



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107743491 B

(45)授权公告日 2020.08.21

(21)申请号 201680026218.1

(22)申请日 2016.05.04

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107743491 A

(43)申请公布日 2018.02.27

(66)本国优先权数据
PCT/CN2015/078578 2015.05.08 CN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.11.06

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2016/059949 2016.05.04

(87)PCT国际申请的公布数据
W02016/180691 EN 2016.11.17

(73)专利权人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 刘海侠 吴国龙 贡红英

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247

代理人 安佩东 黄革生

(51)Int.Cl.
C07D 513/04(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61P 31/20(2006.01)

(56)对比文件
CN 101212968 A,2008.07.02
CN 101212968 A,2008.07.02
CN 104230952 A,2014.12.24
CN 103930426 A,2014.07.16
CN 101193898 A,2008.06.04
US 5248776 A,1993.09.28

审查员 王婷婷

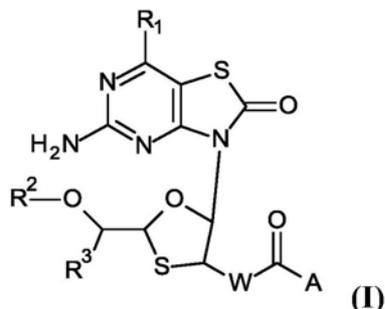
权利要求书8页 说明书43页

(54)发明名称

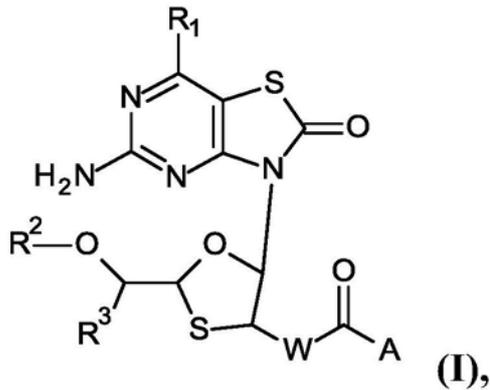
用于治疗 and 预防病毒感染的新的氧硫杂环戊烷甲酸及其衍生物

(57)摘要

本发明涉及式(I)化合物和它们的前药或其可药用盐、对映体或非对映体,以及包含该化合物的组合物和使用该化合物的方法,其中R¹、R²和R³如文中所定义。



1. 式 (I) 的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体，



其中

R¹是OH；

R²是H；

R³是H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基；

W是-CH₂-或-C(C₁₋₆烷基)₂-；

A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或选自吡咯烷基、哌啶基或吗啉基的杂环氨基。

2. 根据权利要求1的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体，其中

R¹是OH；

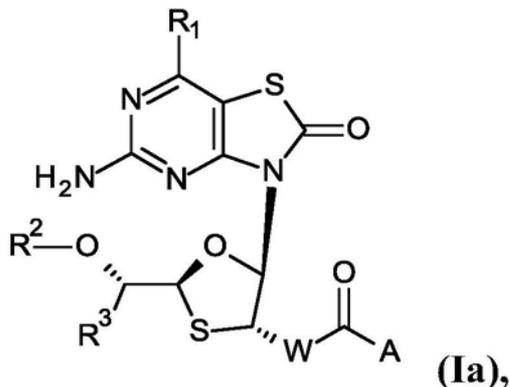
R²是H；

R³是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基；

W是-CH₂-或-C(CH₃)₂-；

A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。

3. 根据权利要求1的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体，其中所述化合物是式 (Ia) 的化合物：



其中

R¹是OH；

R²是H；

R³是H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基；

W是-CH₂-或-C(C₁₋₆烷基)₂-；

A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或选自吡咯烷基、哌啶基或吗啉基的杂环氨基。

4. 根据权利要求3的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

R¹是OH;

R²是H;

R³是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基;

W是-CH₂-或-C(CH₃)₂-;

A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。

5. 根据权利要求1或3任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中R³是C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基。

6. 根据权利要求1或3任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中R³是甲基、乙基、环丙基或烯丙基。

7. 根据权利要求1或3任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中W是-CH₂-。

8. 根据权利要求1或3任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

R¹是OH;

R²是H;

R³是C₁₋₆烷基或C₃₋₇环烷基;

W是-CH₂-;

A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或吗啉基。

9. 根据权利要求1或3任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

R¹是OH;

R²是H;

R³是甲基、乙基或环丙基;

W是-CH₂-;

A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。

10. 根据权利要求1的化合物,选自:

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;

2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;

5-氨基-3-[(4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮;

5-氨基-3-[(2S,4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基戊基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丁-3-烯基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[5-(5-氨基-7-羟基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸;

或其可药用盐、对映体或非对映体。

11. 根据权利要求1的化合物,选自:

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-

(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺;

2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;

2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;

5-氨基-3-[(4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮;

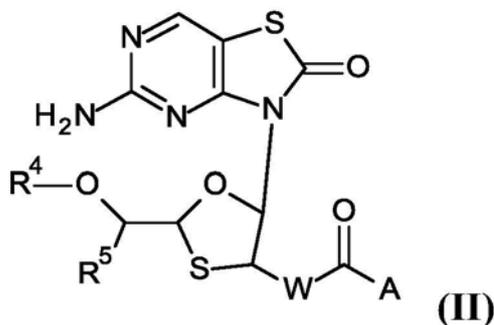
5-氨基-3-[(2S,4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

或其可药用盐、对映体或非对映体。

12. 式 (II) 的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,



其中

R⁴是H、C₁₋₆烷基羰基、苯基羰基或C₁₋₆烷基苯基羰基;

R⁵是H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基;

W是-CH₂-或-C(C₁₋₆烷基)₂-;

A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或选自吡咯烷基、哌啶基或吗啉基的杂环

氨基。

13. 根据权利要求12的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

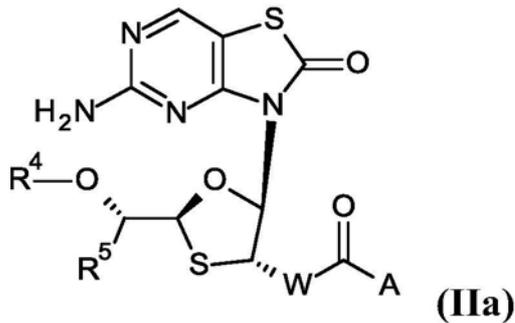
R^4 是H、乙酰基、苯基羰基或甲基苯基羰基;

R^5 是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基;

W是 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$;

A是OH、甲氧基、 $\text{CH}_3\text{NH}-$ 、 $(\text{CH}_3)_2\text{N}-$ 或吗啉基。

14. 根据权利要求12的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中所述化合物是式(IIa)的化合物:



其中

R^4 是H、 C_{1-6} 烷基羰基、苯基羰基或 C_{1-6} 烷基苯基羰基;

R^5 是H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基;

W是 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2-$;

A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2\text{N}-$ 或选自吡咯烷基、哌啶基或吗啉基的杂环氨基。

15. 根据权利要求14的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

R^4 是H、乙酰基、苯基羰基或甲基苯基羰基;

R^5 是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基;

W是 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$;

A是OH、甲氧基、 $\text{CH}_3\text{NH}-$ 、 $(\text{CH}_3)_2\text{N}-$ 或吗啉基。

16. 根据权利要求12至15任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中 R^4 是苯基羰基。

17. 根据权利要求12或14任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中 R^5 是 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基。

18. 根据权利要求12或14任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中 R^5 是甲基、乙基、环丙基或烯丙基。

19. 根据权利要求12或14任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中W是 $-\text{CH}_2-$ 。

20. 根据权利要求12或14任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

R^4 是苯基羰基;

R^5 是 C_{1-6} 烷基或 C_{3-7} 环烷基;

W是 $-\text{CH}_2-$;

A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基 $\text{NH}-$ 、 $(\text{C}_{1-6}\text{烷基})_2\text{N}-$ 或吗啉基。

21. 根据权利要求12或14任意一项的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中
R⁴是苯基羰基;

R⁵是甲基、乙基或环丙基;

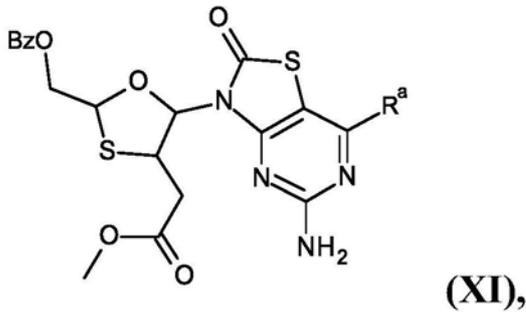
W是-CH₂-;

A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。

22. 根据权利要求12或14任意一项的化合物,所述化合物是苯甲酸[(1S)-1-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯;或其可药用盐、对映体或非对映体。

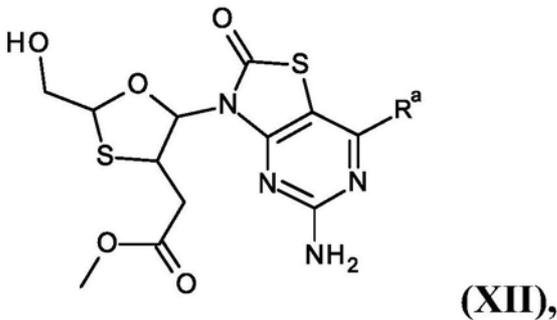
23. 制备根据权利要求1、3、12或14任意一项的化合物的方法,包括如下步骤:

(a) 将式(XI)的化合物与碱反应,



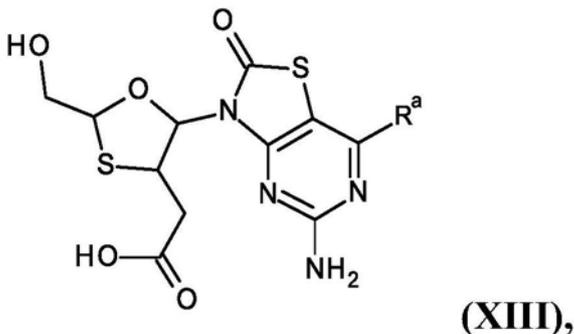
其中R^a是H或R¹;或者

(b) 将式(XII)的化合物与碱反应,



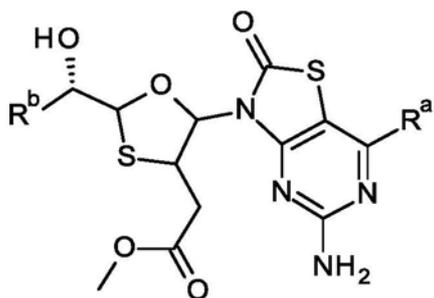
其中R^a是H或R¹;或者

(c) 将式(XIII)的化合物与R⁶R⁷NH在偶联剂的存在下反应,



其中R^a是H或R¹;R⁶R⁷N-是C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或选自吡咯烷基、哌啶基或吗啉基的杂环氨基;或者

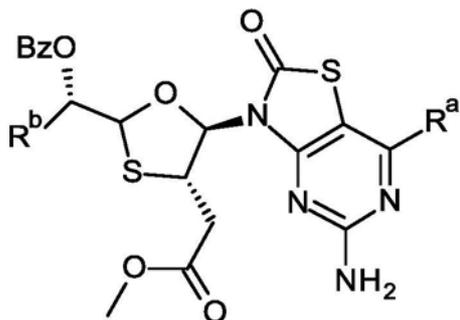
(d) 将式(P7)的化合物与碱反应,



(P7),

其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ; 或者

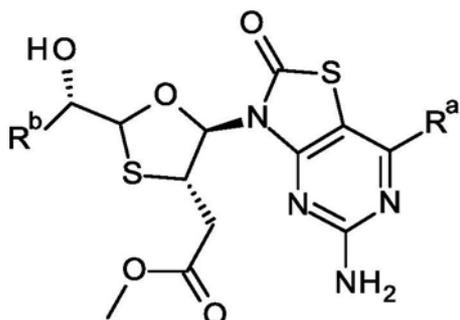
(e) 将式 (XXVI) 的化合物与碱反应,



(XXVI),

其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ; 或者

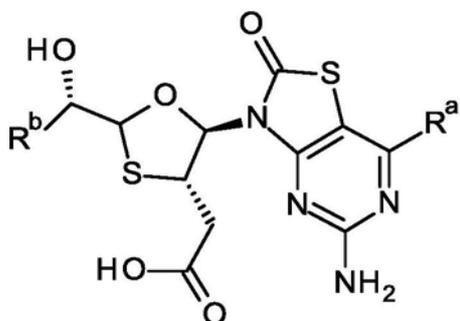
(f) 将式 (XXVII) 的化合物与碱反应,



(XXVII),

其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ; 或者

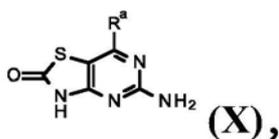
(g) 将式 (XXVIII) 的化合物与 R^6R^7N 在偶联剂的存在下反应,



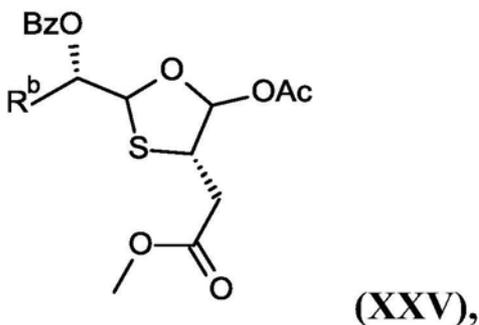
(XXVIII),

其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ; R^6R^7N -是 C_{1-6} 烷基NH-、 $(C_{1-6}$ 烷基) $_2$ N-或选自吡咯烷基、哌啶基或吗啉基的杂环氨基; 或者

(h) 将式 (XXV) 的化合物与化合物 (X),



在硅烷基醚化试剂和路易斯酸的存在下反应，



其中 R^a 是H或 R^1 ； R^b 是 R^3 或 R^5 ；

其中 R^1 、 R^2 和 R^3 如权利要求1或3所定义， R^5 如权利要求12或14所定义。

24. 用作治疗活性物质的根据权利要求1-22任意一项的化合物或可药用盐、对映体或非对映体。

25. 包含根据权利要求1-22任意一项的化合物和治疗惰性载体的药物组合物。

26. 根据权利要求1-22任意一项的化合物在制备用于治疗或预防乙型肝炎病毒感染的药物中的用途。

27. 用于治疗或预防乙型肝炎病毒感染的根据权利要求1-22任意一项的化合物或可药用盐、对映体或非对映体。

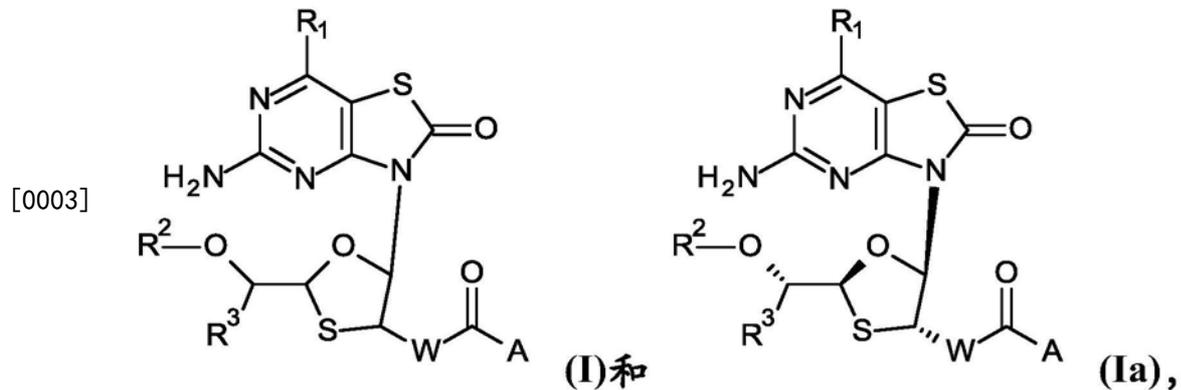
28. 根据权利要求23的方法制备的根据权利要求1-22任意一项的化合物或可药用盐、对映体或非对映体。

用于治疗 and 预防病毒感染的新的氧硫杂环戊烷甲酸及其衍生物

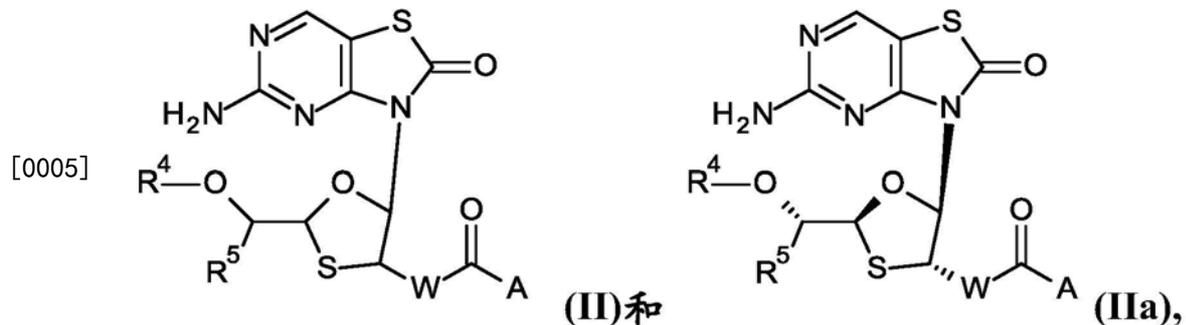
[0001] 本发明涉及具有Toll样受体激动活性的新的氧硫杂环戊烷甲酸类化合物及其相应的衍生物以及它们的前药、它们的制备方法、包含它们的药物组合物及其作为药物的潜在用途。

发明领域

[0002] 本发明涉及式(I)和(Ia)的化合物,



[0004] 以及它们的前药,式(II)和(IIa)的化合物,



[0006] 其中R¹至R⁵、W和A如下所述,或其可药用盐、对映体或非对映体。

[0007] Toll样受体 (TLR) 识别范围广泛的保守的病原相关分子模式 (PAMP)。它们在探测入侵病原体和随后启动先天免疫应答中起着重要的作用。人体中存在10种已知的TLR家族成员,它们是I型跨膜蛋白,以富含亮氨酸的胞外结构域和包含保守的Toll/白细胞介素 (IL)-1受体 (TIR) 结构域的胞质尾区为特征。在该家族中,TLR3、TLR7、TLR8和TLR9位于内体内。TLR7可以通过结合特异性小分子配体 (即TLR7激动剂) 或其天然配体 (即单链RNA、ssRNA) 被活化。在ssRNA结合TLR7后,认为二聚化形式的该受体发生结构改变,导致随后衔接蛋白质募集在其胞质结构域处,包括髓样分化初级应答基因88 (MyD88)。在通过MyD88途径启动受体信号传导级联后,胞质转录因子例如干扰素调节因子7 (IRF-7) 和核因子κB (NF-κB) 被激活。这些转录因子随后转位至核并且启动各种基因的转录,例如IFN-α和其它抗病毒细胞因子基因。TLR7主要在浆细胞样细胞上表达并且还在B-细胞上表达。改变的免疫细胞应答性可能与慢性病毒感染过程中天然免疫应答的下降有关。激动剂诱导的TLR7活

