



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I766948 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 06 月 11 日

(21)申請案號：107105846

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 02 月 21 日

(51)Int. Cl. : A61K31/7084 (2006.01)

C07H21/02 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/02/17 美國 62/460,562

2017/03/30 美國 62/479,169

2017/08/29 美國 62/551,645

2017/08/29 美國 62/551,647

2017/08/29 美國 62/551,668

(71)申請人：日商衛材研發管理股份有限公司 (日本) EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.

(JP)

日本

(72)發明人：金大式 KIM, DAE-SHIK (KR)；方 家范 FANG, FRANK (US)；遠藤篤史 ENDO, ATSUSHI (JP)；崔亨旭 CHOI, HYEONG-WOOK (KR)；郝 鳴鴻 HAO, MING-HONG (US)；鮑幸峰 BAO, XINGFENG (CN)；黃 冠群 HUANG, KUAN-CHUN (US)

(74)代理人：楊長峯

(56)參考文獻：

WO 2015/185565A1

審查人員：陳璦如

申請專利範圍項數：40 項 圖式數：13 共 260 頁

(54)名稱

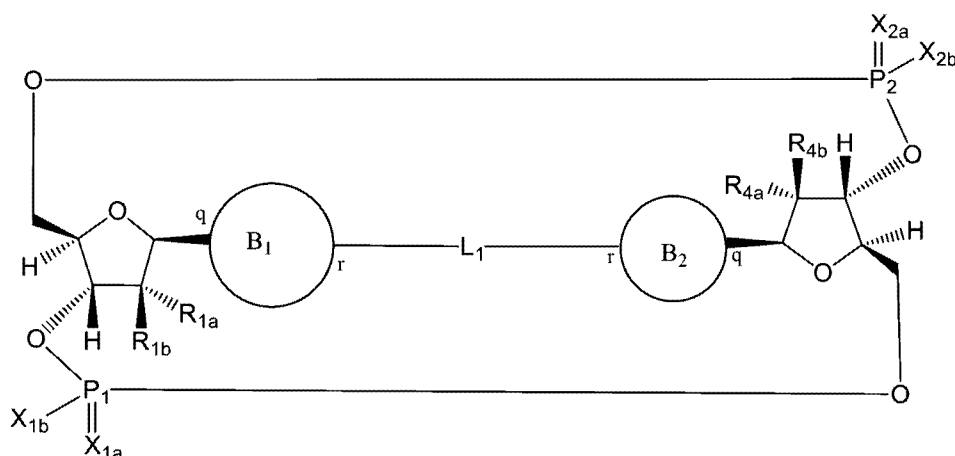
用於治療癌症之化合物

(57)摘要

本文提供一種有效用於治療癌症之化合物。

Provided herein are compounds useful for the treatment of cancer.

特徵化學式：





I766948

【發明摘要】

111年3月22日修正本

【中文發明名稱】 用於治療癌症之化合物

【英文發明名稱】 Compounds for the Treatment of Cancer

【中文】

本文提供一種有效用於治療癌症之化合物。

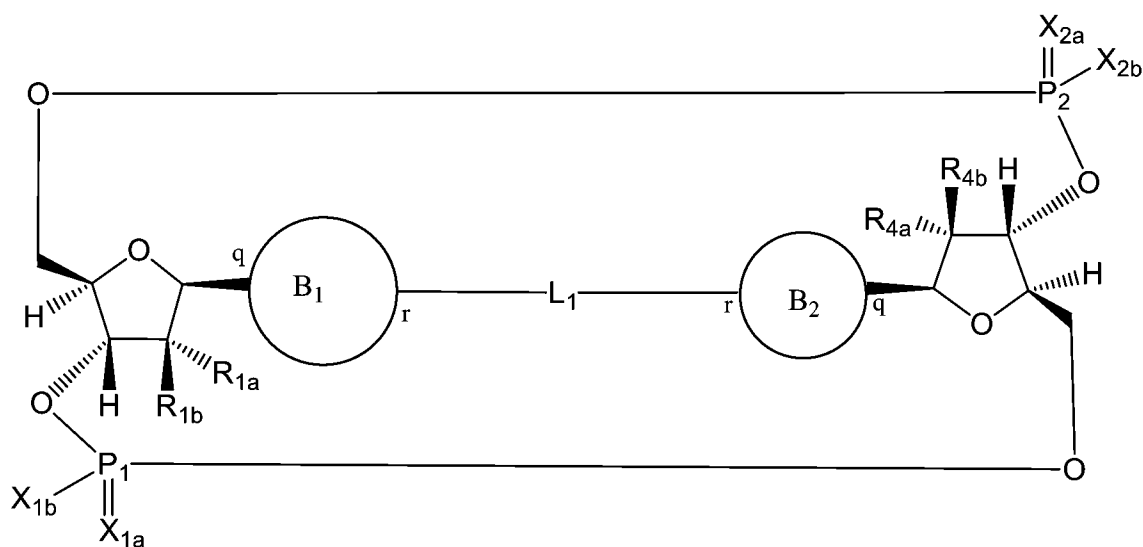
【英文】

Provided herein are compounds useful for the treatment of cancer.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於治療癌症之化合物

【英文發明名稱】 Compounds for the Treatment of Cancer

【技術領域】

【0001】 本發明主張於2017年2月17日提交的美國專利臨時申請案No. 62/460,562、於2017年3月30日提交的美國專利臨時申請案No. 62/479,169、於2017年8月29日提交的美國專利臨時申請案No. 62/551,645、於2017年8月29日提交的美國專利臨時申請案No. 62/551,645以及於2017年8月29日提交的美國專利臨時申請案No. 62/551,668之效益。這些申請案藉由引用的方式，如同完整重寫於本文般地併入本文中。

【先前技術】

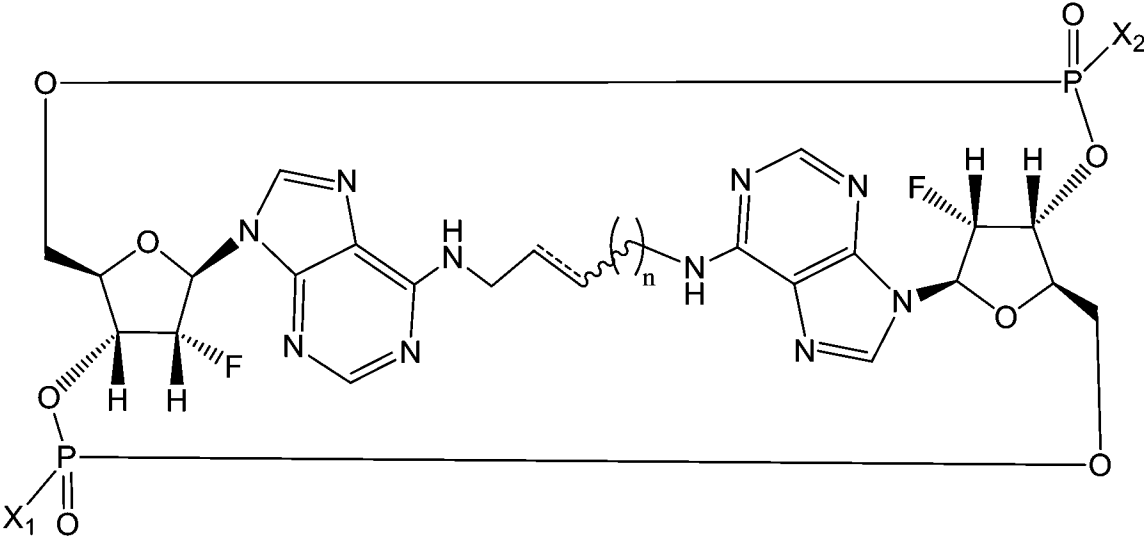
【0002】 STING是在胞質液(cytosol)中對dsDNA先天反應的傳訊分子。在多個人類的癌症中已記述STING的缺失(STING deletion)。此外STING傳訊的失調在人類的癌症中亦被記述於黑色素瘤(Xia T, *et al.*, "Recurrent Loss of STING Signaling in Melanoma Correlates with Susceptibility to Viral Oncolysis" *Cancer Res.* 2016)及大腸癌(Xia T, *et al.*, "Deregulation of STING Signaling in Colorectal Carcinoma Constrains DNA Damage Responses and Correlates With Tumorigenesis" *Cell Rep.* 2016;14 : 282-97)中。有趣的是在那些研究中，基因體分析結果顯示STING表達的缺失並不是由於基因缺陷或突變，而是經由表觀遺傳改變(epigenetic changes) (Xia, *Cancer Res.* 2016; Xia, *Cell Rep.* 2016)。STING的癌症保

護活性亦被自小鼠模型研究獲得的證據支持。STING剔除小鼠表現出不良的腫瘤控制(Woo SR, *et al.* "STING-dependent cytosolic DNA sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors" *Immunity* 2014;41 : 830-42)。

【0003】此外，STING在保護個體發育中的角色已於許多小鼠自發性模型中證實，包含神經膠質瘤(Ohkuri T, *et al.*, "Protective role of STING against gliomagenesis : Rational use of STING agonist in anti-glioma immunotherapy" *Oncoimmunology*. 2015;4 : e999523)及大腸癌(Zhu Q, *et al.*, "Cutting edge : STING mediates protection against colorectal tumorigenesis by governing the magnitude of intestinal inflammation" *J. Immunol.* 2014;193 : 4779-82)。此抗腫瘤效果可被歸因於其抗NF- κ B 及 STAT3過度活化的能力(Okihuri 2015)。STING路徑的活化亦於臨床前的小鼠腫瘤模型中顯示強效活性(Woo 2014; Chandra D, *et al.* "STING ligand c-di-GMP improves cancer vaccination against metastatic breast cancer" *Cancer Immunol Res.* 2014;2 : 901-10 ; Corrales L, *et al.*, "Direct Activation of STING in the Tumor Microenvironment Leads to Potent and Systemic Tumor Regression and Immunity" *Cell Rep.* 2015 ; 11 : 1018-30; Curran E, *et al.* "STING Pathway Activation Stimulates Potent Immunity against Acute Myeloid Leukemia" *Cell Rep.* 2016;15 : 2357-66 ; Tang CH, *et al.* "Agonist-Mediated Activation of STING Induces Apoptosis in Malignant B Cells" *Cancer Res.* 2016;76 : 2137-52)。此抗腫瘤的活性可能是歸因於腫瘤血管系統的破壞以及隨後後天免疫反應 (adaptive immune response)的誘導(Corrales L, *et al.*, "The host STING pathway at the interface of cancer and immunity" *J. Clin. Invest.* 2016;126 : 2404-11)。因此，需要用於治療癌症之以STING為標靶的新的化合物。

【發明內容】

【0004】 實施例可提供通式(I)的化合物：



(I)

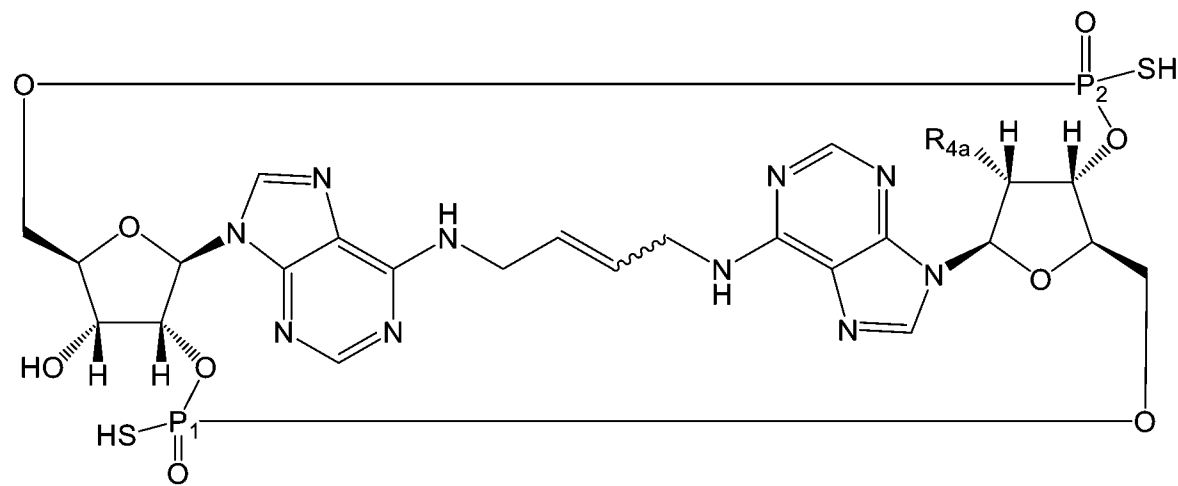
【0005】 (如上所繪製，其中P₁是左下角的磷且P₂是右上角的磷)其具有如下71所表示的取代基及立體化學，或其藥學上可接受的鹽。-----表示單鍵或雙鍵。

【0006】 當磷原子具有四個不同的取代基時，磷原子將成為立體中心 (stereocenter)。SpSp/RpRp/SpRp/RpSp指的是如所示的磷的立體化學。

【0007】 表1

化合物 #	n	幾何 (反式、順式或飽和的)	X ₁	X ₂	立體化學組態 (P ₁)	立體化學組態 (P ₂)
1	1	反式	SH	SH	S	R
2	1	反式	SH	SH	R	R
3	1	反式	SH	SH	S	S
4	1	順式	SH	SH	R	R
5	1	順式	SH	SH	S	R
6	1	飽和	SH	SH	S	R
8	2	反式	SH	SH	未定	未定
9	1	反式	OH	OH	n/a	n/a
11	2	反式	SH	SH	未定	未定
12	2	反式	SH	SH	未定	未定

【0008】 實施例可進一步提供通式(II)的化合物：



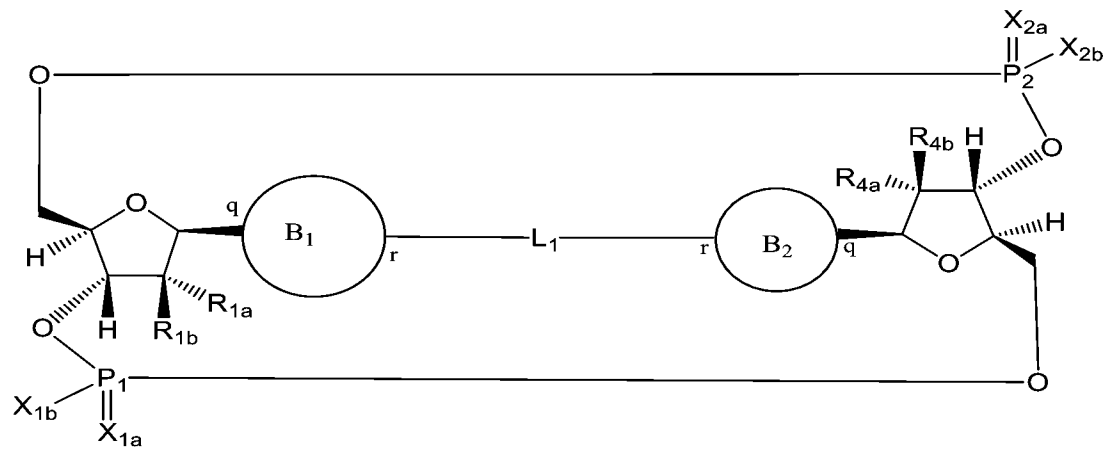
(II)

【0009】 其具有如下表2表示的取代基及立體化學或其藥學上可接受的鹽。當磷原子具有四個不同的取代基時，磷原子將成為立體中心。

【0010】 表2

化合物 #	R _{4a}	幾何組態	立體化學組態 (P ₁ , P ₂)
13	-OH	反式	S,R
14	-OH	反式	R,R
15	-F	反式	S,R
16	-F	反式	R,R

【0011】 實施例可提供通式(III)的化合物或其藥學上可接受的鹽：



(III)

其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；

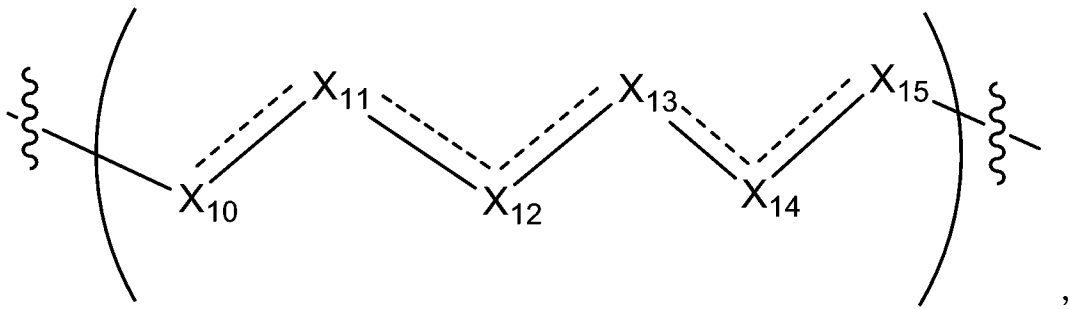
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中， R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基(C₁₋₆alkyl)、-C(O)C₁₋₆ 烷基(-C(O)C₁₋₆alkyl) 及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基(-OC(O)OC₁₋₆ alkyl) 所組成的群組；

通式(III)中的 L_1 為四個、五個或六個碳的長度，且為

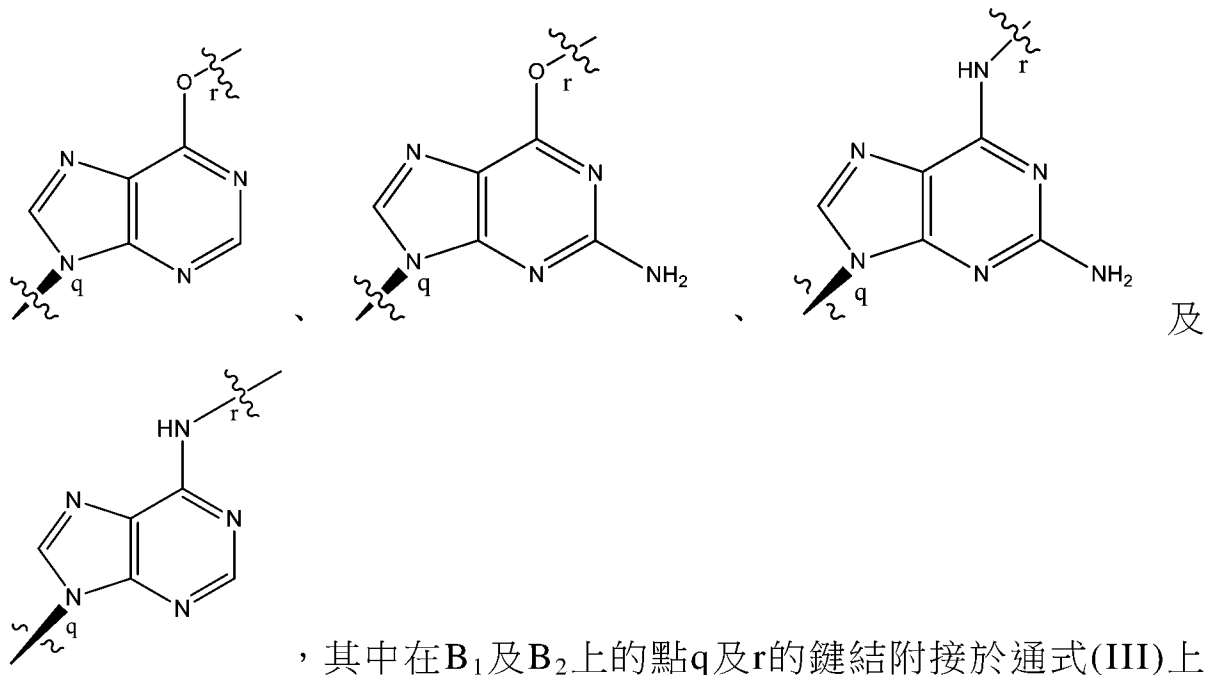


其中 ----- 表示單鍵、雙鍵或三鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ===== 表示雙鍵或三鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 係獨立地選自鍵結、 $-CH_2-$ 或 $-CH-$ ，其中 $-CH_2-$ 或 $-CH-$ 為未被取代的或被(i) $-OH$ 、(ii) $-F$ 、(iii) $-Cl$ 、(iv) $-NH_2$ 或(v) $-D$ 取代的，且當 X_{10} 或 X_{15} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

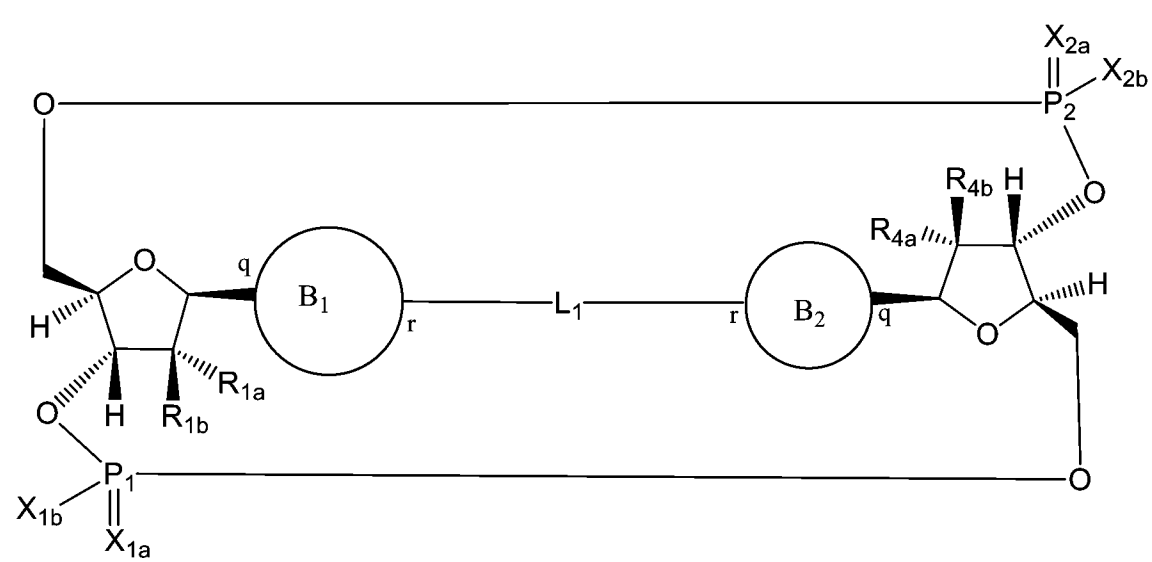
且其中包含 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 的群組中之任何兩個相鄰的成員可選擇性地與其他原子形成 C_3 環烷基(C_3 cycloalkyl)或 C_3 雜環烷基(C_3 heterocycloalkyl)，該 C_3 雜環烷基包含 N 或 O 原子；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



，其中在 B_1 及 B_2 上的點 q 及 r 的鍵結附接於通式(III)上的點 q 及 r 。

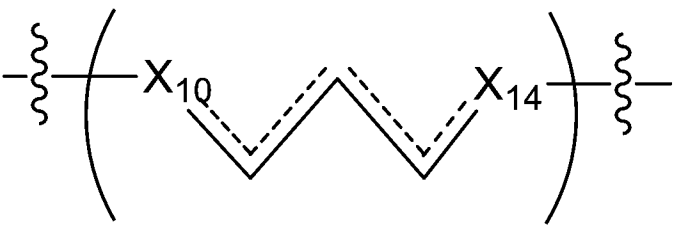
【0012】 實施例亦可提供通式(III)的化合物或其藥學上可接受的鹽：



(III)

其中

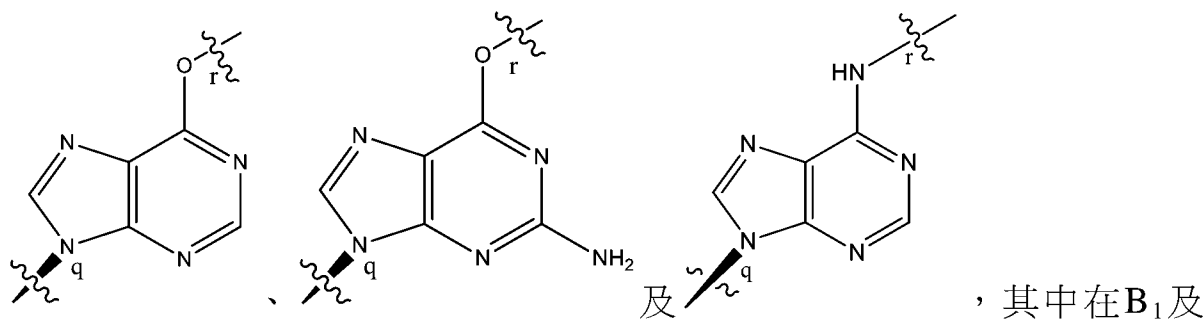
- R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；
 - R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；
 - R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；
 - R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；
 - P₁ 及 P₂ 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；
 - X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；
 - X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；
- 其中，R₅係選自由-H、C₁₋₆烷基、-C(O)C₁₋₆烷基及-OC(O)OC₁₋₆烷基所組成的群組；
- 通式(III)中的L₁為四個或五個碳的長度，且為



其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

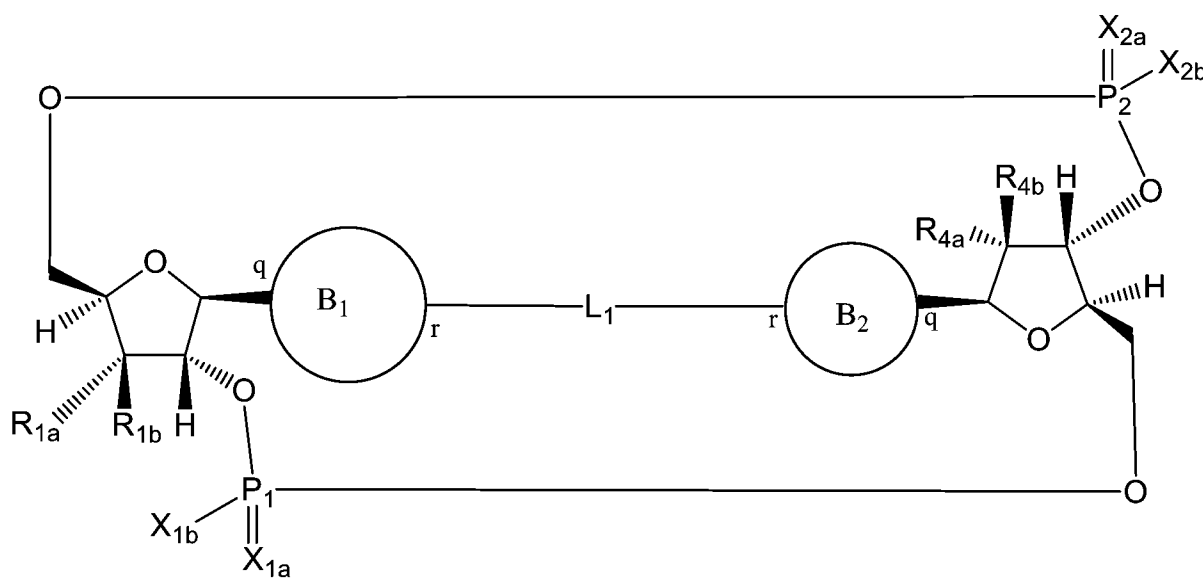
其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



B_2 上的點q及r的鍵結附接於在通式(III)上的點q及r。

【0013】 實施例可提供通式(IV)的化合物或其藥學上可接受的鹽：



(IV)

其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；

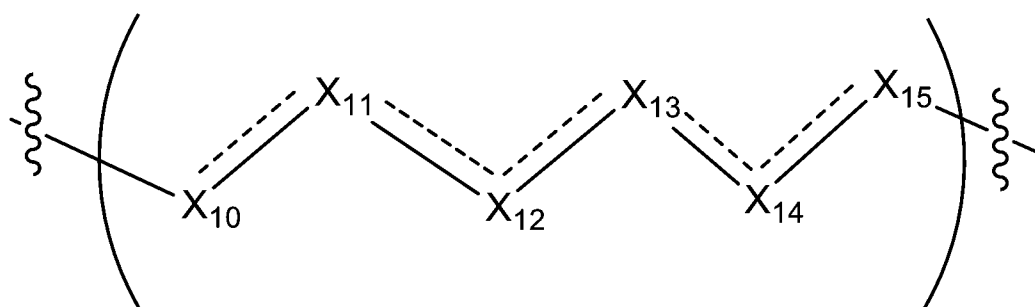
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中， R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

通式(IV)中的 L1 為四個、五個或六個碳的長度，且為



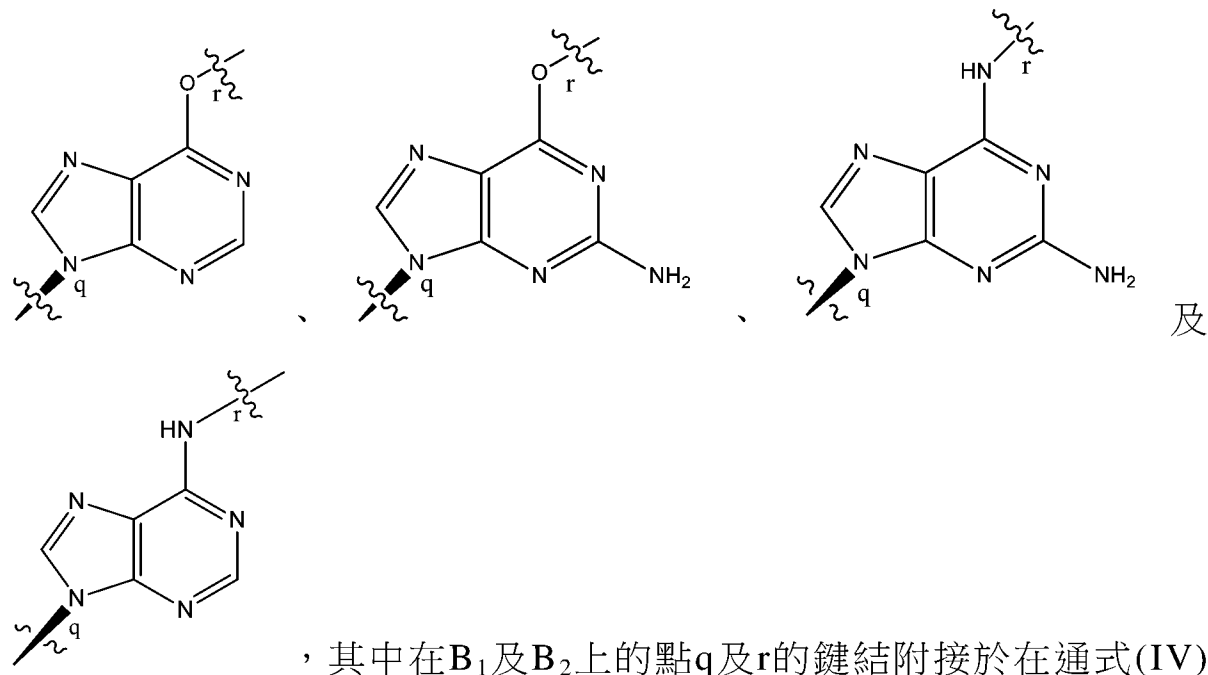
其中 ----- 表示單鍵、雙鍵或三鍵，且其中 L₁ 中出現 0 或 1 的 ===== 表示雙鍵或三鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 係獨立地選自鍵結、-CH₂- 或-CH-，其中-CH₂-或-CH-為未被取代的或被(i)-OH、(ii)-F、

(iii)-Cl、(iv)-NH₂ 或 (v)-D 取代的，且當 X₁₀ 或 X₁₅ 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

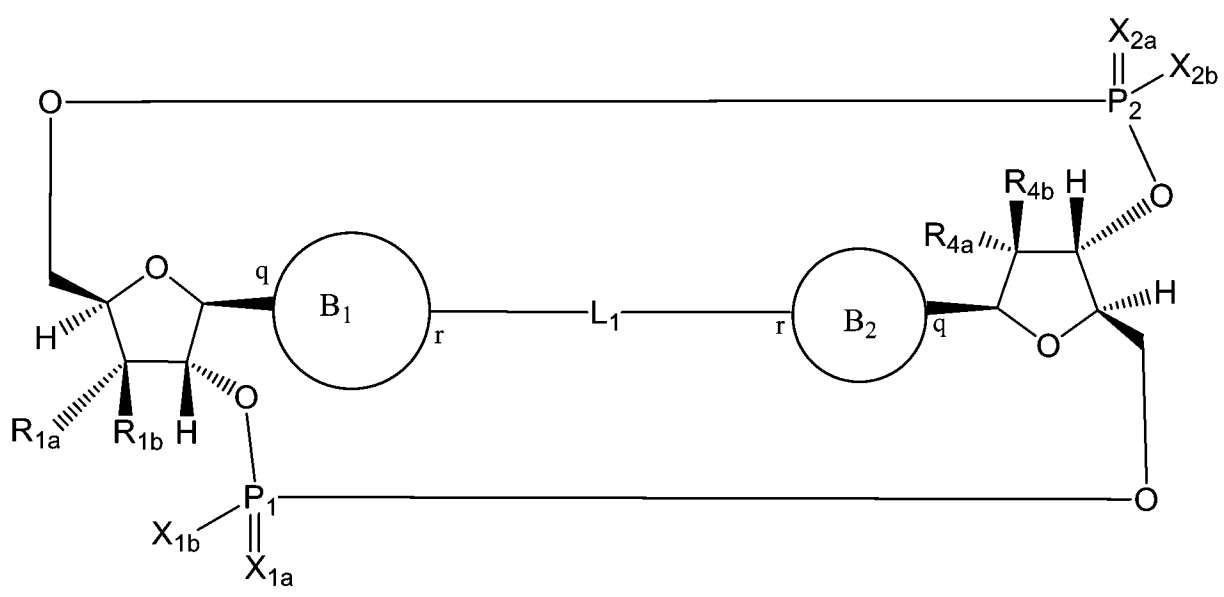
且其中包含 X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄ 及 X₁₅ 的群組中的任何兩個相鄰的成員可選擇性地與其他原子形成 C₃ 環烷基或 C₃ 雜環烷基，該 C₃ 雜環烷基包含 N 或 O 原子；

其中，B₁ 及 B₂ 係獨立地選自：



上的點q及r。

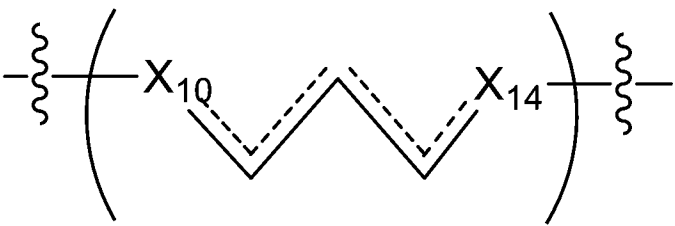
【0014】 實施例亦可提供通式(IV)的化合物或其藥學上可接受的鹽：



(IV)

其中

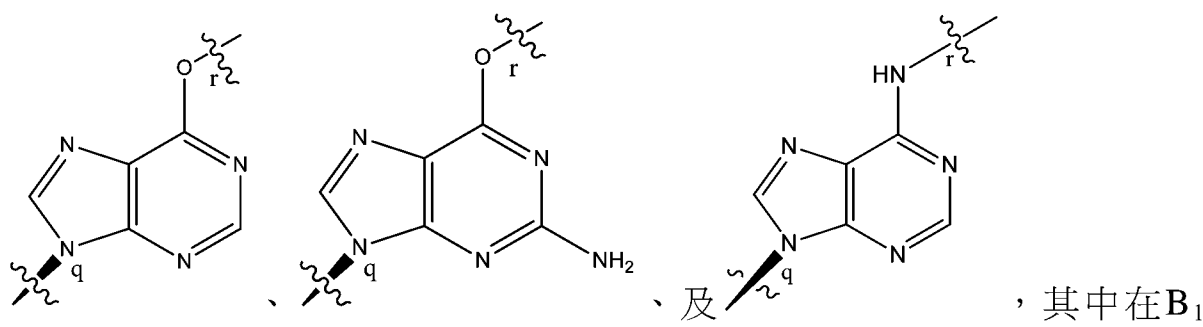
- R_{1a}係選自由-H 及-F 所組成的群組；
- R_{1b}係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；
- R_{4a}係選自由-H 及-F 所組成的群組；
- R_{4b}係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；
- P₁ 及 P₂ 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；
- X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；
- X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；
- 其中，R₅ 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；
- 通式(IV)中的 L₁ 為四個或五個碳的長度，且為



其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

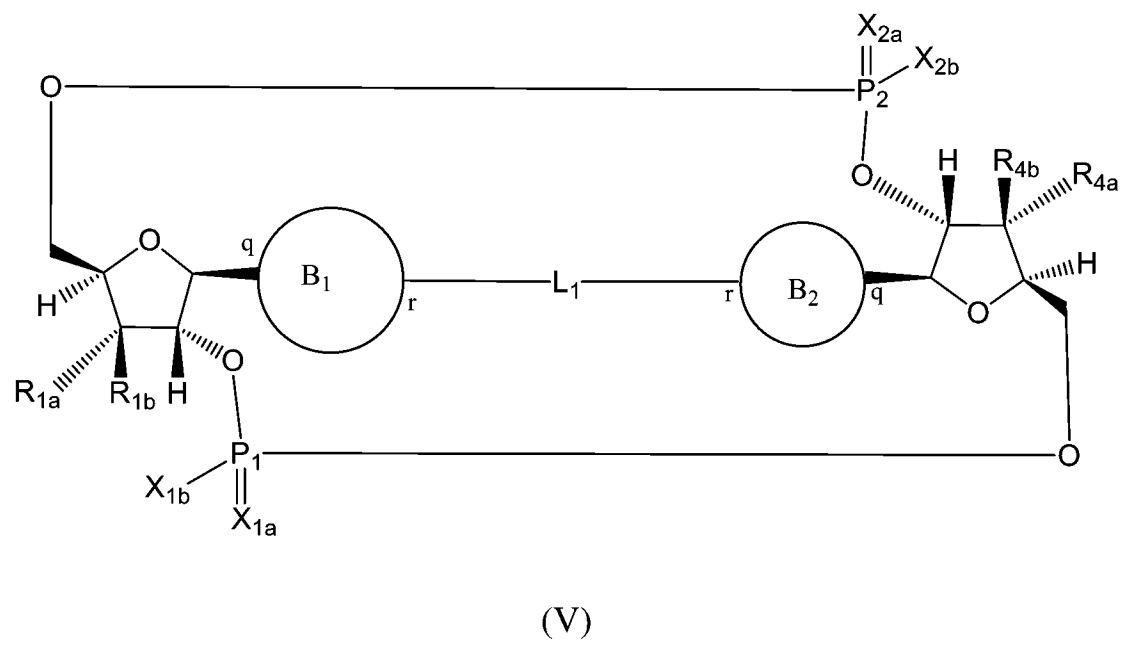
其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



及 B_2 上的點 q 及 r 的鍵結附接於在通式(IV)上的點 q 及 r 。

【0015】 實施例可提供通式(V)的化合物：



其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；

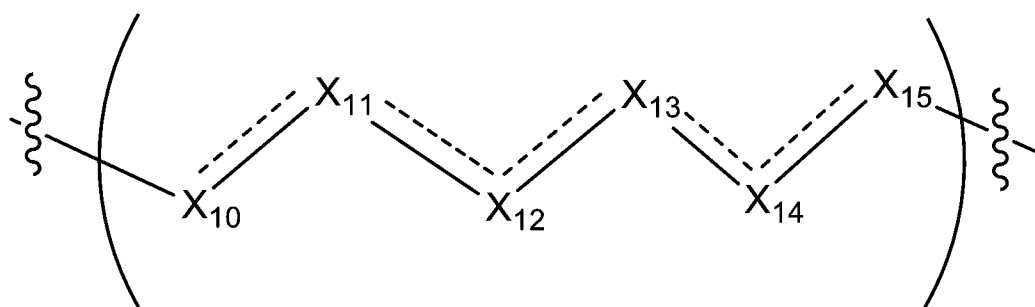
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中， R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

通式(V)中的 L_1 為四個或五個碳的長度，且為



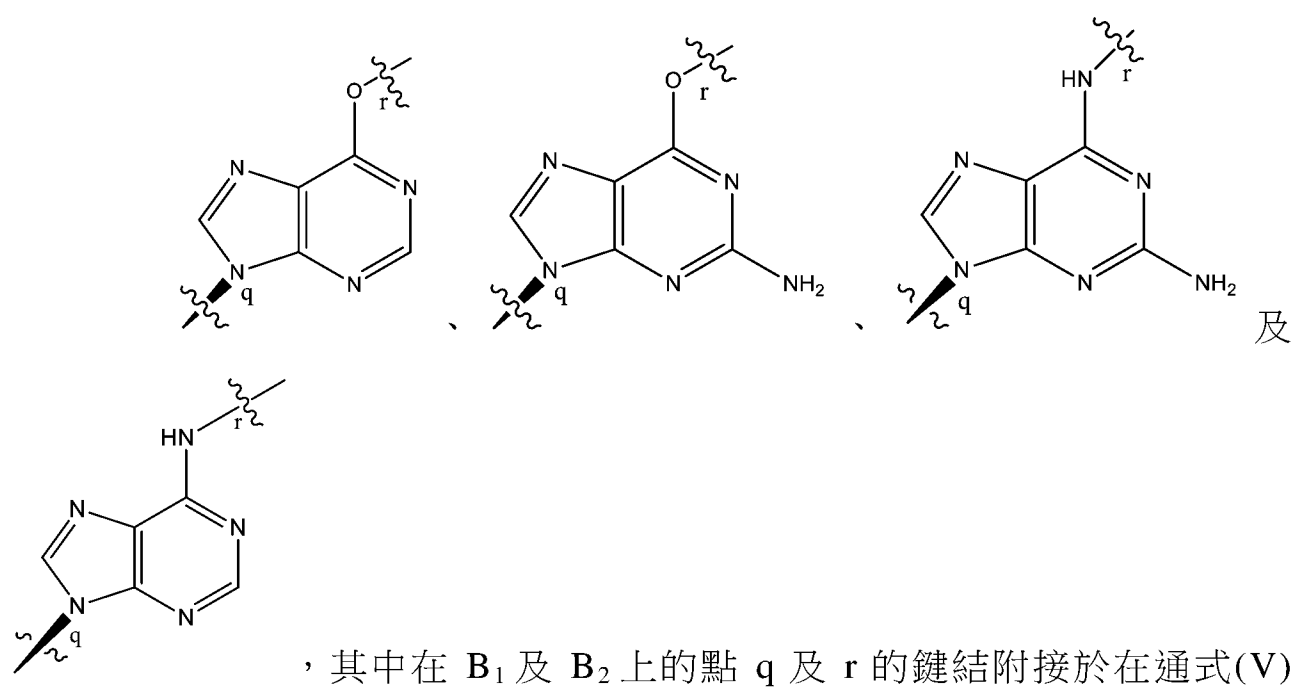
其中 ----- 表示單鍵、雙鍵或三鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ===== 表示雙鍵或三鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 係獨立地選自鍵結、-CH₂- 或-CH-，其中-CH₂-或-CH-為未被取代的或被(i)-OH、(ii)-F、

(iii)-Cl、(iv)-NH₂ 或(v)-D 取代的，且當 X₁₀ 或 X₁₅ 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

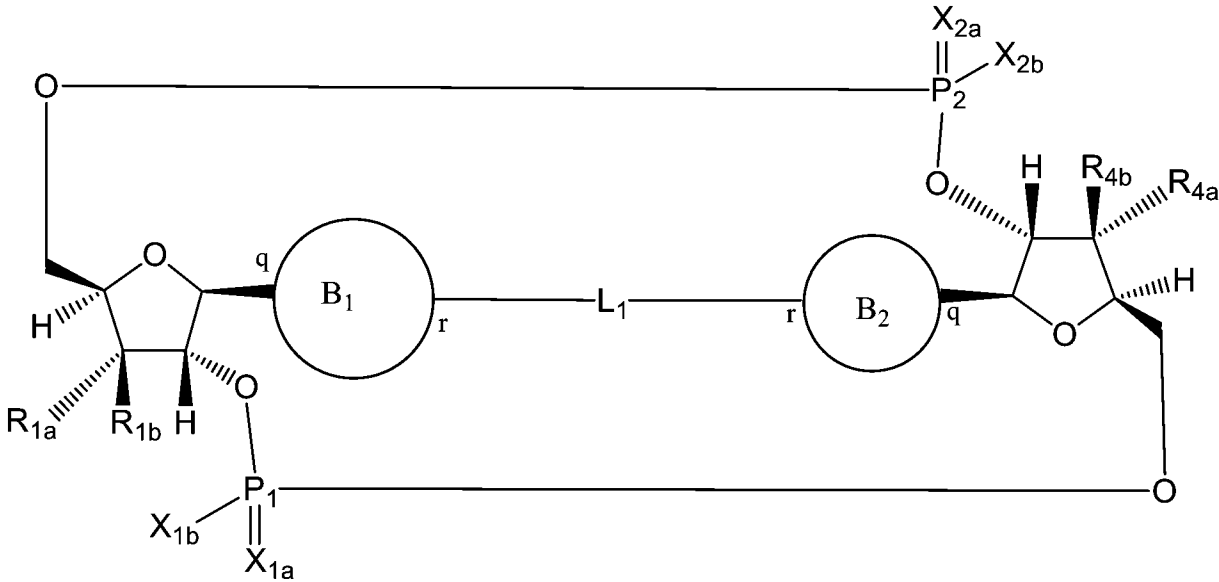
且其中包含 X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄ 及 X₁₅ 的群組中的任何兩個相鄰的成員可選擇性地與其他原子形成 C₃ 環烷基或 C₃ 雜環烷基，該 C₃ 雜環烷基包含 N 或 O 原子；

其中，B₁ 及 B₂ 係獨立地選自：



上的點 q 及 r。

【0016】 實施例亦可提供通式(V)的化合物或其藥學上可接受的鹽：

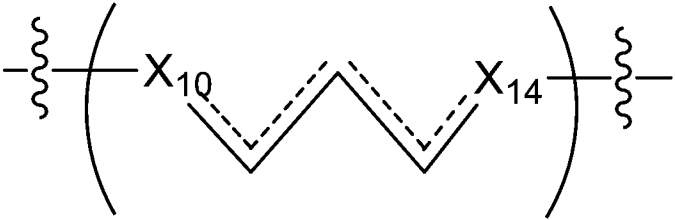


(V)

其中

- R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；
- R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；
- R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；
- R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；
- P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；
- X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；
- X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；
- 其中， R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

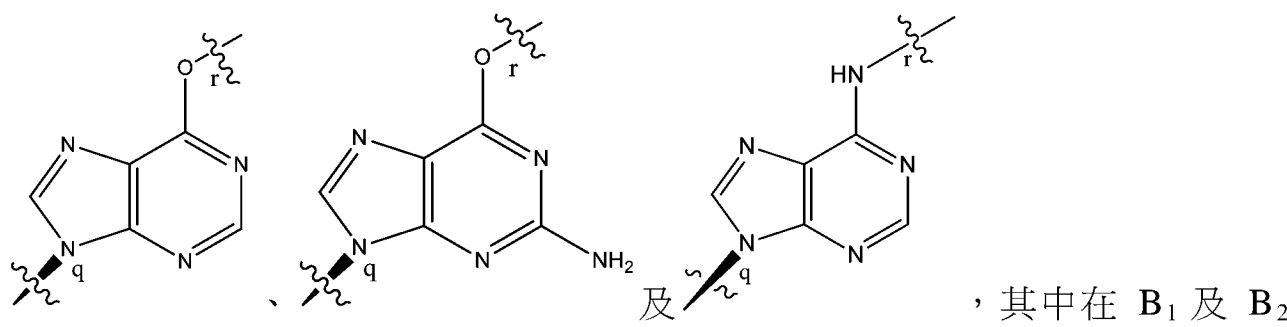
通式(V)中的 L_1 為四個或五個碳的長度，且為



其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

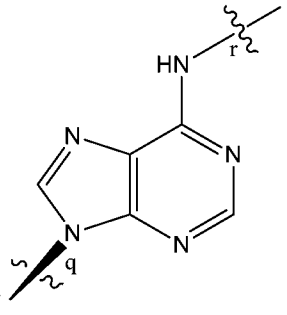
其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



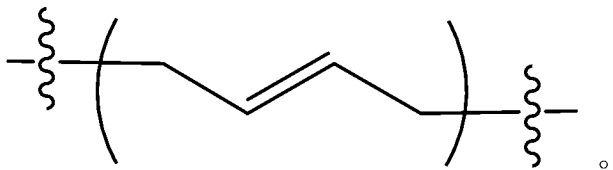
上的點 q 及 r 的鍵結附接於在通式(V)上的點 q 及 r 。

【0017】 在如以上記述之通式中的化合物及/或鹽類的一些實施例中 (i) P_1 及 P_2 的立體化學組態皆為 R ， P_1 的立體化學組態為 R 且 P_2 為 S ，或 P_1 的立體化學組態為 S 且 P_2 為 R ；及 (ii) 在 L_1 中一個 ----- 的出現表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為反式。

【0018】 在以上記述之通式中的化合物及/或鹽類的進一步實施例中可在本文中的其他態樣發現。例如，一些實施例提供其中 R_{1a} 及 R_{4a} 各為 $-F$ 之化合物或藥學上可接受的鹽。在一些實施例中， R_{1b} 及 R_{4b} 各為 $-F$ 。在

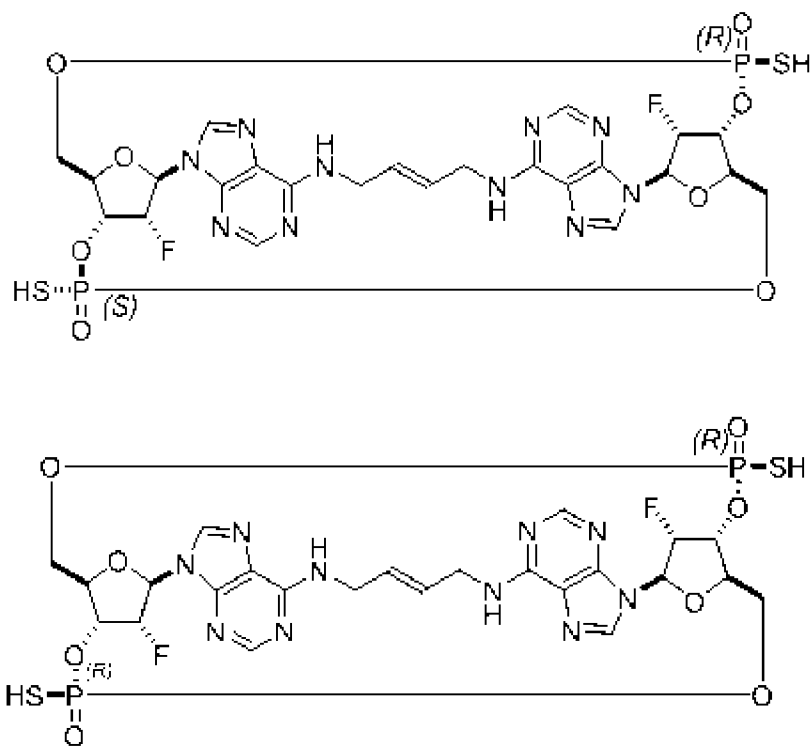
一些實施例中， B_1 及 B_2 各為 。在一些實施例中， X_{1a} 及 X_{2a}

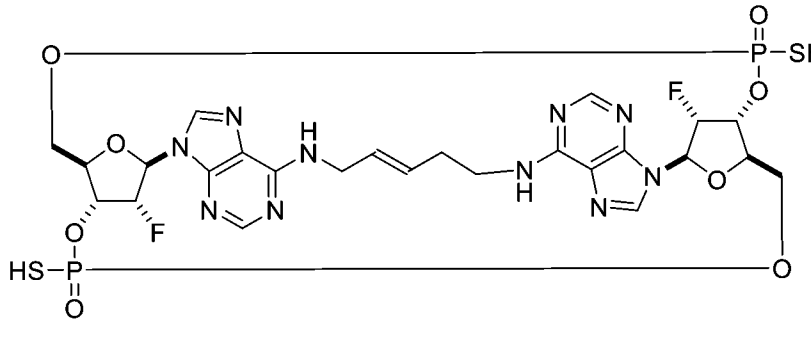
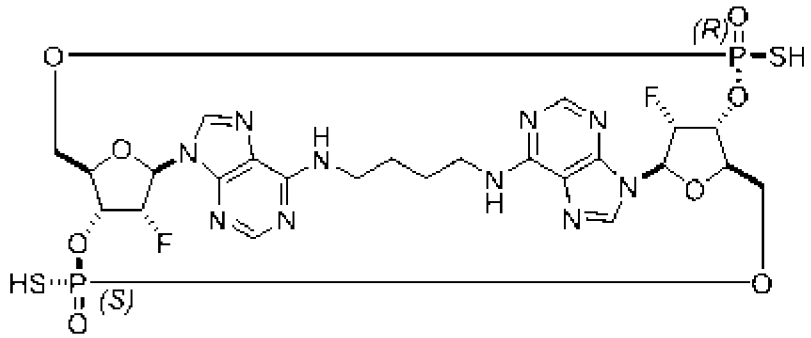
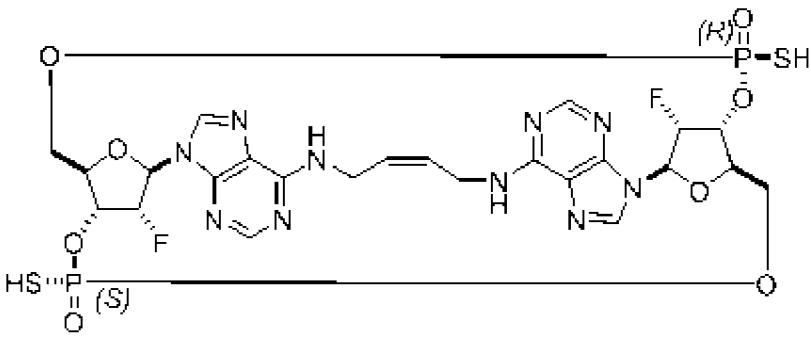
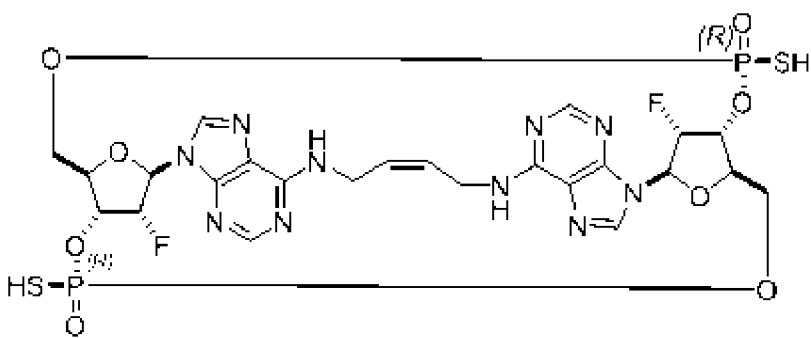
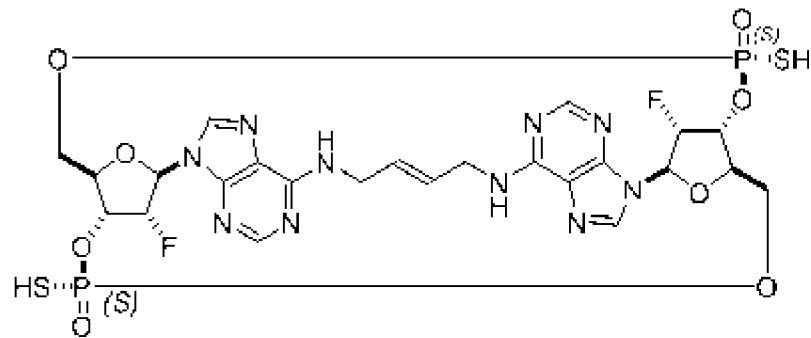
皆為 $=O$ 且 X_{1b} 及 X_{2b} 皆為 $-SH$ 。在一些實施例中， L_1 為

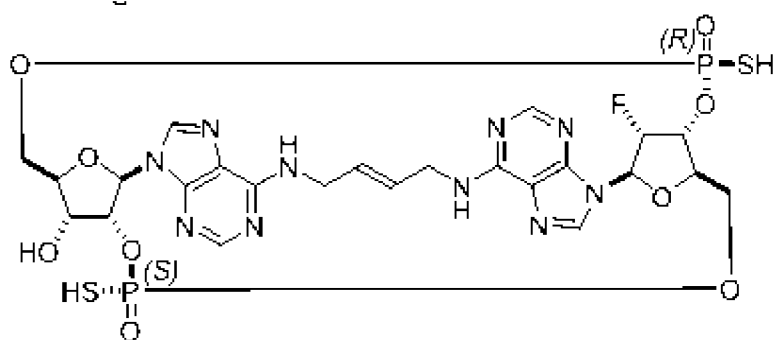
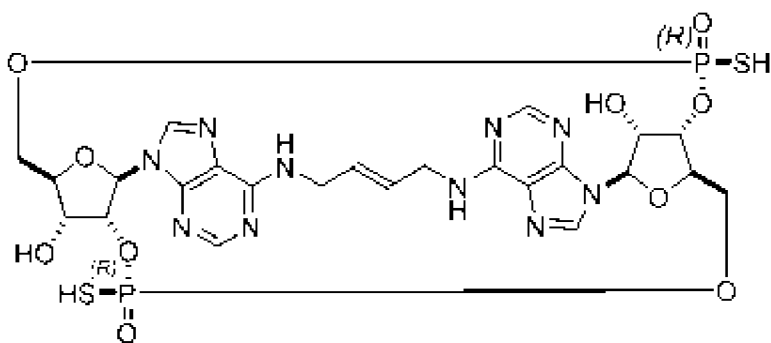
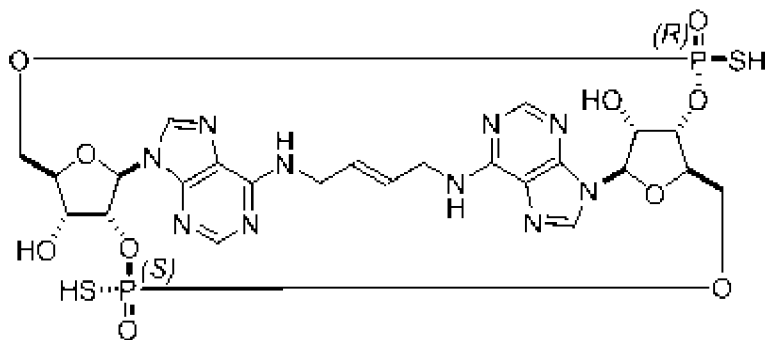
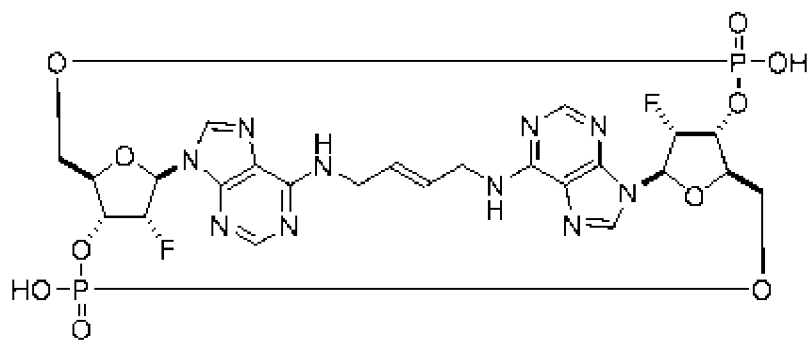


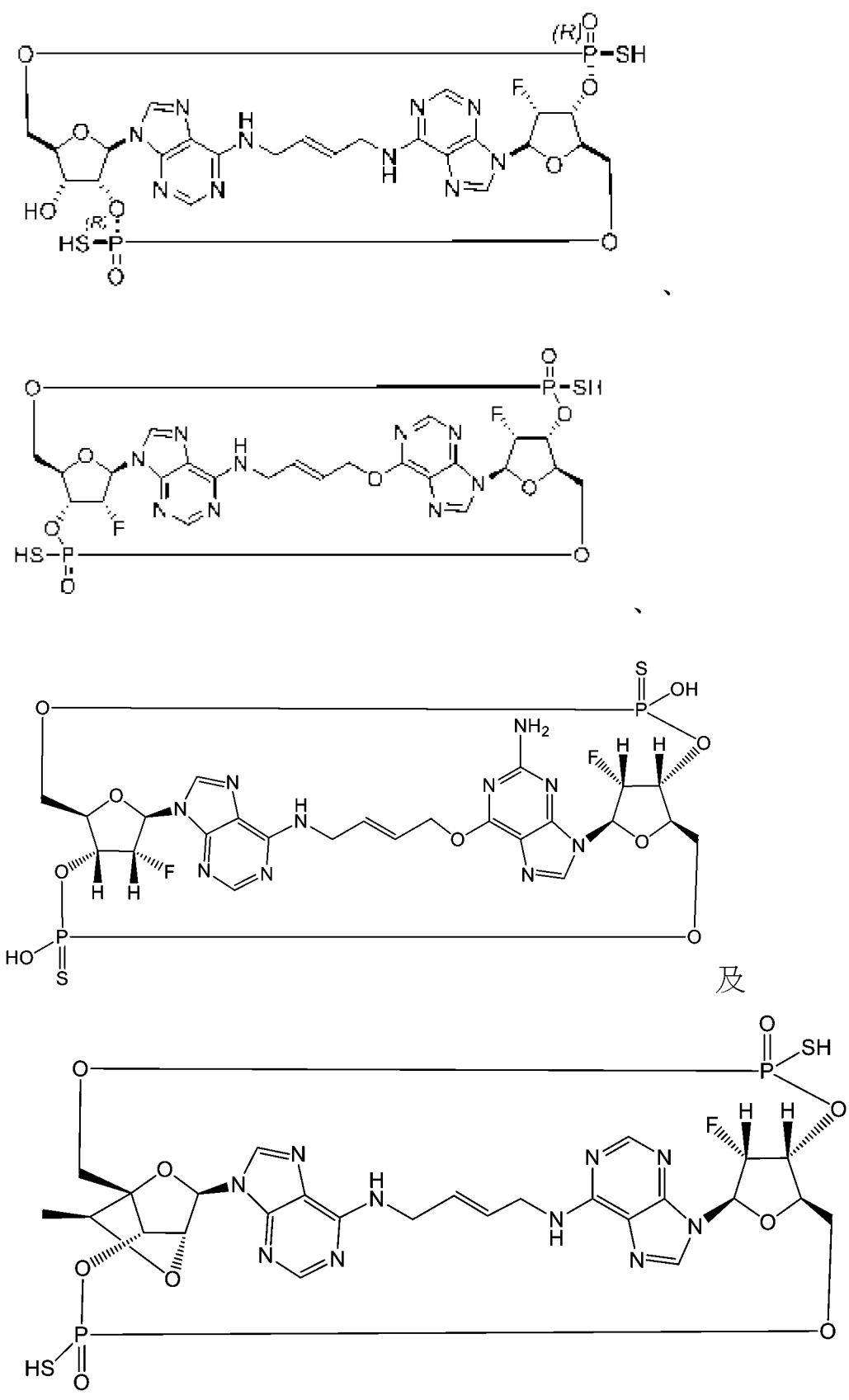
【0019】 在一些實施例中，連接基為四個碳的長度。在一些實施例中，連接基為五個碳的長度。

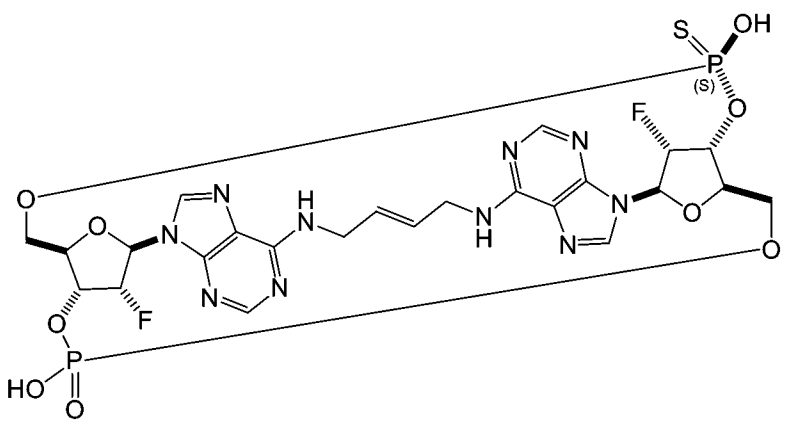
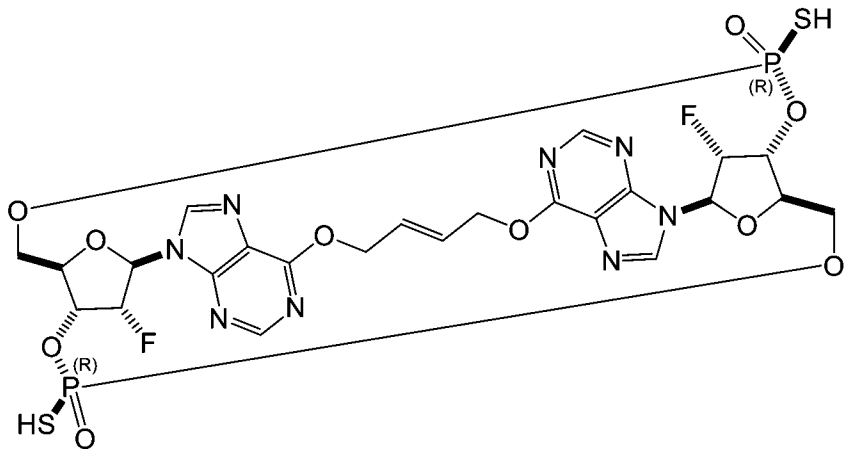
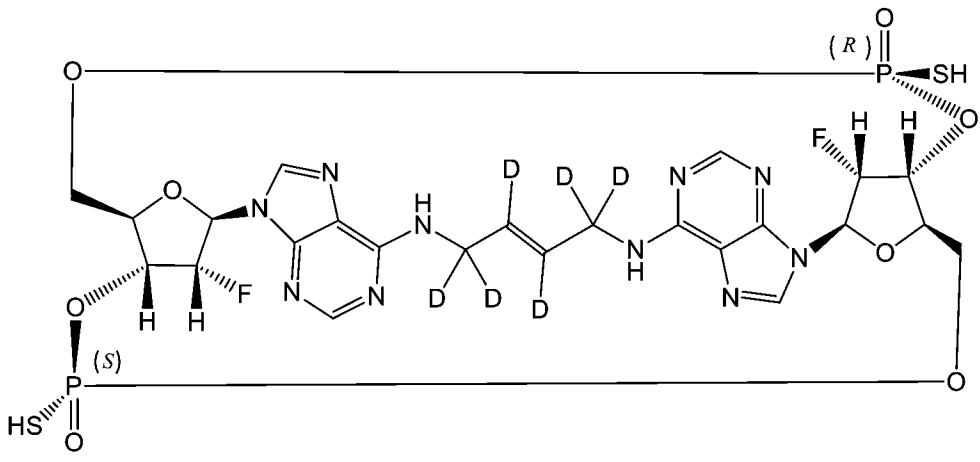
【0020】 一些實施例選自由以下組成之化合物：

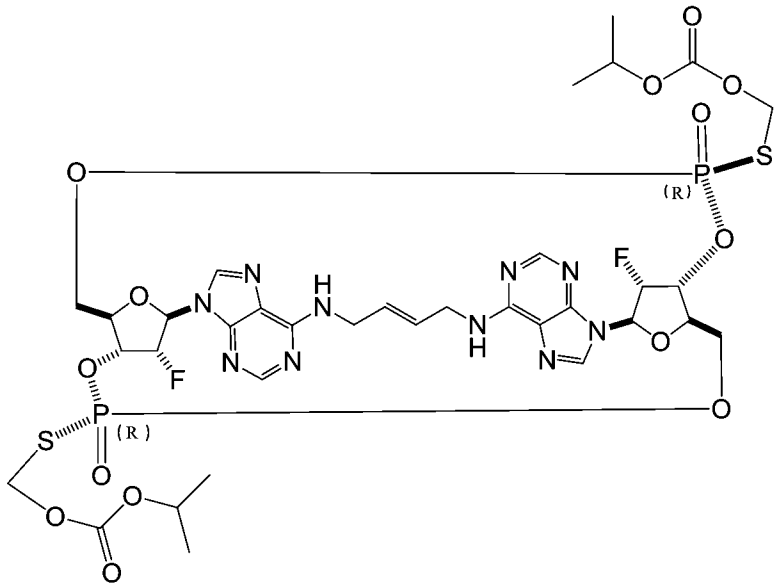
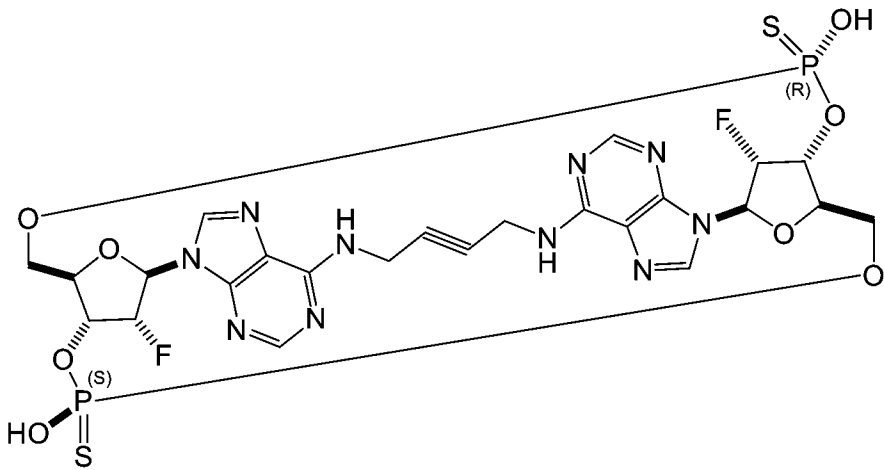
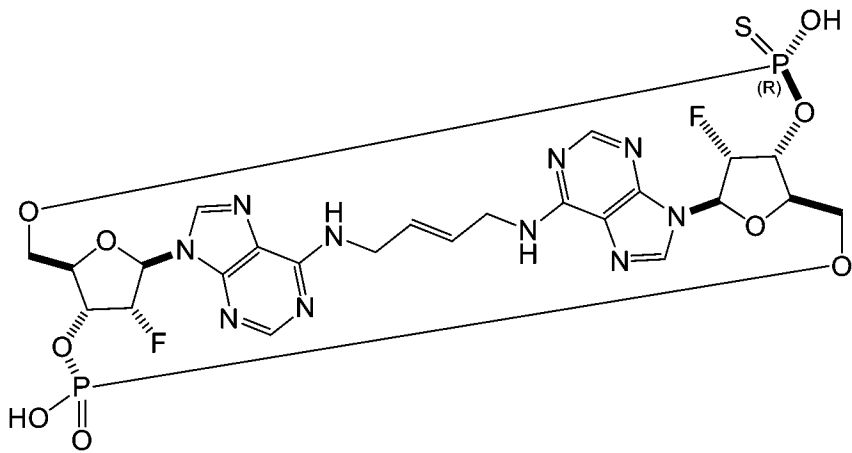


