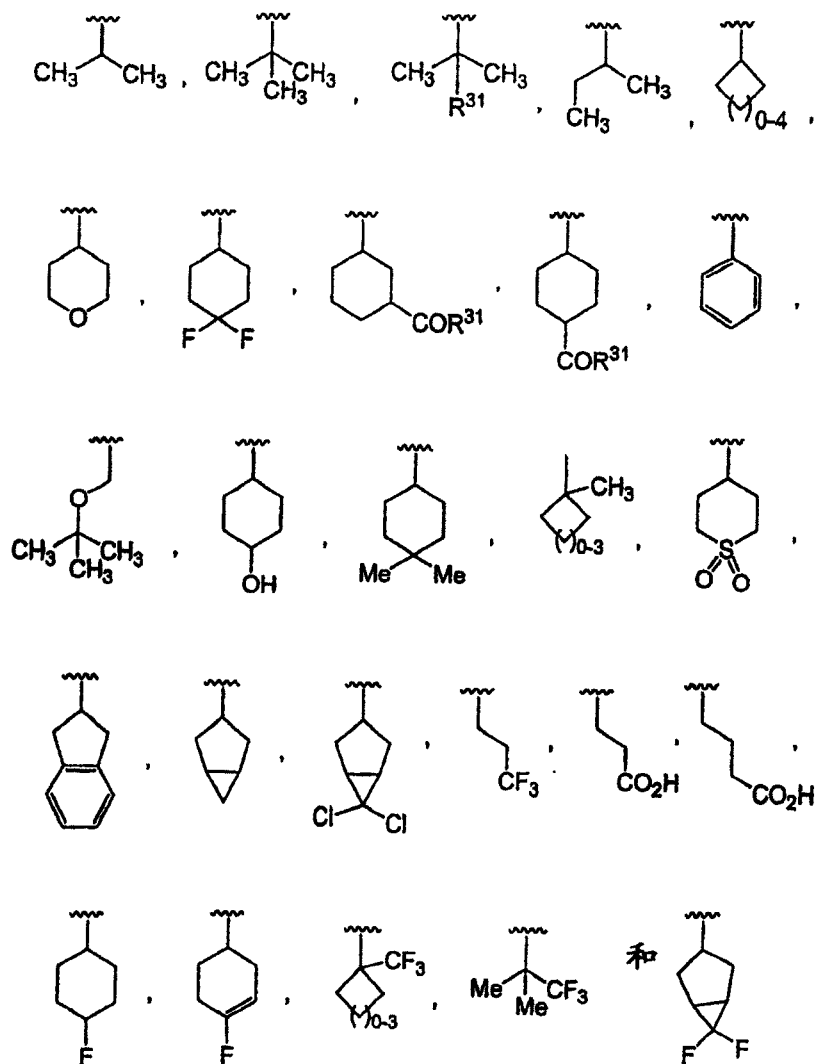




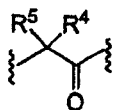
其中 R^{31} 为 OH 或 O-烷基；和

R^{32} 为 H、C(O)CH₃、C(O)OtBu 或 C(O)N(H)tBu。

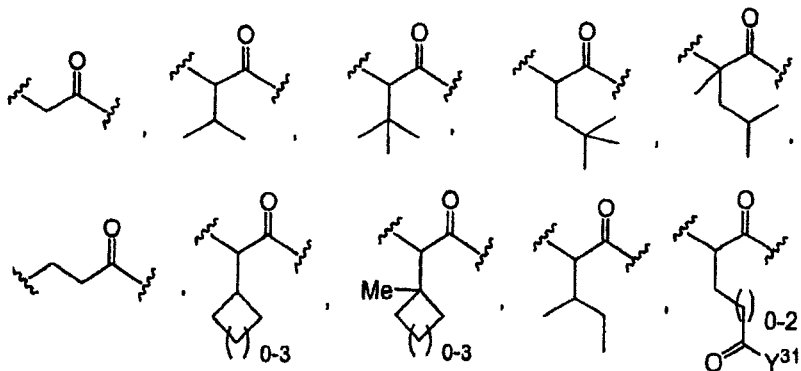
在另一个实施方案中， R^3 选自以下：

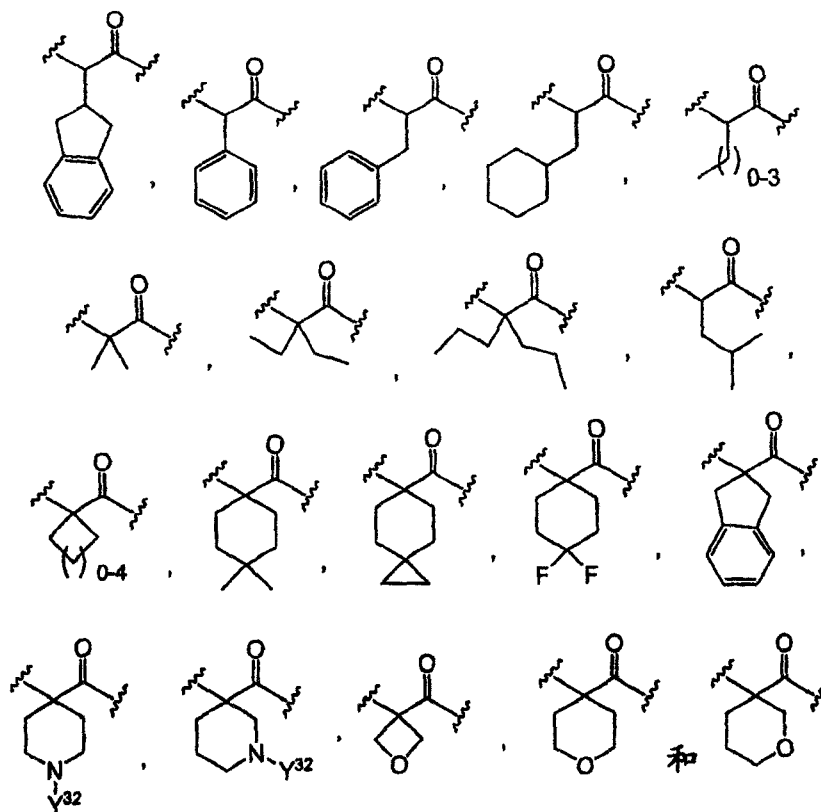


在另一个实施方案中，下式表示的部分



选自以下:



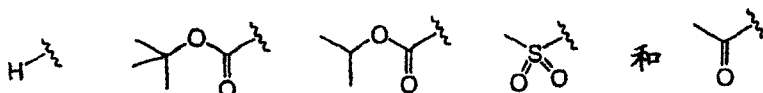


其中

Y^{31} 选自: OR、NHR 和 NRR^7

和

Y^{32} 选自以下:



在另一个实施方案中, Z 为 NH。

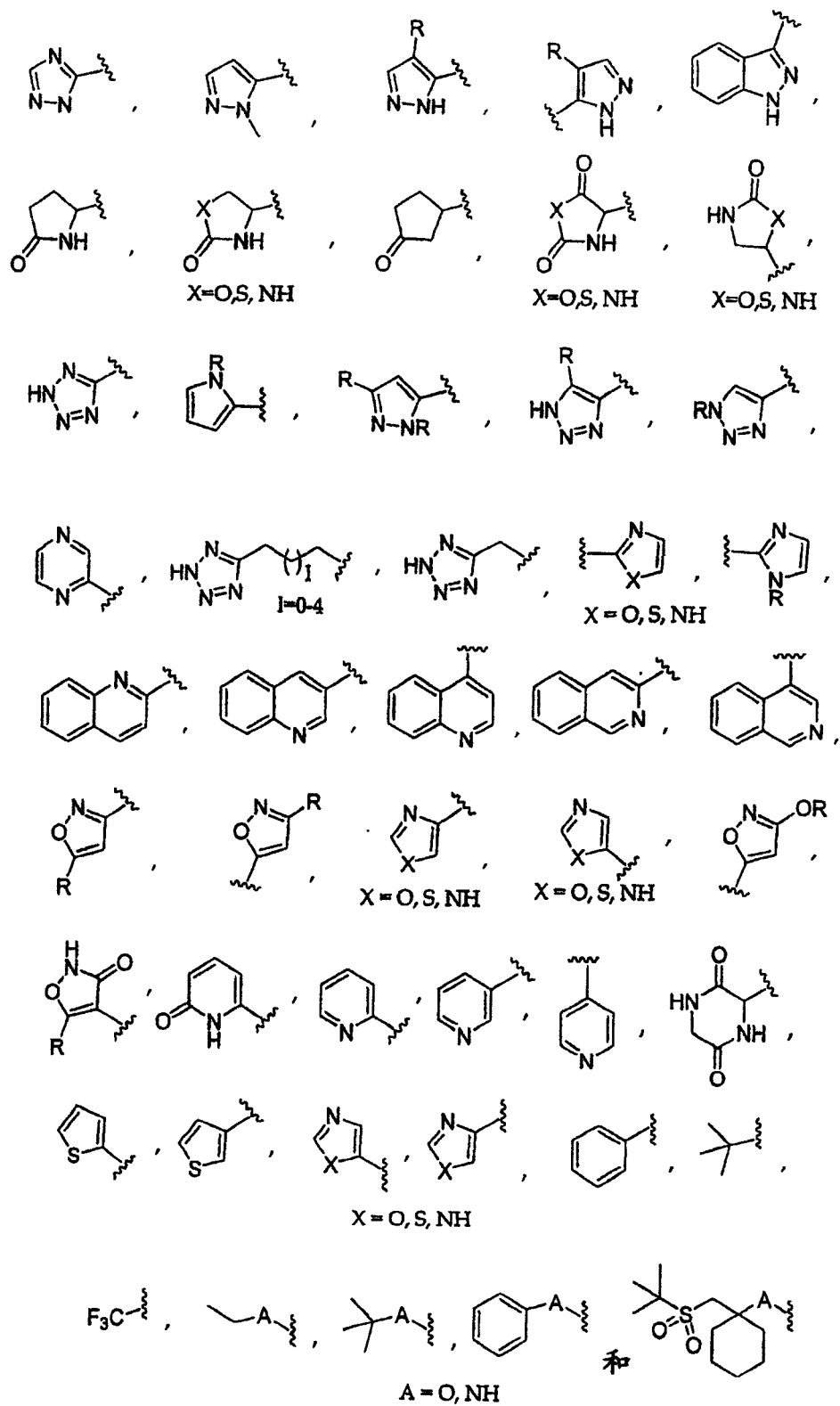
在另一个实施方案中, Z 为 N(R)。

在另一个实施方案中, Z 为 O; 当 Z 为 O 时, 则 G 可存在或不存在, 并且如果当 Z 为 O 而 G 存在时, 则 G 为 C(=O)。

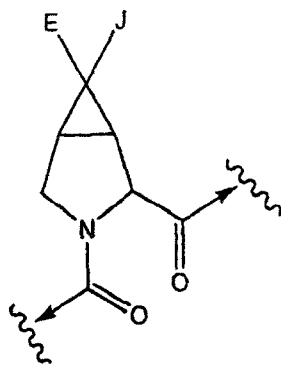
在另一个实施方案中, G 存在并且 G 为 C(=O) 或 S(O₂)。

在另一个实施方案中, G 不存在。

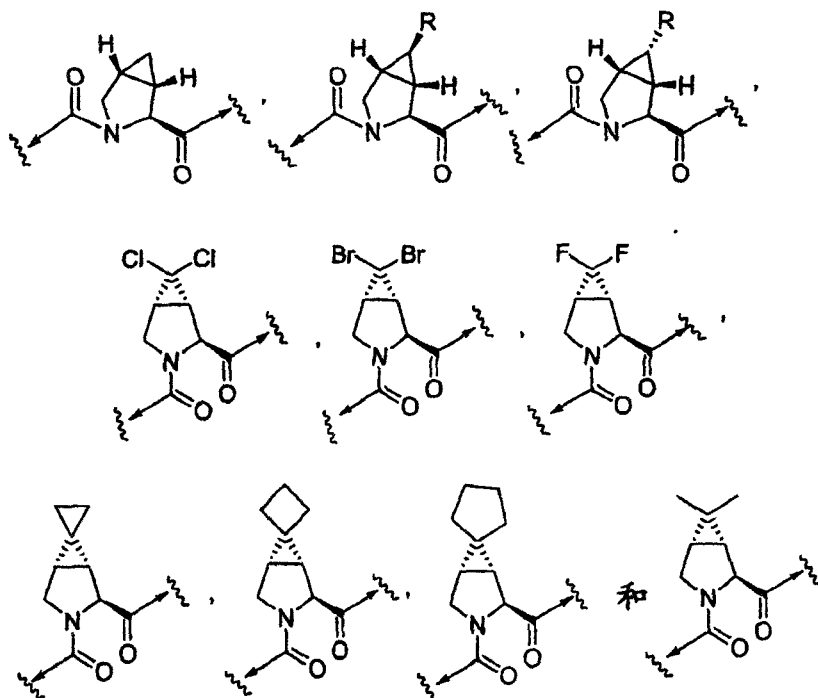
在另一个实施方案中, Y 选自以下:



在另一个实施方案中，下式表示的部分



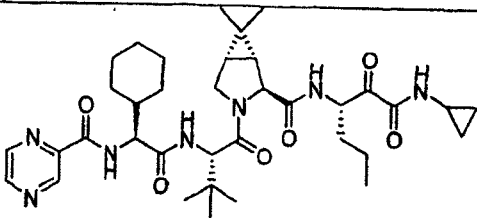
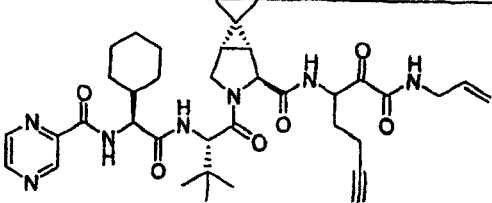
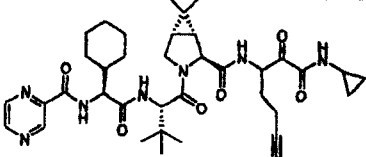
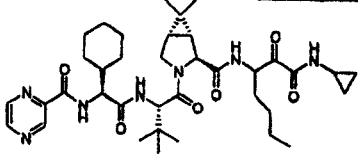
选自以下:

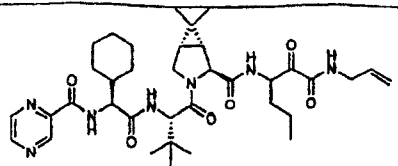
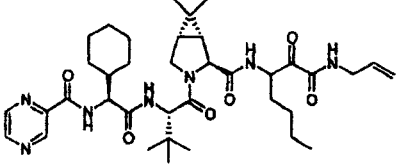
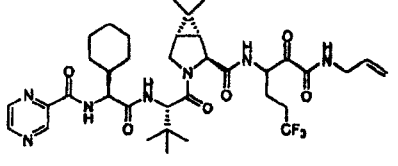
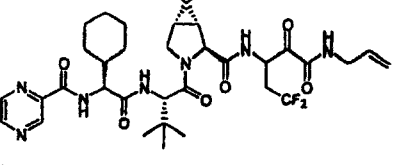
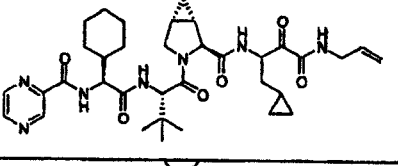
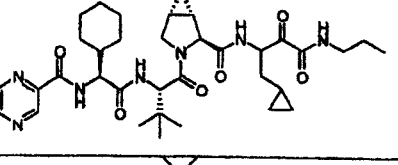
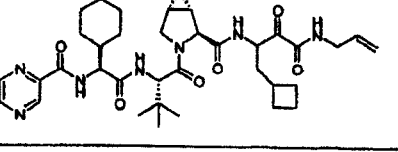


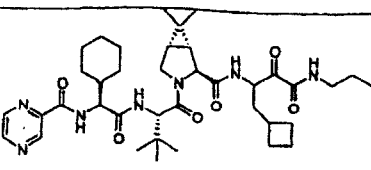
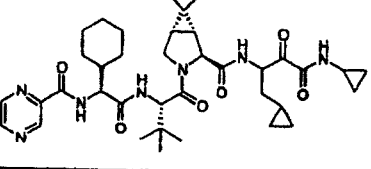
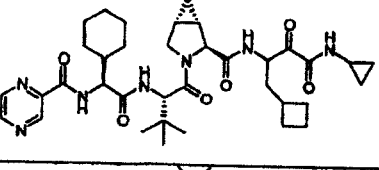
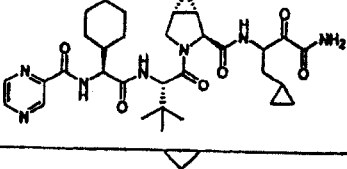
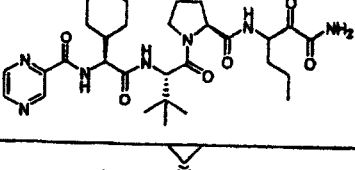
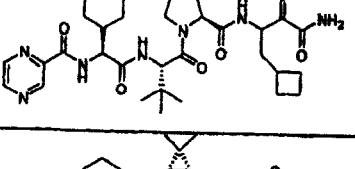
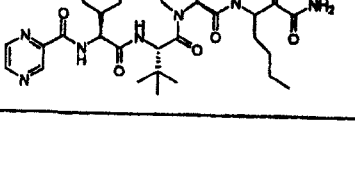
通常, 部分  和  上的含箭头的符号表示该部分对如式 I 中所示的母体结构各个位置的连接点。

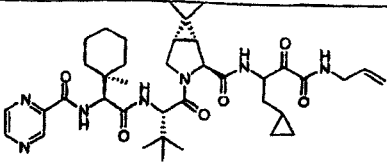
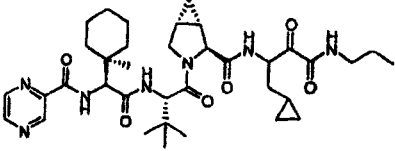
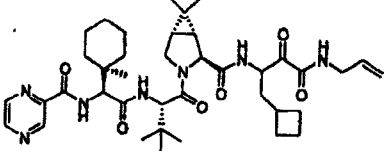
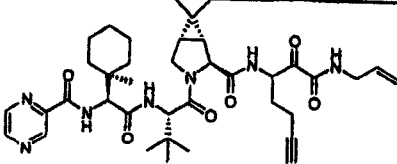
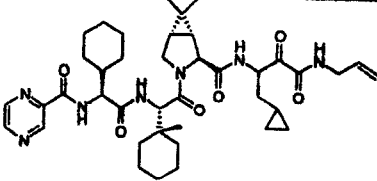
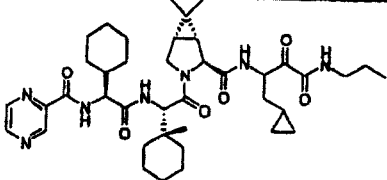
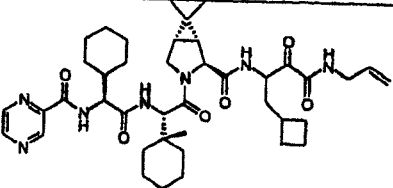
本发明的另一个实施方案公开了表 1 中的一些本发明的式 I 化合物。在表 I 中还公开了一些本发明的化合物的 NS3/NS4a 丝氨酸蛋白酶抑制活性(以纳摩尔表示的 K_i)。

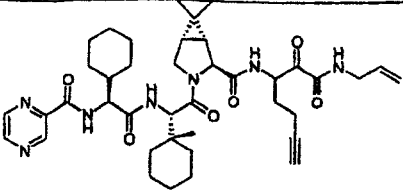
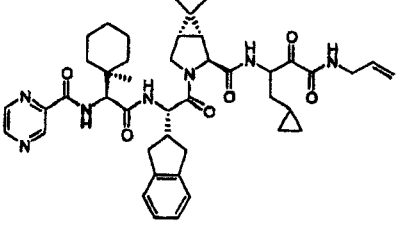
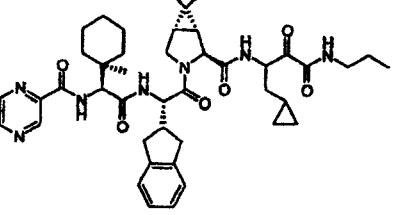
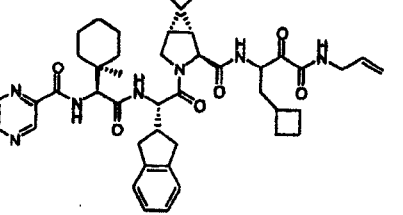
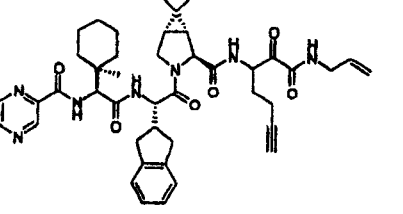
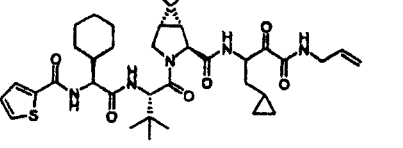
表 I