化由此可能代表用于治疗慢性病毒感染的新方法(D.J Connolly和L.AJ O' Neill,Current Opinion in Pharmacology 2012,12:510-518,P.A.Roethle等人,J.Med. Chem.2013,56,7324-7333)。

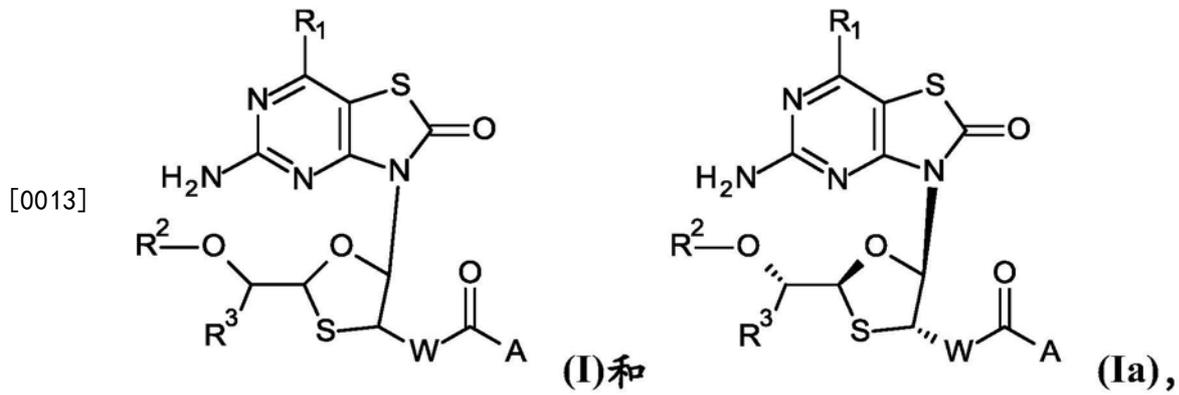
[0008] 目前慢性HBV感染的疗法基于两种不同类型的药物:传统的抗病毒核苷(酸)类似物和更近期的聚乙二醇化IFN- α (PEG-IFN- α)。口服核苷(酸)类似物通过抑制HBV复制起作用。这是终生的治疗过程,在此期间,药物耐受性经常发生。作为另一种选择,聚乙二醇化IFN- α (PEG-IFN- α)已被用于在有限的治疗期间内治疗一些慢性感染的HBV患者。尽管已在至少一小部分的HBV患者中实现了HBeAg的血清转化,但是不良反应使得它难以耐受。值得注意的是,以HBsAg血清转化定义的功能性治愈在目前的这两种疗法中均极为罕见。因此,迫切需求新一代的治疗选择以功能性治愈HBV患者。使用口服TLR7激动剂治疗代表了一种富有前景的解决方案,以提供更高的效能和更好的耐受性。聚乙二醇化IFN- α (PEG-IFN- α)目前用于治疗慢性HBV并且是潜在需要终生使用抗病毒核苷(酸)类似物治疗的可替代选择。在一小组慢性HBV患者中,PEG-IFN- α 疗法可以在有限的治疗过程后诱导对病毒的持续性免疫控制。然而,使用干扰素疗法实现血清转化的HBV患者的百分比较低(对于HBeAg-阳性患者最高为27%),且该治疗通常耐受性差。此外,功能性治愈(定义为HBsAg消失和血清转化)在使用PEG-IFN- α 和核苷(酸)治疗时也是极不常见的。由于这些局限性,对于治疗和诱导慢性HBV功能性治愈的改良的治疗选择存在迫切需求。使用口服的小分子TLR7激动剂进行治疗是一种富有前景的方法,其具有提供更高的效能和耐受性的潜能(T.Asselah等人,Clin Liver Dis 2007,11,839-849)。

[0009] 实际上,几种经鉴定的TLR7激动剂已经被考虑用于治疗目的。迄今为止,咪喹莫德(ALDARATM)是美国FDA批准的用于治疗人乳头瘤病毒导致的皮肤损伤的TLR7激动剂。已经对TLR7/8双重激动剂瑞喹莫德(R-848)和TLR7激动剂852A分别用于治疗人生殖器疱疹和化疗顽固性转移性黑素瘤进行了评估。ANA773是一种口服的前药TLR7激动剂,研发它是为了治疗患有慢性丙型肝炎病毒(HCV)感染和慢性乙型肝炎感染的患者。GS-9620是一种口服有效的TLR7激动剂。Ib期研究证实,使用GS-9620治疗是安全的、良好耐受的并且可在患有慢性乙型肝炎的患者中导致剂量依赖性ISG15 mRNA诱导(E.J.Gane等人,Annu Meet Am Assoc Study Liver Dis (11月1-5日,Washington,D.C.) 2013,摘要946)。因此,对于研发有效和安全的TLR7激动剂作为新的HBV治疗方法以提供更多的治疗方案或替代现存的部分有效的治疗手段存在非常迫切的临床需求。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供了一系列新的具有To11-样受体激动活性的3-取代的5-氨基-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮化合物及其前药。本发明还提供了这类化合物通过活化To11-样受体、例如TLR7受体来诱导SEAP水平增加的生物活性、在人肝细胞的存在下将前药代谢转化成母体化合物,以及这类化合物和包含这些化合物及其前药的药物组合物在治疗或预防感染性疾病如HBV或HCV中的治疗或预防用途。本发明还提供了具有优良活性的化合物。

[0012] 本发明涉及新的式(I)和(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,



[0014] 其中

[0015] R^1 是OH;

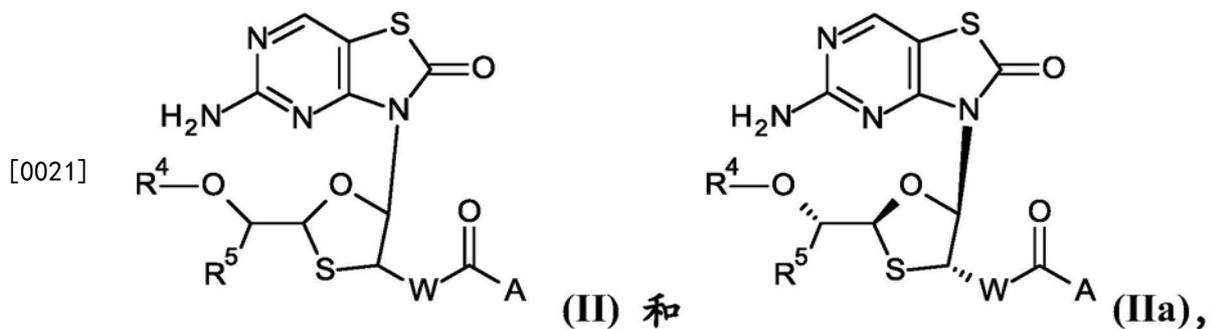
[0016] R^2 是H;

[0017] R^3 是H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基;

[0018] W是 $-CH_2-$ 或 $-C(C_{1-6}烷基)_2-$;

[0019] A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基NH-、 $(C_{1-6}烷基)_2N-$ 或杂环氨基。

[0020] 本发明还涉及式(II)和(IIa)的前药或其可药用盐、对映体或非对映体,



[0022] 其中

[0023] R^4 是H、 C_{1-6} 烷基羰基、苯基羰基或 C_{1-6} 烷基苯基羰基;

[0024] R^5 是H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基;

[0025] W是 $-CH_2-$ 或 $-C(C_{1-6}烷基)_2-$;

[0026] A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基NH-、 $(C_{1-6}烷基)_2N-$ 或杂环氨基。

[0027] 本发明还涉及它们的制备方法、基于本发明化合物的药物及其生产方法和式(I)或(Ia)的化合物或其式(II)或(IIa)的前药作为TLR7激动剂的用途。因此,式(I)和(Ia)的化合物或其式(II)和(IIa)的前药可用于利用Toll样受体激动作用来治疗或预防HBV和/或HCV感染。

[0028] 发明详述

[0029] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有本发明所属技术领域普通技术人员通常所理解的含义。此外,列出下列定义以示例和定义用于描述本发明的各种术语的含义和范围。

[0030] 定义

[0031] 本文所用的术语“ C_{1-6} 烷基”表示包含1-6个、特别是1-4个碳原子的饱和直链或支链烷基基团,例如甲基、乙基、正-丙基、异丙基、正-丁基、异丁基、叔丁基等。具体的“ C_{1-6} 烷

基”基团是甲基、乙基和正-丙基。

[0032] 术语“杂环基”表示3-10个环原子的一价饱和或部分不饱和单环或双环环系,其包含1-5个选自N、O和S的环杂原子,其余环原子为碳。在具体的实施方案中,杂环基是4-7个环原子的一价饱和单环环系,其包含1、2或3个选自N、O和S的环杂原子,其余环原子为碳。单环饱和杂环基的实例是氮杂环丙基、氧杂环丙基、氮杂环丁基、氧杂环丁基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡唑烷基、咪唑烷基、噁唑烷基、异噁唑烷基、噻唑烷基、哌啶基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、二氧代硫代吗啉基、氮杂环庚烷基、二氮杂环庚烷基、高哌嗪基或氧氮杂环庚烷基。双环饱和杂环的实例是氮杂双环[3.2.1]辛基、奎宁环基、氧杂氮杂双环[3.2.1]辛基、氮杂双环[3.3.1]壬基、氧杂氮杂双环[3.3.1]壬基或硫杂氮杂双环[3.3.1]壬基。部分不饱和杂环的实例是二氢呋喃基、咪唑啉基、二氢噁唑基、四氢吡啶基或二氢吡喃基。

[0033] 术语“杂环氨基”表示具有在杂环上的氮原子的氨基基团。杂环氨基的例子是吡咯烷基、哌啶基或吗啉基。

[0034] 术语“C₂₋₆链烯基”表示包含2-6个、特别是2-4个碳原子的不饱和直链或支链链烯基基团,例如乙烯基、丙烯基、烯丙基、丁烯基等。具体的“C₂₋₆链烯基”基团是烯丙基和乙烯基。

[0035] 单独的或在组合中的术语“C₃₋₇环烷基”表示包含3-7个碳原子、特别是3-6个碳原子的饱和碳环,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。具体的“C₃₋₇环烷基”基团是环丙基。

[0036] 术语“C₁₋₆烷氧基”表示基团C₁₋₆烷基-O-,其中“C₁₋₆烷基”如以上所定义。具体的“C₁₋₆烷氧基”基团是甲氧基或乙氧基。

[0037] 单独的或在组合中的术语“羰基”表示基团-C(O)-。

[0038] 术语“C₁₋₆烷基羰基”是指基团C₁₋₆烷基-C(O)-,其中“C₁₋₆烷基”如以上所定义。具体的“C₁₋₆烷基羰基”基团是乙酰基。

[0039] 术语“对映体”表示彼此为不能重叠的镜像的化合物的两种立体异构体。

[0040] 术语“非对映异构体”表示具有两个或多个手性中心且其分子彼此不为镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同的物理性质,例如熔点、沸点、光谱特性和反应性。

[0041] 术语“可药用盐”表示不在生物学或其它方面不期望的盐。可药用盐包括酸和碱加成盐。

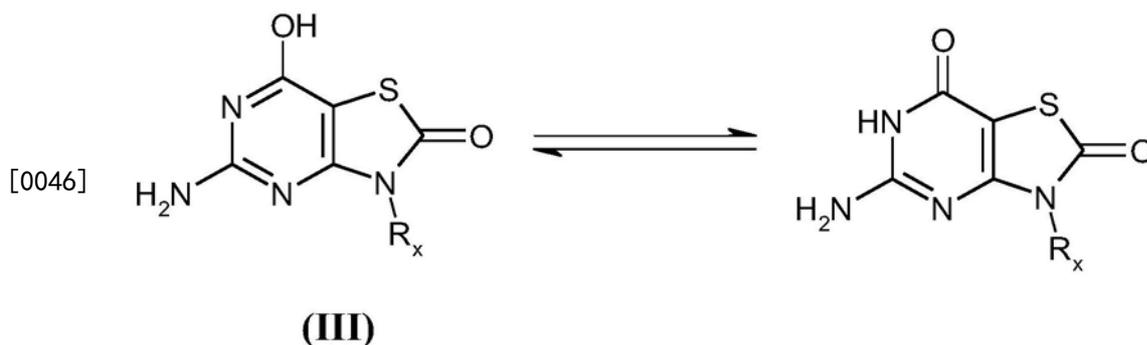
[0042] 术语“可药用酸加成盐”表示与无机酸和有机酸形成的那些可药用盐,所述无机酸为例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸,所述有机酸选自脂族、脂环族、芳族、芳脂族、杂环、羧酸和有机磺酸,例如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、双羟萘酸、苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸和水杨酸。

[0043] 术语“可药用碱加成盐”表示与有机碱或无机碱形成的那些可药用盐。可接受的无机碱的实例包括钠、钾、铵、钙、镁、铁、锌、铜、锰和铝盐。衍生自可药用有机无毒碱的盐包括如下的盐:伯、仲和叔胺类;取代的胺类,包括天然存在的取代的胺类、环胺类和碱性离子交换树脂,例如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙基氨基乙醇、三甲胺(trimethamine)、二环己基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺

(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、嘌呤类、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶和聚胺树脂。

[0044] 包含一个或多个手性中心的通式(I)或(Ia)的化合物及其前药可以以外消旋体、非对映异构体混合物或光学活性的单一异构体的形式存在。可以根据已知方法将外消旋体分离成对映体。具体地讲,通过与光学活性的酸例如D-或L-酒石酸、扁桃酸、苹果酸、乳酸或樟脑磺酸反应从外消旋混合物形成可以通过结晶分离的非对映异构体盐。

[0045] 本发明的化合物可以表现出互变异构现象。尽管结构式不能明确地描绘出所有可能的互变异构体形式,但是应当理解,它们旨在表示所描绘的化合物的任意互变异构体形式,而不仅限于由结构式所描绘的具体化合物。例如,对于式(III)应当理解,无论是否以其烯醇或其酮基的形式显示其取代基,它们都表示相同的化合物(如下实例中所示)。



[0047] R_x 指任意可行的取代基。

[0048] 某些本发明的化合物可以作为单一立体异构体(即基本上不含其它立体异构体)、外消旋体和/或对映体和/或非对映异构体的混合物存在。所有这些单一立体异构体、外消旋体及其混合物都在本发明的范围内。优选地,旋光性的本发明化合物以光学纯的形式使用。正如本领域技术人员通常所理解的,具有一个手性中心(即一个不对称碳原子)的光学纯的化合物是基本上由两个可能的对映体之一组成的化合物(即是对映体纯的),具有一个以上手性中心的光学纯的化合物是既为非对映异构体纯的、又是对映体纯的化合物。优选地,本发明的化合物以至少90%光学纯的形式使用,即包含至少90%的单一异构体(80%对映体过量("e.e.")或非对映异构体过量("d.e."))、更优选至少95%(90%e.e.或d.e.)、甚至更优选至少97.5%(95%e.e.或d.e.)和最优选至少99%(98%e.e.或d.e.)的形式。另外,式(I)和(Ia)的化合物及其前药式(II)和(IIa)以及本发明的其它化合物旨在涵盖所定义的结构溶剂化和非溶剂化形式。例如,式(I)或(Ia)包括水合物和非水合物形式的所示结构的化合物。溶剂化物的其它实例包括与异丙醇、乙醇、甲醇、DMSO、乙酸乙酯、乙酸或乙醇胺组合的结构。

[0049] 术语“前药”表示在施用后在体内例如被个体的生物学液体或酶代谢成化合物的药理学活性形式以便产生期望的药理学作用的形式或化合物的衍生物。前药描述在例如“The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action”, Richard B. Silverman, Academic Press, San Diego, 2004, 第8章: Prodrugs and Drug Delivery Systems, 497-558页中。

[0050] “药物活性代谢物”是指通过在体内代谢具体的化合物或其盐产生的药理学活性产物。在进入体内后,大部分药物是可以改变其物理性质和生物作用的化学反应的底物。这

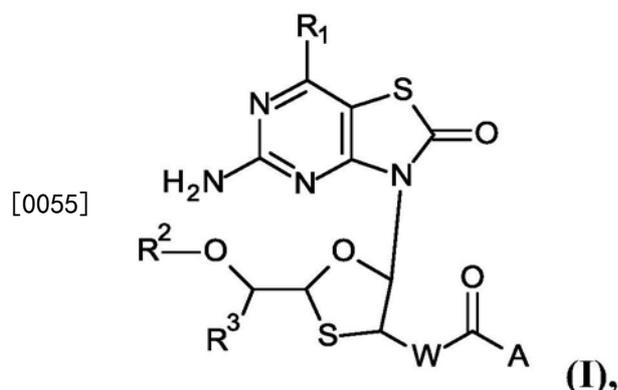
些代谢转化通常会影响到本发明化合物的极性,改变药物在体内分布和从体内排出的方式。然而,在一些情况中,药物的代谢是产生治疗作用所需的。

[0051] 术语“治疗有效量”表示本发明化合物或分子在施用于个体时产生如下作用的用量: (i) 治疗或预防特定疾病、病症或障碍; (ii) 减轻、改善或消除特定疾病、病症或障碍的一种或多种症状;或 (iii) 预防或延缓本文所述的特定疾病、病症或障碍的一种或多种症状的发作。治疗有效量将根据化合物、所治疗的疾病状态、所治疗的疾病严重性、个体的年龄和相对健康状况、施用途径和形式、主治医师或兽医从业人员的判断和其它因素而改变。

[0052] 术语“药物组合物”表示准备施用于有此需要的哺乳动物、例如人的包含治疗有效量的活性药物成分与可药用赋形剂的混合物或溶液。

[0053] TLR7激动剂和前药

[0054] 本发明涉及式 (I) 的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,



[0056] 其中

[0057] R^1 是OH;

[0058] R^2 是H;

[0059] R^3 是H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基;

[0060] W是 $-CH_2-$ 或 $-C(C_{1-6}烷基)_2-$;

[0061] A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基NH-、 $(C_{1-6}烷基)_2N-$ 或杂环氨基。

[0062] 本发明的另一个实施方案是 (ii) 式 (I) 的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