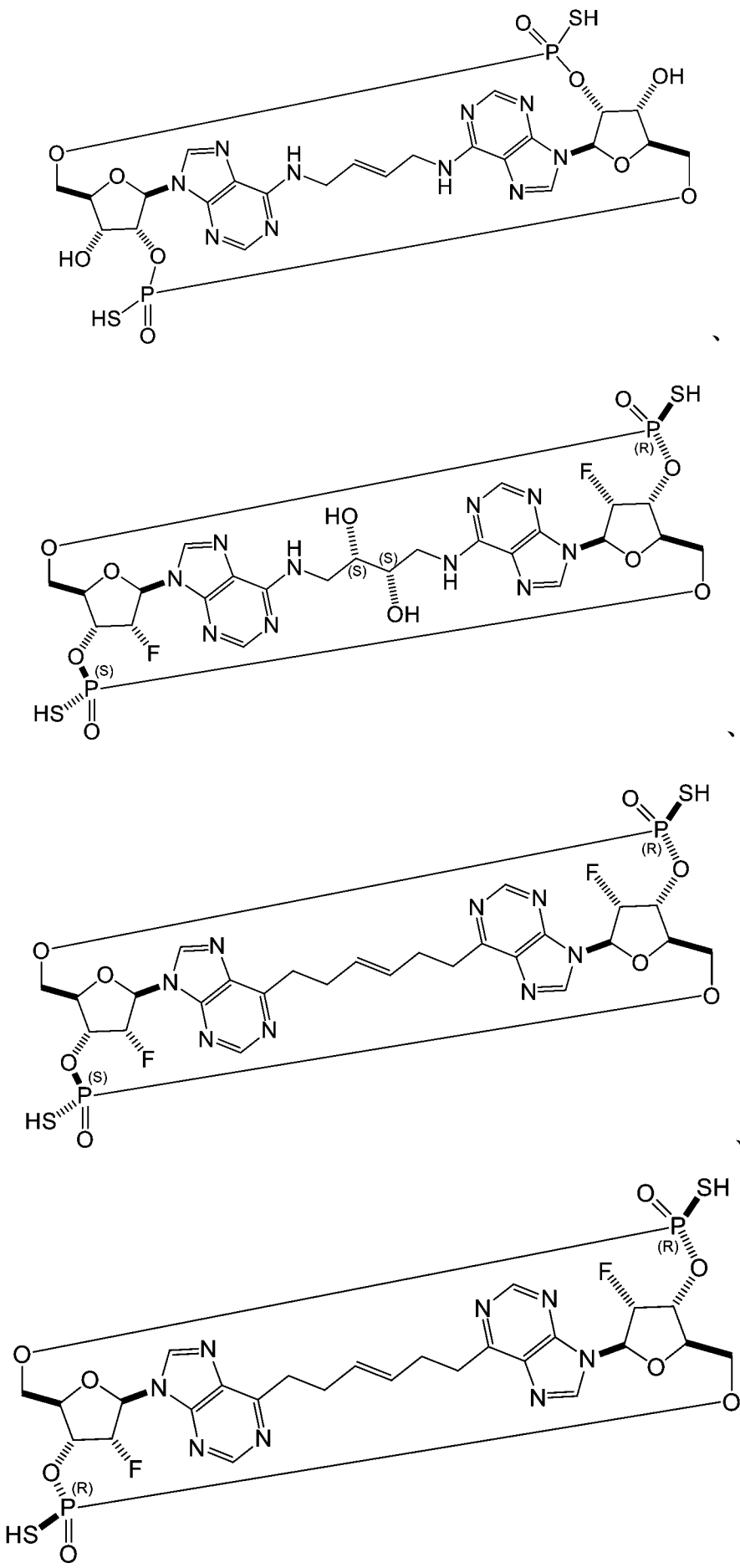


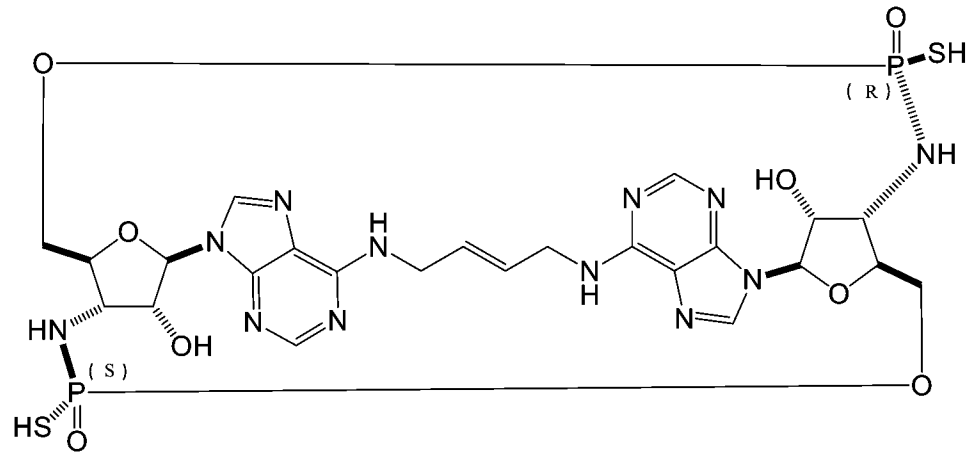
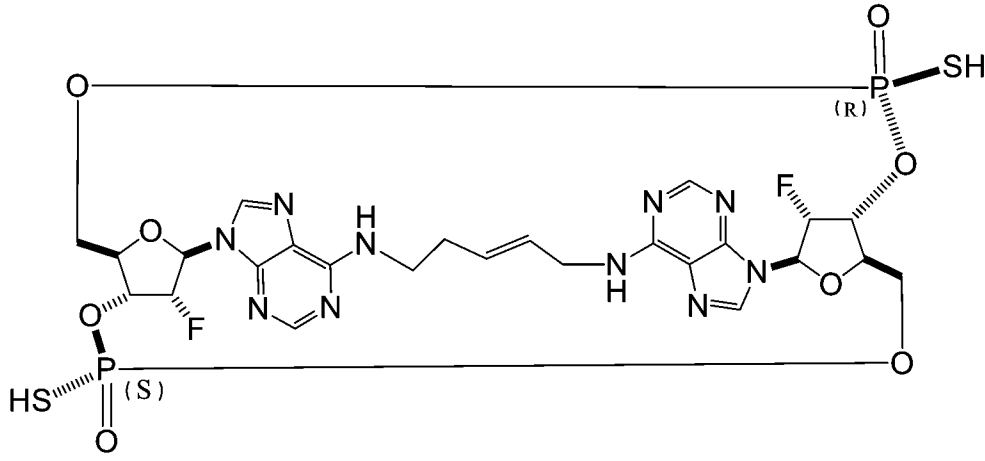
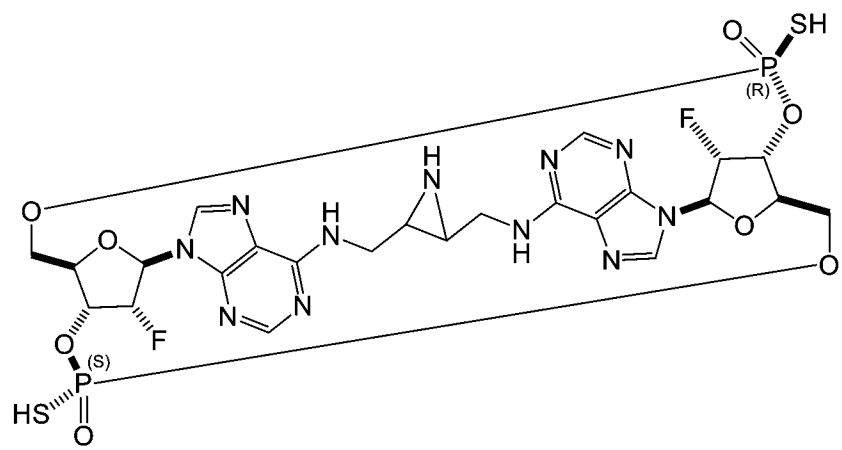
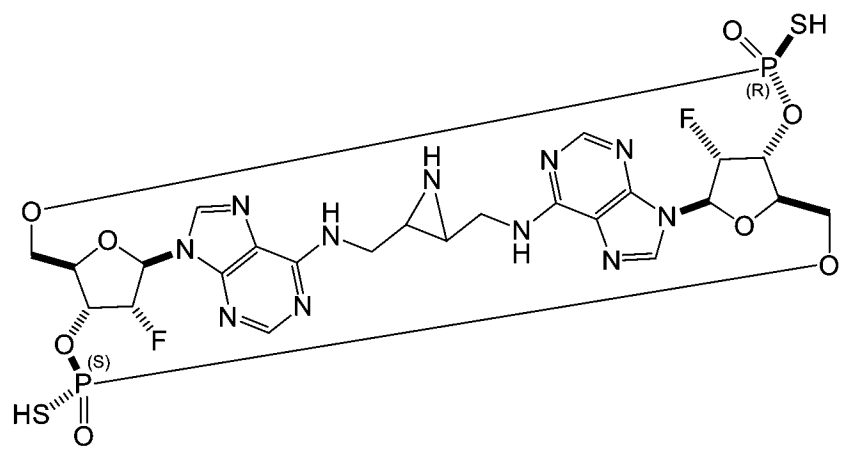


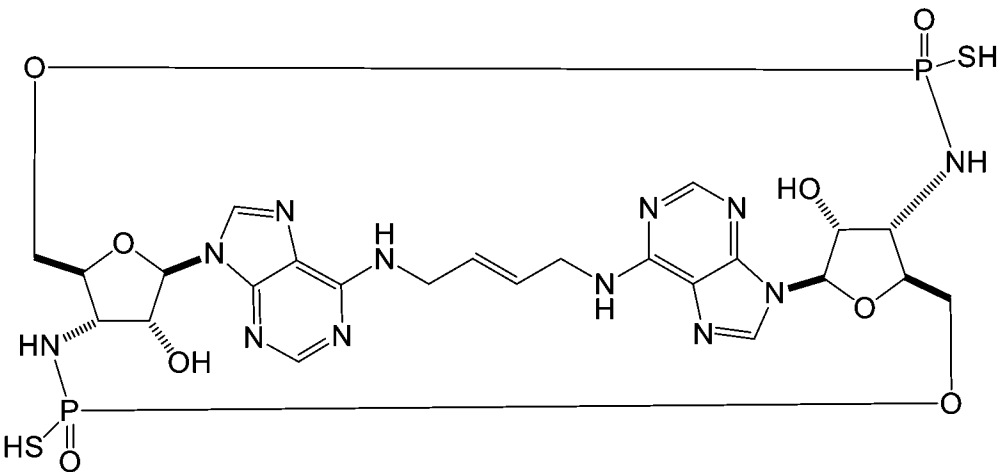






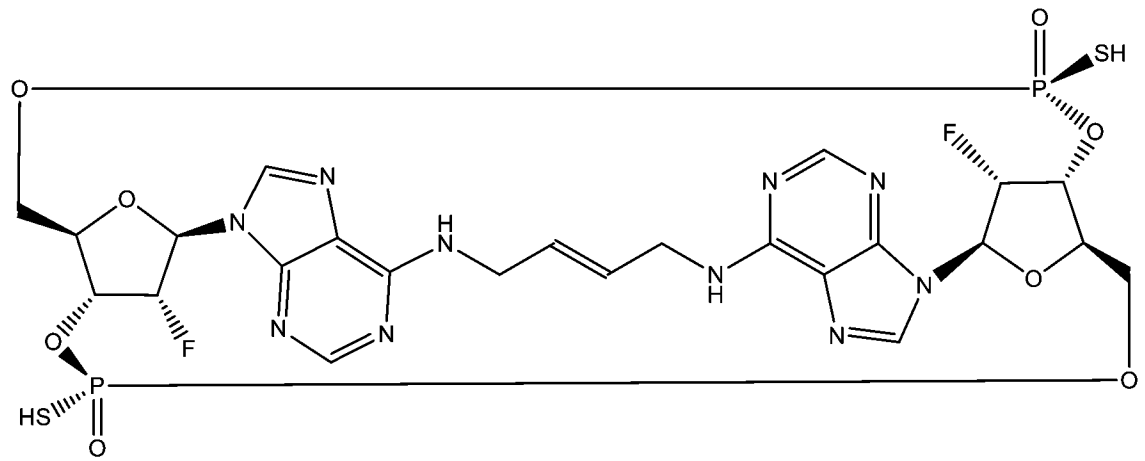






或其藥學上可接受的鹽。

【0021】 實施例可提供一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其具有以下的一個或多個(i) 在人類STING HAQ分析中的EC₅₀值小於100微莫耳；(ii) 在人類STING AQ分析中的EC₅₀值小於100微莫耳；(iii)在人類STING WT分析中的EC₅₀值小於100微莫耳；及(iv) 在人類STING REF分析中的EC₅₀值小於100微莫耳。一個實施例提供具有下列結構的化合物：



或其藥學上可接受的鹽。

【0022】 進一步的實施例可提供一種本文所記述的化合物的藥學上可接受的鹽，其中鹽為二銨鹽(diammonium salt)。進一步的實施例可提供一種包含本文所記述的化合物或鹽的醫藥組成物，及藥學上可接受的賦形劑。

【0023】 實施例可提供一種治療癌症的方法，其包含對患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0024】 將本文所記述的化合物或其藥學上可接受的鹽用於製備用以治療癌症的醫藥組成物的用途。

【0025】 實施例可提供本文所記述化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物用於治療癌症的用途。

【0026】 實施例可提供一種治療癌症的方法，其包含識別具有可藉由本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物治療之癌症的個體；及對該個體施予癌症被識別為可被其治療的藥學上有效劑量的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0027】 在一些實施例中，藉由REF STING變異對偶基因(variant allele)在患者中存在，該個體被識別為具有可藉由本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物治療的癌症。

【0028】 在一些實施例中，癌症係選自由黑色素瘤(melanoma)、大腸直腸癌(colorectal cancer)、乳癌(breast cancer)、急性骨髓性白血病(acute myeloid leukemia)、大腸癌(colon cancer)、肝癌(liver cancer)及神經膠質瘤(glioma)所組成之群組。

【0029】 一些實施例提供治療具有REF STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0030】 一些實施例提供治療具有WT STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0031】 一些實施例提供治療具有AQ STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0032】 一些實施例提供治療具有HAQ STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0033】 在一些實施例中，癌症係選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。在一些實施例中，癌症是轉移性的。

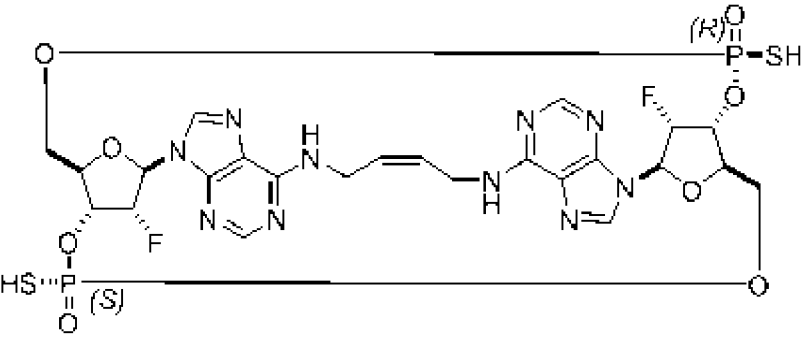
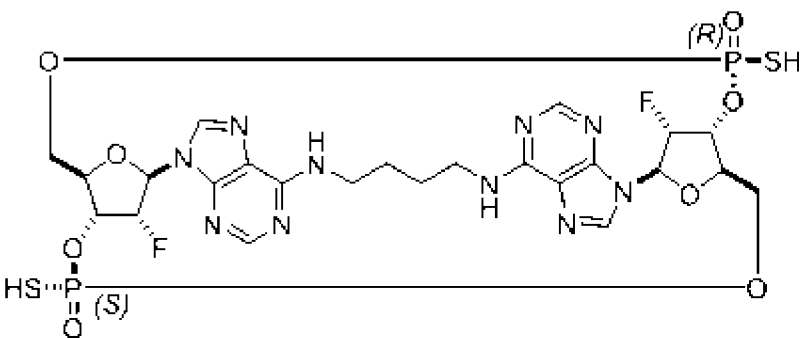
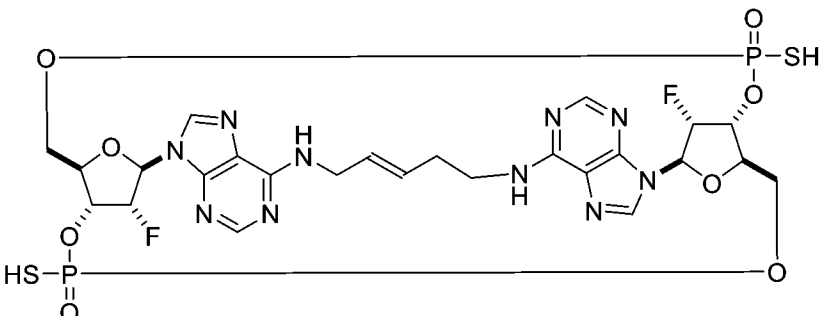
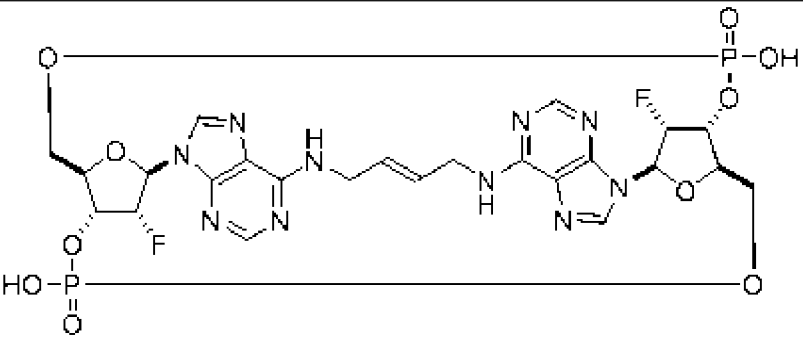
【0034】 在本文出現的通式的化合物之一些實施例中， L_1 的其中一個鍵結為雙鍵。在進一步的實施例中，該雙鍵具有反式幾何(trans geometry)。在進一步實施例中， L_1 係為飽和的。在某些實施例中 L_1 包含五個碳原子。在另一個實施例中， L_1 包含4個碳原子。

【0035】 實施例可進一步提供本文所記述的化合物的混合物，其包含這些化合物的立體異構物的混合物。例如，混合物可由化合物11及化合物12提供，或混合物可由化合物2及化合物4提供。當然，這些並不是限制性的例子且可能是其他的混合物。

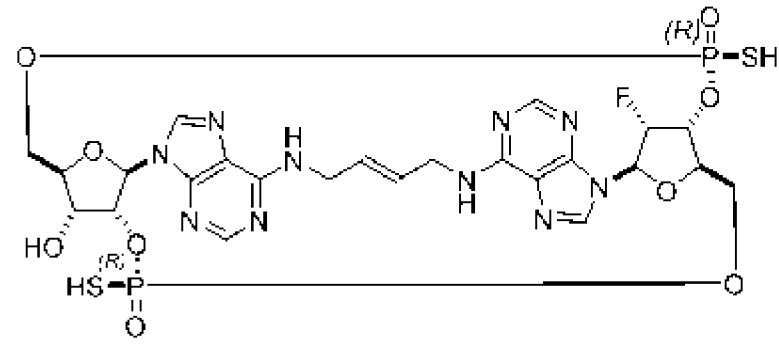
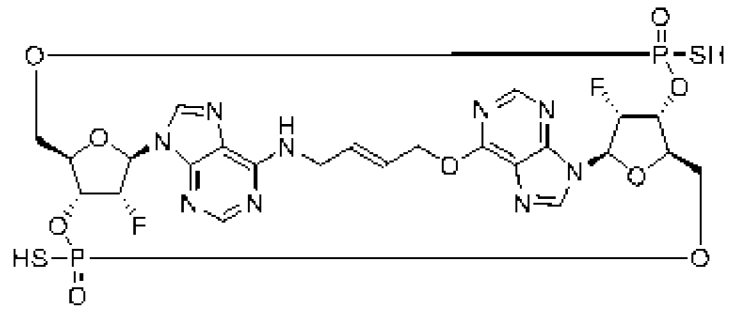
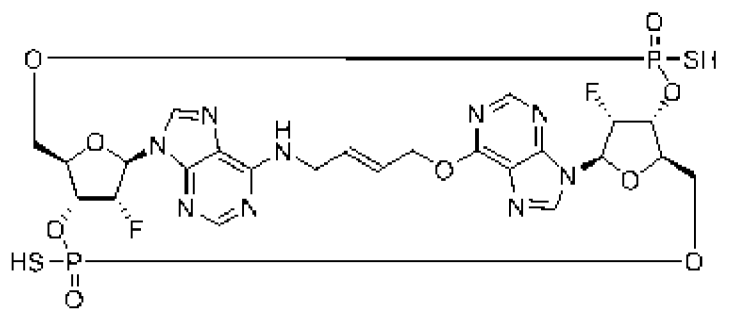
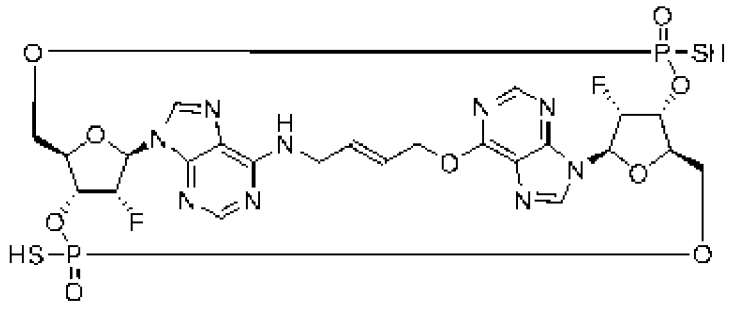
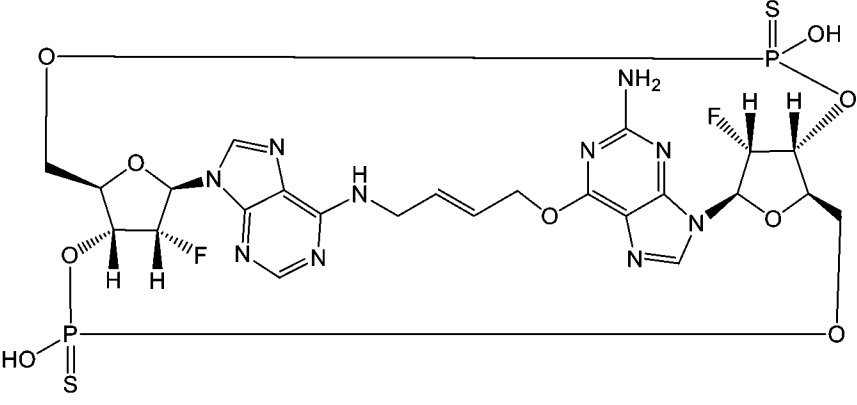
【0036】 特定的實施例列舉於下表3：

【0037】 表3

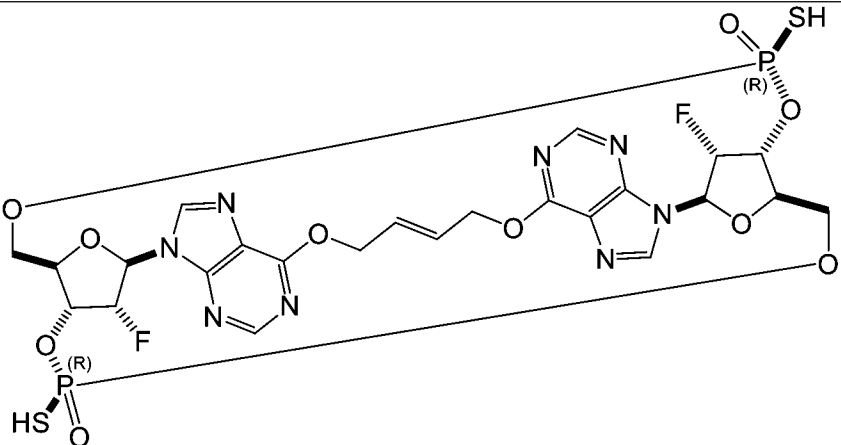
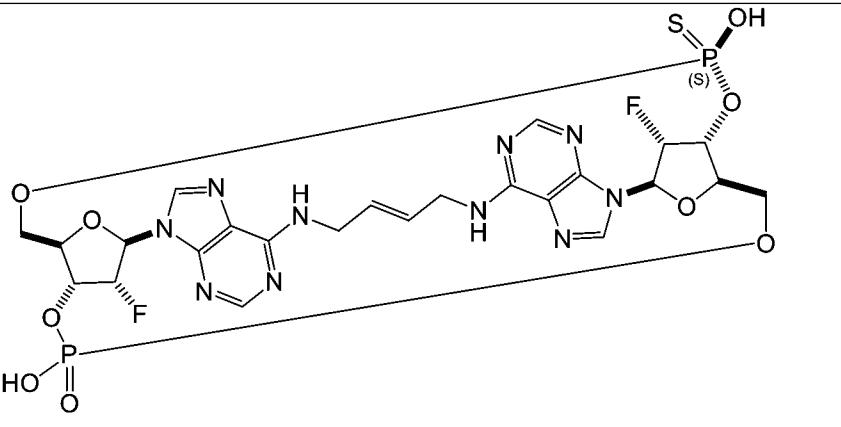
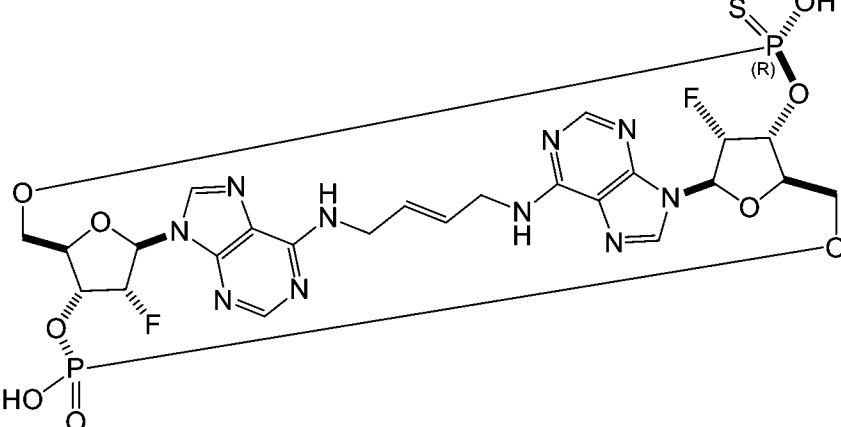
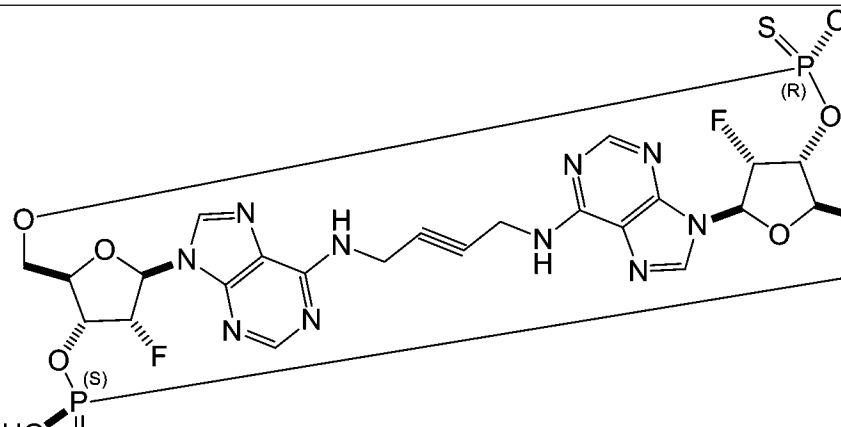
化合物編號	結構
1	
2	
3	
4	

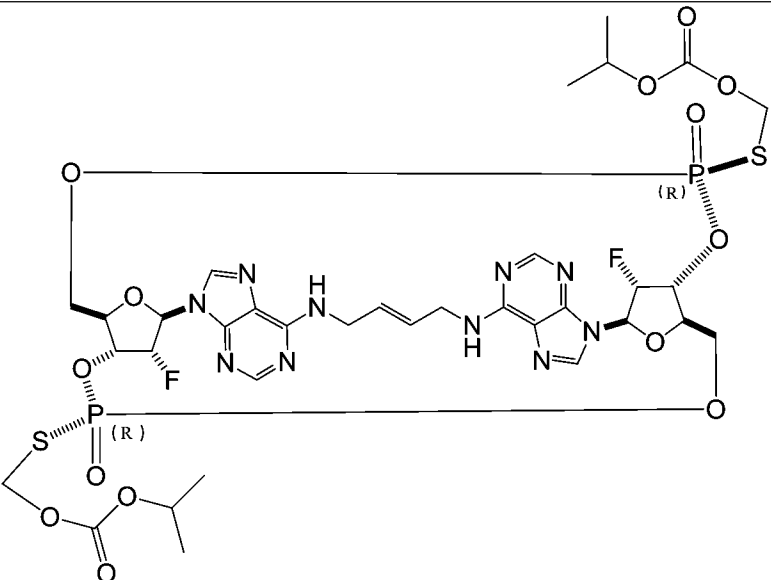
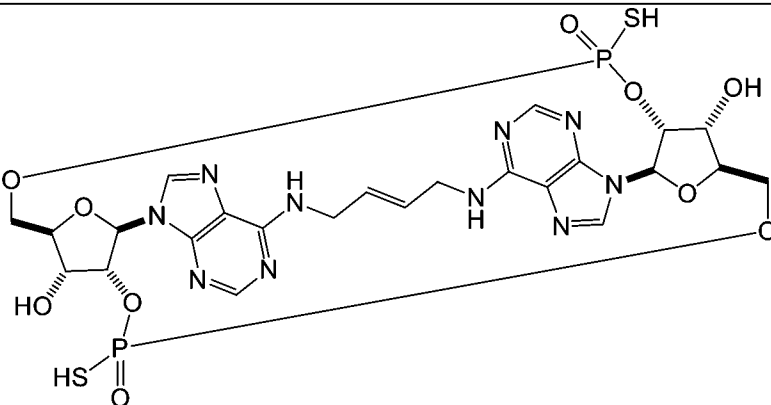
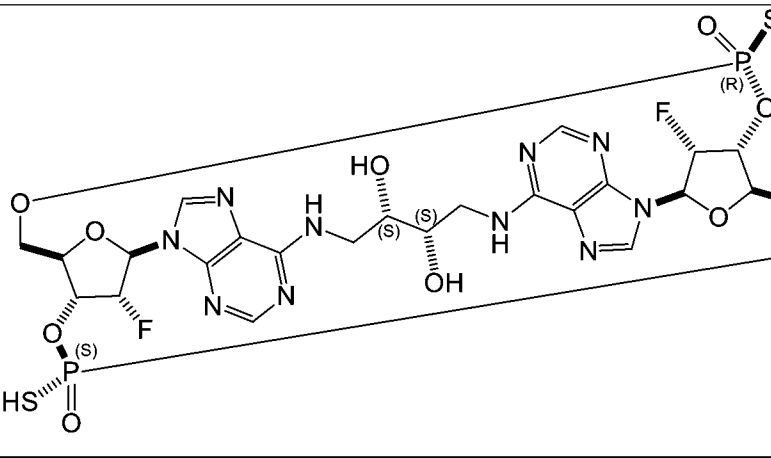
5	
6	
8	 (立體異構物 1)
9	

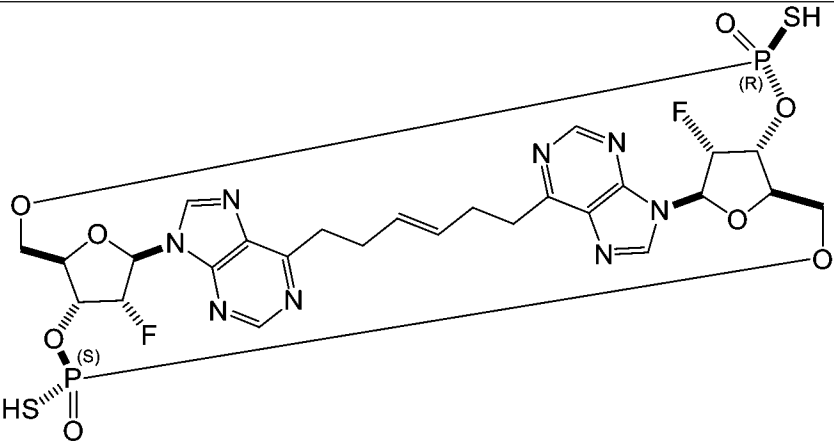
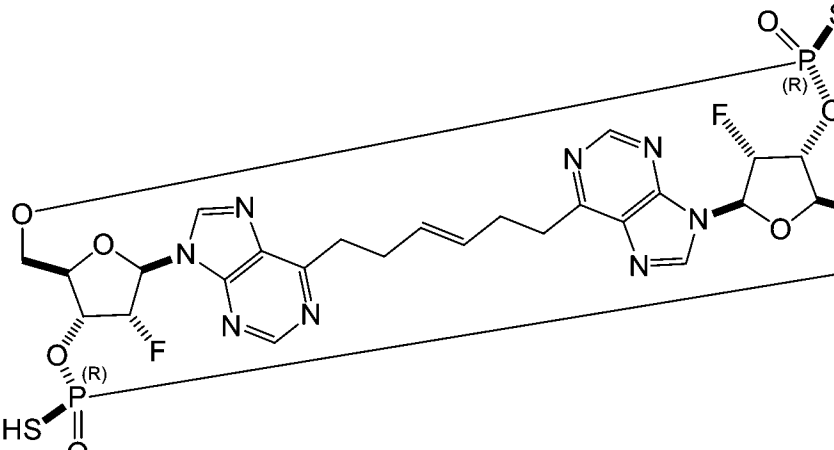
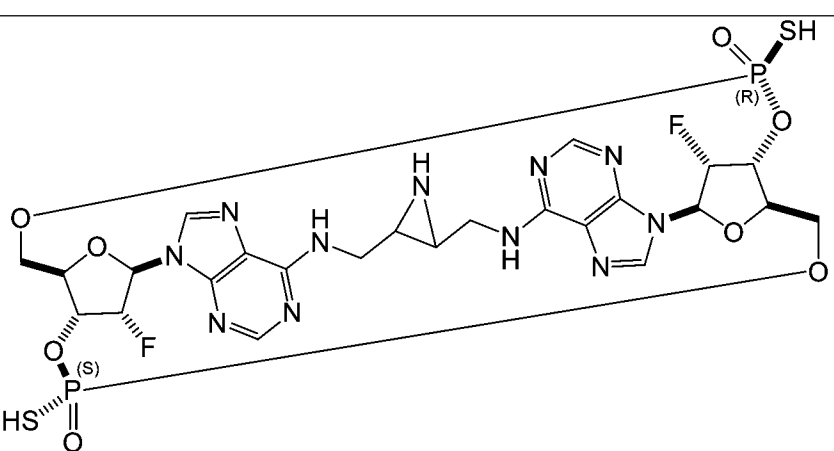
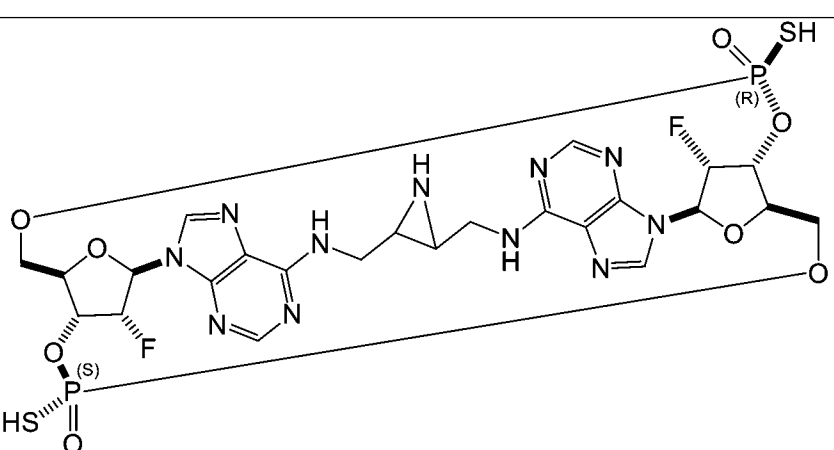
11	(立體異構物 2)
12	(立體異構物 3)
13	(R) (S)
14	(R) (S)
15	(R) (S)

16	
18	
19	
20	
21	 (立體異構物 1)

22	(立體異構物 2)
23	(立體異構物 3)
24	(立體異構物 4)
25	(立體異構物 5)

26	
27	
28	
29	

30	
31	
32	

33	
34	
35	 (立體異構物 1)
36	 (立體異構物 2)

37	
38	
39	

【0038】 在上表中，化合物8、11及12係以相同的通式結構繪製，且係有關於三種分別的立體異構物。然而，申請人指出化合物8的磷對掌性(chirality)不一定相同於例如標示為「立體異構物1」的化合物21的其他化合物的磷對掌性。其他立體異構物也是如此。

【0039】 在一些實施例中，本文所記述的化合物以游離酸的形式提供。在一些實施例中，該化合物以NH₄鹽的形式提供。

【0040】 實施例可提供一種治療有需要的患者的癌症的方法，其包含對該患者施予治療上有效劑量的本文中所記述的化合物或其如上所述之藥學上可接受的鹽。

【0041】 在一些實施例中，該化合物以游離酸的形式施予。在一些實施例中，化合物以二銨鹽(NH_4)的形式施予。亦考量包含通式I、通式II、通式III、通式IV、通式V、表3的化合物或其藥學上可接受的鹽，以及藥學上可接受的賦形劑醫藥組成物。實施例可提供根據通式I之化合物，其中n為1；關於雙鍵的幾何是反式的； X_1 及 X_2 各為SH；在 P_1 的立體化學為S；及在 P_2 的立體化學為R；或其藥學上可接受的鹽。

【0042】 實施例可提供一種治療患者之癌症的方法，其包含對該患者施予如本文所記述之化合物或其藥學上可接受的鹽、或醫藥組成物。如本文所記述之被治療的癌症可為轉移性癌症。例如，其可被選自黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤。亦考量化合物、鹽及醫藥組成物用於治療癌症及/或製備用於治療癌症的醫藥組成物的用途。

【0043】 實施例可提供用於治療癌症的方法，其包含識別具有可藉由本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物治療的癌症之個體，並對個體施予患者被識別可被其治療的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。在一些實施例中，個體藉由在患者中存在人類REF STING變異對偶基因而被識別為具有可藉由本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物治療的癌症。

【0044】 實施例可提供具有REF STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0045】 實施例可提供具有WT STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0046】 實施例可提供具有AQ STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0047】 實施例可提供對具有HAQ STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【圖式簡單說明】

【0048】 第1圖顯示化合物1a及化合物2a的合成。

【0049】 第2A圖及第2B圖顯示化合物1及化合物1a的替代性合成(alternate synthesis)，該替代性合成亦顯示於第2C圖。

【0050】 第3圖顯示化合物1的¹H NMR圖譜。

【0051】 第4A圖、第4B圖及第4C圖分別顯示化合物1的不對稱晶體、來自不對稱晶體的第一分子及來自不對稱晶體的第二分子的X射線結晶圖譜結果(ORTEP圖)。

【0052】 第4D圖顯示化合物2之晶體的X射線結晶圖譜結果(ORTEP圖)。

【0053】 第5A圖及第5B圖顯示化合物18、19及20的合成路徑。

【0054】 第6圖顯示WT STING(pLenti-WT human STING-Puro)的表現載體圖。

【0055】 第7圖及第8圖伴隨實例108並顯示在CT26雙重腫瘤模式中，化合物1a的治療活性。

【0056】 第9圖伴隨實例109並顯示被治療的腫瘤之腫瘤體積圖及生存曲線。

【0057】 第10圖伴隨實例110並顯示被治療的腫瘤之腫瘤體積圖及生存曲線。

【0058】 第11圖顯示與化合物1與人類WT STING錯合的 X射線晶體結構之圖像。

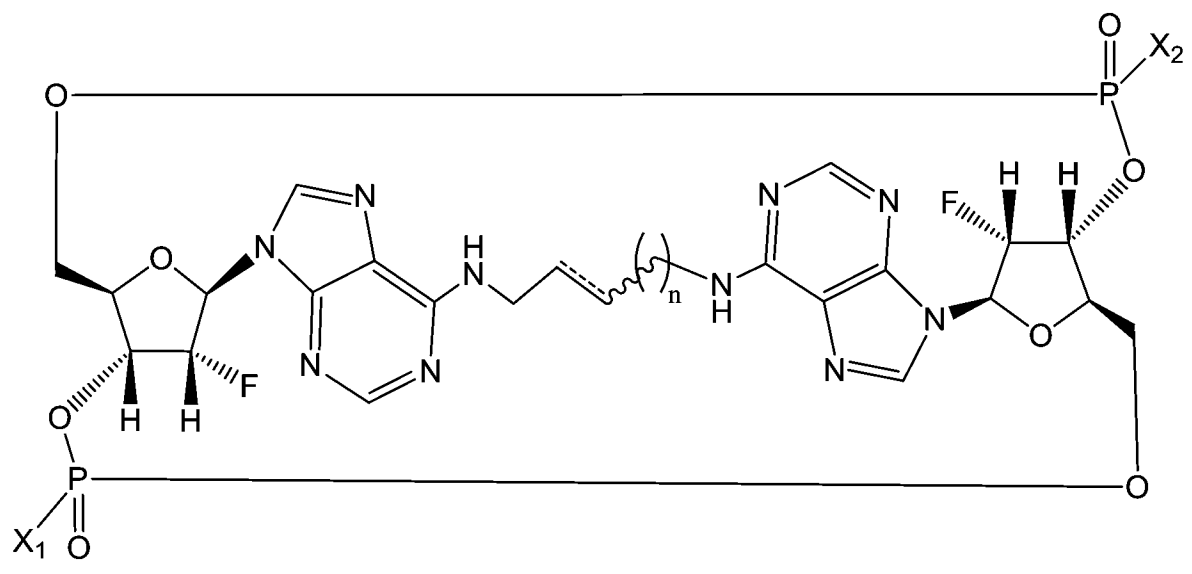
【0059】 第12圖顯示與化合物1錯合的人類REF STING的C端域(domain)。

【0060】 第13圖顯示化合物38及化合物39合成的實例。

【實施方式】

【0061】 本文提供有效用於治療癌症的化合物。該化合物可活化干擾素基因(STING)的刺激物。

【0062】 實施例可提供通式(I)的化合物：



(I)

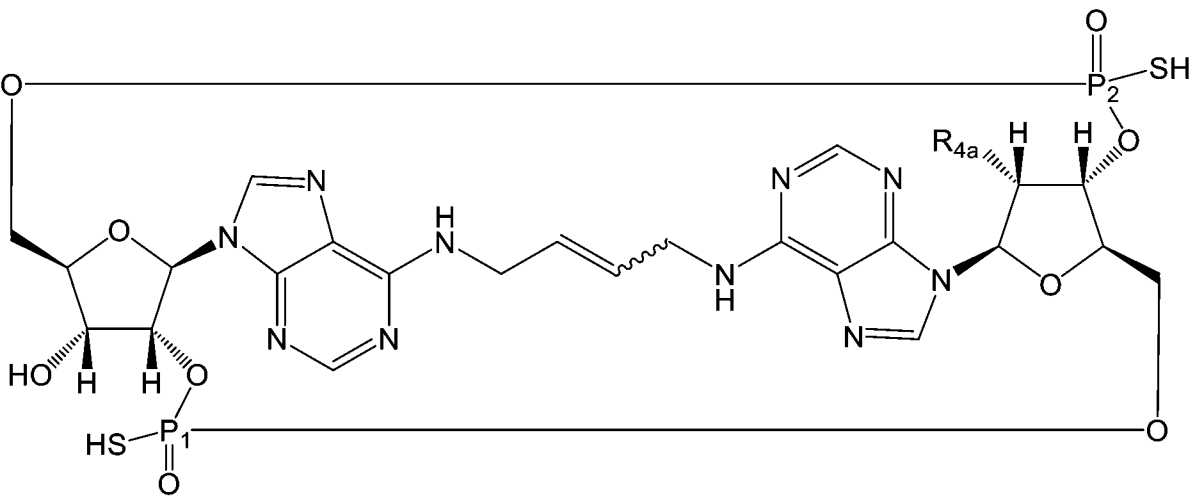
【0063】 (如上所繪製，其中P₁是左下角的磷且P₂是右上角的磷)其具有如下71所表示的取代基及立體化學，或其藥學上可接受的鹽。-----表示單鍵或雙鍵。

【0064】 當磷原子具有四個不同的取代基時，磷原子將成為立體中心。
SpSp/RpRp/SpRp/RpSp指的是如所示的磷的立體化學。

【0065】 表1

化合物 #	n	幾何 (反式、順式或飽和的)	X ₁	X ₂	立體化學組態 (P ₁)	立體化學組態 (P ₂)
1	1	反式	SH	SH	S	R
2	1	反式	SH	SH	R	R
3	1	反式	SH	SH	S	S
4	1	順式	SH	SH	R	R
5	1	順式	SH	SH	S	R
6	1	飽和	SH	SH	S	R
8	2	反式	SH	SH	未定	未定
9	1	反式	OH	OH	n/a	n/a
11	2	反式	SH	SH	未定	未定
12	2	反式	SH	SH	未定	未定

【0066】 實施例可進一步提供通式(II)的化合物：



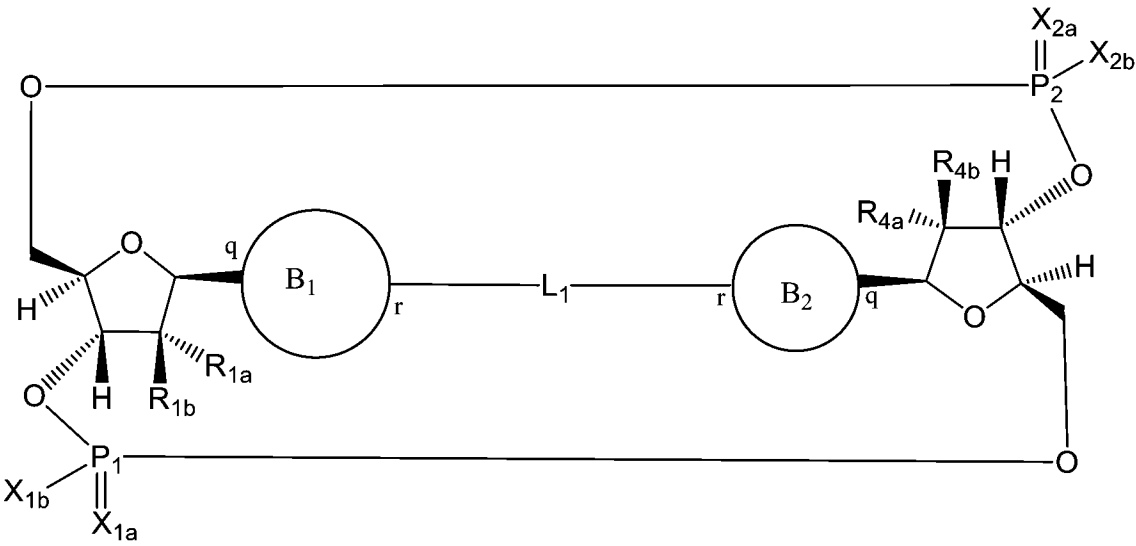
(II)

【0067】 其具有如下表2表示的取代基及立體化學或其藥學上可接受的鹽。當磷原子具有四個不同的取代基時，磷原子將成為立體中心。

【0068】 表2

化合物 #	R _{4a}	幾何組態	立體化學組態 (P ₁ , P ₂)
13	-OH	反式	S,R
14	-OH	反式	R,R
15	-F	反式	S,R
16	-F	反式	R,R

【0069】 實施例可提供通式(III)的化合物：



(III)

或其藥學上可接受的鹽，其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為 -F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為 -F；

P₁ 及 P₂ 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中，R₅係選自由-H、C₁₋₆烷基、-C(O)C₁₋₆烷基及-OC(O)OC₁₋₆烷基所組成的群組；

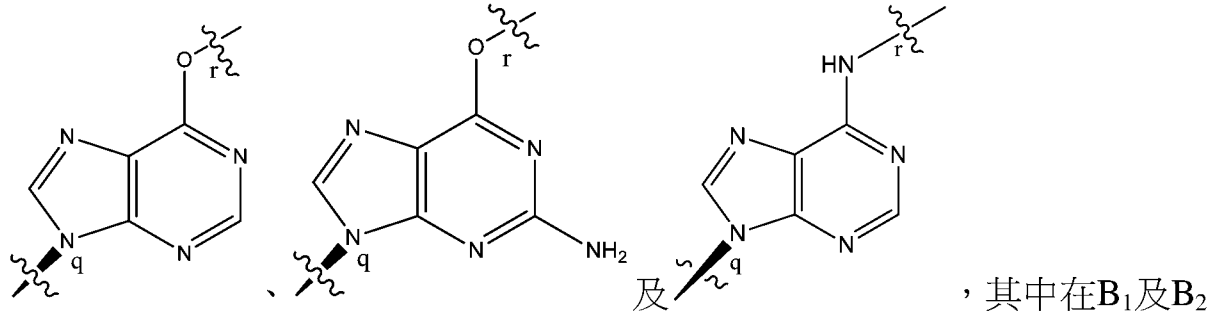
通式(III)中的L₁為四個或五個碳的長度，且為



其中-----表示單鍵或雙鍵，且其中L₁中出現0或1的=====表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

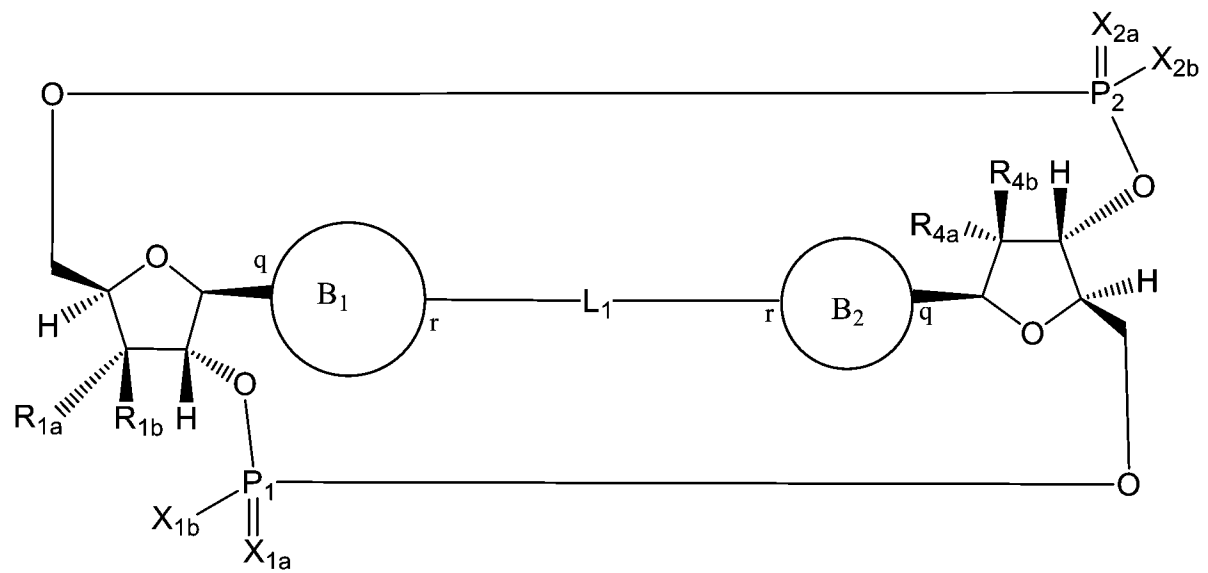
其中X₁₀及X₁₄係獨立地選自鍵結、-CH-或-CH₂-，且其中當X₁₀或X₁₄為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中，B₁及B₂係獨立地選自：



上的點q及r的鍵結附接於在通式(III)上的點q及r。

【0070】 實施例可提供通式(IV)的化合物：



(IV)

或其藥學上可接受的鹽，其中

R_{1a}係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b}係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為 -F ；

R_{4a}係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b}係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為 -F ；

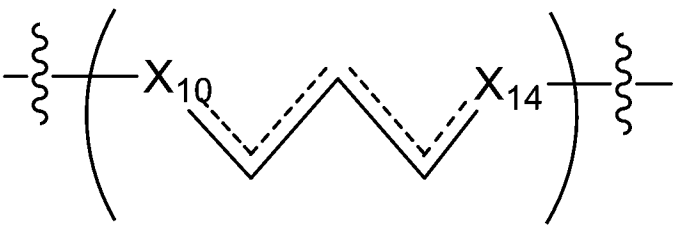
P₁ 及 P₂ 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S ；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅ ；

其中 R₅ 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及 -OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

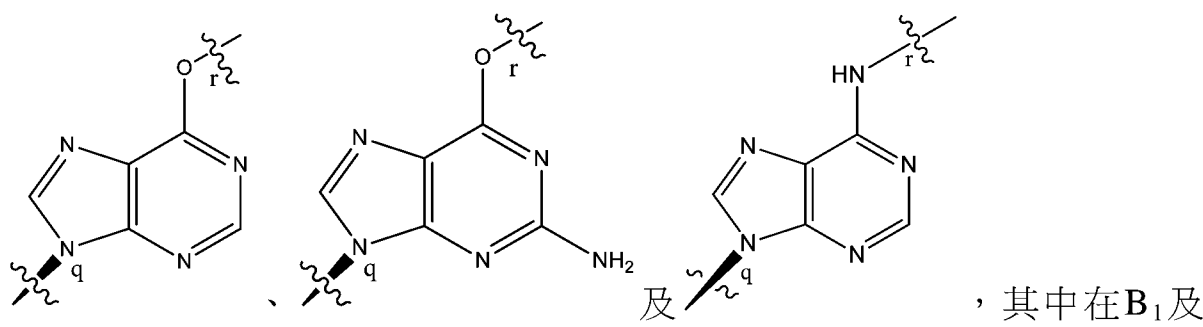
通式(IV)中的 L₁ 為四個或五個碳的長度，且為



其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

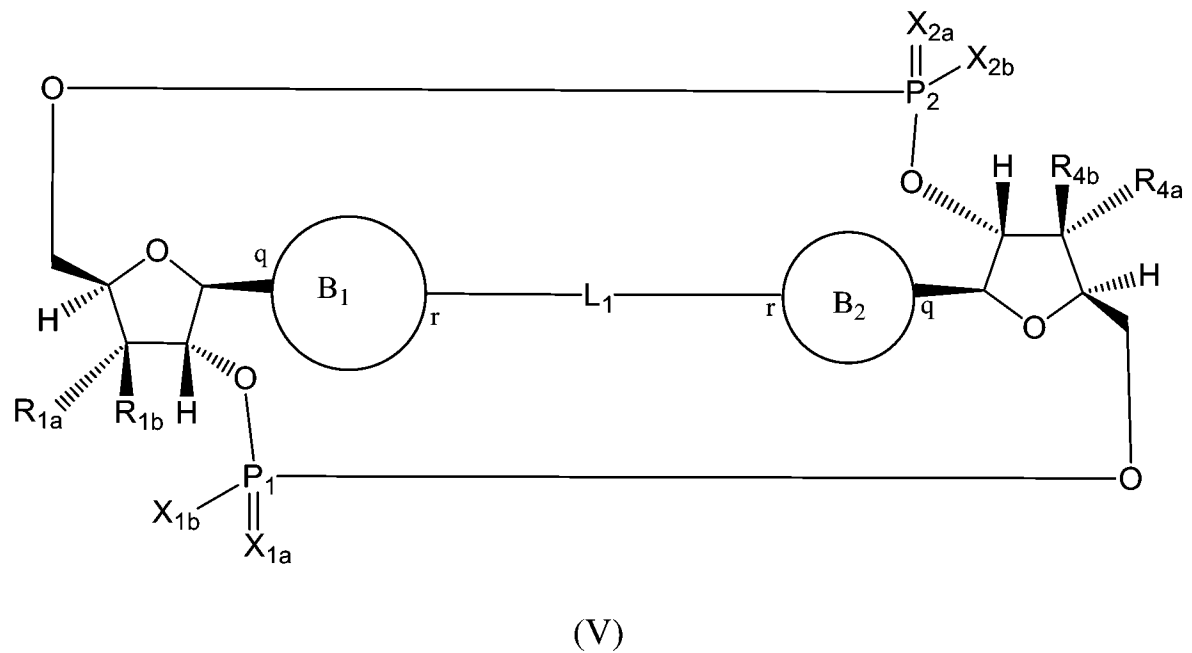
其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



B_2 上的點 q 及 r 的鍵結附接於在通式 (IV) 上的點 q 及 r 。

【0071】 實施例可提供通式 (V) 的化合物：



或其藥學上可接受的鹽，其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 可不皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 可不皆為-F；

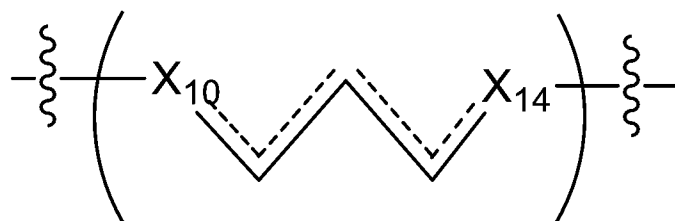
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中 R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及 -OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

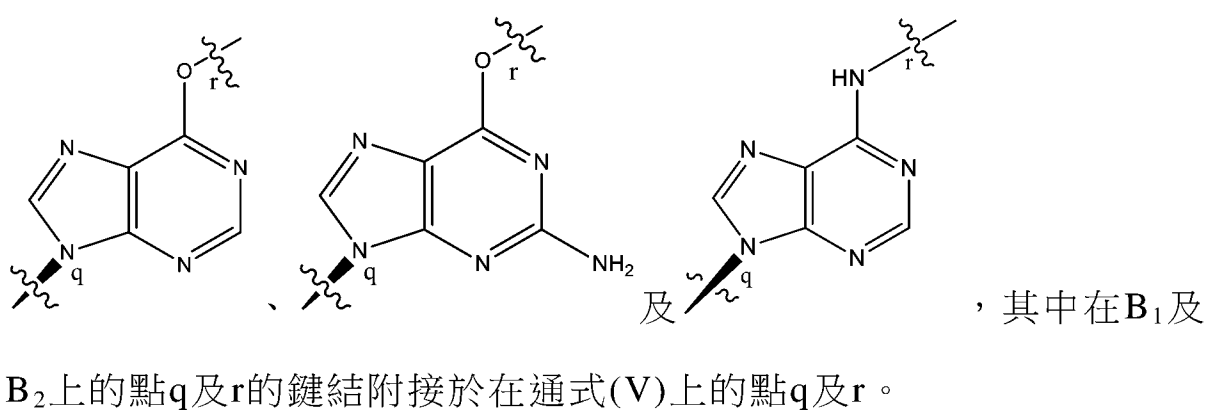
通式(V)中的 L_1 為四個或五個碳的長度，且為



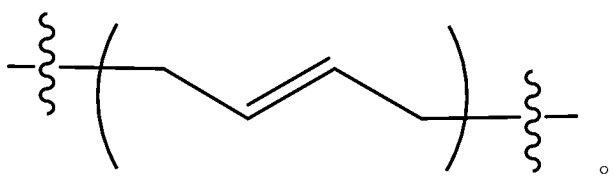
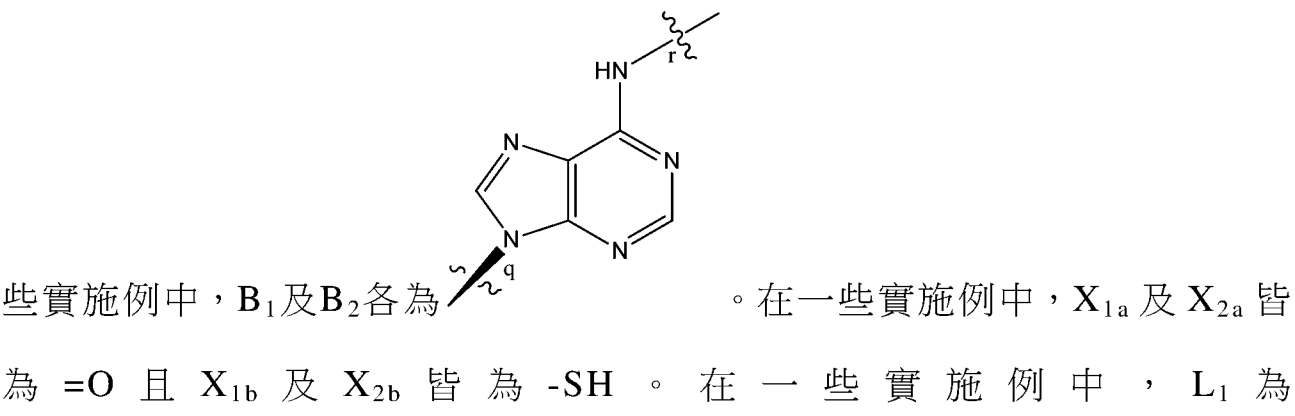
其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、-CH-或-CH₂-，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

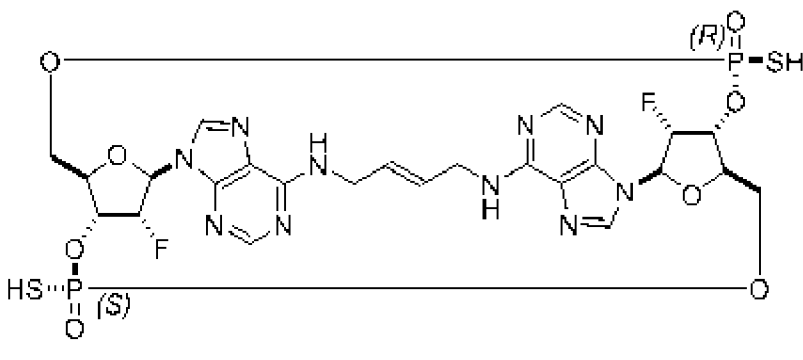
其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：

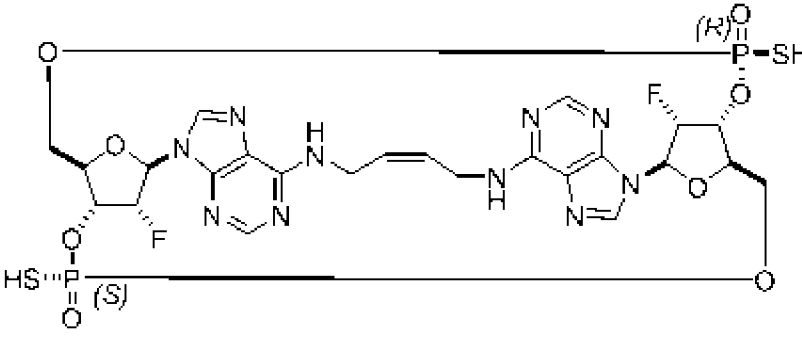
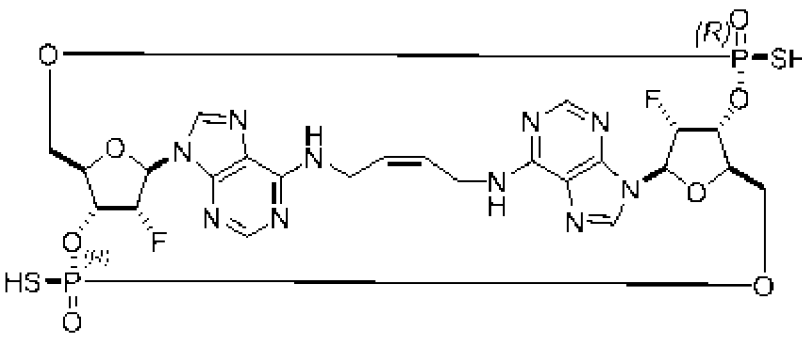
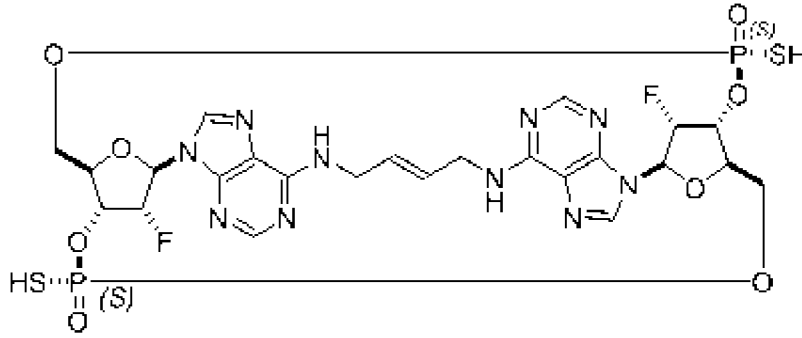
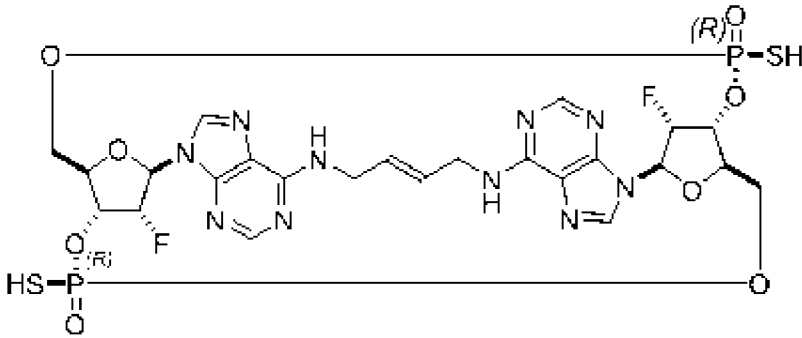


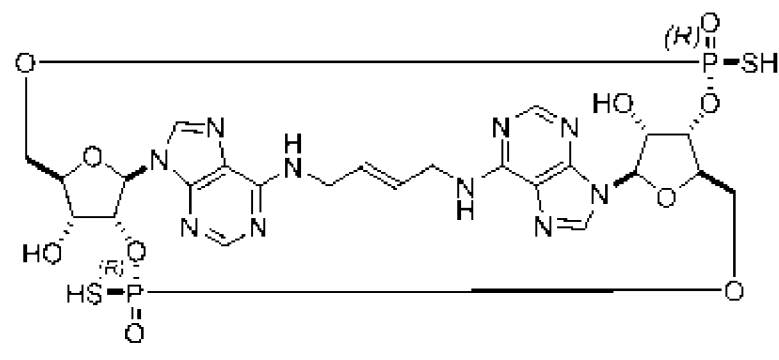
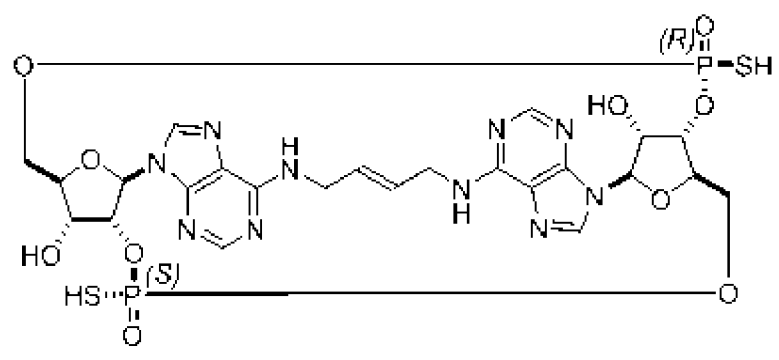
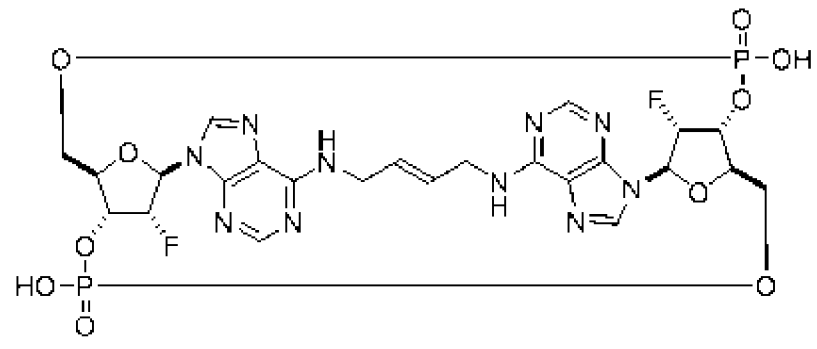
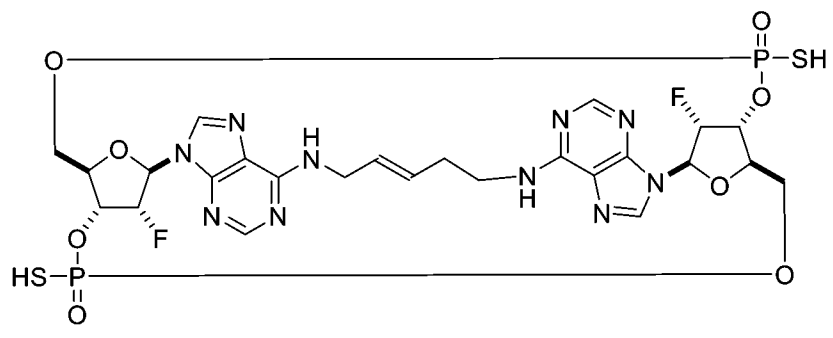
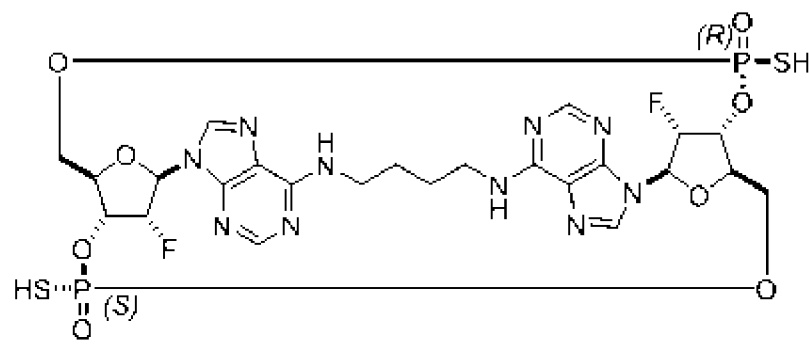
【0072】 在以上通式中記述之化合物及/或鹽的進一步實施例中可在本文的其他態樣中發現。例如，一些實施例提供其中R_{1a} 及 R_{4a} 各為 -F之化合物或藥學上可接受的鹽。在一些實施例中，R_{1b} 及 R_{4b} 各為 -F。在一

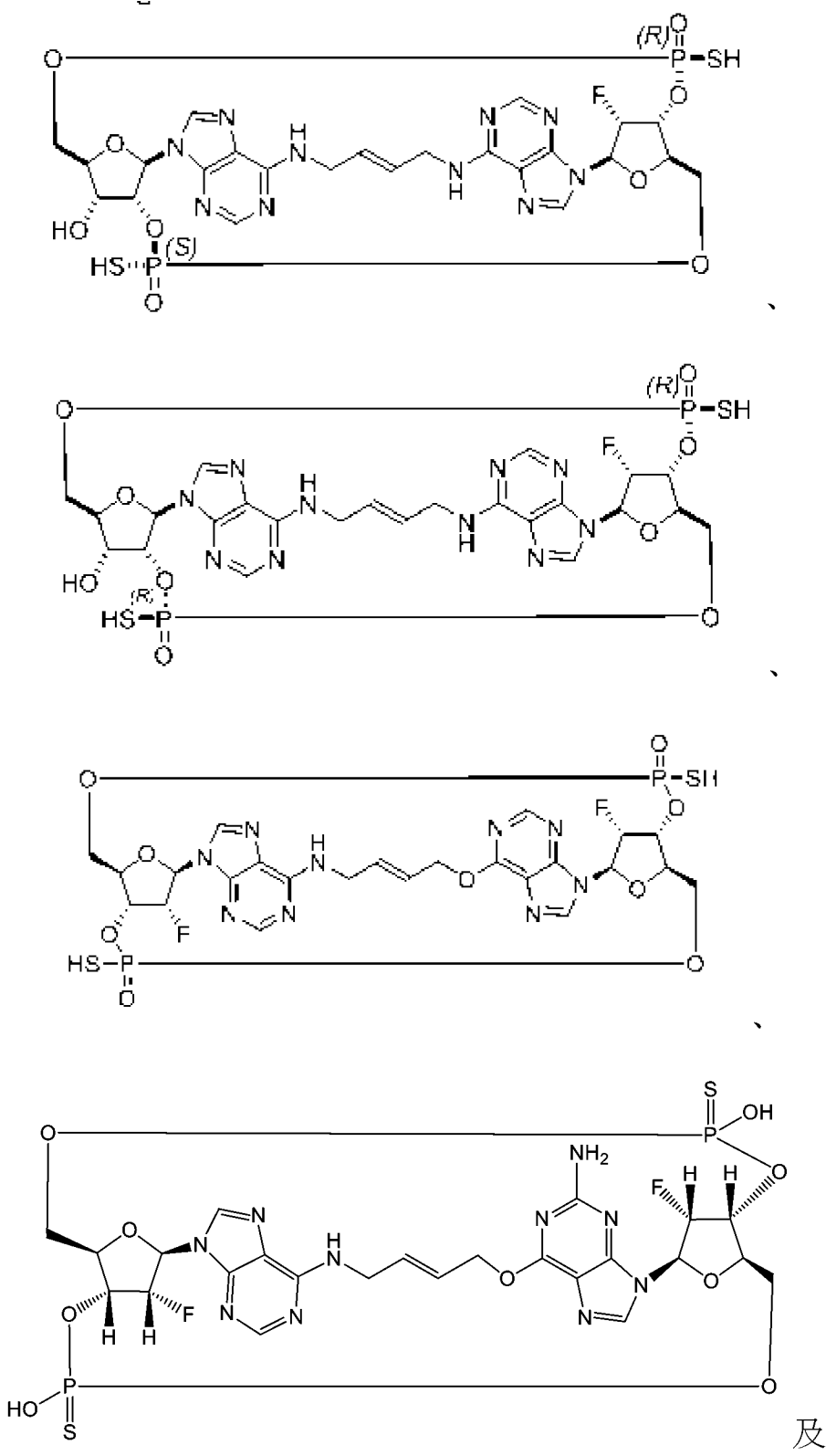


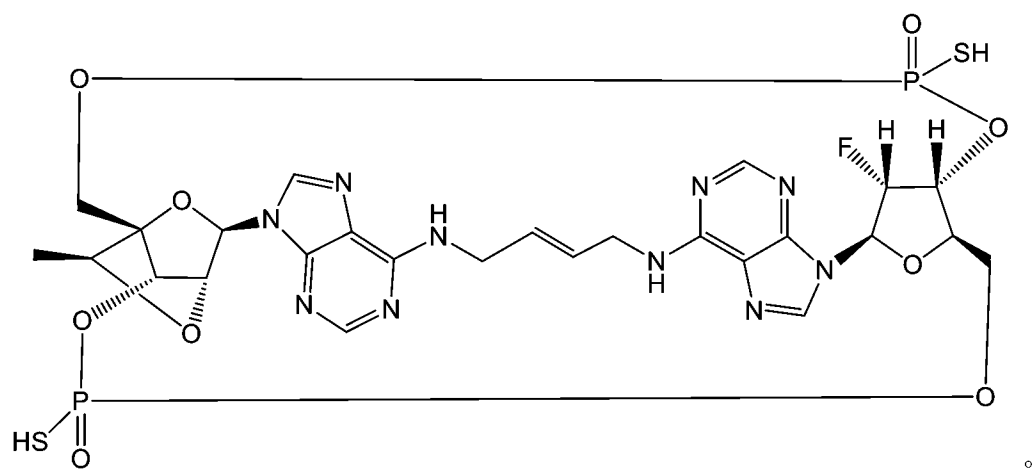
【0073】 一些實施例提供選自由以下所組成之群組之化合物或其藥學上可接受的鹽：