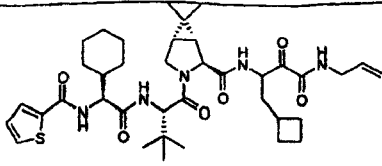
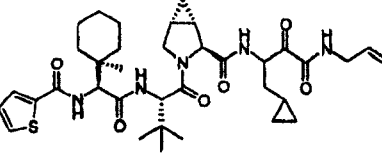
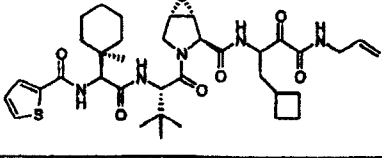
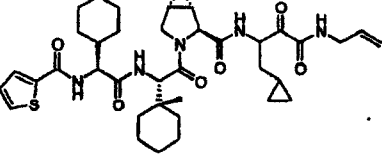
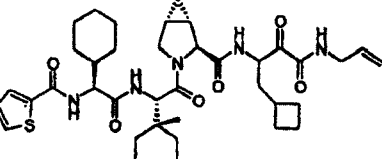
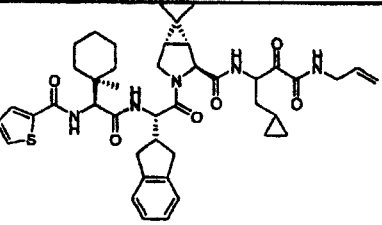
条目	结构	Ki* (nM)
1		10
2		6
3		
4		

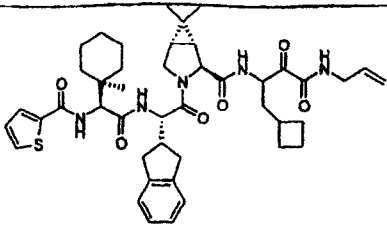
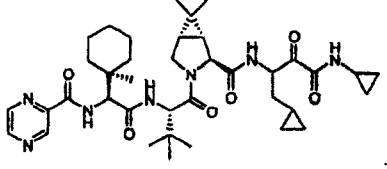
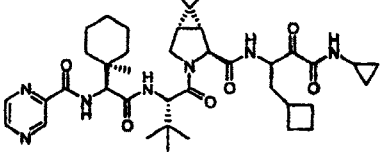
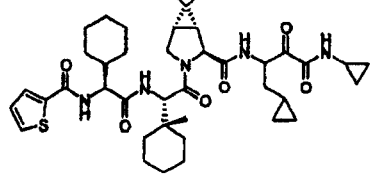
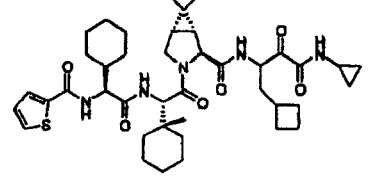
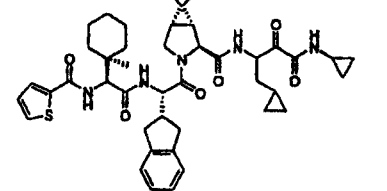
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		

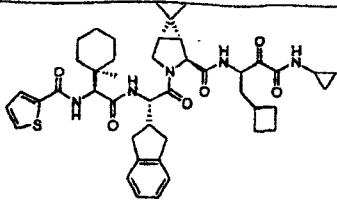
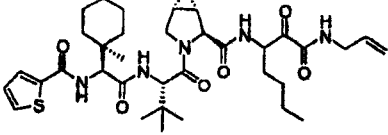
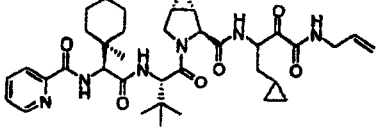
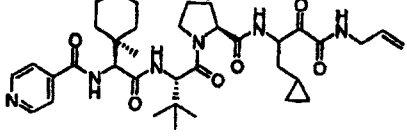
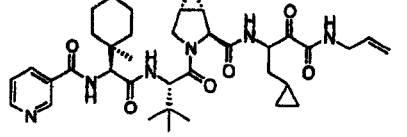
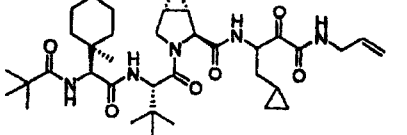
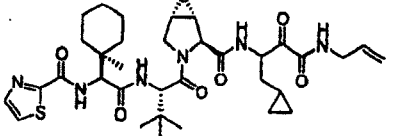
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		

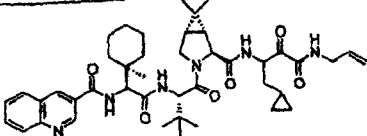
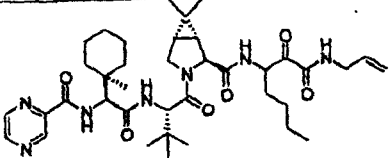
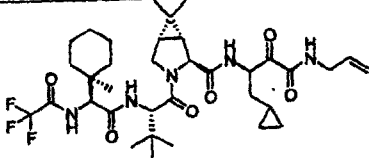
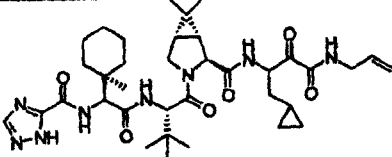
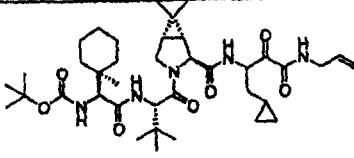
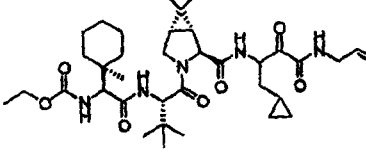
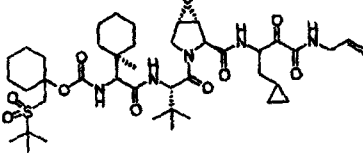
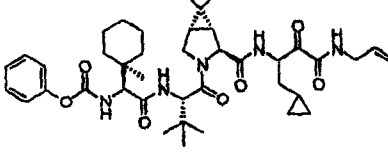
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25		

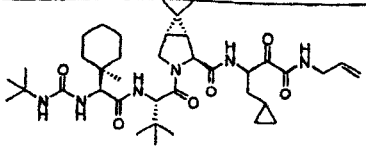
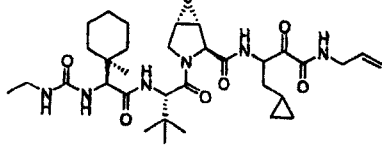
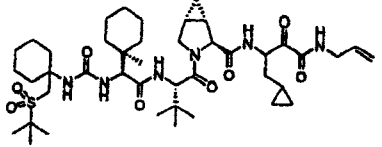
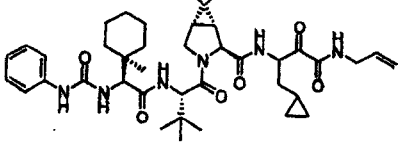
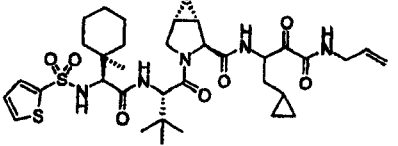
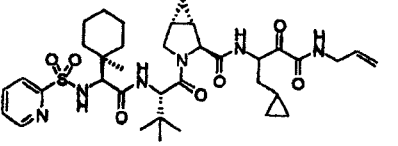
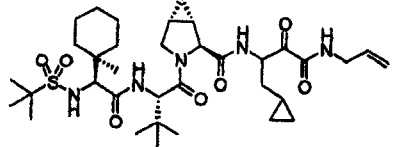
26		
27		
28		
29		
30		
31		

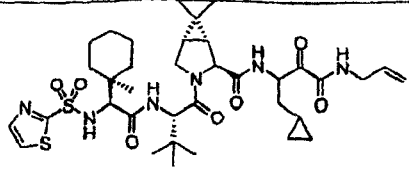
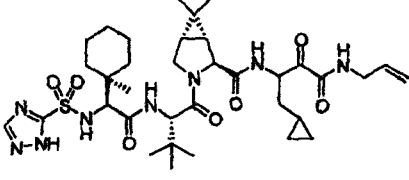
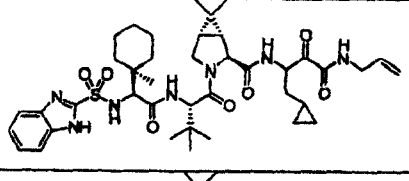
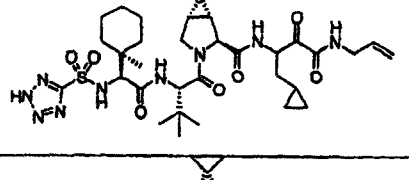
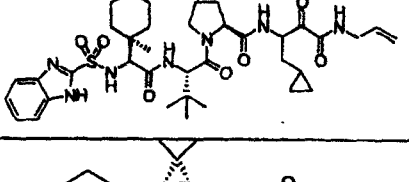
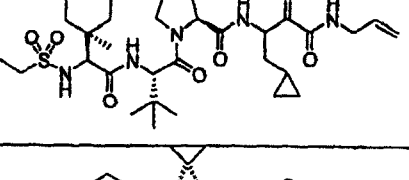
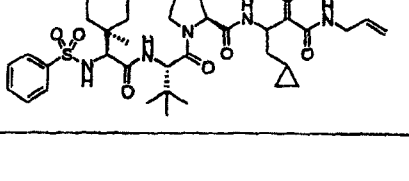
32		
33		
34		
35		
36		
37		

38		
39		
40		
41		
42		
43		

44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		

51		
52		
53		
54		
55		
56		
57		
58		

59		
60		
61		
62		
63		
64		
65		

66		
67		
68		
69		
70		
71		
72		

如上述和本公开内容中使用的，除非另外说明，以下术语应理解为具有以下含义：

“患者”包括人类和动物。

“哺乳动物”是指人类和其它哺乳动物。

“烷基”是指可为直链或支链并且在链中包括约 1 到约 20 个碳原子的脂肪族烃基。优选的烷基在链中包含约 1 到约 12 个碳原子。更优选的烷基在链中包含约 1 到约 6 个碳原子。支链是指一个或多个低级烷基如甲基、乙基或丙基连接于直链的烷基链。“低级烷基”是指在链中具有约 1 到约 6 个碳原子的基团，所述链可为直链或支链的。术

语“取代的烷基”是指该烷基可被一个或多个取代基取代，取代基可相同或不同，每个取代基独立地选自卤代、烷基、芳基、环烷基、氰基、羟基、烷氧基、烷硫基、氨基、-NH(烷基)、-NH(环烷基)、-N(烷基)₂、-N(烷基)₂、羧基和-C(=O)O-烷基。适当的烷基的非限制性例子包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、和叔丁基。

“烯基”是指包含至少一个碳-碳双键并且可为直链或支链并且在链中包括约2到约15个碳原子的脂肪族烃基。优选的烯基在链中具有约2到约12个碳原子；更优选在链中具有约2到约6个碳原子。支链是指一个或多个低级烷基如甲基、乙基或丙基连接于直链的烯基链。

“低级烯基”是指在链中具有约2到约6个碳原子，所述链可为直链或支链的。术语“被取代的烯基”是指烯基可被一个或多个取代基取代，取代基可相同或不同，每个取代基独立地选自卤代，烷基、芳基、环烷基、氰基、烷氧基和-S(烷基)。适当的烯基的非限制性例子包括乙烯基、丙烯基、正丁烯基、3-甲基丁-2-烯基、正戊烯基、辛烯基和癸烯基。

“炔基”是指包含至少一个碳-碳三键并且可为直链或支链并且在链中包括约2到约15个碳原子的脂肪族烃基。优选的炔基在链中具有约2到约12个碳原子；更优选在链中具有约2到约4个碳原子。支链是指一个或多个低级烷基如甲基、乙基或丙基连接于直链的炔基链。

“低级炔基”是指在链中具有约2到约6个碳原子，所述链可为直链或支链的。适当的炔基的非限制性例子包括乙炔基、丙炔基、2-丁炔基和3-甲基丁炔基。术语“被取代的炔基”是指炔基可被一个或多个取代基取代，取代基可相同或不同，每个取代基独立地选自烷基、芳基和环烷基。

“芳基”是指包括约6到约14个碳原子，优选约6到约10个碳原子的芳香族的单环或多环系统。芳基可任选地被一个或多个“环系统取代基”取代，所述取代基可相同或不同，并且其定义如本文所述。适当的芳基的非限制性例子包括苯基和萘基。

“杂芳基”是指包括约5到约14个环原子，优选约5到约10个环原子的芳香族的单环或多环的环系统，其中一个或多个环原子为不同于碳的元素，如氮、氧或硫，其为单独或组合的形式。优选的杂芳基包含约5到约6个环原子。“杂芳基”可任选地被一个或多个“环

系统取代基”取代，所述取代基可相同或不同，并且其定义如本文所述。杂芳基根名前面的前缀氮杂、氧杂或硫杂是指分别存在至少一个作为环原子的氮、氧或硫原子。杂芳基的氮原子可任选地被氧化为相应的 N-氧化物。适当的杂芳基的非限制性例子包括吡啶基、吡嗪基、呋喃基、噻吩基、嘧啶基、吡啶酮(包括 N-取代的吡啶酮)、异噁唑基、异噻唑基、噁唑基、噻唑基、吡唑基、呋咱基、吡咯基、吡唑基、三唑基、1,2,4-噻二唑基、吡嗪基、哒嗪基、喹喔啉基、2,3-二氮杂萘基、羟吡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、咪唑并[2,1-b]噻唑基、苯并呋咱基、吡啶基、吡啶基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、喹啉基、咪唑基、噻吩并吡啶基、喹啉基、噻吩并嘧啶基、吡咯并吡啶基、咪唑并吡啶基、异喹啉基、苯并吡啶基、1,2,4-三嗪基、苯并噻唑基等。术语“杂芳基”还指部分饱和的杂芳基部分，诸如例如四氢异喹啉基、四氢喹啉基等。

“芳烷基”或“芳基烷基”是指芳基-烷基-基团，其中芳基和烷基的定义如前所述。优选的芳烷基包含低级烷基。适当的芳烷基的非限制性例子包括苄基、2-苄基乙基、和萘基甲基。对母体部分的结合通过烷基实现。

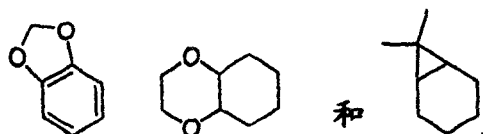
“烷基芳基”是指烷基-芳基-基团，其中烷基和芳基的定义如前所述。优选的烷基芳基包含低级烷基。适当的烷基芳基的非限制性例子为甲苯基。对母体部分的结合通过芳基实现。

“环烷基”是指包括约 3 到约 10 个碳原子，优选约 5 到约 10 个碳原子的非芳香族的单环或多环的环系统。优选的环烷基环包含约 5 到约 7 个环原子。环烷基可任选地被一个或多个“环系统取代基”取代，所述取代基可相同或不同，并且其定义如上文所述。适当的单环环烷基的非限制性例子包括环丙基、环戊基、环己基、环庚基等。适当的多环环烷基的非限制性例子包括 1-萘烷基、降冰片基、金刚烷基等，以及部分饱和基团，诸如例如，茚满基、四氢萘基等。

“卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴、或碘。优选氟、氯和溴。

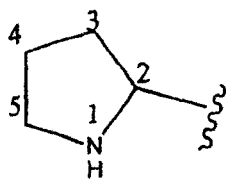
“环系统取代基”是指连接于芳香族或非芳香族环系统的取代基，例如其置换环系统上的可得到的氢。环系统取代基可相同或不同，各自独立地选自烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷基芳基、杂芳烷基、杂芳基烯基、杂芳基炔基、烷基杂芳基、羟基、羧基

烷基、烷氧基、芳氧基、芳烷氧基、酰基、芳酰基、卤代、硝基、氰基、羧基、烷氧羰基、芳基氧羰基、芳烷氧羰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、杂芳基磺酰基、烷硫基、芳硫基、杂芳硫基、芳烷硫基、杂芳烷硫基、环烷基、杂环基、 $-C(=N-CN)-NH_2$ 、 $-C(=NH)-NH_2$ 、 $-C(=NH)-NH$ (烷基)、 Y_1Y_2N- 、 Y_1Y_2N -烷基-、 $Y_1Y_2NC(O)-$ 、 $Y_1Y_2NSO_2-$ 和 $-SO_2NY_1Y_2$ ，其中 Y_1 和 Y_2 可相同或不同并且独立地选自氢、烷基、芳基、环烷基和芳烷基。“环系统取代基”也可指单一部分，其同时置换环系统上两个相邻碳原子上的两个可得到的氢(每个碳上一个H)。这种部分的例子为亚甲二氧基、亚乙二氧基、 $-C(CH_3)_2-$ 等，其形成以下部分，诸如例如：



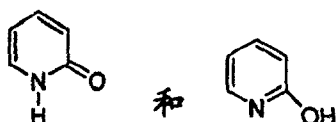
“杂环基”是指包括约 3 到约 10 个环原子，优选约 5 到约 10 个环原子的非芳香族饱和的单环或多环的环系统，其中环系统中的一个或多个原子为不同于碳的元素，如氮、氧或硫，其以单独或组合的形式。在环系统中不存在相邻的氧和/或硫原子。优选的杂环基包含约 5 到约 6 个环原子。杂环基根名前面的前缀氮杂、氧杂或硫杂是指分别存在至少一个作为环原子的氮、氧或硫原子。杂环基中的任何-NH 可以被保护形式存在，诸如例如，作为-N(Boc)、-N(CBz)、-N(Tos)基团等；这种保护也被认为是本发明的一部分。“杂环基”可任选地被一个或多个“环系统取代基”取代，所述取代基可相同或不同，并且其定义如本文所述。杂环基的氮或硫原子可任选地被氧化为相应的 N-氧化物、S-氧化物或 S, S-二氧化物。适当的单环杂环基环的非限制性例子包括哌啶基、吡咯烷基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、噻唑烷基、1,4-二氧杂环己基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、内酰胺、内酯等。

需要指出的是，在本发明的含杂原子的环系统中，在与 N、O 或 S 邻接的碳原子上没有羟基，以及在与另一个杂原子邻接的碳原子上没有 N 或 S 基团。因此，例如在以下环中：



没有-OH 直接连接于标记为 2 和 5 的碳上。

需要指出的是，在本发明的某些实施方案中，互变异构形式，诸如例如以下部分被认为是等价的：



“炔基烷基”是指炔基-烷基-基团，其中炔基和烷基的定义如前所述。优选的炔基烷基包含低级炔基和低级烷基。对母体部分的结合通过烷基实现。适当的炔基烷基的非限制性例子包括丙炔基甲基。

“杂芳烷基”是指杂芳基-烷基-基团，其中杂芳基和烷基的定义如前所述。优选的杂芳烷基包含低级烷基。适当的杂芳烷基的非限制性例子包括吡啶基甲基、和喹啉-3-基甲基。对母体部分的结合通过烷基实现。

“羟基烷基”是指 HO-烷基-基团，其中烷基的定义如前定义的。优选的羟基烷基包含低级烷基。适当的羟基烷基的非限制性例子包括羟基甲基和 2-羟基乙基。

“酰基”是指 H-C(O)-、烷基-C(O)-或环烷基-C(O)-基团，其中各个基团的定义如前所述。对母体部分的结合通过羰基实现。优选的酰基包含低级烷基。适当的酰基的非限制性例子包括甲酰基、乙酰基和丙酰基。

“芳酰基”是指芳基-C(O)-基团，其中芳基的定义如前所述。对母体部分的结合通过羰基实现。适当的芳酰基的非限制性例子包括苯甲酰基和 1-萘甲酰基。

“烷氧基”是指烷基-O-基团，其中烷基的定义如前所述。适当的烷氧基的非限制性例子包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基和正丁氧基。对母体部分的结合通过醚氧实现。

“芳氧基”是指芳基-O-基团，其中芳基的定义如前所述。适当的芳氧基的非限制性例子包括苯氧基和萘氧基。对母体部分的结合通过

醚氧实现。

“芳烷氧基”是指芳烷基-O-基团，其中芳烷基的定义如前所述。适当的芳烷氧基的非限制性例子包括苄氧基和1-或2-萘基甲氧基。对母体部分的结合通过醚氧实现。

“烷硫基”是指烷基-S-基团，其中烷基的定义如前所述。适当的烷硫基的非限制性例子包括甲硫基和乙硫基。对母体部分的结合通过硫实现。

“芳硫基”是指芳基-S-基团，其中芳基的定义如前所述。适当的芳硫基的非限制性例子包括苯硫基和萘硫基。对母体部分的结合通过硫实现。

“芳烷硫基”是指芳烷基-S-基团，其中芳烷基的定义如前所述。适当的芳烷硫基的非限制性例子为苯甲硫基。对母体部分的结合通过硫实现。

“烷氧羰基”是指烷基-O-C(O)-基团。适当的烷氧羰基的非限制性例子包括甲氧羰基和乙氧羰基。对母体部分的结合通过羰基实现。

“芳基氧羰基”是指芳基-O-C(O)-基团。适当的芳基氧羰基的非限制性例子包括苯氧羰基和萘氧羰基。对母体部分的结合通过羰基实现。

“芳烷氧羰基”是指芳烷基-O-C(O)-基团。适当的芳烷氧羰基的非限制性例子为苄氧羰基。对母体部分的结合通过羰基实现。

“烷基磺酰基”是指烷基-S(O₂)-基团。优选的基团为其中烷基为低级烷基的那些。对母体部分的结合通过磺酰基实现。

“芳基磺酰基”是指芳基-S(O₂)-基团。对母体部分的结合通过磺酰基实现。

术语“取代的”是指指定原子上的一個和多个氢被选自所示基团的基团代替，条件是不超过指定原子在现有环境下的正常化合价，并且取代产生稳定的化合物。取代基和/或变量的组合只有在这种组合产生稳定化合物时才是允许的。“稳定化合物”或“稳定结构”是指化合物足够坚实，而能够经历从反应混合物分离为有用的纯度、和配制为有效的治疗药剂。