[0063] R^1 是OH;

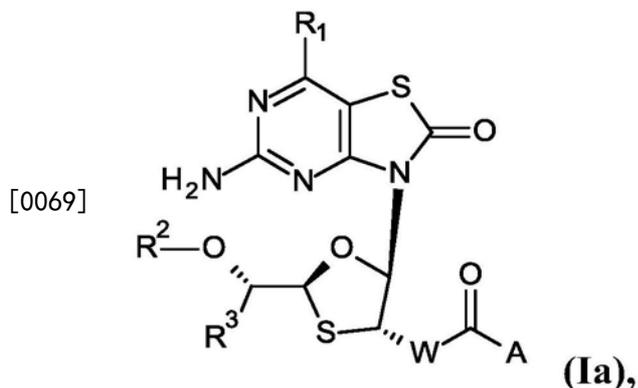
[0064] R^2 是H;

[0065] R^3 是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基;

[0066] W是 $-CH_2-$ 或 $-C(CH_3)_2-$;

[0067] A是OH、甲氧基、 CH_3NH- 、 $(CH_3)_2N-$ 或吗啉基。

[0068] 本发明的另一个实施方案是 (iii) 式 (Ia) 的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,



[0070] 其中

[0071] R^1 是OH;

[0072] R^2 是H;

[0073] R^3 是H、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基;

[0074] W是 $-CH_2-$ 或 $-C(C_{1-6}烷基)_2-$;

[0075] A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基NH-、 $(C_{1-6}烷基)_2N-$ 或杂环氨基。

[0076] 本发明的另一个实施方案是(iv)式(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

[0077] R^1 是OH;

[0078] R^2 是H;

[0079] R^3 是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基;

[0080] W是 $-CH_2-$ 或 $-C(CH_3)_2-$;

[0081] A是OH、甲氧基、 CH_3NH- 、 $(CH_3)_2N-$ 或吗啉基。

[0082] 本发明的另一个实施方案是(v)式(I)或(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中 R^3 是 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基或 C_{3-7} 环烷基。

[0083] 本发明的另一个实施方案是(vi)式(I)或(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中 R^3 是甲基、乙基、环丙基或烯丙基。

[0084] 本发明的另一个实施方案是(vii)式(I)或(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中W是 $-CH_2-$ 。

[0085] 本发明的另一个实施方案是(viii)式(I)或(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

[0086] R^1 是OH;

[0087] R^2 是H;

[0088] R^3 是 C_{1-6} 烷基或 C_{3-7} 环烷基;

[0089] W是 $-CH_2-$;

[0090] A是OH、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷基NH-、 $(C_{1-6}烷基)_2N-$ 或吗啉基。

[0091] 本发明的另一个实施方案是(ix)式(I)或(Ia)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

[0092] R^1 是OH;

[0093] R^2 是H;

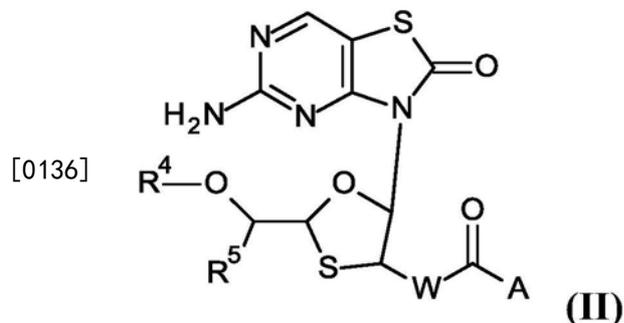
- [0094] R³是甲基、乙基或环丙基；
- [0095] W是-CH₂-；
- [0096] A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。
- [0097] 本发明的另一个实施方案是(x)，其中具体的式(I)或(Ia)的化合物是如下化合物或其可药用盐、对映体或非对映体：
- [0098] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯；
- [0099] 2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯；
- [0100] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸；
- [0101] 2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸；
- [0102] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺；
- [0103] 2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺；2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯；
- [0104] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯；
- [0105] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸；
- [0106] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸；
- [0107] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺；
- [0108] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺；
- [0109] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺；
- [0110] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺；
- [0111] 5-氨基-3-[(4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮；
- [0112] 5-氨基-3-[(2S,4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮；
- [0113] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯；

- [0114] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0115] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基戊基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0116] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丁-3-烯基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0117] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;
- [0118] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0119] 2-[5-(5-氨基-7-羟基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸。
- [0120] 本发明的另一个实施方案是(xi),其中更具体的式(I)或(Ia)的化合物是如下化合物或其可药用盐、对映体或非对映体:
- [0121] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0122] 2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0123] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;
- [0124] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯;
- [0125] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0126] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;
- [0127] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺;
- [0128] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺;
- [0129] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;
- [0130] 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺;
- [0131] 5-氨基-3-[(4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮;
- [0132] 5-氨基-3-[(2S,4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮;
- [0133] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙

基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸;

[0134] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸。

[0135] 本发明的另一个实施方案是(xii)式(II)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,



[0137] 其中

[0138] R⁴是H、C₁₋₆烷基羰基、苯基羰基或C₁₋₆烷基苯基羰基;

[0139] R⁵是H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基;

[0140] W是-CH₂-或-C(C₁₋₆烷基)₂-;

[0141] A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或杂环氨基。

[0142] 本发明的另一个实施方案是(xiii)式(II)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

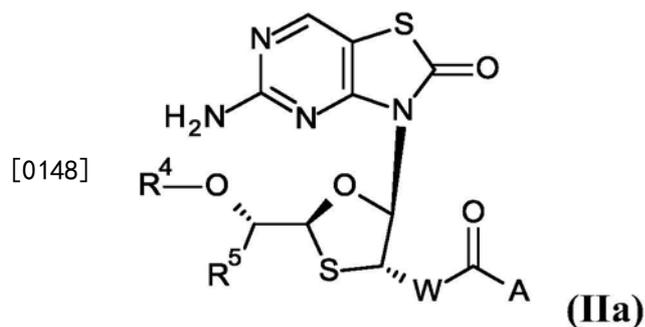
[0143] R⁴是H、乙酰基、苯基羰基或甲基苯基羰基;

[0144] R⁵是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基;

[0145] W是-CH₂-或-C(CH₃)₂-;

[0146] A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。

[0147] 本发明的另一个实施方案是(xiv)式(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,



[0149] 其中

[0150] R⁴是H、C₁₋₆烷基羰基、苯基羰基或C₁₋₆烷基苯基羰基;

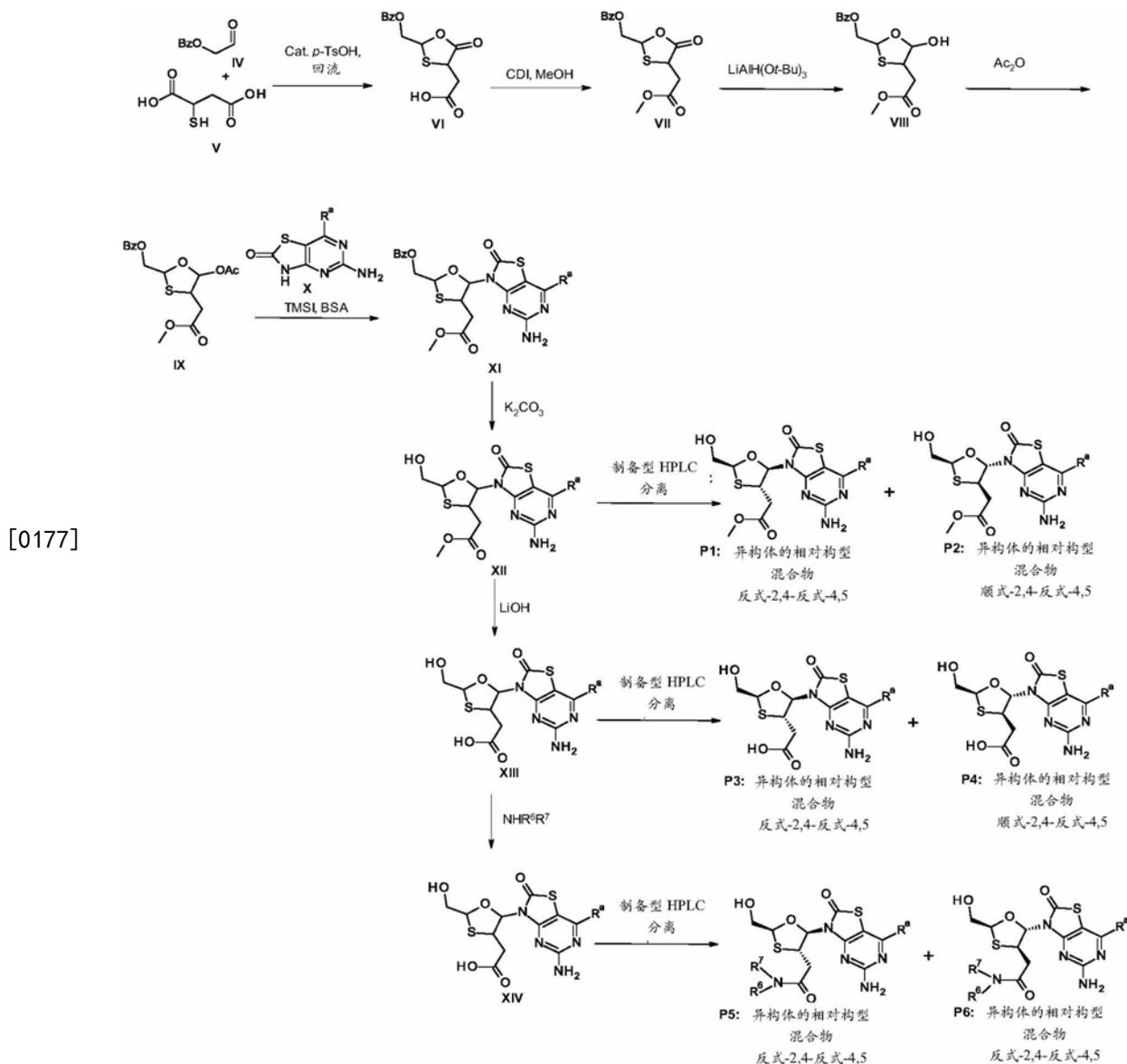
[0151] R⁵是H、C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基;

[0152] W是-CH₂-或-C(C₁₋₆烷基)₂-;

[0153] A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或杂环氨基。

[0154] 本发明的另一个实施方案是(xv)式(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中

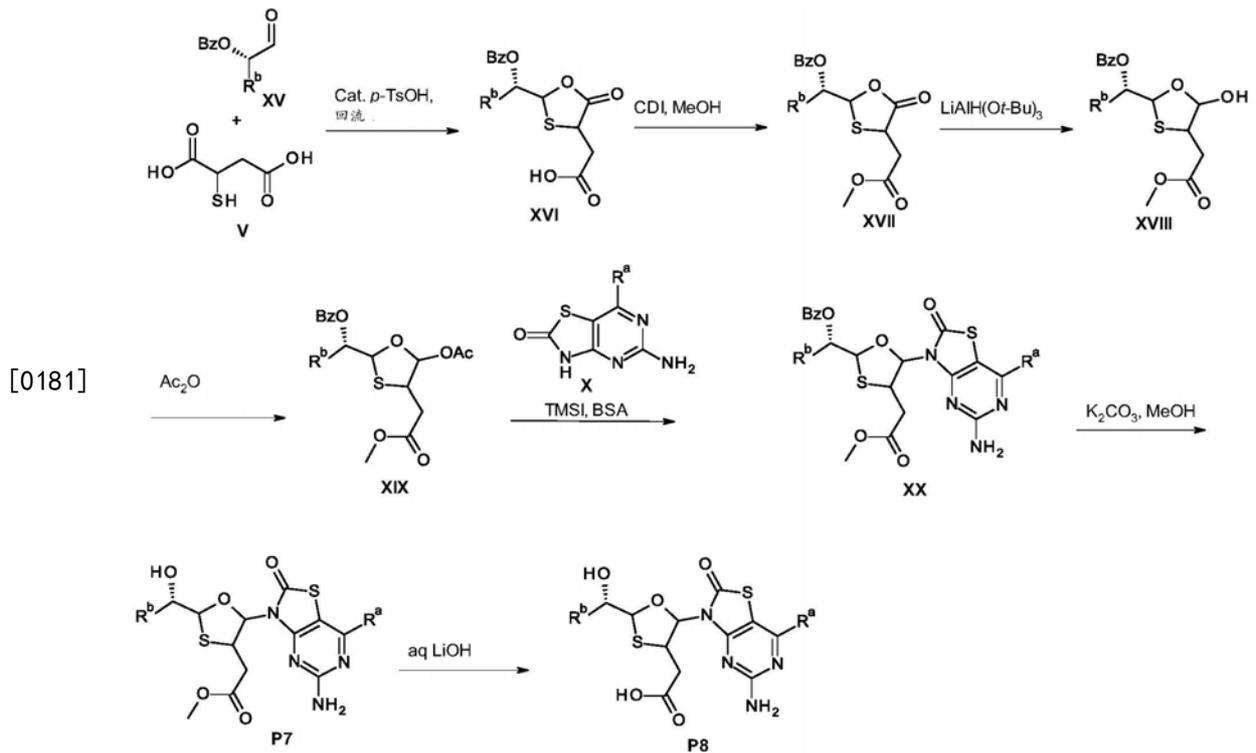
- [0155] R⁴是H、乙酰基、苯基羰基或甲基苯基羰基；
- [0156] R⁵是H、甲基、乙基、丁基、烯丙基或环丙基；
- [0157] W是-CH₂-或-C(CH₃)₂-；
- [0158] A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。
- [0159] 本发明的另一个实施方案是(xvi)式(II)或(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中R⁴是苯基羰基。
- [0160] 本发明的另一个实施方案是(xvii)式(II)或(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中R⁵是C₁₋₆烷基、C₂₋₆链烯基或C₃₋₇环烷基。
- [0161] 本发明的另一个实施方案是(xviii)式(II)或(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中R⁵是甲基、乙基、环丙基或烯丙基。
- [0162] 本发明的另一个实施方案是(xix)式(II)或(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中W是-CH₂-。
- [0163] 本发明的另一个实施方案是(xx)式(II)或(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中
- [0164] R⁴是苯基羰基；
- [0165] R⁵是C₁₋₆烷基或C₃₋₇环烷基；
- [0166] W是-CH₂-；
- [0167] A是OH、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷基NH-、(C₁₋₆烷基)₂N-或吗啉基。
- [0168] 本发明的另一个实施方案是(xxi)式(II)或(IIa)的化合物或其可药用盐、对映体或非对映体,其中
- [0169] R⁴是苯基羰基；
- [0170] R⁵是甲基、乙基或环丙基；
- [0171] W是-CH₂-；
- [0172] A是OH、甲氧基、CH₃NH-、(CH₃)₂N-或吗啉基。
- [0173] 本发明的另一个实施方案是(xxii),其中具体的式(II)或(IIa)的化合物是苯甲酸[(1S)-1-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯;或其可药用盐、对映体或非对映体。
- [0174] 合成
- [0175] 本发明的化合物可以通过任何常规手段制备。用于合成这些化合物的合适方法以及它们的起始原料在以下流程和实施例中提供。除非另有指明,所有取代基,特别是R¹至R⁵如上所定义。此外,除非另有明确说明,所有反应、反应条件、缩写和符号具有有机化学领域的普通技术人员熟知的含义。
- [0176] 流程1:



[0178] R^a 是 H 或 R^1 ; R^6 和 R^7 独立地选自 H 和 C_{1-6} 烷基, 或与它们所连接的氮一起形成杂环氨基。

[0179] 如流程1所示, 本发明的合成从苯甲酰氧基乙醛IV和巯基琥珀酸V开始, 将其与催化量的酸例如 p -TsOH 一起在有机溶剂例如甲苯中回流得到羧酸VI。羧酸VI的酯化在偶联剂例如 CDI 的存在下进行或用 TMSCHN_2 进行, 得到酯VII。将酯VII进一步用还原剂例如 $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ 还原, 得到半缩醛VIII。将半缩醛VIII用酸酐例如乙酸酐酰化, 得到化合物IX。将化合物IX与化合物X在适宜的硅烷基醚化试剂例如 N, O -双(三甲基硅烷基)乙酰胺 (BSA) 和路易斯酸例如 TMSI 的存在下偶联生成化合物XI。将化合物XI在碱性条件下 (例如 K_2CO_3 的 MeOH 溶液) 脱保护得到化合物XII, 将其进一步通过制备型 HPLC 分离得到化合物P1和化合物P2。将化合物XII在碱性条件下 (例如 LiOH 水溶液) 水解生成羧酸XIII, 将其进一步通过制备型 HPLC 分离得到化合物P3和化合物P4。将羧酸XIII与 $\text{R}^6\text{R}^7\text{NH}$ 在偶联剂例如 HATU 的存在下偶联, 得到酰胺化合物XIV, 将其进一步通过制备型 HPLC 分离得到化合物P5和化合物P6。