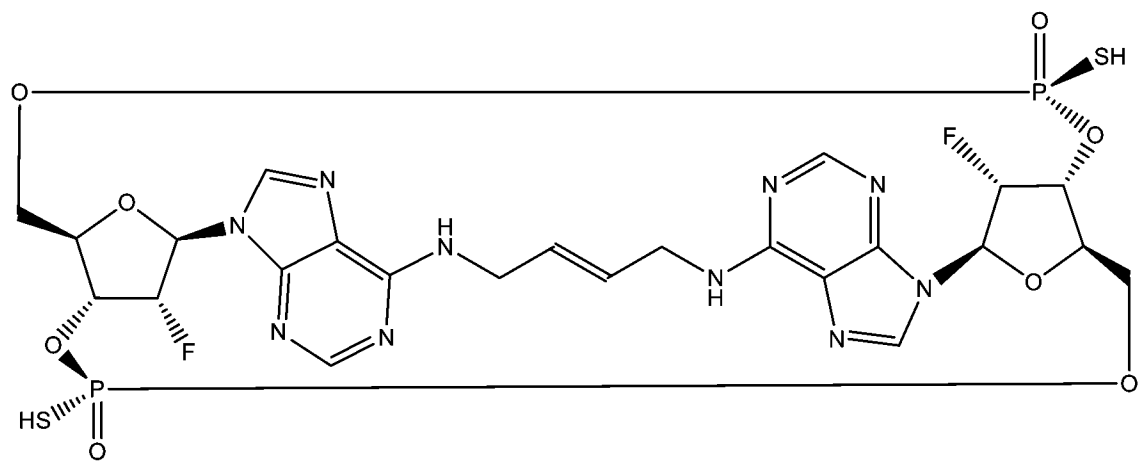








【0074】 實施例可提供一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其具有(i)在人類STING HAQ分析中的EC₅₀值小於100微莫耳；(ii)在人類STING AQ分析中的EC₅₀值小於100微莫耳；(iii)在人類STING WT分析中的EC₅₀值小於100微莫耳；及(iv)在人類STING REF分析中的EC₅₀值小於100微莫耳中的一個或多個：



或其藥學上可接受的鹽。

【0075】 進一步的實施例可提供一種本文所記述的化合物的藥學上可接受的鹽，其中該鹽為二銨鹽。進一步的實施例可提供包含本文所記述的化合物或鹽，及藥學上可接受的賦形劑的一種醫藥組成物。

【0076】 實施例可提供一種治療癌症的方法，其包含對患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。將本文所記述的化合物或其藥學上可接受的鹽用於製備用以治療癌症的醫藥組成物的用途。

【0077】 實施例可提供本文所記述之化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物用於治療癌症的用途。

【0078】 實施例可提供一種治療癌症的方法，其包含識別具有可藉由本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物治療之癌症的個體；及對個體施予藥學上有效劑量的癌症被識別為可被其治療的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0079】 在一些實施例中，藉由REF STING變異對偶基因(variant allele)在患者中存在，識別該個體具有可藉由本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物治療的癌症。

【0080】 在一些實施例中，癌症係選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳腺癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。

【0081】 一些實施例提供治療具有REF STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0082】 一些實施例提供治療具有WT STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0083】 一些實施例提供治療具有AQ STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0084】 一些實施例提供治療具有HAQ STING對偶基因之患者之癌症的方法，包含對該患者施予本文所記述的化合物、藥學上可接受的鹽或醫藥組成物。

【0085】 在一些實施例中，癌症係選自黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。在一些實施例中，癌症是轉移性的。

【0086】 在本文存在的通式的化合物之一些實施例中， L_1 中的一個鍵結為雙鍵。在進一步的實施例中，該雙鍵具有反式幾何(trans geometry)。在進一步實施例中， L_1 係為飽和的。在某些實施例中 L_1 包含五個碳原子。在另一個實施例中， L_1 包含4個碳原子。

【0087】 實施例可進一步提供如本文所記述的化合物的混合物，其包含這些化合物的立體異構物的混合物。例如，混合物可由化合物11及化合物12提供，或混合物可由化合物2及化合物4提供。當然，這些並不是限制性的例子且可能是其他的混合物。

【0088】 實施例可進一步提供如本文所記述的化合物的混合物，其包含這些化合物的立體異構物的混合物。例如，混合物可由化合物11及化合物12提供，或混合物可由化合物2及化合物4提供。當然，這些並不是限制性的例子且可能是其他的混合物。

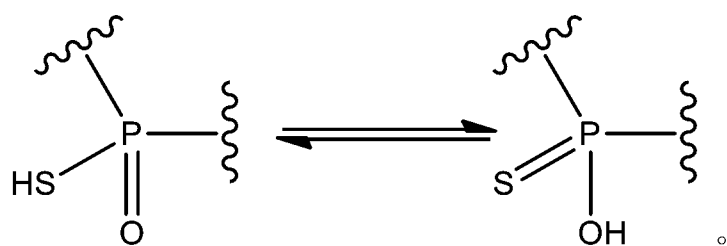
【0089】 在一些實施例中，化合物以游離酸的形式提供。在一些實施例中，該化合物以例如 NH_4 鹽的形式提供。參考化合物編號跟隨著一個「a」表示給定化合物的二銨鹽。例如「化合物1a」指的是化合物1的二銨鹽。

【0090】 實施例可提供一種治療有需要的患者的癌症的方法，其包含對該患者施予治療上有效劑量的通式I、通式II、通式III、通式IV或通式V的化合物或其藥學上可接受的鹽。

【0091】 在一些實施例中，該化合物以游離酸的形式施予。在一些實施例中，該化合物以例如二銨鹽(NH_4)的形式施予。用於治療癌症的醫藥組成物亦可由包含本文所記述的化合物或其藥學上可接受的鹽以及藥學上可接受的賦形劑提供。

【0092】 本文所記述的實施例可被用於治療癌症或用於製備有效地治療癌症的藥劑。「癌症」可包含但不限於大腸癌、肝癌、黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病及神經膠質瘤。

【0093】 那些所屬技術領域具有通常知識者將理解，當結合至磷原子(P_1 、 P_2)的取代基具有單鍵及雙鍵兩者時，其可易受互變異構作用。例如，該化合物可互變異構化平衡(tautomerize at equilibrium)。一個實例顯示如下：



【0094】 這些互變異構體應被考量至申請專利範圍的範疇中。給定化合物的任一互變異構體的結構表示將表示相同化合物。

【0095】 在一些實施例中，選自由本文所記述之化合物所組成的群組的化合物係以游離酸或其藥學上可接受的鹽的形式提供。在一些實施例中，選自由本文所記述之化合物所組成的群組的化合物係以 NH_4 鹽的形式提供，其可為二銨鹽。

【0096】 本文所使用的「 C_{1-6} 烷基」或「 $\text{C}_1\text{-C}_6$ 」烷基意指包含 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 或 C_6 直鏈(線性)飽和脂族烴基及 C_3 、 C_4 、 C_5 或 C_6 支鏈飽和脂族烴基。例如， C_{1-6} 烷基意指包含 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 及 C_6 烷基。烷基的實例包含具有從一個到六個碳原子的基團(moieties)，例如但不限於甲烷(methyl)、乙烷(ethyl)、正丙基(n-propyl)、異丙基(i-propyl)、正丁基(n-butyl)、仲丁基(s-butyl)、叔丁基(t-butyl)、正戊基(n-pentyl)、仲戊基(s-pentyl)或正己基(n-hexyl)。相似地，「 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基」或「 $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基」意指包含 C_1 、 C_2 或 C_3 直鏈(線性)飽和脂族烴基及 C_3 支鏈飽和脂族烴基。

【0097】 本文所使用的用語「 C_{3-6} 環烷基($\text{C}_{3-6}\text{cycloalkyl}$)」或「 $\text{C}_3\text{-C}_6$ 環烷基($\text{C}_3\text{-C}_6\text{cycloalkyl}$)」指的是具有3至6個碳原子(如 $\text{C}_3\text{-C}_6$)之飽和或不飽和的非芳香烴環。環烷基的實例包含但不限於環丙基(cyclopropyl)、環丁基(cyclobutyl)、環戊基(cyclopentyl)、環己基(cyclohexyl)、環庚基(cycloheptyl)、環戊烯基(cyclopentenyl)及環己烯基(cyclohexenyl)。用語「 C_{5-6} 環烷基($\text{C}_{5-6}\text{cycloalkyl}$)」或「 $\text{C}_5\text{-C}_6$ 環烷基($\text{C}_5\text{-C}_6\text{cycloalkyl}$)」指的是具有5或6個碳原子(如 $\text{C}_5\text{-C}_6$)之飽和或不飽和的非芳香烴環。除非特別說明，否則用語「 C_{5-6} 雜環烷基($\text{C}_{5-6}\text{heterocycloalkyl}$)」或「 $\text{C}_5\text{-C}_6$ 雜環烷基($\text{C}_5\text{-C}_6\text{ heterocycloalkyl}$)」指的是具有一個或多個雜原子(如O、N或S)之飽和或不飽和的非芳族5-6員單環。除非特別說明，否則用語「 C_{4-6} 雜環烷基($\text{C}_{4-6}\text{ heterocycloalkyl}$)」或「 $\text{C}_4\text{-C}_6$ 雜環烷基($\text{C}_4\text{-C}_6\text{ heterocycloalkyl}$)」指的是具有一個或

多個雜原子(如O、N或S)之飽和或不飽和的非芳族4-6員單環。雜環烷基的實例包含但不限於哌啶基(piperidinyl)、哌[口井]基(piperazinyl)、吡咯啉基(pyrrolidinyl)、二氧六環基(dioxanyl)、四氫呋喃基(tetrahydrofuranyl)、異吲哚啉基(isoindolinyl)、吲哚啉基(indolinyl)、咪唑啉基(imidazolidinyl)、吡唑啉基(pyrazolidinyl)、噁唑啉基(oxazolidinyl)、異噁唑啉基(isoxazolidinyl)、三唑啉基(triazolidinyl)、環氧乙烷基(oxiranyl)、四氫吡啶基(azetidiny)、氧環丁烷基(oxetanyl)、硫環丁烷基(thietanyl)、1,2,3,6-四氫吡啶基(1,2,3,6-tetrahydropyridinyl)、四氫吡喃基(tetrahydropyranyl)、四氫噻吩(tetrahydrothiophene)、二氫吡喃基(dihydropyranyl)、吡喃基(pyranyl)、嗎啉基(morpholinyl)、1,4-二氮雜環庚烷基(1,4-diazepanyl)、1,4-氧氮雜環庚烷基(1,4-oxazepanyl)等。其他雜環烷基的實例包含但不限於吡啶基(acridinyl)、吡[口辛]因基(azocinyl)、苯並咪唑基(benzimidazolyl)、苯並呋喃基(benzofuranyl)、苯並硫呋喃基(benzothiofuranyl)、苯並硫苯基(benzothiophenyl)、苯並噁唑基(benzoxazolyl)、苯並噁唑啉基(benzoxazolinyl)、苯並噻唑基(benzthiazolyl)、苯並三唑基(benztriazolyl)、苯並四唑基(benztetrazolyl)、苯並異噁唑基(benzisoxazolyl)、苯並異噻唑基(benzisothiazolyl)、苯並咪唑啉基(benzimidazolinyl)、卡唑基(carbazolyl)、4aH-卡唑基(4aH-carbazolyl)、卡啉基(carbolinyl)、[口克]啉基(chromanil)、[口克]啉基(chromenyl)、[口辛]啉基(cinnolinyl)、十氫喹啉基(decahydroquinolinyl)、2H,6H-1,5,2-二噻[口井]基(2H,6H-1,5,2-dithiazinyl)、二氫呋喃並[2,3-b]四氫呋喃(dihydrofuro[2,3-b]tetrahydrofuran)、呋喃基(furanyl)、呋嗪基(furazanyl)、咪唑啉基、咪唑啉基(imidazolinyl)、咪唑基(imidazolyl)、1H-吲哚基(1H-indazolyl)、吲哚烯基(indolenyl)、吲哚啉基、吲[口巾]基(indoliziny)、吲哚基(indolyl)、3H-吲哚基(3H-indolyl)、靛紅醯基(isatinoyl)、異苯並呋喃基(isobenzofuranyl)、異[口克]基(isochromanil)、異吲哚基(isoindazolyl)、異吲哚啉基(isoindolinyl)、異吲哚基

(isoindolyl)、異喹啉基(isoquinolynyl)、異噻唑基(isothiazolyl)、異噁唑基(isoxazolyl)、亞甲二氧苯基(methylenedioxyphenyl)、嗎福啉基(morpholynyl)、萘啉基(naphthyridinyl)、八氫異喹啉基(octahydroisoquinolynyl)、噁二唑基(oxadiazolyl)、1,2,3-噁二唑基(1,2,3-oxadiazolyl)、1,2,4-噁二唑基(1,2,4-oxadiazolyl)、1,2,5-噁二唑基(1,2,5-oxadiazolyl)、1,3,4-噁二唑基(1,3,4-oxadiazolyl)、1,2,4-噁二唑5(4H)-酮(1,2,4-oxadiazol5(4H)-one)、噁唑啉基(oxazolidinyl)、噁唑基(oxazolyl)、呋啉酮基(oxindolyl)、嘧啶基(pyrimidinyl)、啡啉基(phenanthridinyl)、啡啉基(phenanthrolinyl)、啡[口井]基(phenazinyl)、啡噻[口井]基(phenothiazinyl)、啡噁噻基(phenoxathinyl)、啡噁[口井]基(phenoxazinyl)、呋[口井]基(phthalazinyl)、哌[口井]基(piperazinyl)、哌啉基(piperidinyl)、哌啉酮基(piperidonyl)、4-哌啉酮基(4-piperidonyl)、胡椒基(piperonyl)、喋啉基(pteridinyl)、嘌呤基(purinyl)、哌喃基、吡[口井]基(pyrazinyl)、吡咯啉基、吡唑啉基(pyrazolinyl)、吡唑基(pyrazolyl)、嗒[口井]基(pyridazinyl)、吡啉並噁唑基(pyridooxazole)、吡啉并咪唑(pyridoimidazole)、吡啉并噻唑(pyridothiazole)、吡啉基(pyridinyl)、吡啉基(pyridyl)、嘧啶基(pyrimidinyl)、吡咯啉基(pyrrolidinyl)、吡咯啉基(pyrrolinyl)、2H-吡咯基(2H-pyrrolyl)、吡咯基(pyrrolyl)、喹唑啉基(quinazolinyl)、喹啉基(quinolynyl)、4H-喹[口巾]基(4H-quinolizynyl)、喹噁啉基(quinoxalynyl)、[口昆]啉基(quinuclidinyl)、四氫呋喃基、四氫異喹啉基(tetrahydroisoquinolynyl)、四氫喹啉基(tetrahydroquinolynyl)、四唑基(tetrazolyl)、6H-1,2,5-噻二[口井](6H-1,2,5-thiadiazinyl)、1,2,3-噻二唑基(1,2,3-thiadiazolyl)、1,2,4-噻二唑基(1,2,4-thiadiazolyl)、1,2,5-噻二唑基(1,2,5-thiadiazolyl)、1,3,4-噻二唑基(1,3,4-thiadiazolyl)、噻噁基(thianthrenyl)、噻唑基(thiazolyl)、噻吩基(thienyl)、噻吩噻唑基(thienothiazolyl)、噻吩[口号]唑基(thienooxazolyl)、噻吩咪唑(thienoimidazolyl)、苯硫基(thiophenyl)、三[口井]基(triazinyl)、1,2,3-三唑基

(1,2,3-triazolyl)、1,2,4-三唑基(1,2,4-triazolyl)、1,2,5-三唑基(1,2,5-triazolyl)、1,3,4-三唑基(1,3,4-triazolyl)及[口山][口星]基(xanthenyl)。

【0098】 本文所使用的用語「C₅₋₆芳基(C₅₋₆aryl)」或「C₅-C₆芳基(C₅-C₆aryl)」指的是具有5至6個碳原子(如C₅-C₆)之芳香烴環，其在環結構中不包含任何雜原子。

【0099】 除非特別說明，用語「C₃₋₆雜芳基(C₃₋₆heteroaryl)」或「C₃-C₆雜芳基(C₃-C₆heteroaryl)」指的是具有一個或多個雜原子(如O、N或S)的芳香3-6員單環，除去(except)包含不超過一個氧原子或一個硫原子的雜芳環。

【0100】 用語「C₂₋₆烯基(C₃₋₆alkenyl)」包含具有2、3、4、5或6個碳的不飽和脂族基，且其包含至少一個雙鍵。例如用語「C₂₋₆烯基(C₃₋₆alkenyl)」包含直鏈烯基(例如，乙烯基(ethenyl)、丙烯基(propenyl)、丁烯基(butenyl)、戊烯基(pentenyl)、己烯基(hexenyl))及支鏈烯基。在一些實施例中，在直鏈或支鏈烯基的主鏈中具有六個或更少的碳原子(例如直鏈中為C₂-C₆，支鏈中為C₃-C₆)。用語「C₂₋₆烯基(C₂₋₆alkenyl)」包含具有兩個至六個碳原子的烯基。

【0101】 用語「C₂₋₆炔基(C₃₋₆alkynyl)」包含2、3、4、5或6個碳的不飽和脂族基，但其含有至少一個三鍵。例如，「炔基(alkynyl)」包含直鏈炔基(例如，乙炔基(ethynyl)、丙炔基(propynyl)、丁炔基(butynyl)、戊炔基(pentynyl)、己炔基(hexynyl))及支鏈炔基。在一些實施例中，在直鏈或支鏈炔基的主鏈中具有六個或更少的碳原子(例如直鏈為C₂-C₆，支鏈為C₃-C₆)。用語「C₂₋₆炔基(C₂₋₆alkynyl)」包含具有兩個至六個碳原子的炔基。

【0102】 治療的方法

【0103】 實施例可提供一種治療有需要的患者的癌症的方法，其包含對該患者施予治療上有效劑量的本文所記述的化合物或其藥學上可接受的鹽。

【0104】 在一些實施例中，施予的化合物係以游離酸或其藥學上可接受的鹽的形式提供。在一些實施例中，施予的化合物係以 NH_4 鹽、游離酸或其藥學上可接受的鹽的形式提供。在一些實施例中，該化合物係以 NH_4 鹽的形式提供。

【0105】 用語「選擇性地取代(optionally substituted)」指的是具有在基團(moiety)中帶有氫的一個或多個原子上取代一個或多個氫原子的特定取代基的基團(moiety)。

【0106】 命名或描述的化學品意在包含在本化合物中發生之原子的所有自然發生的同位素。同位素包含具有相同原子數但不同質量數的那些原子。舉一般實例來說而不以此為限， ^1H 氫的同位素包含氕及氘，而 ^{12}C 碳的同位素包含 ^{13}C 及 ^{14}C 。

【0107】 劑量

【0108】 用於治療癌症最佳的劑量可使用習知的方法經驗性地依據各個體決定，且將取決於各種因子，包含藥劑的活性；個體的年齡、體重、總體健康狀況、性別及飲食；給藥的時間及途徑；及個體正在服用的其他藥物。最佳的劑量可使用所屬技術領域習知的常規測試及程序來建立。可藉由任何適合的途徑施予上述的化合物。

【0109】 本文所使用「藥學上可接受的鹽(Pharmaceutically acceptable salt)」指的是在本揭露的化合物的酸加成鹽類(acid addition salts)或鹼加成鹽類(base addition salts)。藥學上可接受的鹽是保持母體化合物之活性且不會賦予其所投與之主體及其所投與之情形任何過度有害的或不想要的作用之任何鹽。藥學上可接

受的鹽包含但不限於金屬錯合物及無機鹽及羧酸鹽。藥學上可接受的鹽亦包含金屬鹽，例如：鋁(aluminum)、鈣(calcium)、鐵(iron)、鎂(magnesium)、錳(manganese)及錯鹽。此外，藥學上可接受的鹽包含但不限於酸式鹽，例如：乙酸(acetic)鹽、天門冬胺酸(aspartic)鹽、烷基磺酸(alkylsulfonic)鹽、芳基磺酸(arylsulfonic)鹽、乙醯氧基乙酸(axetil)鹽、苯磺酸(benzenesulfonic)鹽、苯甲酸(benzoic)鹽、重碳酸(bicarbonic)鹽、重硫酸(bisulfuric)鹽、雙酒石酸(bitartaric)鹽、丁酸(butyric)鹽、依地酸鈣(calcium edetate)鹽、樟腦磺酸(camsylic)鹽、碳酸(carbonic)鹽、氯苯甲酸(chlorobenzoic)鹽、檸檬酸(citric)鹽、依地酸(edetic)鹽、乙二磺酸(edisylic)鹽、依託酸(estolic)鹽、乙磺醯基(esyl)鹽、乙磺酸(esylic)鹽、甲酸(formic)鹽、富馬酸(fumaric)鹽、葡庚糖酸(gluceptic)鹽、葡萄糖酸(gluconic)鹽、麩胺酸(glutamic)鹽、乙醇酸(glycolic)鹽、乙醇醯阿散酸(glycolylarsanilic)鹽、環己胺磺酸(hexamic)鹽、己基間苯二酚酸(hexylresorcinoic)鹽、海卓巴米克酸(hydrabamic)鹽、氫溴酸(hydrobromic)鹽、氫氯酸(hydrochloric)鹽、鹽酸(hydrochloride)鹽、氫碘酸(hydroiodic)鹽、羥萘甲酸(hydroxynaphthoic)鹽、羥乙磺酸(isethionic)鹽、乳酸(lactic)鹽、乳糖酸(lactobionic)鹽、順丁烯二酸(maleic)鹽、蘋果酸(malic)鹽、丙二酸(malonic)鹽、扁桃酸(mandelic)鹽、甲磺酸(methanesulfonic)鹽、甲基硝酸(methylnitric)鹽、甲基硫酸(methylsulfuric)鹽、黏液酸(mucic)鹽、黏康酸(muconic)鹽、萘磺酸(napsylic)鹽、硝酸(nitric)鹽、草酸(oxalic)鹽、對硝基甲磺酸(p-nitromethanesulfonic)鹽、帕莫酸(pamoic)鹽、泛酸(pantothenic)鹽、磷酸(phosphoric)鹽、磷酸單氫(monohydrogen phosphoric)鹽、磷酸二氫(dihydrogen phosphoric)鹽、鄰苯二甲酸(phthalic)鹽、聚半乳糖酸(polygalactouronic)鹽、丙酸(propionic)鹽、柳酸(salicylic)鹽、硬脂酸(stearic)鹽、琥珀酸(succinic)鹽、胺磺酸

(sulfamic)鹽、磺胺酸(sulfanlic)、磺酸(sulfonic)鹽、硫酸(sulfuric)鹽、鞣酸(tannic)鹽、酒石酸(tartaric)鹽、茶氯酸(teoclic)鹽、甲苯磺酸(toluenesulfonic)鹽等。

【0110】 實施例可為二銨鹽。藥學上可接受的鹽可衍生自包括但不限於半胱胺酸之胺基酸。用於生產呈鹽形式之化合物之方法為所屬領域具有通常知識者所習知(參見例如 Stahl *et al.*, Handbook of Pharmaceutical Salts : Properties, Selection, and Use, Wiley-VCH; Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002; Berge *et al.*, J. Pharm. Sci. 66 : 1, 1977)。

【0111】 治療劑的「有效劑量(effective amount)」係為足以提供相較於在未治療的主體或患者之癌症明顯治療效益的量。

【0112】 本文所記述的活性劑可與藥學上可接受的載體結合，以提供其藥學配方。載體及配方的特定選擇將取決於意於施予該組成物的特定路徑。

【0113】 本文所使用「藥學上可接受的載體(Pharmaceutically acceptable carrier)」指的是不會破壞與其調配的化合物之藥學活性的非毒性載體、佐劑或媒介物。可用於本發明的組成物中之藥學上可接受的載體、佐劑或媒介物，包含但不限於山梨酸(sorbic acid)、山梨酸鉀(potassium sorbate)、飽和蔬菜脂肪酸的偏甘油酯混合物(partial glyceride mixtures of saturated vegetable fatty acids)、水、鹽類或電解質(electrolytes)、磷酸氫雙鈉(disodium hydrogen phosphate)、磷酸氫鉀(potassium hydrogen phosphate)、氯化鈉(sodium chloride)、鋅鹽、矽膠(colloidal silica)、三矽酸鎂(magnesium trisilicate)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone)、以纖維素為基礎之物質(cellulose-based substances)、聚乙二醇(polyethylene glycol)、羧甲基纖維素鈉(sodium carboxymethyl cellulose)、聚丙烯酸酯(polyacrylates)、蠟(waxes)、聚乙二醇(polyethylene glycol)及羊油(wool fat)。

【0114】 本發明之組成物可適於非口服(parenteral)、口服(oral)、噴霧吸入(inhalation spray)、局部(topical)、直腸(rectal)、鼻子(nasal)、頰內(buccal)、陰道(vaginal)或植入式儲藥槽(implanted reservoir)等來施予。在一些實施例中，配方包含來自天然或非天然來源的成分。在一些實施例中，該配方或載體可以無菌的形式提供。無菌載體非限制性的實例包含無內毒素(endotoxin-free)的水或無熱原(pyrogen-free)的水。

【0115】 本文所使用的用語「非經口的(parenteral)」包含皮下的(subcutaneous)、靜脈內的(intravenous)、肌肉內的(intramuscular)、關節內的(intraarticular)、滑膜內的(intrasynovial)、胸骨內的(intrasternal)、脊髓鞘內的(intrathecal)、肝內的(intrahepatic)、病灶內的(intralesional)及顱內的(intracranial)注射或注入技術。在特定的實施例中，該化合物係以靜脈內地(intravenously)、口服地(orally)、皮下地(subcutaneously)、或經由肌內(intramuscular)給藥地施予。本發明組成物之無菌注射的形式可為水性或油性的懸浮液。這些懸浮液可使用適合的分散劑或濕潤以及懸浮劑根據領域中習知技術劑調配。無菌可注射製品亦可為無菌可注射溶液或在無毒腸胃外可接受的稀釋劑或溶劑中之懸浮液。可利用之可接受的媒介物及溶劑，可為水、林革氏溶液(Ringer's solution)及等張氯化鈉溶液(isotonic sodium chloride solution)。此外，消毒、固定油(fixed oil)習知常用來作為溶劑或懸浮介質。

【0116】 為了此目的，可使用任何溫和的固定油，包含單酸甘油酯或是二酸甘油酯。脂肪酸及其甘油酯衍生物有利於可注射劑的製備，就像天然藥學上可接受的油，如橄欖油(olive oil)或蓖麻油(castor oil)，特別是其聚乙氧基化(polyoxyethylated)的型態。這些油溶液或懸浮液亦可含有長鏈醇類稀釋劑或分散

劑，如羧甲基纖維素(carboxymethyl cellulose)及其通常用於包含乳化液及懸浮液之藥學上可接受的劑型的配方中的類似的分散劑。其他常用的界面活性劑如 Tween 或 Spans 及其他常被用於製備藥學上可接受的固體、液體或其他劑型之乳化劑，亦可被用於調配的目的。

【0117】 為用以口服給藥，化合物或鹽可被以可接受的口服劑型提供，包含但不限於膠囊、錠劑、水性懸浮液或溶液。在口服錠劑的情況下，通常使用的載體包含乳糖及玉米澱粉。亦可加入如硬脂酸鎂的潤滑劑。對於膠囊形式的口服給藥，有用之稀釋劑包含乳糖與乾玉米澱粉。當口服給藥需要水性懸浮液時，活性成分可與乳化劑或懸浮劑合併。若有需要的話，亦可加入一些甜味、香料或著色劑。亦可加入額外的防腐劑。藥學上可接受的防腐劑的適合例子包含但不限於作為溶劑的各種抗菌劑及抗真菌劑，例如乙醇(ethanol)、丙二醇(propylene glycol)、苯甲醇(benzyl alcohol)、氯丁醇(chlorobutanol)、第四銨鹽(quaternary ammonium salts)及對羥苯甲酸酯類(parabens)(如對羥苯甲酸甲酯(methyl paraben)、對羥苯甲酸乙酯(ethyl paraben)、對羥基苯甲酸丙酯(propyl paraben)等)。

【0118】 「立即釋放(Immediate-release)」意在包含藥物在給藥之後立即開始釋放的常規釋放。本文所使用的用語「立即釋放(Immediate-release)」包含不延遲或延長藥物的溶解或吸收之容許藥物溶解於胃腸內容物中的劑型。目的在於使藥物於給藥之後快速釋放，例如，在溶解試驗中，於溶解開始之後大約30分鐘內，可能釋放至少80%的藥物。

【0119】 「持續釋放(Sustained-release)」或「延續釋放(extended-release)」包含選擇時間進程及/或位置的藥物釋放特性以達到像是溶液或立即釋放的劑型的常規劑型不提供之治療或便利的目的。

【0120】用語「穩定狀態(steady-state)」意指已達到施予活性劑的血漿濃度，且其活性劑的後續劑量維持在等於或高於最小有效治療濃度並低於施予活性劑的最小毒性血漿濃度的濃度。

【0121】本文所使用的用語「單一配方(single formulation)」指的是調配來傳遞有效量的治療劑給患者的單一載體或媒介物。單一媒介物被設計來隨著任何藥學上可接受的載體或賦形劑傳遞有效量的各個試劑。在一些實施例中，媒介物為錠劑、膠囊、丸劑或貼劑。

【0122】本文所使用的用語「單位劑量(unit dose)」意指在一個劑量形式中同時一起施予藥劑給被治療的病患。在一些實施例中，單位劑量是單一配方。在某些實施例中，單位劑量包含一個或多個媒介物，此種媒介物包含有效量的藥劑與藥學上可接受的載體及賦形劑。在一些實施例中，單位劑量是一個或多個同時施予給患者的錠劑、膠囊、丸劑或貼劑。

【0123】本文所使用的用語「劑量範圍(dose range)」指的是特定藥劑的可接受變化量的上限及下限。一般而言，可施予正在進行治療的患者在特定範圍內的任何藥劑劑量。

【0124】本文所使用的用語「治療(treat)」意指緩解、減輕或緩和主體中至少一個疾病的病徵。例如，關於癌症，用語「治療(treat)」可意指遏制、延遲發病(即疾病的臨床特徵或疾病的病徵之前的時期)及/或減輕疾病的病徵發展或惡化的風險。本文所使用的用語「保護(protect)」意指避免延遲或治療或若適當的話為所有在主體中疾病病徵的發展或持續或惡化。

【0125】用語「主體(subject)」或「患者(patient)」意於包含能夠罹患或患有癌症的動物。主體或患者的實例包含如人、狗、牛、馬、豬、綿羊、山羊、貓、

小鼠、兔子、大鼠的哺乳類及轉基因的非人類動物。在某些實施例中，該主體為人類，例如罹患癌症的人類、有罹患癌症風險的人類或潛在能夠罹患癌症的人類。

【0126】 用語「約(about)」或「大約(approximately)」經常指給定值或範圍的20%內，較佳為10%內且最佳為5%內。另外，特別在生物學的系統中用語「約(about)」意指大約在給定值的一個log (即一個量級)內，較佳在二倍內。

【0127】 在描述發明的上下文中(特別是在後附之申請專利範圍的上下文中)，除非在本文中另有表示或明顯地與上下文相矛盾，否則用語「一(a)」及「一(an)」及「該(the)」及類似的指稱可被解釋為涵蓋單數及複數兩者。除非另有註記，用語「包含(comprising)」、「具有(having)」、「包含(including)」、「包含(containing)」被解釋為開放式的用語(即意指「包含但不限於(including, but not limited to)」)。除非本文中另有說明，本文數值的範圍之限制僅僅是用於作為個別地指代落入該範圍內的各單獨數值的簡寫方法，且各單獨數值如同其單獨列舉於本文中般地併入說明書中。

【0128】 可使用本文所揭露的一個或多個化合物治療的例示性細胞增殖病症，包含但不限於在身體的組織或器官中的癌症、前癌(precancer)或癌前病況(precancerous condition)情況以及轉移性病變。細胞增殖病症可包含過度增生(hyperplasia)、化生(metaplasia)及發育不良(dysplasia)。

【0129】 本文所揭露的化合物或其藥學上可接受的鹽可用來治療或避免細胞增殖病症，或在相對於人群具有增加之發展癌症的風險的個體治療或避免癌症，或用於識別用於這些目的合適的候選者。

【0130】 藥學配方及給藥途徑

【0131】 本文提供包含用於治療癌症的化合物或其藥學上可接受的鹽之藥學配方。藥學配方可額外的包含載體或賦形劑、穩定劑、調味劑及/或著色劑。

【0132】 化合物或其藥學上可接受的鹽可使用所屬技術領域習知的各種給藥途徑來施予。給藥的途徑包含口服給藥。在某些實施例中，包含化合物或其藥學上可接受的鹽的藥學配方可以液劑(liquid)、糖漿(syrup)、錠劑(tablet)、膠囊(capsule)、粉劑(powder)、噴劑(sprinkle)、口嚼錠(chewtab)或可溶解片劑(dissolvable disk)的形式口服。另外，本發明的藥學配方可以靜脈內地或透皮地(transdermally)給藥。其他的給藥途徑係為所屬領域具有通常知識者所習知(參見例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro A. R., Ed., 20.sup.th Edition, Mack Publishing Co., Easton, Pa.)。

【0133】 在一些實施例中，化合物或藥學上可接受的鹽以漿劑(paste)、凍劑(jelly)或懸浮液(suspension)的形式調配。例如，藥物以藥物顆粒、微膠囊顆粒或藥物聚合顆粒的形式溶解、包埋(entrapped)或懸浮於凝膠狀溶液或半固體中。口服凍劑配方的優勢在於較容易將藥物施予難以吞嚥錠劑、膠囊或丸劑的患者。在某些實施例中，化合物被完全混合並懸浮在適當的介質中，以形成漿劑或凝膠。額外的試劑可被選擇性地混合以在口服給藥時提供風味。花生醬或具有覆盆子及甜味劑風味的藻酸鹽為許多合適遮味劑(taste masking agents)的實例。在各種實施例中，為了局部給藥，漿劑或凍劑亦可被與所屬技術領域具有通常知識者所習知的合適的結合劑或賦形劑調配。

【0134】 以錠劑、膠囊或丸劑的形式製備持續釋放配方的方法為所屬技術領域中所習知。在一些實施例中，持續釋放的配方藉由以聚合物，較佳為不溶於水的聚合物包覆藥物的活性成分來製備。例如，在藥學領域用作為持續釋放包衣

劑、腸溶衣劑(enteric coating agent)或胃溶衣劑(gastric coating agent)之不溶於水的聚合物。不溶於水的聚合物可包含例如：乙基纖維素(ethyl cellulose)、純化的蟲膠(purified shellac)、白蟲膠(white shellac)、甲基丙烯酸氨烷基酯共聚物RS (aminoalkyl methacrylate copolymer RS)、鄰苯二甲酸羥丙基甲基纖維素(hydroxypropyl methylcellulose phthalate)、羥丙基甲基纖維素琥珀酸醋酸酯(hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate)、羧甲基乙基纖維素(carboxymethylethyl-cellulose)、鄰苯二甲酸醋酸纖維素(cellulose acetate phthalate)、甲基丙烯酸共聚物L(methacrylic acid copolymer L)、甲基丙烯酸共聚物LD(methacrylic acid copolymer LD)、甲基丙烯酸共聚物S (methacrylic acid copolymer S)、甲基丙烯酸氨烷基酯共聚物E(aminoalkyl methacrylate copolymer E)或聚乙縮醛二乙胺基乙酸酯(polyvinyl acetal diethylaminoacetate)。

【0135】 取代的類型及程度與不溶於水的聚合物的分子量可取決於活性成分在水或酒精中的溶解度、期望的持續釋放程度等。不溶於水的聚合物可單獨或組合使用。其可進一步整合作為包覆助劑的氫化油(hydrogenated oil)、硬脂酸(stearic acid)或鯨蠟醇(cetanol)，及作為可塑劑的中鏈三酸甘油酯(middle-chain triglyceride)、三乙酸甘油酯(triacetin)、檸檬酸三乙酯(triethyl citrate)或鯨蠟醇。

【0136】 在一些實施例中，持續釋放的配方為基質型錠劑或顆粒。活性成分可以高達3種不同類型的聚合物包覆。這三種不同類型的聚合物可包含：1)如乙基纖維素(ethylcellulose)的不溶於水的聚合物；2)如羥丙基甲基纖維素(hydroxypropyl methylcellulose)的非pH依賴性膠凝聚合物(pH independent gelling polymer)；及3)如藻酸鈉(sodium alginate)的pH依賴性膠凝聚合物。這三種不同類型的聚合物可被一起使用以減緩藥物的釋放速率。

【0137】劑型：釋放特性

【0138】持續性釋放配方可達到持續效果的程度。然而，活性成分的曝露及/或生體可用率可基於各式各樣的因子而異，像是例如：吸收窗(absorption window)、配方中使用的載體或賦形劑、配方的傳遞型式及/或活性成分經由患者腸胃道的經過時間。

【0139】療法可包含至少一個用來執行持續釋放功能的持續釋放部分及一個用來執行立即釋放功能的立即釋放部分。在某些實施例中，當療法是單一藥劑的形式時，其可為由組成持續釋放部分的持續釋放顆粒與組成立即釋放部分的立即釋放顆粒的混合物所形成的錠劑形式、藉由以持續釋放顆粒與立即釋放顆粒填充膠囊而得到的膠囊製劑、或其中組成立即釋放部分的外層形成在組成持續釋放部分的內層核心上的壓製包衣錠劑(press-coated tablets)。然而，並不限於上述的實施例。

【0140】此外，對組成物或立即釋放部分或持續釋放部分中藥物的容納狀態沒有特定的限制；化合物可均勻的分散在組成物、立即釋放部分或持續釋放部分中，或可僅被包含於組成物、立即釋放部分或持續釋放部分的一部分，或可以濃度梯度包含於組成物、立即釋放部分或持續釋放部分。

【0141】根據本發明之組成物中的持續釋放部分可包含至少一個非pH依賴性聚合物物質或pH依賴性聚合物物質以控制藥物釋放。

【0142】本文所使用的非pH依賴性聚合物物質可為在一般於胃腸道發現的pH狀態下，特別是從pH1至pH8，其電荷狀態難以改變的聚合物物質。此代表著例如，不具有其電荷狀態會隨著pH值改變的官能基，像是如胺基的鹼性官能基或如羧酸基的酸性官能基，的聚合物物質。注意的是可包含非pH依賴性聚合

物物質以賦予根據本發明之組成物持續釋放的功能，但亦可包含以賦予其他功能。此外，用於本發明的非pH依賴性聚合物物質可為不溶於水的，或可在水中膨脹或溶於水中以形成凝膠。

【0143】 不溶於水的非pH依賴性聚合物物質的例子包含但不限於 纖維素醚(cellulose ethers)、纖維素酯(cellulose esters)及甲基丙烯酸-丙烯酸共聚物(methacrylic acid-acrylic acid copolymers)(商品名 Eudragit, Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Germany製造)。例子包含但不限於如乙基纖維素的纖維素烷基醚(cellulose alkyl ethers)(商品名 Ethocel, Dow Chemical Company, USA製造)、乙基甲基纖維素(ethyl methylcellulose)、乙基丙基纖維素(ethyl propylcellulose)或異丙基纖維素(isopropylcellulose)及丁基纖維素(butylcellulose)、如苄基纖維素(benzyl cellulose)的纖維素芳烷基醚(cellulose aralkyl ethers)、如氰乙基纖維素(cyanoethylcellulose)的纖維素氰烷基醚(cyanoethylcellulose)、如乙酸丁酸纖維素(cellulose acetate butyrate)、乙酸纖維素(cellulose acetate)、丙酸纖維素(cellulose propionate)或丁酸纖維素(cellulose butyrate)及醋酸丙酸纖維素(cellulose acetate propionate)的纖維素有機酸酯(cellulose organic acid esters)、丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸甲酯共聚物(ethyl acrylate-methyl methacrylate copolymers)(商品名 Eudragit NE, Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Germany製造)，及甲基丙烯酸氨烷基酯共聚物RS(aminoalkyl methacrylate copolymer RS)(商品名 Eudragit RL、Eudragit RS)。在本文所使用之不溶於水的聚合物的平均粒徑並沒有特定的限制，但通常平均粒徑較小表現較佳，較佳的平均粒徑為從0.1至100 μ m，更佳為從1至50 μ m，再更佳為從3至15 μ m，最更佳為從5至15 μ m。此外，水溶性或水膨脹性的非pH依賴性聚合物物質包含但不限於聚氧化乙烯(polyethylene oxide)(商品名 Polyox,

Dow Chemical Company製造，分子量 100,000 至 7,000,000)、低取代羥丙基纖維素(low-substituted hydroxypropyl cellulose)(商品名 L-HPC，Shin-Etsu Chemical, Japan製造)、羥丙纖維素(hydroxypropyl cellulose) (商品名 HPC，Nippon Soda, Co., Ltd, Japan製造)、羥丙基甲基纖維素(hydroxypropyl methylcellulose) (商品名 Metolose 60SH、65SH、90SH，Shin-Etsu Chemical, Japan製造)、及甲基纖維素(methylcellulose) (商品名 Metolose SM，Shin-Etsu Chemical, Japan製造)。

【0144】 在一些實施例中，組成物中可包含單一個非pH依賴性聚合物物質，或可包含複數個非pH依賴性聚合物物質。若用在本文所記述的實施例中，非pH依賴性聚合物物質可為不溶於水的聚合物物質，更佳為乙基纖維素、丙烯酸乙酯-甲基丙烯酸甲酯共聚物(商品名 Eudragit NE)或甲基丙烯酸氨烷基酯共聚物RS(商品名 Eudragit RL、Eudragit RS)。更佳地為為乙基纖維素及甲基丙烯酸氨烷基酯共聚物RS中的至少其一。最佳為乙基纖維素。包含在組成物中之非pH依賴性聚合物物質的含量並沒有特殊的限制；此含量可根據如控制藥物持續釋放的目的來適當地調整。

【0145】 可被用於本文所記述的實施例中的pH依賴性聚合物物質可為在一般於胃腸道發現的pH狀態下，特別是從pH1至pH8，電荷狀態改變的聚合物物質。此代表著例如，具有其電荷狀態會隨著pH值改變的官能基，像是如胺基的鹼性官能基或如羧酸基的酸性官能基，的聚合物物質。pH依賴性聚合物物質的pH依賴性官能基較佳為酸性官能基，pH依賴性聚合物物質最佳為具有羧酸基。

【0146】 用於本發明的pH依賴性聚合物物質可為不溶於水的，或可在水中膨脹或溶於水中以形成凝膠。用於本發明的pH依賴性聚合物物質的例子包含但不限於腸溶性聚合物物質。腸溶性聚合物物質的例子包含但不限於甲基丙烯酸-

甲基丙烯酸甲酯共聚物(methacrylic acid-methyl methacrylate copolymers) (Eudragit L100、Eudragit S100, Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Germany製造)、甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物(methacrylic acid-ethyl acrylate copolymers) (Eudragit L100-55、Eudragit L30D-55, Rohm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Germany製造)、鄰苯二甲酸羥丙基纖維素(hydroxypropyl methylcellulose phthalate) (HP-55、HP-50, Shin-Etsu Chemical, Japan製造)、羥丙基甲基纖維素琥珀酸醋酸酯(AQOAT, Shin-Etsu Chemical, Japan製造)、羧甲基乙基纖維素(carboxymethyl ethylcellulose)(CMEC, Freund Corporation, Japan製造)及鄰苯二甲酸醋酸纖維素(cellulose acetate phthalate)。

【0147】 在水中膨脹或在水中溶解以形成凝膠的pH依賴性聚合物物質之例子包含但不限於海藻酸(alginic acid)、果膠(pectin)、羧乙烯聚合物(carboxyvinyl polymer)及羧甲基纖維素。在本發明中，組成物可包含單一個pH依賴性聚合物物質或可包含複數個pH依賴性聚合物物質。用於本發明的pH依賴性聚合物物質較佳為腸溶性聚合物物質，更佳為甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物、甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯共聚物、鄰苯二甲酸羥丙基纖維素或羥丙基甲基纖維素琥珀酸醋酸酯，再更佳為甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物。

【0148】 當在根據本發明之組成物的製造過程中使用pH依賴性聚合物物質時，可原樣地使用其中pH依賴性聚合物物質已被預先分散在溶劑中之粉末型或顆粒型或懸浮液型之商業上可得的產品，或將這些商業上可得的產品分散在水或有機溶劑中使用。pH依賴性聚合物的粒徑越小則性能越佳，其中pH依賴性聚合物較佳為粉末型。在甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物的情況下，一個實例為Eudragit L100-55。在本發明中所使用的pH依賴性聚合物之平均粒徑並沒有特定

的限制，但較佳的平均粒徑為從0.05至100 μm ，更佳為從0.05至70 μm ，最佳為從0.05至50 μm 。此外，pH依賴性聚合物的含量沒有特定的限制，例如在腸溶性聚合物物質之情況下，該含量基於組成物的100重量份，大約為從0.1至90重量份，較佳為從1至70重量份，更佳為從5至60重量份，特佳為從10至50重量份。

【0149】根據本文所記述的實施例之療法可進一步包含如稀釋劑、潤滑劑、黏合劑、崩散劑之任何藥學上可接受的載體以及如果有需要的話，防腐劑、著色劑、甜味劑、可塑劑、包衣劑或其類似物之任何各種添加物。稀釋劑的實例包含但不限於乳糖(lactose)、甘露醇(mannitol)、磷酸氫鈣(dibasic calcium phosphate)、澱粉(starch)、預糊化澱粉(pregelatinized starch)、結晶纖維素(crystalline cellulose)、輕質矽酸酐(light silicic anhydride)、合成矽酸鋁(synthetic aluminum silicate)、偏矽酸鋁鎂(magnesium aluminate metasilicate)或其類似物。潤滑劑的實例包含但不限於硬脂酸鎂(magnesium stearate)、硬脂酸鈣(calcium stearate)、滑石(talc)、硬脂醯延胡索酸鈉(sodium stearyl fumarate)或其類似物。黏合劑的實例包含但不限於羥丙纖維素、甲基纖維素、鈉羧甲基纖維素(sodium carboxymethyl cellulose)、羥丙基甲基纖維素、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone)或其類似物。崩散劑的實例包含但不限於羧甲基纖維素、羧甲基纖維素鈣(calcium carboxymethyl cellulose)、交聯羧甲纖維素鈉(croscarmellose sodium)、羧甲澱粉鈉(sodium carboxymethyl starch)、低取代羥丙基纖維素或其類似物。防腐劑的實例包含但不限於對氧苯甲酸酯(paraoxybenzoic acid esters)、氯丁醇(chlorobutanol)、苯甲醇(benzyl alcohol)、苯乙醇(phenethyl alcohol)、去氫醋酸(dehydroacetic acid)、山梨酸(sorbic acid)或其類似物。著色劑較佳的實例包含但不限於不溶於水的色澱顏料(water-insoluble lake pigments)、天然色素(例如： β -胡蘿蔔素(beta.-carotene)、

葉綠素(chlorophyll)、紅氧化鐵(red ferric oxide)、黃氧化鐵(yellow ferric oxide)、紅氧化鐵、黑氧化鐵(black ferric oxide)或其類似物。甜味劑較佳的實例包含但不限於糖精鈉(sodium saccharin)、甘草酸二鉀(dipotassium glycyrrhizate)、阿斯巴甜(aspartame)、甜菊(stevia)或其類似物。可塑劑的實例包含但不限於甘油脂肪酸酯(glycerol fatty acid esters)、檸檬酸三乙酯、丙二醇、聚乙二醇或其類似物。包衣劑的實例包含但不限於羥丙基甲基纖維素、羥丙纖維素或其類似物。

【0150】 製造方法

【0151】 為了製造如本文所記述之實施例，可使用單一常規方法或常規方法的組合。例如當將含藥顆粒製造為持續釋放部分或立即釋放部分時，造粒為主要的操作，但此可與其他如混合、乾燥、過篩及分類的操作結合。可使用例如：其中加入黏合劑及溶劑於粉末並執行造粒之濕式造粒法、其中粉末被壓縮並執行造粒之乾式造粒法、其中加入加熱熔化的黏合劑在並加熱執行造粒之熔融造粒法或類似之方法作為造粒方法。

【0152】 進一步地，根據造粒方法，可使用如：使用行星式混合器(planetary mixer)、螺桿混合器(screw mixer)或類似機器的混合造粒方法；使用亨舍爾混合機(Henschel mixer)、高速混合機(Super mixer)或類似機器的高速混合造粒方法；使用圓柱造粒機(cylindrical granulator)、旋轉造粒機(rotary granulator)、螺桿擠壓造粒機(screw extruding granulator)、製粒型擠出造粒機(pellet mill type granulator)或類似機器的擠壓造粒法；濕式高剪切造粒法；流體化床造粒法；壓縮造粒法；粉碎造粒法或噴霧造粒法之操作方法。造粒之後，使用乾燥機、流體化床或類似物乾燥，可執行粉碎及篩選以得到顆粒或細顆粒以供使用。此外，製備根據本發明之組成物時可使用粒化溶劑。該粒化溶劑沒有特別限制，其可為水或任何各種

有機溶劑，例如：水、如甲醇或乙醇的低級醇、如丙酮或丁酮的酮、二氯甲烷或其混合物。

【0153】 對於包含在實施例中的持續釋放顆粒，將至少一種藥物及選自非pH依賴性聚合物物質及pH依賴性聚合物物質中的至少其一混合在一起，如果需要的話，添加稀釋劑及黏合劑，並執行造粒來得到顆粒物質。所得到的顆粒物質使用盤式乾燥機、流體化床乾燥機或類似物來乾燥，並使用磨粉機或震盪機進行篩選，從而可得到持續釋放顆粒。另外，如同本發明中製造持續釋放顆粒的方法，有可能添加至少一種藥物、選自非pH依賴性聚合物物質及pH依賴性聚合物物質中的至少其一，且如果需要的話添加稀釋劑及黏合劑，使用如輥式壓實機或團塊壓錠機的乾式壓實機，並在混合時執行壓模成型，然後藉由碎裂至合適的尺寸以執行造粒。使用此種造粒機製備之顆粒物質可被用作為如同根據本發明之顆粒或細顆粒，或可使用磨粉機、輥式造粒機、旋轉加速粉碎機或類似物進一步碎裂，並篩選以得到持續釋放顆粒。值得注意的是立即釋放顆粒亦可如同持續釋放顆粒地製造。

【0154】 壓模成型產品可被製造為含藥持續釋放部分或立即釋放部分，或作為使用單一常規方法或常規方法之組合的本文所記述的組成物。例如，至少一種藥物、選自非pH依賴性聚合物物質及pH依賴性聚合物物質中的至少其一、如甘露醇或乳糖的稀釋劑、如聚乙烯吡咯烷酮或結晶纖維素的黏合劑、如羧甲基纖維素鈉(carmellose sodium)或交聚維酮(crospovidone)的崩散劑、及如硬脂酸鎂或滑石的潤滑劑，且使用習知方法執行壓錠，從而得到壓模成型產品。在此情況下，壓錠為製造壓模成型產品的方法中之主要操作，但此可與如混合、乾燥、糖衣形成及包衣的其他操作結合。

【0155】 用於壓錠的方法的實例包含但不限於，其中將至少一種藥物及藥學上可接受的添加劑混合在一起，然後使用壓錠機將混合物直接壓模成錠劑之直接壓模成型，以及其中如果有需要的話，在添加潤滑劑或崩解劑之後將根據本發明的持續釋放顆粒或立即釋放顆粒壓模之乾式顆粒壓製或濕式顆粒壓製。用於壓模成型的壓錠機器並沒有特定的限制；可使用例如：單沖壓錠機(single-punch tabletting machine)、旋轉壓錠機(rotary tabletting machine)或壓縮包覆壓錠機(press-coated tabletting machine)。

【0156】 根據本文實施例的含藥持續釋放顆粒或立即釋放顆粒或壓模成型產品可以顆粒或錠劑的形式作為組成物使用，但亦可進行進一步的製程以製造組成物。例如，壓模成型產品或顆粒可使用如乙基纖維素、酪蛋白(casein)、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、甲基丙烯酸共聚物L(methacrylic acid copolymer L)、鄰苯二甲酸醋酸纖維素、蟲膠(shellac)或其類似物的薄膜基材賦予膜衣，或使用包含蔗糖(saccharose)、糖醇(sugar alcohol)、阿拉伯膠粉末(gum arabic powder)、滑石或其類似物的糖衣液賦予糖衣，從而製備膜衣錠劑或糖衣錠劑。在此包衣技術中的一種溶劑可為純水，但亦可使用如乙醇(alcohol)、酮(ketone)、醚(ether)或氯化烴(chlorinated hydrocarbon)或其混合物的有機溶劑。例如，可使用乙醇、丙酮(acetone)、二氯甲烷(methylene chloride)或其類似物作為有機溶劑。此外，可使用通常用於藥物製造的包衣技術之裝置作為包衣裝置，其實例包含其中包衣藉由噴塗包衣液或類似物進行的噴塗裝置及用於疊層(layering)的旋轉流化床製粒機。

【0157】 在製備膠囊製劑的情況下，膠囊製劑可藉由使用自動膠囊填充機器填充以上的持續釋放顆粒或立即釋放顆粒，或將微錠填入硬明膠膠囊或HPMC膠囊的方式製造。另外，在服用前與水或類似物混合之經管(per tube)給藥或乾糖

漿(dry syrup)的制劑的情況下，上述的持續釋放顆粒或立即釋放顆粒可與增稠劑或分散劑混合以分散這些顆粒，之後將該混合物製成顆粒或錠劑。進一步地，液劑或凍劑可用水及選自分散劑、乳化劑、增稠劑、防腐劑、pH調節劑、甜味劑、調味劑、香料等的物質製成。然而，相對於其他製造方法，對以上並無限制。

【0158】 因此本文所描述的實施例由下述實例的闡明可更加充分地理解。應被理解的是這些實例僅用於說明性的目的，而不被解釋為限制。

【0159】 實例

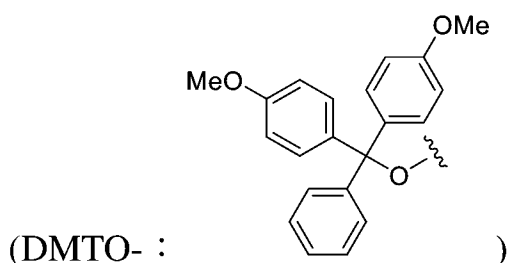
【0160】 以下縮寫可被使用於整個實例。

All：烯丙基(allyl)

BOP：(苯并三唑 -1- 基氧基) 三 (二甲胺基) 磷六氟磷酸鹽

((Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate)

DMT：4,4'-二甲氧基三苯甲基 (4,4'-Dimethoxytrityl)



Bz：苯甲醯基(benzoyl)

ib：異丁醯基(isobutyryl)

亨尼氏鹼(Hunig's Base)：i-Pr₂NEt (二異丙基乙胺(diisopropylethylamine))

AllylOH：烯丙醇(allyl alcohol)

OAll：-OCH₂CHCH₂

ACN：乙腈(acetonitrile)

All：-CH₂CHCH₂

2-NitroBnBr：2-硝苄溴 (2-nitrobenzyl bromide)

Bz：苯甲醯基(benzoyl)

ib：異丁醯基(isobutyryl)

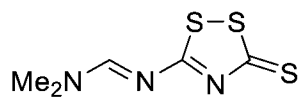
i-Pr：異丙基(isopropyl)

CE：氰乙基(cyanoethyl)($\text{-OCE: } \sim\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CN}$)

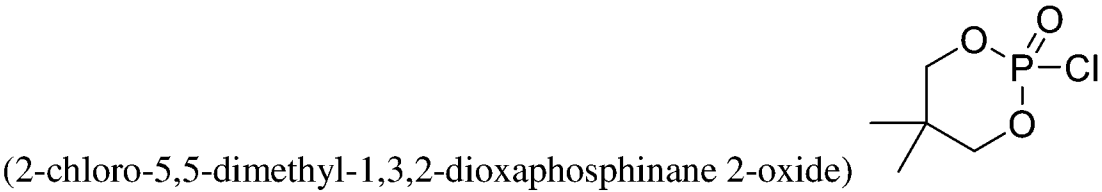
DEAD：偶氮二羧酸二乙酯(diethyl azodicarboxylate)

DCM：二氯甲烷(dichloromethane)

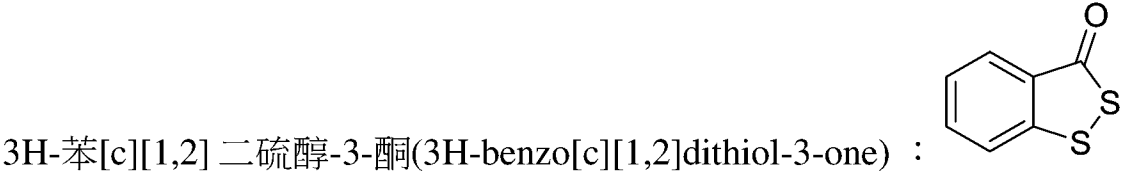
DDTT：N,N-二甲基-N'-(3-硫代-3H-1,2,4-二噻唑-5-基) 甲醯亞氨醯胺
(N,N-dimethyl-N'-(3-thioxo-3H-1,2,4-dithiazol-5-yl)formimidamide)



DMOCP：2-氯基-5,5-二甲基-1,3,2-二氧磷雜環己烷2-氧化物



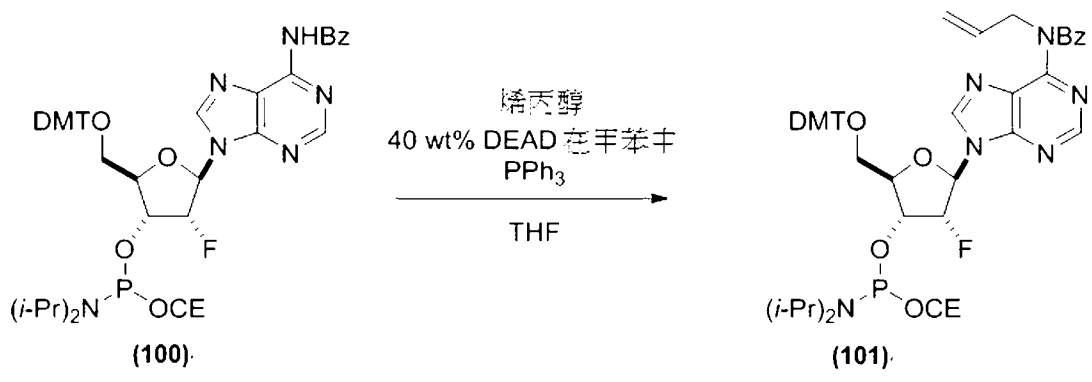
TBS：叔丁基二甲矽烷基(t-butyldimethylsilyl)



【0161】 實例1—化合物1a的合成

【0162】 此合成完整的流程示於第1圖中

【0163】 步驟A



【0164】 在室溫下向((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲醯胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((二(4-甲氧苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟基四氫呋喃-3-基 (2-氰乙基)二異丙基亞磷

醯

胺

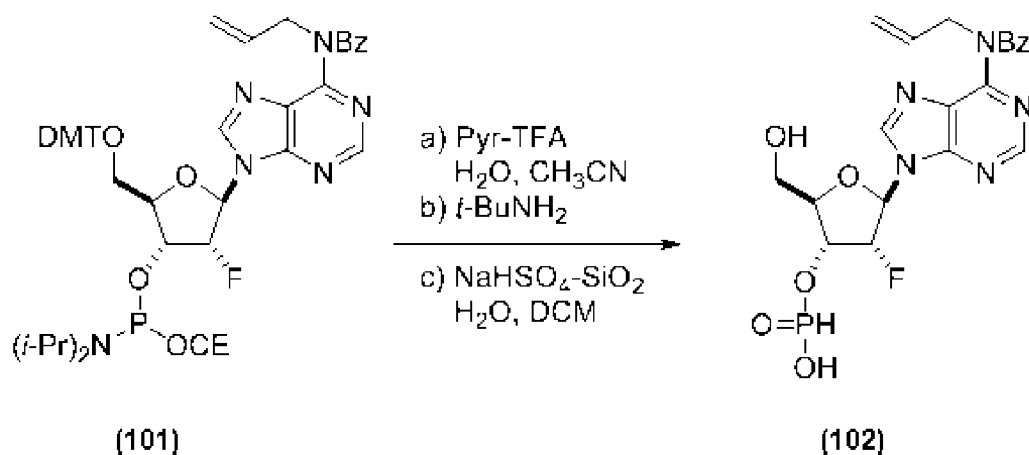
((2R,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-yl)-2-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-fluorotetrahydrofuran-3-yl(2-cyanoethyl)diisopropylphosphoramidite)(化合物100) (磷的非鏡像異構物之混合物； 80.0 g, 91.332 mmol, 1 eq, ChemGenes Corporation catalog # ANP-9151)、烯丙醇(9.63 ml, 142 mmol, 1.55 eq) 以及在THF (1.1L)中的三苯膦(triphenylphosphine)(38.3 g, 146 mmol, 1.60 eq)的混合物添加DEAD (40 wt% 在甲苯中的溶液； 54.2 ml, 137 mmol, 1.5 eq.)。在室溫下持續攪拌並藉由LC/MS監測反應。在完成之後(19 hr)，在真空(35 °C)濃縮混合物，所得之混合物藉由矽膠管柱層析(800 g x 2 管柱，以0. 5%三乙胺緩衝(trimethylamine)之於正庚烷(n-heptane)中40 至 60%的 EtOAc)純化，以得到白色泡沫的化合物 101(84.2 g，定量產率(quantitative yield)，磷的非鏡像異構物(phosphorous diastereomers)之混合物)。

【0165】 ^1H NMR (3：2磷的非鏡像異構物之混合物， 400 MHz, $CDCl_3$)

1.14 - 1.21 (m, 12 H) 2.40 (t, $J=6.2$ Hz, 1.2 H) 2.59 (t, $J=6.2$ Hz, 0.8 H) 3.27 (d, $J=8.6$ Hz, 1 H) 3.52 - 3.66 (m, 5 H) 3.78 (s 2.4 H) 3.79 (s 3.6 H) 4.28 - 4.34 (m, 1 H) 4.84 -

4.96 (m, 0.4 H) 4.99 (d, J=5.5 Hz, 2 H) 4.95 - 5.10 (m, 0.6 H) 5.05 (d, J=10.9 Hz, 1 H)
 5.22 (br d, J=17.6 Hz, 1 H) 5.64 (br d, J=53.2 Hz, 0.6 H) 5.70 (br d, J=51.6 Hz, 0.4 H)
 5.96 - 6.75 (m, 1 H) 6.20 (d, J=16.0 Hz, 0.6 H) 6.24 (d, J=17.2 Hz, 0.4 H) 6.74 - 6.79 (m,
 4 H) 7.02 - 7.06 (m, 2H) 7.17 - 7.24 (m, 8 H) 7.32 - 7.34 (m, 2 H) 7.41 - 7.44 (m, 2 H)
 8.11 (s, 1H) 8.52 (s, 0.4 H) 8.54 (s, 0.6 H) 。

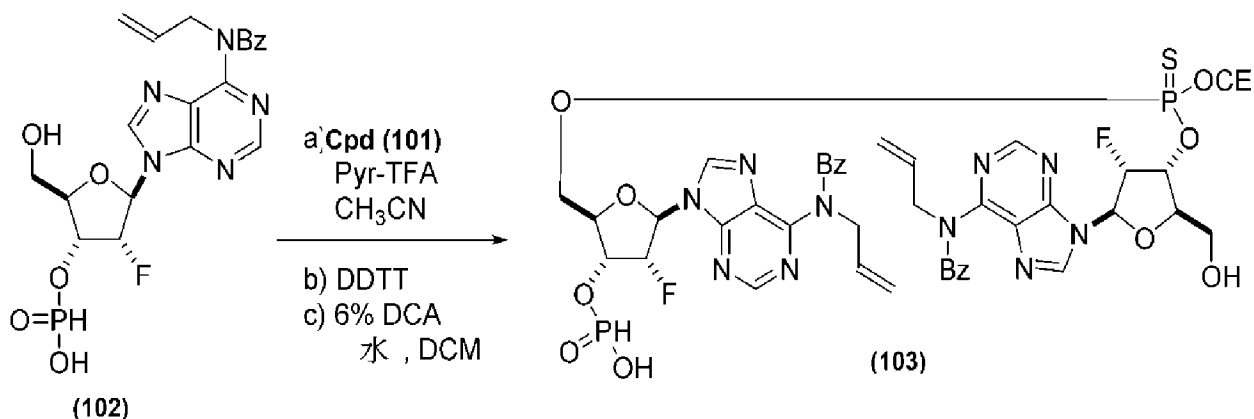
【0166】 步驟B



【0167】 在乙腈(30 ml)中的化合物101(3.00 g, 3.28 mmol, 1 eq)溶液中加入水(0.118 ml, 6.55 mmol, 2.0 eq)及吡啶三氟醋酸鹽(pyridine trifluoroacetate salt)(0.759 g, 3.93 mmol, 1.2 eq)。在室溫下攪拌1分鐘之後，加入叔丁胺(*tert*-butylamine) (14.5 g, 21.0 ml, 0.20 mol, 60 eq)。氰乙基(cyanoethyl group)的裂解完成之後(藉由 LC/MS 監測)，反應混合物在真空下濃縮並與乙腈共沸(azeotroped)兩次。粗混合物在DCM(45.0 ml)中溶解，並在室溫下以水(0.118 ml, 6.55 mmol, 2.0 eq)及NaHSO₄-SiO₂ (1.18 g, 6.55 mmol, 2 eq)處理。在DMT基的裂解完成後(藉由 LC/MS 監測，大約1小時)，過濾反應混合物並以DCM/MeOH (9/1, 20 ml)潤洗兩次。結合的濾液在真空下濃縮並以正庚烷/甲苯(*n*-heptane/toluene) (~30 ml)潤洗兩次。結合的濾液在真空下濃縮並以正庚烷/甲苯(*n*-heptane/toluene) (~30 ml)的1:1混合物處理。上層藉由傾析移除。相同的操作以正庚烷/甲苯(1/1, 30 ml)

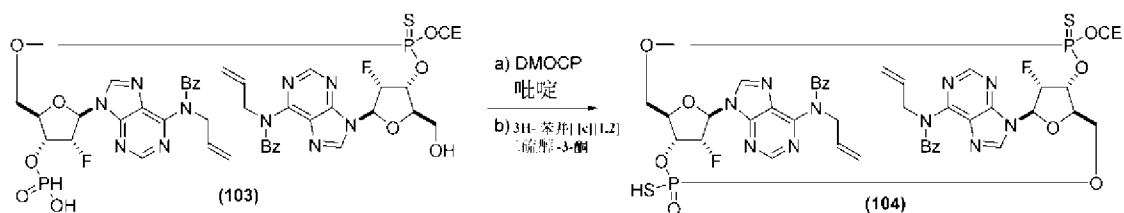
再次重複，下層以乙腈共沸兩次以得到化合物102(假設100%的理論產率)。所得到的產物沒有進一步的純化即使用在下一步驟。

【0168】 步驟C



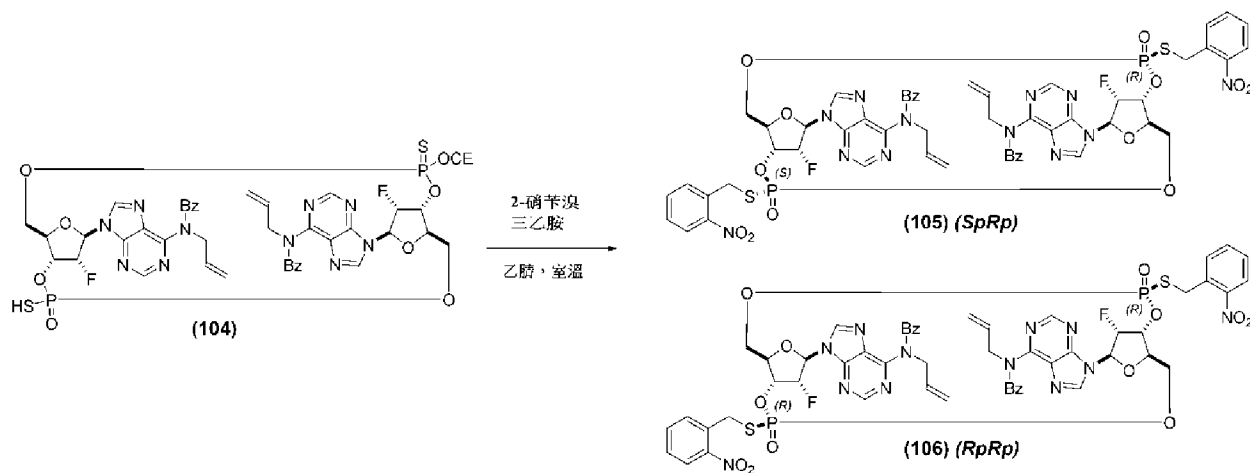
【0169】 對在乙腈 (30 ml)中之化合物102 (1.56 g, 3.27 mmol, 1 eq)及化合物 101 (3.00 g, 3.28 mmol, 1 eq)的混合物加入三氟醋酸吡啶鹽(pyridine trifluoroacetate salt) (與吡啶共沸乾燥；0.760 g, 3.94 mmol, 1.25 eq)。5分鐘之後添加DDTT (0.840 g, 4.09 mmol, 1.30 eq, ChemGenes Corporation catalog # RN-1588)，硫化完成後(藉由 LC/MS監測)在真空下濃縮反應混合物。將殘餘物溶解在DCM(30 ml)中並以水 (0.57 ml, 32 mmol, 10 eq)及6%的DCM (30 ml)中之二氯乙酸(dichloroacetic acid)(1.56 ml, 18.9 mmol, 6.0 eq)處理。20分鐘之後，反應以吡啶 (20 ml)淬滅 (quenched)並在真空下濃縮。殘餘物與吡啶共沸以得到化合物103(3.22 g，假設 100%的理論產率)。所得到的產物沒有進一步的純化即使用在下一步驟。

【0170】 步驟D



【0171】 在室溫下對在吡啶 (100 ml) 中的化合物103(3.22 g, 3.15 mmol, 1 eq) 的溶液添加DMOCP (1.45 g, 7.88 mmol, 2.50 eq)。巨環化(macrocyclization) 完成之後(藉由 LC/MS監測)，加入水(1.7 ml, 94.5 mmol, 相對於 DMOCPx10 倍)然後加入 3H- 苯并[[c][1,2] 二硫醇-3-酮(0.795 g, 4.73 mmol, 1.5 eq)。硫化完成之後(大約40 分鐘)反應混合物在真空下部分濃縮至大約15 ml，並倒入飽和水溶液NaHCO₃ (50 ml)及水(30 ml)的混合物中。在室溫下攪拌10分鐘之後，混合物以1：1的 EtOAc/MTBE混合物萃取(60 ml x 3 次)。合併有機層，以鹽水(25 ml)洗滌，以 Mg₂SO₄乾燥並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析(0-20% MeOH在DCM中) 純化以得到棕色油狀的化合物104 (3.31 g, 3.20 mmol, 100%的理論產率)。所得到的產物沒有進一步的純化即使用在下一步驟。

【0172】 步驟E



【0173】 對在乙腈(66.2 ml)中的化合物104(3.31 g, 3.20 mmol, 1 eq)的溶液加入2-硝苄溴(2.42 g, 11.2 mmol, 3.50 eq)與三乙胺(trimethylamine)(1.78 ml, 12.8 mmol, 4.00 eq)。在反應完成之後(藉由LC/MS監測，在室溫下大約20小時)，反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析(60%乙酸乙酯/正庚烷至100%乙酸乙酯)純化以得到作為磷的非鏡像異構物混合物的0.568 g產物。非鏡像異構物的製

備級HPLC分離以得到化合物105(*SR*異構物；0.225 g, 0.180 mmol，來自化合物101的總產率5.6%)及化合物106(*RR*異構物；0.187 g, 0.149 mmol, 來自化合物1的總產率4.7%)。

【0174】 化合物105 (*SpRp*) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.63 (s, 1H) , δ = 8.61 (s, 1H) 、 8.04 - 8.00 (m, 2H) 、 7.99 (s, 1H) 、 7.90 (s, 1H) 、 7.65 - 7.44 (m, 8H) 、 7.40 - 7.31 (m, 4H) 、 7.25 - 7.21 (m, 4H) 、 6.15 - 5.89 (m, 5H) 、 5.61 (dd, J = 52.0, 5.1 Hz, 1H) 、 5.55 (ddd, J = 51.2, 4.7, 2.7 Hz, 1H) 5.51 - 5.42 (m, 1H) 、 5.31 - 5.22 (m, 2H) 、 5.11 (dd, J = 3.9, 9.8 Hz, 2H) 、 5.04 - 4.95 (m, 4H) 、 4.55 - 4.37 (m, 7H) 、 4.29 - 4.12 (m, 3H) 。

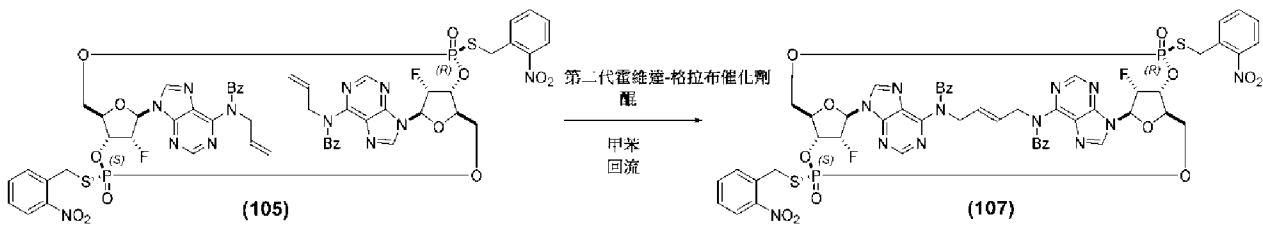
【0175】 化合物106(*RpRp*) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.65 (s, 2H) 、 8.06 (dd, J = 1.4, 8.0 Hz, 2H) 、 7.98 (s, 2H) 、 7.57 - 7.52 (m, 6H) 、 7.47 - 7.32 (m, 6H) 、 7.25 - 7.21 (m, 4H) 、 6.15 (d, J = 18.7 Hz, 2H) 、 6.09 - 5.99 (m, 2H) 、 5.82-5.76 (m, 2H) 、 5.60 (dd, J = 51.8, 4.9 Hz, 2H) 、 5.27 (dd, J = 1.2, 17.2 Hz, 2H) 、 5.12 (dd, J = 1.0, 10.4 Hz, 2H) 、 5.06 - 4.96 (m, 4H) 、 4.55 - 4.40 (m, 4H) 、 4.36 - 4.24 (m, 4H) 、 4.21 - 4.02 (m, 2H) 。