当表示取代基、化合物、组合药物等的数目时，术语“一个或多个”或“至少一个”是指根据上下文关系而存在的或加入的至少一个、

和最多为化学和物理上可允许的最大数目的取代基、化合物、组合药物等。这种技术和知识为本领域技术人员众所周知。

术语“任选地被取代”是指被具体的基团、基或部分非必要地取代。

用于化合物的术语“分离的”或“分离形式的”是指化合物从其合成过程或天然来源或组合状态被分离之后所述化合物的物理状态。用于化合物的术语“纯的”或“纯形式的”是指从本文所述的或本领域技术人员公知的纯化方法纯化后获得的所述化合物的物理状态，其纯度足以由本文所述的或本领域技术人员公知的标准分析技术进行表征。

需要指出的是，在本文的正文、图解、实施例和表中的具有不饱和和化学价的任何杂原子被认为具有一个或多个氢原子以满足该化学价。

当化合物中的官能团被表述为“被保护”时，是指该基团处在被修饰的形式，用于当化合物经历反应时排除在保护位点处不希望有的副反应。适当的保护基被本领域技术人员所了解并且将通过标准教科书诸如例如 T. W. Greene 等人的 *Protective Groups in organic Synthesis* (1991), Wiley, New York 了解。

当任何变量(如，芳基、杂环、 R^2 等)在任何组成部分或式 I 中出现不止一次时，其在各个情况中的定义独立于其在其它情况中的定义。

如本文中使用的，术语“组合物”是指包括含指定量的指定成分的产物，以及包括由指定量的指定成分的组合直接或间接得到的任何产物。

本文中还可能考虑了本发明的化合物的前体药物和溶剂合物。如本文中使用的，术语“前体药物”是指作为药物前身的化合物，当对被试者给药时，该化合物通过代谢或化学过程经历化学转化，从而得到式 1 的化合物或其盐和/或溶剂合物。关于前体药物的讨论在 T. Higuchi 和 V. Stella 的 *Pro-drugs as Novel Delivery Systems* (1987), 14 of the A. C. S. Symposium Series 和在 *Bioreversible Carriers in Drug Design*, (1987), Edward B. Roche ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press 中提供，两者都

被并入本文作为参考。

“溶剂合物”是指本发明的化合物与一个或多个溶剂分子的物理缔合体。这种物理缔合涉及不同程度的离子键和共价键，包括氢键。在某些情况中，溶剂合物能够分离，例如当一个或多个溶剂分子被结合到结晶固体的晶格中时。“溶剂合物”包括溶液相和可分离的溶剂合物。适当的溶剂合物的非限制性例子包括乙醇化物、甲醇化物等。

“水合物”为其中溶剂分子为 H_2O 的溶剂合物。

“有效量”或“治疗有效量”意在描述有效抑制 CDK 并从而产生所需的治疗、改善、抑制、或预防作用的本发明的化合物或组合物的量。

式 1 的化合物可以形成盐，该盐也在本发明的范围内。除非另外说明，在本文中提及式 1 化合物时应理解为还包括其盐的形式。

如本文中使用的，术语“盐”表示与无机酸和/或有机酸形成的酸盐 (acidic salt)，以及与无机碱和/或有机碱形成的碱盐 (basic salt)。另外，当式 1 的化合物同时包含碱性部分 (例如但不限于吡啶或咪唑) 和酸性部分 (例如但不限于羧酸) 时，可形成两性离子 (“内盐”) 并且该两性离子也包括在本文所用的术语“盐”的范围内。优选药学可接受的 (即，无毒的、生理学可接受的) 盐，但是也可使用其它的盐。式 1 化合物的盐的形成可通过例如将式 1 的化合物与一定量 (如等当量) 的酸或碱在例如其中盐能够沉淀的介质中反应、或在水介质中反应随后冷冻干燥而进行。

示例性的酸加成盐包括乙酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、富马酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乳酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、草酸盐、磷酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐等。另外，通常被认为适合于从碱性的药用化合物形成药用盐的酸在例如 P. Stahl 等人的 Camille G. (eds.) Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use. (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge 等人的 Journal of Pharmaceutical Sciences (1977) 66(1) 1-19; P. Gould 的 International J. of Pharmaceutics (1986) 33: 201-217; Anderson 等人的 The Practice of Medicinal Chemistry

(1996), Academic Press, New York; 和在 The Orange Book (Food & Drug Administration, Washington, D. C. on their website) 中讨论。这些公开内容都被并入本文作为参考。

示例性的碱盐包括铵盐; 碱金属盐, 如钠、锂、和钾盐; 碱土金属盐, 如钙和镁盐; 与有机碱(例如, 有机胺)如二环己基胺、叔丁胺的盐; 和与氨基酸如精氨酸、赖氨酸等的盐。碱性的含氮基团可被试剂如低级卤代烷(如甲基、乙基、和丁基的氯化物、溴化物和碘化物)、二烷基硫酸酯(如硫酸的二甲酯、二乙酯、和二丁酯)、长链卤化物(如癸烷基、十二烷基、和十八烷基的氯化物、溴化物和碘化物)、芳卤代烷(如苄基和苧乙基的溴化物)及其它试剂季铵化。

所有这些酸盐和碱盐都被认为是处在本发明范围内的可药用盐, 并且对于本发明而言, 所有的酸盐和碱盐都被认为是与相应的游离形式的化合物等价。

本发明化合物的可药用酯包括以下类型: (1)通过羟基的酯化得到的羧酸酯, 其中酯基的羧酸部分的非羰基部分选自直链或支链的烷基(如乙基、正丙基、叔丁基、或正丁基)、烷氧基烷基(如甲氧基甲基)、芳烷基(如苄基)、芳氧基烷基(如苯氧基甲基)、芳基(如苯基, 其任选地被例如卤素、 C_{1-4} 烷基、或 C_{1-4} 烷氧基或氨基取代); (2)磺酸酯, 如烷基磺酰基或芳烷基磺酰基(如甲磺酰基); (3)氨基酸的酯(例如, L-缬氨酰基或 L-异亮氨酰基); (4)膦酸酯和(5)单、二或三磷酸的酯。磷酸酯可通过例如 C_{1-20} 醇或其活性衍生物进一步酯化, 或被 2, 3-二(C_{6-24})酰基甘油进一步酯化。

式 1 的化合物及其盐、溶剂合物和前体药物可以其互变异构形式存在(例如作为酰胺或亚氨醚的形式)。所有这些互变异构形式都被认为是本发明的一部分。

本发明化合物的所有立体异构体(如几何异构体、光学异构体等)(包括该化合物的盐、溶剂合物、和前体药物, 以及前体药物的盐和溶剂合物的立体异构体), 如可能由于不同取代基上的不对称碳而存在的那些, 包括对映异构形式(其甚至可能在没有不对称碳的情况下存在)、旋转异构形式、阻转异构体和非对映异构体形式都包括在本发明的范围内, 如位置异构体(诸如例如, 4-吡啶基和 3-吡啶基)。本发明化合物的个体立体异构体可为例如基本上不含其它异构体的形式, 或

可作为例如外消旋物的混合形式或与所有其它立体异构体、或其它选择的立体异构体混合的形式。本发明的手性中心可具有由 IUPAC 1974 Recommendations 定义的 S 或 R 构型。术语“盐”、“溶剂合物”、“前体药物”等的使用同样适用于本发明化合物的对映异构体、立体异构体、旋转异构体、互变异构体、位置异构体、外消旋物或前体药物的盐、溶剂合物和前体药物。

式 1 的化合物及其盐、溶剂合物和前体药物可作为其多晶型物的形式存在。式 I 化合物的多晶型物形式，以及式 I 化合物的盐、溶剂合物和前体药物的多晶型物形式都被包括在本发明中。

所有的上述一种或多种多晶型物形式都是本发明的一部分。

应该理解，式 1 的化合物用于本文所讨论的治疗应用的实用性适用于每种化合物本身、或适用于在随后段落中所述的一种或多种式 1 的化合物的一种或多种组合。相同的理解还适用于包括这样一种或多种化合物的药用组合物和牵涉这样一种或多种化合物的治疗方法。

本发明的化合物可具有药理学性质；特别地，式 1 的化合物可为 HCV 蛋白酶的抑制剂，可以是每种化合物自身，或者，可以是一种或多种式 1 化合物与选自式 1 的一种或多种化合物的组合。化合物可用于治疗疾病，诸如例如 HCV、HIV、(AIDS，获得性免疫缺陷综合症)、和相关病症，以及用于调节丙型肝炎病毒(HCV)蛋白酶的活性，预防 HCV，或改善丙型肝炎的一种或多种症状。

式 1 的化合物可用于生产用于治疗与 HCV 蛋白酶有关的病症的药物，例如，该方法包括使式 1 的化合物与可药用载体密切接触。

在另一个实施方案中，本发明提供包括本发明的一种或多种化合物作为活性组分的药用组合物。药用组合物通常另外包含至少一种可药用载体稀释剂、赋形剂或载体(在本文中统称为载体材料)。由于它们的 HCV 抑制活性，这种药用组合物在治疗丙型肝炎和相关病症中具有实用性。

在另一个实施方案中，本发明公开了制备包括本发明的化合物作为活性组分的药用组合物的方法。在本发明的药用组合物和方法中，典型地将活性组分以与适当载体材料的混合物的形式给药，载体材料根据预期给药形式进行适当地选择，所述给药形式即口服片剂、胶囊(固体填充型、半固体填充型或液体填充型)、用于重构的粉末剂、口

服凝胶剂、酞剂、可分散颗粒剂、糖浆剂、悬浮液等，并与常规的药学实践一致。例如，对于以片剂或胶囊形式的口服给药，可以将活性药物组分与任何口服无毒性的可药用惰性载体组合，所述载体如乳糖、淀粉、蔗糖、纤维素、硬脂酸镁、磷酸二钙、硫酸钙、滑石、甘露醇、乙醇(液体形式)等。此外，当期望或需要时，还可能将适当的粘合剂、润滑剂、崩解剂和着色剂混合到混合物中。粉末剂和片剂可包括约5到约95%的本发明的组合物。

适当的粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖类、玉米甜味剂、天然和合成的胶类如阿拉伯胶、海藻酸钠、羧甲基纤维素、聚乙二醇和蜡。在润滑剂中，用于这些剂型的可提及硼酸、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠等。崩解剂包括淀粉、甲基纤维素、瓜尔胶等。

如果适合的话也可包括甜味剂和调味剂及防腐剂。上述的一些术语，即崩解剂、稀释剂、润滑剂、粘合剂等，在以下更详细地讨论。

另外，本发明的组合物可以配制为持续释放形式，以提供任何的一种或多种组分或活性组分的速率受控释放，以使治疗作用即HCV抑制活性等达最优化。用于持续释放的适当的剂型包括具有不同崩解速率的层的多层片(layered tables)或受控释放聚合物基质，该基质渗入活性组分并成形为含有这种渗入的或囊封的多孔性聚合物基质的片剂或胶囊。

液态制剂包括溶液、悬浮液和乳剂。例如可提及，水或水-丙二醇溶液用于非肠道注射，或添加甜味剂和安抚剂(pacifier)用于口服溶液、悬浮液和乳液。液态制剂也可包括用于鼻内给药的溶液。

适合于吸入的气雾剂制剂可包括溶液和粉末形式固体剂，它们可与可药用载体如惰性压缩气体如氮气组合。

为了制备栓剂，首先将低熔点蜡如脂肪酸甘油酯如可可脂的混合物熔化，然后通过搅拌或类似的混合使活性组分均一分散在其中。然后将熔融的均一混合物倾倒在适宜大小的模具中，使其冷却并从而固化。

还包括用于在即将使用时转换为用于口服或非肠道给药的液态制剂的固态制剂。这种液态制剂包括溶液、悬浮液和乳剂。

本发明的化合物也可经皮递送。经皮组合物可为霜剂、洗剂、气雾剂和/或乳剂的形式，并且可能包括在本领域中用于此目的而常规使

用的基质型或储库型透皮贴片中。

本发明的化合物也可口服、静脉内、鼻内或皮下给药。

本发明的化合物也可包含单元剂型的制剂。在这种剂型中，制剂被细分为包含适当量(如实现所需目的有效量)的活性组分的适当大小的单元剂量。

在单元剂量的制剂中，本发明的活性组合物的量通常可不同、或根据特定应用有所调节，为约 1.0 毫克到约 1,000 毫克，优选约 1.0 到约 950 毫克，更优选约 1.0 到约 500 毫克，并且典型地约 1 到约 250 毫克。采用的实际剂量可随着患者的年龄、性别、体重和待治疗状况的严重程度的不同而不同。这种技术为本领域技术人员所公知。

通常，包含活性组分的人用口服剂型可以每天给药 1 或 2 次。给药量和给药频率根据主治临床医师的判断进行调节。用于口服给药的通常建议的日剂量给药方案可为以单次或多次的形式每天给药约 1.0 毫克到约 1,000 毫克。

一些有用的术语描述如下：

胶囊一是指由甲基纤维素、聚乙烯醇、或变性明胶或淀粉制成的用于保持或装有含活性组分的组合物的特定容器或外壳。硬壳胶囊典型地由相对较高胶凝强度的骨架和猪皮明胶的共混物构成。胶囊本身可包含少量的染料、雾浊剂(opaquin agent)、增塑剂和防腐剂。

片剂一是指包含活性组分与适当稀释剂的压制或模制而成的固体剂型。片剂可通过压缩混合物或颗粒制备，所述颗粒通过湿法造粒、干法造粒或通过压缩获得。

口服凝胶一是指活性组分分散或溶解在亲水型的半固体基质中。

用于重构的粉末是指可悬浮在水或果汁中的包含活性组分和适当稀释剂的粉末共混物。

稀释剂一是指通常构成组合物或剂型的主要部分的物质。适当的稀释剂包括糖类，如乳糖、蔗糖、甘露醇和山梨醇；来源于小麦、玉米、水稻、和马铃薯的淀粉；和纤维素类，如微晶纤维素。组合物中稀释剂的量可为总组合物的约 10 到约 90 重量%，优选约 25 到约 75 重量%，更优选约 30 到约 60 重量%，更优选约 12 到约 60 重量%。

崩解剂一是指被加到组合物中以帮助其分裂(崩解)并释放药物的材料。适当的崩解剂包括淀粉；“冷水可溶的”改性淀粉如羧甲基淀

粉钠；天然和合成的胶类，如刺槐豆胶、刺梧桐树胶、瓜尔胶、黄蓍胶和琼脂；纤维素衍生物，如甲基纤维素和羧甲基纤维素钠；微晶纤维素和交联微晶纤维素如交联羧甲基纤维素钠；海藻酸类，如海藻酸和海藻酸钠；粘土，如膨润土；和泡腾混合物。组合物中崩解剂的量可为组合物的约 2 到约 15 重量%，更优选约 4 到约 10 重量%。

粘合剂一是指将粉末结合或“胶合”在一起并通过形成颗粒使它们具有内聚性的物质，因此充当制剂中的“粘着剂”。粘合剂增加已经在稀释剂或增量剂中得到的内聚强度。适当的粘合剂包括糖类，如蔗糖；来源于小麦、玉米、水稻和马铃薯的淀粉；天然的胶类，如阿拉伯胶、明胶和黄蓍胶；海藻的衍生物，如海藻酸、海藻酸钠、和海藻酸铵钙；纤维素材料，如甲基纤维素和羧甲基纤维素钠及羟丙甲基纤维素；聚乙烯吡咯烷酮；和无机物，如硅酸镁铝。组合物中粘合剂的量可为组合物的约 2 到约 20 重量%，更优选约 3 到约 10 重量%，更优选约 3 到约 6 重量%。

润滑剂一是指被加入到剂型中通过减少摩擦或磨损使得片剂、颗粒等在压缩后从模具或模头释放的物质。适当的润滑剂包括金属硬脂酸盐，如硬脂酸镁、硬脂酸钙或硬脂酸钾；硬脂酸；高熔点的蜡；和水溶性润滑剂，如氯化钠、苯甲酸钠、乙酸钠、油酸钠、聚乙二醇、和 D-亮氨酸。润滑剂通常在压缩前的最后一个步骤被加入，因为它们必须存在于颗粒的表面上以及存在于颗粒与压片机部件之间。组合物中润滑剂的量可为组合物的约 0.2 到约 5 重量%，更优选约 0.5 到约 2 重量%，更优选约 0.3 到约 1.5 重量%。

助流剂(glident)一防止结块并改善颗粒流动特性使得流动平滑和均匀的物质。适当的助流剂包括二氧化硅和滑石。组合物中助流剂的量可为总组合物的约 0.1 %到约 5 重量%，优选约 0.5 到约 2 重量%。

着色剂一为组合物或剂型提供颜色的赋形剂。这种赋形剂可以包括食品级染料以及被吸附到适当的吸附剂如粘土或氧化铝上的食品级染料。着色剂的量可为组合物的约 0.1 到约 5 重量%，优选约 0.1 到约 1 重量%。

生物利用度一是指，与标准或对照相比，活性药物组分或治疗部分从给药剂型被吸收到体循环中的速率和程度。

制备片剂的常规方法是公知的。这种方法包括干法（如直接压片

法, 和压缩由压缩产生的颗粒)、或湿法或其它具体过程。用于生产其它给药剂型诸如例如胶囊、栓剂等的常规方法也是公知的。

本发明的另一个实施方案公开了上述公开的本发明的化合物或药用组合物用于治疗疾病诸如例如丙型肝炎等的应用。该方法包括对患有这种疾病和需要这种治疗的患者给药治疗有效量的本发明的化合物或药用组合物。

在另一个实施方案中, 本发明的化合物可用于以单一治疗模式或以联合治疗(如二元联合、三元联合等)模式治疗人的 HCV, 联合治疗诸如例如与抗病毒剂和/或免疫调节剂的联合治疗。这类抗病毒剂和/或免疫调节剂的例子包括利巴韦林(得自 Schering-Plough Corporation, Madison, New Jersey)和 Levovirin™(得自 ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, California)、VP 50406™(得自 Viropharma, Incorporated, Exton, Pennsylvania)、ISIS 14803™(得自 ISIS Pharmaceuticals, Carlsbad, California)、Heptazyme™(得自 Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, Colorado)、VX 497™(得自 Vertex Pharmaceuticals, Cambridge, Massachusetts)、Thymosin™(得自 SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, California)、Maxamine™(Maxim Pharmaceuticals, San Diego, California)、吗替麦考酚酯(得自 Hoffman-LaRoche, Nutley, New Jersey)、干扰素(诸如例如干扰素- α 、PEG-干扰素 α 结合物)等。

“PEG-干扰素 α 结合物”为共价结合于 PEG 分子的干扰素 α 分子。示例性的 PEG-干扰素 α 结合物包括 PEG 化(Pegylated)干扰素 α -2a(如, 在商品名 Pegasys™下销售的)的形式的干扰素 α -2a(Roferon™, 得自 Hoffman La-Roche, Nutley, New Jersey)、PEG 化干扰素 α -2b(如, 在商品名 PEG-Intron™下销售的)的形式的干扰素 α -2b(intro™, 得自 Schering-Plough Corporation), 干扰素 α -2c(Berofer Alpha™, 得自 Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Germany)、或通过测定天然存在的干扰素 α 的共有序列所定义的组合干扰素(consensus interferon)(Infergen™, 得自 Amgen, Thousand Oaks, California)。

如前所述, 本发明还包括本发明化合物的互变异构体、旋转异构体、对映异构体和其它立体异构体。因此, 如本领域技术人员所理解

的, 一些本发明的化合物可存在有适当的同分异构形式。这种变化也被包括在本发明的范围内。

本发明的另一个实施方案公开了本文公开的化合物的生产方法。化合物可通过本领域中已知的多种技术制备。示例性的方法在以下反应图解中说明。不应将这些示例性说明看作是对权利要求中所定义的本发明范围的限制。

替代性机理路线和类似结构对于本领域技术人员来说是显而易见的。

应该理解, 虽然以下示例性的图解描述了本发明的一些代表性化合物的制备, 但是天然和非天然氨基酸两者中任一种的适当替换都将形成基于这种替换的所需化合物。这种变化也被考虑为在本发明的范围内。

对于如下所述的过程, 使用了以下缩写:

THF: 四氢呋喃

DMF: N, N-二甲基甲酰胺

EtOAc: 乙酸乙酯

AcOH: 乙酸

HOOBt: 3-羟基-1, 2, 3-苯并三嗪-4(3H)-酮

EDCI: 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

NMM: N-甲基吗啉

ADDP: 1, 1'-(偶氮二羰基)二哌啶

DEAD: 偶氮二甲酸二乙酯

MeOH: 甲醇

EtOH: 乙醇

Et₂O: 乙醚

DMSO: 二甲基亚砷

HOBt: N-羟基苯并三唑

PyBrOP: 溴代-三吡咯烷基磷六氟磷酸盐

DCM: 二氯甲烷

DCC: 1, 3-二环己基碳二亚胺

TEMPO: 2, 2, 6, 6-四甲基-1-哌啶基氧基

Phg: 苯基甘氨酸

Chg: 环己基甘氨酸

Bn: 苄基

Bzl: 苄基

Et: 乙基

Ph: 苯基

iBoc: 异丁氧羰基

iPr: 异丙基

tBu 或 But: 叔丁基

Boc: 叔丁氧羰基

Cbz: 苄氧羰基

Cp: 环戊二烯基

Ts: 对甲苯磺酰基

Me: 甲基

HATU: 0-(7-氯杂苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐

DMAP: 4-N,N-二甲氨基吡啶

BOP: 苯并三唑-1-基-氧基-三(二甲氨基)六氟磷酸酯

PCC: 氯铬酸吡啶盐

KHMDS: 六甲基二甲硅烷基叠氮化钾或双(三甲基甲硅烷基氨基)钾

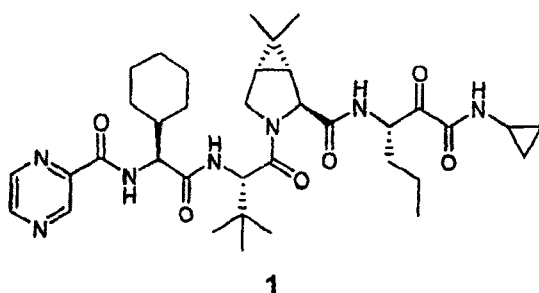
NaHMDS: 六甲基二甲硅烷基叠氮化钠或双(三甲基甲硅烷基氨基)钠

LiHMDS: 六甲基二甲硅烷基叠氮化锂或双(三甲基甲硅烷基氨基)锂

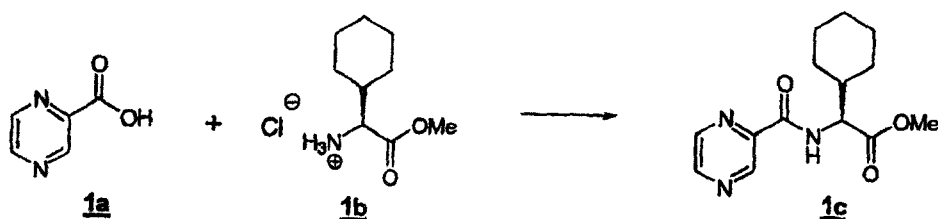
锂

10%Pd/C: 10%的碳载钯(以重量计)

制备例 1

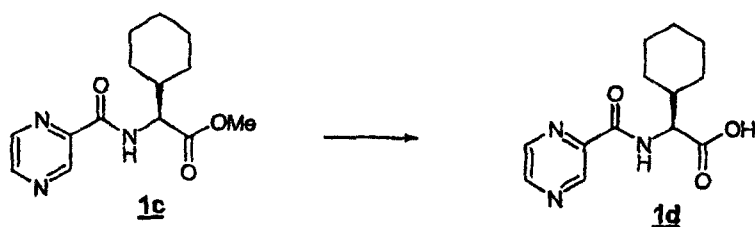


步骤 A



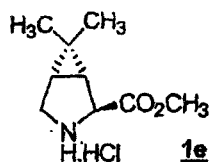
将吡嗪羧酸 **1a** (3 g) 在 150 mL 无水二氯甲烷和 150 mL 无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 6.03 g) 处理。少量多次加入 L-环己基甘氨酸盐酸盐 **1b** (1.2 eq, 6.03 g)。然后, 滴加 N-甲基吗啉 (4 eq, 10 mL, d 0.920)。使反应混合物逐渐地回温到室温并搅拌 20 小时。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 500 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (100 mL)、1 N HCl 水溶液 (100 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL)、和盐水 (100 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 5:95 到 3:7), 得到产物, 为白色固体。

步骤 B



将甲酯 **1c** (6.5 g) 在 270 mL 的 THF/MeOH/水为 1:1:1 的混合物中的溶液冷却到 0℃ 并用氢氧化锂一水合物 (2.5 eq, 2.45 g) 处理。搅拌混合物并通过 TLC (丙酮/己烷; 2:8) 监控。当所有的起始原料已经耗尽时, 将反应混合物用 100 mL 的 1 N HCl 水溶液处理并将混合物旋转蒸发浓缩。加入二氯甲烷 (250 mL) 并分层。水层用二氯甲烷提取 (3 × 80 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到产物, 为白色固体。

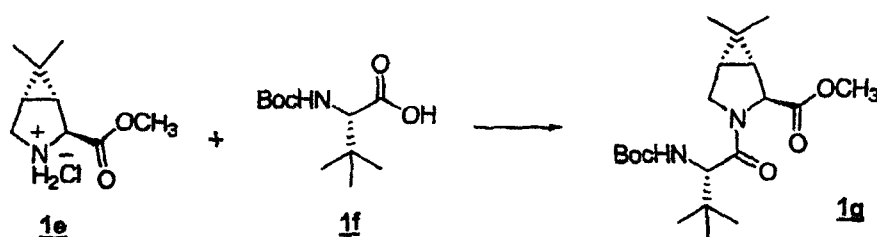
步骤 C



根据 R. Zhang 和 J. S. Madalenoitia (J. Org. Chem. 1999, 64, 330) 的方法制备氨基酯 **1e**, 不同之处在于, 通过被 Boc 保护的氨基酸与甲醇-HCl (还采用含 4M HCl 的二氧杂环己烷用于脱保护) 反应使 Boc 基团断裂。

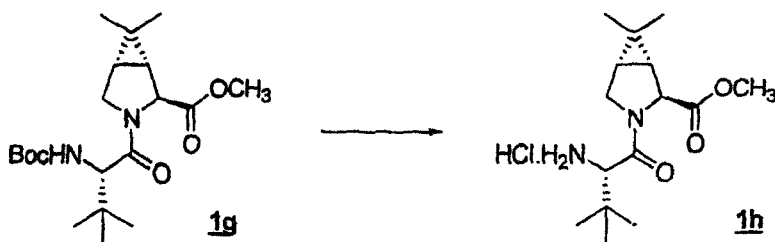
(注释: 在报导的合成的变体中, 硫内酯盐被替换为相应的磷内酯盐)。

步骤 D



将 Boc-tert-Leu **1f** (Fluka, 5.0 g, 21.6 mmol) 在无水 CH_2Cl_2 /DMF (50 mL, 1: 1) 中的溶液冷却到 0℃ 并用胺盐酸盐 **1f** (5.3 g, 25.7 mmol)、NMM (6.5 g, 64.8 mmol) 和 BOP 试剂 (11.6 g, 25.7 mmol) 处理。将反应在室温下搅拌 24 小时, 用 HCl 水溶液 (1 M) 稀释并用 CH_2Cl_2 提取。合并的有机层用 1 M HCl 水溶液、饱和 NaHCO_3 、盐水洗, 干燥 (MgSO_4), 过滤并真空浓缩和通过色谱法纯化 (SiO_2 , 丙酮/己烷 1: 5), 得到 **1g**, 为无色固体。

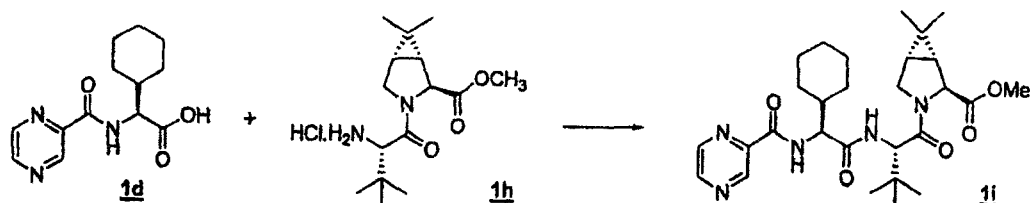
步骤 E



将甲酯 **1g** (4.0 g, 10.46 mmol) 溶解于含 4M HCl 的二氧杂环己烷中并将溶液在室温搅拌 3 小时。将反应混合物真空浓缩以得到胺盐酸

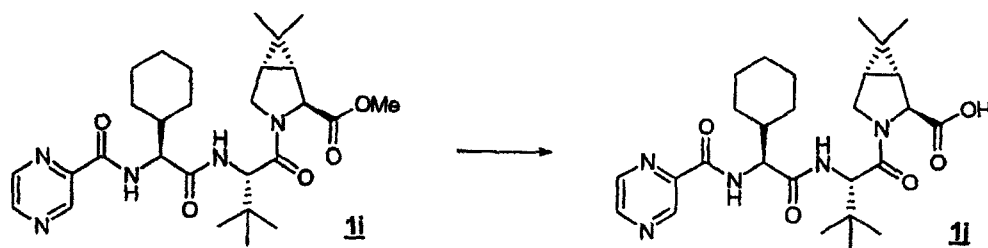
盐 1 h, 其不经纯化使用。

步骤 F



将酸 1d (100 mg) 在 5 mL 无水二氯甲烷和 5 mL 无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 202 mg) 处理。加入胺盐酸盐 1h (1.2 eq, 146 mg)。然后, 再滴加 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.17 mL, d 0.920)。反应混合物在 0℃ 下搅拌过夜。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 80 mL 乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到 4:6), 得到产物 1i, 为白色固体。

步骤 G



将甲酯 1i (180 mg) 在 9 mL 的 THF/MeOH/水为 1:1:1 的混合物中的溶液冷却到 0℃ 并用氢氧化锂一水合物 (2.5 eq, 35 mg) 处理。搅拌混合物并通过 TLC (丙酮/己烷; 3:7) 监控。当所有的起始原料已经耗尽时, 将反应混合物用 50 mL 的 1 N HCl 水溶液处理并将混合物旋转蒸发浓缩。加入二氯甲烷 (80 mL) 并分层。水层用二氯甲烷提取 (3 × 50 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到产物 1j, 为白色固体。

步骤 H



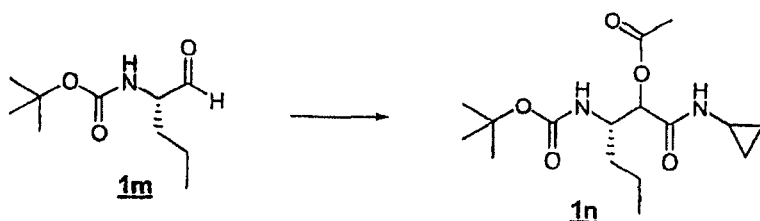
将酸 1k (2 g) 在 100 mL 的无水二氯甲烷和 5 mL 的 DMF 中的溶液用 N,0-二甲基羟胺盐酸盐 (1.1 eq, 986 mg)、BOP 试剂 (1.1 eq, 4.47 g)、和 N-甲基吗啉 (3.3 eq, 3.3 mL, d 0.920) 以所述顺序处理。将混合物加热到 50℃ 过夜。将反应混合物浓缩到其体积一半的量并用 400 mL 乙酸乙酯稀释。有机层用水 (80 mL)、1M HCl 水溶液 (80 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (80 mL) 和盐水 (80 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度：丙酮/己烷；5:95 到 3:7)，得到产物 1l，为透明的油状物。

步骤 I



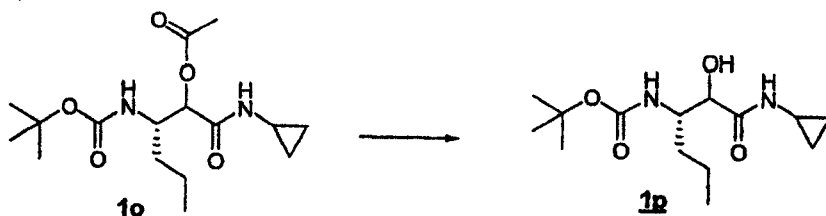
将酰胺 1l (2.2 g) 在 100 mL 无水 THF 中的溶液冷却到 ℃。滴加氢化铝锂溶液 (1.3 eq)。在 5 分钟之后除去冷却浴并使混合物回温到室温。TLC 分析 (乙酸乙酯/己烷；2:8) 表明所有的起始原料已经耗尽。通过滴加饱和硫酸氢钠水溶液小心地淬灭过量的 LAH。混合物用 200 mL 的乙醚稀释并少量多次加入饱和硫酸氢钠水溶液直到沉淀出白色固体。将混合物通过硅藻土过滤并将滤液用 50 mL 盐水洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度：乙酸乙酯/己烷；5:95 到 4:6)，得到产物 1m，为无色的油状物。

步骤 J



将醛 1m (1.8 g) 在 100 mL 无水二氯甲烷中的溶液用异腈 (1.1 eq, 680 mg) 和乙酸 (2 eq, 1.02 mL, d 1.0149) 处理。将混合物搅拌过夜。真空除去所有的挥发性物质并将残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 乙酸乙酯/己烷; 2:8 到 6:4), 得到产物 1n, 为白色固体。

步骤 K



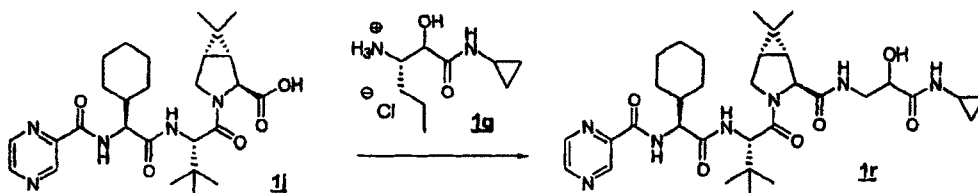
将乙酸酯 1o (1.6 g) 在 60 mL THF/MeOH/水为 1:1:1 的混合物中的溶液用氢氧化锂一水合物处理并搅拌约 1 小时, 直到通过 TLC 分析 (乙酸乙酯/己烷; 1:1) 测定所有的起始原料已经耗尽。旋转蒸发除去挥发性物质并将残余物用二氯甲烷 (150 mL) 稀释。分层并将水层用 30 mL 的饱和碳酸氢钠水溶液稀释并用二氯甲烷提取 (3 × 80 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩, 得到产物 1p, 为白色固体。

步骤 L



将被 N-Boc 保护的胺 1p (1.5 g) 溶解于 20 mL 含 4M HCl 的二氧杂环己烷中。将反应混合物搅拌约 1 小时, 直到所有的起始原料已经耗尽。真空除去所有的挥发性物质, 得到产物 1q, 为白色固体。

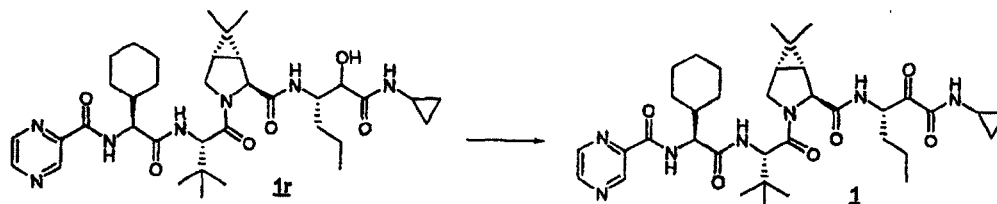
步骤 M



将酸 1j (50 mg) 在 2 mL 的无水二氯甲烷和 2 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 52 mg) 处理。加入胺盐酸盐 1q (1.2 eq, 26 mg)。然后, 再加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.042 mL, d 0.920)。将反应混合物在 0℃ 搅拌过夜。真空除去所有的挥发性物质并将残余物

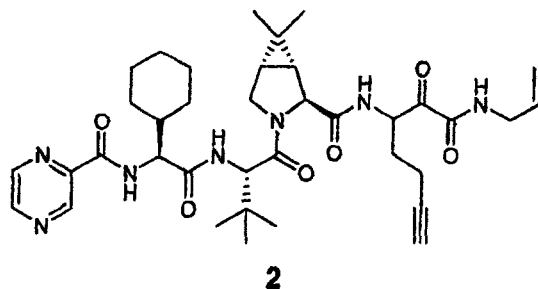
溶解于 80 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。产物 1r 不经进一步纯化使用。

步骤 N



将醇 1r (65 mg) 在 5 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (Dess-Martin periodinane) (3 eq, 121 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 45 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 15 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 20 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 5:5), 得到产物 1, 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{36}H_{54}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 680.4136; 实测值 680.4131。

制备例 2



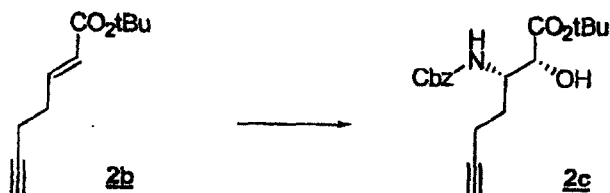
步骤 A



向 4-戊炔-1-醇 2a (4.15g; Aldrich) 的溶液中加入戴斯-马丁过碘烷 (30.25g; Aldrich) 并将得到的混合物搅拌 45 分钟, 然后加入 (叔丁氧羰基亚甲基) 三苯正膦 (26.75g; Aldrich)。将得到的深色反应搅

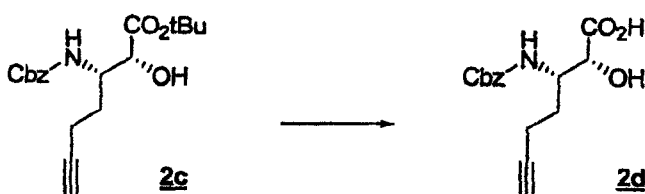
拌过夜，用乙酸乙酯稀释，用亚硫酸钠水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液、水、盐水洗并干燥。减压除去挥发性物质并将残余物通过硅胶柱色谱法纯化，使用含 1 % 乙酸乙酯的己烷作为洗脱液，得到所需的化合物 **2b** (3.92g)。还得到一些不纯的级分，此时将其放在一旁。

步骤 B



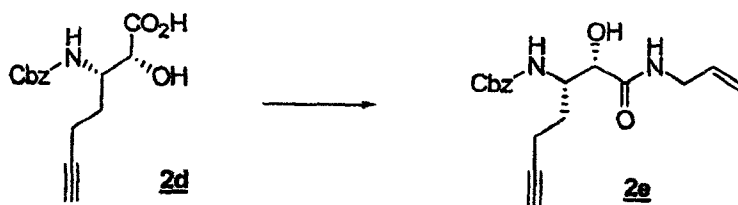
使用在正丙醇 (20mL; Aldrich) 中的烯 **2b** (1.9 g)、在正丙醇 (40mL) 中的氨基甲酸苄酯 (4.95g; Aldrich)、在水 (79ml) 中的 NaOH (1.29g)、次氯酸叔丁酯 (3.7ml)、在正丙醇 (37.5ml) 中的 (DHQ) 2PHAL (0.423g; Aldrich) 和铍酸钾：脱水物 (0.1544g; Aldrich)，过程如 *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* (1998), 35, (23/24), 第 2813-7 页中所述，得到粗产物，其通过硅胶柱色谱法纯化，使用 EtOAc: 己烷 (1:5) 洗脱，得到所需的氨基醇 **2c** (1.37g, 37%)，为白色固体。

步骤 C



向酯 **2c** (0.700g) 中加入含 4M HCl 的二氧杂环己烷 (20ml; Aldrich) 并将得到的混合物在室温静置过夜。减压除去挥发性物质，得到酸 **2d** (0.621 g)，为白色固体。

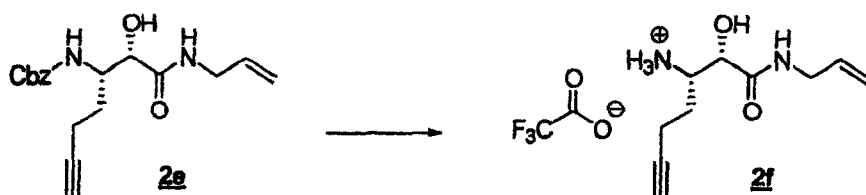
步骤 D



在室温下将 BOP 试剂 (3.65g; Sigma) 加入到羧酸 **2d** (2.00 g) 和烯

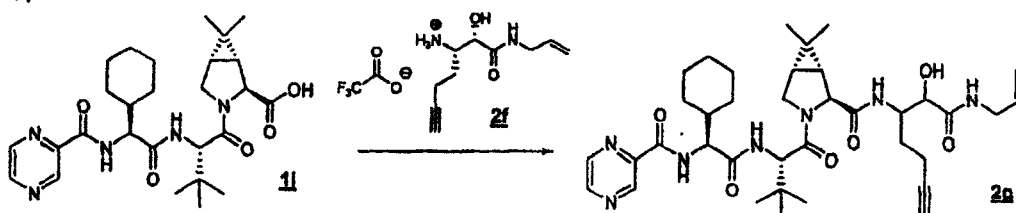
丙胺 (0.616 ml) 的二氯甲烷 (20ml) 溶液中, 随后加入三乙胺 (3.45ml), 并将得到的混合物搅拌过夜。将反应混合物在 EtOAc 和 10% HCl 水溶液之间分配。分离有机相, 用饱和碳酸氢钠水溶液和水洗, 干燥 (硫酸镁)。粗反应产物通过硅胶柱色谱法纯化, 使用 (EtOAc: 己烷; 70: 30) 作为洗脱液, 得到所需的酰胺 2e (1.73g), 为粘稠的黄色油状物。