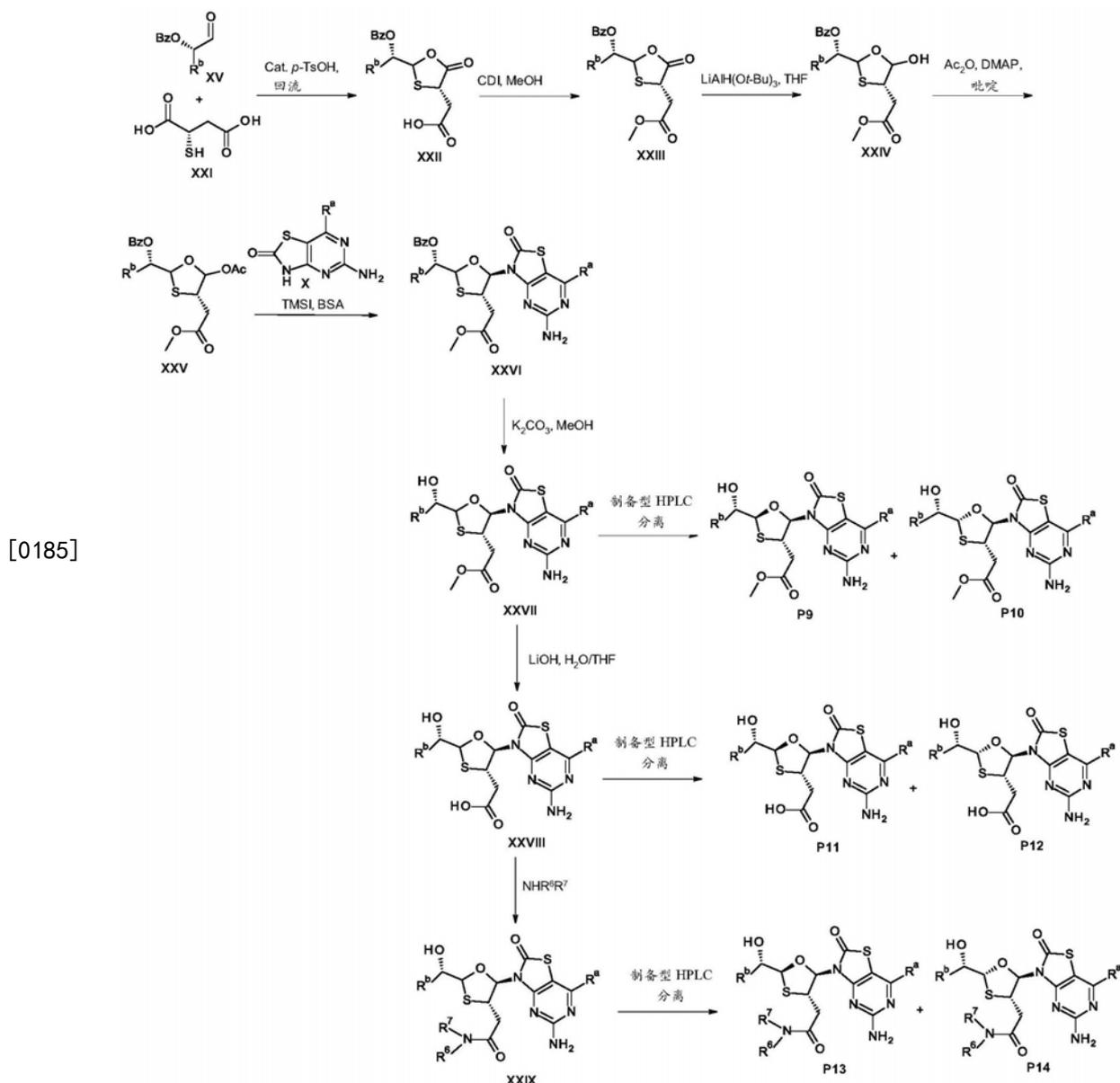
[0180] 流程2:



[0182] R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 。

[0183] 如流程2所示,合成还可以从醛XV(合成参见:J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 3450-3451)和巯基琥珀酸V开始,将其与催化量的酸例如 *p*-TsOH一起在有有机溶剂例如甲苯中回流得到化合物XVI。化合物XVI 的羧酸的酯化在偶联剂例如CDI的存在下进行或用TMSCHN₂进行,得到酯XVII。将酯XVII进一步用还原剂例如 $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ 还原,得到半缩醛XVIII。将半缩醛用酸酐例如乙酸酐酰化,得到化合物XIX。将化合物XIX与化合物X在适宜的硅烷基醚化试剂例如N,0-双(三甲基硅烷基) 乙酰胺(BSA)和路易斯酸例如TMSI的存在下偶联生成化合物XX。将化合物XX在碱性条件下(例如 K_2CO_3 的MeOH溶液)脱保护得到化合物P7。将化合物P7在碱性条件下(例如LiOH水溶液)水解生成羧酸P8。

[0184] 流程3

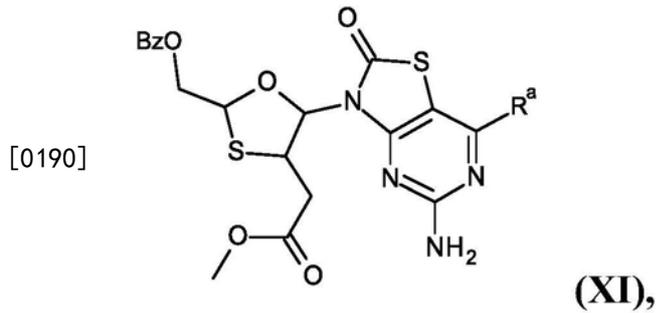


[0186] R^a是H或R¹; R^b是R³或R⁵; R⁶和R⁷独立地选自H和C₁₋₆烷基,或与它们所连接的氮一起形成杂环氨基。

[0187] 如流程3所示,合成还可以从醛XV(合成参见:J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 3450-3451)和(S)-2-巯基琥珀酸XXI开始,将其与催化量的酸例如p-TsOH一起在有机溶剂例如甲苯中回流得到化合物XXII。羧酸XXII的酯化在偶联剂例如CDI的存在下进行或用TMSCHN₂进行,得到酯XXIII。将酯XXIII进一步用还原剂例如LiAlH(Ot-Bu)₃还原,得到半缩醛XXIV。将半缩醛XXIV用酸酐例如乙酸酐酰化,得到化合物XXV。将化合物XXV与化合物X在适宜的硅烷基醚化试剂例如N,O-双(三甲基硅烷基)乙酰胺(BSA)和路易斯酸例如TMSI的存在下偶联生成化合物XXVI。将化合物XXVI在碱性条件下(例如K₂CO₃的MeOH溶液)脱保护得到化合物XXVII,将其进一步通过制备型HPLC分离得到化合物P9和化合物P10。将化合物XXVII在碱性条件下(例如LiOH水溶液)水解生成羧酸XXVIII,将其进一步通过制备型HPLC分离得到化合物P11和化合物P12。将羧酸XXVIII与R⁶R⁷NH在偶联剂例如HATU的存在下偶联,得到酰胺化合物XXIX,将其进一步通过制备型HPLC分离得到化合物P13和化合物P14。

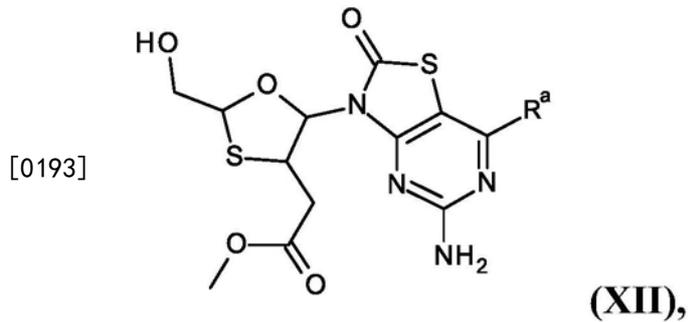
[0188] 本发明还涉及制备式 (I)、(Ia)、(II) 或 (IIa) 的化合物的方法, 包括如下反应:

[0189] (a) 将式 (XI) 的化合物与碱反应,



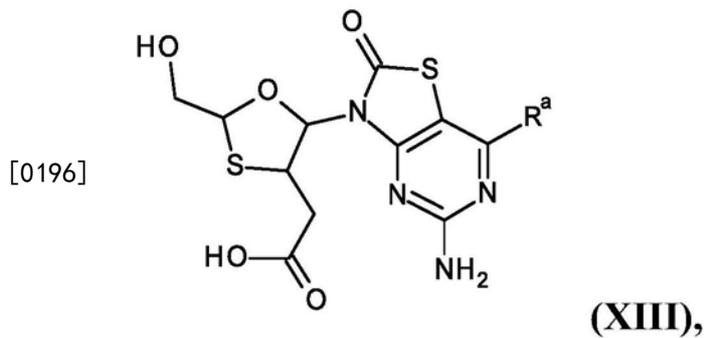
[0191] 其中R^a是H或R¹;

[0192] (b) 将式 (XII) 的化合物与碱反应,



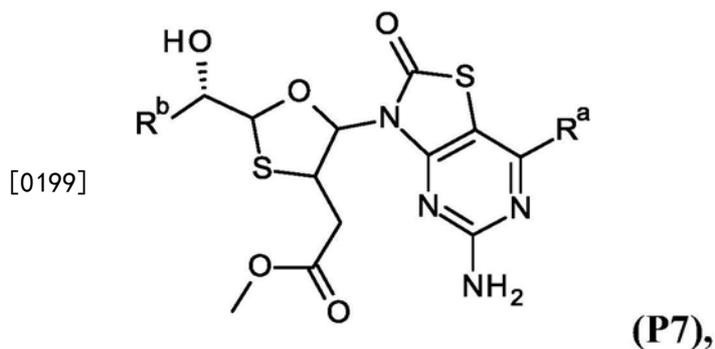
[0194] 其中R^a是H或R¹;

[0195] (c) 将式 (XIII) 的化合物与R⁶R⁷NH在偶联剂的存在下反应,



[0197] 其中R^a是H或R¹;

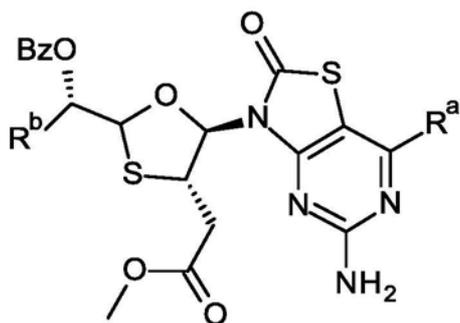
[0198] (d) 将式 (P7) 的化合物与碱反应,



[0200] 其中R^a是H或R¹; R^b是R³或R⁵;

[0201] (e) 将式 (XXVI) 的化合物与碱反应,

[0202]

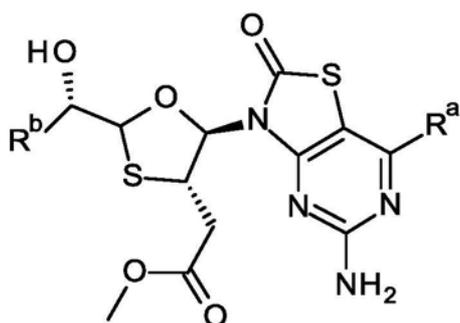


(XXVI),

[0203] 其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ;

[0204] (f) 将式 (XXVII) 的化合物与碱反应,

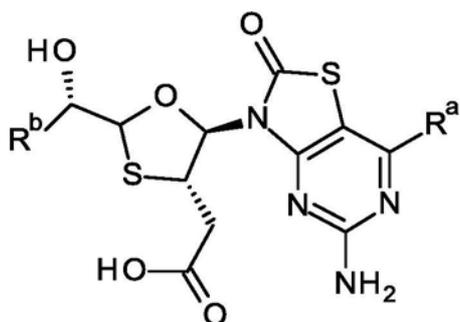
[0205]



(XXVII),

[0206] 其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ;[0207] (g) 将式 (XXVIII) 的化合物与 R^6R^7NH 在偶联剂的存在下反应,

[0208]

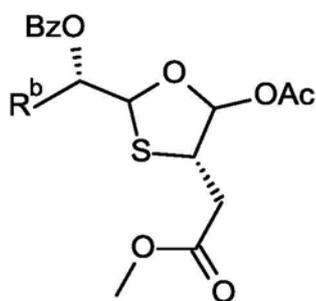


(XXVIII),

[0209] 其中 R^a 是H或 R^1 ; R^b 是 R^3 或 R^5 ;

[0210] (h) 将式 (XXV) 的化合物与化合物X在硅烷基醚化试剂和路易斯酸的存在下反应,

[0211]



(XXV),

[0212] 其中 R^b 是 R^3 或 R^5 ;[0213] 或其中 R^a 、 R^b 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^5 、 R^6 和 R^7 如上所定义。

[0214] 在步骤(a)和(e)中,碱可以是例如 K_2CO_3 。

[0215] 在步骤(b)、(d)和(f)中,碱可以是例如LiOH。

[0216] 在步骤(c)和(g)中,偶联剂可以是例如HATU。

[0217] 在步骤(h)中,硅烷基醚化试剂可以是例如BSA,路易斯酸可以是例如TMSI。

[0218] 按照上述方法制备的式(I)、(Ia)、(II)和(IIa)的化合物也是本发明的目的之一。

[0219] 药物组合物和给药

[0220] 另一个实施方案提供含有本发明的化合物和治疗上惰性的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物或药物,以及使用本发明的化合物来制备这些组合物和药物的方法。在一个实施例中,式(I)或(Ia)的化合物或其前药可以通过在环境温度下、在适当pH下并以所需的纯度与生理学可接受的载体(即,在所采用的剂量和浓度下对接受者是无毒的载体)混合而配制成药剂形式。制剂的pH主要取决于化合物的具体用途和浓度,但通常优选约3至约8的范围。在一个实施例中,式(I)或(Ia)的化合物或其前药在pH 5的乙酸盐缓冲液中配制。在另一个实施方案中,式(I)或(Ia)的化合物或其前药是无菌的。化合物可以例如作为固体或无定形组合物、作为冻干制剂或作为水溶液储存。

[0221] 组合物以符合良好医学实践的方式进行配制、定剂量和给药。在此上下文中考虑的因素包括被治疗的具体病症、被治疗的具体哺乳动物、个体患者的临床病症、病症的病因、药剂的递送部位、给药方法、给药时间安排和执业医师已知的其他因素。要给药的化合物的“有效量”将受这些考虑的控制,并且是活化TLR7受体并导致INF- α 和其它细胞因子产生所需的最低量,其可用于(但不限于)治疗或预防乙型肝炎和/或丙型肝炎病毒感染的患者。

[0222] 在一个实施例中,每个剂量胃肠外给药的本发明化合物的药物有效量将在约0.1至50mg/kg,或者约0.1至30mg/kg患者体重/天的范围内,其中所使用的化合物的典型初始范围为0.3至15mg/kg/天。在另一个实施方案中,口服单位剂型如片剂和胶囊优选含有约20至约1000mg的本发明化合物。

[0223] 本发明的化合物可以通过任何合适的方式给药,包括经口、局部(包括含服和舌下)、直肠、阴道、透皮、胃肠外、皮下、腹膜内、肺内、皮内、鞘内和硬膜外及鼻内给药,以及在期望用于局部治疗时,病变内给药。胃肠外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下给药。

[0224] 本发明的化合物可以以任何方便的给药形式给药,例如片剂、散剂、胶囊、溶液、分散液、混悬剂、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶、乳液、贴剂等。这些组合物可以含有药物制剂中常见的组分,例如稀释剂、载体、pH调节剂、甜味剂、填充剂和其他活性物质。

[0225] 典型制剂通过混合本发明的化合物和载体或赋形剂进行制备。合适的载体和赋形剂对于本领域技术人员是熟知的,并且详细记载于例如Ansel, Howard C.等人,Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. Philadelphia: Lippincott, Williams&Wilkins, 2004; Gennaro, Alfonso R.等人,Remington: The Science and Practice of Pharmacy. Philadelphia: Lippincott, Williams&Wilkins, 2000; 和Rowe, Raymond C. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Chicago, Pharmaceutical Press, 2005。制剂还可以包含一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、湿润剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味

剂、芳香剂、矫味剂、稀释剂和其它公知的添加剂,以便使药物(即本发明的化合物或其药物组合物)具有优美的外观或有助于药物产品(即药物)的生产。

[0226] 适合的口服剂型的实例是包含约20至1000mg的本发明的化合物、约30至90mg无水乳糖、约5至40mg交联羧甲基纤维素钠、约5至30mg 聚乙烯吡咯烷酮(PVP) K30和约1至10mg硬脂酸镁的片剂。首先将粉状成分混合在一起,然后与PVP的溶液混合。可以将所得组合物干燥、制粒、与硬脂酸镁混合并使用常规设备压制成片剂。气雾剂制剂的一个实例可以通过将例如20至1000mg的本发明化合物溶解在合适缓冲溶液例如磷酸盐缓冲液中,在需要时添加张力剂例如盐如氯化钠而制备。所述溶液可以过滤,例如使用0.2微米滤器过滤,以除去杂质和污染物。

[0227] 因此,一个实施方案包括药物组合物,其包含式(I)或(Ia)的化合物或其式(II)或(IIa)的前药或其可药用盐或对映体或非对映体。

[0228] 在另一个实施方案中,包括药物组合物,其包含式(I)或(Ia)的化合物或其式(II)或(IIa)的前药或其可药用盐或对映体或非对映体,以及可药用载体或赋形剂。

[0229] 另一个实施方案包括用于治疗乙型肝炎病毒感染的药物组合物,其包含式(I)或(Ia)的化合物或其式(II)或(IIa)的前药或其可药用盐或对映体或非对映体。

[0230] 适应症和治疗方法

[0231] 本发明提供了用于在有需要的患者中治疗或预防乙型肝炎病毒感染和/或丙型肝炎病毒感染的方法。

[0232] 本发明还提供了用于在治疗和/或预防乙型肝炎病毒感染和/或丙型肝炎病毒感染中将治疗有效量的式(I)或(Ia)化合物或其前药或本发明的其它化合物引入到患者血液中的方法。

[0233] 本发明的方法特别适合于人类患者。具体而言,本发明的方法和剂量可用于但不限于HBV和/或HCV感染的患者。本发明的方法和剂量还可用于其他进行抗病毒治疗的患者。本发明的预防方法特别适用于有病毒感染风险的患者。这些患者包括,但不限于医护人员,如医生、护士、临终关怀者;军事人员;教师;保育员;旅行至或生活在国外、特别是第三世界地区的患者,包括社会援助工作者、传教士和外交官。最后,所述的方法和组合物包括对难治性患者或对治疗耐受的患者、例如对逆转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂等耐受的患者的治疗。

[0234] 另一个实施方案包括一种在需要所述治疗的哺乳动物中治疗或预防乙型肝炎病毒感染和/或丙型肝炎病毒感染的方法,所述方法包括给所述哺乳动物施用治疗有效量的式(I)或(Ia)的化合物或其前药、或其对映体、非对映体、前药或可药用盐。