【0176】 製備級HPLC條件：

儀器		Agilent 1200				
HPLC 管柱		Waters Sunfire Prep C18 OBD 管柱， 5 um， 30 x 250 mm， #186003969				
流速		50 ml/min				
移動相		A： 水， B： 乙腈				
梯度	時間(分鐘)	0	8	9.9	10	12
	B%	50	99	99	50	50
分析時間(Run time)		12 分鐘				
注入體積		150 ul (在乙腈中 0.08 g/ml)				
偵測		UV 254 nm				
滯留時間	化 合 物 105 (<i>SpRp</i>)	7.7 分鐘				

	化合物 106 (RpRp)	8.0 分鐘
--	-------------------	--------

【0177】 步驟F



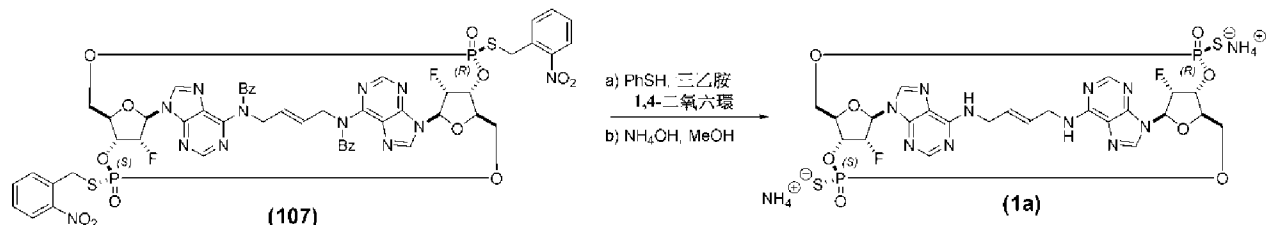
【0178】 對在甲苯中(519 ml)化合物105(519 mg, 0.414 mmol, 1 eq)的加熱(90°C)溶液加入第二代霍維達-格拉布催化劑(Hoveyda-Grubbs Catalyst™2nd Generation)((1,3-雙-(2,4,6-三甲苯基)-2-亞咪唑啉基)二氯(鄰-異丙氧基苯基亞甲基)鈦) 鈦

((1,3-Bis-(2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinylidene)dichloro(o-isopropoxyphenyl methylene)ruthenium；可取得於 SIGMA-ALDRITCH® Catalog No. 569755；CAS 301224-40-8; 91 mg, 0.15 mmol, 0.35 eq) 及醌(quinone)(0.102 ml, 1.243 mmol, 3.0 eq)。混合物加熱至回流且藉由LC/MS監測反應過程。3小時之後加入額外的催化劑(91 mg, 0.15 mmol, 0.35 eq)且反應持續另外3小時。冷卻之後，混合物在室溫下以DMSO (0.59 ml, 8.3 mmol, 20 eq)處理15小時，在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析(SiO₂ 25g，在正庚烷中66% 的乙酸乙酯至100 % 乙酸乙酯)純化而得到棕色乾泡的化合物107(200 mg, 0.163 mmol, 產率39%)。

【0179】 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.19 (s, 1H)、8.12 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1.9 Hz, 1H)、8.10 (s, 1H)、8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H)、7.89 (s, 1H)、7.63 (br d, *J* = 7.0 Hz, 1H)、7.53 - 7.41 (m, 10H)、7.35 - 7.30 (m, 2H)、7.25 - 7.20 (m, 4H)、6.23 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H)、6.14 (d, *J* = 18.8 Hz, 1H)、5.86 - 5.75 (m, 1H)、5.75 (dt, *J* = 15.3, 5.0 Hz, 1H)、5.67 (dt, *J* = 15.3, 4.7 Hz, 1H)、5.60 (dd, *J* = 52.0, 3.9 Hz, 1H)、5.48 (dd,

$J = 50.4, 3.9 \text{ Hz}$. 1H) 5.50 - 5.39 (m, 1H)、4.91 - 4.64 (m, 4H)、4.57 - 4.25 (m, 9H)、4.15 (d, $J = 7.03 \text{ Hz}$, 1H)、4.11 (d, $J = 7.03 \text{ Hz}$, 1H)。

【0180】 步驟G



【0181】 對在1,4-二氧六環(1,4-dioxane)(1.76 ml)中化合物107的溶液加入硫酚(thiophenol)(0.88 mL, 8.55 mmol, 119 eq)與三乙胺(0.88 mL, 6.31 mmol, 88 eq)。所得到的混合物在室溫下攪拌。反應完成之後(藉由LC/MS監測，13小時)加入甲醇(5.28 ml)及28%氫氧化銨(ammonium hydroxide) (3.52 ml)，並將所得到的混合物加熱至50 °C。反應完成之後(藉由LC/MS監測，5小時)，混合物冷卻至室溫並將所得到的茶色漿液過濾及以水(15 ml)潤洗。濾液再次過濾以移除其他的固體。最終的濾液以甲苯及庚烷1：1的混合物(30 ml)萃取兩次。水層在真空下濃縮以及之後在水(6 ml)中再懸浮。濾除所得到的固體並將濾液經過製備級HPLC以得到白色固體的化合物1二銨鹽(亦指的是化合物1a)(39 mg, 0.050 mmol, 產率 70%)。

【0182】 化合物1a (*SpRp*, 反式) ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) $\delta = 9.05$ (s, 1H)、8.33 (s, 1H)、8.25 (s, 1H)、8.12 (s, 1H)、6.34 (br s, 2H)、5.88 (br s, 2H)、5.66 (br d, $J = 51.6 \text{ Hz}$, 1H)、5.59 (br d, $J = 52.2 \text{ Hz}$, 1H) 5.01 (br s, 2H)、4.68 - 4.34 (m, 6H)、4.07 - 3.82 (m, 2H)、3.79 - 3.55 (m, 2H)； ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) $\delta = 55.48$ (s, 1P)、55.16 (s, 1P)。

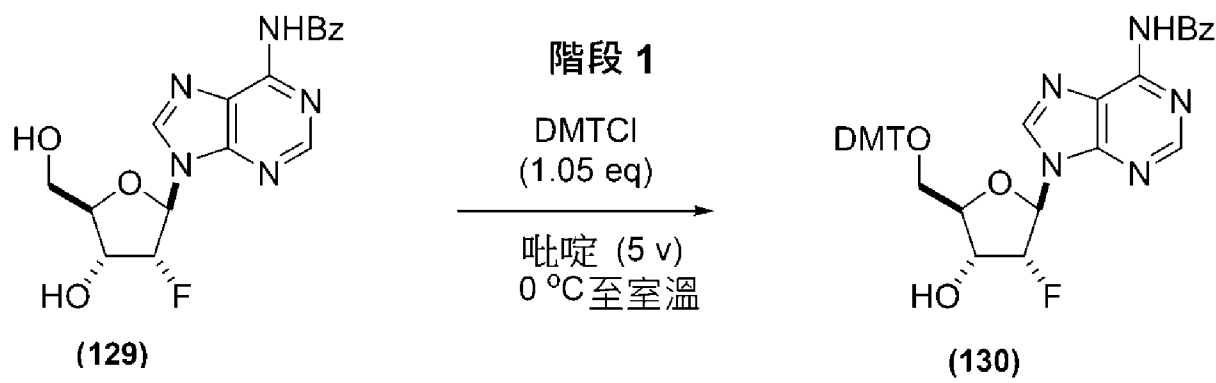
【0183】 化合物1a製備級HPLC條件：

儀器	Agilent 1200/1260 AS/FC
HPLC column 管柱	Waters XBridge C18, 10 x 100 mm, # 1413
流速	3.0 ml/min
管柱溫度	35 °C
移動相	A： 在水中 0.1% NH ₄ OH， B： 在乙腈中 0.1% NH ₄ OH
梯度 (B%)	0 → 50
分析時間	20 min
注入體積	50 ul (在水中 4 mg/ml)
偵測	UV 260 nm
滯留時間	6.5 min

【0184】 實例1.1-化合物1a的替代性合成

【0185】 化合物1a的替代性合成路徑揭述於第2A圖及第2B圖，以及以下記述之第2C圖。

【0186】 階段1

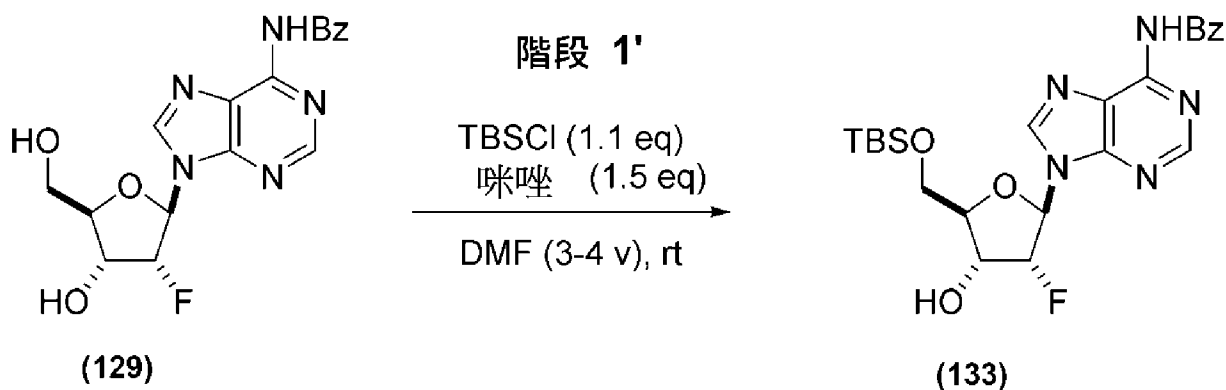


【0187】 化合物129(570 g, 1.53 mol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)溶解於吡啶(2.85 L, 35.2 mol, 4.89 wt, 5.0 vols, 23 eq)中。混合物冷卻至2.6°C並以4,4'-氯化二甲氧三苯甲基(4,4'-dimethoxytrityl chloride)(DMTCl; 543 g, 1.60 mol, 0.953 wt, 1.05 eq)處理。混合物在0至5 °C 攪拌2小時且之後容許加溫至室溫。反應藉由LC/MS監測並在攪拌隔夜之後確認完成轉化。反應混合物降溫至5°C以下並藉由MeOH(124 ml, 3.05 mol, 0.172 wt, 0.217 vol, 2.0 eq)處理15分鐘淬滅。混合物在真空下與甲苯(2.00 L, 3.04 wt, 3.51 vol)共蒸發(co-evaporated)且之後以EtOAc(2.850 L, 4.5 wt, 5.0 vol)及正庚烷(2.85 L, 3.42 wt, 5.0 vol)的混合物稀釋。有機層以飽和NaHCO₃(在水中9

wt% 的溶液； 2.0 L, 3.5 vol)洗滌。添加額外的EtOAc(2.85 L, 4.5 wt, 5.0 vol)以完全溶解粗產物。攪拌5分鐘之後，兩個層分離。有機層以水(2.0 L, 3.5 wt, 3.5 vol)洗滌。固體開始緩慢地從有機層沉澱出來。水層被分離。之後將有機層濃縮至大約1 vol。粗產物與正庚烷(2.00 L, 2.40 wt, 3.51 vol)及甲苯 (0.50 L, 0.76 wt, 0.88 vol)混合物形成漿液。攪拌15分鐘之後，以真空過濾收集淡黃色固體。濾餅依序地以：(1) 正庚烷(0.60 L, 0.72 wt, 1.05 vol) 及甲苯 (0.30 L, 0.46 wt, 0.53 vol)的混合物，及之後(2) 正庚烷 (3.00 L, 3.6 wt, 5.26 vol)潤洗。固體以不加熱30分鐘乾燥之後轉移到托盤以在真空烤箱中以50 °C乾燥整夜，得到淡黃色固體的化合物130(996.7 g, 1.47 mol, 1.75 wt, 產率97%)。

【0188】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.99 (s, 1H)、 8.76 (s, 1H)、 8.21 (s, 1H)、 8.04 - 8.00 (m, 2H)、 7.64 - 7.59 (m, 1H)、 7.57 - 7.50 (m, 2H)、 7.41 - 7.36 (m, 2H)、 7.32 - 7.15 (m, 7H)、 6.83 - 6.76 (m, 4H)、 6.31 (dd, J = 2.5, 17.0 Hz, 1H)、 5.68 (ddd, J = 2.3, 4.7, 52.7 Hz, 1H)、 4.88 - 4.77 (m, 1H)、 4.26 - 4.21 (m, 1H)、 3.77 (s, 6H)、 3.57 (dd, J = 3.1, 10.9 Hz, 1H)、 3.43 (dd, J = 4.1, 10.7 Hz, 1H)、 2.60 (br s, 1H)。

【0189】 階段1'

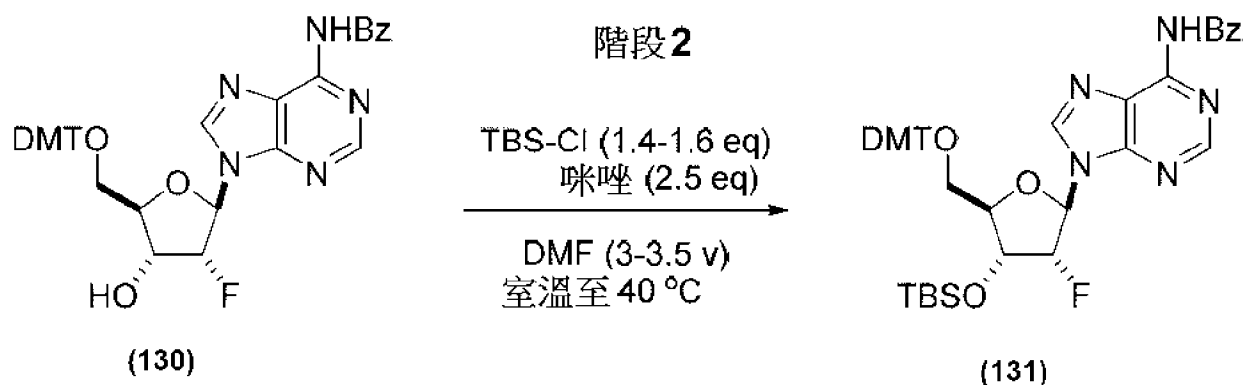


【0190】 化合物129(430 g, 1.15 mol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)及咪唑 (118 g, 1.73 mol, 0.274 wt, 1.50 eq)溶解於DMF (1.72 L, 3.78 wt, 4.0 vol)中，且所得到的混合物冷卻至5 °C。加入TBS-Cl(191 g, 1.27 mol, 0.444 wt, 1.10 eq)。混合物在0至11°C下攪拌2小時，容許緩慢地加溫至室溫(藉由LCMS監測過程)。反應在加入TBS-Cl的6小時之後完成，又容許在室溫下攪拌額外的20小時。混合物冷卻至2°C並以甲醇(93 ml, 74 g, 2.3 mol, 0.17 wt, 0.22 wt, 2.0 eq)處理10分鐘。反應混合物以MTBE (1.72 L, 1.23 kg, 2.96 wt, 4.0 vol)及EtOAc (1.72 L, 1.55 kg, 3.60 wt, 4.0 vol)的混合物接著以飽和NH₄Cl(28 wt%在水中的溶液; 2.15 L, 5.0 vol)稀釋。固體開始緩慢地從溶液中脫離。該混合物容許加溫至24°C並加入水(1.08 L, 1.08 kg, 2.5 wt, 2.5 vol)(內部溫度(T-internal) = 22 °C)。更多固體開始從混合物中沉澱出來。在混合物中添加額外的水(1.08 L, 1.08 kg, 2.5 wt, 2.5 vol)及MTBE (1.40 L, 1.04 kg, 2.4 wt, 3.3 vol)。藉由真空過濾收集灰白色固體。反應器以水(320 ml, 0.74 vol)及之後以MTBE (1.80 L, 1.33 kg, 3.10 wt, 4.19 vol)潤洗來將任何剩下的固體轉移到過濾器。濾餅依序地以：(1) 水(1.80 L, 1.80 kg, 4.2 wt, 4.2 vol)，(2) 水(1.80 L, 1.80 kg, 4.2 wt, 4.2 vol)，(3) MTBE (0.90 L, 0.67 kg, 1.5 wt, 2.1 vol)及正庚烷(0.90 L, 0.62 kg, 1.4 wt, 2.1 vol)的混合物，(4) MTBE (0.90 L, 0.67 kg, 1.5 wt, 2.1 vol) 及正庚烷 (0.90 L, 0.62 kg, 1.4 wt, 2.1 vol)的混合物潤洗。回收的固體在真空下於40 °C乾燥2天以得到白色固體的化合物133(483 g, 0.991 mol, 1.12 wt, 產率86%)。

【0191】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.97 (s, 1H)、8.82 (s, 1H)、8.36 (s, 1H)、8.04 - 8.00 (m, 2H)、7.64 - 7.58 (m, 1H)、7.56 - 7.51 (m, 2H)、6.40 (dd, *J* = 2.3, 16.0 Hz, 1H)、5.45 (ddd, *J* = 2.7, 4.3, 53.1 Hz, 1H)、4.75 - 4.66 (m, 1H)、4.22

- 4.17 (m, 1H)、4.07 (dd, $J = 2.3, 11.7$ Hz, 1H)、3.91 (dd, $J = 2.7, 11.7$ Hz, 1H)、2.38 (dd, $J = 2.7, 7.0$ Hz, 1H)、0.92 (s, 9H)、0.11 (s, 3H)、0.11 (s, 3H)。

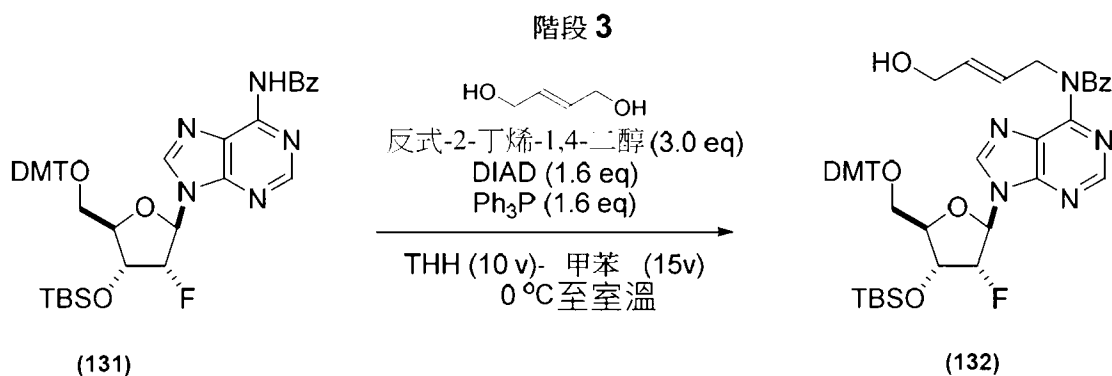
【0192】 階段2



【0193】 化合物130(993 g, 1.47 mol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)及咪唑(150 g, 2.20 mol, 0.151 wt, 1.5 eq)溶解於DMF(3.48 L, 3.28 kg, 3.3 wt, 3.5 vol)中，並將該混合物冷卻至5 °C。添加TBS-Cl(244 g, 1.62 mol, 0.245 wt, 1.10 eq)。反應在0至5° C攪拌2小時，容許緩慢地加溫至室溫並藉由LCMS監測。17小時之後，加入額外的咪唑 (100 g, 1.47 mol, 0.10 wt, 1.0 eq) 及 TBS-Cl(111 g, 735 mmol, 0.112 wt, 0.50 eq)，並持續在室溫下攪拌2小時及在35° C下攪拌2小時。所得到的混合物冷卻至13.6 °C並以MeOH (119 ml, 2.94 mol, 2 eq)處理10分鐘。在分離反應器中加入冰(5 kg, 5 wt) 及飽和 NH₄Cl (28 wt% 在水中的溶液; 5.0 L, 5 vol)。反應混合物加至冰/ NH₄Cl混合物。灰白色固體立刻開始從溶液中沉澱出來。對混合物添加額外的2公斤冰(2 kg, 2 wt)及水(3.0 L, 3 vol)。反應燒瓶以水(0.50 L, 0.5 vol)潤洗並將潤洗液添加至混合物。添加正庚烷 (2.00 L, 2 vol)至混合物並持續攪拌10分鐘。藉由真空過濾收集灰白色固體。濾餅以：(1) 水(4.0 L, 4.0 vol)，(2) 水(4.0 L, 4.0 vol)，(3) 正庚烷 (4.0 L, 4.0 vol)，(4) 正庚烷 (4.0 L, 4.0 vol)潤洗。所回收的固體在真空下於45°C乾燥4天以得到灰白色固體的化合物131(1.095 kg, 1.39 mol, 1.10 wt, 產率94%)。

【0194】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 9.09 (s, 1H)、8.78 (s, 1H)、8.28 (s, 1H)、8.02 (d, J = 7.4 Hz, 2H)、7.63 - 7.59 (m, 1H)、7.55 - 7.50 (m, 2H)、7.37 (d, J = 7.1 Hz, 2H)、7.29 - 7.17 (m, 7H)、6.79 (d, J = 7.9 Hz, 4H)、6.29 (dd, J = 2.9, 16.2 Hz, 1H)、5.60 (ddd, J = 2.7, 3.9, 53.1 Hz, 1H)、4.78 (ddd, J = 4.7, 6.4, 15.8 Hz, 1H)、4.26 - 4.22 (m, 1H)、3.77 (s, 6H)、3.58 (dd, J = 3.1, 10.9 Hz, 1H)、3.26 (dd, J = 3.7, 10.7 Hz, 1H)、0.85 (s, 9H)、0.10 (s, 3H)、0.02 (s, 3H)。

【0195】 階段3

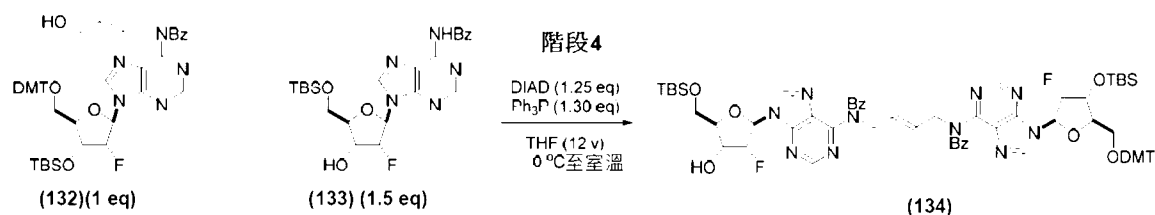


【0196】 化合物131(1000 g, 1.27 mol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)及反式-2-丁烯-1,4-二醇 (trans-2-butene-1,4-diol)(藉由 ^1H -NMR確認烯烴幾何；335 g, 3.80 mol, 0.335 wt, 3.0 eq)與THF(3.0 L, 3.0 vol)共沸兩次。殘餘物溶解於THF(10 L, 10 vol)及甲苯(15 L, 15 vol)的混合物中。加入三苯膦(triphenylphosphine)(432 g, 1.65 mol, 0.432 wt, 1.3 eq)之後反應物冷卻至-5 °C。緩慢地加入DIAD(0.320 L, 1.65 mol, 333 g, 0.333 wt, 0.320 vol, 1.3 eq)20分鐘以維持內部溫度在5°C以下。該反應載0至5°C下攪拌1小時並藉由LCMS監測。移除冰浴且容許混合物加溫至室溫。整夜的攪拌之後(17小時)，加入三苯膦(83 g, 0.32 mol, 0.083 wt, 0.25 eq)及DIAD(62 ml, 0.32 mol, 64 g, 0.064 wt, 0.062 vol, 0.25 eq)。在室溫下另外的1小時之後，反應混合物以MTBE (10 L, 10 vol)稀釋，以半飽和NaCl(在水中18 wt%的溶液；2 x 4L)洗滌兩次並在真空

下濃縮成厚實的油狀。混合物再次溶解於MTBE(4.00 L, 4 vol)及正庚烷(0.50 L, 0.5 vol)的混合物，且然後冷卻至0 °C。將氧化三苯膦的晶種(seed crystal)加入溶液中。固體緩慢地開始從溶液中沉澱出來並攪拌整夜。藉由真空過濾收集白色固體並以MTBE (2 L, 2 vol)潤洗以分離出540 g的氧化三苯膦。濾液濃縮並經由Biotage 150L KP-Sil純化(SiO₂ 5 kg; 以在Hep/etOAc中的1%TEA預處理；沖提液：庚烷/EtOAc(48 L 含有1% TEA的33% EtOAc， 24 L含有1% TEA的50% EtOAc， 24 L含有1% TEA的66% EtOAc) → 100%含有1% TEA的EtOAc)。藉由TLC(2:1 EtOAc/正庚烷)監測管柱。合併純產物餾分(fractions)並在真空下濃縮以得到淺白色泡沫固體的化合物132(634 g，包含 14 wt% DIAD 衍生副產物，淨重 545 g，0.63 mol，校正產率50%)。在真空下合併並濃縮該混合物餾分以得到淡黃色泡沫固體(750 g)，其經由Biotage 150M HP-Sphere受到再純化(repurification)(2.5 kg SiO₂；以在Hep/EtOAc 中的 1% TEA預處理；以甲苯沖提液加載樣品：Hep/EtOAc/1%TEA (12 L 含有1% TEA 的 50% EtOAc，16L含有1% TEA 的66% EtOAc) → 含有1% TEA 的EtOAc)。藉由TLC (2/1/0.03 EtOAc/n-hep/TEA)監測管柱。合併純產物餾分並在真空下濃縮以另外得到淺白色泡沫固體的化合物132(206 g, 0.24 mol, 產率18%)。

【0197】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.58 (s, 1H)、8.10 (s, 1H)、7.43 - 7.37 (m, 2H)、7.32 - 7.28 (m, 2H)、7.24 - 7.15 (m, 8H)、7.03 - 6.98 (m, 2H)、6.78 - 6.73 (m, 4H)、6.18 (dd, *J* = 2.7, 17.2 Hz, 1H)、5.88 (td, *J* = 5.5, 15.6 Hz, 1H)、5.77 (td, *J* = 5.1, 15.6 Hz, 1H)、5.60 (ddd, *J* = 2.7, 4.3, 53.1 Hz, 1H)、5.03 - 4.96 (m, 2H)、4.91 (ddd, *J* = 4.5, 6.6, 16.6 Hz, 1H)、4.18 - 4.14 (m, 1H)、3.88 - 3.82 (m, 2H)、3.78 (s, 6H)、3.52 (dd, *J* = 2.7, 10.9 Hz, 1H)、3.14 (dd, *J* = 3.5, 10.9 Hz, 1H)、0.85 (s, 9H)、0.10 (s, 3H)、0.01 (s, 3H)。

【0198】 階段4

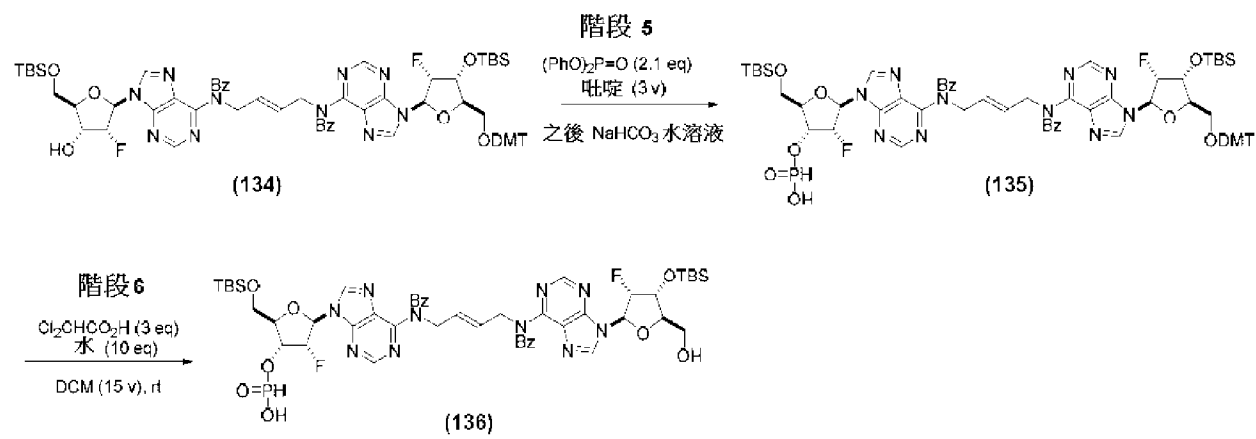


【0199】 化合物132(800 g, 0.930 mol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)及化合物133(522 g, 1.07 mol, 0.652 wt, 1.15 eq)與THF(2 x 3 L, 2 x 3.8 vol)共沸地乾燥並在室溫下再溶解於THF (9.60 L, 8.45 kg, 12.0 vol)中。添加三苯膦(317 g, 1.21 mol, 0.396 wt, 1.30 eq)並將混合物冷卻至- 5 °C以下。於內部溫度7 °C以下加入DIAD (226 ml, 1.16 mol, 235 g, 0.294 wt, 0.283 vol, 1.25 eq)。容許該反應緩慢地加溫至室溫。反應藉由LCMS監測。21小時之後，反應混合物在真空下濃縮成厚實的油狀，與正庚烷(2.00, 1.37 kg, 1.71 wt, 2.50 vol)共沸之後再溶解於MTBE (2.40 L, 1.78 kg, 2.2 wt, 3.0 vol) 及正庚烷(800 ml, 547 g, 0.68 wt, 1.0 vol)的混合物。該溶液以氧化三苯膦引晶並冷卻至5°C，以正庚烷 (400 ml, 274 g, 0.34 wt, 0.50 vol)稀釋並在5°C下攪拌30分鐘。藉由真空過濾收及白色固體沉澱物並以2：1 (v/v) MTBE 及正庚烷 (1.8 L) 的混合物潤洗以得到氧化三苯膦(455 g)。濾液在真空下濃縮並經由Biotage 150 L KP-Sil純化(SiO_2 5 kg；以1% TEA預處理；藉由溶解於甲苯的沖提液加載樣品：9：1庚烷/EtOAc (16 L) 及 15 TEA, 3.6：1 (46 L)，2：1 (20 L) 及 1% TEA，1：1 (30 L) 及 1% TEA，以及 100% EtOAc (16 L)及 1% TEA)。合併的純產物餾分在真空下濃縮以得到灰白色固體泡沫的化合物134(662.2 g)。合併混合物餾分(480 g)並在真空下濃縮。在加載至Biotage 150L之前以甲苯 (300 ml)稀釋形成之白色不溶性固體藉由真空過濾移除。可溶於甲苯的物質經由Biotage 150M HP-Sphere純化(以1% TEA預處理)；樣品以甲苯加載；沖提液：2：1庚烷/EtOAc (26 L) w/ 1% TEA,

1 : 1 (25 L) w/ 1% TEA, 1 : 4 (34 L) w/ 1% TEA)。藉由 TLC (1 : 1庚烷/EtOAc)監測管柱。合併的純產物餾分在真空下濃縮以額外得到灰白色固體泡沫的化合物 134 (165.5 g。總和662.2+165.5 g = 827.7 g, 930 mmol, 1.03 wt, 產率67%)。

【0200】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.47 (s, 1H), 8.39 (s, 1H)、 8.20 (s, 1H)、 8.01 (s, 1H)、 7.38 - 7.31 (m, 5H)、 7.27 - 7.19 (m, 6H)、 7.14 - 7.06 (m, 3H)、 6.93 - 6.87 (m, 2H)、 6.76 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H)、 6.26 (dd, *J* = 2.0, 16.0 Hz, 1H)、 6.15 (dd, *J* = 2.7, 17.2 Hz, 1H)、 5.86 (dd, *J* = 4.7, 15.2 Hz, 1H)、 5.80 (dd, *J* = 4.7, 15.2 Hz, 1H)、 5.51 (ddd, *J* = 2.7, 4.3, 52.8 Hz, 1H)、 5.31 (ddd, *J* = 2.0, 4.3, 52.8 Hz, 1H)、 4.87 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H)、 4.85 - 4.81 (m, 1H)、 4.79 (d, *J* = 4.3 Hz, 2H)、 4.71 - 4.59 (m, 1H)、 4.20 - 4.13 (m, 2H)、 4.06 (dd, *J* = 2.7, 11.3 Hz, 1H)、 3.90 (dd, *J* = 2.7, 11.7 Hz, 1H)、 3.77 (s, 6H)、 3.52 (dd, *J* = 3.1, 10.9 Hz, 1H)、 3.18 (dd, *J* = 3.9, 10.9 Hz, 1H)、 0.92 (s, 9H)、 0.84 (s, 9H)、 0.10 (s, 3H)、 0.09 (s, 6H)、 0.07 (s, 3H)。

【0201】 階段5-6



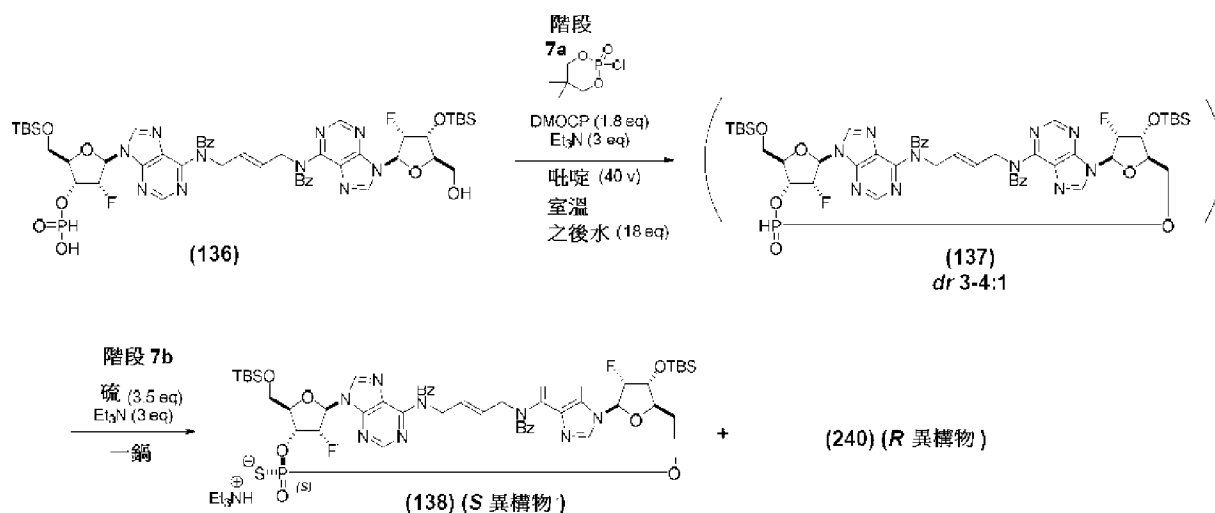
【0202】 在吡啶(1.23 L, 1.21 kg, 15.2 mol, 2.9 wt, 3.0 vol, 49 eq)中化合物 134(410.7 g, 309 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)的溶液中加入亞磷酸二苯酯(diphenyl phosphite) (90 ml, 109 g, 0.46 mol, 0.26 wt, 0.22 vol, 1.5 eq)。反應在室溫下攪拌並

藉由LCMS監測。2小時之後(80%轉化)加入另外的亞磷酸二苯酯(29.9 ml, 36.2 g, 155 mmol, 0.088 wt, 0.073 vol, 0.50 eq)。另外的1小時之後，加入額外的亞磷酸二苯酯(6.0 ml, 7.2 g, 31 mmol, 0.018 wt, 0.015 vol, 0.10 eq)，且持續反應另外的0.5小時(98%轉化)。當維持內部溫度為4.7至12°C時，該反應混合物加至飽和NaHCO₃ (在水中9 wt% 的溶液； 2.1 L, 5 vol)及水(1.0 L ml, 2.5 vol)的混合物中。反應器以小體積的EtOAc潤洗。在室溫下持續攪拌30分鐘並藉由LCMS監測反應(100%轉化)。反應混合物以1：1的 EtOAc及 MTBE (2 x 8.2 L, 2 x 20 vol)的混合物萃取兩次。合併的有機層以水(4.1 L, 10 vol)洗滌，在真空下濃縮並與甲苯(3 x 4.1 L, 3 x 10 vol;連續供給)共沸以移除吡啶而得到化合物135(剩餘0.55 eq 吡啶)。

【0203】 階段6-化合物135的粗產物在室溫下溶解於二氯甲烷(3.08 L, 4.07 kg, 9.9 wt, 7.5 vol)中。當維持內部溫度為25°C以下時，加入水(55.7 ml, 0.136 vol, 10 eq)，然後加入在DCM (3.08 L, 7.5 vol)中的二氯乙酸(dichloroacetic acid)(77 ml, 120 g, 0.93 mol, 0.29 wt, 0.19 vol, 3.0 eq)溶液。(轉變成橘色溶液)。30分鐘之後，加入三乙基矽烷(triethylsilane) (Et₃SiH; 494 ml, 359 g, 3.09 mol, 0.875 wt, 1.20 vol, 10.0 eq) (內部溫度從18.2 °C 至 17 °C)並持續攪拌20分鐘。加入三乙胺(431 ml, 313 g, 3.09 mol, 0.762 wt, 1.05 vol, 10.0 eq)(內部溫度從17.8 °C 至 22 °C)。混合物濃縮至 1.55 kg (3.8 wt)，再溶解於EtOAc (6.2L, 5.5 kg, 14 wt, 15 vol)中，依序地以：(1) 水 (1.0 L, 2.5 vol)及飽和 NaHCO₃ (9 wt%在水中的溶液, 0.82 L, 2.0 vol)洗滌。粗產物 EtOAc溶液在-20 °C下儲存整夜(0.82 L, 2.0 vol)，並在隔天將溶液在25°C於真空下濃縮。因而得到粗混合物(654g)以：(1) 正庚烷(3.01 L, 7.5 vol)、(2)正庚烷(2.46 L, 6.0 vol)及甲苯(0.82 L, 2.0 vol)的混合物研磨(triturated)。溶液的部分(上清液)被倒出且將剩餘在底部的固體溶解於乙腈(4.1 L, 10 vol)中。混合物在25°C於真空下濃縮

並與乙腈共沸兩次以得到化合物136。產物不經純化即使用於後續階段(假設100%理論產率)。

【0204】 階段7



【0205】 階段7a 化合物136(337 g, 309 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)在室溫下溶解於無水吡啶(13.5 L, 13.2 kg, 39 wt, 40 vol)中。加入三乙胺 (129 ml, 927 mmol, 94 g, 0.28 wt, 0.38 vol, 3.0 eq)然後加入2-氯基-5,5-二甲基-1,3,2-二氧磷雜環己烷2-氧化物(DMOCP; 103 g, 556 mmol, 0.31 wt, 1.80 eq)。所得到的混合物在室溫下攪拌30分鐘並藉由LCMS監測(100%轉化)以生成化合物137。

【0206】 階段7b 將TEA (129 ml, 927 mmol, 94 g, 0.28 wt, 0.38 vol, 3.0 eq)、水(100 ml, 5.56 mol, 0.30 wt, 0.30 wt, 18 eq)及硫(34.7 g, 1.08 mol, 0.10 wt, 3.5 eq)加入上述化合物137的混合物。90分鐘之後(100%轉化)當內部溫度維持在30°C (16.6 °C 至 27 °C)以下時加入NaHCO₃ (9 wt% 在水中的溶液; 3.37 L, 10 vol)。過濾所得到的混合物以將鹽移除。濾液在真空下濃縮該混合物，以MTBE (5.1 L, 15 vol)稀釋並以NaCl (30 wt%在水中的溶液; 2 x 1.35 L, 2 x 4 vol)洗滌兩次。濾除不溶的固體並將濾液在真空下濃縮及與甲苯(4.0 L, 12 vol)共沸。所得到的固體藉由

過濾移除，且將粗混合物溶於甲苯中並經由Biotage 150L KP-Sil純化(SiO_2 5 kg; 以Hep/EtOAc/TEA (1.5/1.5/0.03 CV)預處理；以： EtOAc/TEA (3/0.03 CV)、EtOAc/MeOH/TEA (4/0.2/0.04 CV)、EtOAc/MeOH/TEA(2/0.2/0.02CV)沖提)，藉由TLC(EtOAc/MeOH/TEA=9/1/0.1)監測管柱。合併含有*Sp*異構物的餾分並在真空下濃縮以得到淺粉紅色泡沫固體的化合物138(*Sp* 異構物; 154 g, 128 mmol, 0.46 wt, 產率41.3%)。合併含有*Rp*異構物的餾分並在真空下濃縮以得到淺粉紅色泡沫固體的化合物240(*Rp* 異構物; 64 g, 53 mmol, 0.19 wt, 產率17%)。

【0207】 化合物138 (*Sp* 異構物)：

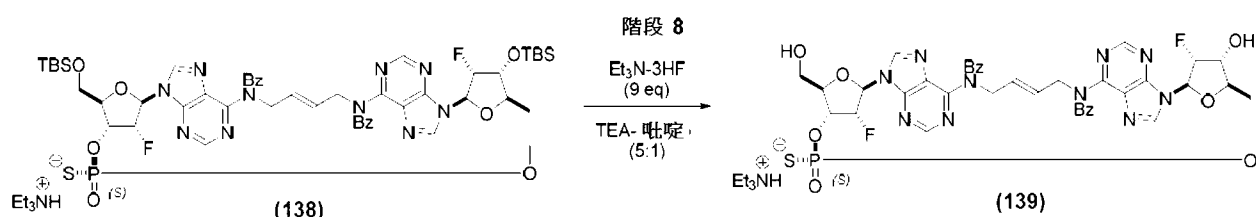
【0208】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ = 8.51 (s, 1H)、8.50 (s, 1H)、8.22 (s, 1H)、8.14 (s, 1H)、7.46 (d, J = 7.3 Hz, 2H)、7.38 - 7.27 (m, 4H)、7.25 - 7.21 (m, 2H)、7.14 (t, J = 7.1 Hz, 2H)、6.44 (dd, J = 2.5, 13.9 Hz, 1H)、6.18 (d, J = 15.2 Hz, 1H)、5.78 (td, J = 6.3, 15.6 Hz, 1H)、5.69 (td, J = 4.7, 15.6 Hz, 1H)、5.56 (dd, J = 3.9, 50.8 Hz, 1H)、5.20 - 5.06 (m, 1H)、4.95 - 4.79 (m, 4H)、4.69 (dd, J = 4.3, 16.0 Hz, 1H)、4.54 - 4.38 (m, 3H)、4.35 (d, J = 5.5 Hz, 1H)、4.32 - 4.29 (m, 1H)、4.05 (dd, J = 1.6, 11.7 Hz, 1H)、3.91 (dd, J = 3.1, 11.7 Hz, 1H)、3.14 - 3.06 (m, 6H)、1.30 (t, J = 7.4 Hz, 9H)、0.91 (s, 9H)、0.90 (s, 9H)、0.12 (s, 3H)、0.08 (s, 3H)、0.06 (s, 3H)、0.05 (s, 3H)。

【0209】 化合物240(*Rp* 異構物)：

【0210】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ = 8.54 (s, 1H)、8.38 (s, 1H)、8.33 (s, 1H)、8.01 (s, 1H)、7.39 - 7.09 (m, 10H)、6.39 (dd, J = 2.3, 14.1 Hz, 1H)、6.13 (d, J = 17.2 Hz, 1H)、5.72 (d, J = 3.1 Hz, 2H)、5.68 (dd, J = 4.3, 51.2 Hz, 1H)、5.43 - 5.29 (m, 1H)、5.10 - 4.96 (m, 3H)、4.90 - 4.83 (m, 2H)、4.78 - 4.72 (m, 1H)、4.52

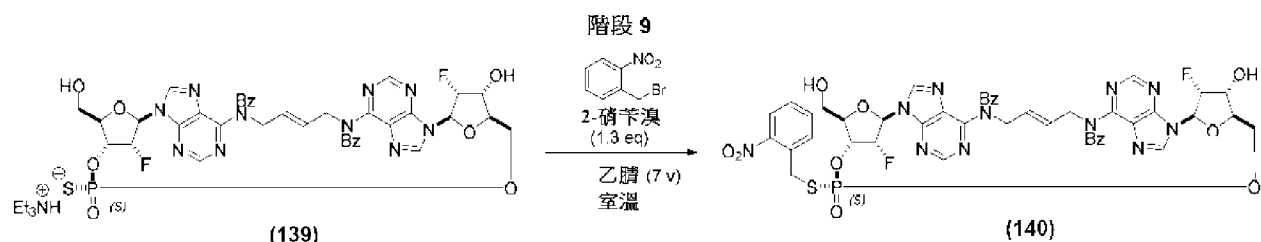
(ddd, $J = 3.9, 6.6, 17.2$ Hz, 1H)、4.44 - 4.35 (m, 2H)、4.31 - 4.26 (m, 1H)、4.20 - 4.12 (m, 2H)、3.87 (dd, $J = 3.5, 11.7$ Hz, 1H)、3.79 - 3.77 (m, 1H)、3.15 - 3.09 (m, 6H)、1.33 (t, $J = 7.4$ Hz, 9H)、0.94 (s, 9H)、0.89 (s, 9H)、0.13 (s, 3H)、0.12 (s, 3H)、0.10 (s, 3H)、0.09 (s, 3H)。

【0211】階段8



【0212】將化合物138(221 g, 183 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)溶解於吡啶 (530 ml, 6.56 mol, 519 g, 2.3 wt, 2.4 vol) 及 TEA (2.65 L, 19.0 mol, 1.93 kg, 8.7 wt, 12 vol, 104 eq)的混合物中。添加三乙胺三氫氟酸鹽(Triethylamine trihydrofluoride)(264 ml, 1.62 mol, 262 g, 1.2 wt, 1.2 vol, 8.9 eq為錯合物, 27 eq HF)且將混合物在室溫下攪拌，同時藉由LCMS監測轉化。3小時之後(97%轉化)，加入甲氧基三甲基矽烷 (methoxytrimethylsilane) (TMSOMe; 1.40 L, 10.2 mol, 1.06 kg, 4.8 wt, 6.3 vol, 55 eq) 並持續攪拌30分鐘。黏性固體塗佈反應器。倒掉溶液部分(上清液)。以甲苯 (2 x 2.2 L, 2 x 10 vol; 倒掉上清液)研磨固體兩次。剩餘在反應器中的粗固體溶解於二氯甲烷 (2.2 L, 10 vol)中，並以NH₄Cl(28 wt% 在水中的溶液; 2.2 L, 10 vol)洗滌。水層以二氯甲烷(2.2 L, 10 vol)反萃取(back extracted)。合併的有機層以NaCl (36 wt% 在水中的溶液; 1.1 L, 5 vol)及水(1.1 L, 5 vol)洗滌，然後在真空下濃縮以得到褐色乾泡沫的化合物139(152 g, 155 mmol, 0.70 wt, 85%產率)。粗產物不經純化即用於下個步驟。

【0213】階段9

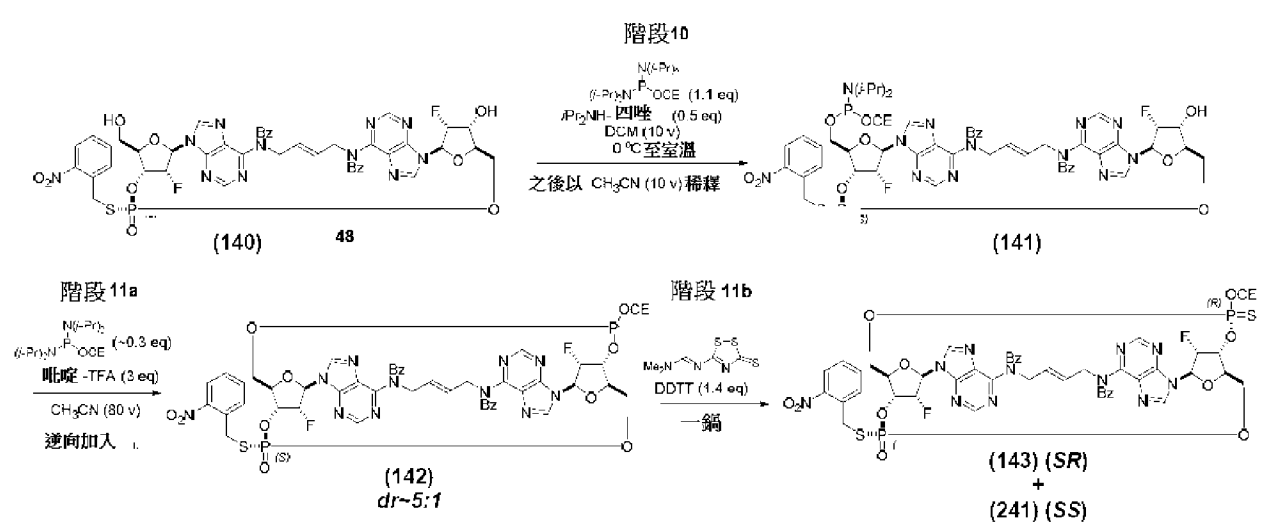


【0214】 化合物 139 (150 g, 153 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)與乙腈(4 L, 27 vol)共沸，然後在室溫下再溶解於乙腈(1.05 L, 0.83 kg, 5.5 wt, 7.0 vol)中。在室溫下加入 2-硝苄溴(44.4 g, 205 mmol, 0.30 wt, 1.34 eq)且反應藉由 LCMS 監測。23 小時之後(100%轉化)，加入 EtOAc (1.50 L, 10 vol)、NH₄Cl (28 wt%在水中的溶液; 300 ml, 2 vol)及水(300 ml, 2 vol) (pH = 6)，所得到的混合物在 25 °C 於真空下部分濃縮至重量為 1.11 kg。加入 EtOAc (2.25 L, 15 vol)並將混合物攪拌 5 分鐘。將兩層分離。水層以乙酸乙酯(750 ml, 5 vol)萃取。合併的有機層依序以：(1) NaCl (36 wt%在水中的溶液; 300 ml, 2 vol)及水(300 ml, 2 vol) 的混合物及(2) 水(600 ml, 4 vol)洗滌。然後有機層在真空下濃縮並與正庚烷 (1.50 L, 10 vol)共沸。在粗固體中加入 MTBE (0.95 L, 6.3 vol)並將混合物於 40 °C 加熱。混合物以 EtOAc (300 ml, 2 vol)稀釋並緩慢地冷卻至 0 °C。容許緻密型固體沉積且經由過濾管將上清液抽掉。固體以 MTBE(2 x 300 ml, 2 x 2 vol;每次經由過濾管將上清液抽掉)潤洗兩次並在 40 °C 於真空下乾燥整夜以得到淡黃色固體的化合物 140 (156 g)。在真空下濃縮濾液產生棕色油體(17.8 g)，其經由 Biotage Snap-Ultra 340 g 純化(沖提液：0 至 5% 在 EtOAc 中的 MeOH)以另外得到淡黃色固體的化合物 140(5.8 g)。總共 156 g + 5.8 g = 161.8 g (淨量 152 mmol，純度 95%，產率 99%)

【0215】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.46 (s, 1H)、8.15 (s, 1H)、8.10 (s, 1H)、8.09 - 8.06 (m, 1H)、7.89 (s, 1H)、7.54 - 7.51 (m, 1H)、7.49 - 7.45 (m, 4H)、7.37 - 7.28 (m, 3H)、7.24 - 7.19 (m, 3H)、7.16 - 7.11 (m, 2H)、6.22 (d, J = 16.8 Hz, 1H)、6.14 (dd, J = 2.7, 17.2 Hz, 1H)、5.83 - 5.61 (m, 3H)、5.60 - 5.48 (m, 1H)、5.07

(dd, $J = 3.5, 51.6$ Hz, 1H)、5.06 - 4.96 (m, 1H)、4.79 (dd, $J = 4.9, 15.8$ Hz, 1H)、4.69 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H)、4.67 - 4.56 (m, 1H)、4.48 - 4.40 (m, 3H)、4.37 - 4.30 (m, 1H)、4.27 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H)、4.19 - 4.13 (m, 1H)、3.93 - 3.85 (m, 1H)、3.85 - 3.78 (m, 1H)。

【0216】 階段10-11



【0217】 階段10 化合物140(純度95%,淨量73.2 g, 72.3 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq) 及 2- 氰 乙 基 N,N,N',N'- 四 異 丙 基 二 氨 基 磷 酸 甲 酯 (2-cyanoethyl N,N,N',N'-tetraisopropylphosphorodiamidite)(25.3 ml, 79.5 mmol, 0.33 wt, 0.35 vol, 1.10 eq)與無水乙腈共沸三次(3 x 2 L)，再溶解於二氯甲烷 (0.73 L, 10 vol)中並冷卻至0至5 °C。加入四唑二異丙基銨(Diisopropylammonium tetrazolide) (6.19 g, 36.1 mmol, 0.085 wt, 0.50 eq)。所得到的反應混合物在0°C下攪拌10小時，於2小時加溫至10°C，在10°C下持續10小時並於2小時加溫至室溫。反應藉由LCMS及TLC (具有0.5% TEA的EtOAc)監測。18小時之後，加入無水乙腈(0.73 L, 10 vol)且混合物儲存於 -20 °C下3天。

【0218】 階段11a 來自階段10的混合物加溫至室溫並經由滴液漏斗分批地 (每30分鐘100 mL，於 9 小時期間)加入吡啶三氟乙酸鹽(先與吡啶共沸兩次；41.9 g, 217 mmol, 0.57 wt, 3.0 eq)及乙腈(5.85 L, 80 vol)的混合物。反應藉由LCMS監測。13小時之後，於4小時期間加入在乙腈(24 mL)中的2-氰乙基N,N,N',N'-四異丙基二氨基磷酸甲酯(5.8 mL, 18 mmol, 0.25 eq)溶液。基於剩餘的化合物140(~30%基於LCMS)測定額外試劑的量。在6小時之後觀察到更多二元醇(diol)的轉化。

【0219】 階段11b 加入((二甲基氨基亞甲基) 胺基)-3H-1,2,4-二噻唑烷-3-硫 酮 (((Dimethylaminomethylidene)amino)-3H-1,2,4-dithiazoline-3-thione)(DDTT; 20.8 g, 101 mmol, 0.28 wt, 1.4 eq)並持續攪拌1小時。反應混合物部分地濃縮至~800 mL並以MTBE(1.46 L, 20 vol)、NaHCO₃(9 wt%在水中的溶液; 1.1 L, 15 vol)及水(0.37 L, 5 vol)稀釋。pH= 8。分離層且水層以MTBE (1.46 L, 20 vol)及 EtOAc (1.10 L, 15 vol)的混合物萃取。合併的有機層以30% aq NaCl (2 x 0.73 L, 2 x 10 vol)洗滌兩次，在35°C於 真空下濃縮並與甲苯(1.46 L, 20 vol)共沸。LCMS及TLC (EtOAc)指出化合物143 (SpRp, 目標)：化合物241 (SpSp) = 5 : 1。

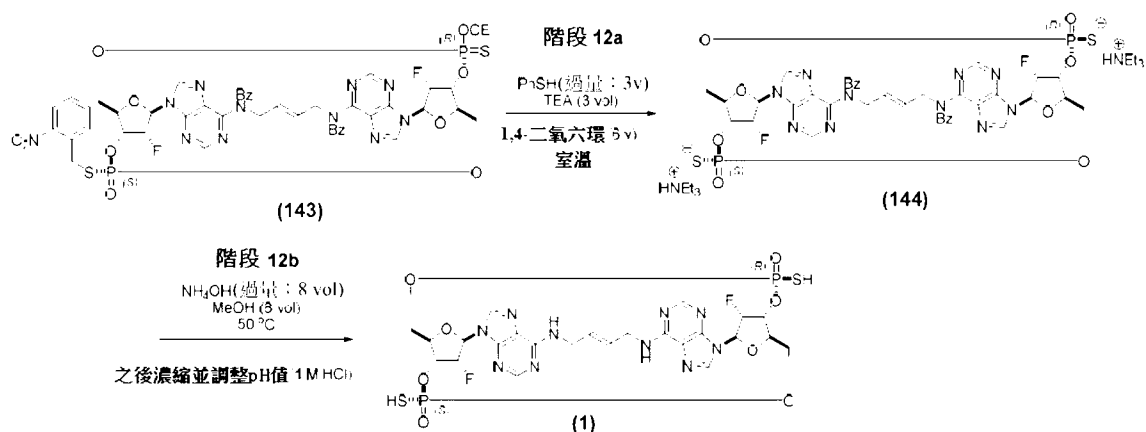
【0220】 粗產物經由 Biotage 150M KP-Sil 純化(SiO₂ 2.5 kg；沖提液：EtOAc/Hep：2：1 (4 CV)、3：1 (2.5 CV)、4：1 (2.5 CV)、100% EA (3 CV)、5-10% 在EA中的MeOH 4 CV)以得到化合物143(36 g, 31.5 mmol, 產率44%)。

【0221】 化合物143(SpRp)：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.59 (s, 1H)、8.10 (s, 1H)、8.03 - 7.99 (m, 1H)、7.91 (s, 1H)、7.56 - 7.53 (m, 2H)、7.49 - 7.40 (m, 5H)、7.35 - 7.28 (m, 2H)、7.24 - 7.16 (m, 4H)、6.92 (s, 1H)、6.29 (d, J = 14.9 Hz, 1H)、6.08 (d, J = 20.7 Hz, 1H)、5.97 - 5.83 (m, 1H)、5.76 (td, J = 4.7, 15.6 Hz, 1H)、

5.61 - 5.51 (m, 2H)、5.40 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H)、5.29 - 5.17 (m, 1H)、4.91 (dd, $J = 7.4$, 14.9 Hz, 1H)、4.86 - 4.75 (m, 3H)、4.63 (dd, $J = 3.7$, 9.2 Hz, 1H)、4.58 - 4.43 (m, 5H)、4.34 - 4.19 (m, 4H)、2.79 (td, $J = 5.9$, 16.8 Hz, 1H)、2.66 (td, $J = 6.3$, 16.8 Hz, 1H)。

【0222】化合物241 (SpSp) ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) $\delta = 8.11$ (s, 1H)、8.03 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H)、7.94 (s, 1H)、7.90 (s, 1H)、7.61 (s, 1H)、7.56 - 7.40 (m, 7H)、7.33 - 7.28 (m, 2H)、7.23 - 7.17 (m, 4H)、6.22 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H)、6.15 (d, $J = 18.8$ Hz, 1H)、5.85 (dd, $J = 3.5$, 51.2 Hz, 1H)、5.75 - 5.45 (m, 5H)、4.95 - 4.23 (m, 14H)、2.82 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H)。

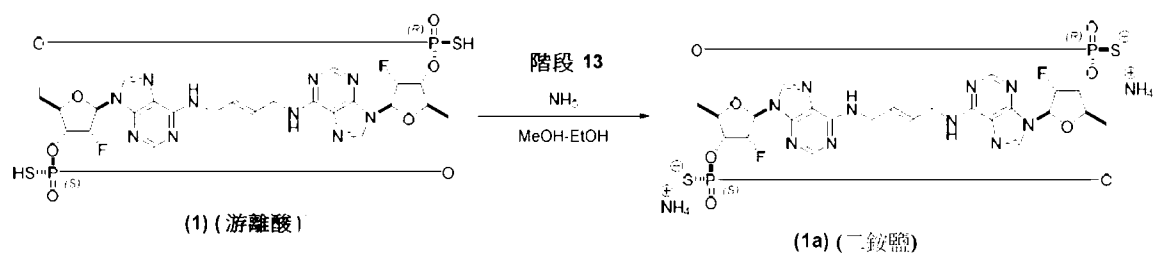
【0223】階段12



【0224】將化合物143(71.6 g, 62.6mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)溶解於1,4-二氧六環(0.43 L, 6 vol)中。加入硫酚(215 ml, 2.09 mol, 230 g, 3.2 wt, 3 vol, >30 eq)之後加入三乙胺(215 ml, 1.54 mol, 156 g, 2.2 wt, 3 vol)。觀察到一些放熱(內部溫度增加 $\sim 7^\circ\text{C}$)，因此使用水/冰浴來降溫，並控制內部溫度低於 27°C 。反應藉由LCMS監測。2小時之後，加入MeOH(0.57 L, 8 vol)及 NH_4OH (28 wt%; 15 mol, 0.57 L, 8 vol, >200 eq)。所得到的混合物於 50°C 加熱5小時，冷卻至室溫並攪拌整夜。14小時

之後加入水(0.72 L, 10 vol)(沒有觀察到固體)，且混合物以1：1 (v/v)的正庚烷及甲苯 (3 x 0.86 L, 3 x 12 vol)的混合物然後以甲苯 (0.57 L, 8 vol)萃取三次。於40-50 °C在真空下濃縮水層並以水(1.07 L, 15 vol)稀釋。所得到的漿液在室溫下保存整夜。濾除所得到的固體，以水(0.36 L, 5 vol)潤洗。濾液仍為混濁的並經由矽鈣石 (celite)及筒式過濾器(Kuno filter)過濾。仍存在濁度。於1小時期間加入HCl (1.0 M 在水中的溶液; 132 ml, 132 mmol, 2.1 eq)並檢查pH值(pH <2)。在室溫下持續攪拌1小時並將混合物過濾。濾餅以水(8 x 0.20 L)潤洗，在真空烘箱中以35 °C乾燥2天並不加熱1天以得到淺橘色固體的化合物1(44.88 g, 60.1 mmol, 0.63 wt, 產率96%)。

【0225】 階段13



【0226】 對游离酸化合物1(22.42 g, 30.03 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)加入氨 (ammonia) (2.0M在MeOH中的溶液；220 ml, 440 mmol, 10 vol, 15 eq)。加入EtOH (55 ml, 2.5 vol)且所得到的溶液經由筒式過濾器(0.45 micron; PTFE)過濾，以1：1 (v/v)的MeOH及EtOH(90 mL, 4 vol)的混合物潤洗。濾液於30°C在真空中濃縮以產生灰白色固體，將其在室溫下乾燥隔夜，以刮勺(Spatular)研磨(易於破碎)並進一步於室溫下在真空乾燥。所分離的固體之後懸浮於甲苯(250 ml)中並在室溫下攪拌30分鐘。之後固體藉由真空過濾收及並以甲苯潤洗兩次(2 x 50 ml)。之後固體在真空烘箱中於真空下乾燥而得到22.4 g的化合物1a(化合物1的二銨鹽)。

【0227】 再結晶：化合物1a (22.14 g, 28.36 mmol, 1 wt, 1 vol, 1 eq)溶解於水 (664 ml, 30 vol)及氫氧化銨(ammonium hydroxide)(28 wt%; 2.5 ml, 18 mmol, 0.63

eq)的混合物中(pH = 9-10)並以甲苯(3 x 300 ml, 3 x 14 vol) 萃取三次、 EtOAc(3 x 200 ml, 3 x 9 vol) 萃取三次及甲苯(3 x 300 ml, 3 x 14 vol)萃取三次。所得到的水層以HCl (1.0 M 在水中的溶液; 90 ml, 90 mmol, 3.2 eq)於3.5小時的時間期間(pH ≤ 2)處理。混合物攪拌30分鐘及之後藉由真空過濾收集固體沉澱。濾餅以水(3 x 200 ml, 3 x 9 vol)洗滌三次並在真空下乾燥整夜。在該固體中加入氨 (2.0 M在MeOH中的溶液; 250 ml, 500 mmol, 17.6 eq) 及乙醇 (100 ml)，所得到的混合物在真空下濃縮至出現晶體(~100 ml)，屆時停止濃縮並將混合物攪拌20分鐘。加入乙醇(45 mL)且將混合物部分濃縮(移除45 mL)。相同的操作再重複兩次，及之後混合物冷卻至0 °C並攪拌3.5小時。藉由真空過濾收集白色固體並以冷乙醇(20 ml)之後以乙酸乙酯 (2 x 50 mL)洗滌兩次。白色固體在室溫下真空乾燥3天以得到白色固體的化合物1a(16.6 g, 21.3 mmol, 0.75 wt, 產率75%)。濾液在真空下濃縮並在室溫下真空乾燥3天以得到灰白色固體的化合物1a (4.16 g, 5.3 mmol , 產率18%)。

【0228】 實例1.2-化合物1的¹H NMR分析

【0229】 化合物1a的¹H NMR圖譜繪示於第3圖中。產生的圖譜為：

【0230】 ¹H-NMR 光譜 (400MHz, DMSO-d₆, δ_H 2.49 ppm, 80 °C)

【0231】 δ(ppm)：3.05-3.13(4H, m)、 3.70(1H, dd, J=13, 5 Hz)、 3.78(1H, dd, J=12, 4Hz)、 4.21-4.24(2H, m)、 4.28(1H, m)、 4.38(1H, m)、 4.53-4.68(2H, m)、 5.22(1H, m)、 5.76(2H, s)、 5.78(1H, m)、 6.26(1H, m)、 6.29(1H, m)、 8.13(1H, s)、 8.14(1H, s)、 8.36(1H, brs)、 8.59(1H, brs)。

【0232】 實例1.3-化合物1的X射線分析

【0233】 大約2 mg的化合物1溶解於600 uL的水中。將120 uL的此溶液置入另一個玻璃小瓶中，之後此小瓶於室溫儲存在含有3 mL MeCN的固定容器中1星期。此為H₂O/MeCN蒸氣擴散法的樣品製備。

【0234】 在結晶溶液中發現的無色單晶體塊(0.1 × 0.1 × 0.1 mm)分散於液體Parabar 10312並安裝在Dual-Thickness MicroMounts™(MiTeGen)上。在-160 °C使用多層鏡像單色 Cu-Kα 放射線以 ω 軸震盪方法在 XtaLAB PRO P200 MM007HF(Rigaku)上收集繞射數據。

【0235】 第4A圖繪示化合物1分子在不對稱單元中的ORTEP圖與無序水分子的數量。第4B圖繪示來自第4A圖中的一種化合物1分子的晶體結構。第4C圖繪示第4A圖所示之化合物1的另一分子的晶體結構。

【0236】 化合物1的晶體結構以0.1354的最終R-因子解。弗萊克參數(Flack parameter)趨近於0 (0.083(17))指出化合物1的絕對構型為(*R*, *S*)。晶體結構分析亦指出在化合物1的大通道中存在許多水分子，其表示水分子能夠輕易地從通道中滑出。分析亦證實晶體學上獨立的分子兩者之構型的不對稱單元幾乎相同。

【0237】 X射線分析的進一步參數顯示於以下表14：

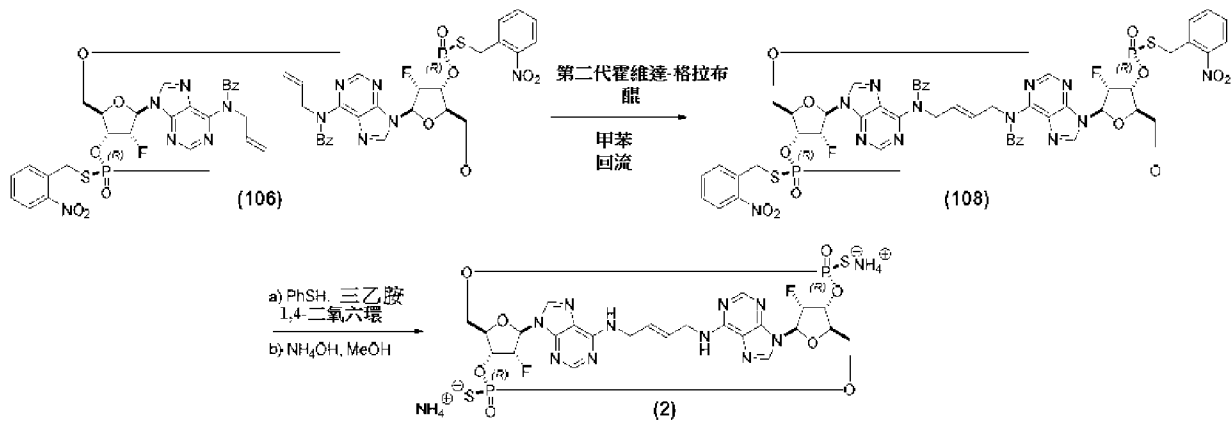
表14

溫度	113 K
波長	1.54184 Å
晶系、空間群	單斜晶系， P2 ₁
晶格參數	a = 8.1584(3) Å
	b = 35.451(2) Å
	c = 15.9146(6) Å
	β = 91.313(3) °
體積	4601.7(4) Å ³
Z 值，計算密度	4, 1.127 g/cm ³
晶體大小	0.1 × 0.1 × 0.1 mm
反射總數/單一反射數	52006/17198 [R(強度)=0.0876]
完整性	92.2 %

相位判定	直接法 (SHELXT Version 2014/5)
優化方法	對 F^2 (SHELXL Version 2014/7)的全矩陣最小二乘法
數據/參數	17198/1116
適合度檢定表示	1.545
殘餘物： $R(I>2\sigma(I))$	0.1354
殘餘物	0.3886
弗萊克參數	0.083(17)
最大及最小峰值差異	1.17 及 -0.88 $e^-/\text{\AA}^3$

【0238】 實例2-化合物2的合成

【0239】 從實例1的步驟E得到的化合物106(化合物105的*RpRp* 異構物)，單獨地進行實例1的步驟F及實例1的步驟G以得到化合物2a(化合物1a的*RR*異構物)：



【0240】 化合物108(*RpRp*) ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.12 (dd, J = 8.2, 0.8 Hz, 2H)、7.99 (s, 2H)、7.96 (s, 2H)、7.65 - 7.48 (m, 10H)、7.38 - 7.33 (m, 2H)、7.26 - 7.24 (m, 4H)、6.22 (d, J = 17.6 Hz, 2H)、5.95 - 5.84 (m, 2H)、5.71 (dd, J = 50.8, 3.9 Hz, 2H) 5.73 - 5.71 (m, 2H)、4.88 - 4.77 (m, 4H)、4.59 - 4.38 (m, 8H)、4.19 (m, 2H)。

【0241】 化合物2a (*RpRp*，反式) ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 8.70 (s, 1H)、8.49 (s, 1H)、8.23 (s, 1H)、8.09 (s, 1H)、6.34 (br s, 2H)、5.83 (br s, 2H)、5.73 - 5.53 (m, 2H)、5.38 - 5.01 (m, 2H)、4.76 - 4.32 (m, 6H)、3.95 (br s, 2H)、3.69 - 3.64 (m, 2H)；³¹P NMR (162 MHz, CD₃OD) δ = 55.57 (s, 1P)、55.32 (s, 1P)。

【0242】 實例2.1- 化合物2的X射線分析

【0243】 秤量化合物2(0.5 mg)並溶解於乙腈/28% 氨溶液中。之後此溶液以鬆散固定的蓋子儲存在室溫下。兩周之後出現棒狀晶體。

【0244】 在結晶溶液中發現的無色單晶體塊($0.1 \times 0.1 \times 0.5$ mm)分散於液體Parabar 10312並安裝在Dual-Thickness MicroMounts™ (MiTeGen)上。在-160 °C使用多層鏡像單色 Cu-K α 放射線以 ω 軸震盪方法在 XtaLAB PRO P200 MM007HF(Rigaku)上收集繞射數據。

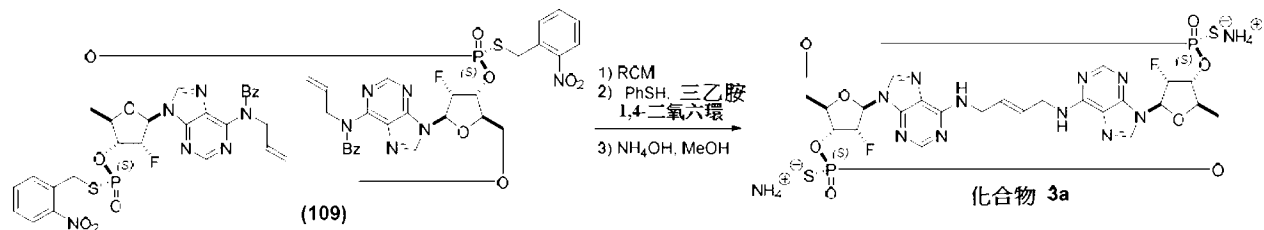
【0245】 第4D圖繪示化合物2分子的ORTEP圖

【0246】 X射線分析的進一步參數顯示於以下表14A：

溫度	113 K
波長	1.54187Å
晶系、空間群	單斜晶系， P2
晶格參數	a = 14.20210(11) Å
	b = 7.99219(7) Å
	c = 19.03500(14) Å
	β = 94.2005(7) °
體積	2154.78(3) Å
Z 值	2
晶體大小	0.1 × 0.1 × 0.5 mm
反射總數/單一反射數	29195/8152 [R(強度)=0.0216]
完整性	94.8 %
相位判定	直接法(SHELXT Version 2014/5)
優化方法	對 F ² (SHELXL Version 2014/7)的全矩陣最小二乘法
數據/參數	8152/518
適合度檢定表示	1.099
殘餘物： R(I>2σ(I))	0.0711
殘餘物： Rw	0.2133
弗萊克參數	0.020(8)
最大及最小峰值差異	1.95 及 -0.64 e ⁻ / Å ³

【0247】 實例3-化合物3的合成

【0248】 從實例1的步驟E得到的化合物109(化合物105的*SpSp* 異構物)，單獨地進行實例1的步驟F及實例1的步驟G以得到化合物3a(化合物1a的*SS*異構物)：

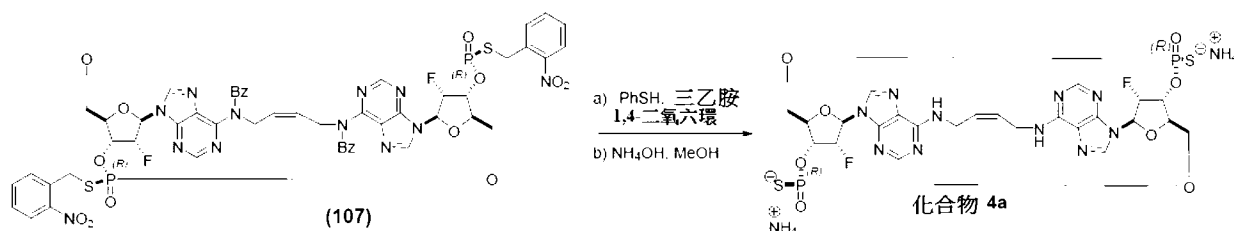


【0249】 化合物109 (化合物105的*SpSp*異構物) : ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ = 8.52 (s, 2H)、7.99 (d, J = 8.2 Hz, 2H)、7.91 (s, 2H), 7.63 - 7.40 (m, 10H)、7.35 - 7.28 (m, 2H)、7.23 - 7.16 (m, 4H), 6.10 - 5.93 (m, 4H)、5.92 - 5.75 (m, 2H)、5.62 - 5.50 (m, 2H)、5.26 - 5.16 (m, 2H)、5.09 - 5.03 (m, 2H)、4.98 - 4.91 (m, 4H)、4.61 - 4.25 (m, 10H)。