步骤 E



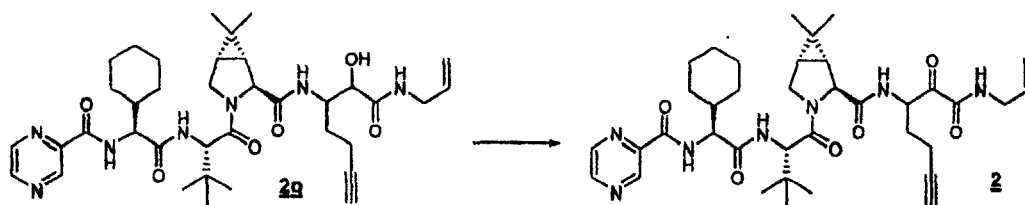
将 N-Cbz 胺 2e (85.8 mg) 在 5 mL 的三氟乙酸/甲硫醚为 4:1 的混合物中的溶液在室温下搅拌约 3 小时。减压除去所有的挥发性物质。将产物 2f 置于高真空下约 3 小时, 并且不经进一步纯化使用。

步骤 F



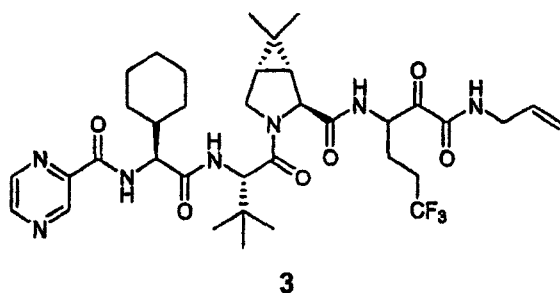
将酸 1j (50 mg) 在 2 mL 的无水二氯甲烷 2 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 72 mg) 处理。加入在二氯甲烷中的胺盐 2f (1.3 eq, 72 mg)。然后, 再加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.042 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 80 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。产物 2g 不经进一步纯化使用。

步骤 G

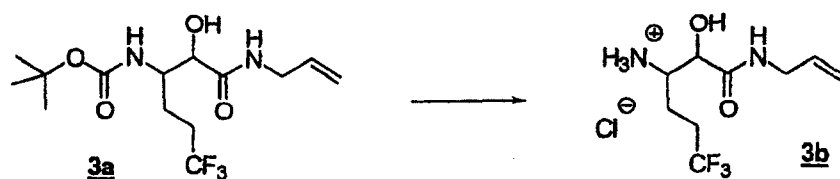


将羟基酰胺 2g (67 mg) 在 5 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (3 eq, 123 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 45 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 15 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 20 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度：丙酮 / 己烷；2:8 到 4:6)，得到产物 2，为白色固体。HRMS (FAB) $C_{34}H_{52}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 690.3979；实测值 690.3995。

制备例 3

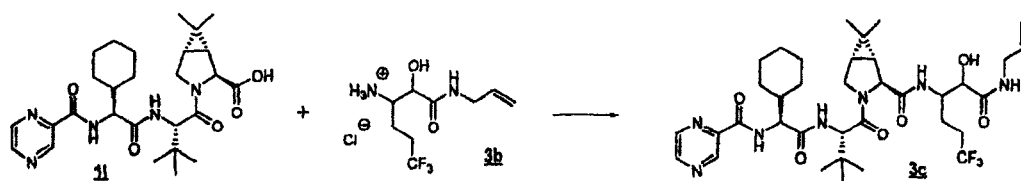


步骤 A



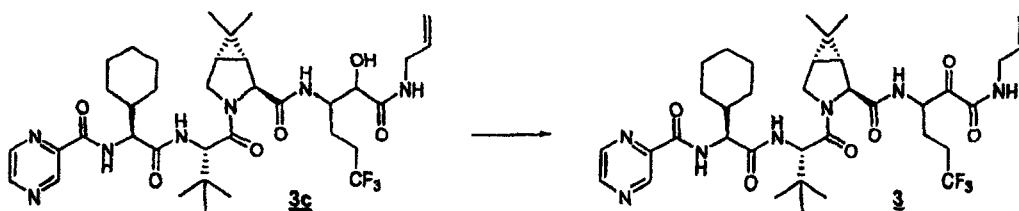
将被 N-Boc 保护的胺 3a (3 g) 溶解于 60 mL 的含 4M HCl 的二氧杂环己烷溶液中。混合物在室温下搅拌，直到通过 TLC (乙酸乙酯/己烷；6:4) 测定所有的起始原料已经耗尽。在 2 小时之后，减压除去所有的挥发性物质，得到产物 3b (2.4 g, 98%)，为白色固体，其不经进一步纯化使用。

步骤 B



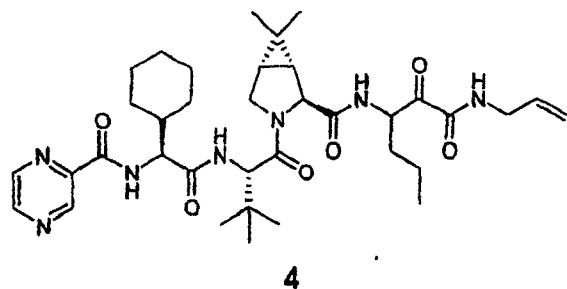
将酸 1j (150 mg) 在 3 mL 的无水二氯甲烷和 3 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 155 mg) 处理。加入胺盐酸盐 3b (88 mg)，随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.13 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0–25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (8 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。粗产物 3c (210 mg) 不经进一步纯化使用。

步骤 C

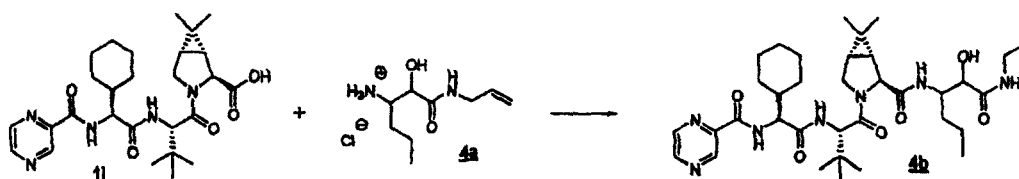


将羟基酰胺 3c (214 mg) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (3 eq, 371 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度：丙酮/己烷；2:8 到 45:55)，得到产物 3，为半固体，将其溶解于 2 mL 的二氯甲烷和 10 mL 的己烷中，减压除去溶剂，得到产物 3，为白色固体 (150 mg，两步收率为 70%)。HRMS (FAB) $C_{36}H_{51}F_3N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 734.3853；实测值 734.3850。

制备例 4

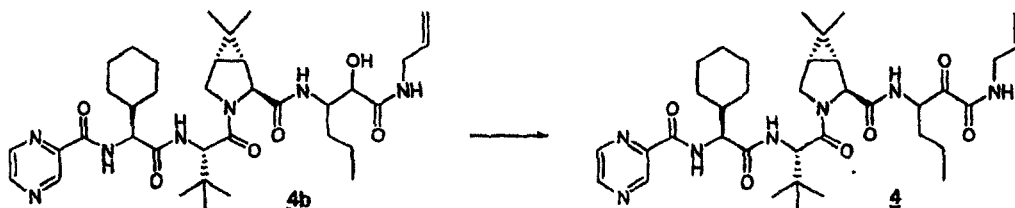


步骤 A



将酸 1j (150 mg) 在 3 mL 的无水二氯甲烷和 3 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 155 mg) 处理。加入胺盐酸盐 4a (71 mg)，随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.13 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (8 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。粗产物 4b (190 mg) 不经进一步纯化使用。

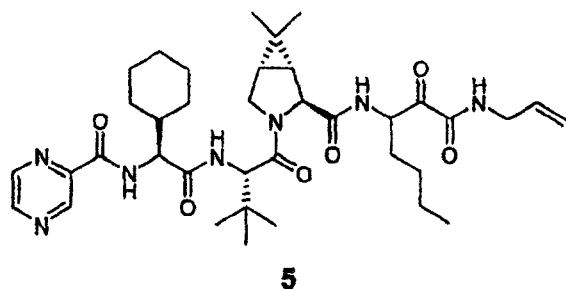
步骤 B



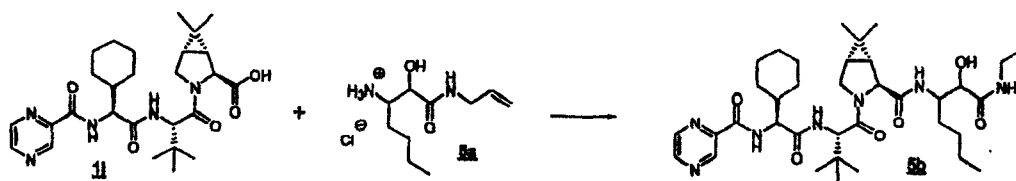
将羟基酰胺 4b (199 mg) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (3 eq, 371 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 4:6)，得到产物 4，为半固体，将其溶解于 2 mL 的二氯甲烷和 10 mL 的己烷中，减压除去溶剂，得到产物 4，(150 mg, 两步收率为 76%)，为白色固体。

HRMS (FAB) $C_{36}H_{54}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 680.4136; 实测值 680.4165。

制备例 5

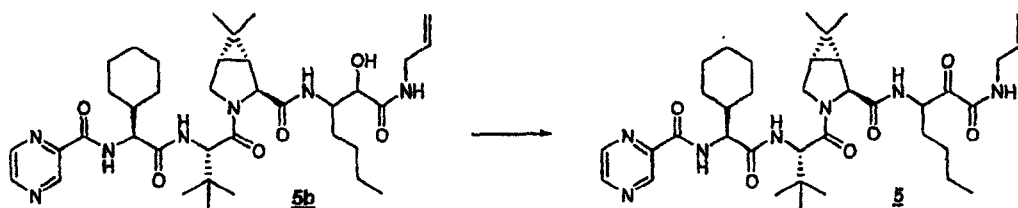


步骤 A



将酸 1j (150 mg) 在 3 mL 的无水二氯甲烷和 3 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 155 mg) 处理。加入胺盐酸盐 5a (76 mg)，随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.13 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度 0–25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (8 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。粗产物 5b (200 mg) 不经进一步纯化使用。

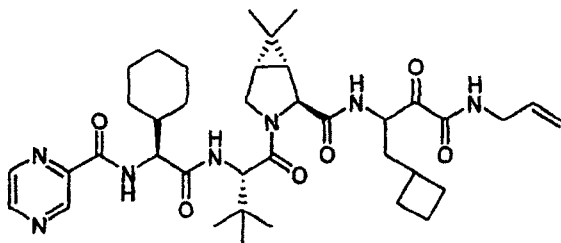
步骤 B



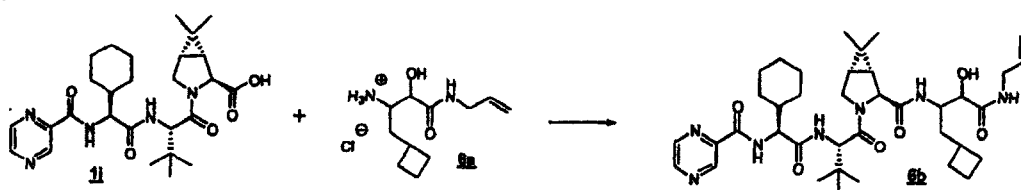
将羟基酰胺 5b (202 mg) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (3 eq, 371 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。将混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 45:55)，得到产物 5，为半固体，将其溶解于 2 mL 的二氯甲烷和 10 mL 的己烷

中，减压除去溶剂，得到产物 5，(170 mg，两步收率为 84%)，为白色固体。HRMS (FAB) $C_{37}H_{56}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 694.4292；实测值 694.4294。

制备例 6

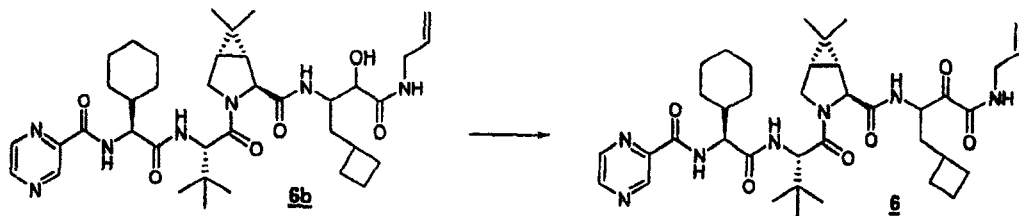


步骤 A



将酸 1j (150 mg) 在 3 mL 的无水二氯甲烷和 3 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 155 mg) 处理。加入胺盐酸盐 6a (80 mg)，随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.13 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度 0–25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (8 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。粗产物 6b (205 mg) 不经进一步纯化使用。

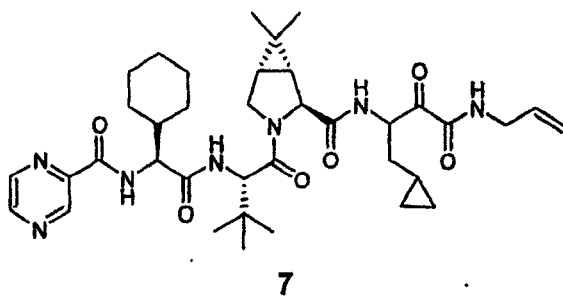
步骤 B



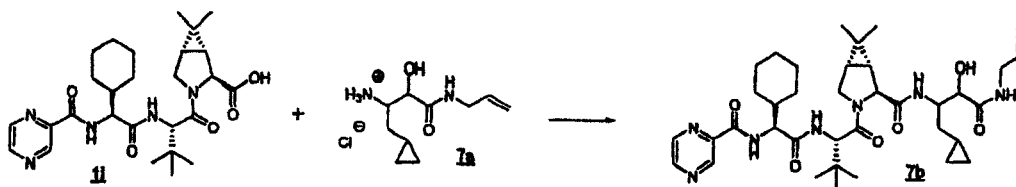
将羟基酰胺 6b (206 mg) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (3 eq, 371 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓

缩。残余物在硅胶上色谱分离(梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 45:55), 得到产物 6, 为半固体, 将其溶解于 2 mL 的二氯甲烷和 10 mL 的己烷中, 减压除去溶剂, 得到产物 6, (169 mg, 两步收率为 82%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{38}H_{56}N_7O_6$ $[M+H]^+$ 的计算值 706.4292; 实测值 706.4280。

制备例 7

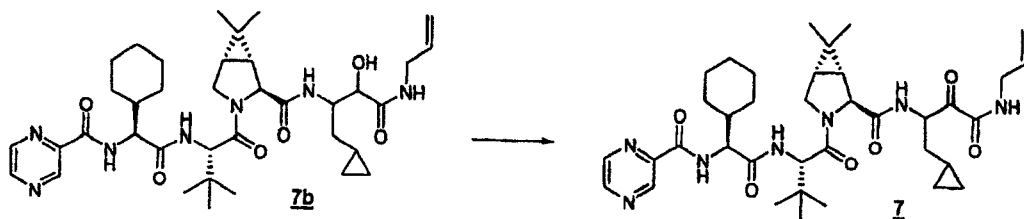


步骤 A



将酸 1j (80 mg) 在 3 mL 的无水二氯甲烷和 3 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 83 mg) 处理。加入胺盐酸盐 7a (1.1eq, 40mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.07 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜(温度 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (10 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (8 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 7b (105 mg) 不经进一步纯化使用。

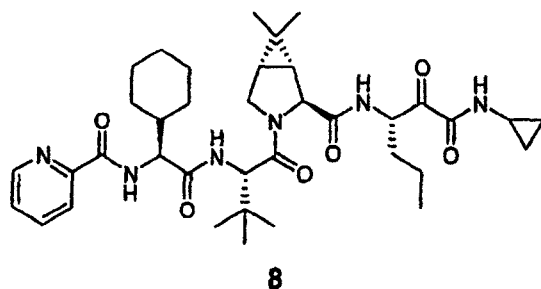
步骤 B



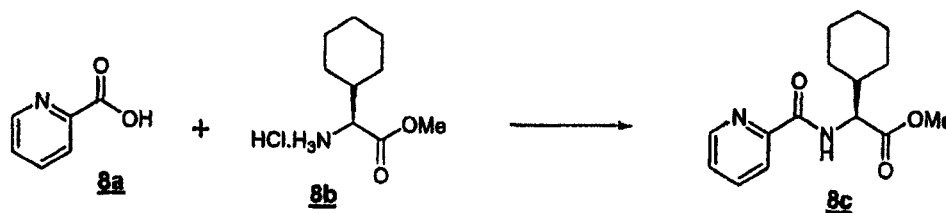
将羟基酰胺 7b (108 mg) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (3 eq, 198 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加

入饱和碳酸氢钠水溶液(10 mL)并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取(3×30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离(梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 45:55), 得到产物 7, 为半固体, 将其溶解于 2 mL 的二氯甲烷和 10 mL 的己烷中。减压除去溶剂, 得到产物 7, (86 mg, 两步收率为 80%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{37}H_{54}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 692.4136; 实测值 692.4145。

制备例 8

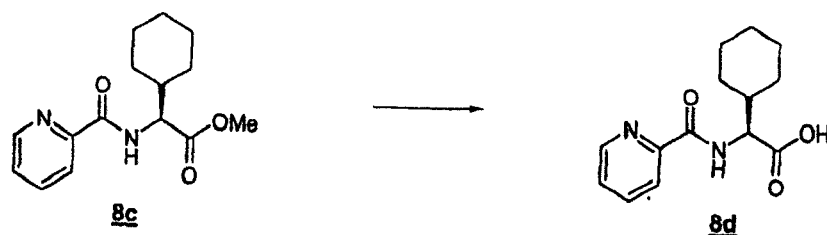


步骤 A



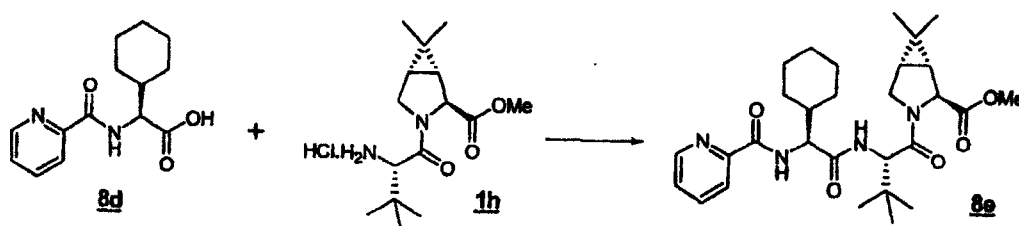
将吡啶甲酸 8a (1.0 g) 在 50 mL 的无水二氯甲烷和 50 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 4.3 g) 处理。加入环己基甘氨酸甲酯盐酸盐 (1.1 eq, 1.85 克), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 3.6 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜(温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 500 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (100 mL)、1 N HCl 水溶液 (100 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (100 mL)、和盐水 (100 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离(梯度: 丙酮/己烷; 5:95 到 35:65), 得到产物 8c (1.9 g, 85%), 为透明的半固体。

步骤 B



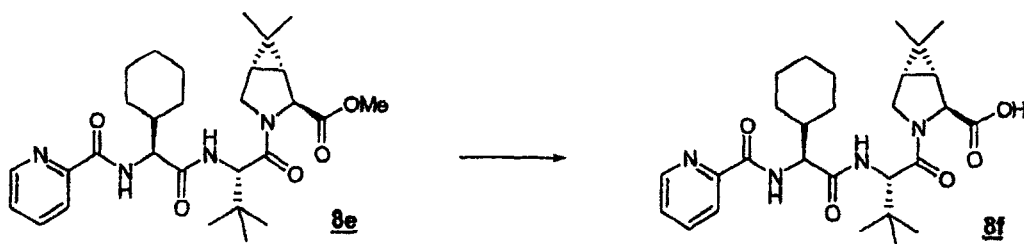
将甲酯 **8c** (1.9 g) 在 THF/MeOH/H₂O (100:100:50) 中的溶液在 0℃ 下用氢氧化锂一水合物 (2.5 eq, 2.82 g) 处理。反应混合物被搅拌, 直到通过 TLC 分析 (丙酮/己烷; 15:85) 测定所有的起始原料已经耗尽。反应混合物用 100 mL 的 1 N HCl 水溶液处理 (混合物的 pH 变为约 1) 并且减压除去所有的挥发性物质。残余物用二氯甲烷提取 (3 × 100 mL)。将合并的有机提取液用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。粗产物 **8d** (1.6 g, 90%) 不经进一步纯化使用。

步骤 C



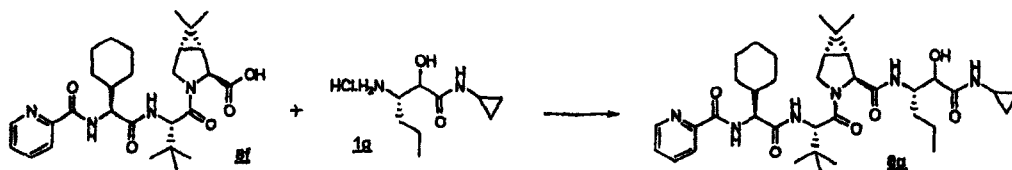
将酸 **8d** (235 mg) 在 10 mL 的无水 DMF 和 10 mL 的二氯甲烷中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 480 mg) 处理。加入胺盐 **1h** (1.1 eq, 300 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.4 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 100 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (20 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 5:95 到 4:6), 得到产物 **8e** (440 mg, 93%)。