实施例

[0235] 通过参照以下实施例可以更完整地理解本发明。然而,不应将它们视为限定本发明的范围。

[0236] 缩写

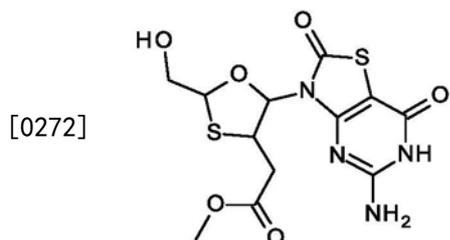
[0237] ACN: 乙腈

[0238] HATU: 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐

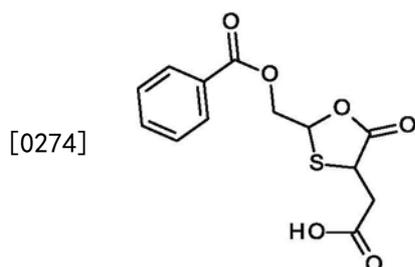
- [0239] DMAP: 4-二甲基氨基吡啶
- [0240] DIPEA: 二异丙基乙基胺
- [0241] p-TsOH: 4-甲基苯磺酸
- [0242] DMSO-d₆: 氘代二甲基亚砷
- [0243] DCM: 二氯甲烷
- [0244] FBS: 胎牛血清
- [0245] rt: 室温
- [0246] HPLC: 高效液相色谱
- [0247] LiAlH(Ot-Bu)₃: 三叔丁氧基氢化锂铝
- [0248] v/v: 体积比
- [0249] SFC: 超临界液相色谱
- [0250] MS (ESI): 质谱(电子喷雾电离)
- [0251] BSA: N,O-双(三甲基硅烷基)乙酰胺
- [0252] obsd.: 实测值
- [0253] EC₅₀: 产生50%该激动剂最大可能响应值的激动剂的摩尔浓度
- [0254] TEA: 三乙胺
- [0255] TMSCHN₂: 三甲基硅烷基重氮甲烷
- [0256] TMSI: 三甲基碘硅烷
- [0257] CDI: 1,1'-羰基二咪唑
- [0258] TMSCl: 三甲基氯硅烷
- [0259] NBS: N-溴琥珀酰亚胺
- [0260] 通用实验条件
- [0261] 中间体和最终化合物通过快速色谱使用以下仪器之一进行纯化:i) Biotage SP1系统和Quad 12/25Cartridge组件;ii) ISCO组合快速色谱仪。硅胶品牌和孔径:i) KP-SIL **60 Å**, 粒度:40-60μm;ii) CAS注册号:硅胶:63231-67-4, 粒度:47-60微米硅胶;iii) 来自青岛海洋化工股份有限公司(Qingdao Haiyang Chemical Co.,Ltd)的ZCX,孔:200-300或300-400。
- [0262] 中间体和最终化合物通过使用X Bridge™ Perp C₁₈(5μm, OBD™ 30×100mm)柱或SunFire™ Perp C₁₈(5μm, OBD™ 30×100mm)柱的反相柱制备型HPLC纯化。
- [0263] LC/MS光谱使用Waters UPLC-SQD质谱仪获得。标准LC/MS条件如下(运行时间3分钟):
- [0264] 酸性条件:A:0.1%甲酸和1%乙腈的H₂O溶液;B:0.1%甲酸的乙腈溶液;
- [0265] 碱性条件:A:0.05%NH₃·H₂O的H₂O溶液;B:乙腈;
- [0266] 质谱(MS):通常仅报告指示母核质量的离子,并且除非另有说明,引述的质量离子是正质量离子(M+H)⁺。
- [0267] NMR谱图使用Bruker Avance 400MHz获得。
- [0268] 所有涉及空气敏感试剂的反应均在氩气氛下进行。除非另有说明,试剂在从商业供应商处获得后不经进一步纯化直接使用。
- [0269] 制备实施例

[0270] 实施例1

[0271] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯



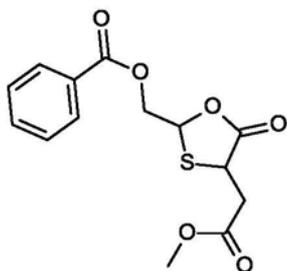
[0273] 2-[2-(苯甲酰氧基甲基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(化合物1a)的制备



[0275] 将苯甲酰氧基乙醛(1.97g,12mmol)和巯基琥珀酸(1.5g,10mmol)的混合物在催化量的p-TsOH(0.23g,1.3mmol)的存在下在甲苯(50mL)中于60℃搅拌4小时。反应完成后,将混合物冷却至室温并用EtOAc(50mL)稀释,用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到粗产物,将其通过柱色谱纯化得到2.5g白色粉末状2-[2-(苯甲酰氧基甲基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(化合物1a)。

[0276] 化合物1a:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:12.78(brs,1H),7.99(m,2H),7.70(m,1H),7.57(m,2H),5.92(t,J=4.8Hz,1H),4.53-4.65(m,2H),4.42-4.53(m,1H),2.72-3.06(m,2H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:297。

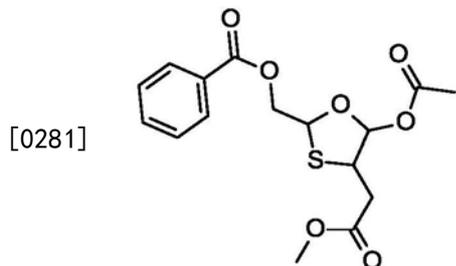
[0277] 苯甲酸[4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1b)的制备



[0278] 向2-[2-(苯甲酰氧基甲基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(化合物1a)(1.5g,5.1mmol)的DCM(20mL)溶液中加入CDI(1.23g,7.6mmol)。将混合物于室温下搅拌3小时,然后加入MeOH(0.62mL,15mmol)。将混合物于室温下继续搅拌16小时。反应完成后,将反应混合物用饱和NH₄Cl终止反应,用DCM萃取。将合并的有机层用饱和NH₄Cl和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到粗产物,将其通过柱色谱纯化得到0.83g黄色油状的苯甲酸[4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1b)。

[0279] 化合物1b: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} : 8.05 (m, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.48 (m, 2H), 5.74-5.86 (m, 1H), 4.60 (m, 2H), 4.30-4.40 (m, 1H), 3.77 (m, 3H), 2.97-3.24 (m, 2H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 311。

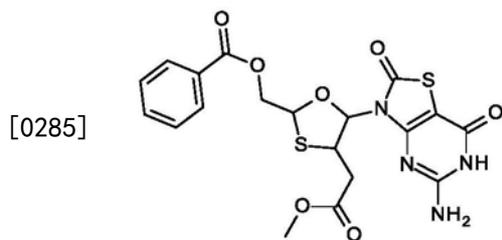
[0280] 苯甲酸[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1c)的制备



[0282] 向苯甲酸[4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1b) (600mg, 1.9mmol) 的无水THF (10mL) 溶液于-78℃下滴加 $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ (1M的THF溶液, 2.9mL, 2.9mmol)。于室温下搅拌2小时后, 加入吡啶 (0.78mL, 9.6mmol)、乙酸酐 (0.91mL, 9.6mmol) 和DMAP (0.71g, 5.8mmol)。将反应混合物于室温下搅拌过夜然后用饱和 NH_4Cl 终止反应。将溶液用DCM (50mL) 萃取三次。将有机层合并, 用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩得到粗产物, 将其通过快速柱色谱纯化得到0.34g黄色油状的苯甲酸[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1c)。

[0283] 化合物1c: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} : 8.08 (m, 2H), 7.59 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 6.42-6.73 (m, 1H), 5.65-5.77 (m, 1H), 4.50-4.70 (m, 1H), 4.34-4.42 (m, 1H), 3.90-4.03 (m, 1H), 3.67-3.78 (m, 3H), 2.58-2.91 (m, 2H), 2.06-2.18 (m, 3H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 355。

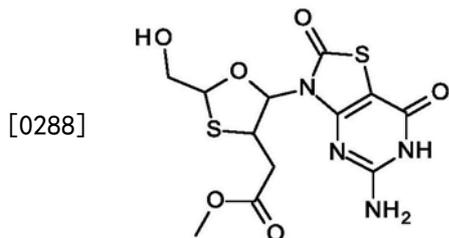
[0284] 苯甲酸[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1d)的制备



[0286] 向5-氨基-7-羟基-3H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2-酮 (368mg, 2.0mmol) 的ACN (15mL) 溶液中加入BSA (1.42g, 7.0mmol)。将混合物于60℃下加热直至形成澄清的溶液。减压蒸除溶剂。将残余物溶于DCM (20mL)。向上述溶液中加入苯甲酸[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1c) (700mg, 2.0mmol) 和TMSI (0.61mL, 4.4mmol)。在室温下搅拌过夜后, 将反应混合物用饱和 NaHCO_3 溶液终止反应。将混合物用DCM (100mL) 萃取三次。将合并的有机层用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩得到粗产物, 将其通过快速硅胶柱色谱纯化得到0.22g淡黄色粉末状苯甲酸[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1d)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 479。

[0287] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-

氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例1)的制备



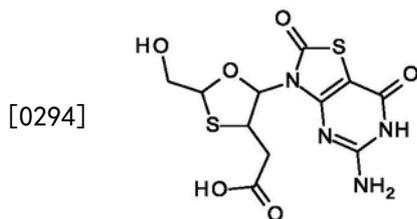
[0289] 向苯甲酸[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物1d)(180mg,0.38 mmol)的MeOH(10mL)溶液中加入K₂CO₃(0.21g,1.5mmol)。将混合物于室温下搅拌。反应完成后,将混合物用HOAc中和至pH 7,然后浓缩得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例1-P1)2mg和2-[(顺式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例1-P2)4mg。按照与实施例2类似的方法确定实施例1-P1和实施例1-P2的相对构型。

[0290] 实施例1-P1:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:5.96(d,J=8.5Hz,1H),5.29(dd,J=5.5,4.3Hz,1H),4.86(m,1H),3.83(m,1H),3.75(m,1H),3.61(s,3H),2.76(d,J=7.3Hz,2H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:375。

[0291] 实施例1-P2:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:6.14(d,J=7.0Hz,1H),5.78(dd,J=5.3,4.0Hz,1H),4.83(m,1H),3.75(m,2H),3.61(s,3H),2.82(m,2H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:375。

[0292] 实施例2

[0293] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸

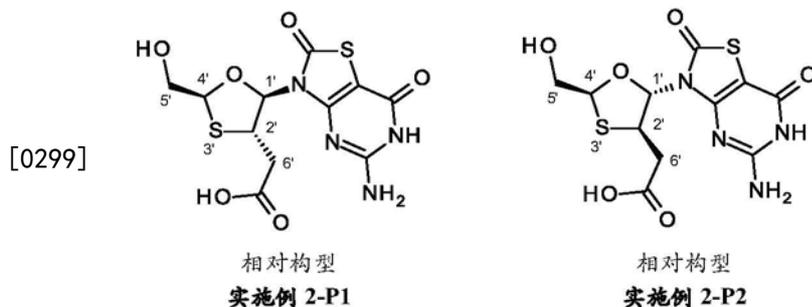


[0295] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例2)的制备

[0296] 向2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯粗品(实施例1)(168mg,0.45mmol)的THF(10mL)溶液中加入LiOH水溶液(2M,5mL,1.0mmol)。将反应混合物于室温下搅拌。反应完成后,将混合物用HOAc中和至pH 7,浓缩得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例2-P1)8mg和2-[(顺式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例2-P2)17mg。实施例2-P1和实施例2-P2的化合物的相对构型通过NOESY测定。

[0297] 实施例2-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.96 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 5.28 (dd, $J=5.5, 4.0\text{Hz}$, 1H), 4.85 (m, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 2.67 (m, 2H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 361。

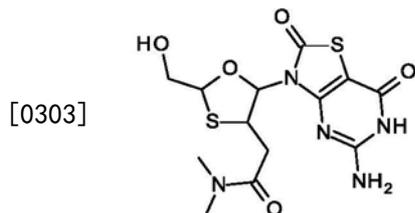
[0298] 实施例2-P2: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.13 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.77 (dd, $J=5.5, 4.3\text{Hz}$, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.75 (m, 2H), 2.77 (m, 1H), 2.66 (m, 1H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 361。



[0300] 对于实施例2-P1,观察到了 $\text{C}1'-\text{H}$ 和 $\text{C}4'-\text{H}$ 、 $\text{C}1'-\text{H}$ 和 $\text{C}6'-\text{H}$ 的 NOESY相关,未观察到 $\text{C}2'-\text{H}$ 和 $\text{C}4'-\text{H}$ 的相关。对于实施例2-P2,观察到了 $\text{C}2'-\text{H}$ 和 $\text{C}4'-\text{H}$ 、 $\text{C}1'-\text{H}$ 和 $\text{C}6'-\text{H}$ 的NOESY相关,未观察到 $\text{C}1'-\text{H}$ 和 $\text{C}4'-\text{H}$ 的相关。

[0301] 实施例3

[0302] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺



[0304] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺的制备

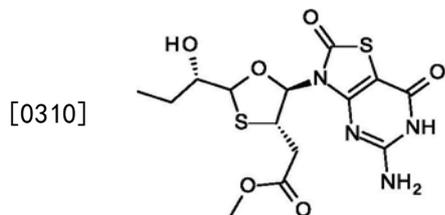
[0305] 向2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸粗品(实施例2)(133mg, 0.37mmol)、二甲胺(0.22mL, 0.45mmol)和DIPEA(0.3mL, 1.5mmol)的DMF(5mL)溶液中加入HATU(214mg, 0.56mmol)。将反应混合物于室温下搅拌1小时,用饱和 NH_4Cl 终止反应,用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺(实施例3-P1)6mg和2-[(顺式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺(实施例3-P2)10mg。按照与实施例2类似的方法确定实施例3-P1和实施例3-P2的化合物的相对构型。

[0306] 实施例3-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.96 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 5.28 (dd, $J=5.3, 4.02\text{Hz}$, 1H), 4.95 (m, 1H), 3.79 (m, 2H), 3.03 (s, 3H), 2.88 (m, 1H), 2.84 (s, 3H), 2.76 (m, 1H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 388。

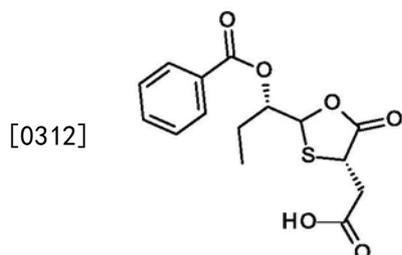
[0307] 实施例3-P2: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.13 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.76 (t, $J=4.6\text{Hz}$, 1H), 4.86 (m, 1H), 3.75 (m, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.95 (m, 1H), 2.86 (s, 3H), 2.83 (m, 1H)。MS实测值 (ESI^+) [$\text{M}+\text{H}^+$]: 388。

[0308] 实施例4

[0309] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯



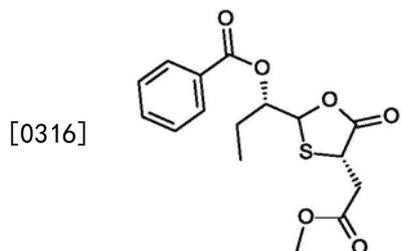
[0311] 2-[(4S)-2-[(1S)-1-苯甲酰氧基丙基]-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸 (化合物4a) 的制备



[0313] 将苯甲酸 [(1S)-1-甲酰基丙基] 酯 (4.6g, 24mmol) (合成参见: J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 3450-3451.)、(S)-2-巯基琥珀酸 (3.59g, 24mmol) 和 p-TsOH (455mg, 2.4mmol) 在甲苯 (200mL) 中的混合物于 60°C 搅拌4小时。反应完成后, 将混合物用 EtOAc (100mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化 (EtOAc/己烷=1:10~1:3作为洗脱剂) 得到3.9g棕色油状2-[(4S)-2-[(1S)-1-苯甲酰氧基丙基]-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸 (化合物4a)。

[0314] 化合物4a: ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{ppm} : 12.78 (brs, 1H), 7.98 (m, 2H), 7.71 (m, 1H), 7.57 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 5.81-5.91 (m, 1H), 5.19-5.39 (m, 1H), 4.21-4.50 (m, 1H), 2.63-3.00 (m, 2H), 1.63-1.88 (m, 2H), 0.93 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS实测值 (ESI^+) [$\text{M}+\text{H}^+$]: 325。

[0315] 苯甲酸 [(1S)-1-[(4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基] 酯 (化合物4b) 的制备



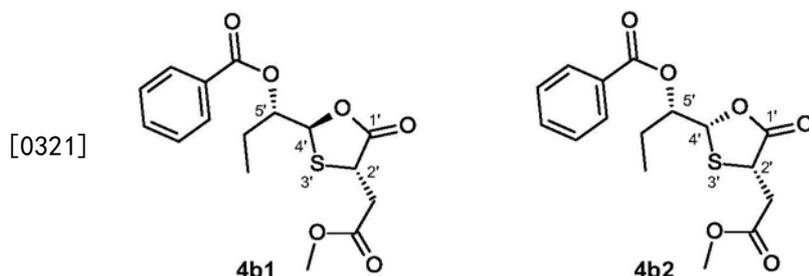
[0317] 向2-((4S)-2-((S)-1-(苯甲酰氧基)丙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基)乙酸 (化合物4a) (3.6g, 12mmol) 的 $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ ($v/v=4:1$, 100mL) 溶液中在室温下加入 TMSCHN_2 (2M的己烷溶液, 8.3mL, 17mmol)。然后将反应混合物于室温下搅拌2小时, 然后用水 (50mL)

终止反应,用EtOAc萃取。将合并的有机萃取液用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速色谱纯化(EtOAc/己烷=1:10~1:1作为洗脱剂)得到顺式/反式混合物形式的苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b) 3.6g。将苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b) (2.1g, 6.2 mmol) 进一步通过SFC分离得到黄色油状的苯甲酸[(1S)-1-[(2S,4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b1) 0.87g和苯甲酸[(1S)-1-[(2R,4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b2) 0.9g。通过NOESY确定化合物4b1和化合物4b2的绝对构型。

[0318] 化合物4b:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 8.05 (m, 2H), 7.66 (m, 1H), 7.52 (m, 2H), 5.81 (m, 1H), 5.26-5.44 (m, 1H), 4.23-4.50 (m, 1H), 3.62-3.77 (m, 3H), 2.79-3.12 (m, 2H), 1.77-1.99 (m, 2H), 0.99-1.09 (m, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 339。

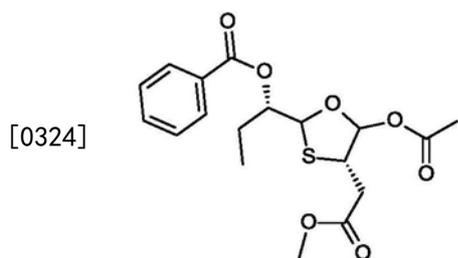
[0319] 化合物4b1:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 8.05 (dd, J=8.3, 1.3Hz, 2H), 7.67 (m, 1H), 7.53 (m, 2H), 5.80 (dd, J=4.3, 0.8Hz, 1H), 5.31 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.06-2.92 (m, 2H), 1.91 (m, 2H), 1.03 (t, J=7.5 Hz, 3H)。

[0320] 化合物4b2:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 8.06 (dd, J=1.3, 8.3Hz, 2H), 7.66 (m, 1H), 7.53 (m, 2H), 5.82 (d, J=4.8Hz, 1H), 5.39 (td, J=8.8, 4.4Hz, 1H), 4.47 (dd, J=8.5, 4.3Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.07 (dd, J=17.2, 4.4Hz, 1H), 2.91-2.80 (m, 1H), 2.00-1.77 (m, 2H), 1.03 (t, J=7.5Hz, 3H)。