【0250】 化合物3a (*RpRp*, 反式) : ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ = 8.97 (br s, 1H)、8.84 (br s, 1H)、8.21 (br s, 2H)、6.31 (br s, 2H)、6.08 (br d, J = 53.5 Hz, 1H)、5.89 (br s, 2H)、5.63 (br d, J = 52.4 Hz, 1H)、5.13 - 4.96 (m, 2H)、4.72 - 4.32 (m, 6H)、4.01 (br d, J = 9.8 Hz, 2H)、3.67 (br s, 2H)。

【0251】 實例4- 化合物4a的合成

【0252】 從實例2的步驟F得到的化合物107藉由矽膠管柱層析分離作為僅有順式異構物，單獨地進行實例1的步驟G以得到化合物4a。



【0253】 化合物107 : ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-*d*) δ = 8.13 (s, 2H), 8.12 - 8.08 (m, 2H)、7.91 (s, 2H)、7.65 - 7.55 (m, 4H)、7.54 - 7.45 (m, 6H)、7.33 - 7.27 (m, 2H)、7.23 - 7.16 (m, 4H)、6.14 (d, J = 17.6 Hz, 2H)、5.88 (dd, J = 3.9, 50.8 Hz, 2H)、5.76 - 5.61 (m, 4H)、5.21 - 4.99 (m, 4H)、4.60 - 4.46 (m, 4H)、4.45 - 4.37 (m, 2H)、4.30 - 4.13 (m, 4H)、3.49 (d, J = 5.1 Hz, 2H)。

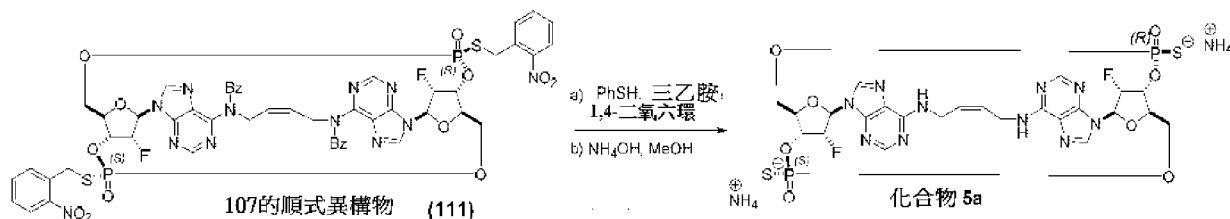
【0254】 化合物4a (*RpRp*, 1a的順式, 化合物 4a) : ^1H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*₄) δ = 8.48 (br s, 2H)、8.02 (br s, 2H)、6.29 (d, J = 14.8 Hz, 2H)、5.99 (br s, 2H)、5.43 (d, J = 51.2 Hz, 2H)、5.03 - 4.88 (m, 2H)、4.43 (br d, J = 11.7 Hz, 2H)、4.32 (br

第 106 頁, 共 202 頁(發明說明書)

d, $J = 9.4$ Hz, 2H)、4.27 - 4.17 (m, 2H)、4.21 - 4.02 (m, 2H)、3.97 (br dd, $J = 6.1, 12.3$ Hz, 2H)。

【0255】 實例5-化合物5的合成

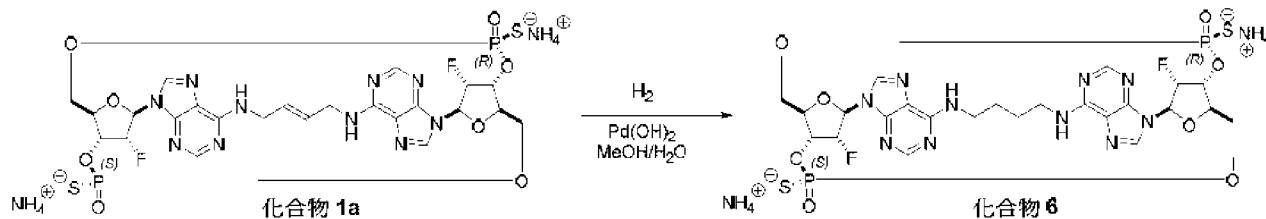
【0256】 從實例1的步驟F得到的順式異構物單獨地進行實例1的步驟G得到化合物5a。



【0257】 化合物111 (化合物107的順式異構物)： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) $\delta = 8.48$ (s, 1H)、8.15 - 8.09 (m, 1H)、8.03 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H)、7.94 (s, 1H)、7.75 (s, 1H)、7.65 - 7.06 (m, 11H)、6.07 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H)、5.98 (d, $J = 20.3$ Hz, 1H)、5.97 - 5.79 (m, 1H)、5.84 (dd, $J = 3.5, 51.2$ Hz, 1H)、5.54 - 5.47 (m, 1H)、5.50 (dd, $J = 3.9, 52.0$ Hz, 1H)、5.38 - 5.21 (m, 2H)、5.18 - 5.02 (m, 2H)、5.02 - 4.95 (m, 1H)、4.78 - 4.69 (m, 1H)、4.60 - 4.16 (m, 10H)。

【0258】 化合物5a (SpRp, 1a的順式)： ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) $\delta = 8.88$ (br s, 1H)、8.51 (br s, 1H)、8.16 (s, 1H)、8.05 (s, 1H)、6.38 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H)、6.33 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H)、6.14 - 6.09 (m, 2H)、6.01 (d, $J = 49.2$ Hz, 1H)、5.42 (d, $J = 49.6$ Hz, 1H)、5.02 - 4.87 (m, 2H)、4.76 - 3.92 (m, 8H)、3.75 - 3.56 (m, 2H)。

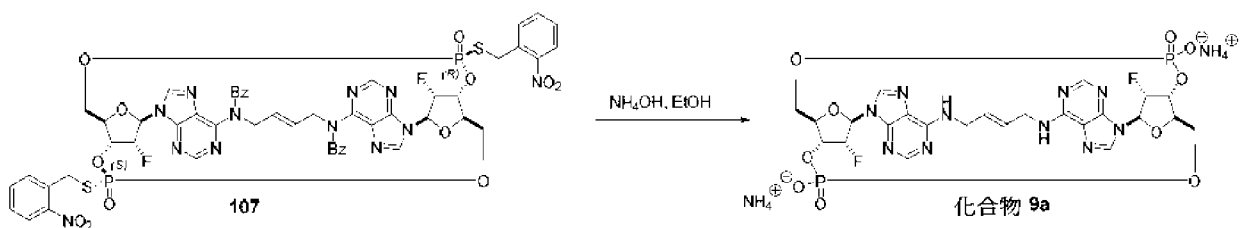
【0259】 實例6-化合物6a的合成(SpRp)



【0260】 在室溫下對在MeOH/H₂O(0.6/0.5 ml)中的化合物1a的溶液加入氫氧化鈹碳(palladium hydroxide on carbon) (20 wt. % 乾基, 2 mg)。所得到的混合物以氫(氣球)處理, 同時以LCMS監測反應。起始材料完全消耗之後, 過濾反應物並以甲醇潤洗至所有產物清出。濾液在真空下濃縮並將殘餘物溶於水(1 ml)。RHPLC純化提供化合物6a (0.9 mg)。

【0261】 LCMS (MS m/z 749.2 [M+H]⁺)

【0262】 實例7-化合物9的合成



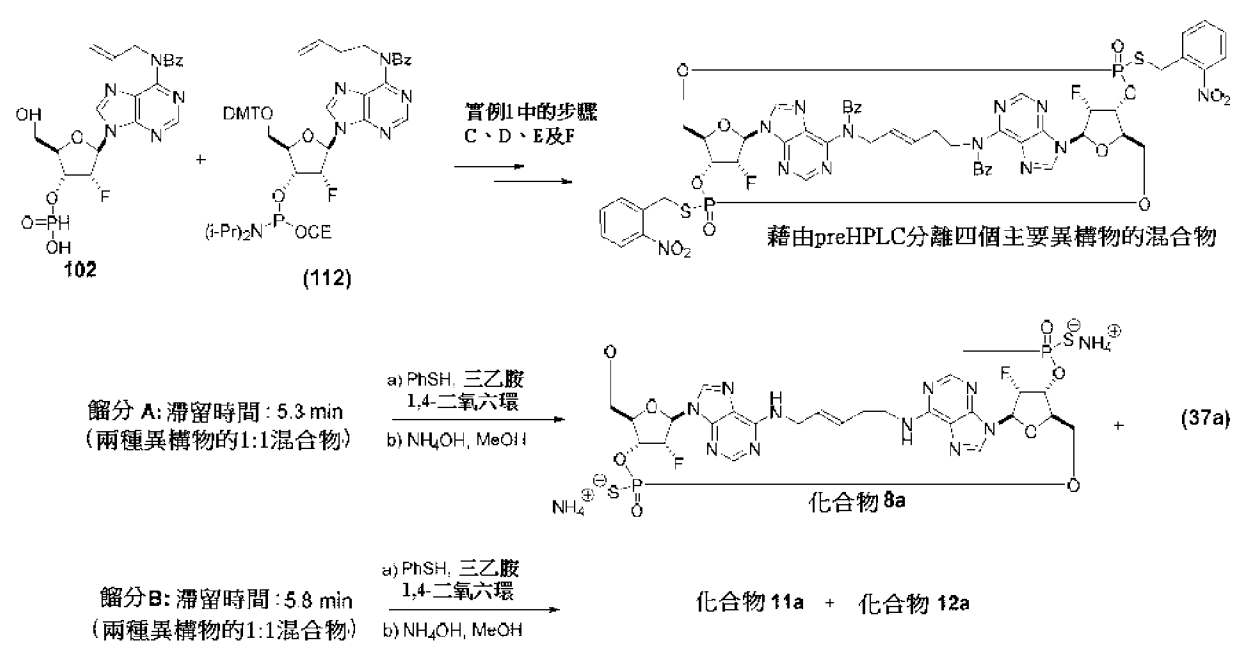
【0263】 對在EtOH (1.5 mL)中的107(3.7 mg, 3.02 μ mol)之溶液加入氫氧化銨 (1 mL)。所得到的混合物於50 °C加熱8小時並冷卻至室溫。在減壓下移除溶劑。殘餘物以2 mL的水處理並濾除所得到的固體。濾液經過製備級HPLC而得化合物9a(2.5 mg)。

【0264】 化合物9a: ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.67 (br s, 1H)、8.50 (br s, 1H)、8.25 (br s, 1H)、8.12 (br s, 1H)、6.47 - 6.28 (m, 2H)、5.92 - 5.79 (m, 2H)、5.74 (d, J = 50.8 Hz, 1H)、5.32 (d, J = 52.4 Hz, 1H)、5.16 - 4.95 (m, 2H)、4.71 - 4.25 (m, 6H)、4.17 - 3.97 (m, 2H)、3.83 - 3.61 (m, 2H)。

【0265】 LCMS: MS m/z 715.2 [M+H]⁺

【0266】 實例8-化合物8a、11a及12a的合成路徑

【0267】 以化合物112及化合物102作為起始材料, 經由如實例1所描述之相同的反應順序製備化合物8、11及12。



【0268】 用於馏分A及B的製備級HPLC的條件

儀器		Agilent 1200					
HPLC 管柱		Waters Sunfire Prep C18 OBD column, 5 μ m, 19 x 100 mm, #186002567					
流速		20 ml/min					
移動相		A：水，B：乙腈					
梯度	時間 (分鐘)	0	8	9.9	10	11	
	B%	40	99	99	40	40	
分析時間		12 min					
注入體積		250 μ l (在乙腈中 0.03 g/ml)					
偵測		UV 254 nm					
滯留時間	馏分 A	5.3 min					
	馏分 B	5.8 min					

【0269】 化合物8a：馏分A進行實例1的步驟G以得到藉由HPLC分離的兩種異構物。化合物8a為運行較快的異構物(滯留時間：4.1分鐘)以及化合物37a為運行較慢的異構物。

【0270】 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ = 9.01 (s, 1H)、8.61 (s, 1H)、8.22 (s, 1H)、8.20 (s, 1H)、6.34 (d, J = 10.2 Hz, 1H)、6.31 (d, J = 10.9 Hz, 1H)、5.92 (dd, J = 2.7, 51.2 Hz, 1H)、5.85 - 5.71 (m, 2H)、5.37 (d, J = 51.6 Hz, 1H)、4.81 - 4.56 (m, 6H)、4.52 (br d, J = 12.1 Hz, 1H)、4.42 (br d, J = 9.4 Hz, 3H)、4.05 (dd, J = 4.1, 11.9

Hz, 1H)、 3.95 (br dd, *J* = 4.3, 12.1 Hz, 1H)、 3.94 - 3.84 (m, 1H)、 3.62 (br dd, *J* = 4.9, 15.4 Hz, 1H)、 2.71 - 2.58 (m, 1H)、 2.46 - 2.33 (m, 1H)。

【0271】 ³¹P NMR (162 MHz, 甲醇-d₄) δ = 55.36 (s, 1P)、 55.18 (s, 1P)

【0272】 LCMS： MS *m/z* 761.2 [M+H]⁺

【0273】 化合物8a的 製備級HPLC條件：

儀器		Agilent 1200/1260 AS/FC
HPLC 管柱		Waters XBridge C18, 10 x 100 mm, # 1413
流速		4.0 ml/min
管柱溫度		35 °C
移動相		A： 在水中 0.1% NH ₄ OH， B： 在乙腈中 0.1% NH ₄ OH
梯度 (B%)		0 → 50
分析時間		20 min
注入體積		50 ul (在水中 4 mg/ml)
偵測		UV 260 nm
滯留時間	化合物 8a	4.1 min
	化合物 37a	4.5 min

【0274】 餾分B經由進行實例1的步驟G以得到藉由如下所述之製備級HPLC分離的兩種異構物。化合物11a為運行較快的異構物(滯留時間：11.2分鐘)以及化合物12a為運行較慢的異構物(滯留時間：12.1分鐘)。

【0275】 化合物11a： ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.63 (br s, 2H)、 8.18 (br s, 1H)、 8.17 (br s, 1H)、 6.34 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H)、 6.32 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H)、 5.86 - 5.65 (m, 2H)、 5.48 (d, *J* = 48.5 Hz, 1H)、 5.35 (d, *J* = 43.8 Hz, 1H)、 4.84 - 4.53 (m, 6H)、 4.47 - 4.36 (m, 2H)、 4.05 - 3.91 (m, 2H)、 3.96 - 3.85 (m, 1H)、 3.70 - 3.54 (m, 1H)、 2.66 - 2.54 (m, 1H)、 2.43 - 2.30 (m, 1H)。

【0276】 化合物12a： ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.56 (br s, 1H)、 8.41 (s, 1H)、 8.17 (s, 1H)、 7.95 (br s, 1H)、 6.35 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H)、 6.31 (d, *J* = 15.2 Hz,

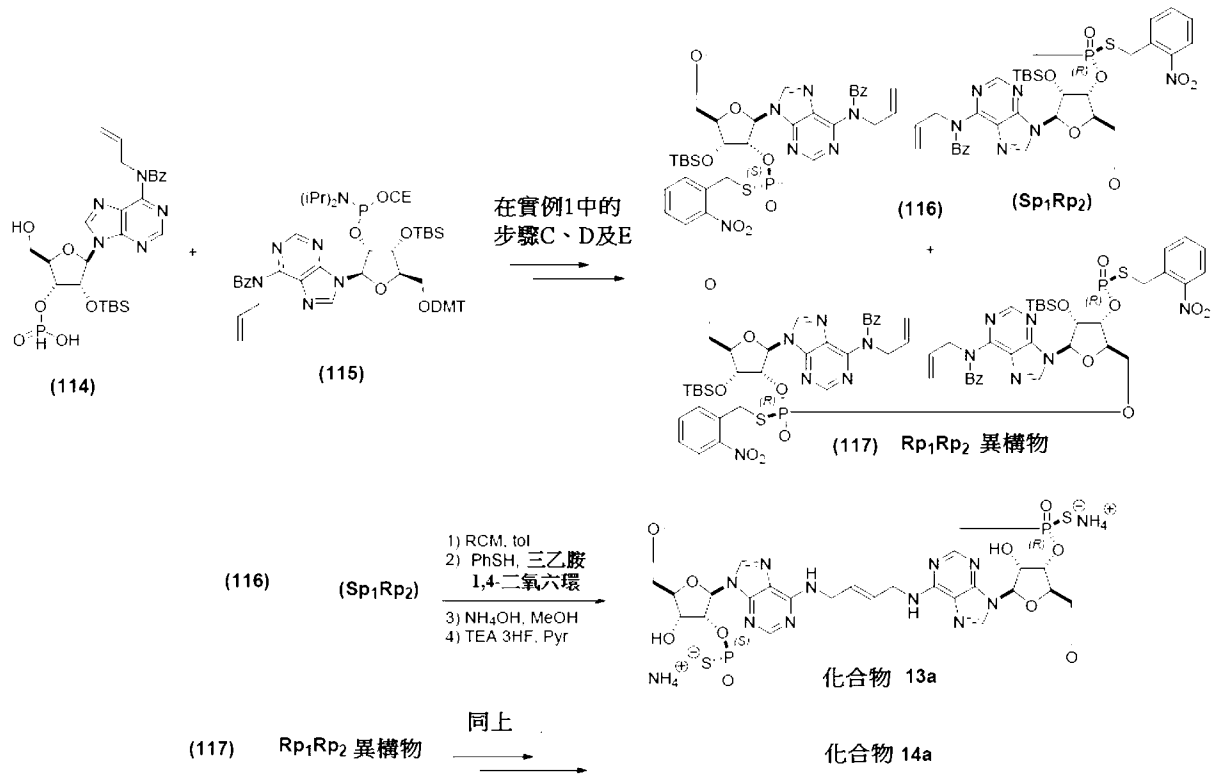
1H)、 5.82 - 5.65 (m, 2H)、 5.50 (d, *J* = 51.2 Hz, 1H)、 5.36 (d, *J* = 53.9 Hz, 1H)、 4.74 - 4.33 (m, 8H)、 4.26 - 4.16 (m, 1H)、 4.07 - 3.93 (m, 3H)、 2.64 - 2.44 (m, 2H)。

【0277】 化合物11a/12a的製備 級HPLC條件：

儀器	Agilent 1200/1260 AS/FC	
HPLC 管柱	Waters Xterra C18, 10 x 100mm # 3128	
流速	3.0 ml/min	
管柱溫度	35 °C	
移動相	A： 在水中的 0.1%甲酸， B： 在乙腈中的 0.1%甲酸	
梯度 (B%)	0 → 30	
分析時間	20 min	
注入體積	50 ul (在水中 2.5 mg/ml)	
偵測	UV 260 nm	
滯留時間	化合物 11a	11.2 min
	化合物 12a	12.1 min

【0278】 實例9-化合物13及14的合成路徑

【0279】 以化合物114及化合物115作為起始材料，化合物13及14經由與實例1所描述의相同反應順序加上TBS去保護化(deprotection)步驟製得。



【0280】 化合物116： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 9.36 (s, 1H)、9.18 (s, 1H)、8.77 (s, 1H)、8.76 (s, 2H)、8.07 (br dd, J = 1.8, 7.6 Hz, 3H)、8.05 - 8.00 (m, 2H)、7.99 (s, 1H)、7.87 - 7.82 (m, 1H)、7.70 - 7.65 (m, 1H)、7.63 - 7.55 (m, 3H)、7.55 - 7.41 (m, 6H)、7.39 - 7.35 (m, 1H)、7.30 - 7.26 (m, 1H)、6.37 (d, J = 8.6 Hz, 1H)、5.89 (d, J = 4.7 Hz, 1H)、5.36 - 5.27 (m, 2H)、5.15 (ddd, J = 3.7, 8.4, 11.7 Hz, 1H)、4.54 (br d, J = 3.9 Hz, 3H)、4.46 - 4.43 (m, 1H)、4.43 - 4.38 (m, 1H)、4.37 - 4.30 (m, 1H)、4.23 - 4.13 (m, 2H)、4.11 - 3.98 (m, 2H)、3.97 - 3.86 (m, 1H)、0.97 (s, 9H)、0.83 (s, 9H)、0.25 (s, 3H)、0.18 (s, 3H)、0.16 (s, 3H)、-0.13 (s, 3H)。

【0281】 化合物13a： ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ = 8.78 (br s, 1H)、8.47 (br s, 1H)、8.21 (br s, 1H)、8.08 (br s, 1H)、6.44 - 6.21 (m, 1H)、6.19 - 6.03 (m, 1H)、6.01 - 5.78 (m, 2H)、5.38 - 4.95 (m, 2H)、4.67 - 4.45 (m, 5H)、4.45 - 4.35 (m, 1H)、4.34 - 4.29 (m, 1H)、4.25 (br d, J = 11.3 Hz, 1H)、4.18 - 3.89 (m, 2H)、3.88 - 3.54 (m, 2H)。

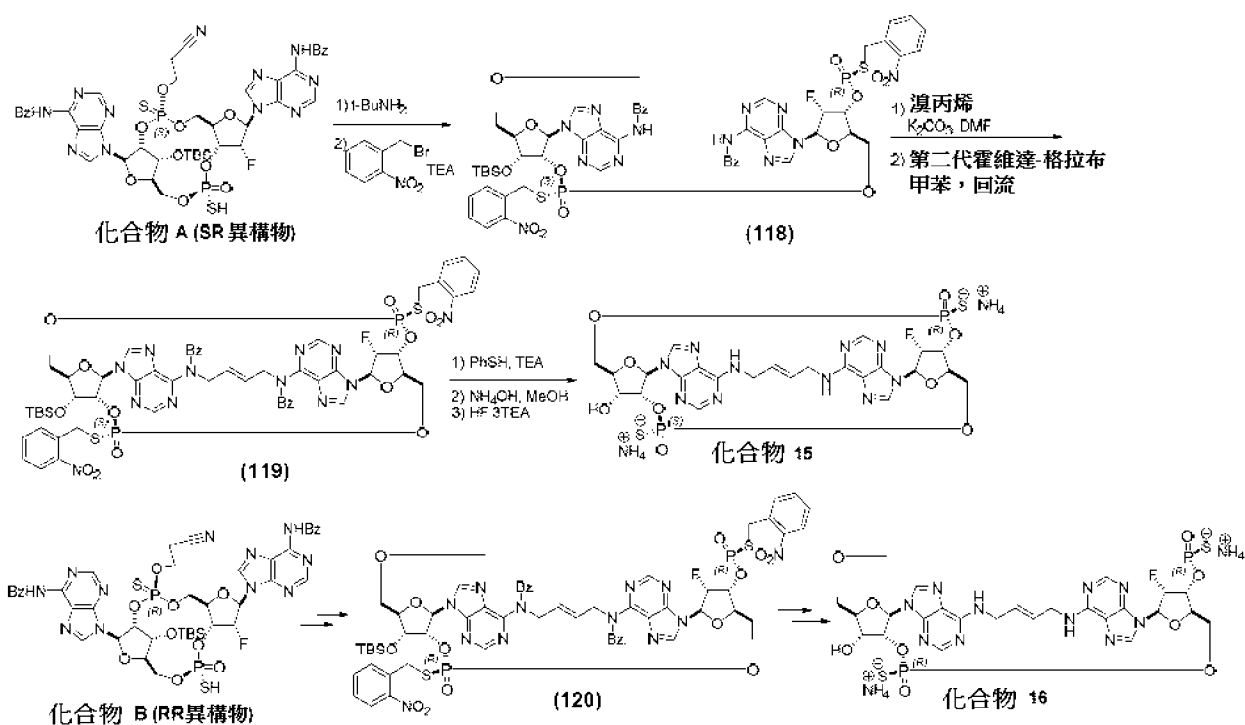
【0282】 ^{31}P NMR (162 MHz, 甲醇- d_4) δ = 56.89 (br s, 1P), 56.37 (br s, 1P)。

【0283】 化合物117(化合物116的 Rp_1Rp_2 異構物)： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 9.36 (br s, 1H)、9.11 (br s, 1H)、8.98 (s, 1H)、8.87 (s, 1H)、8.78 (s, 1H)、8.14 - 7.96 (m, 6H)、7.72 - 7.27 (m, 13H)、6.44 (d, J = 8.6 Hz, 1H)、5.84 (d, J = 6.6 Hz, 2H)、5.59 - 5.50 (m, 1H)、5.48 - 5.44 (m, 1H)、5.33 - 5.24 (m, 1H)、4.75 - 3.85 (m, 11H)、0.90 (s, 9H)、0.79 (s, 9H)、0.20 (s, 3H)、0.11 (s, 3H)、0.07 (s, 3H)、-0.21 (s, 3H)。

【0284】 化合物14a (化合物13a的 Rp_1Rp_2 異構物)

【0285】 LCMS：MS m/z 43.17 $[\text{M}+\text{H}]^+$

【0286】 實例10-化合物15及16的合成路徑



【0287】 對在MeCN (26.3 ml)中的化合物A(2.63 g, 2.46 mmol)的溶液加入叔丁胺(13.15 ml, 124.1 mmol)。在室溫下攪拌1小時之後，反應混合物在真空下濃縮並與MeCN共沸。殘餘物溶解於MeCN(52.6 ml)中並以1-(溴甲基)-2-硝基苯(1-(bromomethyl)-2-nitrobenzene)(1.064 g, 4.925 mmol)及三乙胺(0.755 ml, 5.42 mmol)處理。在反應完成之後(藉由LC/MS監測)，反應混合物在真空下濃縮，並藉由矽膠管柱層析純化(66%乙酸乙酯/正庚烷至 100% 乙酸乙酯)以得到0.226 g的化合物118。分離的產物溶解於DMF(5 mL)並加入溴丙烯(allyl bromide) (0.046 ml, 0.528 mmol)及碳酸鉀(potassium carbonate) (0.073 g, 0.528 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測過程。19小時之後，加入MTBE/EtOAc (12/12 mL)1/1的混合物、飽和 NH_4Cl 水溶液(15 ml)及水(10 mL)。將有機層倒出，以鹽水(5 mL)洗滌兩次，以 MgSO_4 乾燥並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(50% 乙酸乙酯/正庚烷至 100% 乙酸乙酯)以得到37 mg的二烯丙基化

(bis-allylated)產物。分離的產物(37 mg, 0.027 mmol)溶解於甲苯(55 mL)中並加熱至輕度回流 (120-125°C油浴)。加入第二代霍維達-格拉布催化劑(Hoveyda-Grubbs Catalyst 2nd Generation) (1,3-雙-(2,4,6-三甲苯基)-2-亞咪唑啉基) 二氯(鄰-異丙氧基苯基亞甲基) 鈦；可取得於 SIGMA-ALDRITCH® Catalog No. 569755；CAS 301224-40-8; 8.5 mg, 0.014 mmol)及在甲苯(10 mL)中的醌(quinone)(5.9 mg, 0.054 mmol)之溶液。混合物加熱至回流且藉由LC/MS監測過程。起始材料消耗完成之後，混合物冷卻至室溫並以DMSO(0.059 ml, 0.81 mmol)處理15小時。所得到的混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 10g,在正庚烷中66%乙酸乙酯至100 % 乙酸乙酯)以得到化合物119 (2.2 mg)。

【0288】 化合物119：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.49 (s, 1H)、8.12 (d, J = 7.8 Hz, 1H)、8.05 - 8.02 (m, 1H)、8.02 (s, 1H)、7.84 - 7.80 (m, 1H)、7.70 - 7.10 (m, 17H)、6.27 (d, J = 16.8 Hz, 1H)、6.15 - 6.05 (m, 1H)、5.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H)、5.94 - 5.72 (m, 3H)、4.94 (br s, 2H)、4.86 - 4.69 (m, 2H)、4.67 - 4.60 (m, 1H)、4.60 - 4.44 (m, 4H)、4.39 - 4.33 (m, 1H)、4.31 - 4.10 (m, 6H)、0.96 (s, 9H)、0.25 (s, 3H)、0.19 (s, 3H)。

【0289】 化合物119進行實例1的步驟G之過程，然後以TEA 3HF進行TBS去保護化已得到化合物15a。

【0290】 化合物15a：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.76 (br s, 1H)、8.44 (br s, 1H)、8.24 (br s, 1H)、8.07 (br s, 1H)、6.45 - 6.19 (m, 2H)、6.12 - 5.75 (m, 2H)、5.54 (br d, J = 51.6 Hz, 1H)、5.67 - 5.06 (m, 2H)、4.66 - 4.37 (m, 3H)、4.47 - 4.37 (m, 1H)、4.36 - 4.22 (m, 2H)、4.17 - 3.94 (m, 2H)、3.94 - 3.80 (m, 1H) 3.80 - 3.59 (m, 2H)。

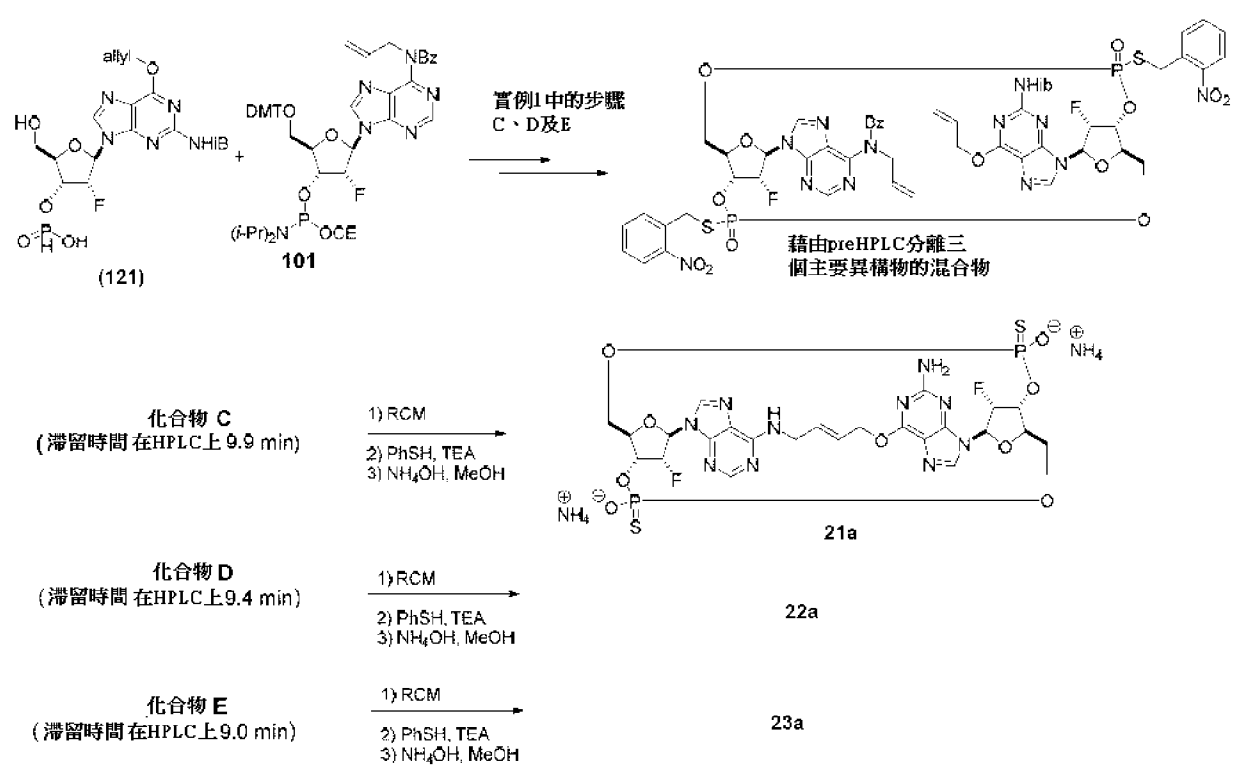
【0291】 化合物16從化合物B(化合物A的RR異構物)經由化合物15中所描述的相同順序而得。

【0292】 化合物120(化合物119的Rp₁Rp₂異構物)：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.89 (s, 1H)、8.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H)、8.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H)、7.85 - 7.74 (m, 4H)、7.69 - 7.61 (m, 2H)、7.58 (s, 1H)、7.55 - 7.48 (m, 1H)、7.45 - 7.30 (m, 6H)、7.22 - 7.15 (m, 1H)、7.13 - 7.04 (m, 1H)、6.76 - 6.68 (m, 1H)、6.31 - 6.22 (m, 1H)、6.22 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H)、6.12 - 5.99 (m, 2H)、5.94 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H)、5.92 - 5.81 (m, 1H)、5.67 (dd, *J* = 3.5, 51.2 Hz, 1H)、5.08 - 4.93 (m, 2H)、4.87 - 4.77 (m, 1H)、4.60 - 4.22 (m, 8H)、4.21 - 4.16 (m, 1H)、4.11 - 4.02 (m, 1H)、3.94 (br d, *J* = 11.7 Hz, 1H)、3.66 (dd, *J* = 4.7, 11.3 Hz, 1H)、0.90 (s, 9H)、0.09 (s, 3H), 0.08 (s, 3H)。

【0293】 化合物16a：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.54 (br s, 1H)、8.24 (br s, 1H)、8.17 (br s, 1H)、8.08 (br s, 1H)、6.44 - 6.23 (m, 2H)、6.07 - 5.68 (m, 2H)、5.43 (d, *J* = 50.4 Hz, 1H)、5.31 - 5.05 (m, 2H)、4.69 - 4.26 (m, 6H)、4.19 - 3.90 (m, 2H)、3.90 - 3.57 (m, 3H)。

【0294】 實例11- 化合物腺嘌呤/鳥嘌呤(A/G)類似物(Adenine/Guanine analogs)-化合物21、化合物22及化合物23的合成路徑

【0295】 以化合物121及化合物101作為起始材料，腺嘌呤/鳥嘌呤類似物經由實例1中所描述的相同反應順序製備。



【0296】 用於分離化合物 C、D 及 E 的製備級 HPLC 條件：

儀器		Agilent 1100				
HPLC 管柱		Waters Sunfire Prep C18 OBD column, 5 um, 19 x 100 mm, #186002567				
流速		12 ml/min				
移動相		A：水， B：乙腈				
梯度	時間 (min)	0	13	14.5	14.51	16
	B%	40	99	99	40	40
分析時間		16 min				
注入體積		150 ul (在乙腈中 0.027 g/ml)				
偵測		UV 254 nm				
滯留時間	化合物 C	9.9 min				
	化合物 D	9.4 min				
	化合物 E	9.0 min				

【0297】 化合物D: ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.60 (s, 1H)、8.27 (s, 1H)、8.04 - 8.01 (m, 1H)、8.01 (s, 1H)、7.99 - 7.95 (m, 1H) 7.80 (s, 1H), 7.63 - 7.51 (m, 5H), 7.46 - 7.41 (m, 1H), 7.39 - 7.30 (m, 3H), 7.25 - 7.20 (m, 2H)、6.96 - 6.84 (m, 1H)、6.19 - 5.99 (m, 4H)、5.67 (dd, J = 4.3, 52.3 Hz, 1H)、5.47 (dd, J = 1.4, 17.4 Hz, 1H)、5.36 - 5.24 (m, 4H)、5.14 - 5.09 (m, 1H)、5.08 (d, J = 5.5 Hz, 2H)、5.04 - 4.98 (m, 2H)、

4.51 - 4.30 (m, 10H)、4.21 - 4.13 (m, 1H)、2.83 - 2.67 (m, 1H)、1.16 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H)、1.14 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H)。

【0298】化合物D經由實例1的步驟F及G以得到化合物22

【0299】化合物22：LCMS：MS m/z 763.07 $[M+H]^+$

【0300】化合物C： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) $\delta = 9.08$ (s, 1H)、8.60 (s, 1H)、8.07 - 8.02 (m, 2H)、8.02 (s, 1H)、7.80 (s, 1H)、7.55 - 7.30 (m, 9H)、7.24 - 7.19 (m, 2H)、6.58 - 6.45 (m, 1H)、6.23 - 5.97 (m, 4H)、5.97 - 5.86 (m, 1H)、5.63 - 5.57 (m, 1H)、5.54 - 5.47 (m, 1H)、5.48 - 5.44 (m, 1H)、5.35 - 5.30 (m, 1H)、5.29 - 5.22 (m, 1H)、5.18 - 5.13 (m, 2H)、5.11 - 5.07 (m, 1H)、5.02 - 4.97 (m, 2H)、4.51 - 4.22 (m, 9H)、4.14 - 4.07 (m, 1H)、2.99 - 2.85 (m, 1H)、1.20 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H)、1.17 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H)。

【0301】化合物C經由實例1的步驟F及G以得到化合物21

【0302】化合物21：LCMS: MS m/z 763.13 $[M+H]^+$

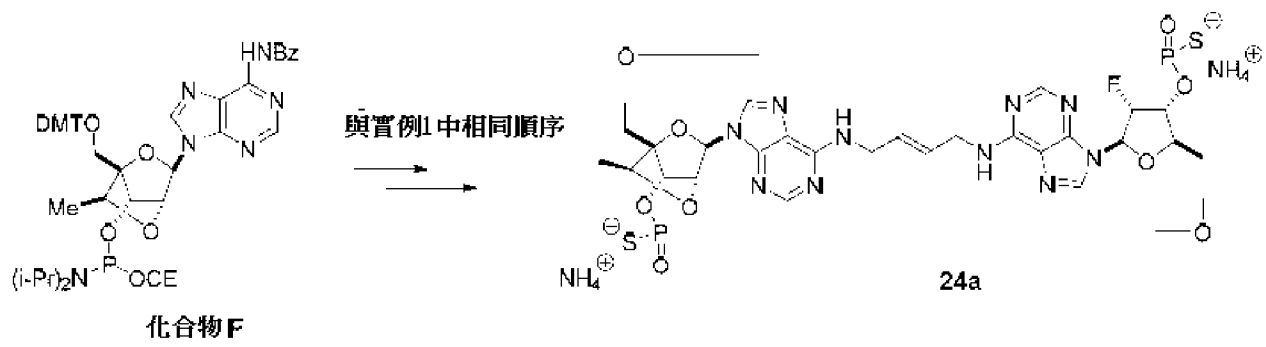
【0303】化合物E： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) $\delta = 8.99$ (s, 1H)、8.57 (s, 1H)、8.02 - 7.94 (m, 2H)、7.93 - 7.92 (m, 1H)、7.82 (s, 1H)、7.68 - 7.63 (m, 1H)、7.60 - 7.55 (m, 1H)、7.54 - 7.49 (m, 2H)、7.45 - 7.31 (m, 5H)、7.25 - 7.21 (m, 2H)、6.22 - 5.94 (m, 6H)、5.56 (br dd, $J = 5.1, 51.5$ Hz, 1H)、5.54 - 5.46 (m, 1H)、5.34 - 5.29 (m, 1H)、5.29 - 5.22 (m, 2H)、5.16 - 5.08 (m, 3H)、5.02 - 4.96 (m, 2H)、4.62 - 4.54 (m, 1H)、4.52 - 4.26 (m, 9H)、2.93 - 2.81 (m, 1H)、1.21 (d, $J = 2.3$ Hz, 3H)、1.20 (d, $J = 2.0$ Hz, 3H)。

【0304】化合物E經由實例1的步驟F及G以得到化合物23

【0305】化合物23：LCMS：MS m/z 763.18 $[M+H]^+$

【0306】 實例12-化合物24的合成

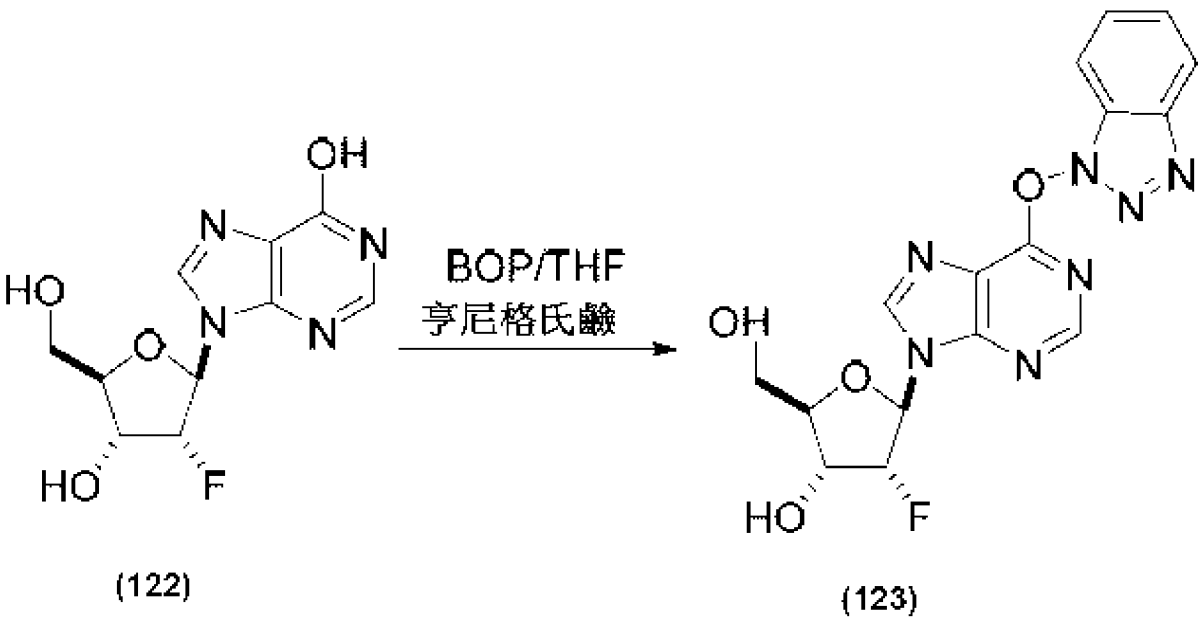
【0307】 化合物24a以化合物F經由與實例1中所描述之相同反應順序製備。



【0308】 化合物24：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.95 (br s, 1H)、8.29 (br s, 1H)、8.23 (br s, 1H)、8.08 (br s, 1H)、6.31 (br d, *J* = 12.9 Hz, 4H)、6.23 - 6.07 (m, 1H)、6.04 - 5.84 (m, 2H)、5.71 (br d, *J* = 50.8 Hz, 1H)、5.27 - 4.32 (m, 7H)、4.27 - 4.16 (m, 1H)、4.12 (dd, *J* = 5.7, 11.9 Hz, 1H)、4.07 - 3.98 (m, 1H)、3.78 - 3.62 (m, 2H)、1.40 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H)。

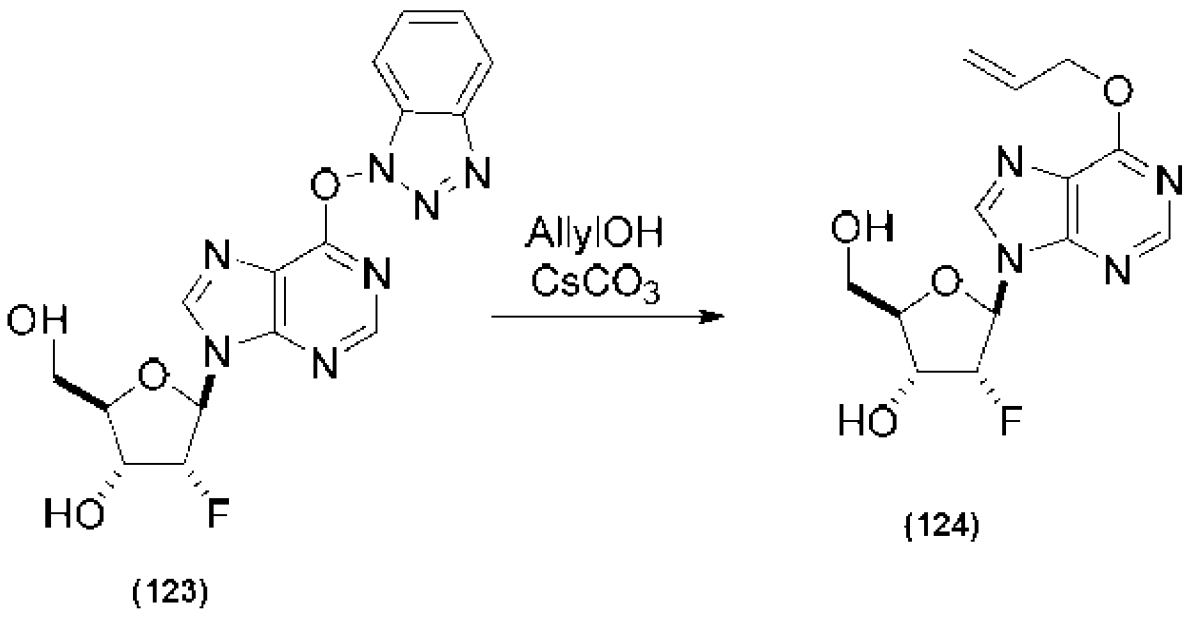
【0309】 實例13-化合物18、化合物19及化合物20及化合物21的合成

【0310】 此合成的路徑繪示於第3圖。



【0311】 在20 °C下對在DMF (1 ml, 12.915 mmol)中9-((2R,3R,4R,5R)-3-氟基 -4- 羥基 -5-(羥 甲 基) 四 氫 呋 喃 -2- 基)-9H- 嘌 呤 -6- 醇 (9-((2R,3R,4R,5R)-3-fluoro-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-9H-purin-6-ol)(100 mg, .37 mmol)及亨尼格氏鹼(Hunig'sBase) (0.129 ml, .74 mmol)的溶液加入BOP (327 mg, .74 mmol) 。混合物在20 °C下攪拌整夜。UPLC-MS表示反應的完成。在高真空旋轉蒸發器(highvac rotavapor)移除溶劑。殘餘物溶解於DCM中並使用Biotage純化(24 g 矽膠管柱, 在庚烷中的EtOAc = 0 至100%, 10 vol, 100%, 10 vol)以得到105 mg的BOP加成物，產率為73%。

【0312】 ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*₄) δ ppm 3.74 - 3.84 (m, 1 H) 3.92 - 4.00 (m, 1 H) 4.12 - 4.19 (m, 1 H) 4.62 - 4.74 (m, 1 H) 5.37 - 5.57 (m, 1 H) 6.41 - 6.52 (m, 1 H) 7.47 - 7.55 (m, 1 H) 7.57 - 7.64 (m, 2 H) 8.03 - 8.14 (m, 1 H) 8.36 - 8.46 (m, 1 H) 8.86 (s, 1 H) 。

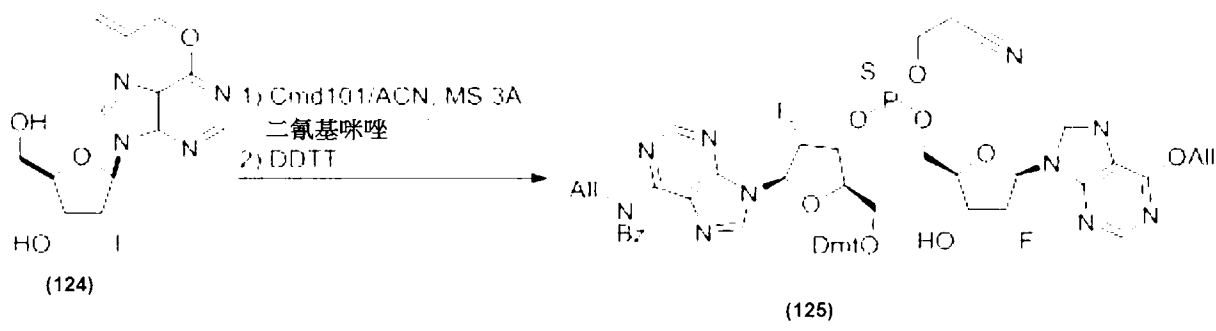


【0313】 在 20 °C 下 對 在 烯 丙 醇 (3 ml, 44.112 mmol) 中 (2R,3R,4R,5R)-5-(6-((1H-苯并[d][1,2,3] 三唑-1-基) 氧基)-9H-嘌呤-9-基)-4-氟基

-2-(羥 甲 基) 四 氫 呋 喃 -3- 醇

((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(((1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)oxy)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol)(135 mg, .349 mmol)的溶液加入碳酸銣 (cesium carbonate)(500 mg, 1.535 mmol)。混合物在20 °C下攪拌1小時。UPLC-MS 表示反應的完成。反應以飽和NaHCO3/鹽水處理並以EtOAc/Hept萃取。有機層以 Na₂SO₄乾燥並過濾。在濾液中的溶劑與揮發性有機物在旋轉蒸發器上移除。殘餘物使用Biotage純化(12 g 矽膠管柱，在庚烷中的EtOAc =0至100 %, 10 vol, 100%, 10 vol)以得到100 mg 所期望的烯丙基加成物，產率為92%。

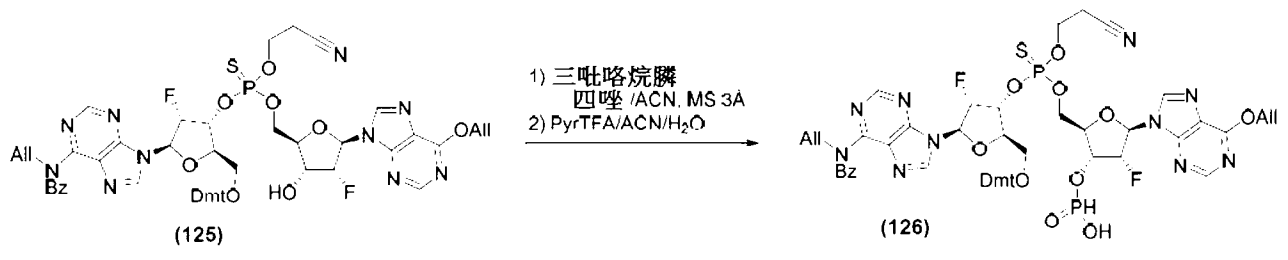
【0314】 ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-*d*₄) δ ppm 8.56 (s, 1 H) 8.47 (s, 1 H) 6.29 - 6.41 (m, 1 H) 6.06 - 6.21 (m, 1 H) 5.33 - 5.53 (m, 2 H) 5.22 - 5.31 (m, 1 H) 5.02 - 5.14 (m, 2 H) 4.56 - 4.71 (m, 1 H) 4.10 - 4.18 (m, 1 H) 3.88 - 3.96 (m, 1 H) 3.70 - 3.79 (m, 1 H)。



【0315】 在20 °C下對在乙腈(1069 μl, 20.47 mmol)中二異丙基亞磷醯胺 (diisopropylphosphoramidite)(150 mg, .164 mmol)及 ((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(烯丙氧基)-9H- 嘌呤 -9- 基)-4- 氟 基 -2-(羥 甲 基) 四 氫 呋 喃 -3- 醇 ((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(allyloxy)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-2-(hydroxymethyl)tetrahydr ofuran-3-ol) (76 mg, .246 mmol)的溶液加入分子篩(3 A, 150 mg)。在室溫下加入1H- 咪唑-4,5- 二甲腈(1H- imidazole -4,5-dicarbonitrile)(38.7 mg, .328 mmol)之前，在20

°C下攪拌混合物1小時。混合物在室溫下攪拌1小時。UPLC-MS表示反應的完成。加入 (E)-N,N- 二 甲 基 -N'-(3- 硫 代 -3H-1,2,4- 二 噻 唑 -5- 基) 甲 脒 ((E)-N,N-dimethyl-N'-(3-thioxo-3H-1,2,4-dithiazol-5-yl)formimidamide)(37.0 mg, .18 mmol)。UPLC-MS表示硫化反應在30分鐘內完成。反應以飽和NaHCO₃/鹽水處理並以EtOAc/Hept萃取。有機層以Na₂SO₄乾燥並過濾。在濾液中的溶劑與揮發性有機物在旋轉蒸發器上移除。殘餘物使用Biotage純化(25 g矽膠管柱，在庚烷中的EtOAc =0 至 100%, 15 vol, 100%, 10 vol)。

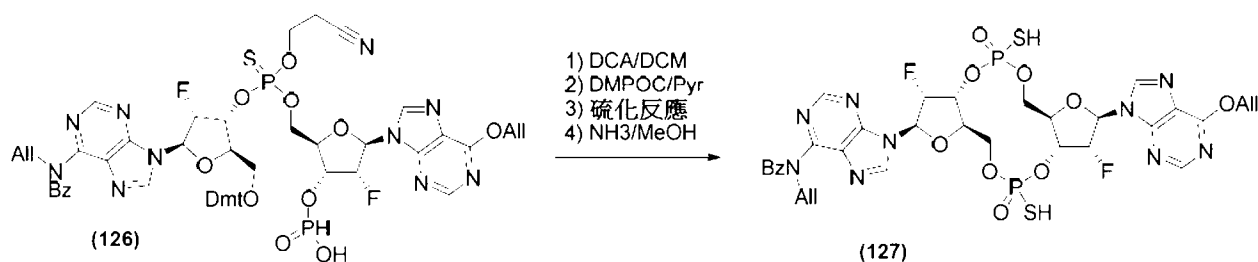
【0316】 ¹H NMR (500 MHz, 甲醇-d₄, 兩非鏡像異構物 ~1 : 1) δ ppm 8.62 - 8.63 (m, 1 H) 8.57 - 8.58 (m, 1 H) 8.48 - 8.50 (m, 1 H) 8.44 - 8.46 (m, 1 H) 8.40 - 8.41 (m, 1 H) 8.38 - 8.39 (m, 1 H) 8.33 - 8.35 (m, 1 H) 8.25 - 8.27 (m, 1 H) 7.22 - 7.33 (m, 11 H) 7.11 - 7.20 (m, 17 H) 7.05 - 7.11 (m, 4 H) 6.83 - 6.92 (m, 6 H) 6.65 - 6.77 (m, 11 H) 6.28 - 6.41 (m, 5 H) 6.23 - 6.28 (m, 2 H) 6.10 - 6.22 (m, 5 H) 6.00 - 6.10 (m, 4 H) 5.89 - 6.00 (m, 5 H) 5.52 - 5.57 (m, 2 H) 5.45 - 5.52 (m, 3 H) 5.41 - 5.45 (m, 1 H) 5.24 - 5.34 (m, 4 H) 5.13 - 5.17 (m, 3 H) 5.07 - 5.12 (m, 5 H) 4.93 - 4.98 (m, 4 H) 4.88 - 4.93 (m, 5 H) 4.73 - 4.82 (m, 3 H) 4.50 - 4.59 (m, 2 H) 4.36 - 4.48 (m, 4 H) 4.27 - 4.36 (m, 5 H) 4.16 - 4.27 (m, 5 H) 3.83 - 4.04 (m, 5 H) 3.73 - 3.78 (m, 13 H) 3.64 - 3.73 (m, 4 H) 3.52 - 3.58 (m, 1 H) 3.45 - 3.51 (m, 2 H) 3.35 - 3.41 (m, 2 H) 3.16 - 3.23 (m, 2 H) 3.08 - 3.15 (m, 2 H) 2.84 - 2.93 (m, 2 H) 2.79 - 2.83 (m, 2 H) 2.70 - 2.77 (m, 2 H) 2.61 - 2.69 (m, 3 H)。



【0317】在 20 °C 下對在乙腈 (4171 μ l, 79.852 mmol) 中鄰-((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(N-烯丙基苄醯胺基)-9H-嘌呤-9-基)-2-((雙(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟基四氫呋喃-3-基)鄰-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(烯丙氧基)-9H-嘌呤-9-基)-4-氟基-3-羥基四氫呋喃-2-基)甲基)鄰-(2-氰基乙基)硫代磷酸酯

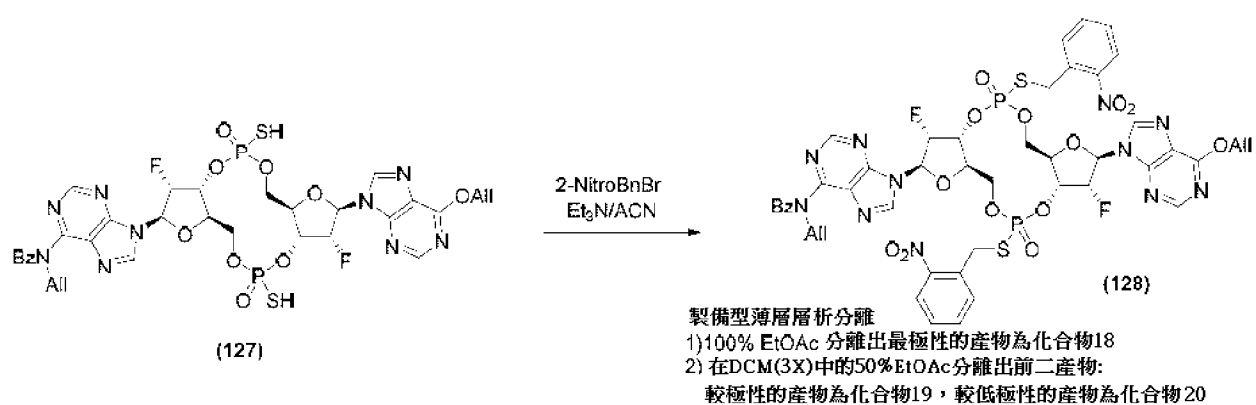
(O-((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(N-allylbenzamido)-9H-purin-9-yl)-2-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-fluorotetrahydrofuran-3-yl)

O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-(allyloxy)-9H-purin-9-yl)-4-fluoro-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)methyl) O-(2-cyanoethyl) phosphorothioate)(120 mg, .104 mmol)的溶液加入分子篩(3A, 1 wt)。在加入三吡咯烷膦(tripyrrolidinophosphine) (71.6 μ l, .311 mmol)之前，在20 °C下攪拌混合物1小時。然後分成7個部分每間隔2分鐘加入在ACN (253 μ l, .114 mmol)中的0.45 M四唑(Tetrazole)。TLC(EtOAc/Hept=2 : 1, RfSM=0.7, RfProd=0.0至0.6)係為不完整的。加入2X的磷酸化單體試劑及四唑。反應混合物在室溫下攪拌10分鐘。UPLC-MS或TLC皆沒有表示出任何SM的殘留。將反應混合物轉移到含有乙腈(2.08E+04 μ l, 398.533 mmol)、水(104 μ l, 5.776 mmol)及吡啶三氟醋酸鹽(421 mg, 2.178 mmol)的燒瓶中。混合物攪拌10分鐘。UPLC-MS表示出所期望的產物形成。反應混合物與EtOAc混合並以HCl [0.1N]/鹽水洗滌，然後以飽和NaHCO₃/鹽水洗滌以避免DMT去保護化。水層以EtOAc (1X)反萃取。合併的有機層以Na₂SO₄乾燥之後過濾。在濾液中的溶劑及揮發物在旋轉蒸發器上移除以得到不經純化即用於下一個步驟的粗產物。



【0318】 在20 °C下在加入DCM (2635 μ l, 40.946 mmol)中的二氯乙酸 (135 μ l, 1.638 mmol)之前將粗製磷酸酯氫(hydrogen phosphonate)中間物溶於DCM (2635 μ l, 40.946 mmol) 及水(29.5 μ l, 1.638 mmol)中。混合物在20 °C下攪拌5分鐘。UPLC-MS表示出反應的完成。反應以吡啶(510 μ l, 6.308 mmol)中和。揮發物在旋轉蒸發器上以及之後到高真空旋轉蒸發器移除。在用於環化之前，殘餘物以吡啶再次共沸。

【0319】 在室溫下加入2-氯基-5,5-二甲基-1,3,2-二氧磷雜環己烷 2-氧化物 (48.2 mg, .261 mmol)之前將粗製DMT去保護的磷酸酯氫(80 mg, .087 mmol)溶於吡啶(1831 μ l, 22.639 mmol)中。混合物在室溫下攪拌10分鐘。UPLC(aaC18_5至99_4min)顯示在2.1分鐘時沒有SM峰值。藉由加入水(47.1 μ l, 2.612 mmol)，然後立即加入3H-苯并[c][1,2] 二硫醇-3-酮(21.97 mg, .131 mmol)將反應淬滅。10分鐘之後，UPLC(aaC18_5至99_4min)顯示沒有剩餘的起始材料。反應在室溫下攪拌1小時。在UPLC-MS沒有發現改變。反應混合物以EtOAc稀釋並以飽和NaHCO₃ 及鹽水洗滌。有機層在過濾之前以Na₂SO₄乾燥。在加入NH₃-H₂O之前，溶劑蒸發之後的殘餘物溶解於MeOH。在所有溶劑以及揮發物於旋轉蒸發器及高真空旋轉蒸發器上移除之前，混合物攪拌5分鐘。



【0320】 在20 °C下在TEA (39.6 μl, .284 mmol)及1-(溴甲基)-2-硝基苯 (1-(bromomethyl)-2-nitrobenzene)(49.1 mg, .227 mmol)加入之前將CDN中間物溶於乙腈(1484 μl, 28.417 mmol)及1,4-二氧六環(1,4-dioxane)(496 μl, 5.797 mmol)。混合物在20 °C下攪拌16小時。UPLC-MS指出反應不完全。TLC (EtOAc)或HPLC 皆未指出任何剩餘的鄰-硝基溴化苄(o-nitrobenzyl bromide)。加入1-(溴甲基)-2-硝基苯 (1-(bromomethyl)-2-nitrobenzene)(49.1 mg, .227 mmol) 及 TEA(39.6 μl, .284 mmol)。反應攪拌5個小時。反應以飽和NaHCO₃/鹽水處理並以EtOAc/Hept萃取。有機層以Na₂SO₄乾燥並過濾。濾液中的溶劑與揮發性有機物在旋轉蒸發器上移除。殘餘物使用Biotage純化(12 g 矽膠管柱, 在庚烷中的 EtOAc =0 至 100%, 15 vol, 100%, 10 vol, 在EtOAc中的 10% MeOH, 6 vol)。合併包含所期望產物的餾分。溶劑蒸發以得到期望的產物。用製備型薄層層析(Prep-TLC)分離出最極性的異構物, 其導致最終產物化合物18。其他兩種異構物使用p-TLC (EtOAc/DCM=1 : 1, 運行3次)分離。較極性的異構物轉化成化合物19, 以及較低極性的異構物轉化成化合物20。

【0321】 來自於第一次p-TLC (EtOAc)的最極性產物, 稱為化合物18: ¹H NMR (500 MHz, 氯仿-*d*) δ ppm 8.62 (s, 1 H) 8.55 (s, 1 H) 8.00 - 8.07 (m, 2 H) 7.99 (s, 1 H) 7.96 (s, 1 H) 7.56 - 7.64 (m, 2 H) 7.48 - 7.56 (m, 3 H) 7.42 - 7.48 (m, 1 H) 7.34 -

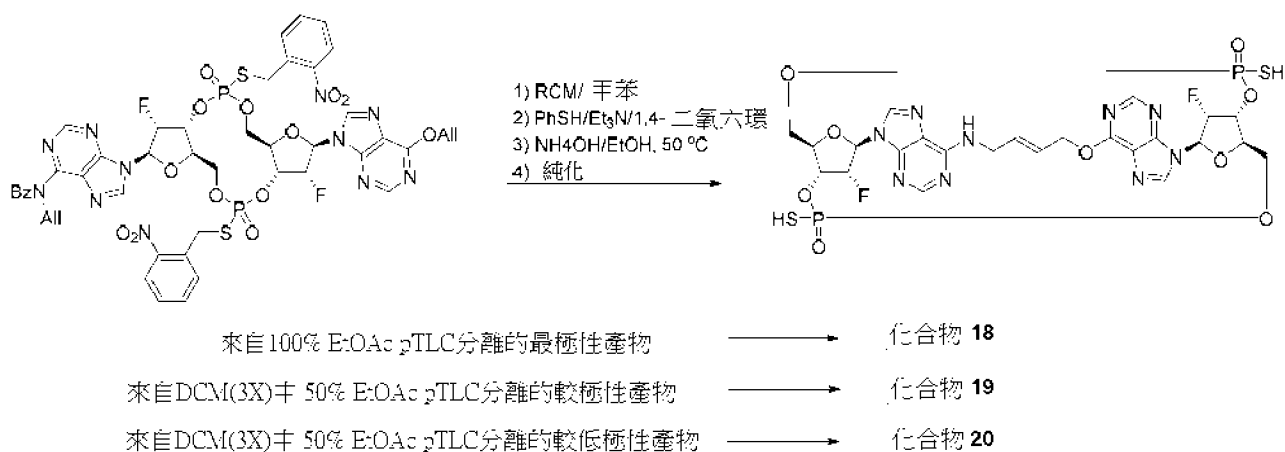
7.42 (m, 2 H) 7.29 - 7.34 (m, 1 H) 7.18 - 7.25 (m, 2 H) 6.09 - 6.21 (m, 3 H) 5.98 - 6.09 (m, 2 H) 5.63 - 5.75 (m, 1 H) 5.52 - 5.63 (m, 1 H) 5.42 - 5.51 (m, 2 H) 5.32 (dd, $J=10.27$, 0.98 Hz, 1 H) 5.27 (dd, $J=17.12$, 1.47 Hz, 1 H) 5.13 (d, $J=5.87$ Hz, 2 H) 5.09 - 5.12 (m, 1 H) 4.95 - 5.05 (m, 2 H) 4.36 - 4.54 (m, 7 H) 4.23 - 4.31 (m, 2 H) 4.15 - 4.21 (m, 1 H)。

【0322】來自於第二次 p-TLC 的較極性產物，稱為化合物 19：

(EtOAc/DCM=1 : 1, 3X) ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 8.75 (s, 1 H) 8.59 (s, 1 H) 8.43 (s, 1 H) 8.39 (s, 1 H) 8.01 - 8.07 (m, 2 H) 7.38 - 7.56 (m, 7 H) 7.27 - 7.35 (m, 1 H) 7.15 - 7.26 (m, 3 H) 6.45 (d, $J=19.91$ Hz, 1 H) 6.38 (d, $J=19.52$ Hz, 1 H) 5.95 - 6.26 (m, 4 H) 5.83 (dd, $J=51.54$, 4.69 Hz, 1 H) 5.73 (dd, $J=51.54$, 4.69 Hz, 1 H) 5.46 - 5.57 (m, 1 H) 5.28 - 5.36 (m, 1 H) 5.19 - 5.28 (m, 1 H) 5.16 (dt, $J=5.56$, 1.51 Hz, 2 H) 5.03 - 5.10 (m, 1 H) 4.95 (br d, $J=5.50$ Hz, 2 H) 4.41 - 4.62 (m, 4 H) 4.28 - 4.40 (m, 2 H) 4.12 - 4.27 (m, 4 H)。

【0323】來自於第二次 p-TLC 的較低極性產物，稱為化合物 20：

(EtOAc/DCM=1 : 1, 3X) ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ ppm 8.53 (s, 1 H) 8.36 (s, 1 H) 7.95 - 8.02 (m, 2 H) 7.95 (s, 1 H) 7.89 (s, 1 H) 7.53 - 7.61 (m, 2 H) 7.44 - 7.53 (m, 4 H) 7.36 - 7.44 (m, 2 H) 7.25 - 7.31 (m, 1 H) 7.12 - 7.20 (m, 2 H) 5.91 - 6.18 (m, 4 H) 5.85 - 5.91 (m, 1 H) 5.72 - 5.79 (m, 1 H) 5.61 - 5.72 (m, 1 H) 5.47 - 5.57 (m, 1 H) 5.40 - 5.47 (m, 1 H) 5.25 - 5.32 (m, 1 H) 5.15 - 5.23 (m, 1 H) 4.99 - 5.14 (m, 3 H) 4.92 (d, $J=5.47$ Hz, 2 H) 4.52 - 4.60 (m, 2 H) 4.37 - 4.52 (m, 4 H) 4.35 (d, $J=3.13$ Hz, 1 H) 4.30 (d, $J=5.47$ Hz, 1 H) 4.25 (d, $J=2.74$ Hz, 1 H) 4.20 (d, $J=4.69$ Hz, 1 H)。



【0324】對在甲苯 (20 ml, 187.761 mmol) 中 2-硝基苄保護的 CDN (2-nitrobenzyl protected CDN)(10 mg, 8.696 μ mol)的回流溶液加入第二代霍維達-格拉布催化劑(1,3-雙-(2,4,6-三甲苯基)-2-亞咪唑啉基) 二氯(鄰-異丙氧基苯基亞甲基) 鈦；可取得於 SIGMA-ALDRITCH® Catalog No. 569755；CAS 301224-40-8; 2.73 mg, 4.348 μ mol)及在甲苯(2 ml, 18.776 mmol)中的醌(2.350 mg, .022 mmol)之溶液。所得到的溶液回流4小時(油浴溫度120-125 °C)。TLC (EtOAc, R_fsm=0.8, R_fProd=0.3)及UPLC-MS指出反應不完全。加入1 ml的Ru 催化劑溶液。反應再回流2小時。仍有許多未反應的SM剩餘。另外再加入1 ml 的Ru 催化劑溶液。反應再回流2小時。在反相HPLC上沒有偵測到SM。反應混合物冷卻至室溫並以 DMSO(0.019 ml, .261 mmol) 淬滅。溶劑蒸發得到粗產物，其在矽膠管柱上純化(10 g 矽膠管柱，沖提從 50 至 100%, 15 vol, 100%, 10 vol)。合併含有包含所期望MS 之產物的餾分並旋轉蒸發。殘餘物再一次於製備型薄層層析 (Prep-TLC) (EtOAc) 上純化。在20 °C下，對pTLC純化的在1,4-二氧六環(0.5 ml, 5.845 mmol)中的橋連鎖定(bridge-locked) CDN (2.5 mg, 2.228 μ mol) (反式異構物)加入硫酚 (0.25 ml, 2.428 mmol) 及 TEA (0.25 ml, 1.794 mmol)。混合物在室溫下攪拌3小時。UPLC 指出轉化完成。加入甲醇(1.5 ml, 37.076 mmol)然後加入在H₂O (1.0 ml, 52.846

mmol)中的29% NH₃。所得到的混合物在50 °C加熱6小時並冷卻至室溫。過濾反應混合物的懸浮液並以水(25 mL)潤洗。在水潤洗之後於濾液中形成沉澱物。再次過濾濾液以移除一些固體。

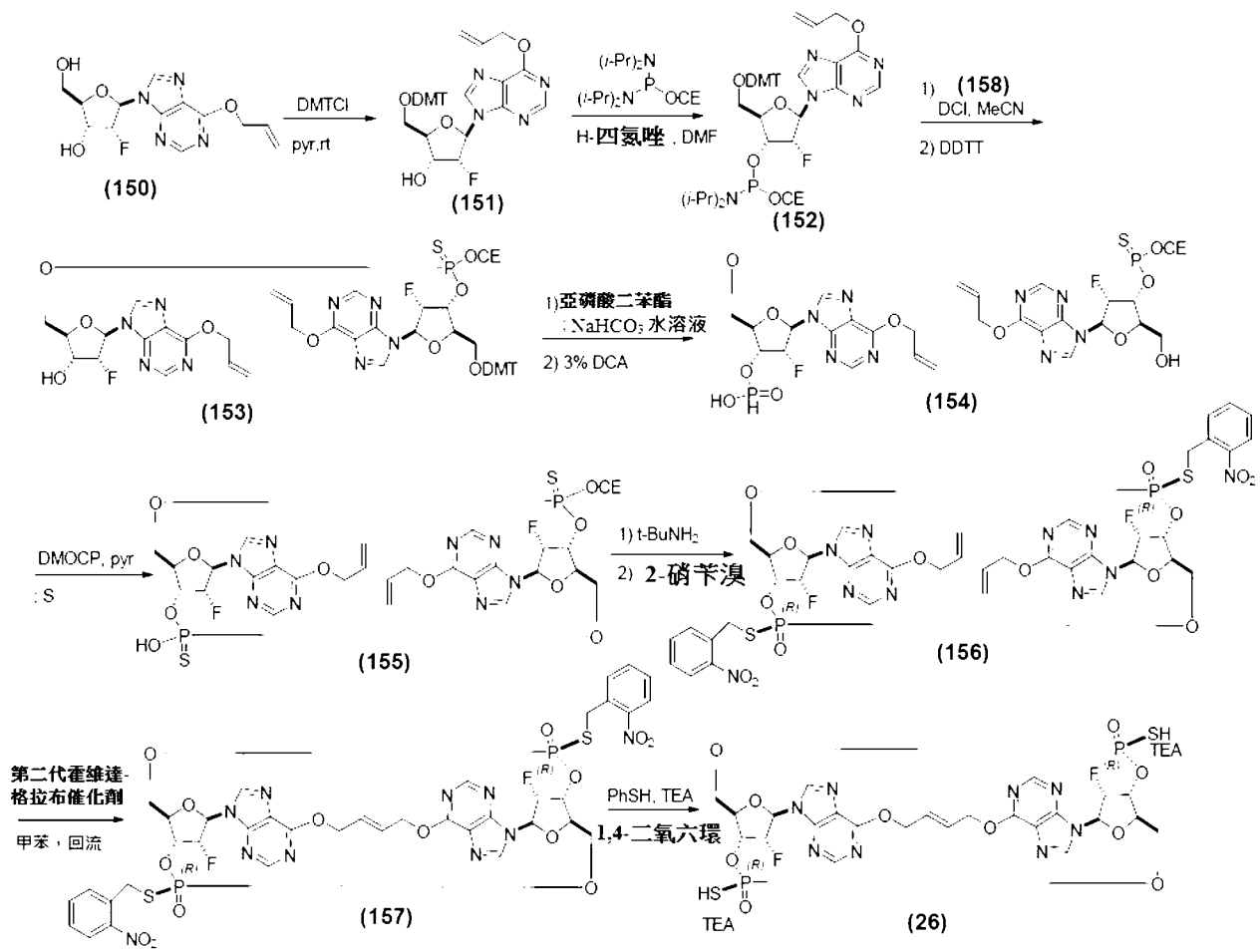
【0325】 所得到的濾液以tol/Hep (3X, 1/1, 各25 ml)的混合物萃取。水層在真空下濃縮然後溶於水(6 mL)中。再一次過濾沉澱物。UPLC指出所期望的產物形成。產物使用相同方法以反相HPLC純化，以純化其他基於鎖定(based locked)的 CDN 類似物。