步骤 D



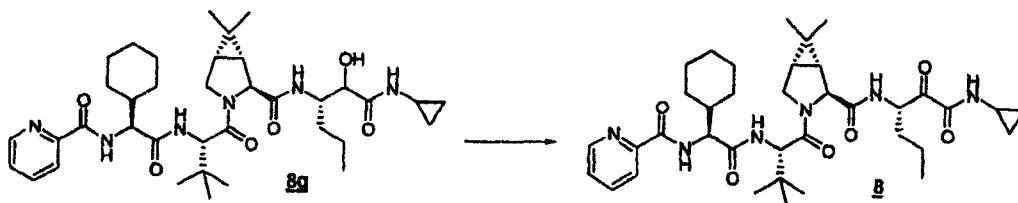
将甲酯 8e (440 mg) 在 30 mL 的 THF/MeOH/H₂O 混合物 (1:1:1) 中的溶液在 0℃ 下用氢氧化锂一水合物 (2.5 eq, 88 mg) 处理。反应混合物被搅拌, 直到通过 TLC (丙酮/己烷; 3:7) 测定所有的起始原料已经耗尽。反应混合物用 20 mL 的 1 N HCl 水溶液处理 (混合物的 pH 变为约 1) 并且减压除去所有的挥发性物质。残余物用二氯甲烷提取 (3 × 60 mL)。将合并的有机提取液用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。粗产物 8f (419 mg, 98%) 不经进一步纯化使用。

步骤 E



将酸 8f (80 mg) 在 2 mL 的无水二氯甲烷和 1 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 83 mg) 处理。加入胺盐 1g (1.1 eq, 38 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.07 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 8g (105 mg) 不经进一步纯化使用。

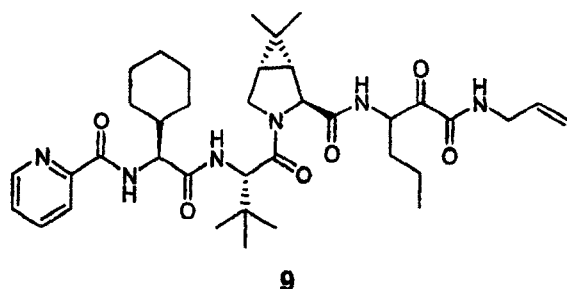
步骤 F



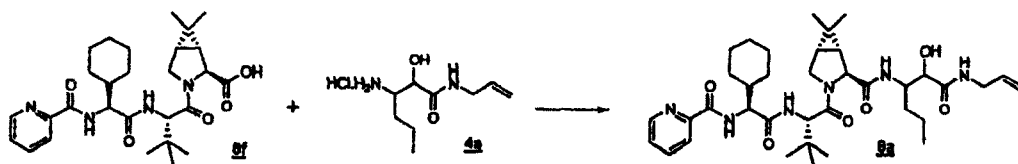
将羟基酰胺 8g (0.156 mmol) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (2.3 eq, 152 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到

45:55), 得到产物 8, 为固体, 将其溶解于 0.5 mL 的二氯甲烷和 5 mL 的己烷中, 减压除去溶剂, 得到产物 8, (59 mg, 两步收率为 56%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 679.4183; 实测值 679.4191。

制备例 9

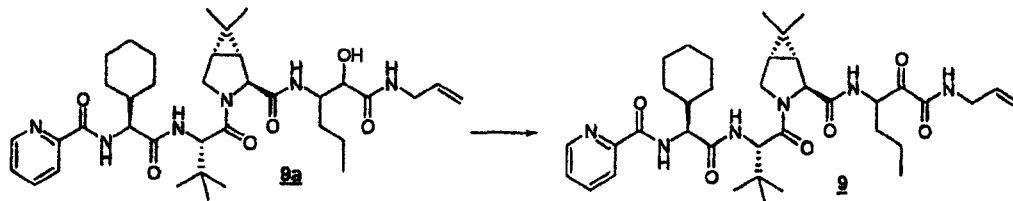


步骤 A



将酸 8f (80 mg) 在 2 mL 的无水二氯甲烷和 1 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 83 mg) 处理。加入胺盐 4a (1.1 eq, 38 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.07 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度 0–25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 9a (105 mg) 不经进一步纯化使用。

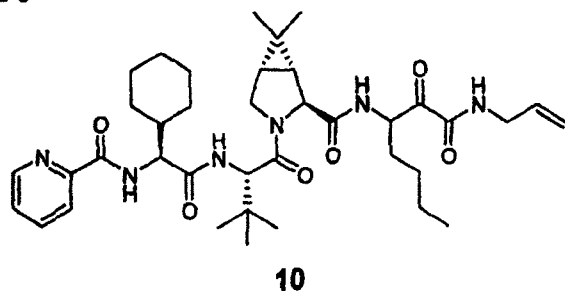
步骤 B



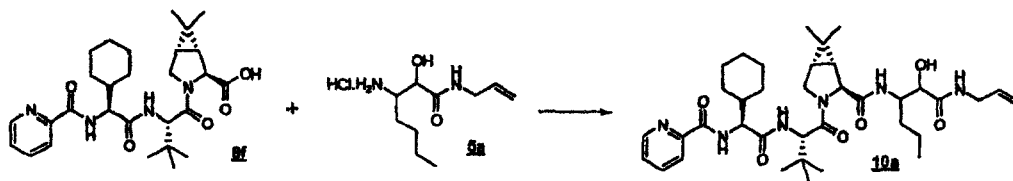
将羟基酰胺 9a (0.156 mmol) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (2.3 eq, 152 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分

钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液(10 mL)并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取(3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离(梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到 4:6), 得到产物 9, 为固体, 将其溶解于 0.5 mL 的二氯甲烷和 5 mL 的己烷中, 减压除去溶剂, 得到产物 9, (68 mg, 两步收率为 64%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 679.4183; 实测值 679.4181。

制备例 10

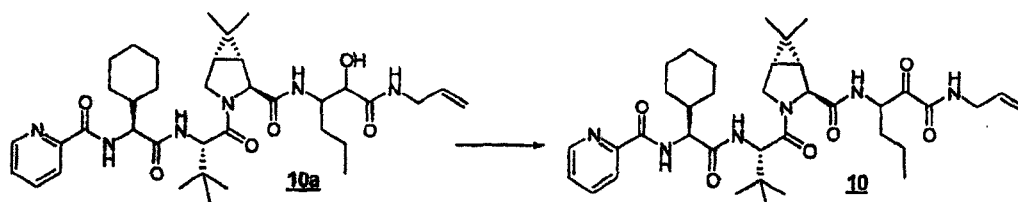


步骤 A



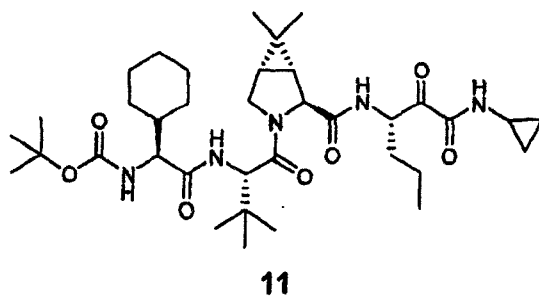
将酸 8f (80 mg) 在 2 mL 的无水二氯甲烷和 1 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 83 mg) 处理。加入胺盐 5a (1.1 eq, 41 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.07 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜(温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水(20 mL)、1 N HCl 水溶液(10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(10 mL)、和盐水(10 mL)洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 10a (105 mg) 不经进一步纯化使用。

步骤 B

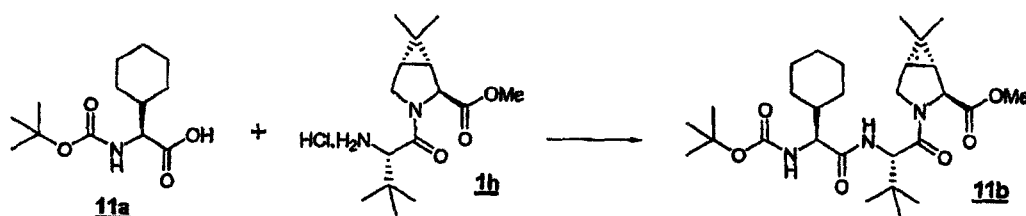


将羟基酰胺 10a (0.156 mmol) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (2.3 eq, 152 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到 4:6), 得到产物 10, 为固体, 将其溶解于 0.5 mL 的二氯甲烷和 5 mL 的己烷中, 减压除去溶剂, 得到产物 10, (68 mg, 两步收率为 63%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{38}H_{57}N_6O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 693.4340; 实测值 693.4310。

制备例 11

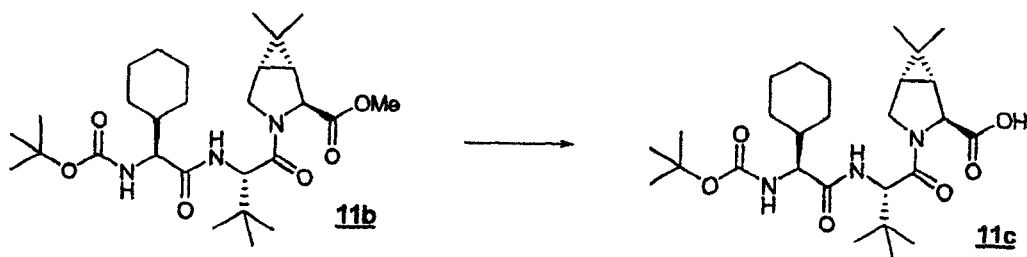


步骤 A



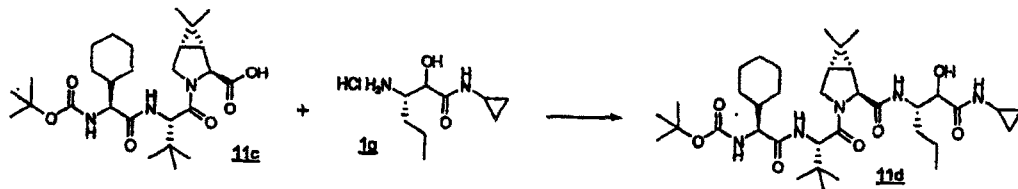
将 N-Boc-环己基-甘氨酸 11a (916 mg) 在 20 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 1.89 g) 处理。加入在 30 mL 无水二氯甲烷中的胺盐 1h (1.1 eq, 1.2 g) 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 1.55 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 250 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (100 mL)、1 N HCl 水溶液 (50 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (50 mL)、和盐水 (50 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 5:95 到 25:75), 得到产物 11b (1.65 g, 89%), 为白色固体。

步骤 B



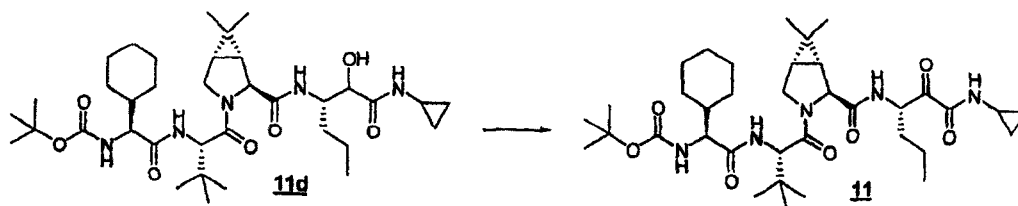
将甲酯 **11b** (1.64 mg) 在 60 mL 的 THF/MeOH/H₂O 混合物 (1:1:1) 中的溶液在 0℃ 下用氢氧化锂一水合物 (2.5 eq, 330 mg) 处理。除去冷却浴并将反应混合物搅拌, 直到通过 TLC (丙酮/己烷; 3:7) 测定所有的起始原料已经耗尽。反应混合物用 50 mL 的 1 N HCl 水溶液处理 (混合物的 pH 变为约 1) 并且减压除去所有的挥发性物质。残余物用二氯甲烷提取 (3 × 100 mL)。将合并的有机提取液用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。得到产物 **11c**, 为白色固体 (1.61 g, 98%), 其不经进一步纯化使用。

步骤 C



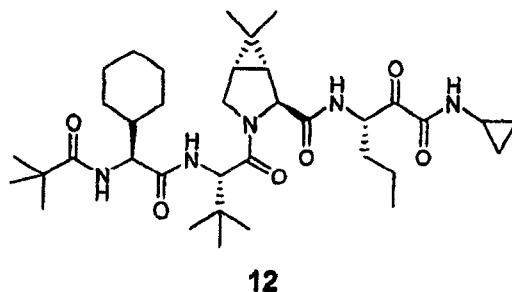
将酸 **11c** (248 mg) 在 10 mL 的无水二氯甲烷和 5 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 120 mg) 处理。加入胺盐 **1a** (1.1 eq, 120 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.22 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 150 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (40 mL)、1 N HCl 水溶液 (20 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL)、和盐水 (20 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 **11d** (330 mg) 不经进一步纯化使用。

步骤 D

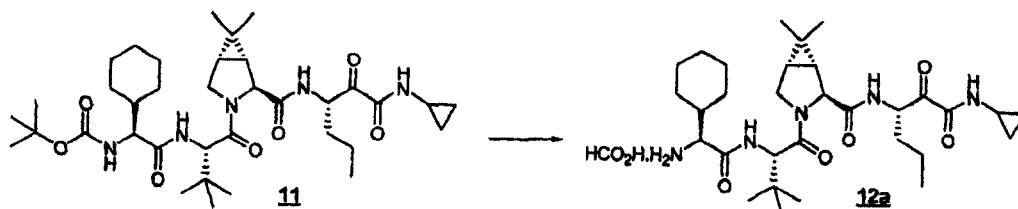


将羟基酰胺 11d (0.489 mmol) 在 20 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (2.3 eq, 152 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到 4:6)，得到产物 11e，为固体，将其溶解于 1 mL 的二氯甲烷和 8 mL 的己烷中，减压除去溶剂，得到产物 11e，(280 mg, 两步收率为 85%)，为白色固体。HRMS (FAB) $C_{36}H_{60}N_5O_7$ [M+H]⁺ 的计算值 674.4492; 实测值 674.4507。

制备例 12

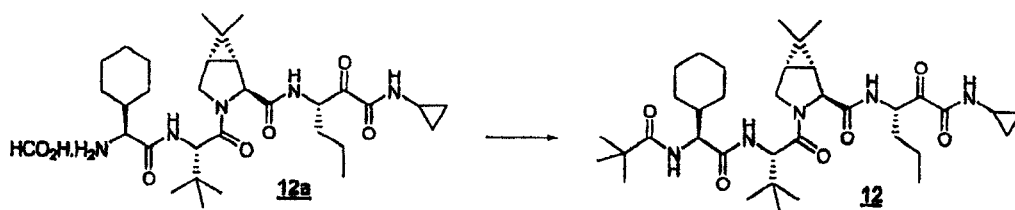


步骤 A



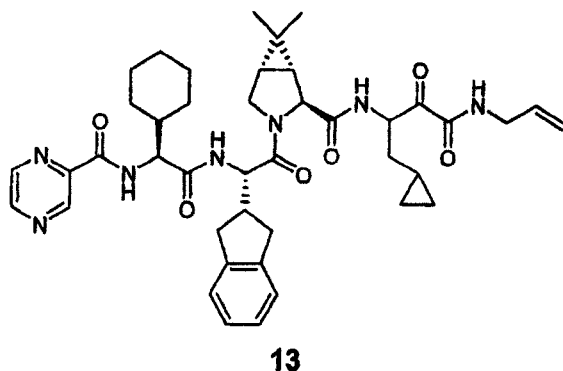
将被 N-Boc 保护的胺 11 (80 mg) 溶解于 5 mL 甲酸中。将得到的溶液在室温下搅拌，直到通过 TLC (丙酮/己烷; 3:7) 测定所有的起始原料已经耗尽。在 4 小时之后，减压除去挥发性物质，并将残余物置于高真空下。没有对产物 12a (70 mg, 98%) 进行进一步的纯化。

步骤 B

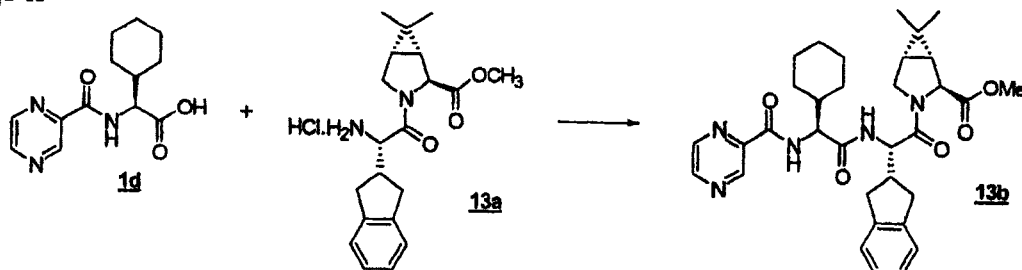


将胺盐 12a (0.118 mmol) 溶解于 5 mL 的无水二氯甲烷中并冷却到 0℃。加入 N-甲基吗啉 (2.5 eq, 0.032 mL, d 0.920), 随后加入在 2 mL 无水二氯甲烷中的新戊酸酐 (1.2 eq, 0.028 mL, d 0.910)。将混合物搅拌过夜 (温度 0-25℃)。反应混合物用 50 mL 二氯甲烷稀释。溶液用 10 mL 的 1 M HCl 水溶液、10 mL 的饱和碳酸氢钠水溶液、和 10 mL 的盐水洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到 1:1), 得到产物 12 (28 mg, 36%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{36}H_{60}N_5O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 658.4543; 实测值 658.4558。

制备例 13



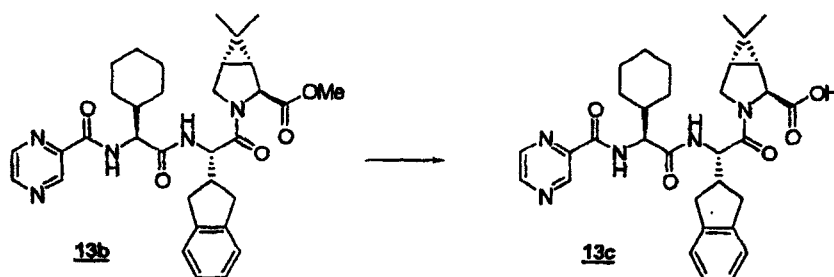
步骤 A



将酸 1d (90 mg) 在 5 mL 的无水二氯甲烷和 3 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 180 mg) 处理。加入胺盐酸盐 13a (1.0 eq, 128 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.15 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度 0-25℃)。真空除去所有的挥发

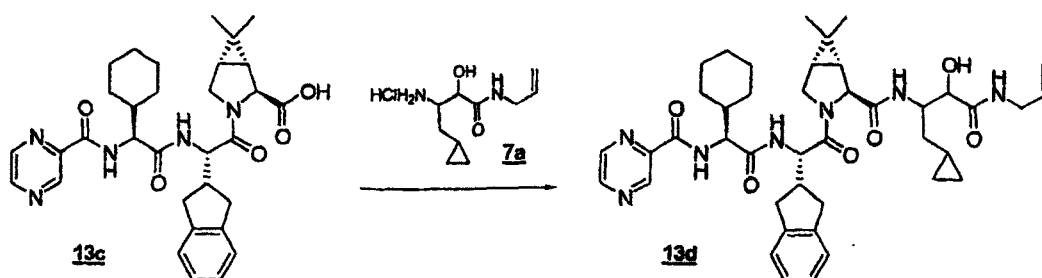
性物质并将残余物溶解于 80 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (15 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (15 mL)、和盐水 (15 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 1:9 到 4:6), 得到产物 13b (160 mg, 80%), 为白色固体。

步骤 B



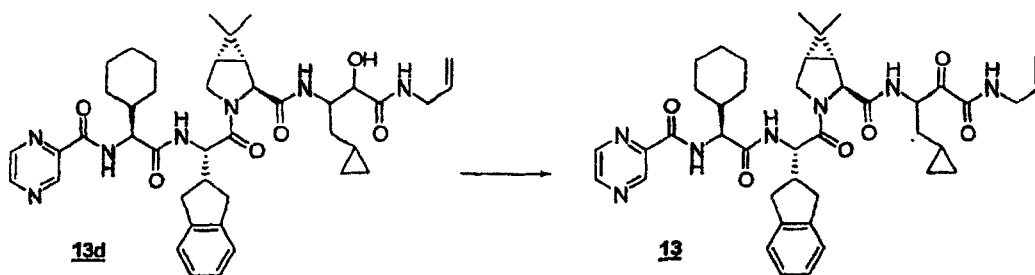
将甲酯 13b (160 mg) 溶解于 15 mL 的 THF/甲醇/水为 1:1:1 的混合物中并在 0℃ 用氢氧化锂一水合物 (2.5 eq, 28 mg) 处理。使反应混合物逐渐地升温最高到室温并搅拌 2 小时直到所有的起始原料已经耗尽。加入 1 M HCl 水溶液 (30 mL) 并旋转蒸发除去所有的挥发性物质。残余物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机提取液用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。粗产物 13c (150 mg, 98%) 不经进一步纯化使用。

步骤 C



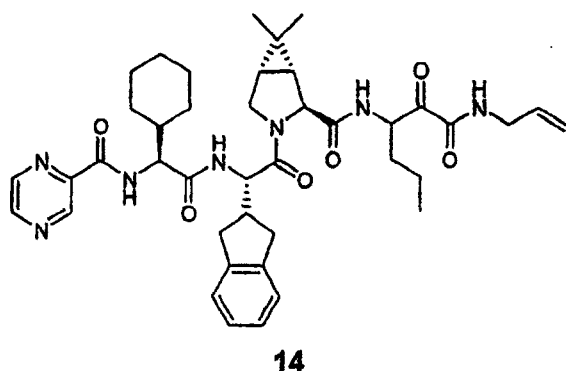
将酸 13c (75 mg) 在 4 mL 的无水二氯甲烷和 2 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 69 mg) 处理。加入胺盐酸盐 7a (1.2 eq, 37 mg), 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.06 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 13d 不经进一步纯化使用。