[0322] 对于化合物4b1,观察到了C2'-H和C5'-H的NOESY相关。对于化合物4b2,观察到了C2'-H和C4'-H的NOESY相关。

[0323] 苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4c)的制备

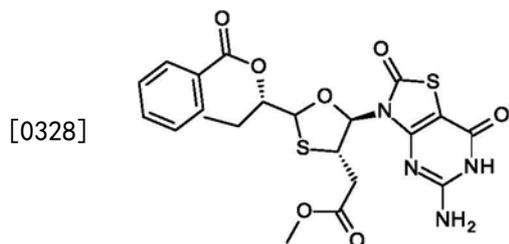


[0325] 向苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b) (3.3g, 9.8mmol) 的无水THF (60mL) 溶液中于-78℃下滴加LiAlH(Ot-Bu)₃ (1M的THF溶液, 14.6mL, 15mmol)。将反应混合物升温至室温并在室温下搅拌2小时。然后加入吡啶(3.86g, 3.9mL, 49mmol)、乙酸酐(4.98g, 4.6mL, 49mmol)和DMAP

(3.57g, 29mmol)。将反应混合物于室温下搅拌过夜,然后用饱和NH₄Cl终止反应。将溶液用DCM (50mL) 萃取三次。将合并的有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化(EtOAc/己烷=1:10~3:1作为洗脱剂) 得到3.7g黄色油状的苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4c)。

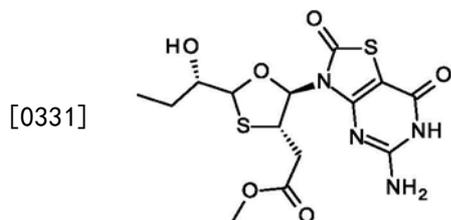
[0326] 化合物4c: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δppm: 8.05 (m, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.51 (m, 2H), 6.34-6.50 (m, 1H), 5.42-5.67 (m, 1H), 5.23-5.36 (m, 1H), 3.83-4.16 (m, 1H), 3.64-3.73 (m, 3H), 2.59-2.92 (m, 2H), 2.01-2.38 (m, 3H), 1.57-1.93 (m, 2H), 0.92-1.04 (m, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 383。

[0327] 苯甲酸[(1S)-1-[(4S, 5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4d) 的制备



[0329] 向5-氨基-7-羟基噻唑并[4,5-d]嘧啶-2(3H)-酮(1.4g, 7.6mmol)的无水CH₃CN (50mL) 溶液中加入BSA (5.71g, 28mmol)。将混合物于60℃下加热直至溶液变为澄清。减压蒸除溶剂。将残余物重新溶于无水DCM (100 mL)。向溶液中加入苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4c) (2.9g, 7.6mmol) 和TMSI (3.34g, 2.3mL, 17mmol)。将反应混合物于室温下搅拌过夜,然后用饱和NaHCO₃终止反应。将溶液用DCM (100mL) 萃取三次并用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥然后浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化(DCM/MeOH=20:1作为洗脱剂) 得到1.7g黄色固体状苯甲酸[(1S)-1-[(4S, 5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4d)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 507。

[0330] 2-[(4S, 5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例4) 的制备

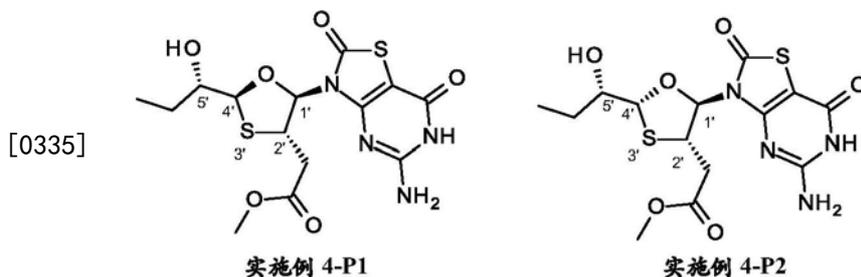


[0332] 向苯甲酸[(1S)-1-[(4S, 5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4d) (0.25g, 0.49mmol) 的MeOH (10mL) 溶液中加入K₂CO₃ (0.13g, 0.94 mmol)。将混合物于室温下搅拌过夜。反应完成后,将反应混合物用HOAc 中和至pH 7。将混合物真空浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(2S, 4S, 5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并

[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例4-P1) 3 mg和2-[(2R,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例4-P2) 4 mg。通过NOESY确定实施例4-P1和实施例4-P2的绝对构型。

[0333] 实施例4-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.94 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 5.17 (d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 4.81 (m, 1H), 3.65 (ddd, $J=8.9, 5.1, 3.5\text{Hz}$, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.76 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 2H), 1.64 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.02 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS实测值 (ESI^+) $[(\text{M}+\text{H})^+]$: 403。

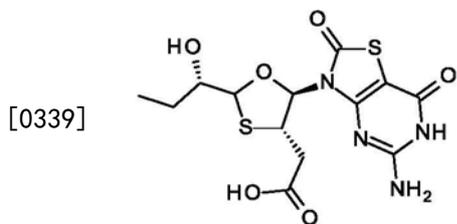
[0334] 实施例4-P2: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.14 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.67 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 4.79 (q, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 3.68 (ddd, $J=8.8, 5.2, 3.8\text{Hz}$, 1H), 3.61 (s, 3H), 2.81 (m, 2H), 1.66 (m, 1H), 1.41 (m, 1H), 1.01 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS实测值 (ESI^+) $[(\text{M}+\text{H})^+]$: 403。



[0336] 对于实施例4-P1,观察到了 $\text{C}2'-\text{H}$ 和 $\text{C}5'-\text{H}$ 、 $\text{C}1'-\text{H}$ 和 $\text{C}4'-\text{H}$ 的NOESY 相关。对于实施例4-P2,观察到了 $\text{C}2'-\text{H}$ 和 $\text{C}4'-\text{H}$ 的NOESY相关, $\text{C}1'-\text{H}$ 与 $\text{C}4'-\text{H}$ 不相关。

[0337] 实施例5

[0338] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸



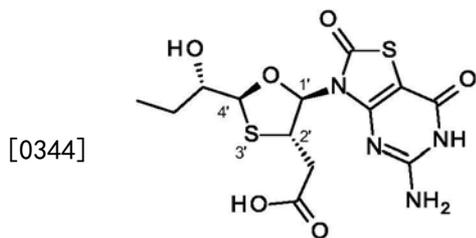
[0340] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例5)的制备

[0341] 向2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯粗品(实施例4) (400mg, 1.0mmol)的THF (10mL)溶液中加入LiOH水溶液 (1M, 5mL, 5 mmol)。将反应混合物于室温下搅拌2小时,然后用1N HCl中和至pH 7 并浓缩得到粗产物,将其通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的 2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例5-P1) 3mg和 2-[(2R,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例5-P2) 4mg。通过NOESY 确定实施例5-P1和实施例5-P2的绝对构型。

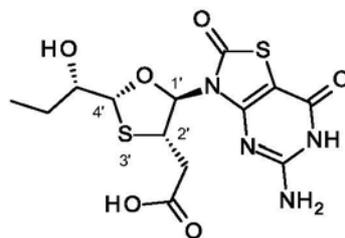
[0342] 实施例5-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.93 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 5.14 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 4.82 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 2.63 (m, 2H), 1.64 (m, 1H), 1.49 (m, 1H), 1.02 (t, $J=$

7.4Hz, 3H)。MS实测值(ESI⁺) [(M+H)⁺]: 389。

[0343] 实施例5-P2: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.13 (d, J=7.0Hz, 1H), 5.66 (d, J=5.5Hz, 1H), 4.79 (m, 1H), 3.67 (ddd, J=8.9, 5.3, 3.6Hz, 1H), 2.75 (m, 1H), 2.66 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.42 (m, 1H), 1.01 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS实测值(ESI⁺) [(M+H)⁺]: 389。



实施例 5-P1

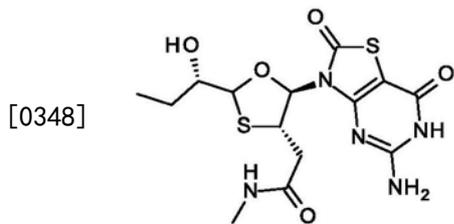


实施例 5-P2

[0345] 对于实施例5-P1,观察到了C1'-H和C4'-H的NOESY相关,C2'-H与C4'-H不相关。对于实施例5-P2,观察到了C2'-H和C4'-H的NOESY相关,C1'-H与C4'-H不相关。

[0346] 实施例6

[0347] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺



[0349] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺(实施例6)的制备

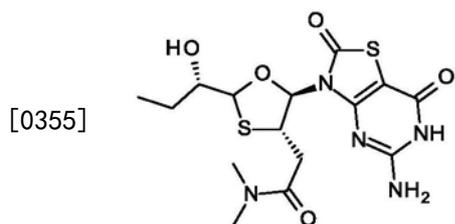
[0350] 向2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸粗品(实施例5)(200 mg, 0.51mmol)的DMF(5mL)溶液中加入甲胺盐酸盐(70mg, 1.03mol)、DIPEA(0.36mL, 2.1mmol)和HATU(294mg, 0.77mmol)。将反应液于室温下搅拌2小时,然后用饱和NH₄Cl终止反应并用EtOAc萃取。将有机层浓缩得到粗产物,将其进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺(实施例6-P1)2mg和2-[(2R,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N-甲基-乙酰胺(实施例6-P2)5mg。按照与实施例5类似的方式确定绝对构型。

[0351] 实施例6-P1: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.91 (d, J=8.8Hz, 1H), 5.15 (d, J=5.3Hz, 1H), 4.84 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 2.62 (s, 3H), 2.55 (d, J=7.3Hz, 2H), 1.64 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.02 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS实测值(ESI⁺) [(M+H)⁺]: 402。

[0352] 实施例6-P2: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.10 (d, J=7.3Hz, 1H), 5.69 (d, J=5.5Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.68 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 2.57 (m, 2H), 1.68 (m, 1H), 1.42 (m, 1H), 1.01 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS实测值(ESI⁺) [(M+H)⁺]: 402。

[0353] 实施例7

[0354] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺



[0356] 2-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺(7)的制备

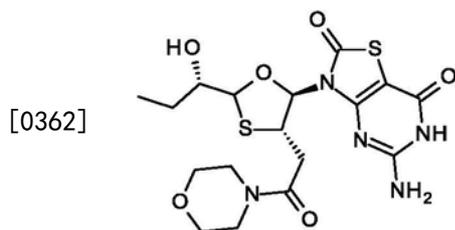
[0357] 标题化合物按照与实施例6类似的方式,通过用二甲胺代替甲胺盐酸盐进行制备。将实施例7进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺(实施例7-P1) 4mg和2-[(2R,4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-N,N-二甲基-乙酰胺(实施例7-P2) 9mg。按照与实施例5类似的方式确定实施例7-P1和实施例7-P2的绝对构型。

[0358] 实施例7-P1: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.93 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 5.14 (d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 4.91 (m, 1H), 3.66 (m, 1H), 3.04 (s, 3H), 2.89 (m, 1H), 2.84 (s, 3H), 2.77 (m, 1H), 1.65 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.02 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS实测值 (ESI^+) [$\text{M}+\text{H}^+$]: 416。

[0359] 实施例7-P2: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.14 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.65 (d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.84 (m, 1H), 3.69 (ddd, $J=8.8, 5.0, 3.8\text{Hz}$, 1H), 3.06 (s, 3H), 2.94 (m, 1H), 2.82 (m, 4H), 1.67 (m, 1H), 1.41 (m, 1H), 1.01 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS实测值 (ESI^+) [$\text{M}+\text{H}^+$]: 416。

[0360] 实施例8

[0361] 5-氨基-3-[(4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮



[0363] 5-氨基-3-[(4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮(化合物8)的制备

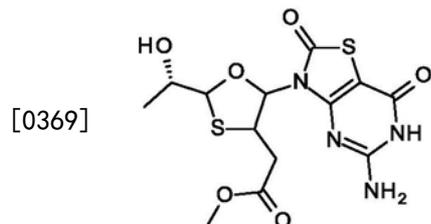
[0364] 标题化合物按照与实施例6类似的方式,通过用吗啉代替甲胺盐酸盐进行制备。将实施例8进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的5-氨基-3-[(2S,4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮(实施例8-P1) 4mg和5-氨基-3-[(2R,4S,5R)-2-[(1S)-1-羟基丙基]-4-(2-吗啉代-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-5-基]-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮(实施例8-P2) 10mg。按照与实施例5类似的方式确定实施例8-P1和实施例8-P2的绝对构型。

[0365] 实施例8-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.93 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 5.14 (d, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 4.94 (m, 1H), 3.65 (m, 3H), 3.59 (m, 2H), 3.48 (m, 4H), 2.84 (m, 2H), 1.65 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.02 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS 实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 458。

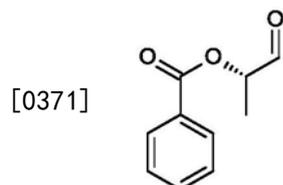
[0366] 实施例8-P2: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.13 (m, 1H), 5.65 (d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 4.93 (m, 1H), 3.68 (m, 3H), 3.60 (m, 2H), 3.52 (m, 2H), 3.48 (m, 2H), 2.92 (m, 1H), 2.86 (m, 1H), 1.67 (m, 1H), 1.41 (m, 1H), 1.01 (m, 3H)。MS 实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 458。

[0367] 实施例9

[0368] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯



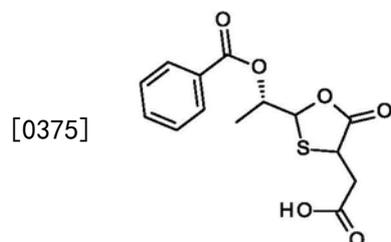
[0370] 苯甲酸[(1S)-1-甲基-2-氧代-乙基]酯(化合物9a)的制备



[0372] 将丙醛 (5.0g, 86mmol)、[二苯基-[(2S)-吡咯烷-2-基]甲氧基]-三甲基-硅烷 (2.8g, 8.6mmol) 和氢醌 (948mg, 8.6mmol) 在 THF (200mL) 中的混合物于 0°C 下搅拌。然后向混合物中加入苄基过氧化物 (22.9g, 95mmol)。于 0°C 至室温下搅拌 4 小时后, 将反应混合物倒入 1N HCl 水溶液 (200mL) 中并用 EtOAc 萃取, 用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化 (EtOAc/己烷=1:10~1:3 作为洗脱剂) 得到 4.5g 黄色油状苯甲酸[(1S)-1-甲基-2-氧代-乙基]酯(化合物9a)。

[0373] 化合物9a: ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{ppm} : 9.64 (m, 1H), 8.03 (m, 2H), 7.71 (m, 1H), 7.62 (m, 2H), 4.99 (m, 1H), 1.48 (m, 3H)。MS 实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 179。

[0374] 2-[2-[(1S)-1-苯甲酰氧基乙基]-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(化合物9b)的制备

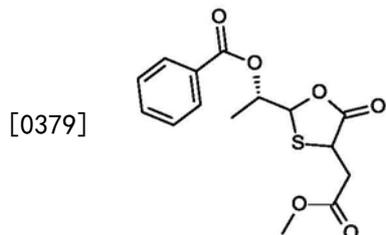


[0376] 将苯甲酸[(1S)-1-甲基-2-氧代-乙基]酯(化合物9a) (3.0g, 17mmol)、2-巯基琥珀酸 (2.53g, 17mmol) 和 p-TsOH (320mg, 1.7mmol) 在甲苯 (150 mL) 中的混合物于 60°C 下搅拌 4 小时。反应完成后, 将反应混合物用 EtOAc (50mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化 (EtOAc/己烷=1:10~1:3 作为洗脱剂)

得到 4.7g 黄色油状 2-[2-[(1S)-1-苯甲酰氧基乙基]-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(化合物9b)。

[0377] 化合物9b: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 12.76 (brs, 1H), 7.95 (m, 2H), 7.70 (m, 1H), 7.56 (t, $J=7.7$, 2H), 5.78-5.86 (m, 1H), 5.24-5.40 (m, 1H), 4.28-4.54 (m, 1H), 2.57-3.02 (m, 2H), 1.33-1.42 (m, 3H)。MS实测值 (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 311。

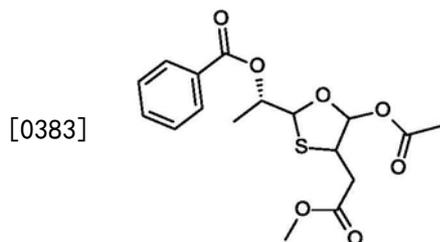
[0378] 苯甲酸[(1S)-1-[4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9c)的制备



[0380] 向 2-[2-[(1S)-1-苯甲酰氧基乙基]-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(化合物9b) (1.7g, 5.5mmol) 在 Et $_2$ O/MeOH ($v/v=4:1$, 50mL) 中的溶液中加入 TMSCHN $_2$ (2M 的己烷溶液, 4.1mL, 8.2mmol)。将反应混合物于室温下搅拌 2 小时, 然后用水 (50mL) 终止反应, 用 EtOAc 萃取。将合并的有机萃取液用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化 (EtOAc/己烷=1:10~1:1 作为洗脱剂) 得到 1.5g 黄色油状苯甲酸[(1S)-1-[4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9c)。

[0381] 化合物9c: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7.96 (m, 2H), 7.71 (m, 1H), 7.57 (t, $J=7.7$ Hz, 2H), 5.77-5.90 (m, 1H), 5.21-5.44 (m, 1H), 4.34-4.59 (m, 1H), 3.55-3.67 (m, 3H), 2.74-3.09 (m, 2H), 1.38 (q, $J=6.4$ Hz, 3H)。MS实测值 (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 325。

[0382] 苯甲酸[(1S)-1-[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9d)的制备

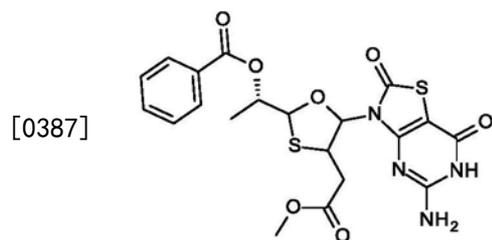


[0384] 向苯甲酸[(1S)-1-[4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9c) (1.5g, 4.6mmol) 的无水 THF (60mL) 溶液中加入 LiAlH (Ot-Bu) $_3$ (1M 的 THF 溶液, 6.9mL, 6.9mmol)。将反应混合物升温至室温并在室温下搅拌 2 小时。然后加入吡啶 (1.87mL, 23 mmol)、乙酸酐 (2.2mL, 23mmol) 和 DMAP (1.69g, 14mmol)。将反应混合物于室温下搅拌过夜然后用饱和 NH $_4$ Cl 终止反应。将溶液用 DCM (50 mL) 萃取三次。将合并的有机层用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化 (EtOAc/己烷=1:10~1:3 作为洗脱剂) 得到 1.1g 黄色油状的苯甲酸[(1S)-1-[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9d)。