【0326】 化合物18，LCMS：MS m/z 748.11 [M+H]⁺ 746.15 [M-H]⁻

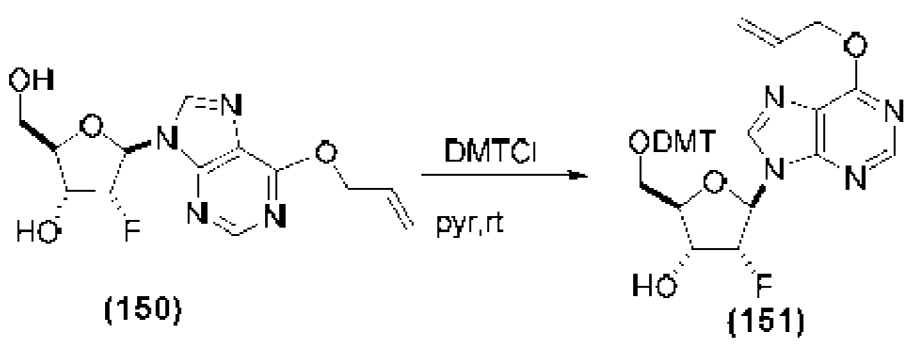
【0327】 化合物19，LCMS：MS m/z 748.06 [M+H]⁺ 746.17 [M-H]⁻

【0328】 化合物20，LCMS：MS m/z 748.09 [M+H]⁺ 746.21 [M-H]⁻

【0329】 實例13-化合物26的合成



【0330】 化合物151

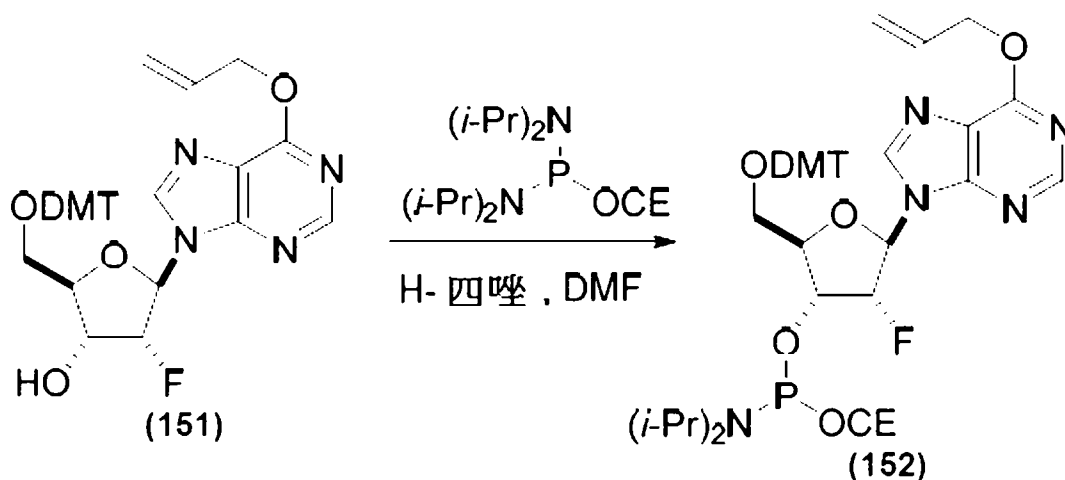


【0331】 對0 °C吡啶(10.5 ml)中的化合物150(0.70 g, 2.256 mmol)之溶液加入4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(4,4'-dimethoxytrityl chloride)(0.803 g, 2.369 mmol)。將所得混合物攪拌整夜同時加溫至室溫時。反應完成之後(藉由LCMS監測)加入飽和NH₄Cl 溶液(10 ml)及MTBE(20 mL)。分離層且將水層以MTBE/EtOAc (3/1, 12 mL)萃取。合併的有機層以30% NaCl 水溶液 (5 ml)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾並

在真空下濃縮。粗產物藉由矽膠管柱層析純化(SiO_2 25 g, 50% 至 70%在正庚烷中的 EtOAc) 以得到0.942 g的化合物151。

【0332】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.47 (s, 1H)、8.11 (s, 1H)、7.43 - 7.35 (m, 2H)、7.30 - 7.26 (m, 4H)、7.25 - 7.17 (m, 3H)、6.82 - 6.75 (m, 4H)、6.28 (dd, J = 2.3, 17.6 Hz, 1H)、6.22 - 6.10 (m, 1H)、5.63 (ddd, J = 2.7, 4.7, 53.1 Hz, 1H)、5.47 (qd, J = 1.4, 17.3 Hz, 1H)、5.31 (dd, J = 1.2, 10.6 Hz, 1H)、5.13 (t, J = 1.4 Hz, 1H)、5.12 (t, J = 1.2 Hz, 1H)、4.89 - 4.76 (m, 1H)、4.21 (td, J = 3.2, 6.8 Hz, 1H)、3.78 (s, 6H)、3.55 (dd, J = 2.7, 10.9 Hz, 1H)、3.44 (dd, J = 4.3, 10.9 Hz, 1H)、2.29 - 2.21 (m, 1H)。

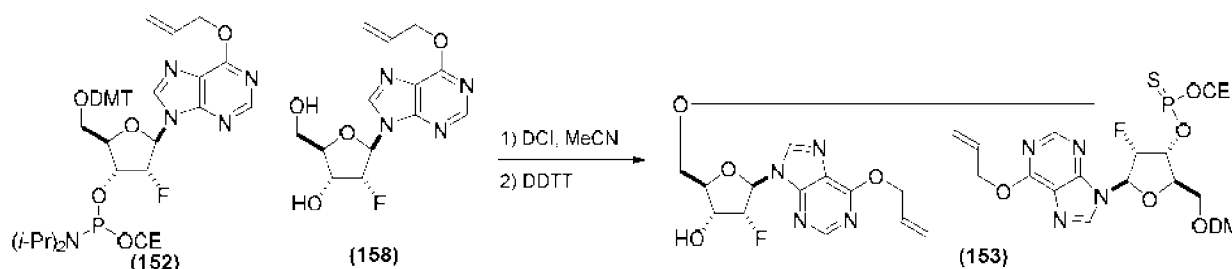
【0333】 化合物152



【0334】 在室溫下對在DMF (7.5 mL)中的化合物151 (0.942 g, 1.538 mmol) 之溶液加入 3-((雙(二異丙胺基)膦基)氧)丙烷腈 (3-((bis(diisopropylamino)phosphino)oxy)propanenitrile) (0.927 g, 3.075 mmol)、0.45 M 1,2,3,4-四唑(1,2,3,4-tetrazole) (2.8 mL, 1.2 mmol) 及 1-甲基咪唑 (30 μl , 0.38 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌4小時。反應完成之後(藉由LCMS監測)加入

TEA (0.50 ml, 3.6 mmol)、DMF (11.3 mL) 及水(1.9 mL)。所得到的化合物以正庚烷 (每次各3mL)萃取3次。DMF層以水(4 ml)稀釋並以甲苯/正庚烷 (1/1, 10 mL)的混合物萃取。合併的有機層以30% NaCl 水溶液 (每次各3mL)洗滌兩次, 以MgSO₄ 乾燥、過濾並在真空下濃縮。藉由矽膠管柱層析(SiO₂ 50 g, 33% 至 40%在正庚烷中含有 1% TEA的EtOAc)進行粗產物的純化以得到1.115 g白色泡沫固體的化合物152(3:2 非鏡像異構物混合物)。

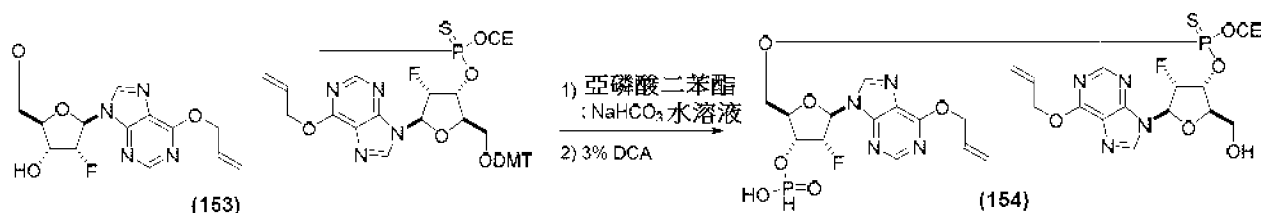
【0335】 化合物153



【0336】 化合物152(1.115 g, 1.372 mmol)及化合物 158 (0.650 g, 2.095 mmol)的混合物以MeCN (每次各20 mL)共沸兩次。對所得到的殘餘物加入MeCN(20.0 ml)及1H-咪唑-4,5-二甲腈(0.243 g, 2.058 mmol)。反應完成之後(藉由LCMS監測), 反應混合物以(E)-N,N-二甲基-N'-(3-硫代-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒(0.422g, 2.058 mmol)處理。硫化反應完成之後, 加入飽和NaHCO₃ 溶液(20 mL)及MTBE(30 mL)。分離層且將水層以MTBE/EtOAc(15/15 mL)的混合物萃取。合併的有機層以30% NaCl水溶液 (10 ml)洗滌, 以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 50 g, 33% 至 100%在正庚烷中含有 1% TEA的EtOAc)以得到0.88 g的化合物153。

【0337】 LC/MS (ESI) *m/z* 1076.48 [M+Na]⁺

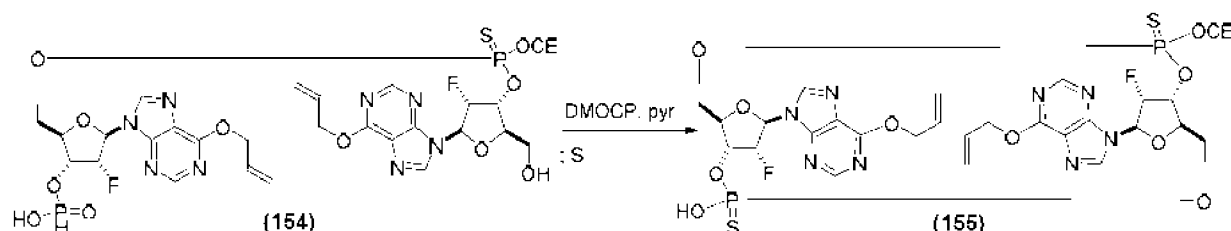
【0338】 化合物154



【0339】 在室溫下對在吡啶(8.8 ml)中的化合物153(0.880 g, 0.835 mmol)之溶液加入亞磷酸二苯酯(0.323 ml, 1.67 mmol)。反應混合物攪拌1小時並藉由LCMS監測。反應完成之後，在維持內部溫度低於30 °C下將混合物加入飽和NaHCO₃水溶液(13.2 ml)及水(4.4 ml)的混合物中。所得到的混合物在室溫下攪拌且藉由LCMS監測水解。反應完成之後，混合物以EtOAc/MTBE (1/1, 26 mL)的混合物萃取兩次。合併的有機層以30% NaCl 水溶液 (3 ml)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物以甲苯 (每次7 mL)共沸兩次。在室溫下將粗產物溶於二氯甲烷(6.6 ml)中並以水(0.15 ml, 8.35 mmol)及6%的二氯甲烷 (6.6 ml)中的二氯乙酸(0.41 ml, 5.0 mmol)處理。在完成DMT 去保護化之後加入三乙基矽烷(2.7 ml, 17 mmol)(藉由 LCMS監測)。攪拌10分鐘之後，所得到的混合物以吡啶(4.4 ml)及TEA(1 ml)處理並在真空下濃縮。殘餘物以正庚烷(每次8.8 ml)研磨三次並以MeCN共沸兩次。粗產物(化合物154)不經過進一步純化即使用於下個步驟。

【0340】 LC/MS (ESI) m/z 814.29 [M-H]⁻

【0341】 化合物155

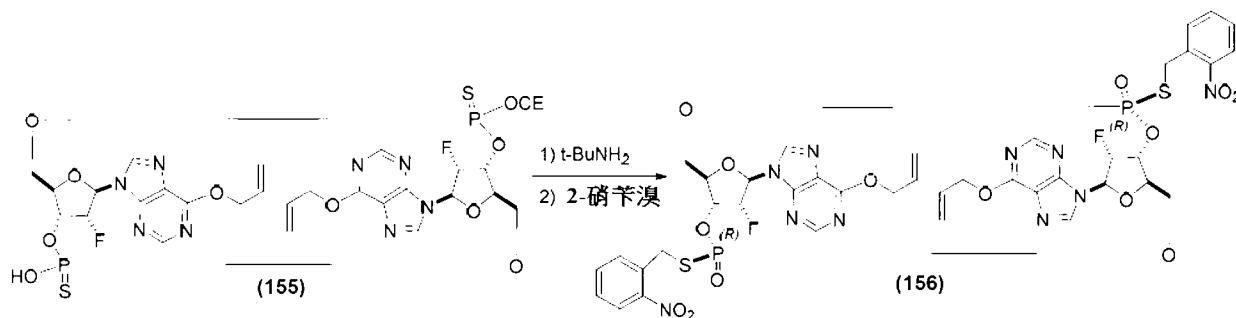


【0342】 在室溫下對在吡啶(68 ml)中的化合物154(0.681 g, 0.835 mmol)之溶液加入 2- 氯基 -5,5- 二甲基 -1,3,2- 二氧磷雜環己烷 -2- 氧化物

(2-Chloro-5,5-dimethyl-1,3,2-dioxaphosphorinane-2-oxide)(0.462 g, 2.505 mmol)。所得到的化合物在室溫下攪拌1小時並藉由LCMS監測。完成之後加入水(0.45 ml, 25 mmol) (10 eq 的DMOCP)及硫(0.134 g, 4.175 mmol)。硫化反應完成之後，反應混合物以NaHCO₃(13.6 ml)飽和水溶液處理並在真空下濃縮。殘餘物以EtOAc (27 ml)及水(13.6 ml)處理。分離層且將水層以EtOAc/MTBE (1/1, 27 mL)的混合物萃取。合併的有機層以30% NaCl 水溶液 (13.6 ml)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。粗產物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 25 g, 0% 至 10%在EtOAc中的 MeOH)以得到0.693 g(理論產率)的化合物155。

【0343】 LC/MS (ESI) m/z 830.23 [M+H]⁺

【0344】 化合物156

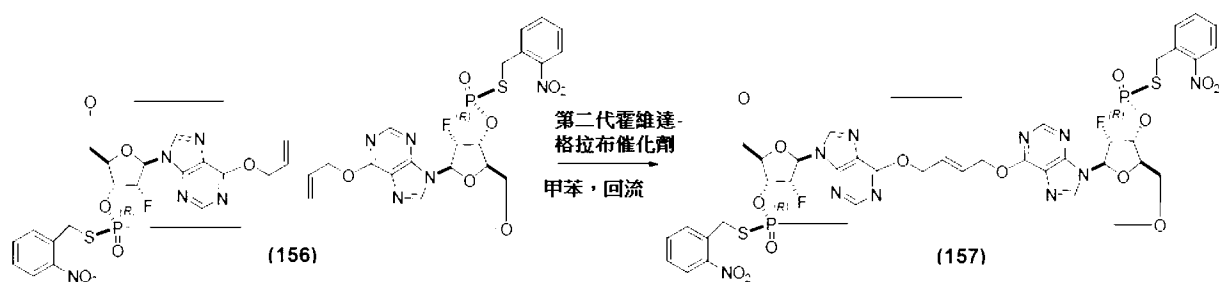


【0345】 在室溫下對在乙腈(14 ml)中的化合物155(0.693 g, 0.835 mmol)之溶液加入叔丁胺(14 ml, 131 mmol)。所得到的溶液攪拌10分鐘並藉由LCMS監測。完成之後反應混合物在真空下濃縮並與MeCN共沸兩次。對殘餘物添加乙腈(14 ml)及 2-硝苄溴(0.541 g, 2.51 mmol)。在攪拌整夜之後，反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱矽膠管柱層析純化(SiO₂ 100g, 75% 至 100%在正庚烷中的 EtOAc 及 0% 至 10% 在EtOAc中的 MeOH)以得到0.103 g 的化合物 156。

【0346】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.59 (s, 2H), 8.05 (br d, J = 8.2 Hz, 2H)、8.03 (s, 2H), 7.58 (d, J = 7.4 Hz, 2H)、7.48 (t, J = 7.4 Hz, 2H)、7.45 - 7.37 (m, 2H)、6.20 (br d, J = 18.8 Hz, 2H)、6.21 - 6.08 (m, 2H)、5.98 - 5.83 (m, 2H)、5.69 (dd, J = 4.7, 52.0 Hz, 1H)、5.47 (br d, J = 17.2 Hz, 2H)、5.31 (br d, J = 10.6 Hz, 2H)、5.14 (br d, J = 5.5 Hz, 4H)、4.54 - 4.46 (m, 2H)、4.45 - 4.40 (m, 2H)、4.37 - 4.26 (m, 4H)、4.21 - 4.11 (m, 2H)。

【0347】基於合成方法學、NMR 數據 (對稱的)及HPLC 滯留時間 (沖提最慢的異構物)，申請人相信化合物156具有RR磷立體化學。此立體化學配置將藉由X射線結晶圖譜確認。

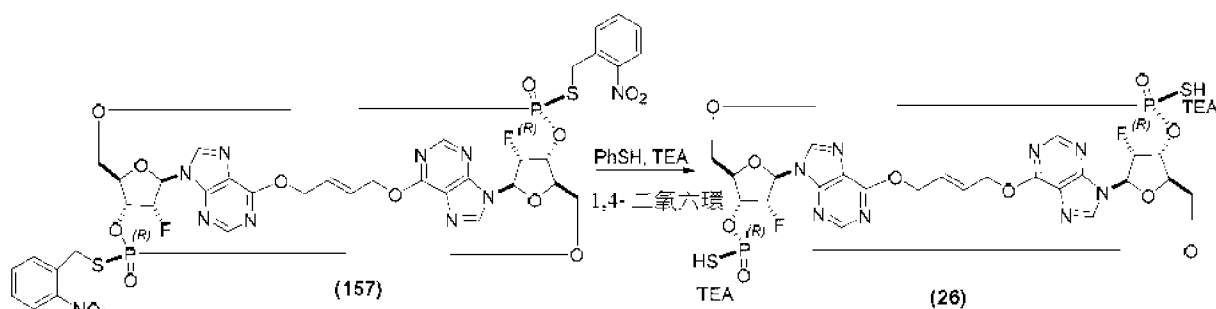
【0348】 化合物157



【0349】對回流的在甲苯(103 ml)中的化合物156之溶液加入第二代霍維達-格拉布催化劑(1,3-雙-(2,4,6-三甲苯基)-2-亞咪唑啉基)二氯(鄰-異丙氧基苯基亞甲基)鈦；可取得於 SIGMA-ALDRITCH® Catalog No. 569755；CAS 301224-40-8; 31 mg, 0.049 mmol)及在甲苯(10 mL)中的醌(32 mg, 0.295 mmol)之溶液。混合物在回流下攪拌2小時並加入額外的催化劑(16 mg, 0.025 mmol)。完成之後反應混合物冷卻至室溫並以DMSO(0.14 ml, 2.0 mmol)處理整夜。所得到的混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO_2 10g, 0% 至 10% 在EtOAc中的甲醇)以得到所期望的產物，其進一步藉由pre TLC (EtOAc)純化以得到3.6 mg 的化合物157。

【0350】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.11 (dd, J = 1.2, 8.2 Hz, 2H)、8.09 (s, 2H)、7.68 (s, 2H)、7.67 - 7.58 (m, 4H)、7.52 - 7.48 (m, 2H)、6.26 (d, J = 17.6 Hz, 2H)、6.02 - 5.97 (m, 2H)、5.97 - 5.88 (m, 2H)、5.68 (dd, J = 3.9, 50.8 Hz, 2H)、5.15 (br d, J = 10.9 Hz, 2H)、4.99 (br d, J = 10.9 Hz, 2H)、4.56 - 4.44 (m, 8H)、4.25 (br t, J = 6.1 Hz, 2H)。

【0351】 化合物26

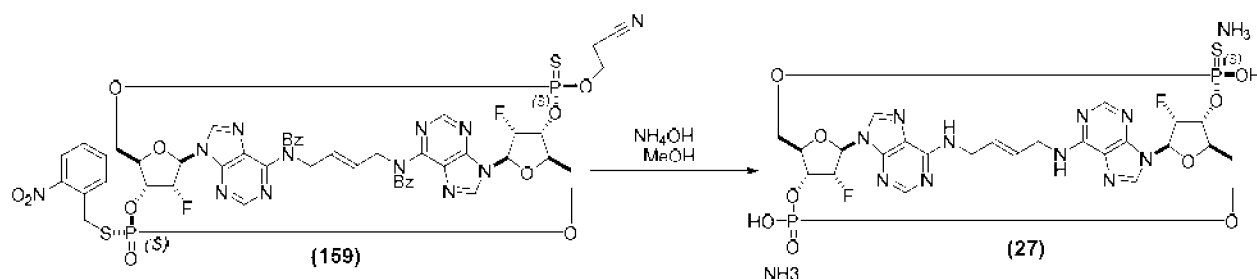


【0352】 對化合物157(3.6 mg, 3.5 μmol)加入1,4-二氧六環 (0.11 mL)、硫酚 (0.045 mL, 0.44 mmol)及TEA(0.054 mL, 0.39 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成轉化之後加入水(0.5 mL)。所得到的混合物以正庚烷/甲苯(1/1, 每次0.4 mL)的混合物接著是甲苯(0.3 mL)萃取三次。水層在真空下濃縮並以水(0.5 mL)處理。濾除所得到的固體，以水(0.5 mL)潤洗。凍乾合併的濾液以得到2.0 mg白色泡沫固體的雙-TEA 鹽化合物 26。

【0353】 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ = 8.67 (s, 2H), 8.18 (s, 2H)、6.41 (d, J = 14.8 Hz, 2H)、6.07 - 6.01 (m, 2H)、5.56 (dd, J = 3.1, 51.2 Hz, 2H)、5.48 - 5.41 (m, 2H)、5.08 (br d, J = 12.1 Hz, 2H)、4.99 - 4.88 (m, 2H)、4.52 (br d, J = 12.5 Hz, 2H)、4.40 (br d, J = 9.8 Hz, 2H)、3.98 (dd, J = 5.7, 12.3 Hz, 2H)、3.14 (q, J = 7.4 Hz, 12H)、1.27 (t, J = 7.4 Hz, 18H)。

【0354】 實例15-化合物27的合成

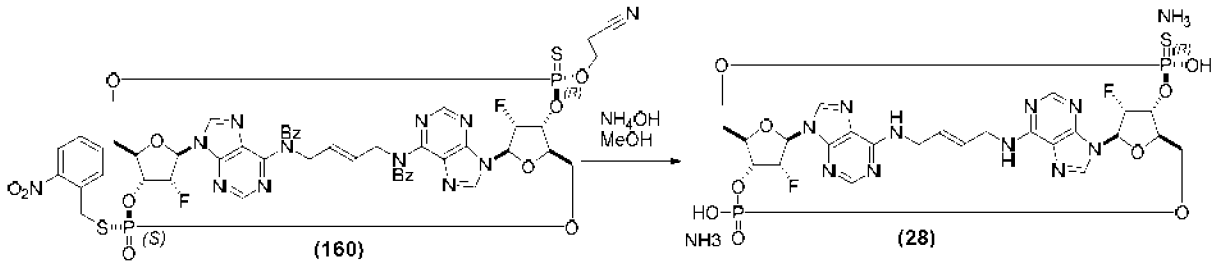
【0355】 化合物27從於第2B圖之化合物1的路徑之階段11b中的副產物之化合物159製備。



【0356】 對在甲醇(24 ml)中化合物159(2.0 g, 1.75 mmol)之溶液加入28% 氫氧化銨 (12 ml)。所得到的混合物在50 °C下攪拌5小時並冷卻至室溫。完成之後(藉由LCMS監測)反應混合物冷卻至室溫，以水(20 ml)處理並以甲苯/EtOAc (1/1, 每次24 mL)的混合物萃取三次。水層以1.0 M 鹽酸 (hydrochloric acid) (3.5 ml, 3.5 mmol)酸化，在室溫下攪拌30分鐘及在0 °C下攪拌30分鐘。過濾所得到的漿液，以水(20 mL)潤洗。濾餅在真空烤箱中於35 °C乾燥整夜並以28% NH₄OH (2 mL)及MeOH (20 mL)的混合物溶解。所得到的溶液在真空下濃縮並以EtOH(4 ml)處理以製得漿液。所得到的固體藉由過濾收集並在真空下乾燥。得到70 mg白色固體的化合物27。

【0357】 ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 9.03 (br s, 1H)、8.31 (br s, 1H)、8.26 (br s, 1H)、8.13 (br s, 1H)、6.43 - 6.24 (m, 2H)、5.97 - 5.83 (m, 2H)、5.71 (br d, *J* = 51.6 Hz, 1H)、5.64 (br d, *J* = 50.0 Hz, 1H)、5.12 - 4.99 (m, 1H)、4.96 - 4.90 (m, 1H)、4.68 - 4.32 (m, 6H)、4.14 - 3.97 (m, 2H)、3.77 - 3.62 (m, 2H)。

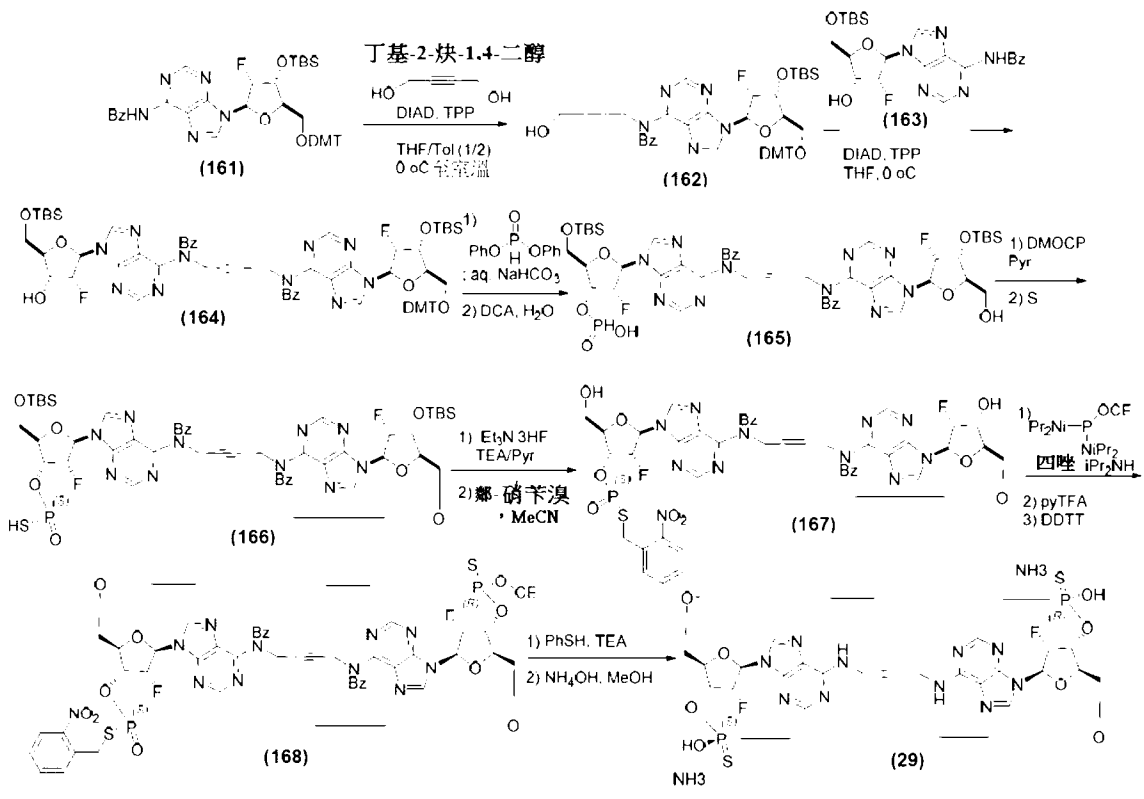
【0358】 實例16-化合物28的合成



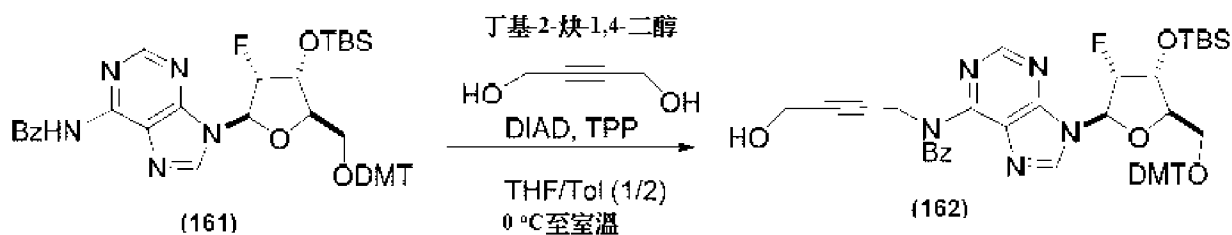
【0359】 化合物28使用與化合物27相同之方法，從繪示於第2B圖之化合物1的路徑之階段11中的產物之化合物160製備。

【0360】 ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.70 (br s, 1H)、8.49 (br s, 1H)、8.24 (br s, 1H)、8.10 (br s, 1H)、6.52 - 6.26 (m, 2H)、5.94 - 5.78 (m, 2H)、5.69 (br d, *J* = 54.7 Hz, 1H)、5.48 - 5.26 (m, 1H)、5.14 (br d, *J* = 53.1 Hz, 2H)、5.06 - 4.94 (m, 1H)、4.74 - 4.19 (m, 4H)、4.10 - 3.93 (m, 2H)、3.76 - 3.58 (m, 2H)。

【0361】 實例17-化合物29的合成



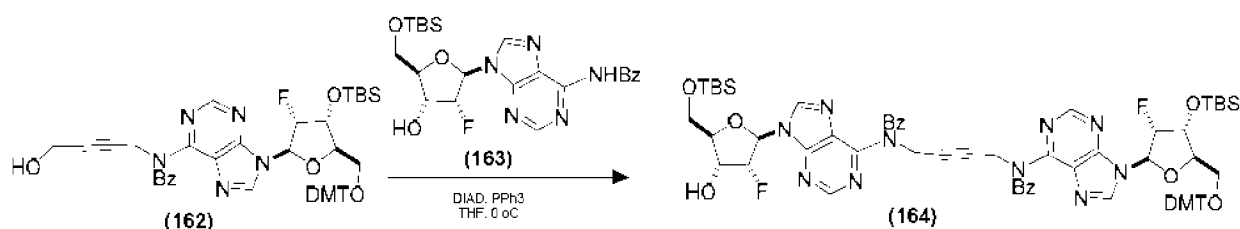
【0362】 化合物162



【0363】化合物 161 (5.0 g, 6.329 mmol) 及 丁基 -2- 炔 -1,4- 二醇 (but-2-yne-1,4-diol)(1.907 g, 22.153 mmol)與THF共沸兩次。殘餘物溶解於THF (50.0 ml) 及甲苯 (75 ml)中。加入三苯膦 (2.158 g, 8.228 mmol)及所得到的溶液冷卻至5 °C以下。滴加DIAD (1.60 ml, 8.23 mmol)同時維持內部溫度為10 °C以下。所得到的溶液在0-5 °C下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後反應混合物在真空下濃縮以移除大部分的THF。殘餘物以 MTBE (50.0 ml)稀釋並以30% NaCl 水溶液 (每次40.0 ml)洗滌兩次及以水(每次25 ml)洗滌兩次。有機溶液在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO_2 100g, 50% 至 70% 在以1% TEA緩衝之正庚烷中的 EtOAc)以得到4.671 g 的化合物162。

【0364】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.61 (s, 1H), 8.14 (s, 1H)、7.43 (d, J = 7.2 Hz, 2H)、7.33 - 7.27 (m, 3H)、7.24 - 7.18 (m, 8H)、7.05 - 7.01 (m, 2H)、6.76 (d, J = 8.6 Hz, 4H)、6.20 (dd, J = 2.7, 17.2 Hz, 1H)、5.59 (td, J = 3.1, 53.1 Hz, 1H)、5.19 (br d, J = 2.3 Hz, 2H)、4.93 - 4.83 (m, 1H)、4.18 - 4.15 (m, 1H)、4.01 (br d, J = 6.3 Hz, 2H)、3.78 (s, 6H)、3.53 (dd, J = 2.7, 10.9 Hz, 1H)、3.17 (dd, J = 3.7, 11.1 Hz, 1H)、0.85 (s, 9H)、0.10 (s, 3H)、0.02 (s, 3H)。

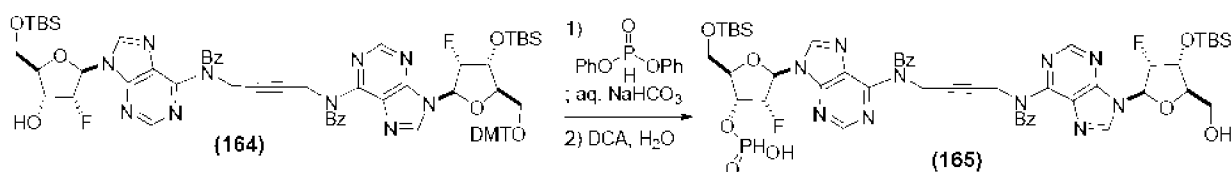
【0365】化合物164



【0366】 將化合物 162 (4.671 g, 5.444 mmol)、化合物 163 (3.32 g, 6.805 mmol) 及三苯膦(1.856 g, 7.077 mmol)溶解於THF (56.1 ml)中並冷卻至5 °C以下。對所得到的溶液加入DIAD (1.3 ml, 6.8 mmol)同時維持內部溫度在10 °C以下。完成化合物162的消耗之後(藉由LCMS監測)，在真空下濃縮反應混合物並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 340 g, 55% 至 70%在以1% TEA緩衝之正庚烷中的EtOAc)以得到3.879 g 白色泡沫固體的化合物 164。

【0367】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.51 (s, 1H)、8.45 (s, 1H)、8.20 (s, 1H)、8.05 (s, 1H)、7.41 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H)、7.36 - 7.32 (m, 4H)、7.28 - 7.13 (m, 8H)、6.98 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H)、6.79 - 6.74 (m, 4H)、6.29 (dd, *J* = 2.0, 16.4 Hz, 1H)、6.19 (dd, *J* = 2.7, 17.2 Hz, 1H)、5.53 (ddd, *J* = 2.7, 4.7, 53.1 Hz, 1H)、5.33 (ddd, *J* = 2.0, 3.9, 53.1 Hz, 1H)、5.23 - 5.21 (m, 1H)、5.05 - 5.01 (m, 2H)、4.99 - 4.94 (m, 2H)、4.81 (ddd, *J* = 4.3, 6.7, 16.7 Hz, 1H)、4.71 - 4.60 (m, 1H)、4.21 - 4.14 (m, 2H)、4.08 - 4.03 (m, 1H)、3.89 (dd, *J* = 3.1, 11.7 Hz, 1H)、3.77 (s, 6H)、0.91 (s, 9H)、0.84 (s, 9H)、0.09 (s, 3H)、0.08 (s, 6H)、0.00 (s, 3H)。

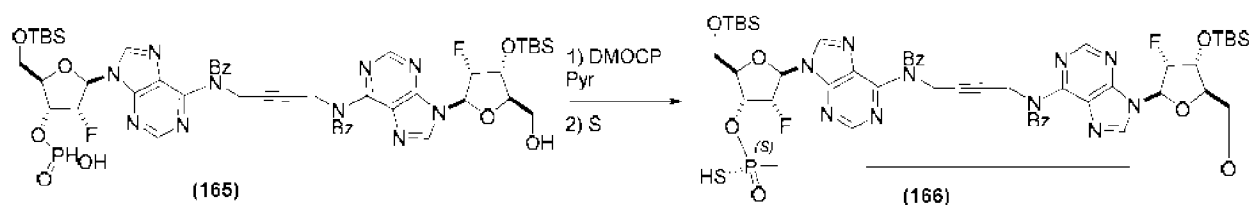
【0368】 化合物165



【0369】在室溫下對在吡啶 (12.0 ml) 中的化合物 164 (1.5 g, 1.13 mmol) 之溶液加入亞磷酸二苯酯 (0.35 ml, 1.8 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由 LCMS 監測。完成之後反應混合物加入飽和 NaHCO_3 水溶液 (22.5 ml) 及水 (7.5 ml) 的混合物中，同時維持內部溫度低於 30°C 。水解完成之後 (藉由 LCMS 監測)，所得到的混合物以 EtOAc/MTBE (30.0/30.0 ml) 的混合物萃取兩次。合併的有機層以 30% NaCl 水溶液 (3 ml) 洗滌，以 MgSO_4 乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物以甲苯共沸三次並溶於二氯甲烷 (11 ml) 中。在室溫下水 (0.20 ml, 11 mmol) 及 6% 二氯乙酸 (0.57 ml, 6.9 mmol) 於二氯甲烷 (11 ml) 中。完成 DMT 基的移除之後 (藉由 LCMS 監測)，加入三乙基矽烷 (1.8 ml, 11 mmol)。攪拌 10 分鐘之後加入 TEA (1.6 ml, 11 mmol) 且所得的混合物在真空下濃縮。殘餘物溶於 EtOAc (22.5 ml) 中，以水 (3.8 ml) 及飽和 NaHCO_3 水溶液 (8%) (3.0 ml) 洗滌，以 MgSO_4 乾燥、過濾並在真空下濃縮。粗產物以正庚烷 (33.8 ml) 以及正庚烷 (9.0 ml) 與甲苯 (3.0 ml) 的混合物研磨兩次。倒掉上清液且將剩在底部的固體溶解在乙腈中。所得到的溶液在真空下濃縮並以乙腈共沸兩次。為粗產物之化合物 165 不經過純化即使用在下一個階段 (假設 100% 的理論產率)。

【0370】 LC/MS (ESI) m/z 1089.74 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0371】 化合物 166

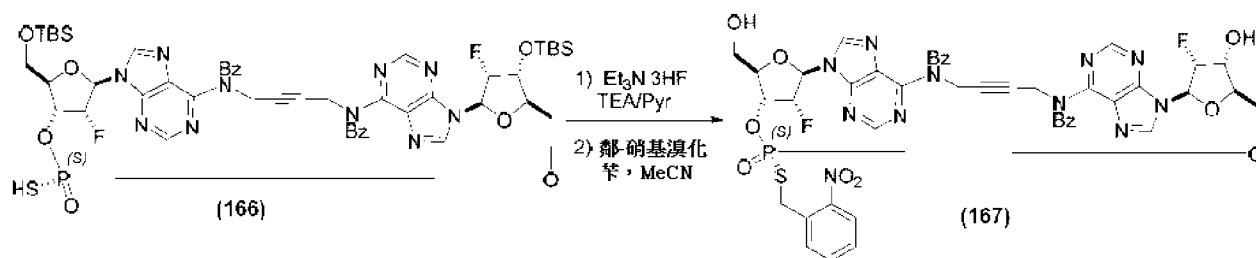


【0372】在室溫下對在吡啶 (100 mL) 中的化合物 165 (1.231 g, 1.13 mmol) 之溶液加入 TEA (0.47 ml, 3.4 mmol) 及 DMOCP (0.375 mg, 2.03 mmol)。所得到的溶液

在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後加入水(0.41 mL, 22.6 mmol)然後加入硫(0.181 g, 5.651 mmol)。硫化作用完成之後(藉由LCMS監測)加入飽和NaHCO₃ (8%)水溶液(24.6 mL)及水(10 mL)。所得到的混合物在真空下濃縮至~50 mL，且每次以MTBE/EtOAc (31/31 mL)的混合物萃取兩次。合併的有機層以30%NaCl水溶液(25 mL)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾、在真空下濃縮及藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 100g, 以1% TEA緩衝之乙酸乙酯中0 至 10% 甲醇)以得到化合物166(0.484 g)。

【0373】 LC/MS (ESI) m/z 1103.65 [M+H]⁺

【0374】 化合物167

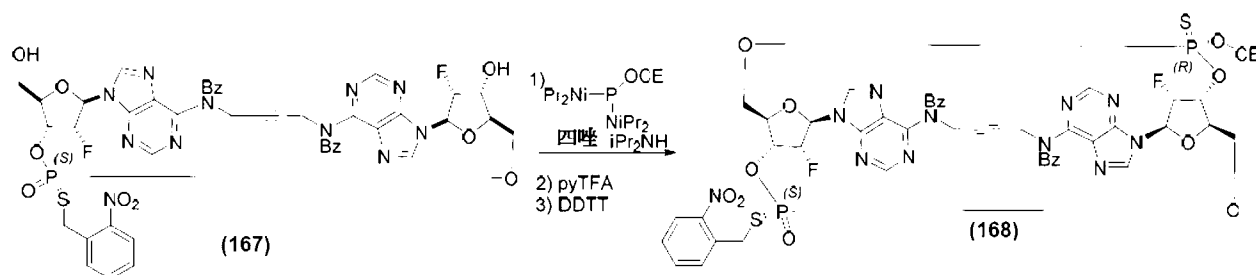


【0375】 在室溫下對在吡啶 (1.2 mL)及TEA (5.8 mL)中的化合物166(0.484 g, .402 mmol)之溶液加入Et₃N 3HF(0.581 mL, 3.563 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌，同時藉由LCMS偵測。轉換完成之後加入甲氧基三甲基矽烷 (3.9 mL, 28 mmol)。在室溫下攪拌20分鐘之後，倒掉上清液。對殘餘物加入甲苯 (5 mL)並攪拌十分鐘之後，倒掉甲苯層。再一次重複相同的操作。所得到的粗產物溶解於二氯甲烷(10 mL)中，以NH₄Cl (27 wt%)飽和水溶液 (5 mL)及30% NaCl 水溶液(2.4 mL)洗滌，及以MgSO₄乾燥。過濾之後濃縮所得到的有機層以得到0.386 g的淡棕色固體，其以MeCN共沸兩次。所得到的粗產物溶解於MeCN (4.6 mL)中並在室溫下以2-硝苄溴(0.103 g, 0.475 mmol)處理。烷化完成之後(藉由LCMS監測)反應混合物

在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO_2 25g, 在 EtOAc 中 0 至 5% 的 MeOH) 以得到 0.251 g 白色固體的化合物 167。

【0376】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.42 (br s, 1H)、8.31 (br s, 1H)、8.22 (br s, 1H)、8.10 - 8.04 (m, 1H)、7.93 (s, 1H)、7.53 - 7.37 (m, 8H)、7.32 - 7.27 (m, 3H)、7.24 - 7.16 (m, 2H)、6.18 (br d, J = 16.8 Hz, 1H)、6.26 - 6.14 (m, 1H)、5.56 (d, J = 53.1 Hz, 1H)、5.48 - 5.37 (m, 1H)、5.31 (br s, 1H)、5.15 (br d, J = 17.6 Hz, 1H)、4.92 (d, J = 17.6 Hz, 1H)、4.82 (d, J = 17.2 Hz, 1H)、4.88 - 4.77 (m, 1H)、4.76 - 4.66 (m, 1H)、4.58 - 4.33 (m, 3H)、4.29 (br d, J = 5.9 Hz, 1H)、4.21 (br s, 1H)、4.13 - 4.06 (m, 1H)、3.93 - 3.79 (m, 2H)。

【0377】 化合物 168

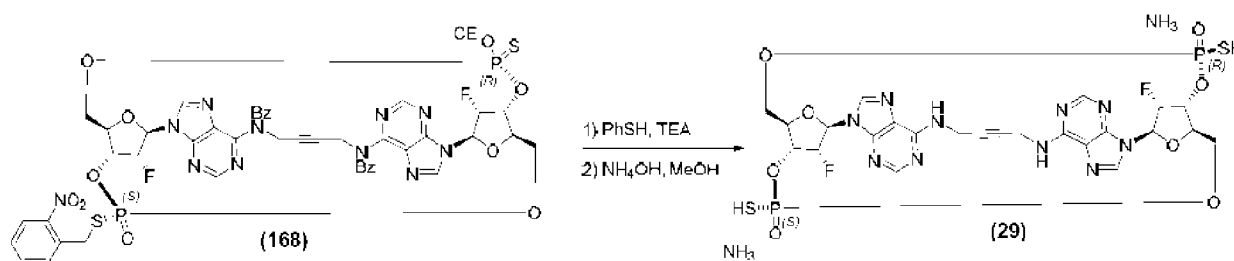


【0378】 化合物 167 (0.224 g, 0.222 mmol) 及 3-(雙(二異丙基胺基)膦氧基)丙烷腈 (3-(Bis(diisopropylamino)phosphinooxy)propanenitrile) (0.081 mL, 0.255 mmol) 溶解於 MeCN (5 mL) 中並濃縮。再重複兩次相同的操作。所得到的混合物溶解於二氯甲烷 (2.2 mL) 中冷卻至 0 °C，並以四唑二異丙基銨 (0.019 g, 0.111 mmol) 處理。反應混合物移至室溫整夜並以 MeCN (2.2 mL) 稀釋。所得到的混合物經由注射泵以 10 小時期間加入在 MeCN (18 mL) 中的吡啶三氟乙酸鹽 (0.129 g, 0.665 mmol) 溶液。額外攪拌 1 小時之後，於 4 小時期間加入在 MeCN (1 mL) 中的 3-(雙(二異丙基胺基)膦氧基) (0.04 mL, 0.12 mmol)。加入 (E)-N,N-二甲基-N'-(3-硫代-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒 (0.064 g, 0.311 mmol)。硫化反應完成之後(藉由 LCMS 監測)，反應混合物在真空下濃縮且所得到的殘餘物以 MTBE (4.5 mL) 溶解(taken up)。所得到的有

機溶液以飽和NaHCO₃(8%)水溶液(4 ml)及水(2 ml)洗滌。合併的水層以MTBE/EtOAc (4/4 mL)的混合物反萃取。合併的有機層以30% NaCl水溶液(每次2 mL)洗滌兩次，以MgSO₄乾燥、過濾、在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 25g，在正庚烷中50% 至 100% 的EtOAc)以得到64 mg 的化合物 168。

【0379】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.57 (s, 1H)、8.18 (s, 1H)、8.06 - 8.01 (m, 1H)、7.91 (s, 1H)、7.47 (s, 1H)、7.62 - 7.56 (m, 2H)、7.55 - 7.50 (m, 2H)、7.49 - 7.43 (m, 3H)、7.42 - 7.34 (m, 2H)、7.30 - 7.18 (m, 5H)、6.33 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H)、6.10 (d, *J* = 20.7 Hz, 1H)、5.95 - 5.77 (m, 1H)、5.54 (dd, *J* = 4.3, 52.8 Hz, 1H)、5.46 (dd, *J* = 3.9, 50.8 Hz, 1H)、5.32 - 5.18 (m, 1H)、5.10 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H)、4.89 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H)、4.85 - 4.81 (m, 2H)、4.78 (br d, *J* = 12.1 Hz, 1H)、4.64 (br dd, *J* = 4.1, 9.2 Hz, 1H)、4.55 (dd, *J* = 2.7, 12.1 Hz, 1H)、4.52 - 4.44 (m, 3H)、4.38 - 4.20 (m, 4H)、2.75 (td, *J* = 6.3, 17.6 Hz, 1H)、2.58 (td, *J* = 5.9, 17.2 Hz, 1H)。

【0380】 化合物29

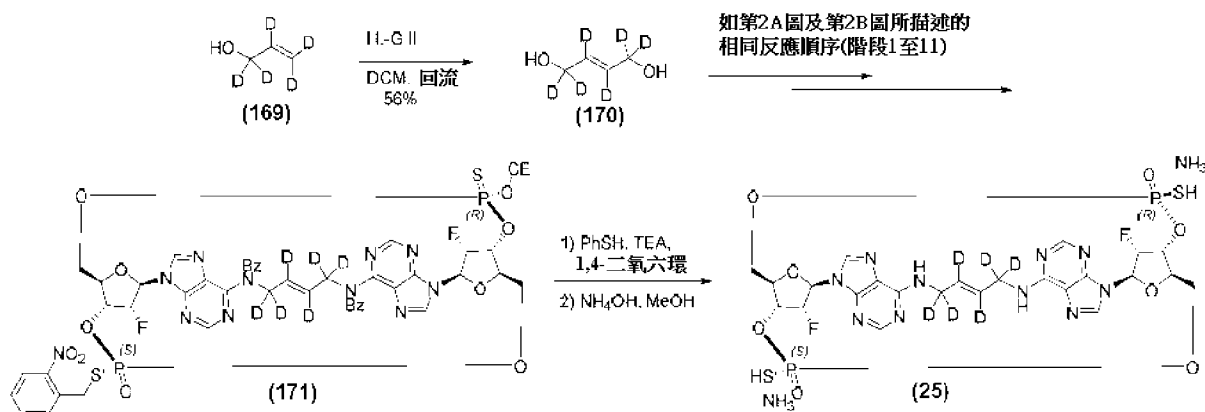


【0381】 對在1,4-二氧六環(0.5 mL)中的化合物 168(40 mg, 0.035 mmol)之溶液加入硫酚(0.24 ml, 2.3 mmol)及TEA (0.24 ml, 1.7 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後加入甲醇 (0.64 ml)及 28% 氫氧化銨(0.64 ml)。所得到的混合物加熱至50 °C攪拌5小時並冷卻至室溫。去保護完成之後(藉由LCMS監測)，所得到的混合物以水(0.80 ml)處理並以正庚烷/甲苯(1/1, 每次0.5 mL) 的混合物接著以甲苯(0.3 ml)萃取三次。水層在40-50 °C下真空濃縮

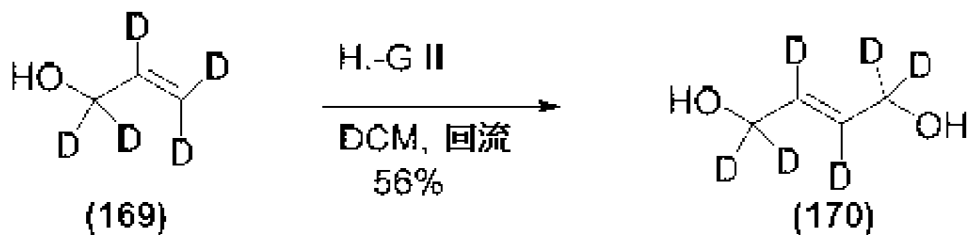
並以水(1 mL)處理。濾除所得到的固體、以水(0.3 ml)潤洗。合併的濾液以1.0 M HCl (0.07 ml, 0.07 mmol)處理。過濾所得到的漿液並以水(1 mL)潤洗。濾餅以2.0 M 的MeOH中之氨溶液(1.0 ml, 2.0 mmol)溶解, 所得到的溶液在真空下濃縮至0.5 mL 並以EtOH (0.5 ml)處理。再重複兩次相同的操作。對所得到的溶液滴加EtOAc(0.9 mL)。發生沉澱。所得到的固體藉由過濾收集, 以4/1 EtOAc/EtOH (0.4 mL)的混合物潤洗並於室溫下真空乾燥隔夜。得到12 mg的化合物 29。

【0382】 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ = 8.88 (br s, 1H)、8.50 (br s, 1H)、8.20 (br s, 1H)、8.12 (br s, 1H)、6.42 - 6.17 (m, 2H)、5.84 - 5.54 (m, 1H)、5.52 (d, J = 51.6 Hz, 1H)、5.06 - 4.78 (m, 2H)、4.77 - 4.55 (m, 3H)、4.49 (br d, J = 10.2 Hz, 1H)、4.42 (br s, 2H)、4.09 - 3.77 (m, 4H)。

【0383】 實例18-化合物25的合成



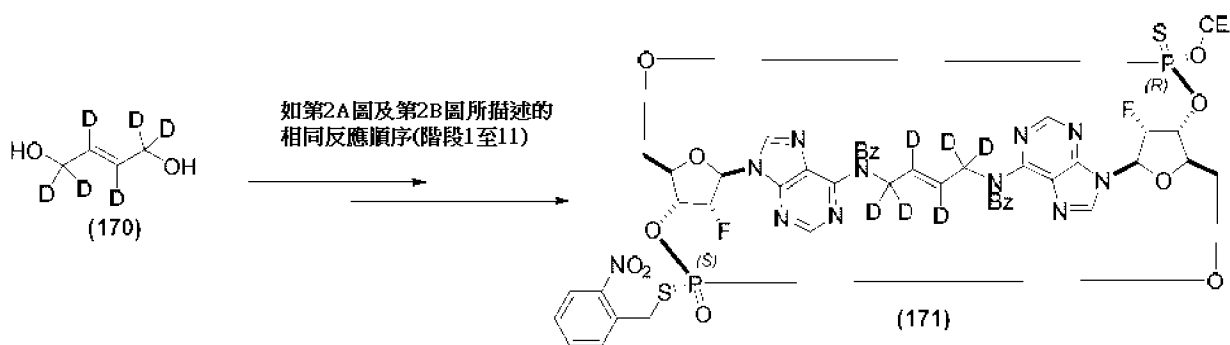
【0384】 化合物170



【0385】 在回流下對在二氯甲烷 (40.0 ml)中的第二代霍維達-格拉布催化劑 (0.996 g, 1.585 mmol)之溶液加入丙-2-烯-d₅-1-醇(prop-2-en-d₅-1-ol)(10.0 g, 158 mmol)。1小時之後加入另外的1mol% 第二代霍維達-格拉布催化劑 (0.996 g, 1.585 mmol)。所得到的溶液在回流下攪拌整夜、冷卻至室溫並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 340g 在EtOAc中0% 至 10% 的MeOH)以得到4.2 g棕色油狀的化合物170。

【0386】 ¹³C NMR (101 MHz, 甲醇-d₄) δ = 130.87 (t, *J* = 23.8 Hz, 2C), 62.22 (quin, *J* = 21.9 Hz, 2C)。

【0387】 化合物171

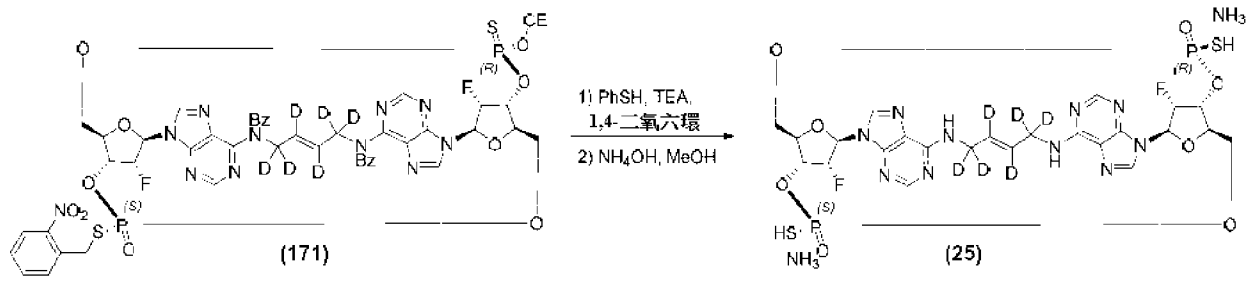


【0388】 以化合物170作為起始材料，化合物171經由與在第2A圖及第2B圖中所描述用於化合物1的合成路經相同反應順序(階段1至11)製備。

【0389】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.59 (s, 1H)、8.10 (s, 1H)、8.02 - 7.96 (m, 1H)、7.93 (s, 1H)、7.58 - 7.50 (m, 2H)、7.48 - 7.37 (m, 5H)、7.34 - 7.27 (m, 2H)、7.24 - 7.14 (m, 4H)、6.90 (s, 1H)、6.28 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H)、6.14 - 6.03 (m, 1H)、5.97 - 5.81 (m, 1H)、5.49 (dd, *J* = 4.7, 52.3 Hz, 2H)、5.43 (dd, *J* = 3.9, 50.8 Hz, 1H)、5.30 - 5.15 (m, 1H)、4.75 (br d, *J* = 12.1 Hz, 1H)、4.61 (br dd, *J* = 4.3, 9.4 Hz, 1H)。

4.53 (dd, $J = 2.9, 11.9$ Hz, 1H)、4.47 - 4.41 (m, 3H)、4.32 - 4.18 (m, 4H)、2.79 (td, $J = 7.0, 17.2$ Hz, 1H)、2.66 (td, $J = 6.3, 16.8$ Hz, 1H)。

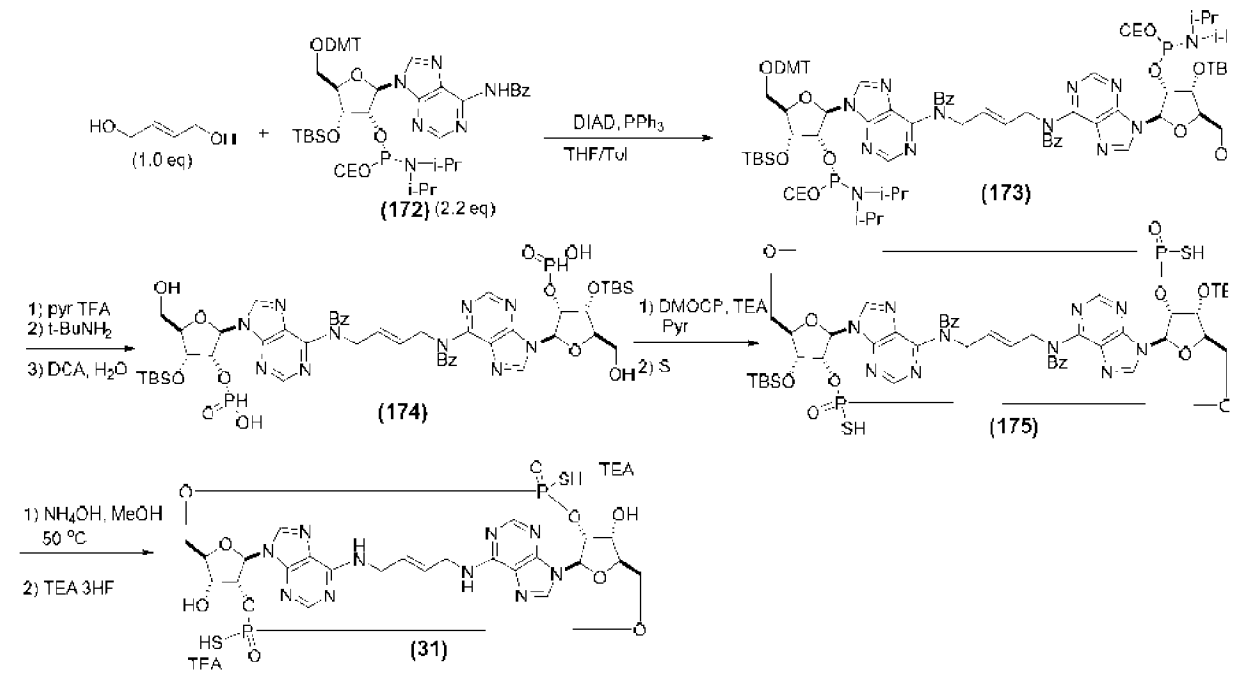
【0390】化合物25



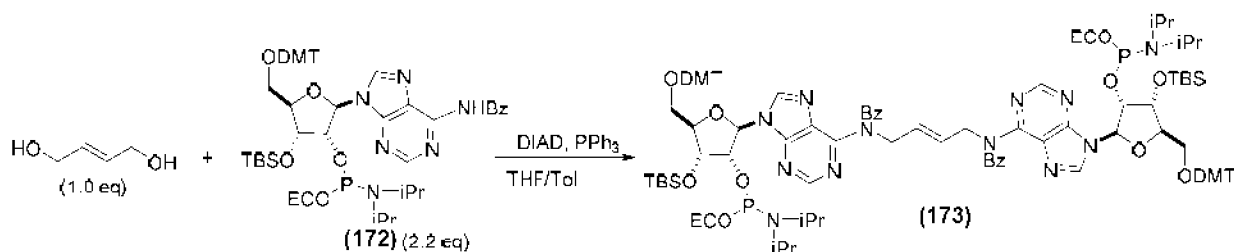
【0391】以化合物171作為起始材料，化合物25經由與在第2A圖及第2B圖中所描述相同的反應順序(階段12至13)製備。

【0392】¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) $\delta = 9.03$ (br s, 1H)、8.30 (br s, 1H)、8.24 (br s, 1H)、8.10 (br s, 1H)、6.44 - 6.13 (m, 2H)、0.00 (d, $J = 52.4$ Hz, 1H)、0.00 (d, $J = 51.2$ Hz, 1H)、4.71 - 4.32 (m, 6H)、4.09 - 3.98 (m, 1H)、3.97 - 3.87 (m, 1H)

【0393】實例19 -化合物 31 (RpRp 或 SpSp)的合成

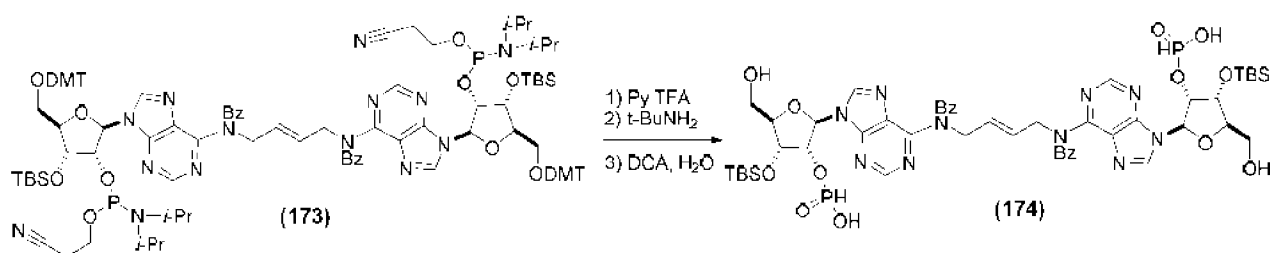


【0394】化合物173



【0395】 (E)-丁-2-烯-1,4-二醇 ((E)-but-2-ene-1,4-diol)(0.10 g, 1.135 mmol)及化合物 172(2.52 g, 2.55 mmol)的混合物以THF共沸兩次並溶解於THF(5.0 ml)及甲苯(7.5 ml)中。對所得到的溶液加入三苯膦(0.714 g, 2.724 mmol)。所得到的溶液冷卻至5 °C以下並以DIAD(0.53 ml, 2.72 mmol)處理同時維持內部溫度在10 °C以下。所得到的反應混合物攪拌整夜同時加溫至室溫。反應完成之後(藉由LCMS監測)，反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 50g 以在正庚烷/EtOAc (1/1)中的1% TEA預處理，在正庚烷中50% 至 66% 的 EtOAc)以得到2.46 g 白色泡沫固體的化合物 173。此材料不經由進一步純化即使用在下一個步驟中。

【0396】 化合物174

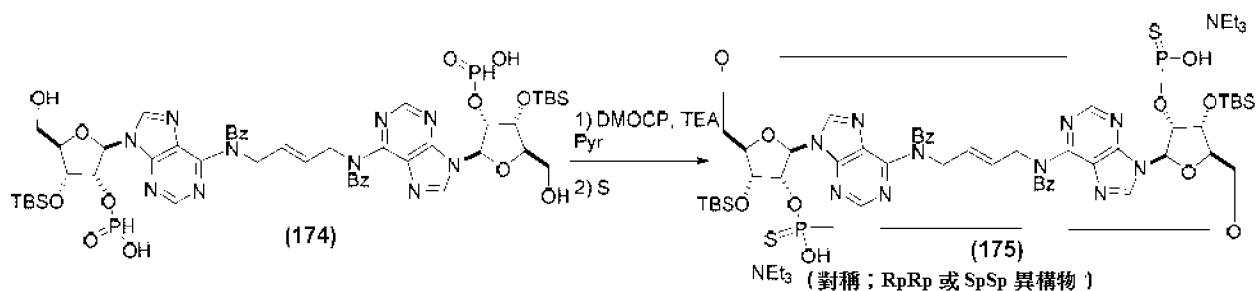


【0397】 在室溫下對在乙腈(28.6 ml)中的化合物 173(2.387 g, 1.177 mmol)之溶液加入水(0.085 ml, 4.7 mmol)、吡啶三氟乙酸鹽(0.500 g, 2.589 mmol)。1分鐘之後加入2-氨基-2-甲基丙烷(2-amino-2-methylpropane)(19.1 ml, 182 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後反應混合物在真空下濃縮並以MeCN共沸。殘餘物溶解於二氯甲烷(24 mL)中並以水(0.42 ml)及6%的二氯甲烷(24 ml)中的二氯乙酸(1.2 ml, 14 mmol)處理。完成DMT去保護之後(藉由

LCMS監測)，反應以吡啶 (12 ml) 淬滅且反應混合物在真空下濃縮。所得到的殘餘物以正庚烷/甲苯 (15/15 ml) 的混合物處理並倒掉上層。再一次重複操作相同的步驟。在真空下乾燥殘餘物以得到化合物174，其不經由進一步純化即使用在下一個步驟中。

【0398】 LC/MS (ESI) m/z 1151.64 $[M+H]^+$ 。

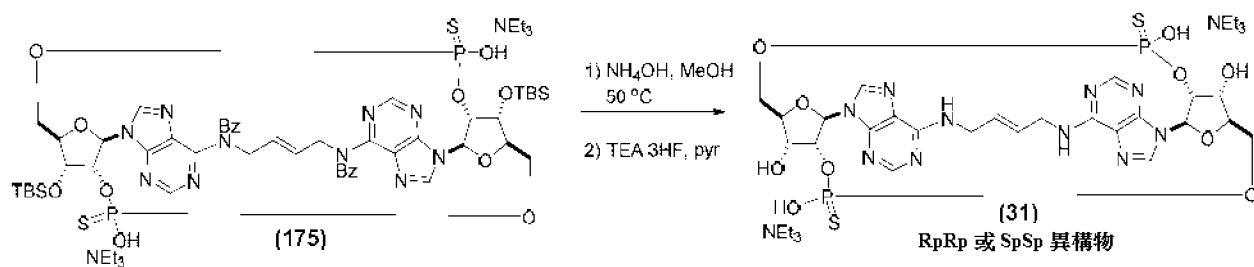
【0399】 化合物175



【0400】 在室溫下對在吡啶(271 ml)中的化合物174(1.355 g, 1.177 mmol)之溶液加入TEA(0.98 ml, 7.1 mmol)及2-氯基-5,5-二甲基-1,3,2-二氧磷雜環己烷 2-氧化物(0.869 g, 4.708 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌直到所有起始材料被消耗(藉由LCMS監測)。反應完成之後加入水(0.85 ml, 47 mmol)(10 eq的DMOCP) 然後加入硫(0.377 g, 11.77 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。硫化反應完成之後，反應混合物以飽和 NaHCO_3 (27 ml) 水溶液及水(10 mL)處理並在真空下濃縮。對所得到的殘餘物加入MTBE/EtOAc (34/34 ml)的混合物、飽和 NaHCO_3 水溶液(27 ml)及水(20 mL)。分層且水層以EtOAc/MTBE(34/34 mL)的混合物萃取。合併的有機層以30% NaCl 水溶液(7 ml)洗滌、以 MgSO_4 乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO_2 50g，在含有1% TEA的EtOAc 中0% 至 20% 的MeOH)以得到56 mg 的化合物175(基於NMR對稱; RpRp 或 SpSp 異構物)。

【0401】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 9.09 (s, 2H)、8.46 (s, 2H)、7.56 - 7.05 (m, 10H)、6.37 (d, J = 8.2 Hz, 2H)、6.28 - 6.22 (m, 2H)、5.29 (ddd, J = 4.7, 7.8, 11.7 Hz, 2H)、5.00 (br d, J = 13.7 Hz, 2H)、4.84 (d, J = 4.3 Hz, 2H)、4.76 (br d, J = 13.3 Hz, 2H)、4.31 (br s, 2H)、4.28 - 4.20 (m, 2H)、4.16 - 4.08 (m, 2H)、3.00 - 2.77 (m, 12H)、1.12 - 0.99 (m, 18H)、0.96 (s, 18H)、0.34 (s, 6H)、0.25 (s, 6H)。

【0402】 化合物31

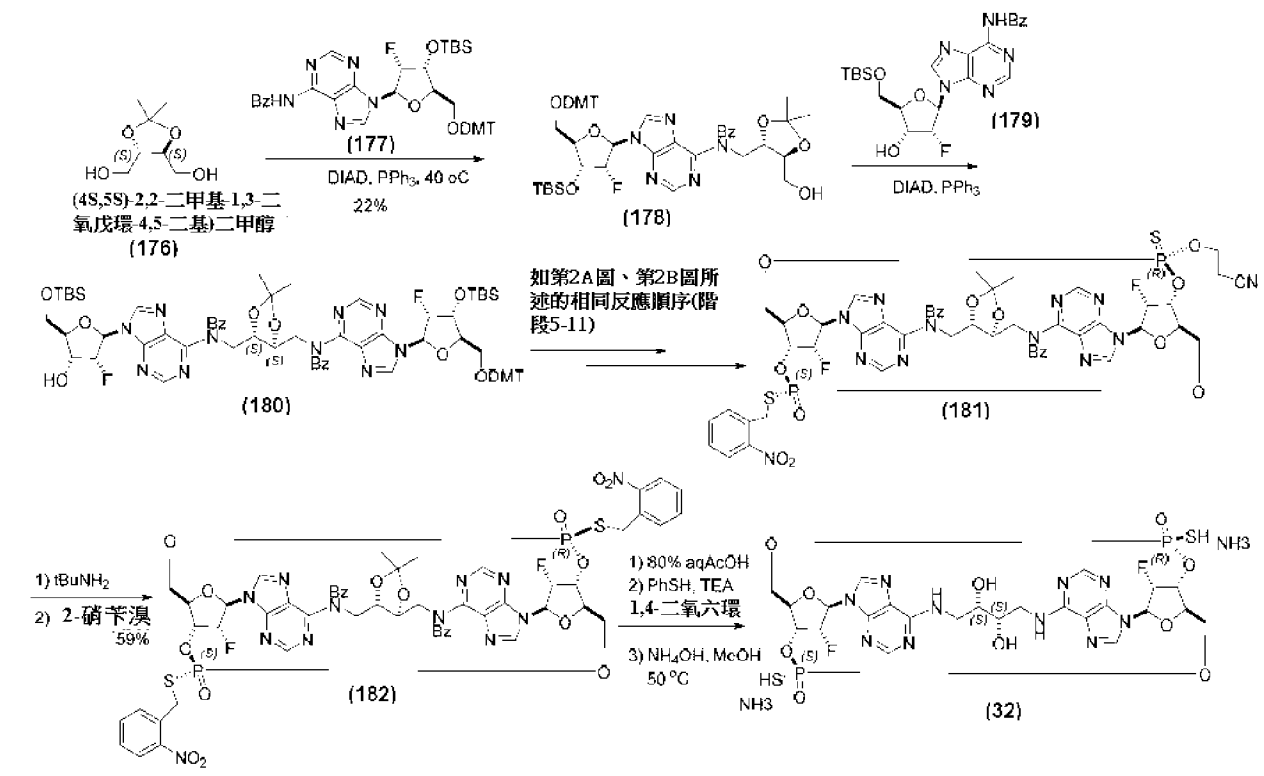


【0403】 對在甲醇(1.1 mL)中的化合物 175(56 mg, 0.0405 mmol)之溶液加入 28% 氫氧化銨(0.22 mL)。所得到的混合物在50 °C下攪拌5小時、冷卻至室溫、在真空下濃縮並以MeCN共沸兩次。對所得到的殘餘物加入吡啶(0.22 mL)、TEA(0.11 mL)及TEA 3HF(0.11 mL, 0.69 mmol)。所得到的混合物在50 °C下攪拌5小時、冷卻至室溫、以甲氧三甲基矽烷(methoxytrimethyl silane)(0.90 mL, 6.50 mmol)處理30分鐘。所得到的混合物在真空下濃縮並溶解於水(5 mL)中。所得到的水溶液以甲苯(每次5 mL)萃取三次並在真空下濃縮。粗產物溶解於1 mL的水中，經由針筒過濾器過濾並以1N HCl酸化使得pH < 3。所得到的混合物保存在冷藏器(refreezer)中(5 °C)2天且所得到的固體經由過濾收集。固體溶解於在2M MeOH (1.5 mL)中的NH₃並在真空下濃縮以得到2.8 mg NH₃ 及TEA 鹽混合物的化合物31。產物溶解於EtOH (1 mL)中，以0.1 mL TEA處理，濃縮至0.5 mL並儲存在

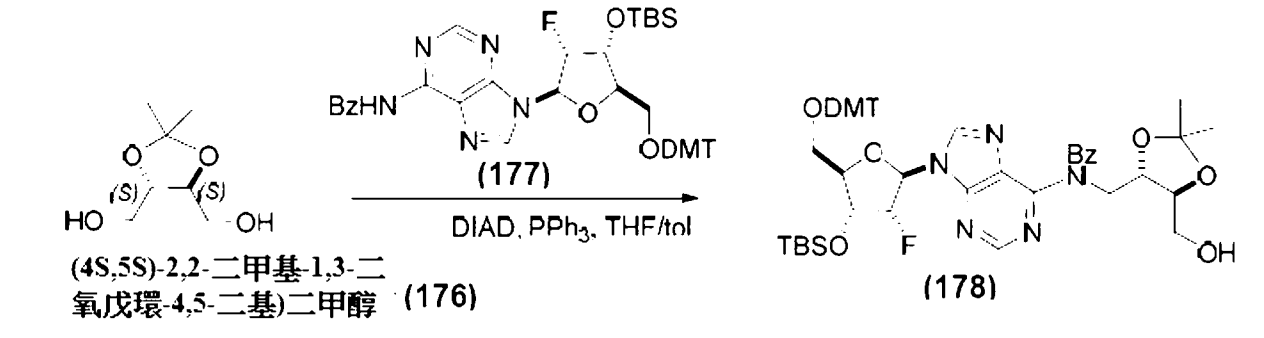
冷凍器中(-20 °C)整夜。移除上清液且剩餘的固體進一步在真空中乾燥以得到0.8 mg 的雙 TEA 鹽化合物31(基於NMR對稱；RpRp 或 SpSp 異構物)。