步骤 D

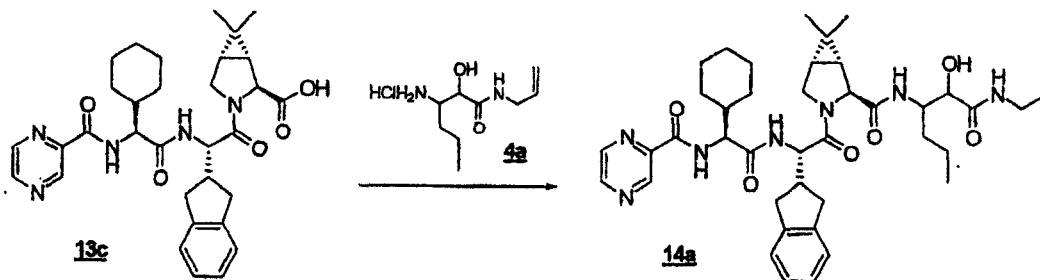


将羟基酰胺 13d (0.130 mmol) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (2.0 eq, 110 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 5:5)，得到产物 13 (69 mg, 两步收率为 70%)，为白色固体。HRMS (FAB) $C_{42}H_{54}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 752.4136; 实测值 752.4122。

制备例 14



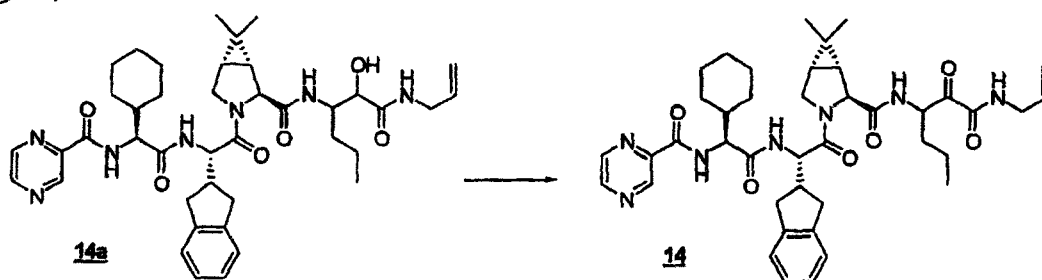
步骤 A



将酸 13c (75 mg) 在 4 mL 的无水二氯甲烷和 2 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 69 mg) 处理。加入胺盐酸盐 4a (1.2

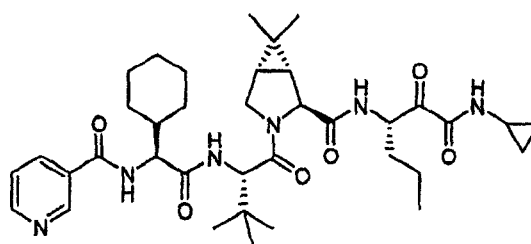
eq, 35 mg), 随后加入 N-甲基吗啉(4 eq, 0.06 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜(温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水(20 mL)、1 N HCl 水溶液(10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液(10 mL)、和盐水(10 mL)洗。将有机层用硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。粗产物 14a 不经进一步纯化使用。

步骤 B



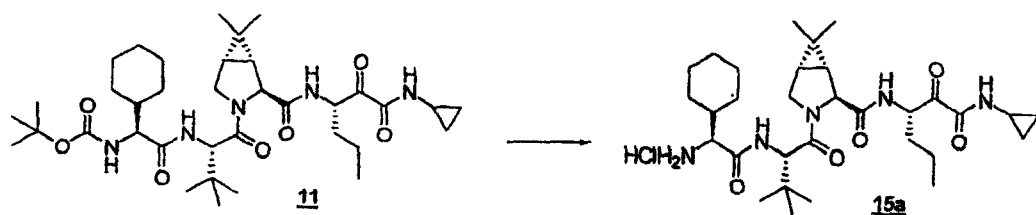
将羟基酰胺 14a (0.130 mmol) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷(2.0 eq, 110 mg)处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液(10 mL)处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液(20 mL)并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取(3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥, 过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离(梯度: 丙酮/己烷; 2:8 到 5:5), 得到产物 14(66 mg, 两步收率为 69%), 为白色固体。HRMS (FAB) $C_{41}H_{54}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 740.4136; 实测值 740.4146。

制备例 15



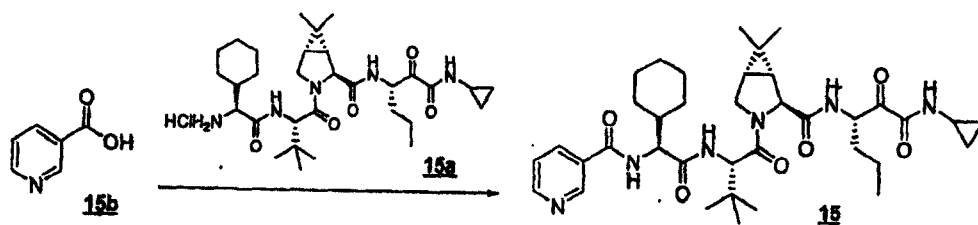
15

步骤 A



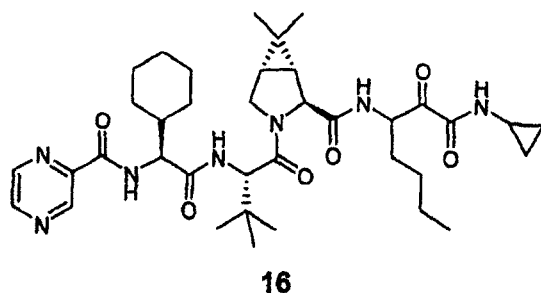
将被 N-Boc 保护的胺 11 溶解于 5 mL 的含 4M HCl 的二氧杂环己烷溶液中。将得到的溶液在室温下搅拌约 45 分钟。减压除去所有的挥发性物质，得到产物 15a (60 mg, 98%)，为白色固体。没有对产物进行进一步的纯化。

步骤 B

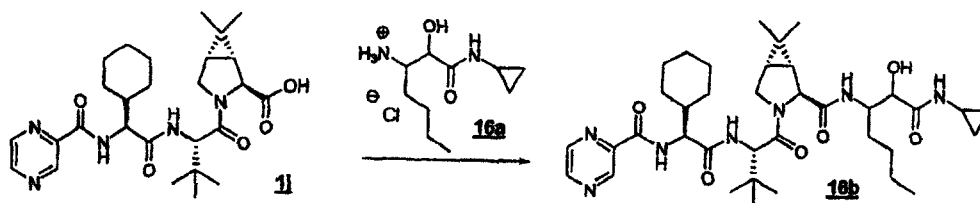


将烟酸 15b (12 mg) 在 1 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 54 mg) 处理。加入在 3 mL 无水二氯甲烷中的胺盐酸盐 15a (1.0 eq, 62 mg) 随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.05 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度：丙酮/己烷；2:8 到 1:1)，得到产物 15 (16 mg, 23%)，为白色固体。HRMS (FAB) $C_{37}H_{55}N_6O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 679.4183；实测值 679.4193。

制备例 16

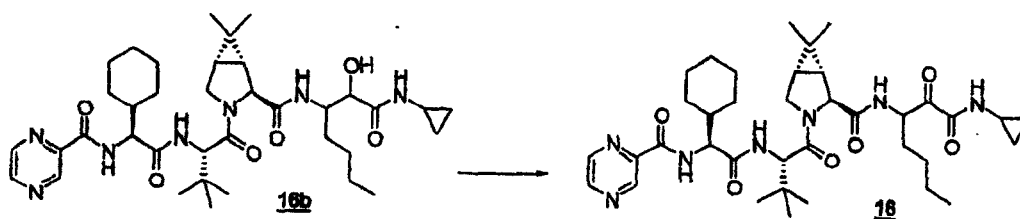


步骤 A



将酸 1j (80 mg) 在 2 mL 的无水二氯甲烷和 2 mL 的无水 DMF 中的溶液在 0℃ 搅拌并用 HATU (1.4 eq, 83 mg) 处理。加入胺盐酸盐 16a (1.2 eq, 40 mg)，随后加入 N-甲基吗啉 (4 eq, 0.07 mL, d 0.920)。将反应混合物搅拌过夜 (温度为 0-25℃)。真空除去所有的挥发性物质并将残余物溶解于 50 mL 的乙酸乙酯中。有机层用水 (20 mL)、1 N HCl 水溶液 (10 mL)、饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL)、和盐水 (10 mL) 洗。将有机层用硫酸镁干燥，过滤并减压浓缩。粗产物 16b 不经进一步纯化使用。

步骤 B



将羟基酰胺 16b (0.155 mmol) 在 10 mL 的无水二氯甲烷中的溶液用戴斯-马丁过碘烷 (2.0 eq, 131 mg) 处理。将反应混合物在室温下搅拌 30 分钟。混合物用 1 M 硫代硫酸钠水溶液 (10 mL) 处理并搅拌 5 分钟。再加入饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 并继续搅拌另外的 10 分钟。混合物用二氯甲烷提取 (3 × 30 mL)。将合并的有机层用硫酸镁干燥，过滤并浓缩。残余物在硅胶上色谱分离 (梯度：丙酮/己烷；2:8 到 5:5)，得到产物 16 (55 mg，两步收率为 51%)，为白色固体。HRMS (FAB) $C_{37}H_{56}N_7O_6$ [M+H]⁺ 的计算值 694.4292；实测值 694.4310。

本发明涉及新的 HCV 蛋白酶抑制剂。该实用性可以通过它们抑制 HCV NS2/NS4a 丝氨酸蛋白酶的能力得以证明。用于这种证明的一般过程在以下体外试验中详述。

HCV 蛋白酶抑制活性试验：

分光光度试验: 对本发明化合物的 HCV 丝氨酸蛋白酶的分光光度试验根据由 R. Zhang 等人的 *Analytical Biochemistry*, 270(1999)268-275 所述的过程进行, 其公开内容被并入本文作为参考。基于发色酯底物的蛋白水解的试验适合于 HCV NS3 蛋白酶活性的连续监测。底物来自 NS5A-NS5B 结合序列 (Ac-DTEDVVX(Nva), 其中 X = A 或 P) 的 P 侧, 其 C 端的羧基被四个不同的发色醇 (3-或 4-硝基酚、7-羟基-4-甲基香豆素、或 4-苯基偶氮苯酚) 中的一种酯化。以下说明的是这些新的分光光度酯底物的合成、表征和关于高通量筛选的应用, 以及 HCV NS3 蛋白酶抑制剂的详细的动力学评价。

材料和方法:

材料: 用于试验相关缓冲液的化学试剂得自 Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri)。用于肽合成的试剂得自 Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, California)、Applied Biosystems (Foster City, California) 和 Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts)。肽为手动合成或在自动 ABI 型 431 A 合成仪 (得自 Applied Biosystems) 上合成。LAMBDA 12 型 UV/VIS 分光计得自 Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut), 96 孔 UV 板得自 Corning (Corning, New York)。预热模块得自 USA Scientific (Ocala, Florida), 96 孔板涡旋器得自 Labline Instruments (Melrose Park, Illinois)。具有单色仪的 Spectramax Plus 微量滴定板读数器得自 Molecular Devices (Sunnyvale, California)。

酶的制备: 使用早已公开的方法 (D. L. Sali 等人, *Biochemistry*, 37(1998)3392-3401) 制备重组杂二聚体 HCV NS3/NS4A 蛋白酶 (品系 1 a)。蛋白质浓度通过 Biorad 染色方法测定, 该方法使用预先用氨基酸分析进行定量的重组 HCV 蛋白酶标准物。在试验开始之前, 使用 Biorad Bio-Spin P-6 预填充柱将酶储存缓冲液 (50 mM 磷酸钠 pH 8.0、300 mM NaCl、10%甘油、0.05%十二烷基麦芽糖苷和 10 mM DTT) 交换为试验缓冲液 (25 mM MOPS pH 6.5、300 mM NaCl、10%甘油、0.05%十二烷基麦芽糖苷、5 μ M EDTA、和 5 μ M DTT)。

底物的合成和纯化: 底物的合成如 R. Zhang 等人, (同上文献) 的报导进行并且通过使用一般性草案 (K. Barlos 等人, *Int. J. Pept.*

Protein Res., 37(1991), 513-520)将 Fmoc-Nva-OH 锚定在 2-氯三苯甲基氯树脂上开始。随后使用 Fmoc 化学法对肽进行组装,手动或在自动 ABI 型 431 肽合成仪上进行。通过使用在二氯甲烷(DCM)中的 10% 乙酸(HOAc)和 10%三氟乙醇(TFE)进行 30 分钟、或通过在 DCM 中的 2% 三氟乙酸(TFA)进行 10 分钟,将 N-乙酰化的并且被完全保护的肽片段从树脂上断裂。将合并的滤液和 DCM 洗液共沸蒸发(或反复地用 Na_2CO_3 水溶液提取),以除去断裂时使用的酸。将 DCM 相用 Na_2SO_4 干燥并蒸发。

使用标准的酸-醇偶联方法组装酯底物(K. Holmber 等人, Acta Chem. Scand., B33(1979)410-412)。将肽片段溶解于无水吡啶(30-60 mg/ml)中,向其中加入 10 摩尔当量的发色团和催化量(0.1 eq.)的对甲苯磺酸(pTSA)。

加入二环己基碳二亚胺(DCC, 3 eq.)以引发偶联反应。通过 HPLC 监控产物形成,发现在室温下反应 12-72 小时之后完成。将吡啶溶剂在真空下蒸发并且通过与甲苯共沸蒸发被进一步除去。使用在 DCM 中的 95% TFA 进行肽酯脱保护两个小时并用无水乙醚提取三次以除去过量的发色团。将脱保护的底物通过在 C3 或 C8 柱上的反相 HPLC 进行纯化,使用 30%到 60%乙腈梯度(使用六倍柱体积)。HPLC 纯化之后的总回收率为约 20-30%。分子质量可以通过电喷雾离子化质谱法证实。将底物以干粉形式储存在干燥条件下。

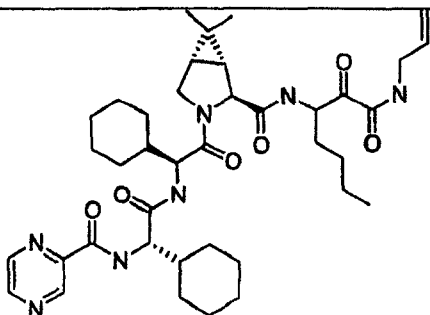
底物和产物的光谱:底物和相应的发色团产物的光谱在 pH 6.5 的试验缓冲液中获得。使用多次稀释在 1-cm 比色杯中在最佳的非峰波长(对于 3-Np 和 HMC 为 340nm,对于 PAP 为 370nm,对于 4-Np 为 400nm)测定消光系数。最佳的非峰波长定义为在底物和产物之间的吸光度得到最大分数差的波长(产物 OD-底物 OD)/底物 OD)。

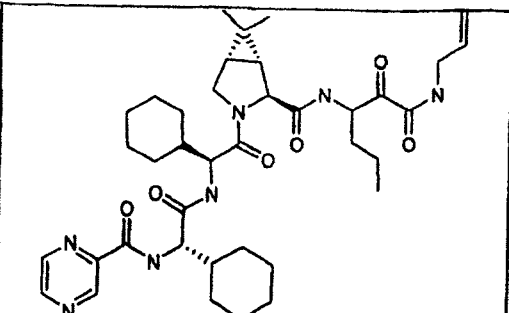
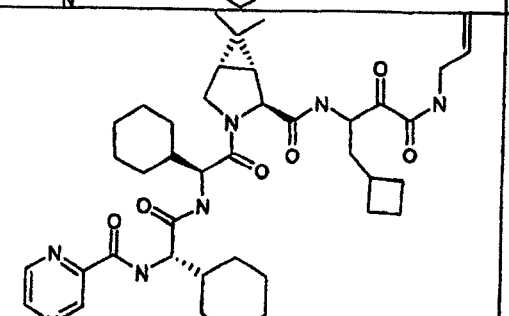
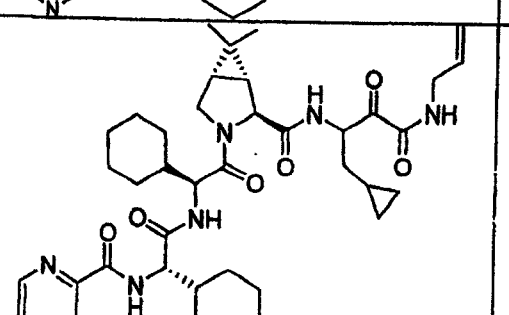
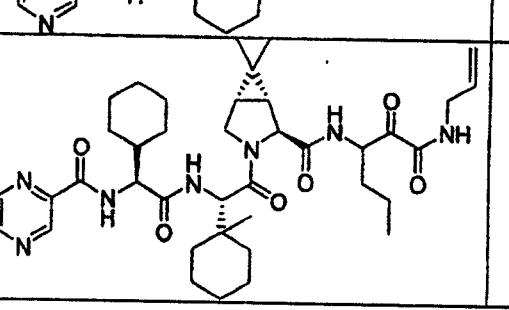
蛋白酶试验:在 30℃下在 96 孔微量滴定板中使用 200μl 反应混合物进行 HCV 蛋白酶试验。优化 NS3/NS4A 杂二聚体的试验缓冲液条件(25 mM MOPS pH 6.5、300 mM NaCl、10%甘油、0.05%十二烷基麦芽糖苷、5μM EDTA 和 5μM DTT)(D. L. Sali 等人,同上文献)。典型地,将缓冲液、底物和抑制剂的 150μl 混合物置于孔中(DMSO 的最终浓度 <4 % v/v)并将其在 30℃下预培养约 3 分钟。然后使用 50μl 在试验缓冲液中的预热蛋白酶(12 nM, 30℃)引发反应(最终体积 200μl)。在试验过程中(60 分钟)使用装备有单色仪的 Spectromax Plus 微量滴定

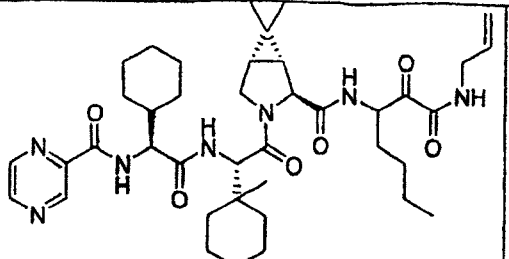
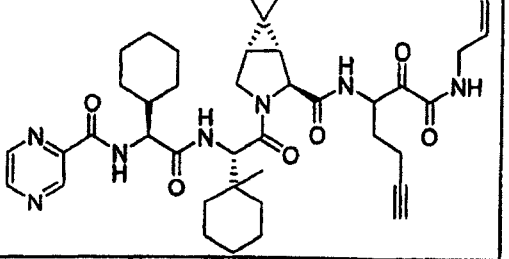
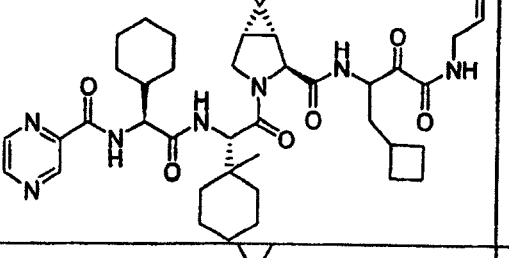
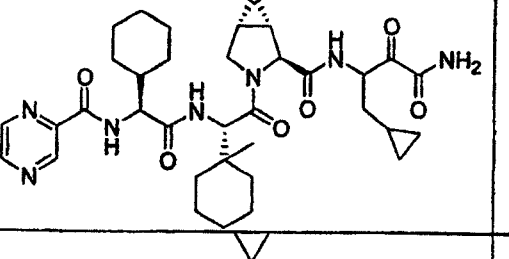
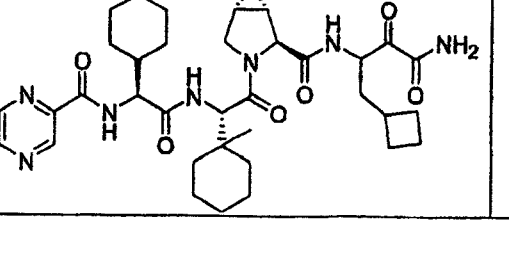
板读数器监控板在适当波长(3-Np 和 HMC 为 340 nm, PAP 为 370 nm, 和 4-Np 为 400 nm)的吸光度变化(从使用截止滤光片的板读数器得到可接受的结果)。在适当的波长下相对于没有酶的空白(作为无酶水解对照物)监控 Nva 和发色团之间酯键的蛋白水解断裂。在 30 倍底物浓度范围(~ 6 -200 μ M)进行底物动力学参数的评价。使用线性回归测定初始速度,并且通过使用非线性回归分析(Mac Curve Fit 1.1, K. Raner)将数据拟合到米门方程式中得到动力学常数。假定酶具有完全活性时计算转换数(kcat)。