[0385] 化合物9d: ^1H NMR (400MHz, CD $_3$ OD) δ ppm: 8.03 (m, 2H), 7.63 (m, 1H), 7.50 (m, 2H), 6.36-6.54 (m, 1H), 5.43-5.60 (m, 1H), 5.22-5.42 (m, 1H), 3.85-4.16 (m, 1H), 3.67-3.75 (m,

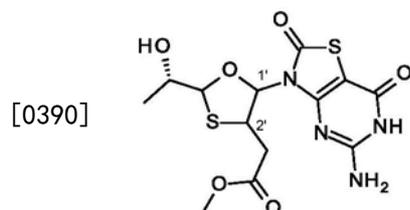
3H), 2.58-2.95 (m, 2H), 1.94-2.15 (m, 3H), 1.29-1.47 (m, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 369。

[0386] 苯甲酸[(1S)-1-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9e)的制备



[0388] 向5-氨基-7-羟基噻唑并[4,5-d]嘧啶-2(3H)-酮(550mg, 3.0mmol)的无水ACN(50mL)溶液中加入BSA(2.7mL, 11mmol)。将混合物于60℃下加热直至溶液变为澄清。除去溶剂并将残余物重新溶于无水DCM(100 mL)。向溶液中加入苯甲酸[(1S)-1-[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9d)(1.1g, 3.0mmol)和TMSI(0.91mL, 6.6mmol)。将反应混合物于室温下搅拌过夜然后用饱和NaHCO₃终止反应。将溶液用DCM(100mL)萃取三次并用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥并浓缩。将残余物通过快速硅胶色谱纯化(DCM/甲醇=20:1作为洗脱剂)得到600mg黄色固体状苯甲酸[(1S)-1-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9e)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]: 493。

[0389] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例9)的制备



[0391] 向苯甲酸[(1S)-1-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]乙基]酯(化合物9e)(0.6g, 1.2mmol)的MeOH(10mL)溶液中加入K₂CO₃(253mg, 1.8mmol)。在室温下搅拌过夜后,将反应混合物用1N HCl水溶液调至pH 7,然后浓缩得到粗产物,将其进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的实施例9-P1(反式-1',2'-非对映体1)8mg、实施例9-P2(反式-1',2'-非对映体2)5 mg、实施例9-P3(反式-1',2'-非对映体3)2mg和实施例9-P4(反式-1',2'-非对映体4)2.5mg。

[0392] 实施例9-P1: ¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.14(d, J=7.0Hz, 1H), 5.62(d, J=5.3Hz, 1H), 4.80(q, J=7.3Hz, 1H), 3.92(m, 1H), 3.61(s, 3H), 2.82(m, 2H), 1.23(d, J=6.3Hz, 3H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]: 389。

[0393] 实施例9-P2: ¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.14(d, J=7.0Hz, 1H), 5.60(d, J=6.0Hz, 1H), 4.83(q, J=7.3Hz, 1H), 3.89(quin, J=6.3Hz, 1H), 3.61(s, 3H), 2.81(m, 2H), 1.21(d, J=6.5Hz, 3H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]: 389。

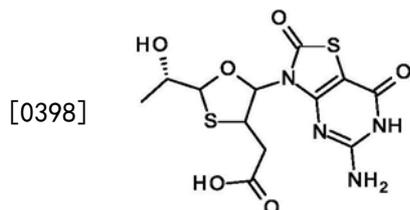
[0394] 实施例9-P3: ¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.94(d, J=8.5Hz, 1H), 5.11(d, J=

5.8Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 2.76 (d, J = 7.3Hz, 2H), 1.23 (d, J = 6.3Hz, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 389。

[0395] 实施例9-P4: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.95 (d, J = 8.5Hz, 1H), 5.14 (d, J = 4.3Hz, 1H), 4.75 (m, 1H), 4.02 (dd, J = 6.4, 4.1Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.75 (d, J = 7.0Hz, 2H), 1.21 (d, J = 6.5Hz, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 389。

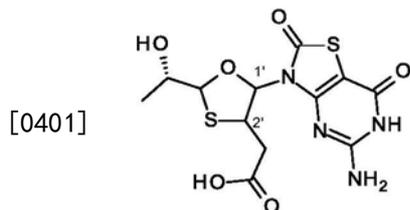
[0396] 实施例10

[0397] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸



[0399] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例10)的制备

[0400] 向2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基乙基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯的粗品混合物(实施例9, 280mg, 0.72mmol)的THF (10mL)溶液中加入LiOH水溶液(1M, 5mL, 5.0 mmol)。于室温下搅拌2小时后,将反应混合物用HCl水溶液调至pH 6~7,然后浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的实施例 10-P1 (反式-1', 2'-非对映体1) 23mg、实施例10-P2 (反式-1', 2'-非对映体2) 20mg、实施例10-P3 (反式-1', 2'-非对映体3) 9mg和实施例10-P4 (反式-1', 2'-非对映体4) 9mg。



(实施例10)

[0402] 实施例10-P1: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.12 (d, J = 7.0Hz, 1H), 5.57 (d, J = 6.3Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.88 (quin, J = 6.3Hz, 1H), 2.73 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 1.20 (d, J = 6.3Hz, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 375。

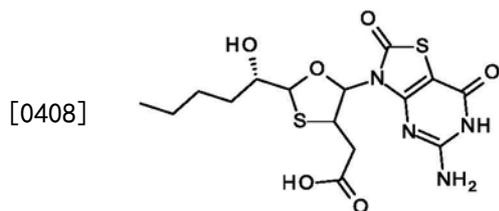
[0403] 实施例10-P2: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.13 (d, J = 7.0Hz, 1H), 5.60 (d, J = 5.0Hz, 1H), 4.80 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 2.74 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 1.24 (d, J = 6.5Hz, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 375。

[0404] 实施例10-P3: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.94 (d, J = 8.5Hz, 1H), 5.10 (d, J = 5.8Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.97 (quin, J = 6.3Hz, 1H), 2.68 (m, 2H), 1.23 (d, J = 6.3Hz, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 375。

[0405] 实施例10-P4: ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.95 (d, J = 8.8Hz, 1H), 5.13 (d, J = 4.3Hz, 1H), 4.74 (m, 1H), 4.02 (m, 1H), 2.67 (m, 2H), 1.21 (d, J = 6.3Hz, 3H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 375。

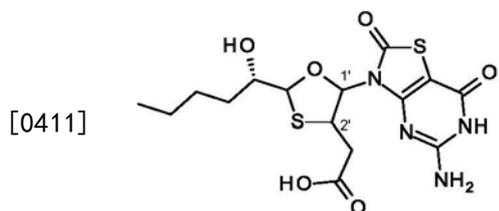
[0406] 实施例11

[0407] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基戊基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸



[0409] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基戊基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例11)的制备

[0410] 标题化合物按照与实施例10类似的方式,通过用己醛代替丙醛进行制备。将实施例11进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的实施例 11-P1(反式-1',2'-非对映体1) 13mg、实施例11-P2(反式-1',2'-非对映体2) 21mg、实施例11-P3(反式-1',2'-非对映体3) 10mg和实施例11-P4(反式-1',2'-非对映体4) 18mg。



(实施例11)

[0412] 实施例11-P1:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:6.10(d,J=7.0Hz, 1H),5.61(d,J=6.3Hz,1H),4.84(m,1H),3.66(m,1H),2.65(dd,J=15.1, 5.8Hz,1H),2.48(dd,J=15.3,9.3Hz,1H),1.50(m,3H),1.39(m,3H),0.94(t,J=7.2Hz,3H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:417。

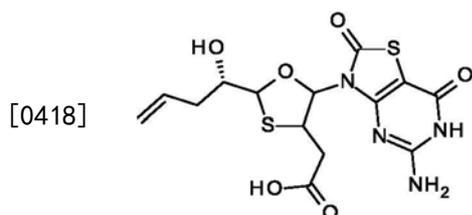
[0413] 实施例11-P2:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:6.10(d,J=7.3Hz, 1H),5.64(d,J=5.3Hz,1H),4.80(dt,J=8.8,6.5Hz,1H),3.73(m,1H),2.64(dd,J=14.9,5.6Hz,1H),2.47(dd,J=14.8,9.0Hz,1H),1.65(m,1H),1.51(m,1H),1.38(m,4H),0.94(t,J=7.2Hz,3H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:417。

[0414] 实施例11-P3:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:5.90(d,J=8.8Hz, 1H),5.09(d,J=5.8Hz,1H),4.83(m,1H),3.72(m,1H),2.58(m,1H),2.45(dd,J=15.6,9.3Hz,1H),1.59(m,1H),1.51(m,1H),1.38(m,4H),0.94(t,J=7.2Hz,3H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:417。

[0415] 实施例11-P4:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:5.91(d,J=8.8Hz, 1H),5.14(d,J=4.3Hz,1H),4.75(td,J=9.0,5.1Hz,1H),3.85(m,1H),2.55(m,1H),2.41(dd,J=15.1,9.0Hz,1H),1.46(m,6H),0.94(t,J=7.2 Hz,3H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:417。

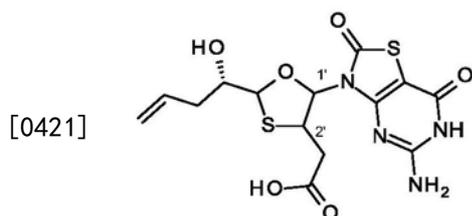
[0416] 实施例12

[0417] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丁-3-烯基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸



[0419] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(1S)-1-羟基丁-3-烯基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(12)的制备

[0420] 标题化合物按照与实施例10类似的方式,通过用4-甲基己-5-烯醛代替丙醛进行制备。将实施例12进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的实施例12-P1(反式-1',2'-非对映体1)23mg、实施例12-P2(反式-1',2'-非对映体2)22mg、实施例12-P3(反式-1',2'-非对映体3)16mg和实施例12-P4(反式-1',2'-非对映体4)28mg。



(实施例 12)

[0422] 实施例12-P1:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:6.13(d,J=6.8Hz,1H),5.91(ddt,J=17.0,10.1,7.0Hz,1H),5.65(d,J=5.5Hz,1H),5.10(m,2H),4.83(m,1H),3.74(m,1H),2.73(m,1H),2.63(m,1H),2.31(m,2H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:401。

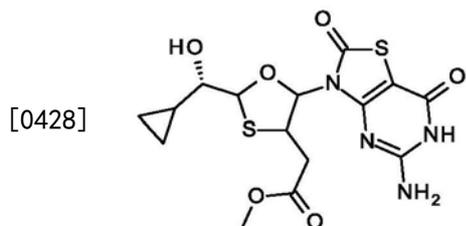
[0423] 实施例12-P2:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:6.11(d,J=7.0Hz,1H),5.90(ddt,J=17.2,10.1,6.9Hz,1H),5.65(d,J=5.5Hz,1H),5.10(m,2H),4.80(m,1H),3.78(m,1H),2.64(dd,J=14.7,5.6Hz,1H),2.44(m,2H),2.22(m,1H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:401。

[0424] 实施例12-P3:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:5.93(m,2H),5.10(m,3H),4.83(m,1H),3.81(m,1H),2.56(m,1H),2.42(m,2H),2.30(m,1H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:401。

[0425] 实施例12-P4:¹H NMR(400MHz,CD₃OD) δ_{ppm}:5.89(m,2H),5.17(d,J=4.3Hz,1H),5.04-5.16(m,2H),4.75(m,1H),3.94(m,1H),2.56(m,2H),2.31(m,2H)。MS实测值(ESI⁺)[(M+H)⁺]:401。

[0426] 实施例13

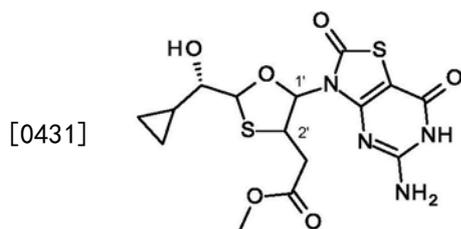
[0427] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯



[0429] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸甲酯(实施例13)的制备

[0430] 标题化合物按照与实施例9类似的方式,通过用2-环丙基乙醛代替丙醛进行制备。

将实施例13进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的实施例13-P1(反式-1',2'-非对映体1) 11mg、实施例13-P2(反式-1',2'-非对映体2) 8mg、实施例13-P3(反式-1',2'-非对映体3) 7mg和实施例 13-P4(反式-1',2'-非对映体4) 6mg。



(实施例 13)

[0432] 实施例13-P1:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.17 (d, J=7.0Hz, 1H), 5.76 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.80 (q, J=7.0Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.27 (dd, J=7.5, 4.8Hz, 1H), 2.83 (dd, J=7.3, 1.0Hz, 2H), 0.90 (m, 1H), 0.52 (m, 2H), 0.39 (m, 2H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 415。

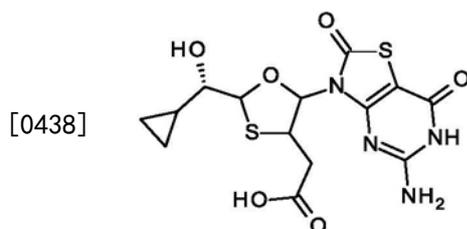
[0433] 实施例13-P2:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 6.15 (d, J=7.0Hz, 1H), 5.77 (d, J=6.3Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.02 (dd, J=8.5, 6.3Hz, 1H), 2.81 (m, 2H), 0.98 (m, 1H), 0.56 (m, 2H), 0.42 (m, 2H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 415。

[0434] 实施例13-P3:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.95 (d, J=8.3Hz, 1H), 5.26 (d, J=5.5Hz, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.15 (dd, J=8.0, 5.5Hz, 1H), 2.78 (d, J=7.0Hz, 2H), 0.96 (m, 1H), 0.54 (m, 2H), 0.46 (m, 1H), 0.39 (m, 1H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 415。

[0435] 实施例13-P4:¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ_{ppm}: 5.96 (d, J=8.5Hz, 1H), 5.33 (d, J=4.0Hz, 1H), 4.74 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.27 (dd, J=8.0, 3.8Hz, 1H), 2.76 (d, J=7.0Hz, 2H), 0.92 (m, 1H), 0.52 (m, 2H), 0.42 (m, 1H), 0.35 (m, 1H)。MS实测值 (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 415。

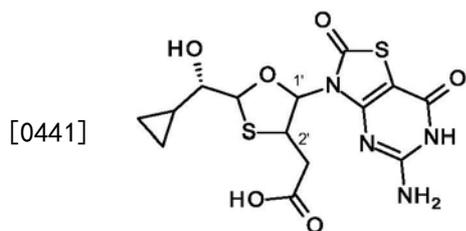
[0436] 实施例14

[0437] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸



[0439] 2-[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-[(S)-环丙基(羟基)甲基]-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]乙酸(实施例14)的制备

[0440] 标题化合物按照与实施例10类似的方式,通过用2-环丙基乙醛代替丙醛进行制备。将实施例14进一步通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的实施例14-P1(反式-1',2'-非对映体1) 49mg、实施例14-P2(反式-1',2'-非对映体2) 38mg、实施例14-P3(反式-1',2'-非对映体3) 12mg和实施例 14-P4(反式-1',2'-非对映体4) 15mg。

**(实施例 14)**

[0442] 实施例14-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.16 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.75 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H), 4.83 (m, 1H), 3.02 (dd, $J=8.5, 6.3\text{Hz}$, 1H), 2.75 (m, 2H), 0.99 (m, 1H), 0.56 (m, 2H), 0.41 (m, 2H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 401。

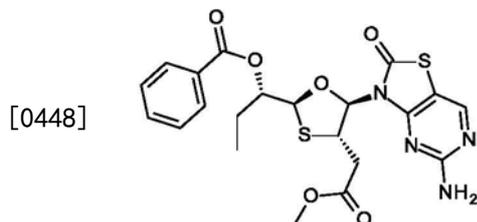
[0443] 实施例14-P2: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 6.18 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 5.75 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 4.80 (q, $J=7.1\text{Hz}$, 1H), 3.27 (dd, $J=7.5, 4.8\text{Hz}$, 1H), 2.77 (m, 2H), 0.90 (m, 1H), 0.52 (m, 2H), 0.39 (m, 2H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 401。

[0444] 实施例14-P3: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.95 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 5.26 (d, $J=5.8\text{Hz}$, 1H), 4.82 (m, 1H), 3.15 (dd, $J=8.0, 5.8\text{Hz}$, 1H), 2.71 (m, 2H), 0.96 (m, 1H), 0.53 (m, 2H), 0.46 (m, 1H), 0.40 (m, 1H)。MS 实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 401。

[0445] 实施例14-P4: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 5.97 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 5.33 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.73 (m, 1H), 3.27 (dd, $J=8.0, 3.8\text{Hz}$, 1H), 2.71 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 0.93 (m, 1H), 0.53 (m, 2H), 0.43 (m, 1H), 0.35 (m, 1H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 401。

[0446] 实施例15

[0447] 苯甲酸[(1S)-1-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯



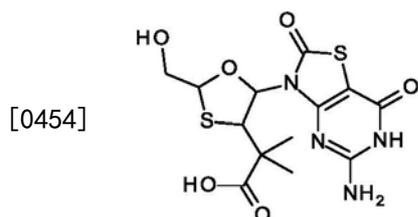
[0449] 苯甲酸[(1S)-1-[(2S,4S,5R)-5-(5-氨基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(实施例15)的制备

[0450] 按照与苯甲酸[(1S)-1-[(4S,5R)-5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4d)类似的方式,通过用苯甲酸[(1S)-1-[(2S,4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b1)和5-氨基-3H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2-酮代替苯甲酸[(1S)-1-[(4S)-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]丙基]酯(化合物4b)和5-氨基-3,7a-二氢噻唑并[4,5-d]嘧啶-2,7-二酮制得400mg白色粉末状标题化合物。

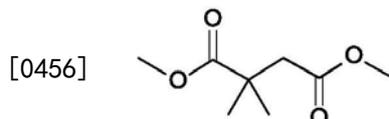
[0451] 实施例15: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} : 8.22 (s, 1H), 8.08 (m, 2H), 7.63 (m, 1H), 7.50 (m, 2H), 6.07 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 5.55 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 5.33 (dt, $J=8.8, 4.4\text{Hz}$, 1H), 4.95 (q, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 3.55 (s, 3H), 2.79 (m, 2H), 1.93 (m, 2H), 1.00 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS实测值 (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 491。