【0404】 ¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.26 - 7.83 (m, 4H)、6.37 (br s, 2H)、5.89 (br s, 2H)、5.36 - 5.07 (m, 2H)、4.95 (br d, *J* = 3.5 Hz, 2H)、4.58 (br dd, *J* = 6.3, 10.6 Hz, 2H)、4.43 (br s, 2H)、4.12 - 4.00 (m, 4H)、3.89 - 3.70 (m, 2H)、3.19 (q, *J* = 7.2 Hz, 12H)、1.30 (t, *J* = 7.4 Hz, 18H)。

【0405】 實例20-化合物32的合成



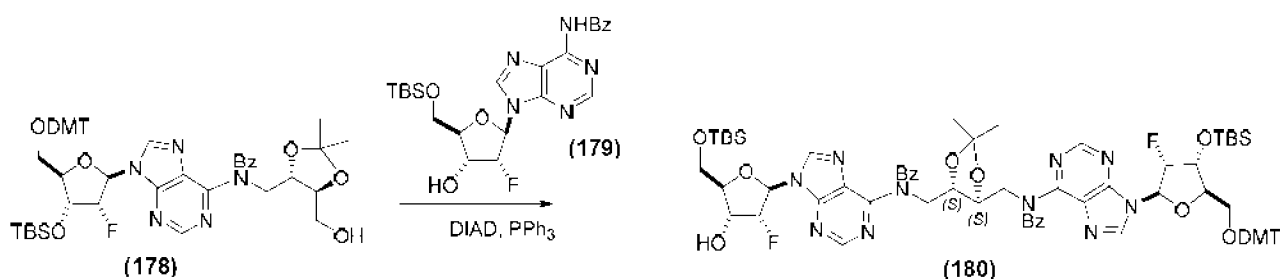
【0406】 化合物178



【0407】對在THF(20.0 ml)及甲苯(30.0 ml)中的化合物177(2.0 g, 2.532 mmol)及(+)-2,3-鄰-亞異丙基-L-蘇糖醇((+)-2,3-O-Isopropylidene-L-threitol)(化合物 176)(1.232 g, 7.595 mmol)之溶液加入三苯膦(0.930 g, 3.544 mmol)。所得到的溶液冷卻至5 °C以下並以DIAD(0.64 ml, 3.3 mmol)處理。反應混合物加溫至室溫。在室溫下攪拌8小時之後加入另外的DIAD (0.64 mL)及PPh₃(0.93 g)。在室溫下攪拌整夜之後，反應混合物在40 °C下攪拌2天並在真空下濃縮。殘餘物的純化藉由矽膠管柱層析進行(SiO₂ 100g 以在正庚烷/EtOAc (1/1)中的1% TEA預處理，在正庚烷中50% 至 70% 的EtOAc)以得到0.524 g白色泡沫固體的化合物178。

【0408】¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.62 (s, 1H)、8.09 (s, 1H)、7.40 - 7.09 (m, 12H)、7.01 - 6.92 (m, 2H)、6.80 - 6.73 (m, 4H)、6.16 (dd, *J* = 2.7, 16.8 Hz, 1H)、5.49 (ddd, *J* = 3.1, 4.3, 53.1 Hz, 1H)、4.85 - 4.75 (m, 2H)、4.63 (dd, *J* = 3.9, 14.8 Hz, 1H)、4.30 - 4.19 (m, 2H)、4.18 - 4.12 (m, 1H)、3.94 (tt, *J* = 3.5, 8.2 Hz, 1H)、3.84 (td, *J* = 5.5, 12.1 Hz, 1H)、3.78 (s, 6H)、3.53 (dd, *J* = 2.7, 10.9 Hz, 1H)、3.17 (dd, *J* = 3.5, 10.9 Hz, 1H)、2.94 (br t, *J* = 5.5 Hz, 1H)、0.89 (s, 6H)、0.83 (s, 9H)、0.08 (s, 3H)、-0.01 (s, 3H)。

【0409】化合物180

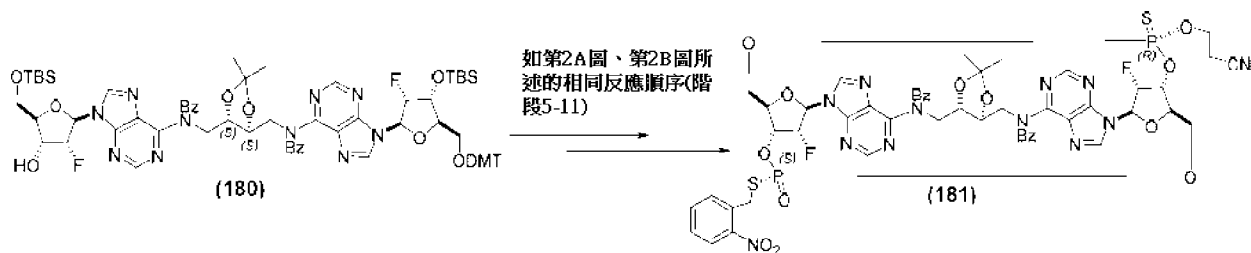


【0410】對在THF(6mL)中化合物178(0.409 g, 0.84 mmol)的溶液加入三苯膦(0.191 g, 0.728 mmol)及DIAD(0.142 ml, 0.728 mmol)。在室溫下攪拌40小時之

後，反應混合物在真空下濃縮並藉由管柱層析純化(SiO_2 50g 以在正庚烷/EtOAc (1/1)中的1% TEA預處理，在正庚烷中50% 至 66% 的EtOAc)以得到0.533 g 的化合物 180。

【0411】 LC/MS：LRMS (ESI) m/z 1403.86 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

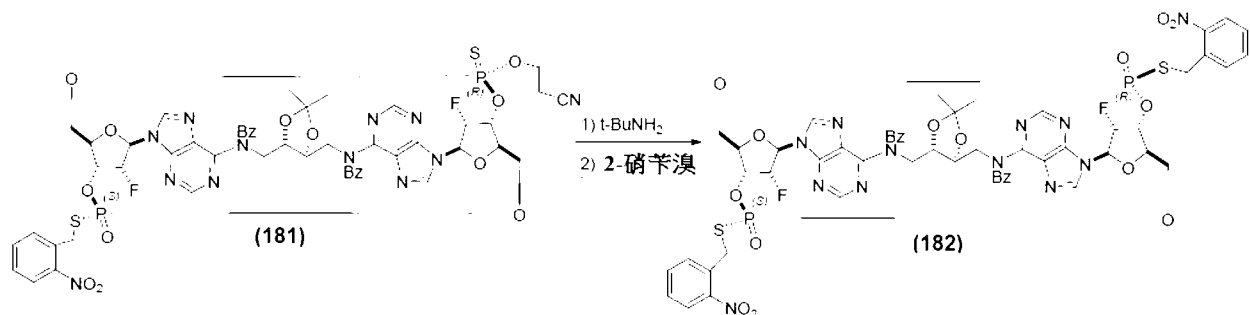
【0412】 化合物181



【0413】 以化合物180作為起始材料，化合物181經由與在第2A圖及第2B圖中所描述相同的反應順序(階段5至11)製備。

【0414】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.72 (s, 1H)、8.14 - 8.06 (m, 1H)、7.93 (s, 1H)、7.69 (s, 1H)、7.62 - 7.53 (m, 6H)、7.53 - 7.45 (m, 1H)、7.43 - 7.33 (m, 2H)、7.30 - 7.24 (m, 3H)、7.19 - 7.12 (m, 2H)、6.11 (d, J = 16.8 Hz, 1H)、6.05 (d, J = 19.5 Hz, 1H)、5.89 (dd, J = 3.5, 52.3 Hz, 1H)、5.57 - 5.46 (m, 1H)、5.41 (dd, J = 3.5, 53.1 Hz, 1H)、5.18 - 5.04 (m, 1H)、4.83 (dd, J = 4.7, 14.4 Hz, 1H)、4.78 - 4.73 (m, 1H)、4.70 (br d, J = 12.1 Hz, 1H)、4.64 - 4.48 (m, 4H)、4.46 - 4.35 (m, 4H)、4.33 - 4.27 (m, 2H)、4.16 - 4.06 (m, 2H)、4.05 - 3.96 (m, 1H)、2.55 (t, J = 6.1 Hz, 2H)、1.26 (s, 6H)。

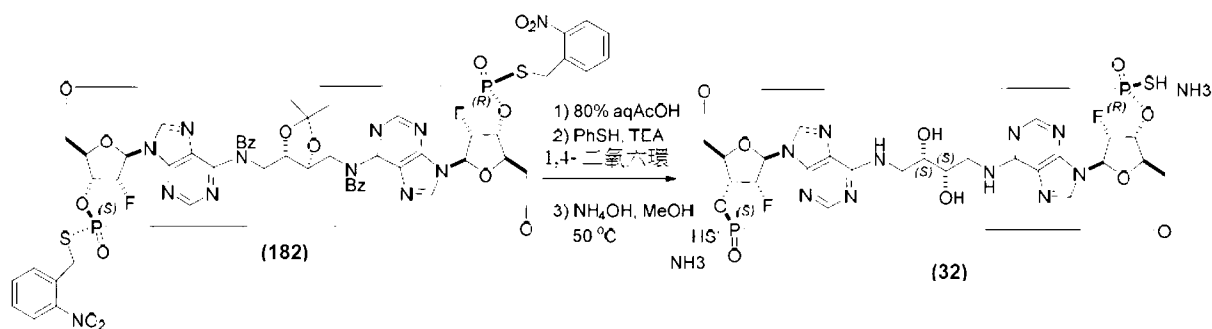
【0415】 化合物182



【0416】對在二氯甲烷(0.5 ml)中的化合物 181(3.2 mg, 2.629 μmol)之溶液加入叔丁胺(0.5 ml, 4.7 mmol)。攪拌30分鐘之後，反應溶液在真空下濃縮並以MeCN共沸兩次。殘餘物溶解於乙腈(1 ml)中並以1-(溴甲基)-2-硝基苯(1.7 mg, 7.9 μmol)處理。烷化完成之後(藉由LCMS監測)，反應混合物以氮氣沖洗(nitrogen purge)濃縮。殘餘物的純化藉由矽膠管柱層析進行(SiO_2 4g，在正庚烷中80%至100%的EtOAc)以得到2 mg 的化合物 182。

【0417】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.12 (dd, J = 1.4, 8.0 Hz, 1H)、8.03 - 8.00 (m, 1H)、8.00 (s, 1H)、7.93 (s, 1H)、7.70 (s, 1H)、7.70 - 7.29 (m, 13H)、7.21 (dt, J = 2.7, 7.6 Hz, 4H)、6.07 (d, J = 19.9 Hz, 1H)、5.94(d, J = 21.1 Hz, 1H)、5.91 - 5.77 (m, 1H)、5.81 (dd, J = 4.3, 51.5 Hz, 1H)、5.62 - 5.49 (m, 1H)、5.54 (dd, J = 3.1, 52.7 Hz, 2H)、4.83 (q, J = 5.9 Hz, 1H)、4.72 - 4.63 (m, 2H)、4.61 - 4.28 (m, 13H)、1.42 (s, 3H)、1.28 (s, 3H)。

【0418】化合物32



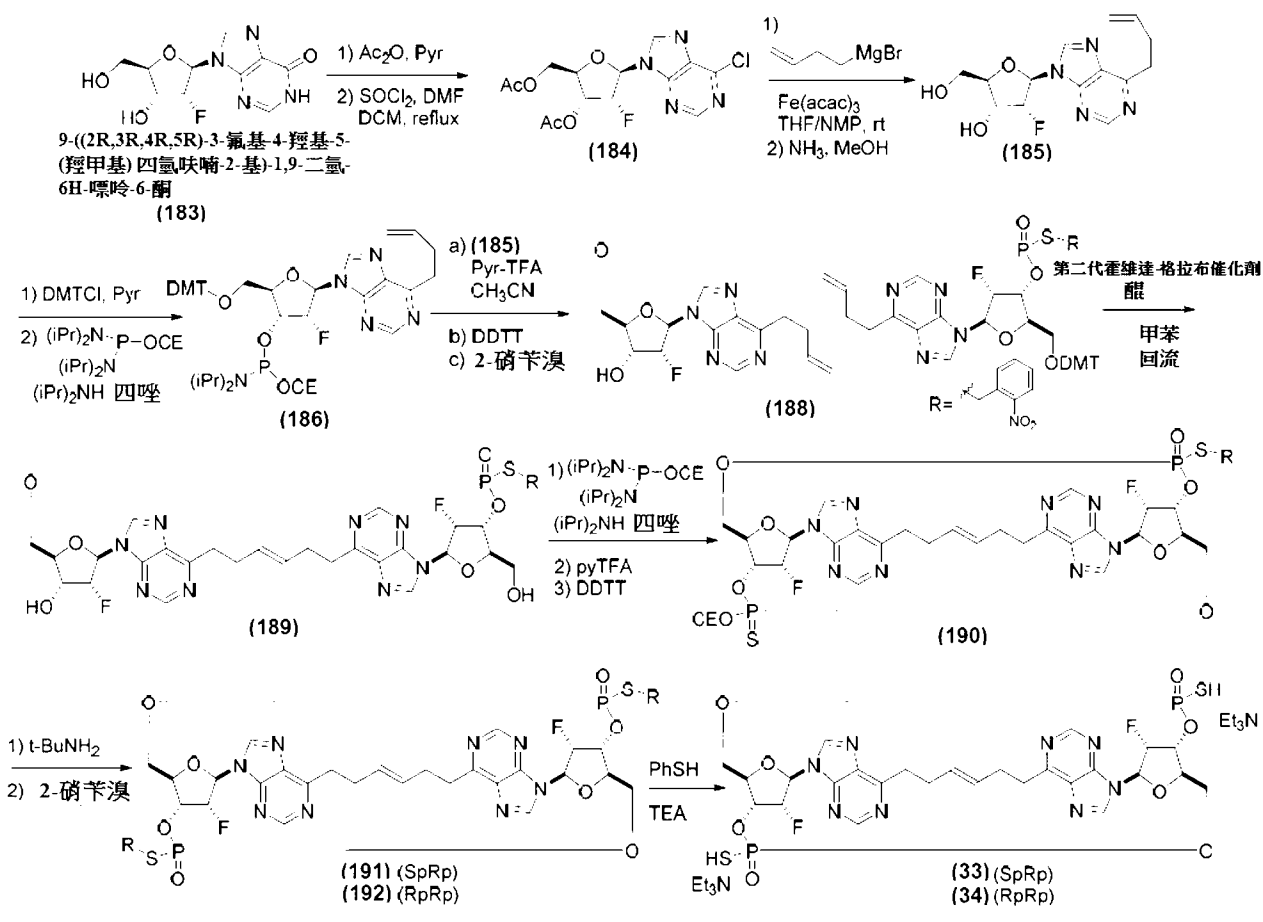
【0419】 對化合物182 (2.0 mg, 1.5μmol)加入醋酸(0.8 ml)及水(0.2 ml)。所得到的混合物在室溫下攪拌14小時，並在45-50 °C 下攪拌24小時，在真空下濃縮並以甲苯共沸兩次。對殘餘物加入1,4-二氧六環(0.12 mL)、硫酚(60 μl)然後加入TEA(60 μl)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後加入甲醇(160 μl)及28% 氫氧化銨(160 μl)。所得到的化合物在50 °C下攪拌直到完成去苄反應(藉由LCMS監測)。完成之後加入水(0.3 ml)。濾除所得到的固體、以水(0.2 mL)潤洗。濾液以甲苯(每次0.5 mL)萃取兩次並在40-50 °C下真空濃縮。殘餘物以水(0.5 mL)處理並濾除所得到的固體、以水(0.1 mL)潤洗。於以下所描述的條件之合併水層的HPLC純化得到1.5 mg 的化合物 32。

【0420】 LC/MS： LRMS (ESI) *m/z* 781.23 [M+H]⁺。

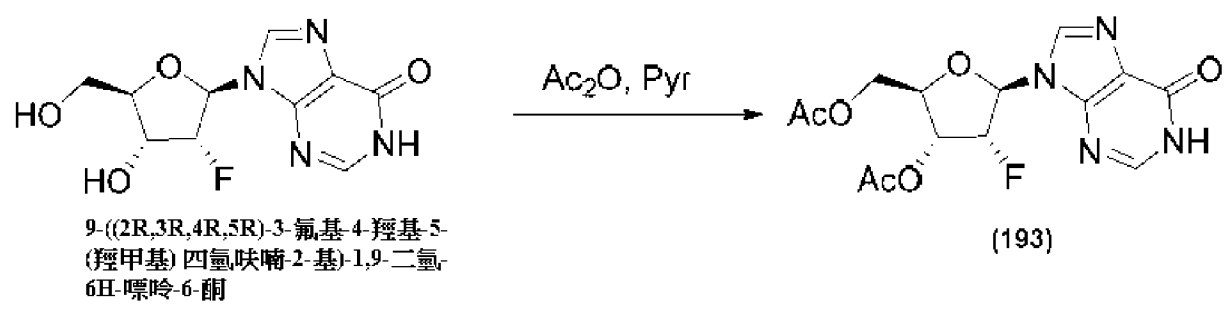
【0421】 化合物32的製備級HPLC條件

儀器	Agilent 1200/1260 AS/FC
HPLC 管柱	Waters Xterra C18, 10 x 100mm # 1414
流速	3.0 ml/min
管柱溫度	35 °C
移動項	A： 在水中 0.1% 的 NH ₄ OH， B： 在乙腈中 0.1% 的 NH ₄ OH
梯度 (B%)	0 → 5
分析時間	20 min
注入體積	50 ul (在水中 1 mg/ml)
偵測	UV 260 nm
滯留時間	12.7 min

【0422】 實例21-化合物33及化合物34的合成



【0423】 化合物193

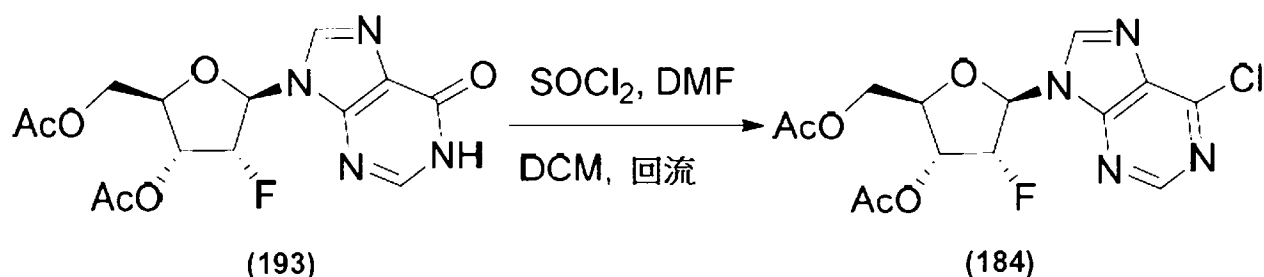


【0424】 對在0 °C之吡啶(75 ml)中的9-((2R,3R,4R,5R)-3-氟基-4-羥基-5-(羥甲基)四氫呋喃-2-基)-1,9-二氫-6H-嘌呤-6-酮 (9-((2R,3R,4R,5R)-3-fluoro-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1,9-dihydro-6H-purin-6-one)、化合物183(5.00 g, 18.5 mmol)之溶液加入Ac₂O (7.0 ml, 74 mmol) 及DMAP (0.565 g, 4.626 mmol)。所得到的混合物加溫至室溫並攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後反應混合物在真空下濃縮並以EtOAc (200 mL) 及水

(50 ml)處理。發生沉澱。所得到的固體藉由過濾收集並以MTBE潤洗。在40 °C下真空乾燥整夜以得到5.81 g 白色固體的化合物 193。

【0425】 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.53 (br s, 1H)、8.33 (s, 1H)、8.15 (d, J = 4.3 Hz, 1H)、6.37 (dd, J = 2.7, 19.1 Hz, 1H)、5.86 (ddd, J = 2.7, 5.1, 51.6 Hz, 1H)、5.62 (ddd, J = 5.5, 7.0, 16.0 Hz, 1H)、4.49 - 4.38 (m, 2H)、4.26 (dd, J = 4.7, 12.1 Hz, 1H)、2.19 (s, 3H)、2.04 (s, 3H)。

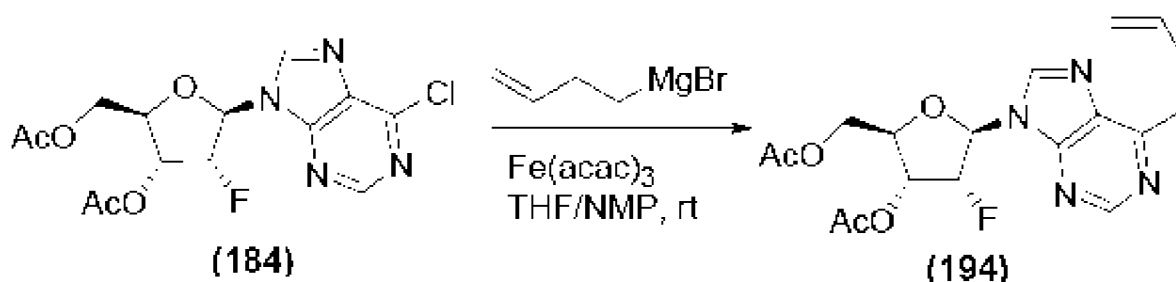
【0426】 化合物184



【0427】 對在0 °C之二氯甲烷 (40.0 ml)中的化合物 193溶液緩慢地加入DMF(1.3 ml, 16.9 mmol)及亞硫醯氯(thionyl chloride)(1.28 ml, 17.5 mmol)。所得到的混合物加熱至回流並攪拌直到所有起始材料被消耗(藉由LCMS監測)。完成之後反應混合物冷卻至室溫並以飽和 NaHCO_3 水溶液(40 mL)處理。分層且水層以二氯甲烷(每次30 mL)萃取兩次。合併的有機層以 MgSO_4 乾燥、過濾並在真空下濃縮以得到2.81 g淺棕色油狀的化合物 184。

【0428】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.79 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 6.29 (dd, J = 2.0, 18.0 Hz, 1H), 5.79 (ddd, J = 1.6, 4.7, 51.6 Hz, 1H), 5.53 (ddd, J = 5.1, 7.6, 17.8 Hz, 1H), 4.58 - 4.48 (m, 2H), 4.33 (dd, J = 3.9, 12.5 Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.07 (s, 3H)。

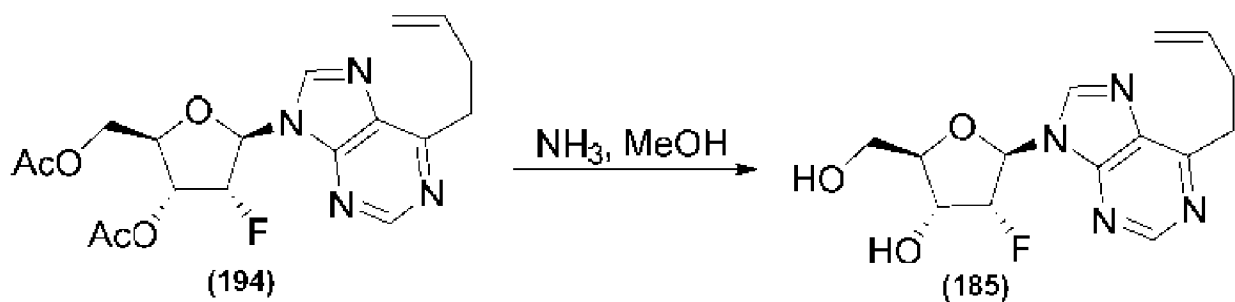
【0429】 化合物194



【0430】對在室溫之THF(7.7 ml) 及 NMP (0.77 ml)混合物中的化合物 184(0.22 g, 0.59 mmol)之溶液加入在THF中的乙醯丙酮鐵(III)(Iron(III) acetylacetonate)(0.021 g, 0.059 mmol)及0.5M 3-丁烯基溴化鎂(3-Butenylmagnesium bromide)(1.77 ml, 0.885 mmol)。反應完成之後(藉由LCMS監測)加入MTBE(10 mL)及 0.1 N HCl(10 mL)。所得到的混合物在室溫下攪拌10分鐘。分層且水層以 EtOAc/MTBE(1/1, 10 ml)的混合物萃取。合併的有機層以30% NaCl 水溶液(5 mL)洗滌、以MgSO₄乾燥並在真空下濃縮。粗產物不經過進一步純化即使用在下一個步驟中。

【0431】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.90 (s, 1H)、8.16 (s, 1H)、6.26 (dd, *J* = 2.0, 18.4 Hz, 1H)、5.98 - 5.85 (m, 1H)、5.90 - 5.73 (m, 1H)、5.63 (ddd, *J* = 4.9, 7.5, 17.7 Hz, 1H)、5.12 - 5.05 (m, 1H)、4.98 (dd, *J* = 1.6, 10.2 Hz, 1H)、4.54 - 4.50 (m, 2H)、4.31 (dd, *J* = 5.1, 12.9 Hz, 1H)、3.30 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H)、2.70 - 2.64 (m, 2H)、2.19 (s, 3H), 2.05 (s, 3H)。

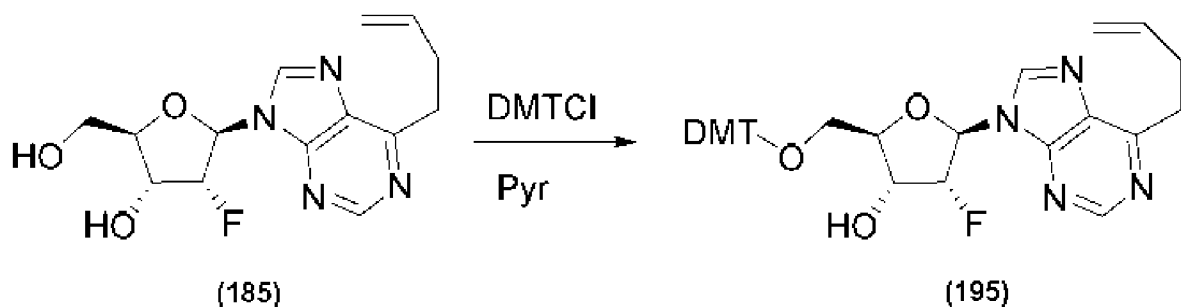
【0432】 化合物185



【0433】 在室溫下將化合物194(0.232 g, 理論上為0.590 mmol)的粗產物溶解於甲醇(1.5 ml)中並以2.0 M MeOH中的氨(1.5 ml, 3.0 mmol)處理。去乙醯作用完成後反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 10g, 在EtOAc中0% 至 5% 的MeOH)以得到0.17g 的化合物 185。

【0434】 LCMS: MS (ESI) m/z 309.20 [M+H]⁺

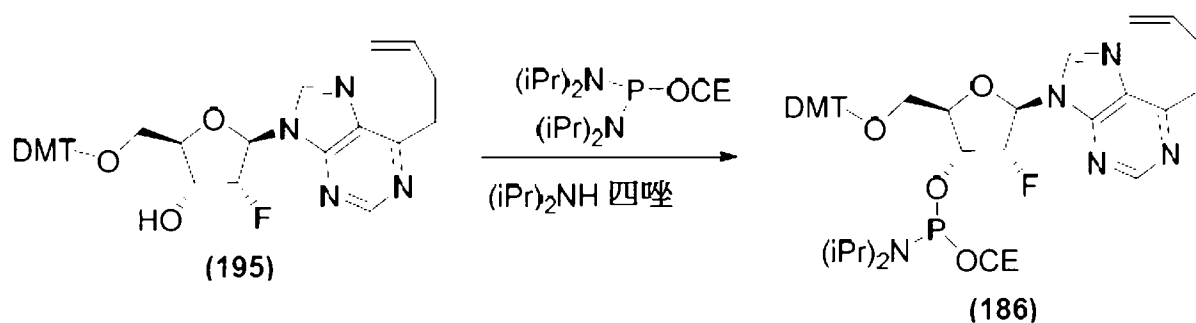
【0435】 化合物195



【0436】 對0°C的吡啶 (9.0 ml)中的化合物185(1.22 g, 2.928 mmol)之溶液加入 4,4'-(氯 基 (苯 基) 伸 甲 基) 雙 (甲 氧 苯) (4,4'-(chloro(phenyl)methylene)bis(methoxybenzene))(1.042 g, 3.075 mmol)。容許反應混合物加溫至室溫同時藉由LCMS監測反應。完成之後加入MTBE(18 mL)及飽和 NaHCO₃ 水溶液(9.0 ml)。攪拌10分鐘之後，分層且水層以MTBE (18.0 ml)萃取。合併的有機層以30% NaCl水溶液 (10 ml)洗滌、過濾及在真空下濃縮。藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 50 g, 含有1% TEA之庚烷中50% 至100%乙酸乙酯)以得到1.53 g橘色固體的化合物 195。

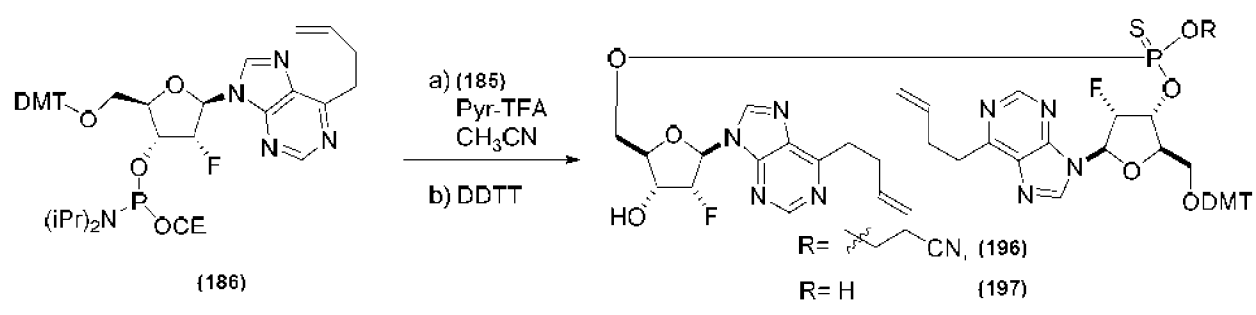
【0437】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.86 - 8.78 (m, 1H)、8.21 (s, 1H)、7.40 - 7.36 (m, 2H)、7.31 - 7.18 (m, 7H)、6.79 (d, J = 8.6 Hz, 4H)、6.29 (dd, J = 2.3, 17.2 Hz, 1H)、5.92 (tdd, J = 6.4, 10.4, 17.0 Hz, 1H)、5.70 (ddd, J = 2.7, 4.7, 52.8 Hz, 1H)、5.09 (dd, J = 1.6, 17.2 Hz, 1H)、4.97 (dd, J = 1.6, 10.2 Hz, 1H)、4.90 - 4.77 (m, 1H)、4.26 - 4.19 (m, 1H)、3.78 (s, 6H)、3.56 (dd, J = 3.1, 10.9 Hz, 1H)、3.43 (dd, J = 4.3, 10.9 Hz, 1H)、3.33 - 3.28 (m, 2H)、2.70 - 2.64 (m, 2H)、2.20 (dd, J = 2.5, 7.2 Hz, 1H)。

【0438】 化合物186



【0439】 室溫的二氯甲烷(23 ml)中的化合物195(1.530 g, 2.505 mmol)之溶液加入3-(雙(二異丙基胺基)磷氧基丙烷腈(1.20 ml, 3.76 mmol)及四唑二異丙基銨(0.493 g, 2.881 mmol)。反應混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測過程。完成之後反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO_2 50g, 在含有1% TEA 的正庚烷中40% 至 66%的 EtOAc)以得到1.80 g淡橘色泡沫固體的化合物186。

【0440】 化合物196及197

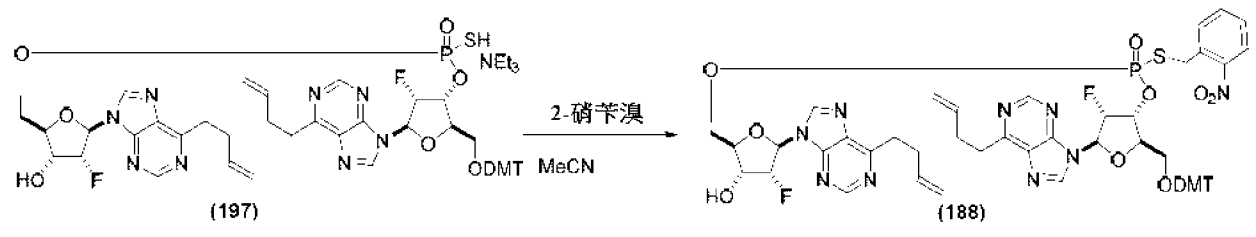


【0441】 將化合物186(1.8 g, 2.22 mmol)及化合物185(1.110 g, 2.664 mmol)溶解於乙腈(21.6 ml)中並在真空下濃縮。再一次重複相同的操作。所得到的混合物溶解於乙腈(21.6 ml)中並在室溫下以三氟乙酸吡啶(pyridinium trifluoroacetate) (0.514 g, 2.664 mmol)處理。完成反應之後(藉由LCMS監測)，加入(二甲基胺-亞甲基)-3H-1,2,4-噻唑啉-3-硫酮((Dimethylamino-methylidene)amino)-3H-1,2,4-dithiazaoline-3-thione) (0.911 g, 4.439 mmol)且在室溫下攪拌所得到的混合物。硫化反應完成後(藉由LCMS監測)，加入飽和NaHCO₃水溶液(30 ml)且所得到的混合物以MTBE (每次30 mL)萃取三次。合併的有機層以30% NaCl水溶液(20 ml)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 100g, 在含有1% TEA的EtOAc中0% 至 10% 的MeOH) 以得到 0.481 g 的化合物196及1.315 g 的化合物 197。

【0442】 化合物 196： LCMS： MS (ESI) *m/z* 1073.25 [M+Na]⁺

【0443】 化合物 197： LCMS： MS (ESI) *m/z* 995.23 [M-H]⁻

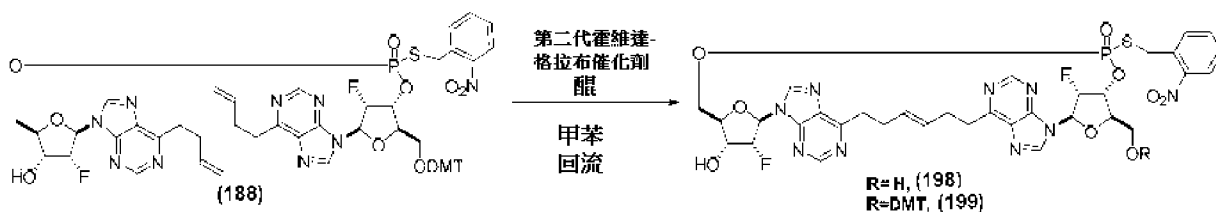
【0444】 化合物188



【0445】 對室溫的MeCN(20 ml)中的TEA鹽化合物197(1.315 g, 1.197 mmol)之溶液加入2-硝苄溴(0.388 g, 1.796 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後反應混合物在真空下濃縮，並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 100g, 在EtOAc中 0% 至 5%的MeOH)以得到0.90 g的化合物 188。

【0446】 LCMS : MS (ESI) m/z 1154.29 [M+Na]⁺

【0447】 化合物198

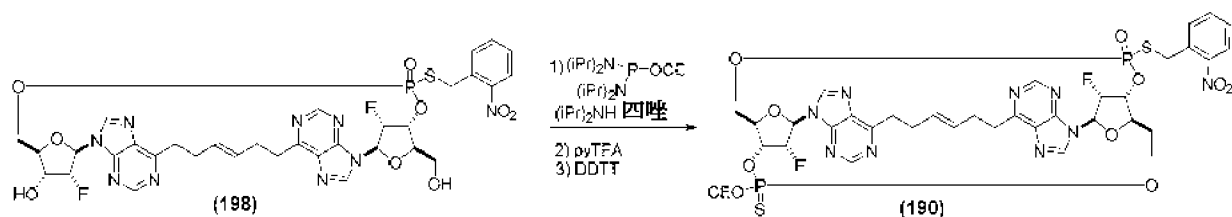


【0448】 對在輕度回流(內部溫度為110-112 °C)之甲苯 (540 ml)中的化合物 188(1.35 g, 1.192 mmol)之溶液加入在甲苯 (20 mL)中第二代霍維達-格拉布催化劑(0.187 g, 0.298 mmol)及醌(0.322 g, 2.981 mmol)的溶液。所得到的溶液在110-112 °C之間攪拌同時藉由LCMS監測反應。4個小時之後，加入額外的催化劑(0.10 g, 0.16 mmol)並持續在回流下攪拌。完成之後反應混合物冷卻至室溫並以DMSO (2.54 ml, 35.8 mmol)處理。攪拌3小時之後，反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 50g, 在EtOAc中0% 至15% 的MeOH)以得到化合物198及化合物199的混合物。混合物溶解於二氯甲烷 (2 mL)中並以水(0.021 ml, 1.2 mmol)及6%的二氯甲烷(2 mL)中的二氯乙酸(0.098 ml, 1.2 mmol)處理。10分鐘之後反應以吡啶(1 ml)淬滅並在真空下濃縮。殘餘物溶解於二氯甲烷 (50 mL)中及以30% NaCl水溶液洗滌兩次(每次15 mL)並以MgSO₄乾燥。藉由矽膠管柱層析純化粗產物(SiO₂ 50g, 在DCM中5% 至 10%的MeOH)以得到0.25 g 的化合物198。

【0449】 化合物 199 : LCMS : MS (ESI) m/z 1104.31 [M+H]⁺

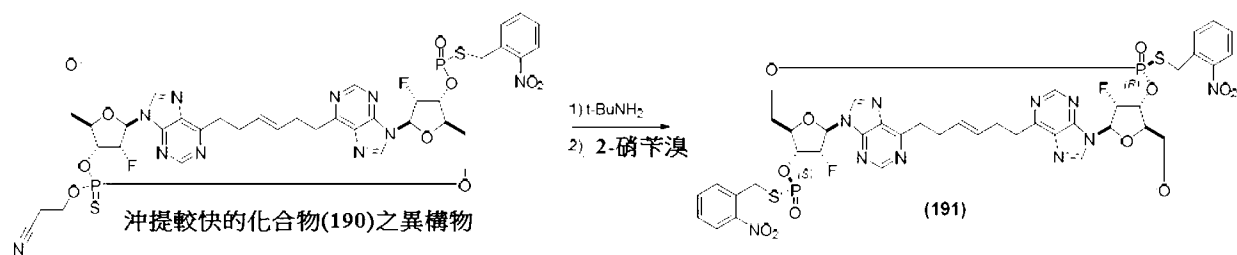
【0450】 化合物 198 : LCMS : MS (ESI) m/z 802.16 $[M+H]^+$

【0451】 化合物190



【0452】 將化合物198(0.233 g, 0.291 mmol)及 3-(雙(二異丙基胺基)磷氧基丙烷腈(0.111 ml, 0.349 mmol) 溶解於MeCN (10 mL)中並在真空下濃縮。再重複兩次相同的操作。所得到的混合物溶解於二氯甲烷(2.3 ml)中，冷卻至 0-5 °C並以四唑二異丙基銨(0.025 g, 0.145 mmol)處理。反應混合物加溫至室溫整夜然後以乙腈(2.3 ml)稀釋。所得到的溶液經由注射泵於7小時期間加入在MeCN(18.6 ml)中的吡啶三氟乙酸鹽(0.168 g, 0.872 mmol)溶液。之後於2小時期間加入在MeCN (2 mL) 中的3-(雙(二異丙基胺基)磷氧基丙烷腈(40 mg, 0.133 mmol)溶液。攪拌1小時之後，加入(E)-N,N-二甲基-N'-(3-硫代-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)甲脒(0.119 g, 0.581 mmol)並攪拌反應溶液直到完成硫化反應(藉由LCMS監測)。完成之後混合物在真空下濃縮、溶解於MTBE(5 ml)中並以飽和NaHCO₃水溶液(3.50 ml)及水(1.2 ml)處理。分層且水層以MTBE/EtOAc(5/3 ml)的混合物萃取。合併的有機層以30% NaCl 水溶液 (2.3 ml)洗滌兩次，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。藉由矽膠管柱層析純化粗產物(SiO₂ 25g, 在EtOAc 中0% 至 20% 的MeOH)以得到119 mg 的化合物190(58 mg 沖提較快的異構物及61 mg 沖提較慢的異構物)。

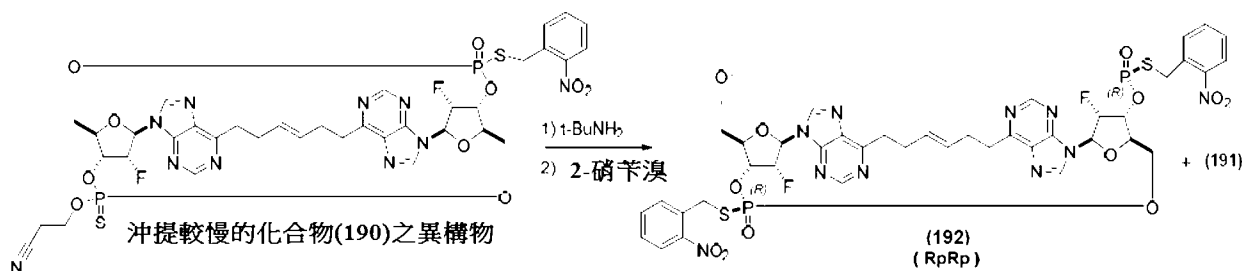
【0453】 化合物191(SpRp異構物)



【0454】 對在二氯甲烷(1.8 mL)中沖提較快的化合物190之異構物之溶液加入叔丁胺(1.2 ml, 11 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌直到所有起始材料被消耗(藉由LCMS監測)。完成之後反應混合物在真空下濃縮，以乙腈共沸兩次並溶解於乙腈(1.7 ml)中。對所得到的溶液加入1-(溴甲基)-2-硝基苯(40.3 mg, 0.187 mmol)。反應混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成烷化作用之後，反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 10g, 在EtOAc 中0% 至5% 的MeOH)以得到19 mg 的化合物191 (SpRp 異構物)。

【0455】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.42 (s, 1H)、8.27 (s, 1H)、8.13 (dd, *J* = 1.2, 8.2 Hz, 1H)、8.05 (s, 1H)、7.98 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H)、7.69 - 7.67 (m, 1H)、7.61 - 7.34 (m, 5H)、6.33 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H)、6.19 (d, *J* = 19.9 Hz, 1H)、6.09 - 5.93 (m, 1H)、5.82 - 5.66 (m, 2H)、5.67 (dd, *J* = 3.5, 50.8 Hz, 1H)、5.35 - 5.32 (m, 2H)、4.62 - 4.29 (m, 11H)、3.35 - 3.28 (m, 1H)、3.18 - 3.14 (m, 2H)、3.01 - 2.91 (m, 1H)、2.84 - 2.78 (m, 1H)、2.60 - 2.49 (m, 3H)。

【0456】 化合物192 (RpRp異構物)

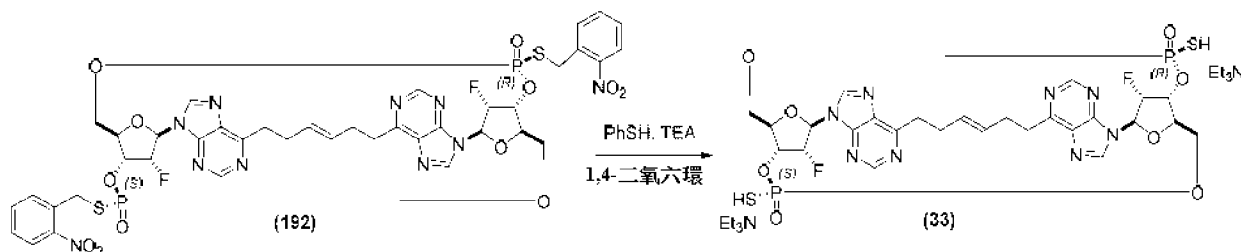


【0457】 沖提較慢的化合物190之異構物(60 mg)進行與描述於化合物191相同的反應順序以得到14 mg 的化合物 192及 7 mg 的化合物 191。

【0458】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) δ = 8.18 (s, 2H)、8.10 (s, 2H)、8.10 (dd, J = 1.0, 8.0 Hz, 2H)、7.66 - 7.57 (m, 4H)、7.53 - 7.46 (m, 2H)、6.31 (d, J = 17.6 Hz, 2H)、6.19 - 6.05 (m, 2H)、5.84 (dd, J = 4.3, 50.8 Hz, 2H)、5.39 - 5.30 (m, 2H)、4.58 - 4.46 (m, 6H)、4.45 - 4.39 (m, 2H)、4.19 (ddd, J = 3.1, 6.3, 10.2 Hz, 2H)、3.32 (td, J = 3.5, 15.6 Hz, 2H)、3.06 (td, J = 6.3, 15.2 Hz, 2H)、2.67 - 2.57 (m, 4H)。

【0459】 基於合成方法學、NMR 數據 (對稱的) 及 HPLC 滯留時間 (沖提最慢的異構物) 及衍生自化合物192之化合物34的生物活性，申請人相信化合物192具有RR磷立體化學。此立體化學配置將藉由X射線結晶圖譜確認。

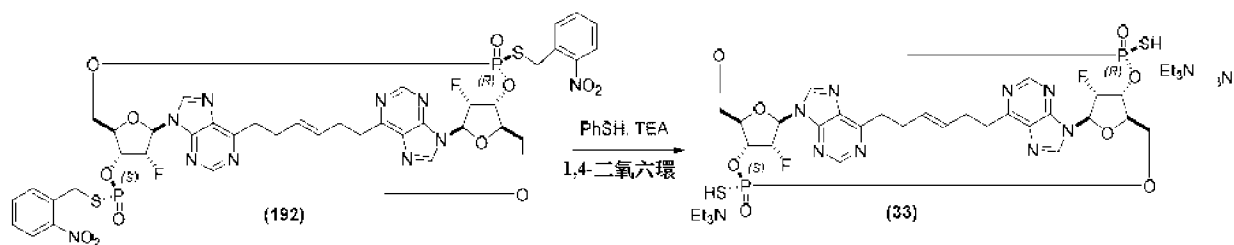
【0460】 化合物33



【0461】 對在1,4-二氧六環(0.52 ml)中的化合物 192(26 mg, 0.026 mmol)之溶液加入硫酚(0.26 ml, 2.5 mmol)然後加入TEA(0.26 ml, 1.9 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌直到去保護作用完成(藉由LCMS監測)。完成之後加入水(2mL)。所得到的混合物以甲苯 (每次2 mL)萃取三次。水層在40-50 °C下真空濃縮並溶解於水(2 mL)中。所得到的混合物以EtOAc/MTBE(每次1/1mL)萃取四次。水層在真空下濃縮以得到化合物33的雙TEA鹽。

【0462】 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ = 9.06 (s, 1H)、8.73 (s, 1H)、8.56 (s, 1H)、8.47 (s, 1H)、6.43 (d, J = 14.4 Hz, 1H)、6.38 (d, J = 15.2 Hz, 1H)、6.27 (dd, J = 3.5, 51.1 Hz, 1H)、5.63 (dd, J = 2.7, 51.5 Hz, 1H)、5.30 - 5.14 (m, 2H)、5.06 - 4.91 (m, 2H)、4.58 (br d, J = 12.5 Hz, 1H)、4.52 - 4.39 (m, 3H)、4.07 (dd, J = 4.7, 11.7 Hz, 1H)、3.98 (dd, J = 5.1, 12.5 Hz, 1H)、3.43 - 3.34 (m, 2H)、3.22 (q, J = 7.2 Hz, 12H)、2.98 - 2.86 (m, 2H)、2.79 - 2.45 (m, 4H)、1.32 (t, J = 7.4 Hz, 18H)。

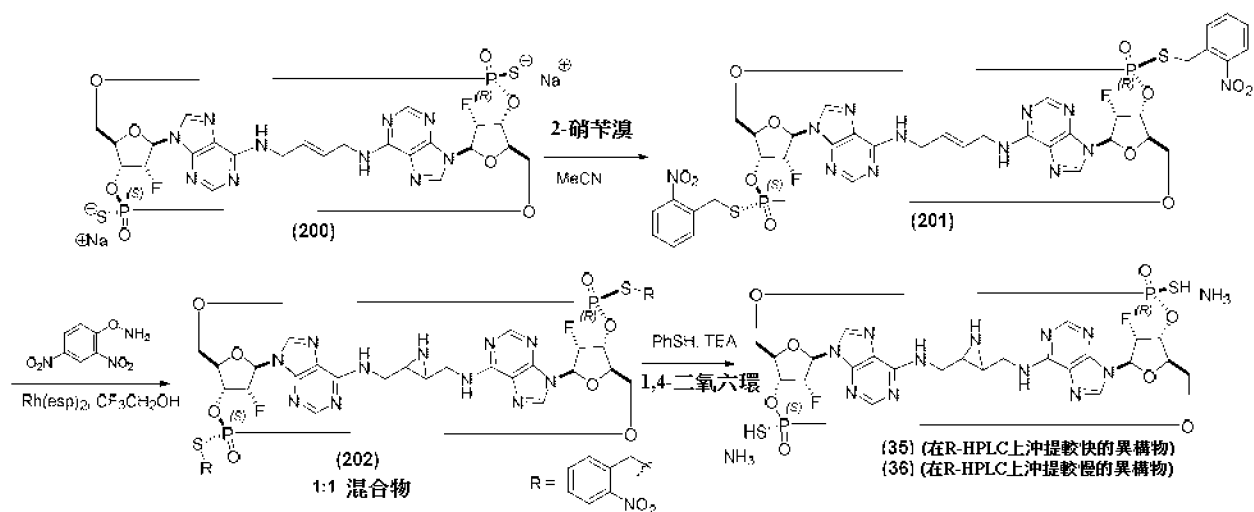
【0463】 化合物34



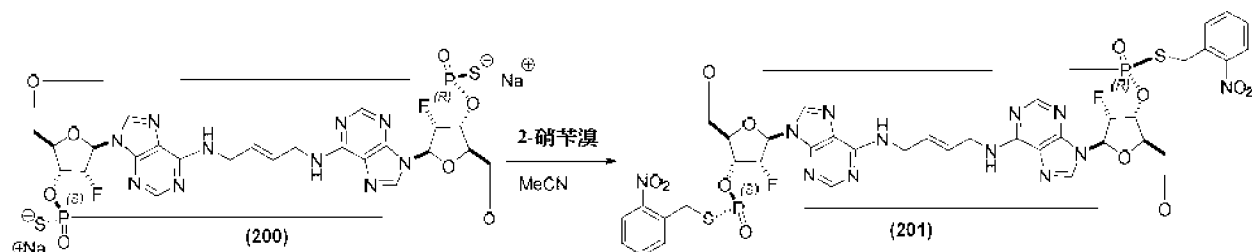
【0464】 以化合物192作為起始材料，化合物34經由與化合物33中所描述的相同反應順序製備。

【0465】 ^1H NMR (400 MHz, 甲醇- d_4) δ = 8.77 (s, 2H)、8.49 (s, 2H)、6.39 (d, J = 15.2 Hz, 2H)、5.71 (dd, J = 3.1, 51.2 Hz, 2H)、5.24 - 5.13 (m, 2H)、5.02 (dtd, J = 3.1, 9.0, 25.4 Hz, 2H)、4.54 (br d, J = 12.1 Hz, 2H)、4.42 (br d, J = 9.8 Hz, 2H)、3.99 (dd, J = 5.9, 12.1 Hz, 2H)、3.20 (q, J = 7.3 Hz, 12H)、2.90 (ddd, J = 3.5, 10.2, 14.1 Hz, 2H)、2.81 - 2.70 (m, 2H)、2.55 - 2.43 (m, 2H)、1.30 (t, J = 7.4 Hz, 18H)。

【0466】 實例22-化合物35及化合物36的合成



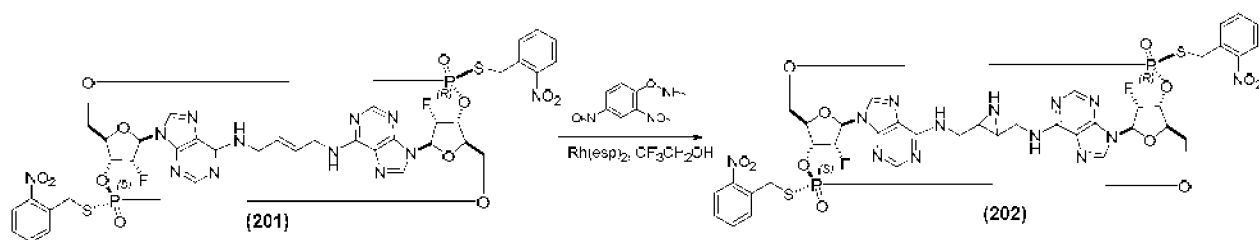
【0467】 化合物201



【0468】 對化合物200(0.10 g, 0.126 mmol)的二鈉鹽加入2-硝苄溴(0.068 g, 0.316 mmol)及MeCN(2.0 ml)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後反應混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 10g, 在DCM 中0% 至 5% 的MeOH)以得到115 mg 的化合物201。

【0469】 ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.13 (dd, *J* = 0.8, 8.2 Hz, 1H)、8.06 (s, 1H)、8.03 (dd, *J* = 1.0, 8.0 Hz, 1H)、7.80 (br s, 1H)、7.75 (s, 1H)、7.70 - 7.65 (m, 1H)、7.62 - 7.54 (m, 2H)、7.53 - 7.47 (m, 2H)、7.45 - 7.39 (m, 1H)、7.34 - 7.27 (m, 1H)、6.23 (br d, *J* = 16.8 Hz, 1H)、6.14 (br d, *J* = 18.8 Hz, 1H)、5.95 (br s, 2H)、5.77 (td, *J* = 5.1, 15.2 Hz, 2H)、5.71 (td, *J* = 5.1, 15.6 Hz, 1H)、5.63 - 5.55 (m, 1H)、5.47 (br d, *J* = 11.7 Hz, 1H)、4.58 - 4.27 (m, 11H)、4.18 - 4.10 (m, 1H)、4.05 - 3.71 (m, 2H)。

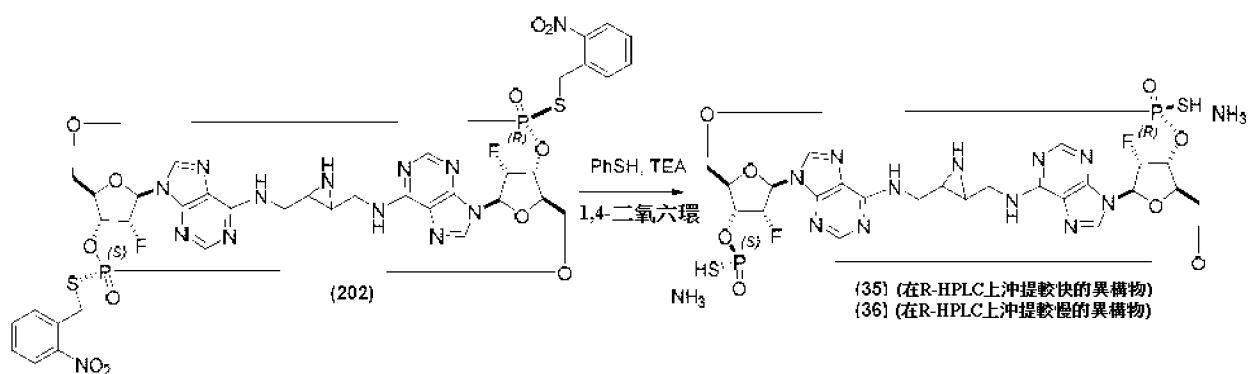
【0470】 化合物202



【0471】 對在2,2,2-三氟乙醇(2,2,2-trifluoroethanol)(2 ml)中的化合物 201 (77 mg, 0.076 mmol) 之溶液於同時加入鄰-(2,4-二硝基)羟胺 (O-(2,4-Dinitrophenyl)hydroxylamine)(36.5 mg, 0.183 mmol)及雙[銻($\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -四甲基-1,3-苯二丙酸)](bis[rhodium($\alpha,\alpha,\alpha',\alpha'$ -tetramethyl-1,3-benzenedipropionic acid))](5.74 mg, 0.015 mmol)。混合物在室溫下攪拌整夜，以DCM(10 mL)稀釋並以飽和NaHCO₃水溶液(10 mL)處理。分層且水層以DCM(每次10 mL)萃取兩次。合併的有機層以MgSO₄乾燥並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 10g, 在EtOAc中0% 至 15%的MeOH)以得到3.3 mg 的化合物 202。

【0472】 LCMS：MS m/z 1032.07 [M+H]⁺

【0473】 化合物35及化合物36



【0474】 對在1,4-二氧六環(0.40 ml)中的化合物202(3.3 mg, 3.2 μ mol)之溶液加入硫酚(0.2 ml, 1.9 mmol)及TEA(0.2 ml, 1.4 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後反應混合物以水(2mL)處理並以甲苯(每次2

mL)萃取三次。水層在40-50 °C下真空濃縮並溶解於水(1.5 ml)中。濾除所得到的固體、以水(0.5 mL)潤洗。在下列描述的條件下知合併濾液的HPLC分離得到化合物 35 (滯留時間： 8.4 min)及化合物 36 (滯留時間： 8.9 min)。

【0475】 化合物35

【0476】 LCMS： MS *m/z* 762.08 [M+H]⁺

【0477】 化合物36

【0478】 LCMS： MS *m/z* 762.22 [M+H]⁺

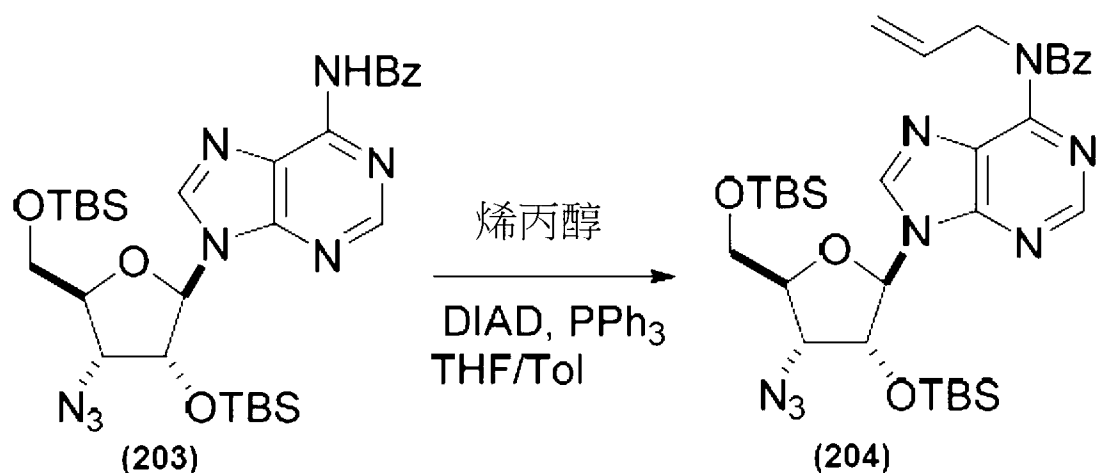
【0479】 化合物35/化合物36的製備級HPLC條件

儀器		Agilent 1200/1260 AS/FC
HPLC 管柱		Waters Xterra C18, 10 x 100mm # 3128
流速		3.0 ml/min
管柱溫度		35 °C
移動相		A： 在水中 0.1%的甲酸， B： 在乙腈中 0.1% 的甲酸
梯度 (B%)		0 → 50
分析時間		20 min
注入體積		50 ul (在水中 1 mg/ml)
偵測		UV 260 nm
滯留時間	化合物 35	8.4 min
	化合物 36	8.9 min

【0480】 實例23-化合物38及化合物39的合成

【0481】 第13圖顯示化合物38及化合物39的合成實例

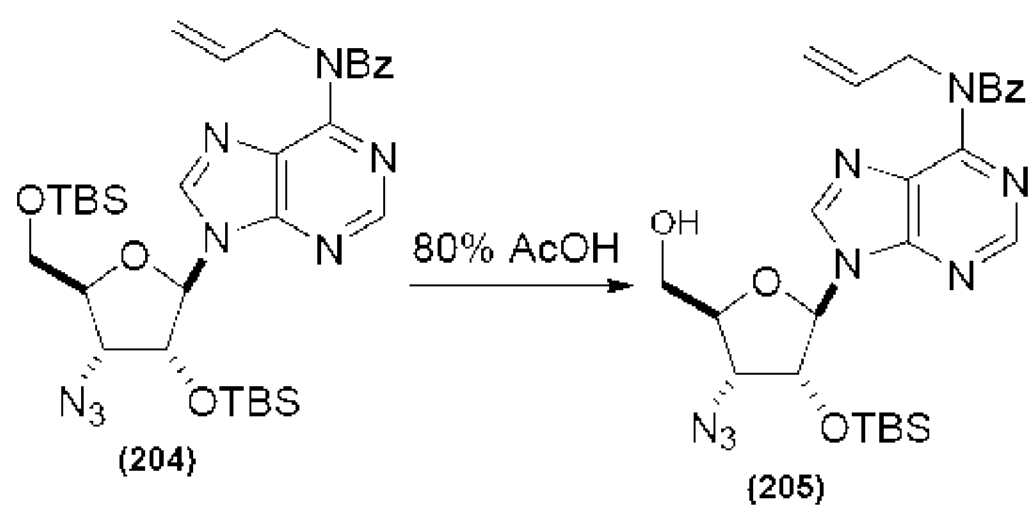
【0482】 步驟1



【0483】 對0 °C之THF(50 mL)中的化合物203(5.82 g, 9.314 mmol)及烯丙醇(0.95 ml, 14 mmol)之溶液加入DIAD(2.4 ml, 11.6 mmol)之溶液及在甲苯(25 ml)中的三苯膦(2.93 g, 11.2 mmol)，同時維持內部溫度低於10 °C。所得到的溶液加溫至室溫並攪拌，同時藉由LCMS監測反應。完成之後(5小時)混合物真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(100 g, 在正庚烷中20% 至 60% 的EtOAc)以得到4.56 g 的粉色油狀的化合物 204。

【0484】 化合物204：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.55 (s, 1H)、8.24 (s, 1H)、7.46 (d, J = 8.2 Hz, 2H)、7.31 - 7.23 (m, 1H)、7.20 - 7.10 (m, 2H)、6.02 (d, J = 5.1 Hz, 1H)、6.07 - 5.95 (m, 1H)、5.21 (dd, J = 1.6, 17.2 Hz, 1H)、5.05 (dd, J = 1.4, 10.4 Hz, 1H)、5.00 (d, J = 5.5 Hz, 2H)、4.82 (t, J = 4.9 Hz, 1H)、4.22 - 4.16 (m, 1H)、4.05 - 4.00 (m, 2H)、3.82 (dd, J = 2.5, 11.5 Hz, 1H)、0.95 (s, 9H)、0.81 (s, 9H)、0.14 (s, 3H)、0.13 (s, 3H)、0.00 (s, 3H)、-0.23 (s, 3H)。

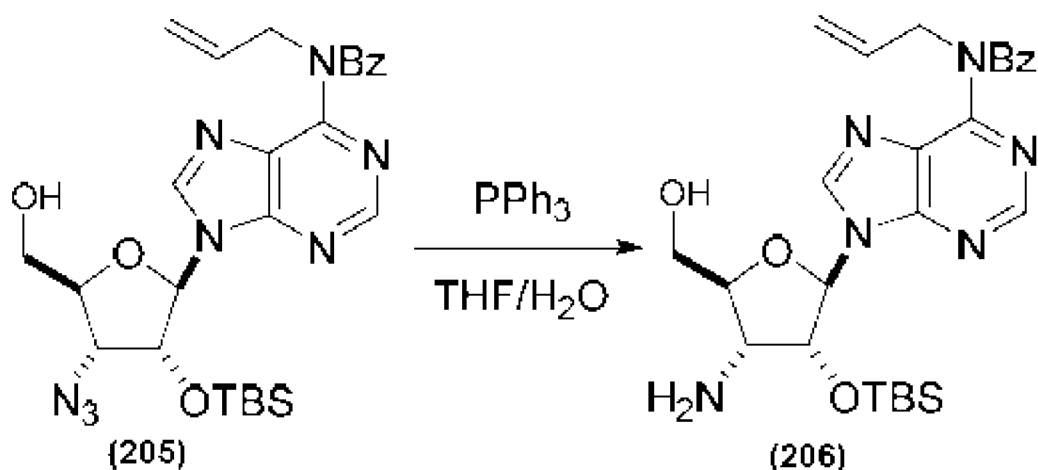
【0485】 步驟2



【0486】 對化合物 204(4.56 g, 6.858 mmol) 加入醋酸(80 ml)及水(20 ml)。所得到的混合物在室溫下攪拌整夜及在35 °C下攪拌1天。所得到的混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂, 50g, 在正庚烷中33% 至 60% 的EtOAc)以得到3.22 g 白色泡沫固體的化合物205。

【0487】 化合物205：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.56 (s, 1H)、7.88 (s, 1H)、7.51 - 7.47 (m, 2H)、7.32 - 7.27 (m, 1H)、7.20 - 7.16 (m, 2H)、6.06 - 5.95 (m, 1H)、5.72 (d, J = 7.8 Hz, 1H)、5.26 (dd, J = 5.5, 7.8 Hz, 1H)、5.20 (dd, J = 1.6, 17.2 Hz, 1H)、5.06 (dd, J = 1.6, 10.2 Hz, 1H)、5.03 - 4.98 (m, 2H)、4.23 (d, J = 5.5 Hz, 1H)、4.14 (s, 1H)、3.92 (dd, J = 1.6, 12.9 Hz, 1H)、3.68 (br d, J = 12.9 Hz, 1H)、0.75 (s, 9H)、-0.14 (s, 3H)、-0.62 (s, 3H)。

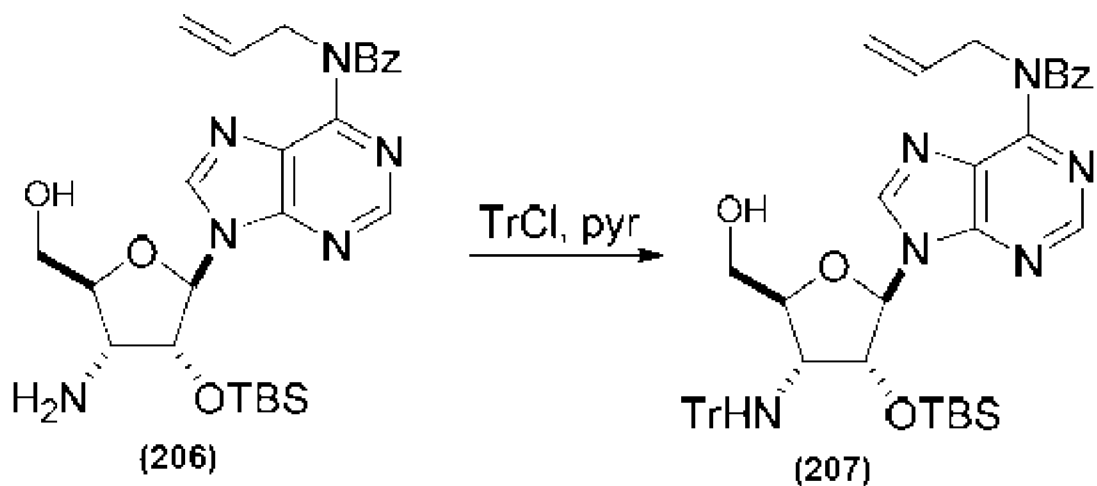
【0488】 步驟3



【0489】對在室溫之THF(120 mL)中的化合物205(3.22 g, 5.847 mmol)之溶液加入水(30 ml)及三苯膦(2.454 g, 9.355 mmol)。所得到的化合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測反應。完成之後(18小時)反應混合物在真空下濃縮並以MeCN共沸三次。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ (NH) 55g, 在正庚烷中20% 至100%的EtOAc)以得到4.82 g的化合物206(假設純度63%)。產物不經過進一步純化即使用在下一個步驟中。

【0490】化合物260：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.56 (s, 1H)、7.92 (s, 1H)、7.54 (qd, *J* = 1.6, 7.6 Hz, 2H)、7.31 - 7.27 (m, 1H)、7.19 - 7.15 (m, 2H)、6.07 - 5.94 (m, 1H)、5.84 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H)、5.50 (br d, *J* = 10.6 Hz, 1H)、5.20 (dd, *J* = 1.6, 17.2 Hz, 1H)、5.05 (dd, *J* = 1.4, 10.4 Hz, 1H)、5.02 - 4.98 (m, 2H)、4.95 - 4.91 (m, 1H)、4.16 - 4.08 (m, 2H)、3.96 (dd, *J* = 1.6, 12.9 Hz, 1H)、3.73 (dd, *J* = 2.0, 5.5 Hz, 1H)、3.73 - 3.67 (m, 1H)、0.78 (s, 9H)、-0.20 (s, 3H)、-0.46 (s, 3H)。

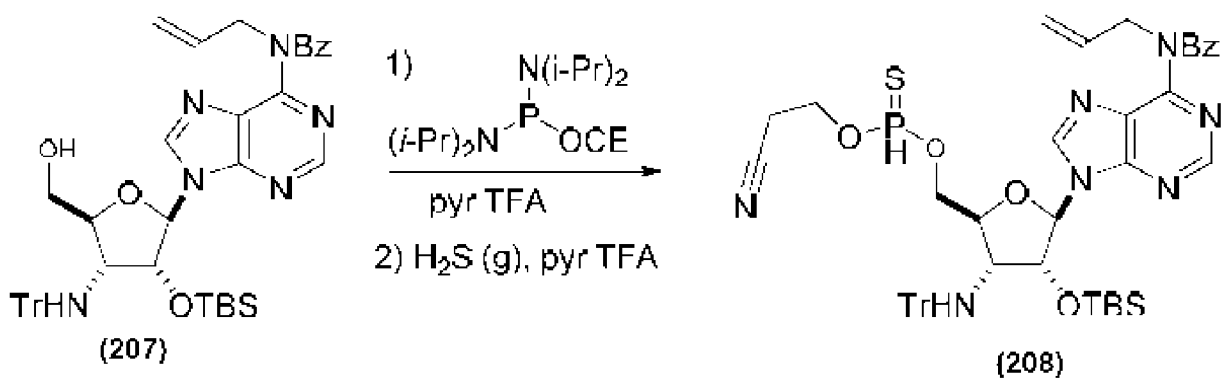
【0491】步驟4



【0492】 對室溫之吡啶(39.0 ml)中的化合物206(4.82g, 純度63%, 5.72 mmol)之溶液加入TEA(1.3 ml, 8.6 mmol)及三苯甲基-氯(trityl-Cl)(1.753 g, 6.289 mmol)。反應完成之後(藉由LC/MS監測)加入飽和NaHCO₃水溶液(60 mL)。所得到的混合物以MTBE/EtOAc(1/1, 每次70 mL)的混合物萃取三次。合併的有機層以30% NaCl水溶液(30 mL)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 50g以在EtOAc/正庚烷中的1% TEA 預處理，在含有1% TEA的正庚烷中的20% 至 100% 的EtOAc)以得到 1.484 g 白色固體的化合物 207。

【0493】 化合物207：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.49 (s, 1H)、8.10 (s, 1H)、7.50 - 7.46 (m, 8H)、7.31 - 7.22 (m, 7H)、7.20 - 7.14 (m, 5H)、6.11 (d, J = 6.3 Hz, 1H)、6.07 - 5.94 (m, 1H)、5.20 (dd, J = 1.2, 17.2 Hz, 1H)、5.06 (dd, J = 1.4, 10.4 Hz, 1H)、5.03 - 4.98 (m, 2H)、4.84 (dd, J = 3.1, 10.6 Hz, 1H)、4.52 (t, J = 5.7 Hz, 1H)、3.78 (d, J = 1.6 Hz, 1H)、3.64 - 3.57 (m, 1H)、3.26 - 3.16 (m, 3H)、0.77 (s, 9H)、-0.18 (s, 3H)、-0.63 (s, 3H)。

【0494】 步驟5

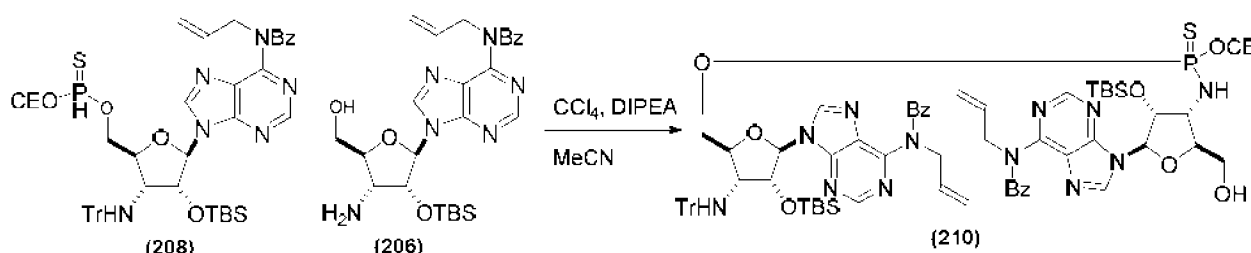


【0495】對室溫之MeCN (6 mL)中的化合物 207 (0.50 g, 0.652 mmol)之溶液加入 3-((雙(二異丙胺基)氧磷基)氧基)丙烷腈 (3-((bis(diisopropylamino)phosphaneyl)oxy)propanenitrile)(0.393 g, 1.304 mmol) 及三氟乙酸吡啶(0.113 g, 0.587 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後(1小時)所得到的溶液以硫化氫(gas) (起泡)處理1分鐘然後以三氟乙酸吡啶(0.252 g, 1.304 mmol)處理。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由LCMS偵測。完成之後(1小時)所得到的混合物以MTBE(60 mL)稀釋。所得到的溶液以水(每次15 mL)洗滌兩次及以30% NaCl 水溶液(15 mL)洗滌，並以Na₂SO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 25g, 在正庚烷中25% 至 40%的 EtOAc)以得到0.411 g 白色泡沫固體的化合物 208(1 : 1 P 非鏡像異構物混合物)。