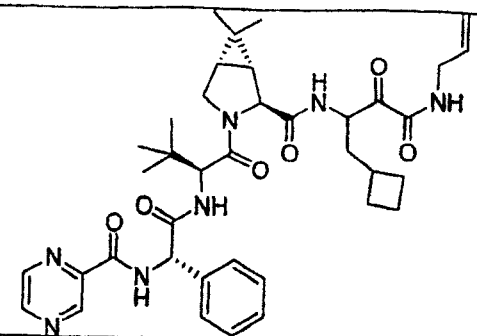
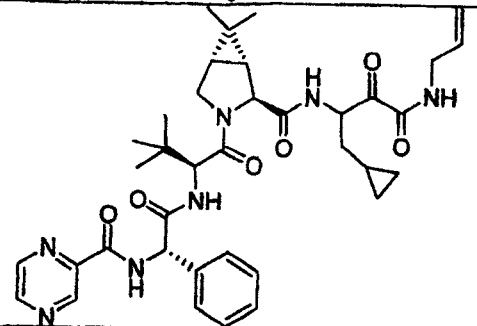
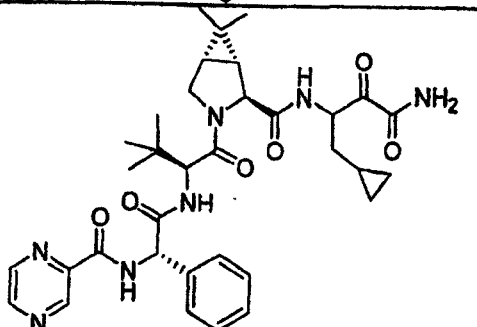
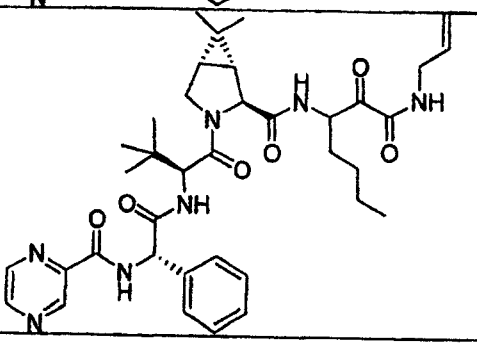
抑制剂和钝化剂的评价: 根据以下用于竞争性抑制动力学的改进米门方程式, 通过将 v_0/v_j 对抑制剂浓度($[I]_0$)绘图, 用实验方法测定在固定浓度的酶和底物条件下竞争性抑制剂 Ac-D-(D-Gla)-L-I-(Cha)-C-OH (27)、Ac-DTEDVVA (Nva)-OH 和 Ac-DTEDVVP (Nva)-OH 的抑制常数(K_j): $v_0/v_j = 1 + [I]_0/(K_j(1 + [S]_0/K_m))$, 其中 v_0 为未受抑制的初速度, v_j 为在任何给定的抑制剂浓度($[I]_0$)的抑制剂存在下的初速度, 和 $[S]_0$ 为使用的底物浓度。将得到的数据使用线性回归进行拟合并使用得到的斜率 $1/(K_j(1 + [S]_0/K_m))$ 计算 K_j 值。如此得到的本发明的一些化合物的 K_i 值如表 2 和表 3 中所示。

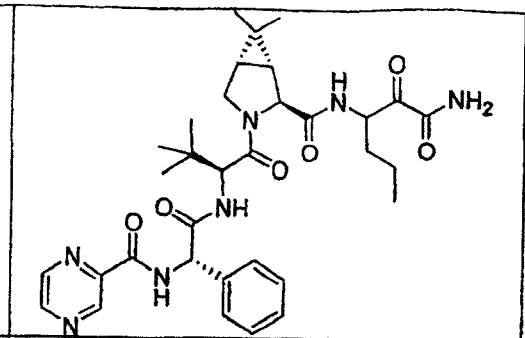
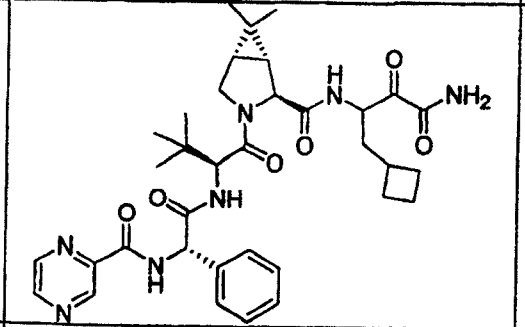
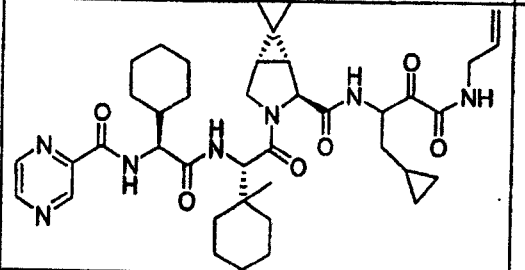
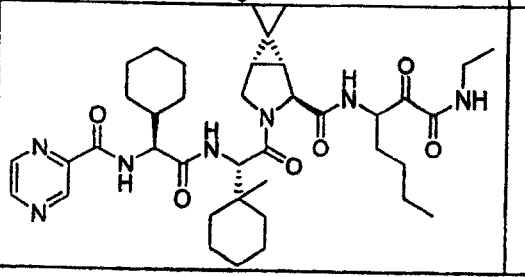
表 2

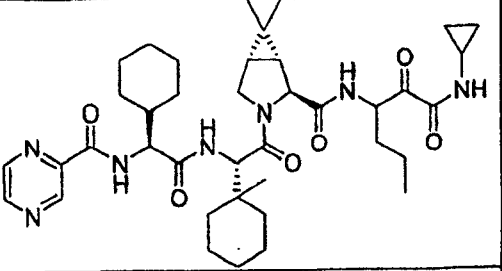
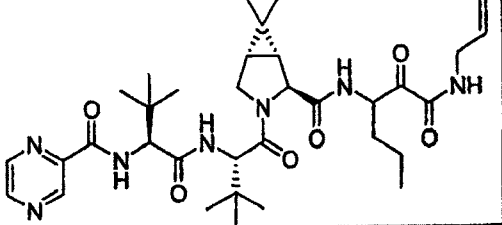
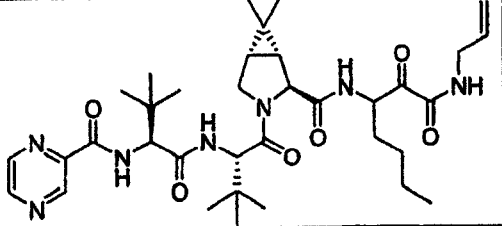
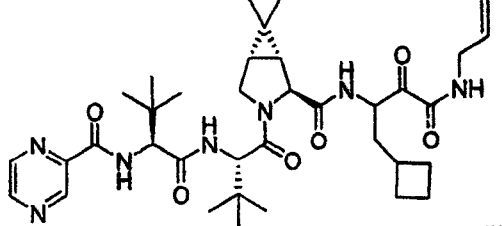
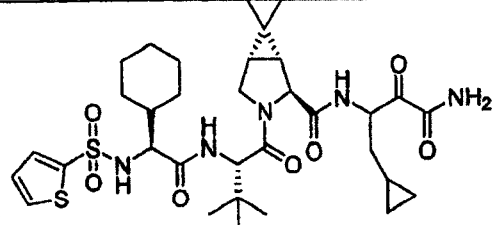
表中条目	结构	K_i^*
1		A

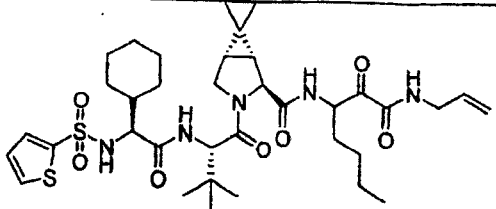
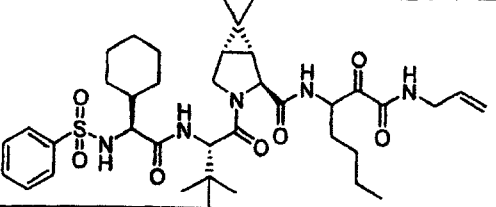
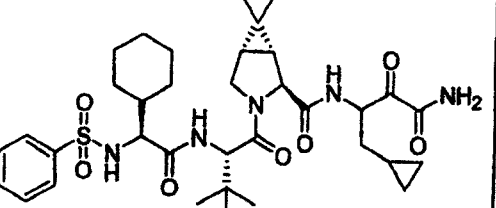
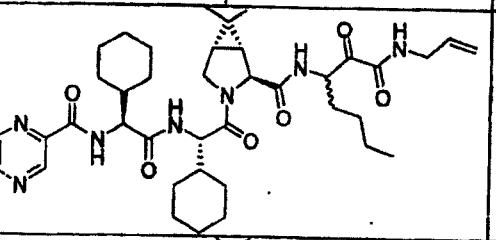
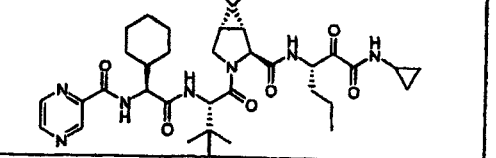
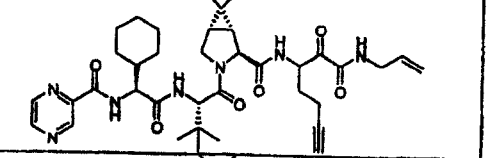
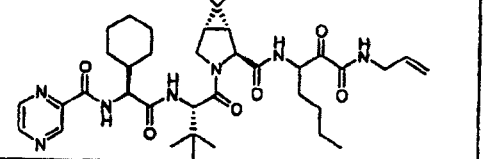
2		A
3		A
4		A
5		A

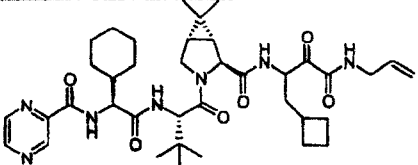
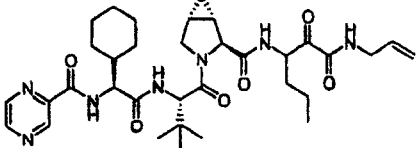
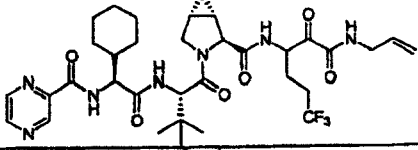
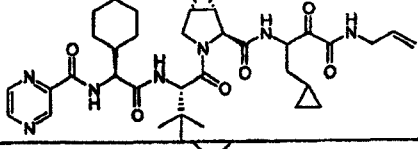
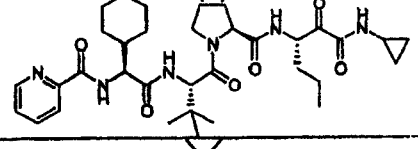
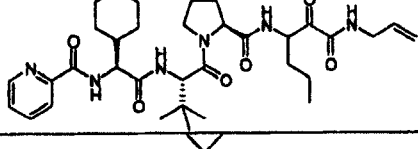
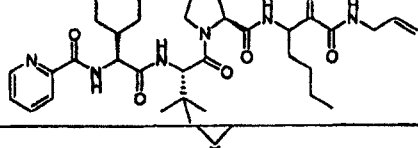
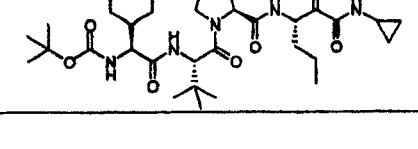
6		A
7		A
8		A
9		A
10		A

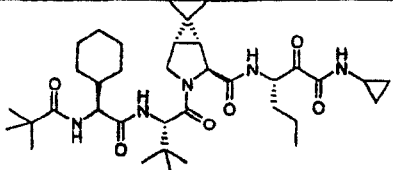
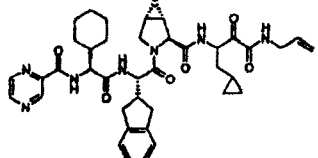
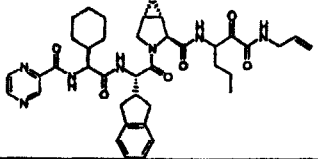
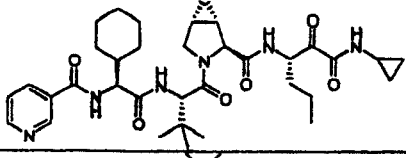
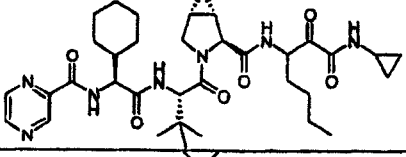
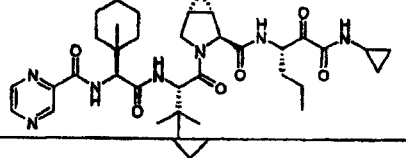
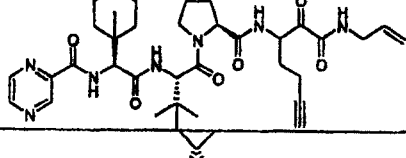
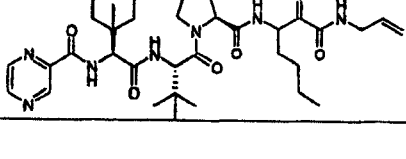
11		B
12		A
13		A
14		A

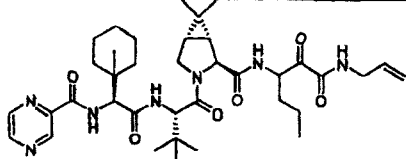
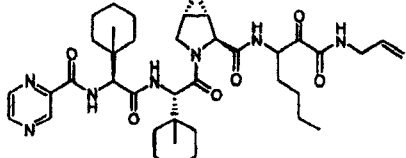
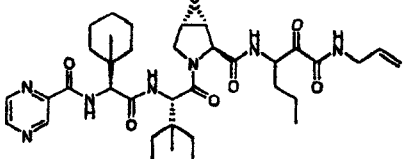
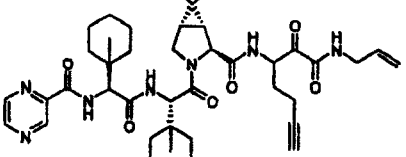
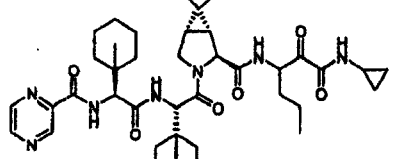
15		A
16		A
17		A
18		A

19		A
20		A
21		B
22		B
23		A

24		B
25		B
26		A
27		A
28		A
29		A
30		A

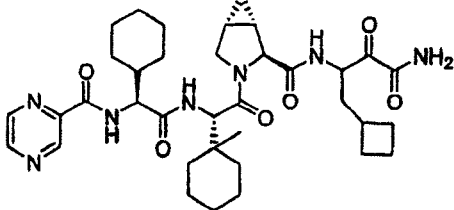
31		A
32		A
33		A
34		A
35		A
36		A
37		A
38		B

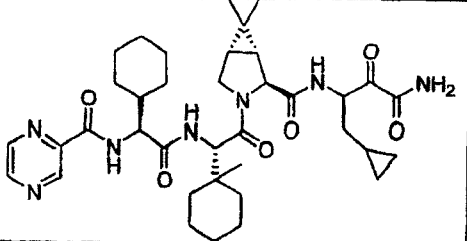
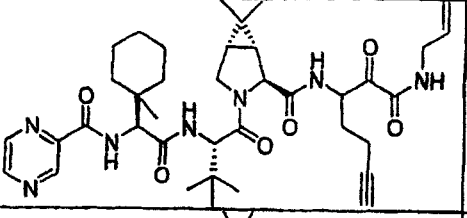
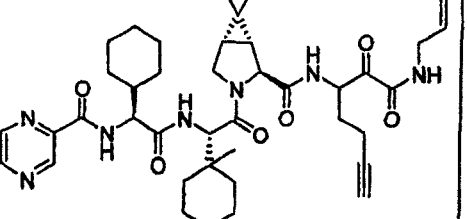
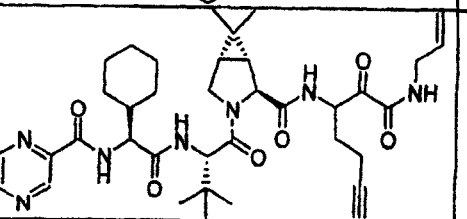
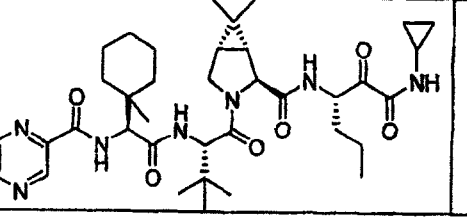
39		A
40		A
41		A
42		A
43		A
44		A
45		A
46		A

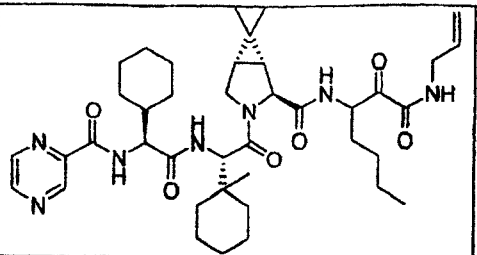
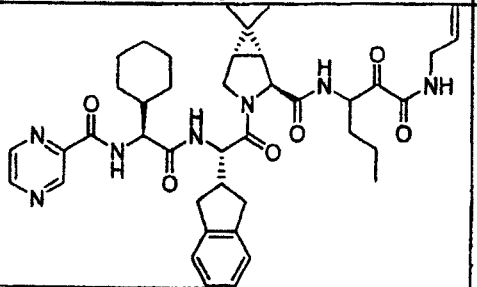
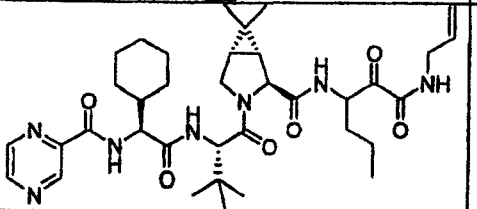
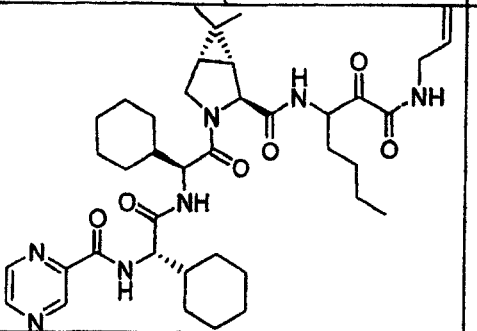
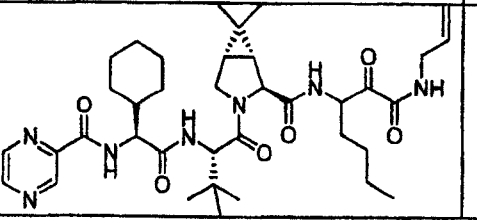
47		A
18		A
49		A
50		A
51		A

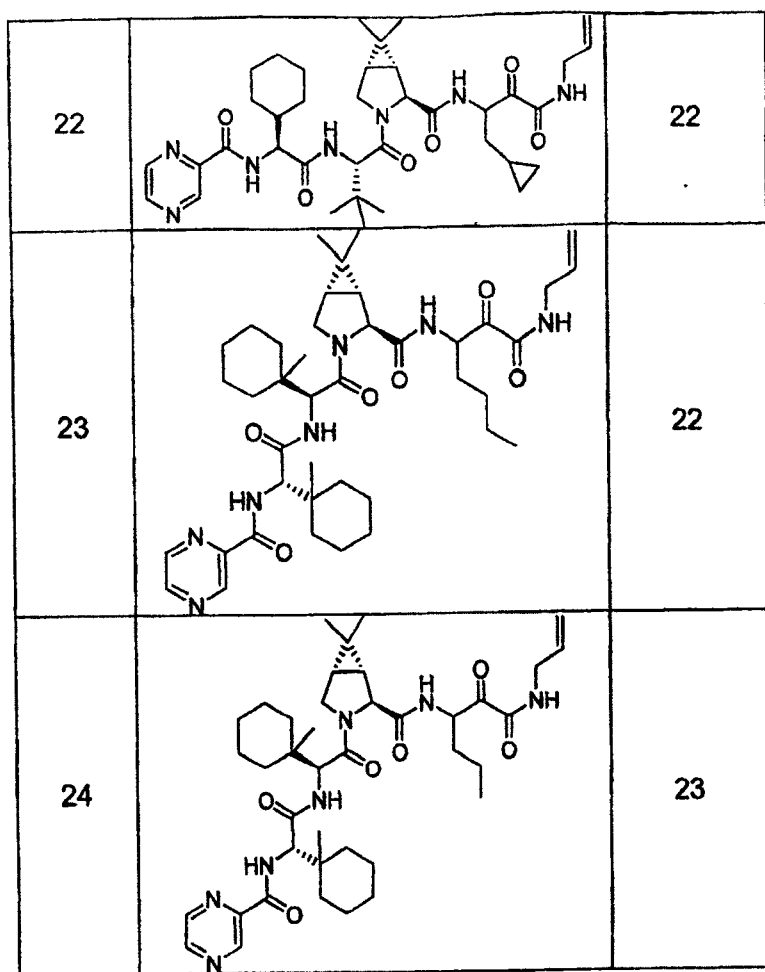
范围 A < 100nM; B > 100nM < 1000nM; C > 1000nM.

表 3

表中条目	结构	KI* (nM)
1		3.2

2		4
3		4
4		5
5		6
6		7

12		13
13		13
14		14
15		16
16		16



虽然已经结合上述具体的实施方案描述了本发明，但是其许多替代、改进和其它变更对于本领域技术人员来说是显而易见的。所有的这些替代、改进和变更都落入本发明的精神实质和范围内。