[0452] 实施例16

[0453] 2-[5-(5-氨基-7-羟基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸



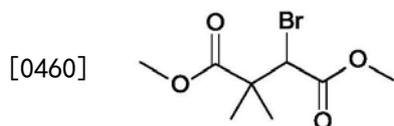
[0455] 2,2-二甲基丁二酸二甲酯(化合物16a)的制备



[0457] 向2,2-二甲基琥珀酸(15.0g,0.10mol)的MeOH(200mL)溶液于0℃下加入乙酰氯(7.1mL,0.10mol)。将反应混合物于室温下搅拌过夜。减压蒸除溶剂得到18.0g无色油状2,2-二甲基丁二酸二甲酯粗品(化合物16a)。

[0458] 化合物16a:¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm:3.72(s,3H),3.68(s,3H),2.62(s,2H),1.29(s,6H)。

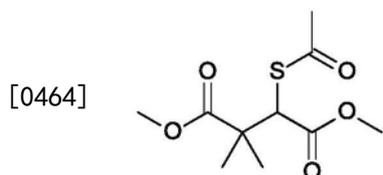
[0459] 3-溴-2,2-二甲基-丁二酸二甲酯(化合物16b)的制备



[0461] 在氩气氛下,向二异丙基胺(8.3mL,59mmol)的THF(200mL)溶液于-78℃下加入n-BuLi(1.6M的己烷溶液,37mL,59mmol)。于-78℃下搅拌30分钟后,滴加2,2-二甲基丁二酸二甲酯(化合物16a)(8.0g,45mmol)的THF(50mL)溶液。继续搅拌30分钟后,滴加TMSCl(10.4mL,82mmol)。将反应混合物继续在-78℃下搅拌30分钟,然后加入NBS(9.7g,54mmol)。将反应混合物继续在-78℃下搅拌2小时,然后用饱和NH₄Cl终止反应。将反应混合物用EtOAc(100mL)萃取三次。将合并的有机层用饱和NH₄Cl、H₂O和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到11.0g黄色油状的3-溴-2,2-二甲基-丁二酸二甲酯粗品(化合物16b)。

[0462] 化合物16b:¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm:4.74(s,1H),3.79(s,3H),3.74(s,3H),1.44(s,3H),1.42(s,3H)。

[0463] 3-乙酰硫基-2,2-二甲基-丁二酸二甲酯(化合物16c)的制备

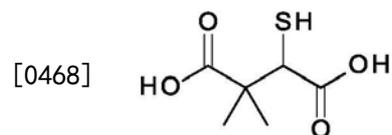


[0465] 向3-溴-2,2-二甲基-丁二酸二甲酯(化合物16b)(11.0g,62mmol)的DMF(100mL)溶液中加入硫代乙酸钾(8.54g,75mmol)。将反应混合物于60℃搅拌16小时。冷却至室温后,用饱和NH₄Cl终止反应,然后用EtOAc(300mL)稀释。将有机层用饱和NH₄Cl、H₂O和盐水洗涤,用硫酸钠干燥,过滤并浓缩得到11.0g棕色油状的3-乙酰硫基-2,2-二甲基-丁二酸二甲

酯 (化合物16c)。

[0466] 化合物16c: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} : 4.66 (s, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.27 (s, 3H)。

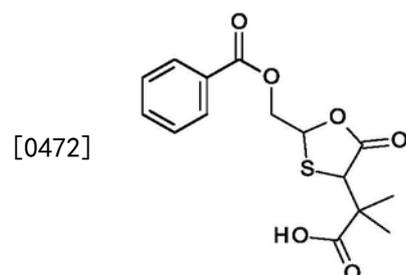
[0467] 2,2-二甲基-3-巯基-丁二酸(化合物16d)的制备



[0469] 将3-乙酰巯基-2,2-二甲基-丁二酸二甲酯(化合物16c) (5.0g, 20mmol) 溶于6N HCl/二恶烷 (v/v=1:1, 40mL)。将反应混合物于90℃加热16小时, 然后减压蒸除溶剂得到4.5g棕色油状2,2-二甲基-3-巯基-丁二酸粗品 (化合物16d)。

[0470] 化合物16d: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} : 3.76 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.41 (s, 3H)。

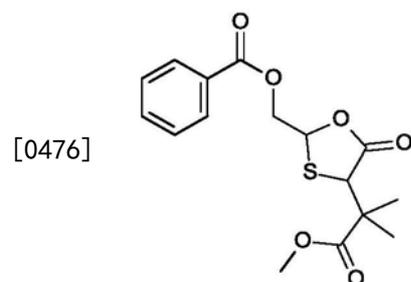
[0471] 2-[2-(苯甲酰氧基甲基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸(16e)的制备



[0473] 将苯甲酰氧基乙醛 (3.4g, 20mmol) 和2,2-二甲基-3-巯基-丁二酸(化合物16d) (3.6g, 20mmol) 的混合物在催化量的p-TsOH (300mg, 1.7mmol) 的存在下在甲苯 (50mL) 中于60℃搅拌4小时。反应完成后, 将混合物冷却至室温并用EtOAc (100mL) 稀释, 用饱和碳酸氢钠和盐水洗涤。将有机层用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩得到粗产物, 将其通过柱色谱纯化得到4.0g无色油状2-[2-(苯甲酰氧基甲基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸(化合物16e)。

[0474] 化合物16e: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ_{ppm} : 8.08 (m, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.49 (m, 2H), 5.72 (m, 1H), 4.58 (m, 3H), 1.39-1.49 (m, 6H)。

[0475] 苯甲酸[4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物16f)的制备

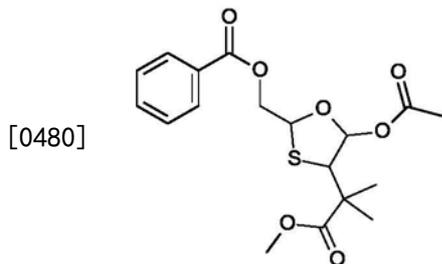


[0477] 向2-[2-(苯甲酰氧基甲基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸(化合物16e) (1.8g, 5.5mmol) 的DMF (30mL) 溶液中加入CDI (1.8g, 11mmol) 和催化量的DMAP

(180mg, 1.5mmol)。将混合物于55℃搅拌 1.5小时, 然后加入MeOH(0.88mL, 22mmol)。将混合物于55℃搅拌3 小时。反应完成后, 用饱和NH₄Cl终止反应并用EtOAc萃取。将合并的有机层用饱和NH₄Cl、H₂O和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩得到粗产物, 将其通过柱色谱纯化得到1.0g无色油状的苯甲酸[4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物 16f)。

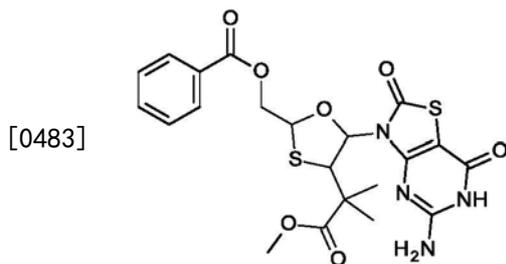
[0478] 化合物16f:¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δppm:8.07 (m, 2H), 7.61 (m, 1H), 7.49 (m, 2H), 5.71 (t, J=5.3Hz, 1H), 4.51-4.61 (m, 3H), 3.77 (m, 3H), 1.36-1.45ppm (m, 6H)。

[0479] 苯甲酸[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物16g)的制备



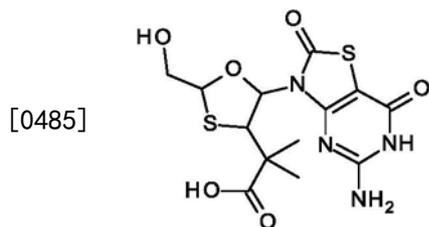
[0481] 向苯甲酸[4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-5-氧代-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物16f)(600mg, 1.8mmol)的无水THF(10mL)溶液于-78℃下滴加LiAlH₄(Ot-Bu)₃(1M的THF溶液, 2.7mL, 2.7 mmol)。于室温下搅拌2小时后, 加入吡啶(0.7mL, 8.7mmol)、乙酸酐(0.85 mL, 8.7mmol)和DMAP(0.66g, 5.1mmol)。将反应混合物于室温下搅拌5 小时, 然后用饱和NH₄Cl终止反应。将溶液用DCM(30mL)萃取三次。将有机层合并, 用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩得到粗产物, 将其通过快速柱色谱纯化得到630mg黄色油状的苯甲酸[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物 16g)。MS实测值(ESI⁺) [(M+H)⁺]:383。

[0482] 苯甲酸[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物16h)的制备



[0484] 向5-氨基-7-羟基-3H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-2-酮(470mg, 2.6mmol)的 ACN(20mL)悬浮液中加入BSA(1.82g, 2.2mL, 8.9mmol)。将混合物在氩气氛下于70℃搅拌0.5小时形成澄清的溶液。将溶液减压浓缩形成白色固体, 将该固体溶于DCM(20mL)。向DCM溶液中加入苯甲酸[5-乙酰氧基-4-(2-甲氧基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物 16g)(650mg, 1.7mmol)和TMSI(680mg, 472μL, 3.4mmol); 然后将反应混合物于室温下搅拌14小时。反应完成后, 将混合物浓缩并将残余物在EtOAc(50mL)和饱和NaHCO₃溶液(15mL)之间进行分配。分离有机层并将水相用EtOAc(25mL)萃取两次。将合并的有机层用盐水洗涤并用NaSO₄干燥, 过滤并浓缩得到860mg棕色固体状苯甲酸[5-(5-氨基-2,7-二氧代-6H-噻

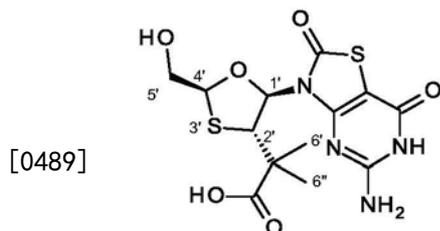
唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯粗品(化合物16h)。MS实测值(ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]:507。2-[5-(5-氨基-7-羟基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸(实施例16)的制备



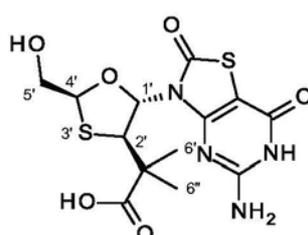
[0486] 向苯甲酸[5-(5-氨基-2,7-二氧化-6H-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(2-甲氧基-1,1-二甲基-2-氧代-乙基)-1,3-氧硫杂环戊烷-2-基]甲酯(化合物16h) (400mg, 790 μmol) 的THF (10mL) 溶液中加入LiOH(227mg, 9.5mmol) 的水(10mL) 溶液。然后将混合物在室温下搅拌过夜。反应完成后,将混合物用HOAc调至pH 7。将混合物浓缩并通过制备型HPLC纯化得到白色粉末状的2-[(顺式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-7-羟基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸(实施例 16-P1, 非对映体1) 12mg和2-[(反式-2,4-反式-4,5)-5-(5-氨基-7-羟基-2-氧代-噻唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-(羟基甲基)-1,3-氧硫杂环戊烷-4-基]-2-甲基-丙酸(实施例16-P2, 非对映体2) 8mg。通过NOESY确定实施例16-P1 和实施例16-P2的相对构型。

[0487] 实施例16-P1: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} :6.28 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.00 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 3.83 (m, 1H), 3.74 (m, 1H), 1.31 (m, 6H)。MS实测值(ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]: 389。

[0488] 实施例16-P2: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ_{ppm} :6.42 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 1H), 5.76 (t, $J=4.8\text{Hz}$, 1H), 4.96 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 1.31 (s, 3H), 1.29 (s, 3H)。MS实测值(ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]:389。



相对构型
实施例 16-P1



相对构型
实施例 16-P2

[0490] 对于实施例16-P1,观察到了 $\text{C}4'\text{-H}$ 和 $\text{C}1'\text{-H}$ 的NOESY相关,观察到了 $\text{C}4'\text{-H}$ 和 $\text{C}6'\text{-H}$ 和 $\text{C}6''\text{-H}$ 的相关。对于实施例16-P2,观察到了 $\text{C}4'\text{-H}$ 和 $\text{C}2'\text{-H}$ 的相关,观察到了 $\text{C}5'\text{-H}$ 和 $\text{C}1'\text{-H}$ 的相关。

[0491] 实施例17

[0492] HEK293-Blue-hTLR-7细胞试验:

[0493] 稳定的HEK293-Blue-hTLR-7细胞系购自InvivoGen(目录号: hkb-htlr7, San Diego, California, USA)。这些细胞被设计用于通过监测 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 活化来研究人TLR7的刺激。将SEAP(分泌型胚胎碱性磷酸酶)报道基因置于与5个 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 和 AP-1 -结合位点融合的 $\text{IFN-}\beta$

最小启动子控制下。通过经用TLR7配体刺激HEK-Blue hTLR7细胞活化NF- κ B和AP-1来诱导SEAP。因此,在刺激人TLR7时,NF- κ B启动子将调节报道基因表达。用 QUANTI-Blue™试剂盒(目录号:rep-qb1,Invivogen, San Diego, Ca, USA) 在640nm波长处测定细胞培养物上清液的SEAP报道基因活性,这是一种在碱性磷酸酶的存在下由紫色变成蓝色的检测培养液。

[0494] 将HEK293-Blue-hTLR7细胞以250,000~450,000细胞/mL的密度在 96-孔板中的Dulbecco改良的Eagle培养液(DMEM)中以180 μ L的体积温育24小时,所述Dulbecco改良的Eagle培养液(DMEM)包含4.5g/L葡萄糖、50U/mL青霉素、50mg/mL链霉素、100mg/mL Normocin、2mM L-谷氨酰胺、10% (v/v) 热灭活胎牛血清。然后将HEK293-Blue-hTLR-7 细胞与添加的20 μ L系列稀释的测试化合物一起在最终浓度为1%的 DMSO的存在下温育,并且在37 $^{\circ}$ C下、在CO₂温育箱中温育20小时。然后将来自每个孔的20 μ L上清液与180 μ L Quanti-blue底物溶液一起在 37 $^{\circ}$ C下温育1-3小时,然后在620~655nm下用分光光度计读取吸光度。TLR7活化导致下游NF- κ B活化的信号传导途径已被广为接受,因此类似的报道基因试验也被广泛地应用于评价TLR7激动剂(Tsuneyasu Kaisho和Takashi Tanaka, Trends in Immunology, 第29卷,第7期,2008年7月,2329页.sci;Hiroaki Hemmi等人, Nature Immunology 3,196-200 (2002)。

[0495] 在上述试验中测试如文中所述的本发明化合物的TLR7激动活性,结果列于表1中。发现实施例的化合物具有约3 μ M至约470 μ M的EC₅₀。发现特定的式(I)或(Ia)的化合物具有约3 μ M至约42 μ M的EC₅₀。

[0496] 表1:化合物在HEK293-hTLR-7试验中的活性

[0497]

实施例号	HEK293-hTLR-7EC ₅₀ (μ M)
实施例1-P1	317
实施例2-P1	144
实施例3-P1	469
实施例4-P1	13
实施例5-P1	24
实施例6-P1	23
实施例7-P1	28
实施例8-P1	2.5
实施例9-P3	22
实施例10-P3	23
实施例11-P3	321
实施例12-P3	42
实施例13-P3	15
实施例14-P3	10

[0498] 实施例18

[0499] 前药的代谢:式(II)的化合物

[0500] 进行研究以评价前药式(II)或(IIa)的化合物向本发明的式(I)或(Ia)的化合物的代谢转化。如果作为前药给药,前药式(II)或(IIa)的化合物在体内可以被代谢成式(I)或(Ia)的活性化合物和本发明的其它化合物。通常用肝细胞来评价前药在动物或人体内的

代谢转化程度。

[0501] 进行研究以评价前药实施例15在人肝细胞的存在下代谢转化成相应的活性形式实施例5-P1。在本研究中监测活性形式实施例5-P1的形成。为了比较,还评价了泛昔洛韦向喷昔洛韦的代谢转化。

[0502] 肝细胞混悬液

[0503] 冷藏保存的肝细胞铺板培养液(目录号:PY-HMD-03)购自RILD Research Institute for Liver Diseases (Shanghai) Co.Ltd,冷藏保存的人肝细胞(目录号:X008005,批号:VRR)购自BioreclamationIVT (Baltimore, MD)。

[0504] 由在铺板培养液中的浓度为 1.8×10^6 细胞/mL的冷藏保存的肝细胞制备肝细胞储备混悬液。

[0505] 化合物的工作溶液

[0506] 将化合物溶于DMSO制成10mM储备溶液。将10 μ L储备溶液稀释到990 μ L铺板培养液中得到100 μ M工作溶液。

[0507] 温育

[0508] 在24-孔细胞培养板中,通过混合200 μ L肝细胞混悬液(人)和200 μ L 工作溶液制备反应混悬液。最终温育物包含 0.9×10^6 细胞/mL和50 μ M化合物。将上述混合物在37 $^{\circ}$ C下、在加湿的5%CO₂气氛中温育,以900rpm 振摇。

[0509] 分析样品的制备

[0510] 在温育180min后,将200 μ L温育混合物转入1.5mL试管并用400 μ L终止溶液(含有0.2 μ M甲苯磺丁脲作为内标的冰冷乙腈)猝灭。将样品以14000rpm离心10分钟,并且将得到的上清液进行LC-MS/MS分析。

[0511] 按照如下方式制备校准曲线。向200 μ L细胞混悬液(细胞密度为180 万细胞/mL)中加入198 μ L肝细胞铺板培养液和2 μ L在DMSO中的适当浓度的化合物。充分混合样品,并且将200 μ L该混合物转移到400 μ L终止溶液(参见上文)中。标准曲线范围为1 μ M-25 μ M。

[0512] 生物分析

[0513] 用API5500 LC-MC/MC仪器以ESI-正MRM模式定量化合物。前药转化和代谢物生成的结果概述在表2中。

[0514] 表2:与50 μ M前药温育3小时后在人肝细胞中形成的代谢物浓度

实施例号	代谢产物	人肝细胞中产物的浓度(μ M)
实施例15	实施例5-P1	0.63
泛昔洛韦	喷昔洛韦	18

[0516] 在人肝细胞中,实施例15的化合物以及泛昔洛韦分别被代谢成相应的活性代谢物实施例5-P1和喷昔洛韦。