【0496】化合物208：(1 : 1 P非鏡像異構物混合物) ¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.49 (s, 1H)、8.49 (s, 1H)、8.11 (s, 1H)、8.06 (s, 1H)、7.54 - 7.47 (m, 4H)、7.46 - 7.38 (m, 14H)、7.32 - 7.27 (m, 2H)、7.23 - 7.04 (m, 20H)、6.11 - 5.99 (m, 2H)、5.98 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H)、5.91 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H)、5.27 (dd, *J* = 1.6, 6.3 Hz, 1H)、5.23 (dd, *J* = 1.6, 6.3 Hz, 1H)、5.12 (dd, *J* = 1.6, 6.3 Hz, 1H)、5.09 (dd, *J* = 1.2, 6.3 Hz, 1H)、5.02 (br d, *J* = 5.5 Hz, 4H)、4.57 - 4.45 (m, 2H)、4.43 - 4.34 (m, 1H)、4.32 -

4.04 (m, 8H)、3.23 - 3.19 (m, 1H)、3.10 (br s, 2H)、3.06 - 2.99 (m, 1H)、2.96 - 2.89 (m, 2H)、2.73 (dt, $J = 1.4, 6.4$ Hz, 2H)、2.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H)、0.85 (s, 9H)、0.83 (s, 9H)、0.01 (s, 3H)、-0.09 (s, 6H)、-0.11 (s, 3H)。

【0497】 步驟6

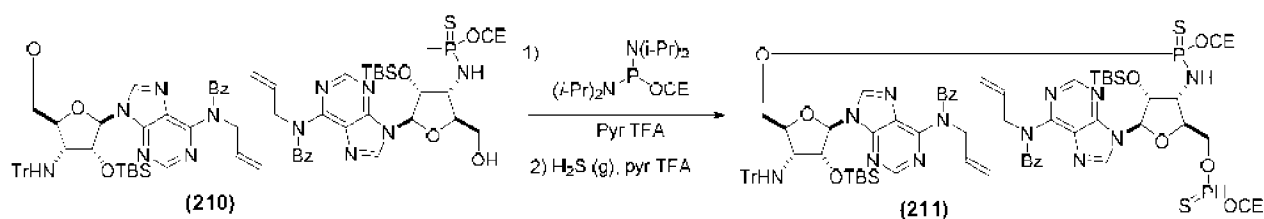


【0498】 對室溫之乙腈(5 ml)中化合物208(0.411 g, .457 mmol)及化合物206(0.293 g, 0.502 mmol)的溶液加入DIEA (0.16 ml, 0.91 mmol)及CCl₄(0.18 ml, 1.8 mmol)。反應混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後(1小時)所得到的混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 25g, 在正庚烷中33% 至100% 的EtOAc)以得到 0.461g 白色泡沫固體的化合物210(1 : 1 P 非鏡像異構物混合物)。

【0499】 化合物210：¹H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.52 (s, 1H)、8.51 (s, 1H)、8.49 (s, 1H)、8.49 (s, 1H)、8.24 (s, 1H)、8.19 (s, 1H)、8.13 (s, 1H)、8.01 (s, 1H)、7.55 - 7.37 (m, 20H)、7.33 - 6.99 (m, 30H)、6.09 - 5.97 (m, 4H)、5.96 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H)、5.87 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H)、5.82 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H)、5.80 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H)、5.28 - 5.17 (m, 4H)、5.11 - 5.04 (m, 4H)、5.03 - 4.96 (m, 8H)、4.75 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H)、4.70 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H)、4.46 - 4.33 (m, 3H)、4.31 - 4.18 (m, 5H)、4.12 - 3.96 (m, 8H)、3.89 (br d, $J = 11.7$ Hz, 1H)、3.78 - 3.67 (m, 3H)、3.57 (dd, $J = 2.9, 4.1$ Hz, 1H)、3.56 - 3.44 (m, 2H)、3.08 - 3.01 (m, 2H)、2.99 - 2.93 (m, 1H)、

2.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H)、2.77 - 2.73 (m, 1H)、2.72 - 2.53 (m, 4H)、0.84 (s, 9H)、0.84 (s, 9H)、0.84 (s, 9H)、0.82 (s, 9H)、0.00 (s, 3H)、-0.05 (s, 6H)、-0.08 (s, 3H)、-0.12 (s, 3H)、-0.15 (s, 3H)、-0.18 (s, 3H)、-0.18 (s, 3H)。

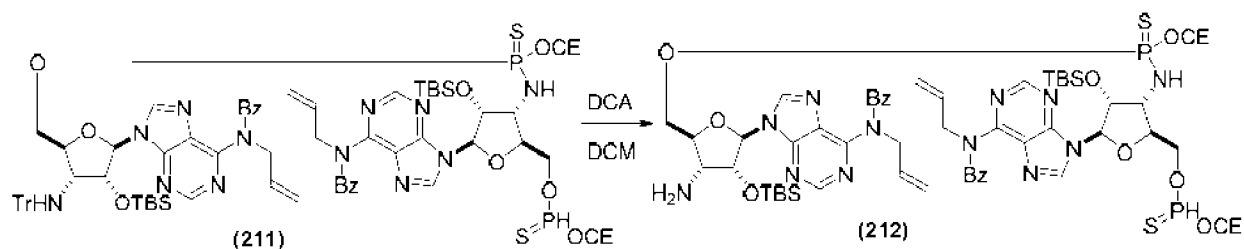
【0500】 步驟7



【0501】 對室溫之MeCN(5.5 ml)中的化合物210(0.461 g, 0.324 mmol)之溶液加入3-((雙(二異丙胺基)氧磷基)氧基)丙烷腈(0.195 g, 0.648 mmol)及三氟乙酸吡啶(0.050 g, 0.259 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後(40分鐘)所得到的溶液以硫化氫氣起泡1分鐘然後以三氟乙酸吡啶(0.138 g, 0.713 mmol)處理。完成之後(藉由LCMS監測)，所得到的溶液以MTBE (30 mL)稀釋，以水(每次10 mL)洗滌兩次及以30% NaCl水溶液 (10 mL)洗滌，以Na₂SO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 25 g, 正庚烷中33%至60% EtOAc) 以得到0.329 g 白色泡沫固體的化合物 211。

【0502】 化合物211： LC/MS (ESI) m/z 1555.48 [M+H]⁺。

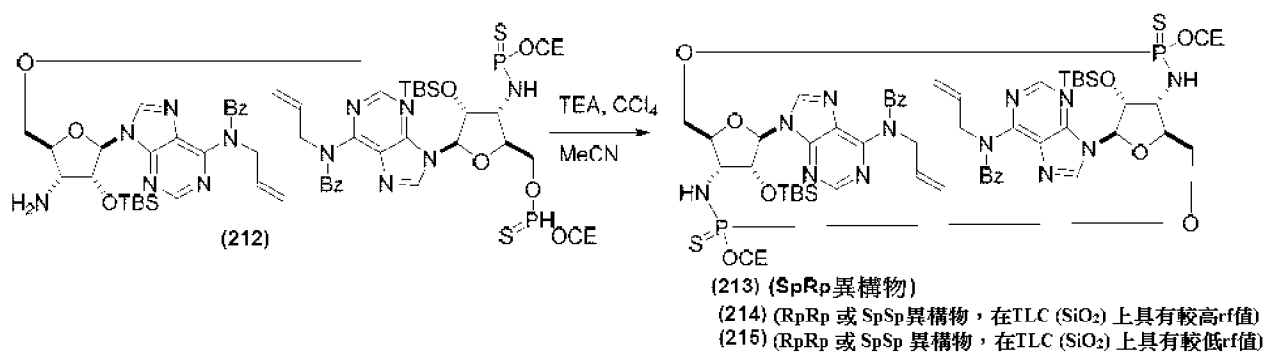
【0503】 步驟8



【0504】對室溫之二氯甲烷(7.2 ml)中的化合物211(0.329 g, 0.211 mmol)之溶液加入水(0.032 ml, 1.8 mmol)及二氯乙酸(0.29 ml, 3.6 mmol)。所得到的混合物在室溫下攪拌同時藉由LCMS監測。完成之後(30分鐘)反應混合物為飽和NaHCO₃水溶液(25 mL)。所得到的混合物以DCM(每次30 mL)萃取兩次。合併的有機層以30% NaCl水溶液(20 mL)洗滌，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。粗產物化合物212 (理論產率0.278 g)不經進一步純化即使用在下一個步驟中。

【0505】化合物212：LC/MS (ESI) m/z 1313.40[M+H]⁺。

【0506】步驟9



【0507】對室溫之MeCN (55.6 ml)中的化合物212(0.278 g, 0.212 mmol)之溶液加入三乙基胺(1.0 ml, 7.2 mmol)及CCl₄(1.0 ml, 10 mmol)。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由LCMS偵測。完成之後(30分鐘)反應混合物在真空下濃縮至~20 mL並以MTBE(30 mL)稀釋。所得到的混合物以水(10 ml)洗滌及30% NaCl水溶液(每次10 mL)洗滌兩次，以MgSO₄乾燥、過濾並在真空下濃縮。殘餘物藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 25g, 在正庚烷中20% 至 75% 的EtOAc)以得到 71 mg 的化合物 213(SpRp 異構物)、43 mg的化合物 214(RpRp 或 SpSp異構物，在TLC(SiO₂)上具有較高rf值)及24 mg 的化合物215(RpRp 或 SpSp 異構物，在TLC (SiO₂)上具有較低rf值))。

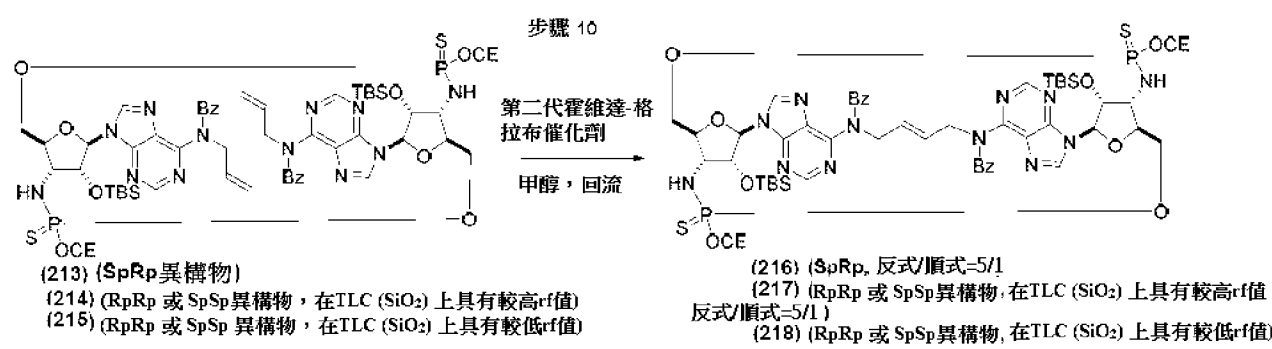
【0508】 化合物213(SpRp異構物) ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.58 (s, 1H)、8.44 (s, 1H)、8.42 (s, 1H)、8.12 (s, 1H)、7.46 (dd, J = 7.2, 15.4 Hz, 4H)、7.36 - 7.27 (m, 2H)、7.18 (q, J = 7.6 Hz, 4H)、6.09 (s, 1H)、5.98 (s, 1H)、6.06 - 5.95 (m, 2H)、5.25 (d, J = 11.3 Hz, 1H)、5.21 (dd, J = 1.4, 10.4 Hz, 1H)、5.12 - 5.03 (m, 3H)、5.00 - 4.92 (m, 3H)、4.87 (d, J = 4.7 Hz, 1H)、4.60 (br d, J = 11.7 Hz, 1H)、4.55 (d, J = 3.9 Hz, 1H)、4.44 (br d, J = 11.3 Hz, 1H)、4.39 - 4.32 (m, 2H)、4.26 - 4.08 (m, 8H)、3.75 (dd, J = 11.3, 16.0 Hz, 1H)、3.49 (dd, J = 8.2, 10.6 Hz, 1H)、2.82 - 2.72 (m, 3H)、2.61 (td, J = 5.9, 17.2 Hz, 1H)、0.99 (s, 9H)、0.96 (s, 9H)、0.32 (s, 3H)、0.23 (s, 6H)、0.22 (s, 3H)。

【0509】 化合物214(RpRp 或 SpSp 異構物，在 TLC (SiO_2)上rf值較高的異構物)： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.60 (s, 2H)、8.18 (s, 2H)、7.50 (d, J = 7.0 Hz, 4H)、7.37 - 7.31 (m, 2H)、7.25 - 7.21 (m, 4H)、6.05 - 5.93 (m, 4H)、5.22 (dd, J = 1.6, 17.2 Hz, 2H)、5.09 (dd, J = 1.0, 10.4 Hz, 2H)、5.00 - 4.83 (m, 6H)、4.61 (dd, J = 1.2, 11.7 Hz, 2H)、4.25 (dq, J = 4.3, 10.8 Hz, 2H)、4.09 (br dd, J = 3.7, 10.4 Hz, 2H)、4.04 (td, J = 5.5, 10.9 Hz, 2H)、3.99 - 3.88 (m, 4H)、3.70 (dd, J = 11.9, 15.0 Hz, 2H)、2.71 (td, J = 5.5, 17.1 Hz, 2H)、2.49 - 2.37 (m, 2H)、0.98 (s, 18H)、0.25 (s, 6H)、0.24 (s, 6H)。

【0510】 化合物215(RpRp 或 SpSp 異構物，在 TLC (SiO_2)上rf值較低的異構物)： ^1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ = 8.54 (s, 2H)、8.06 (s, 2H)、7.47 - 7.44 (m, 4H)、7.32 - 7.27 (m, 2H)、7.20 - 7.15 (m, 4H)、6.06 - 5.95 (m, 2H)、5.92 (d, J = 3.5 Hz, 2H)、5.22 (dd, J = 1.2, 17.2 Hz, 2H)、5.07 (dd, J = 1.4, 10.4 Hz, 2H)、5.04 - 4.94 (m,

6H)、 4.62 - 4.52 (m, 2H)、 4.46 - 4.40 (m, 2H)、 4.40 - 4.22 (m, 8H)、 3.81 (dd, $J = 6.6, 12.1$ Hz, 2H)、 2.89 - 2.71 (m, 4H)、 0.88 (s, 18H)、 0.08 (s, 6H)、 -0.07 (s, 6H)。

【0511】 步驟10



【0512】 在回流下對在甲苯 (28.4 ml)中的化合物213(71 mg, 0.054 mmol)之溶液加入第二代霍維達-格拉布催化劑(17.0 mg, 0.027 mmol)的溶液及在甲苯(8 mL)中的對苯醌(11.70 mg, 0.108 mmol)。混合物加熱至回流且反應過程藉由LC/MS監測。3小時之後，加入額外在甲苯(2.5 mL)中的催化劑(8.5 mg, 0.0135 mmol)且反應持續額外的2.5小時。冷卻之後混合物在真空下濃縮並藉由矽膠管柱層析純化(SiO₂ 10g, 在正庚烷中33% 至 66% 的乙酸乙酯)以得到17 mg 棕色乾燥泡沫的化合物 216 (反式/順式 =5/1)。

【0513】 化合物216：¹H NMR (僅有反式異構物, 400 MHz, 氯仿-d) $\delta = 8.37$ (s, 1H)、 8.34 (s, 1H)、 8.24 (s, 1H)、 8.20 (s, 1H)、 7.41 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H)、 7.36 - 7.27 (m, 3H)、 7.24 - 7.13 (m, 5H)、 5.97 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H)、 5.75 (td, $J = 5.5, 15.2$ Hz, 1H)、 5.69 (td, $J = 5.5, 15.6$ Hz, 1H)、 5.07 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H)、 5.03 (dd, $J = 5.1, 15.2$ Hz, 1H)、 4.94 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H)、 4.85 (dd, $J = 5.1, 15.2$ Hz, 1H)、 4.74 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H)、 4.67 (br d, $J = 12.1$ Hz, 1H)、 4.45 (br d, $J = 10.2$ Hz, 1H)、 4.42 - 4.34 (m, 2H)、 4.28 - 4.19 (m, 2H)、 4.19 - 4.06 (m, 4H)、 3.96 - 3.84 (m, 1H)、 3.82 - 3.68

(m, 1H)、3.56 (br dd, $J = 12.1, 14.5$ Hz, 1H)、3.33 (dd, $J = 9.0, 10.9$ Hz, 1H)、2.83 - 2.78 (m, 2H)、2.72 (td, $J = 5.6, 16.6$ Hz, 1H)、2.39 (td, $J = 6.3, 17.2$ Hz, 1H)、1.00 (s, 18H)、0.42 (s, 3H)、0.40 (s, 3H)、0.34 (s, 3H)、0.30 (s, 3H)。

【0514】 化合物217

【0515】 從步驟9得到的化合物214單獨經由步驟10加工得到化合物217 (5/1 反式/順式異構物的混合物)。

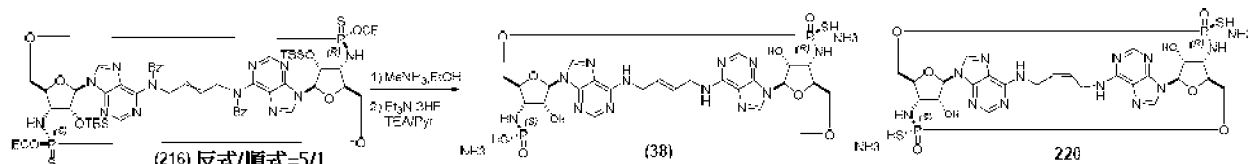
【0516】 ^1H NMR (僅有反式異構物, 400 MHz, 氯仿- d) $\delta = 8.47$ (s, 2H)、8.14 (s, 2H)、7.43 - 7.38 (m, 4H)、7.36 - 7.29 (m, 2H)、7.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H)、5.83 (s, 2H)、5.77 (t, $J = 3.3$ Hz, 2H)、5.17 (d, $J = 3.5$ Hz, 2H)、5.11 - 5.04 (m, 2H)、4.70 (br dd, $J = 3.5, 16.4$ Hz, 2H)、4.62 (br d, $J = 12.1$ Hz, 2H)、4.16 - 4.08 (m, 6H)、3.93 (br dd, $J = 3.7, 11.9$ Hz, 2H)、3.74 - 3.64 (m, 2H)、3.49 (t, $J = 12.9$ Hz, 2H)、2.42 (td, $J = 5.9, 18.4$ Hz, 2H)、2.13 (ddd, $J = 5.5, 7.8, 16.8$ Hz, 2H)、1.00 (s, 18H)、0.40 (s, 6H)、0.34 (s, 6H)。

【0517】 化合物218

【0518】 從步驟9得到的化合物215單獨經由步驟10加工得到化合物218。

【0519】 ^1H NMR (400 MHz, 氯仿- d) $\delta = 8.14$ (s, 2H)、8.12 (s, 2H)、7.49 - 7.43 (m, 2H)、7.36 - 7.27 (m, 4H)、7.19 - 7.12 (m, 4H)、5.96 (s, 2H)、5.67 - 5.54 (m, 2H)、4.95 - 4.82 (m, 4H)、4.69 (d, $J = 4.3$ Hz, 2H)、4.60 - 4.09 (m, 12H)、3.63 (dd, $J = 8.8, 16.2$ Hz, 2H)、2.93 (td, $J = 5.9, 17.2$ Hz, 2H)、2.82 - 2.72 (m, 2H)、0.99 (s, 18H)、0.30 (s, 6H)、0.27 (s, 6H)。

【0520】 步驟11



【0521】 在室溫下對化合物216(反式/順式 =5/1, 17 mg, 0.013 mmol)加入甲胺水溶液(2 ml)(33%在EtOH中)的溶液。所得到的溶液在室溫下攪拌同時藉由LCMS偵測。完成之後(1小時)反應混合物在真空下濃縮。對殘餘物加入吡啶 (0.9 ml)、TEA (0.45 ml)及三乙胺三氫氟酸鹽(0.36 ml, 2.2 mmol)。所得到的混合物在50-60 °C下攪拌4小時並冷卻至室溫。完成TBS去保護之後(藉由LCMS監測)反應混合物以甲氧基三甲基矽烷(1.5 ml, 12 mmol)處理並攪拌1小時。加入水(3 mL)且所得到的混合物以甲苯(每次 3 ml)萃取兩次及EtOAc (每次2 mL)萃取兩次。水層藉由針筒過濾器過濾並將濾液經過製備級HPLC以得到5.3 mg 的化合物 38 及 1.1 mg 的化合物 220。

【0522】 化合物38 (*SpRp*, 反式)：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 9.27 (br s, 1H)、8.47 (br s, 1H)、8.21 (br s, 1H)、8.09 (br s, 1H)、6.19 - 5.96 (m, 2H)、5.94 - 5.71 (m, 2H)、5.13 - 4.68 (m, 2H)、4.55 - 4.39 (m, 2H)、4.38 - 4.23 (m, 1H)、4.20 - 3.91 (m, 5H)、3.75 - 3.50 (m, 4H)。

【0523】 化合物220 (*SpRp*, 順式)：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 9.08 (s, 1H)、8.72 (br s, 1H)、8.55 (s, 1H)、8.24 (s, 1H)、8.18 (s, 1H)、6.22 - 6.14 (m, 2H)、6.10 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H)、5.01 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H)、4.41 (br d, *J* = 9.8 Hz, 1H)、4.34 - 4.25 (m, 3H)、4.24 - 4.18 (m, 1H)、4.15 (dd, *J* = 6.1, 11.5 Hz, 1H)、4.08 - 3.99 (m, 4H)、3.71 - 3.57 (m, 3H)。

【0524】 化合物39及化合物222

【0525】 化合物217獨立經由步驟11的加工以得到化合物39及化合物222。

【0526】 化合物 39 (反式異構物)：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.83 (br s, 1H)、8.43 (br s, 1H)、8.17 (br s, 1H)、8.11 (br s, 1H)、6.17 - 5.95 (m, 2H)、5.93 - 5.63 (m, 2H)、5.10 - 4.78 (m, 2H)、4.69 - 4.53 (m, 1H)、4.52 - 4.35 (m, 2H)、4.12 - 3.92 (m, 5H)、3.76 - 3.44 (m, 4H)。

【0527】 化合物222 (順式異構物)：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 8.71 (br s, 2H)、8.18 (s, 2H)、6.17 - 6.06 (m, 4H)、4.37 (br d, *J* = 9.8 Hz, 2H)、4.33 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H)、4.27 (br dd, *J* = 7.0, 13.7 Hz, 2H)、4.06 (dd, *J* = 7.0, 11.3 Hz, 2H)、4.19 - 4.03 (m, 2H)、4.01 (br d, *J* = 9.8 Hz, 2H)、3.74 (ddd, *J* = 3.9, 6.4, 10.5 Hz, 2H)。

【0528】 化合物40

【0529】 化合物218獨立經由步驟11的加工以得到化合物40：¹H NMR (400 MHz, 甲醇-d₄) δ = 9.34 - 8.88 (m, 2H)、8.73 (br s, 1H)、8.34 - 8.02 (m, 2H)、6.20 - 5.96 (m, 2H)、5.89 (br s, 2H)、5.25 - 4.95 (m, 2H)、4.76 - 4.64 (m, 1H)、4.47 - 4.22 (m, 2H)、4.20 - 4.07 (m, 2H)、4.07 - 3.93 (m, 2H)、3.82 - 3.55 (m, 3H)、3.54 - 3.38 (m, 2H)。

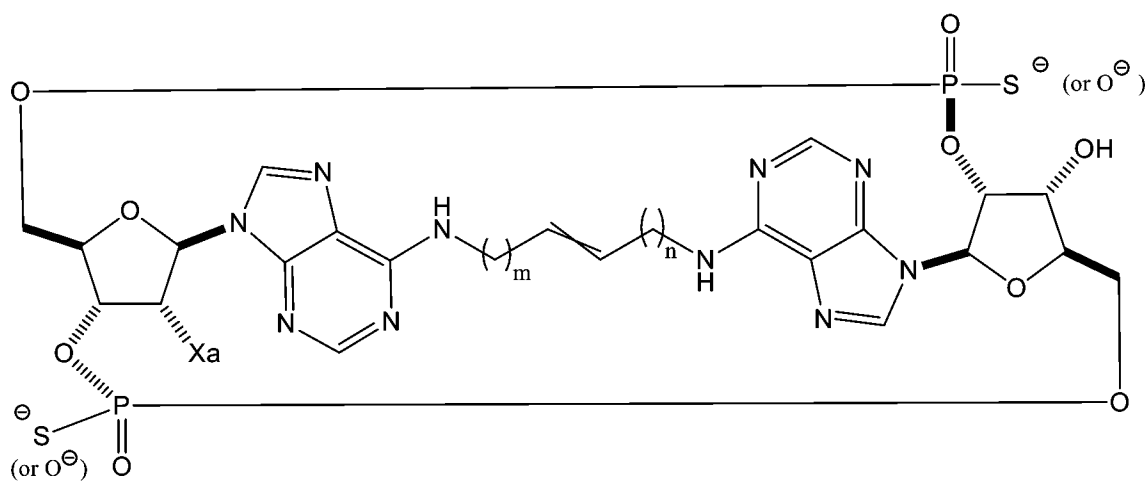
【0530】 實例 103- HAQ STING 促效劑活性報告分析 (Agonist Activity Reporter Assay)

【0531】 THP1-Dual™ Cells (InvivoGen, Cat# thpd-nfis) 用於 EC₅₀ 的測定。供應商 InvivoGen 已知 THP1 Dual™ Cells 的特徵為攜帶 HAQ STING 基因型 (Insight 201402-1)。細胞在製造商建議的條件下生長及維持。製造商的手冊中所述之干擾素調節因子 (IRF) 路徑誘導於 EC₅₀ 測定之後。簡言之，將細胞播種並以不同濃度的化合物處理 20 小時，同時於 37 °C、5% CO₂ 下培養。再懸浮細胞並加入

QUANTI-Luc™溶液(Cat. # : rep-qlc1)。發光的結果藉由光度計 (Envision, Perkin Elmer)測定。標繪所得到的訊號且以GraphPad Prism7軟體計算EC₅₀。

【0532】 EC₅₀值記述在以下表4-8中。EC₅₀值可得自單一測定或多次測定的平均。在各個表格前的是用於表格的回顧結構。

【0533】 表4



(VI)

連接基(在鏈中(m)及(n)(包含(m)及(n))之間的碳原子)				在 2' P 掌性的 Xa	人類 STING EC50 (μM)							
長度	m	n	幾何		2' 側	3' 側	化合物編號	HAQ	WT	AQ	REF	
4 碳連接基	1	1	反式	Xa= OH	S	S	223	*				
					S	R	13	26.7				
					R	R	14	58.2	69.8	*	*	
					S	R	224	*				
					S	S	225	*				
			順式									
			TBD			226	*					
			TBD			227	*					
			不適用 (磷酸二酯)			228	*					
					S	R	15	24.7	11.6	13.1	66.7	
5 碳連接基	2	1	反式	Xa= OH	R	R	230	*				
					TBD		231	*				
					TBD		232	*				
					S	R	233	*				
					反式 (2 : 1 混合)							
			反式 (3 : 1 混合)									

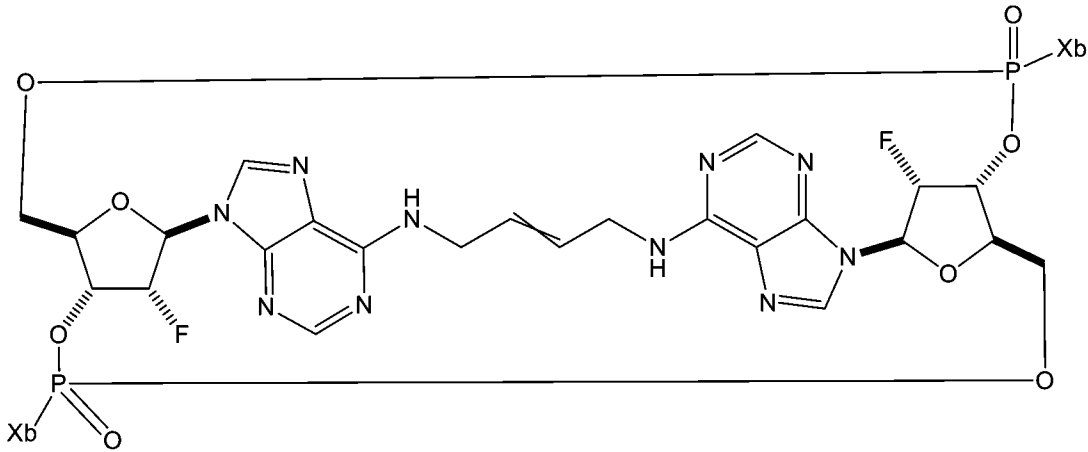
6碳連接基	1	反式	<i>S</i>	<i>R</i>	234	*		
			TBD		235	*		
			TBD		236	*		
		順式	<i>S</i>	<i>R</i>	237	*		
			TBD		238	*		
			<i>R</i>	<i>R</i>	239	*		
	2	2	<i>S</i>	<i>R</i>	240	*		
			<i>S</i>	<i>R</i>	241	*		
			<i>S</i>	<i>R</i>	242	*		
			<i>R</i>	<i>R</i>	243	*		

*表示在實驗濃度範圍中的活性無法測量。

結果的未呈現表示「無法取得」。

人類STING EC50(μM)是使用表4中之各化合物的銨鹽形式測量。

【0534】 表5



4 碳連接基 (在鏈中 NH 之間)	P 連接 掌性	Xb	化合物編號	人類 STING EC50 (μM)			
				HAQ	WT	AQ	REF
反式	-	OH	9	39.2	18.0	30.9	31.7
	RR		30	46.6	45.2	37.5	66.7
	SR		1	4.1	0.9	1.2	4.8
	SS		3	16.4	9.9	13.7	42.7
	RR		2	6.1	3.4	3.5	11.4
反式/順式混 合	RR	-SH	10	17.9	9.0	10.2	34.3
順式	SS		244	*	>100	>100	>100
	RR		4	10.6	3.9	8.2	>100
	SR		5	87.1	49.1	>100	>100

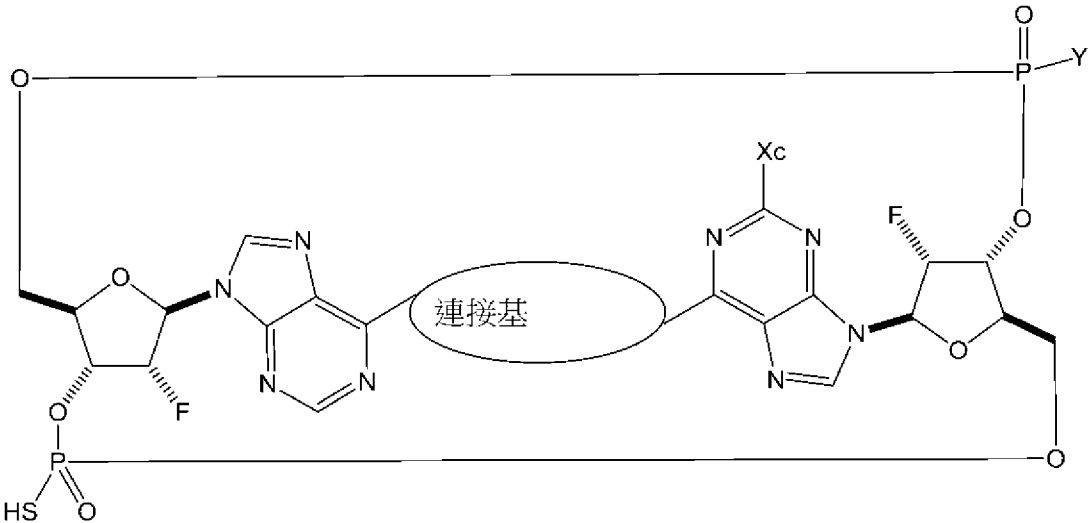
飽和	和					
	SR	6	10.5	5.7	9.0	42.0
5C 順式/反式	SS	245	*			
TBD		246	*			
5C 反式	SR	8	69.7	68.7	81.0	>100
5C 反式	RR	7	10.7	8.0	9.0	66.7
5C 反式	SR	37	87.2	>100	82.2	>100
5C	RR	11	6.8			
5C	RR	12	8.2			

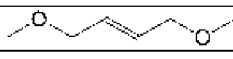
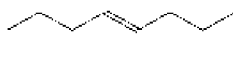
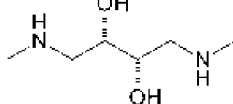
*表示在實驗濃度範圍中的活性無法測量。

結果的未呈現表示「無法取得」。

人類STING EC50 (μM)是使用列於表5中之各化合物的銨鹽形式測量。

【0535】 表6



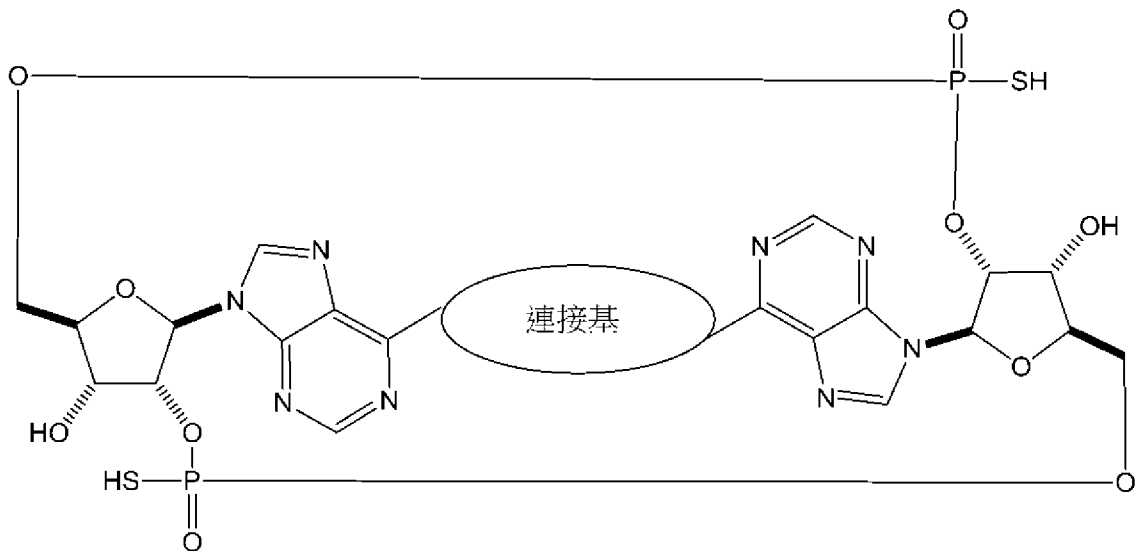
雜基別	Xc=	Y=	R ¹ (連接基)	雜基別	P 羧基	化合物編號	hSTING EC50 (μM)	
							HAQ	REF
AG	NH ₂	SH		反式	S ¹ R ²	247	*	
						22	41.2	
				反式	RR	21	83.3	
IBD	23					62.3		
	248			*				
	249			*				
	18			2.3				
	19			94.1				
	20			2.8				
II				反式	RR	26	2.3	7.4
AA	H				SR	33	21.5	*
					RR	34	2.3	*
				SS	250	*	*	
				-	SR	35	44.5	67.2
					SR	36	31.4	94.1
					SR	32	15.7	*
					SR	29	0.62	8.4
				反式	SR	25	0.73	3.0
	OH	S	27		9.8	27.6		
R		28	10.2	18.4				

*表示在實驗濃度範圍中的活性無法測量。

結果的未呈現表示「無法取得」。

人類STING EC50(μM)是使用列於表6中之各化合物的銨鹽形式測量，除了化合物 26、化合物 31、化合物 33及化合物 34係以雙-TEA鹽測量。

【0536】 表7

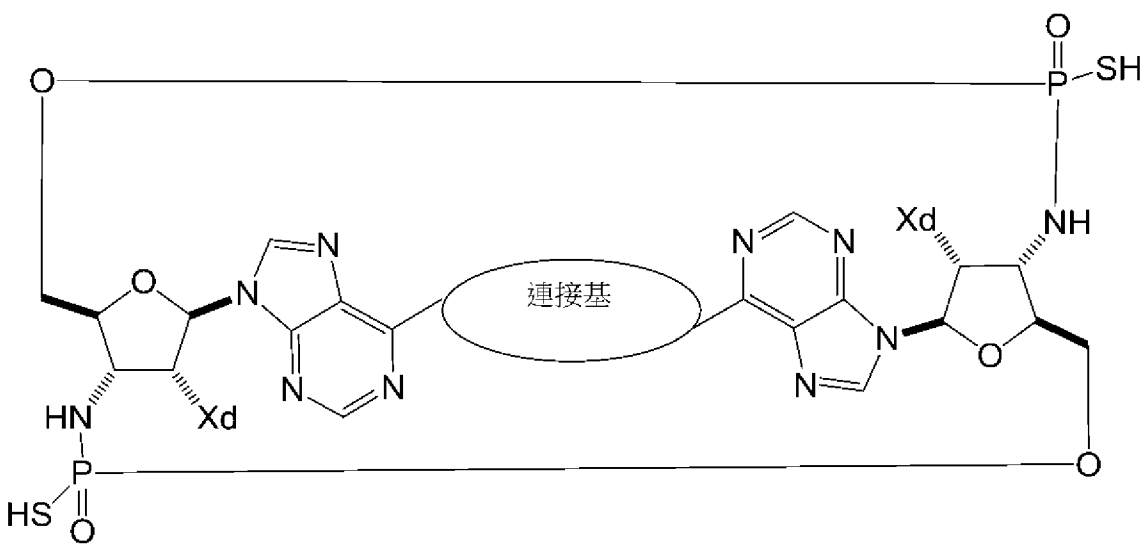


鹼基對	連接基	幾何	P 掌性	化合物編號	hSTING EC50 (μM)	
					HAQ	REF
AA		反式	SS	251	*	*
			SR	252	*	*
			RR	31	20.2	*

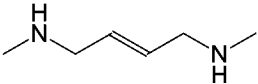
*表示在實驗濃度範圍中的活性無法測量。

人類STING EC50 (μM)使用在表7中之各化合物的銨鹽形式測量。

【0537】 表8



Xd=	連接基	幾何	P 掌性	化合物編號	hSTING EC50 (μM)	
					HAQ	

OH		反式	SR	38	79.9	*
			SS 或 RR	39	29.6	*

*表示在實驗濃度範圍中的活性無法測量。

結果的未呈現表示「無法取得」。

人類STING EC50 (μM)使用在表8中之各化合物的銨鹽形式測量。

【0538】 實例104- STING變異體特異性報告分析(Variant Specific Reporter

Assay)

【0539】 人類STING具有4種主要的變異體，包含WT、HAQ、REF及AQ變異體。例如，REF-STING亦指的是R232H，發生在14%的人類族群中。相較於野生型對偶基因，R232H對細菌及後生動物環二核苷酸(metazoan cyclic dinucleotides)具有減弱的反應。這4種主要的變異體的細節以及其他稀少的變異體記述在Yi G, *et al.*, “Single nucleotide polymorphisms of human STING can affect innate immune response to cyclic dinucleotides” *PLoS One* 2013; 8 : e77846。STING變異體特異性報告細胞株藉由使用THP1-Dual™ KO-STING細胞(InvivoGen, Cat# thpd-kostg)及三種STING 變異體蛋白質表現載體建立。WT STING的表現載體圖(expression vector map)繪示於第6圖。在其載體中使用不同STING變異體序列的另外兩種表現載體中，其WT STING藉由適合的核苷酸序列取代。

【0540】 製備用於 WT-STING、REF-STING 及 AQ-STING 的 STING 變異體-表現載體並將其穩定地轉移至 THP1-Dual™ KO-STING 細胞中以製備分別用於 WT-STING、REF-STING 及 AQ-STING STING 的變異體特異性報告分析。

EC₅₀ 值之測定如以上實例 103 中用於 HAQ STING 促效劑活性報告分析所描述。
結果顯示於以下表 9 中。用於這些 STING 變異體的 DNA 序列顯示於 SEQ ID NO：
1 (WT 人類 STING 的核苷酸序列)、SEQ ID NO：2 (REF 人類 STING 的核苷酸
序列)及 SEQ ID NO：3 (AQ 人類 Sting 的核苷酸序列)。

【0541】 WT人類STING：

atgccccactccagcctgcatccatccatcccgtgtcccaggggtcacggggcccagaaggcagccttggtctg
ctgagtgcctgcctggtgaccctttgggggctaggagagccaccagagcacacttccggtacctggtgctccac
ctagcctccctgcagctgggactgctgttaaacgggggtctgcagcctggctgaggagctgcgccacatccactcc
aggtaccggggcagctactggaggactgtgcgggcctgcctgggctgccccctccgccgtggggccctgttgct
gctgtccatctatttctactactccctcccaaagtgcggtcggcccgcccttcaacttgatgcttgcctcctgggcctc
tcgcaggcactgaacatcctcctgggcctcaagggcctggccccagctgagatctctgcagtgttgaaaaagg
gaattcaacgtggcccatgggctggcatggatcatattacatcgatctgcggctgatcctgccagagctccag
gcccggattcgaactacaatcagcattacaacaacctgctacgggggtgcagtgagccagcggctgtatattctcc
tccattggactgtgggggtgcctgataacctgagtatggctgaccccaacattcgcttctggataaactgccccag
cagaccgggtgaccgggctggcatcaaggatcgggtttacagcaacagcatctatgagcttctggagaacgggca
gcgggcgggcacctgtgtcctggagtacgccaccccttgcagactttgtttgccaatgtcacaatacagtaagct
ggctttagccgggaggataggcttgagcaggccaaactcttctgccggacacttgaggacatcctggcagatgcc
cctgagtctcagaacaactgccgcctcattgcctaccaggaacctgcagatgacagcagcttctcgtgtcccag
gaggttctccggcacctgcggcaggaggaaaaggaagaggttactgtgggcagcttgaagacctcagcgggtgc
ccagtacctccacgatgtcccaagagcctgagctcctcatcagtggaatggaaaagccccctccctctccgcacgg
atttctcttga (SEQ ID NO：1)。

【0542】 REF 人類 STING：

atgccccactccagcctgcatccatccatcccgtgtcccaggggtcacggggcccagaaggcagccttggttctg
ctgagtgcctgcctggtgaccctttgggggctaggagagccaccagagcacactctccggtacctggtgctccac
ctagcctccctgcagctgggactgctgttaaacgggggtctgcagcctggctgaggagctgcgccacatccactcc
aggtaccggggcagctactggaggactgtgcgggcctgcctgggctgccccctccgccgtggggccctgttctg
gctgtccatctatttctactactccctcccaaagtgcggctggccccgcccttcacttggtgcttgcctcctgggcctc
tcgcaggcactgaacatcctcctgggcctcaagggcctggccccagctgagatctctgcagtgtgtgaaaaagg
gaatttcaacgtggcccatgggctggcatggtcatattacatcgatctctgcggctgatcctgccagagctccag
gccccgattcgaacttacaatcagcattacaacaacctgctacgggggtgcagtgagccagcggctgtatattctcc
tccattggactgtgggggtgcctgataacctgagtatggctgaccccaacattcgcttctggataaactgccccag
cagaccggtgaccatgctggcatcaaggatcggtttacagcaacagcatctatgagcttctggagaacgggca
gcgggcgggcacctgtgtcctggagtacgccacccccctgcagactttgtttgcatgtcacaatacagtaagct
ggcttttagccgggaggataggcttgagcaggccaaactcttctgccggacacttgaggacatcctggcagatgcc
cctgagtctcagaacaactgccgcctcattgcctaccaggaacctgcagatgacagcagcttctcgtgtcccag
gaggttctccggcacctgcggcaggaggaaaaggaagaggttactgtgggcagcttgaagacctcagcgggtgc
ccagtacctccacgatgtcccaagagcctgagctcctcatcagtggaatggaaaagccccctccctctccgcacgg
atttcttga (SEQ ID NO : 2) 。

【0543】 AQ 人類 STING :

atgccccactccagcctgcatccatccatcccgtgtcccaggggtcacggggcccagaaggcagccttggttctg
ctgagtgcctgcctggtgaccctttgggggctaggagagccaccagagcacactctccggtacctggtgctccac
ctagcctccctgcagctgggactgctgttaaacgggggtctgcagcctggctgaggagctgcgccacatccactcc
aggtaccggggcagctactggaggactgtgcgggcctgcctgggctgccccctccgccgtggggccctgttctg
gctgtccatctatttctactactccctcccaaagtgcggctggccccgcccttcacttggtgcttgcctcctgggcctc
tcgcaggcactgaacatcctcctgggcctcaagggcctggccccagctgagatctctgcagtgtgtgaaaaagg

gaatttcaacgtggcccatgggctggcatggcatattacatcggatatctgcggctgatcctgccagagctccag
 gcccggattcgaacttacaatcagcattacaacaacctgctacgggggtgcagtgagccagcgggtgtatattctcc
 tccattggactgtgggggtgcctgataacctgagtatggctgaccccaacattcgttctctggataaactgccccag
 cagaccgctgaccgagctggcatcaaggatcgggtttacagcaacagcatctatgagcttctggagaacgggca
 gcgggcgggcacctgtgtcctggagtacgccacccccctgcagactttgtttgcatgtcacaatacagtaagct
 ggctttagccgggaggataggcttgagcaggccaaactcttctgccagacacttgaggacatcctggcagatgcc
 cctgagtctcagaacaactgccgcctcattgcctaccaggaacctgcagatgacagcagcttctcgtgtcccag
 gaggttctccggcacctgcggcaggaggaaaaggaagaggttactgtgggcagcttgaagacctcagcgggtgc
 ccagtacctccacgatgtcccaagagcctgagctcctcatcagtggaatggaaaagccccctccctctccgcacgg
 atttctcttga (SEQ ID NO : 3)。

【0544】 實例105-小鼠促效劑活性報告分析

【0545】 RAW-Lucia™ ISG Cells (InvivoGen, Cat# rawl-isg)用於小鼠促效劑活性報告分析。EC₅₀ 值之測定如以上實例 103 中在 HAQ STING 促效劑活性報告分析中所描述。

【0546】 實例 106-微分掃描螢光檢測法(differential scanning fluorimetry) (DSF)分析

【0547】 DSF 分析用於測量化合物與重組 STING 蛋白之間的物理交互作用。截斷重組 STING 蛋白 (a.a.155-341) (SEQ ID NO : 4)在 *E. coli* 中表現並分離以用於如下所述的分析。在 384 孔盤中製備分析基質至最終體積為每孔 10 μ L，由 1 μ M 重組 STING 蛋白 (a.a. 155-341) (SEQ ID NO : 4)、pH 7.4 的 100 mM PBS，以 100 mM KCl 補充、5X SYPRO 橘色染劑及 50 μ M 化合物所組成(最終 DMSO 濃度 0-1%)。在 QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR 系統上執行測定，使用以 0.05

°C/min 的速率從 25 °C 至 95 °C 的溫度梯度，及分別在 470 及 586 nm 激發及發散濾片。根據藉由 Applied Biosystems® Protein Thermal Shift software (algorithm version 1.3.)指示的螢光微分曲線計算未結合及配位子結合重組 STING 蛋白的熱熔(Tm)及在熱熔中的差異(dTm D)。

【0548】 一般來說，具有ΔTm 值大於 0 的化合物被認為與所試蛋白有物理交互作用，且ΔTm 的值與化合物的結合親和性具有正相關。於此，顯示 17.6 的 ΔTm 之化合物 1a (表 9)，表示與 STING 蛋白具有物理交互作用。

【0549】 表 9 化合物 1a 在體外的特性分析

化合物	人類 STING EC ₅₀ (μM)				小鼠 STING EC ₅₀ (μM)	DSF WT STING ΔTm (°C)
	WT	HAQ	REF	AQ		
1a	0.9	4.1	4.8	1.2	3.4	17.6

【0550】 實例 107-生物體外人類 PBMC 刺激測定

【0551】 使用 10.0 mL BD Vacutainer Sodium heparin tubes (cat# 367874)收集來自 5 個健康捐贈者的人類血液。使用 SIGMA ACCUSPIN 50ml Tubes (cat# A2055)及 sigma ACCUSPIN System-HISTOPAQUE-1077 (cat# A7054)，使用製造商提供的規程，使外周血單核細胞(Peripheral blood mononuclear cell (PBMC))的分離完成。如 Sigma 建議地收穫 PMBC 層並以 1x 磷酸鹽緩衝液(PBS)洗滌。計算 PBMC 且以 10% 胎牛血清 (FBS) (Gibco cat# 20140.79)補充，最終懸浮 @1x10e6/ml 於 RPMI (corning cat# 10-041-CV)中。使 1ml 的細胞轉移到 Falcon 5mL Round Bottom Polypropylene Test Tube (cat#352063)中並以不同濃度(0, 0.1, 1, 10 uM)在 37°C的 5% CO2 培養箱刺激 24 小時。

【0552】 24 小時培養之後，試管在 1400rpm 下離心 5 分鐘並收穫上清液。上清液儲存在-80 °C 以用於之後的 IFN β 測量。使用人類 IFN- β Base 套組 (Meso Scale Diagnostics cat# K151ADA)以及使用藉由製造商提供的規程完成 IFN β 測量。藉由讀取在 MESO SECTOR Imager 2400 之測定盤及使用 MSD Discovery Workbench 4.0 程式完成 IFN-beta 估測。24 小時之後分析 IFN β 蛋白。結果顯示化合物 1a 可以劑量依附方式誘導初級人類 PBMC IFN β 蛋白產生。

【0553】 在表 10 中的結果反應使用 5 個不同捐贈者進行之測量的平均。

【0554】 表 10 生物體外人類 PBMC 刺激分析

	PBS (對照)	化合物 1a		
		0.1 μ M	1 μ M	10 μ M
IFN β (pg/mL)	0	21.3 $\pm$ 17.8	227.5 $\pm$ 62.4	540.2 $\pm$ 215.0

【0555】 用於 IFN β mRNA 的定量，使用 RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany) 根據製造商的規程分離全部的 RNA。藉由 qPCR 分析定量 IFN β mRNA。簡言之，全部的 RNA(400 ng 至 1000 ng)使用 SuperScript VILO MasterMix (Life Technologies, USA)在 60- μ l 反應體積中轉變成 cDNA。得到的 cDNAs (10 ng)之後使用 Applied Biosystems TaqMan 表現分析放大，使用 IFNB1 (Hs01077958_s1) 的 RNA 特異性引子及 GAPDH(Hs99999905_m1)。以在 Applied Biosystems Quantstudio 12K Flex Real-Time PCR System 上的 TaqMan Fast Advanced Master Mix (Life Technologies, USA)執行 qPCR 分析，以起始 2 分鐘步驟在 50°C，然後 95°C 2 秒及 40 個循環的 95 °C 1 秒與 60 °C 20 秒。使用 2- $\Delta\Delta$ CT 法在標準化參考基因 GAPDH 之後計算相對基因表達。使用 Applied Biosystems Quantstudio 12K Flex 軟體 v1.2.2 完成計算。IFN β mRNA 倍數變化與載體處理樣品總結於表 11。

結果顯示化合物 1a 可以劑量依賴及時間依賴方式在初級 PBMC 中誘導 IFN β mRNA。表 11 顯示來自五個不同捐贈者的平均值計算。

【0556】 表 11 生物體外人類 PBMC 3-hr & 24-hr 刺激測定分析(mRNA)

IFN β mRNA(倍數變化 vs. 載體處理樣品)	化合物 1a		
	0.1 μ M	1 μ M	10 μ M
3-hr 處理	51.0 $\pm$ 21.7	219.8 $\pm$ 69.8	1973.3 $\pm$ 1023.0
24-hr 處理	28.1 $\pm$ 28.9	10652.3 $\pm$ 4992.4	24157.3 $\pm$ 9224.2

【0557】 實例 108-在 CT26 雙重腫瘤模型中化合物 1a 的抗癌效果

【0558】 化合物 1a 在小鼠結腸癌模型之 CT26 雙重腫瘤模型中測試其抗癌活性。在每隻 5-6 周齡母 Balb/cJ 小鼠(Jackson Labs, Bar Harbor, Maine)的兩側皮下植入 CT26 腫瘤細胞，每側 10⁵ 個細胞。研究 A 在植入腫瘤的 5 天，平均腫瘤達到大約 100 mm³ 後開始治療(1.25 mg/kg、2.5 mg/kg 及 5 mg/kg)。研究 B 在植入腫瘤的 8 天，平均腫瘤達到大約 120 mm³ 後開始治療(0.6 mg/kg 及 10 mg/kg)。治療架構描述於表 12 及表 13。

【0559】 表 12 研究 A 的劑量架構

分組	動物數量	治療	路徑及排程
A	6	載體 (1 x PBS)	I.T.*; 單一劑量
B	6	5 mg/kg 化合物 1a	I.T.; 單一劑量
C	6	2.5 mg/kg 化合物 1a	I.T.; 單一劑量
D	6	1.25 mg/kg 化合物 1a	I.T.; 單一劑量

*I.T.為腫瘤內

【0560】 表 13 研究 B 的劑量架構

分組	動物數量	治療	路徑及排程
----	------	----	-------

A	5	載體 (1 x PBS)	I.T.*; 單一劑量
B	5	10 mg/kg 化合物 1a	I.T.; 單一劑量
C	5	0.6 mg/kg 化合物 1a	I.T.; 單一劑量

*I.T.為腫瘤內

【0561】 研究中所有的小鼠具有兩個皮下 CT26 腫瘤，「治療的腫瘤(treated tumor)」指的是有直接施予化合物的腫瘤，而「未治療的腫瘤(untreated tumor)」指的是沒有直接施予化合物的腫瘤。在整個實驗中追蹤腫瘤體積。腫瘤體積在開始治療之後每周測量兩次。腫瘤負荷係藉由長橢球形的體積公式由測徑器測量計算($L \times W^2$)/2，其中 L 及 W 分別為正交的長與寬的測量值(mm)。

【0562】 化合物 1a 顯示在 CT26 雙重腫瘤模型中的強度及療效活性(第 7 圖及第 8 圖)。對於治療腫瘤，即使在研究中試驗的最低劑量能偵測到 20%的治癒率(第 8 圖，劑量 0.6 mg/kg)。同時最高劑量(10 mg/kg)在研究結束時治癒 100%之該腫瘤的動物。對於未治療腫瘤，亦證實了劑量依賴的抗腫瘤效果。最高劑量(10 mg/kg)顯示 80%的療效，所有較低劑量亦顯示腫瘤生長抑制活性。因此，觀察到化合物 1a 在 0.6 mg/kg 至 10 mg/kg 的治療範圍，基於在非注射遠端腫瘤位置的效果，腫瘤治療活性不但為局部的也可以是全身的。總之，此結果表示出化合物 1a 的局部施予能夠誘導局部及全身(遠位)的兩種抗腫瘤活性。

【0563】 實例 109-在 CT26 肝轉移模型中化合物 1a 的抗癌活性

【0564】 在 CT26 肝轉移模型中測試化合物 1a 的抗癌活性。麻醉 5-6 周齡的 BALB/cJ 母小鼠(Jackson Labs, Bar Harbor, Maine)，使具有螢光素酶-表現的 CT26 腫瘤細胞植入脾臟內(每隻小鼠 5×10^5 cells)。後面十分鐘等待的期間容許腫瘤細胞循環至動物的肝臟中。然後移除脾臟並縫合動物及容許恢復。三天之後，

再次植入 CT26 腫瘤細胞(每隻小鼠 105 cells)，此時在右前肢皮下區域植入，使腫瘤塊能夠發展以用於化合物施予。脾臟內植入九天後，腫瘤內施予化合物(10 mg/kg)，單一次注入 sc 腫瘤。

【0565】 化合物局部抗腫瘤效果透過其在 sc 腫瘤上的效果測量，而化合物的遠位輻射效果(abscopal effect)藉由被治療小鼠相較於載體治療的控制組小鼠的整體存活來評估，基於在各小鼠肝臟中腫瘤塊生長的測定效果。化合物 1a 顯示對局部 sc 腫瘤的強度活性及亦在 10 隻治療動物中的 9 隻中有全身性療效的活性(第 9 圖)。這些結果表示出化合物 1a 的局部施予可以誘導出局部及全身(遠位)的兩種抗腫瘤活性。

【0566】 實例 110-在 GL261 大腦正位模型(brain orthotopic model)中的化合物 1a 抗癌效果。

【0567】 化合物 1a 在 GL261 大腦正位模型(brain orthotopic model)中測試其抗癌活性。GL261 為鼠神經膠質瘤細胞株。螢光素酶表現的 GL261 鼠神經膠質瘤細胞(2x10⁴ cells/鼠)顱內植入 5-6 周齡的 B6 白化母小鼠(Jackson Labs, Bar Harbor, Maine)。3 至 4 天之後，GL261 細胞在右前肢皮下區域植入(106cells/鼠)使腫瘤塊能夠發展以用於化合物施予。顱內植入腫瘤細胞 10 天後，腫瘤內施予化合物(10 mg/kg)，單一次注入 sc 腫瘤。化合物局部抗腫瘤效果透過其在 sc 腫瘤上的效果測量，而化合物的遠位輻射效果(abscopal effect)藉由被治療小鼠相較於載體治療的控制組小鼠的整體存活來評估，基於測定在各小鼠腦中腫瘤塊生長的效果。化合物 1a 顯示對局部 sc 腫瘤的強度活性及亦在 8 隻治療動物中的 5 隻中有全身性療效的活性(第 10 圖)。這些結果表示出化合物 1a 的局部施予可以誘導出局部及全身(遠位)的兩種抗腫瘤活性。

【0568】 實例111-確認具有WT STING之錯合物的X射線結構

【0569】 為確認本案新環狀雙核苷酸的作用的模式，測定與化合物錯合的WT STING之X射線晶體結構。

【0570】 A. WT STING C-端結構域(殘基155-341)的表現及純化。

【0571】 將編碼從胺基酸155至341(SEQ ID NO： 4)的人類WT STING蛋白的DNA序列選殖(cloned)到pET21b載體中，伴隨著在其N端的His-TEV-Sum標記(SEQ ID NO： 5)。pET21b的序列已被保存在 addgene 中且可取得於：addgene.org/vector-database/2550/，所述序列藉由引用併入本文。

【0572】 *E. coli* BL21 (DE3) codon plus細胞以此質體轉形，並以0.1 mM異丙基 β -D-1-硫代半乳糖苷(Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG))誘導重組蛋白的表現。蛋白質藉由Ni-NTA 親和性層析自細胞溶解液的可溶性鰹分純化。藉由SUMO蛋白酶(SUMO protease)移除His-TEV-Sumo標記，且使用第二個Ni-NTA親和性管柱自沒有標記的WT STING 155-341分離。蛋白質進一步藉由陰離子交換層析及粒徑篩析層析儀純化，並以35 mg/ml的濃度儲存在含有20 mM Tris·HCl pH 7.5及 150 mM NaCl之緩衝液中。

【0573】 B. 與化合物1錯合之WT STING C-端結構域的結晶及結構測定。

【0574】 為使WT STING 155-341與化合物1共結晶，使用儲存緩衝液(20 mM Tris·HCl pH 7.5及 150 mM NaCl)將WT STING蛋白稀釋至10 mg/ml並與化合物1(100 mM存於 DMSO中)以莫耳比例1：5混合。混合物在4°C下培養4小時，並在結晶前以13000rpm離心20分鐘。在18°C下使用懸滴蒸氣擴散法(hanging-drop vapor-diffusion method)裝設結晶紋柵塔盤(screen trays)。結晶藉由混合1 μ L的 WT STING/化合物1溶液與等量的含有100 mM HEPES pH 7.5、200 mM CaCl₂及15%

(wt/vol) PEG 8000的孔溶液(well solution)生長。20% (wt/vol) PEG 400用作為結晶於液態氮中急速冷凍時的冷凍保護劑。在SSRF BL19U1束線(beamline)以Pilatus detector 收集繞射資料庫，並在 CCP4 電腦軟體組中以 HKL3000 及程式 SCALEPACK2MTZ處理。

【0575】 WT STING 155-341結合至化合物 1的結構藉由使用以PDB ID 4F9E 作為起始搜尋模型的程式 PHASER (Maximum Likelihood Molecular Replacement)的分子置換法(molecular replacement)測定。在WT STING二聚體界面之間的化合物1的存在於以模型相計算的Fo-Fc差異圖中確認。模型手動地以在 CCP4 電腦軟體組中的Coot 軟體並以Refmac5 軟體精製建立及完成。最終的精製結構在空間群P212121中被記述2.38 Å的解析度，其包含單位晶格測量於 $a = 33.820$ 、 $b = 78.110$ 、 $c = 132.212$ 、 $\alpha = 90.00$ 、 $\beta = 90.00$ 、 $\gamma = 90.00$ 。WT STING 155-341的兩個複製(copies)於在二聚體界面結合至化合物1的一個分子的各不對稱單元中鑑別。

【0576】 C. 在X射線結晶結構中觀察WT STING與化合物1的交互作用。

【0577】 第11圖顯示與化合物1錯合的人類WT STING之X射線結晶結構圖。檢視與化合物1錯合的人類WT STING之X射線結晶結構，其係來自化合物1a樣品的共結晶。化合物結合於藉由WT STING 蛋白的二聚體形成的界面口袋(interface pocket)。化合物的腺嘌呤鹼基的兩面的分別與Tyr240及Arg238的胍基形成 π - π 堆疊交互作用。反式烯烴(olefin)連接基與Arg238側鏈的脂肪族部分形成凡得瓦交互作用。化合物核糖基的C2'位置的氟取代基嵌套(nests)在藉由Thr263、Pro264及Tyr163定義的疏水性孔洞中。化合物帶負電的硫代磷酸酯(thiophosphate)基團與Arg238形成鹽橋，並分別與Ser162 及 Thr267形成氫鍵交互作用。此外，

硫代磷酸酯基團亦與Arg 232的胍基形成靜電交互作用。WT STING的LID環區(loop region)，其由殘基226至243組成，纏繞兩個鹼基及反式烯烴連接基。

【0578】 實例112- 與化合物1錯合的REF STING之 X射線結晶結構的測定。

【0579】 A. REF STING C-端結構域(殘基 155-341, SEQ ID NO： 6)的表達及純化

【0580】 編碼自胺基酸155至341(SEQ ID NO： 6)的人類 REF STING蛋白之DNA序列選殖到pET21b載體中，伴隨著在其N端的His-TEV-Sumo標記(SEQ ID NO： 7)。His-TEV-Sumo的序列已被pET21b的序列已被保存在addgene中且可取得於：addgene.org/vector-database/2550/，所述序列藉由引用併入本文。

【0581】 *E. coli* BL21 (DE3) codon plus細胞以此質體轉形，並以0.1 mM異丙基β-D-1-硫代半乳糖苷誘導重組蛋白的表現。蛋白質藉由Ni-NTA 親和性層析自細胞溶解液的可溶性餾分純化。藉由SUMO蛋白酶移除His-TEV-Sumo 標記，且使用第二個Ni-NTA親和性管柱自沒有標記的REF STING_155-341分離。蛋白質進一步藉由陰離子交換層析及粒徑篩析層析儀純化，並以24 mg/ml的濃度儲存在含有20 mM Tris·HCl pH 7.5及 150 mM NaCl的緩衝液中。

【0582】 B. 與化合物1錯合之REF STING C-端結構域的結晶及結構測定。

【0583】 為使REF STING 155-341與化合物1共結晶，使用儲存緩衝液(20 mM Tris·HCl pH 7.5及 150 mM NaCl) 將REF STING蛋白稀釋至10 mg/ml並與化合物1(100 mM存於 DMSO中)以莫耳比例1：5混合。混合物在4°C下培養4小時，並在結晶前以13000rpm離心20分鐘。在18°C下使用懸滴蒸氣擴散法裝設結晶紋柵塔盤。結晶藉由混合1 μL的 REF STING/化合物1溶液與等量的含有100 mM HEPES pH 7.5、 200 mM CaCl₂及15% (wt/vol) PEG 8000的孔溶液生長。20%

(wt/vol) PEG 400用作為結晶於液態氮中急速冷凍時的冷凍保護劑。在SSRF BL18U1束線以Pilatus detector收集繞射資料庫，並在CCP4電腦軟體組中以HKL3000及程式SCALEPACK2MTZ處理。此結構示於第12圖。

【0584】 REF STING_155-341結合至化合物1的結構藉由使用先前測定WT STING 155-341結構(如上所述) 作為起始搜尋模型之程式PHASER的分子置換法測定。在REF STING二聚體界面之間的化合物1的存在以模型相計算的Fo-Fc差異圖中確認。模型手動地以在CCP4 電腦軟體組中的Coot 軟體並以Refmac5 軟體精製建立及完成。最終的精製結構在空間群P212121中被記述2.76 Å的解析度，其包含單位晶格測量於 $a = 33.733$ 、 $b = 77.831$ 、 $c = 131.689$ 、 $\alpha = 90.00$ 、 $\beta = 90.00$ 、 $\gamma = 90.00$ 。REF STING 155-341的兩個複製於在二聚體界面結合至化合物1的一個分子的各不對稱單元中鑑別。

【0585】 C. 在X射線結晶結構中觀察REF STING與化合物1的交互作用。

【0586】 第12圖顯示與化合物1錯合的REF STING之X射線結晶結構，其來自化合物1a樣品的共結晶。化合物結合於藉由STING 蛋白的二聚體形成的界面口袋。化合物腺嘌呤鹼基的兩面分別與Tyr240及Arg238的胍基形成 π - π 堆疊交互作用。反式烯烴(olefin) 鏈結與Arg238側鏈的脂肪族部分形成凡得瓦交互作用，而Arg238側鏈的胍部分與來自外側的His232的側鏈的咪唑基形成 π - π 堆疊交互作用。烯烴連接基與Arg238及His232側鏈的交互作用對接觸。化合物核糖基的C2'位置的氟取代基嵌套在藉由Thr263、Pro264及Tyr163定義的疏水性孔洞中。化合物帶負電的硫代磷酸酯基團與Arg238形成鹽橋，並分別與Ser162及Thr267形成氫鍵交互作用。REF STING的LID環區由殘基226至243組成，纏繞兩個鹼基及反式烯烴連接基。

【0587】 在本揭露中的所有參考文件藉由引用併入本文中，若有任何併入的文件與本說明書相矛盾，則以本說明書為主。所屬技術領域具有通常知識者將認識到可對本文所提供的材料做各種改變及修飾，且該材料包含在本揭露的範疇與精神中。

【0588】 序列列表

【0589】 SEQ ID NO: 1 (WT人類STING):

atgccccactccagcctgcacccatccatcccgtgtcccaggggtcacggggcccagaaggcagccttggttctg
ctgagtgcctgcctggtgaccctttgggggctaggagagccaccagagcacactctccggtacctggtgctccac
ctagcctccctgcagctgggactgctgttaaacgggggtctgcagcctggctgaggagctgcgccacatccactcc
aggtaccggggcagctactggaggactgtgcgggcctgcctgggctgccccctccgccgtggggccctgttgc
gtgtccatctatttctactactccctcccaaatgcggctggcccgcccttcaacttgatgcttgccctcctgggcctct
cgcaggcactgaacatcctcctgggcctcaagggcctggccccagctgagatctctgcagtgtgtgaaaaagg
aattcaacgtggcccatgggctggcatggcatattacatcgatactgcggctgatcctgccagagctccaggc
ccggattcgaacttacaatcagcattacaacaacctgctacgggggtgcagtgagccagcggctgtatattctcctcc
cattggactgtgggggtgcctgataacctgagtatggctgacccaacattcgcttcttgataaactgccccagcag
accggtgaccgggctggcatcaaggatcgggtttacagcaacagcatctatgagcttctggagaacgggcagcg
ggcgggcacctgtgtcctggagtagccaccccttgcacactttgtttgcatgtcacaatacagtcaagctggct
ttagccgggaggataggcttgagcaggccaaactcttctgccggacacttgaggacatcctggcagatgccctg
agtctcagaacaactgccgcctcattgcctaccaggaacctgcagatgacagcagcttctcgctgtcccaggaggt
tctccggcacctgcggcaggaggaaaaggaagaggttactgtgggcagcttgaagacctcagcgggtgccagta
cctccacgatgtccaagagcctgagctcctcatcagtgaatggaaaagccccctccctctccgcacggatttctct
tga

【0590】 SEQ ID NO: 2 (REF人類 STING):

atgccccactccagcctgcatccatccatcccgtgtcccaggggtcacggggcccagaaggcagccttggttctg
ctgagtgcctgcctggtgaccctttgggggctaggagagccaccagagcacactctccggtacctggtgctccac
ctagcctccctgcagctgggactgctgttaaaggggtctgcagcctggctgaggagctgcgccacatccactcc
aggtaccggggcagctactggaggactgtgcgggcctgcctgggctgccccctccgccgtggggccctgttctg
gctgtccatctatttctactactccctcccaaatgcggtcgggccgccccttcaacttgatgcttgcctcctgggcctct
cgcaggcactgaacatcctcctgggcctcaagggcctggccccagctgagatctctgcagtgtgtgaaaagg
aattcaacgtggcccatgggctggcatggcatattacatcgatctgcggctgatcctgccagagctccaggc
ccgattcgaacttacaatcagcattacaacaacctgctacgggggtgcagtgagccagcggctgtatattctctcc
cattggactgtgggggtgcctgataacctgagtatggctgaccccaacattcgcttctggataaactgccccagcag
accggtgacctgctggcatcaaggatcgggtttacagcaacagcatctatgagcttctggagaacgggcagcgg
gcgggcacctgtgtcctggagtacgccaccccttgcagactttgttgccatgtcacaatacagtcagctggctt
agccgggaggataggcttgagcaggccaaactcttctgccggacacttgaggacatcctggcagatgccctga
gtctcagaacaactgccgcctcattgcctaccaggaaacctgcagatgacagcagcttctcgtgtcccaggaggtt
ctccggcacctgcggcaggaggaaaaggaagaggttactgtgggcagcttgaagacctcagcgggtgccagta
cctccacgatgtcccaagagcctgagctcctcatcagtgaatggaaaagccccctccctctccgcacggatttctct
tga

【0591】 SEQ ID NO: 3 (AQ人類STING):

【0592】 atgccccactccagcctgcatccatccatcccgtgtcccaggggtcacggggcccagaaggcag

ccttggttctgctgagtgcctgcctggtgaccctttgggggctaggagagccaccagagcacactctccggtacctggtgct
ccacctagcctccctgcagctgggactgctgttaaaggggtctgcagcctggctgaggagctgcgccacatccactcca
ggtagccggggcagctactggaggactgtgcgggcctgcctgggctgccccctccgccgtggggccctgttctgctgtcc
atctatttctactactccctcccaaatgcggtcgggccgccccttcaacttgatgcttgcctcctgggcctctcgcaggcactg

aacatcctcctgggcctcaagggcctggccccagctgagatctctgcagtgtgtgaaaaaggaatttcaacgtggcccat
gggctggcatggatcatattacatcgatatctgcggctgatactgccagagctccaggcccgattcgaacttacaatcagc
attacaacaacctgctacgggggtgcagtgagccagcggctgtatattctctccattggactgtgggggtgcctgataacct
gagtatggctgaccccaacattcgcttctggataaactgccccagcagaccgctgaccgagctggcatcaaggatcggg
tttacagcaacagcatctatgagcttctggagaacgggcagcgggcgggcacctgtgtcctggagtacgccaccccccttg
cagactttgtttgcatgtcacaatacagtcaagctggcttttagccgggaggataggcttgagcaggccaaactcttctgcc
gacacttgaggacatcctggcagatgccctgagtctcagaacaactgccgcctcattgcctaccaggaacctgcagatga
cagcagcttctcgtgtcccaggaggttctccggcacctgcggcaggaggaaaaggaagaggttactgtgggcagcttga
agacctcagcgggtgcccagtagctccacgatgtccaagagcctgagctcctcatcagtggaatggaaaagccccctcct
ctccgcacggatttctcttga

【0593】 SEQ ID NO: 4 (WT STING 殘基155-341):

VAHGLAWSYYIGYLRLLPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPL
DCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDRAGIKDRVYSNSIYELLENGQR
AGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADA
PESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRLRQEEKEEV

【0594】 SEQ ID NO: 5 (His-TEV-Sumo-WT STING 155-341)

MHHHHHHSSGVDLGTENLYFQSNAMSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHI
NLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAFKRQKGEMDSLRLFLYDGIRIQA
DQTPEDLDMEDNDIIEAHREQIGGGSVAHGLAWSYYIGYLRLLPELQAR
IRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQ
QTGDRAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQ
AGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSL
SQEVLRLRQEEKEEV

【0595】 SEQ ID NO: 6 (REF STING殘基155-341):

第 201 頁，共 202 頁(發明說明書)

VAHGLAWSYYIGYLRRLILPELQARIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPL
DCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQR
AGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADA
PESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRLRQEEKEEV

【0596】 SEQ ID NO: 7 (His-TEV-Sumo-REF STING 155-341)

MHHHHHHSSGVDLGTENLYFQSNAMSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHI
NLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAFKRQGKEMDSLRLFLYDGIRIQA
DQTPEDLDMEDNDIIEAHREQIGGGSVAHGLAWSYYIGYLRRLILPELQAR
IRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVDPNLSMADPNIRFLDKLPQ
QTGDHAGIKDRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQ
AGFSREDRLEQAKLFCRTLEDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSL
SQEVLRLRQEEKEEV

【序列表】

<110> 衛材研發管理股份有限公司
<120> 治療癌症之化合物

<130> 0080171-000379
<140> 107105846
<141> 2018-2-21
<150> 62/460562
<151> 2017-02-17

<150> 62/479169
<151> 2017-03-30

<150> 62/551645
<151> 2017-08-29

<150> 62/551647
<151> 2017-08-29

<150> 62/551668
<151> 2017-08-29

<160> 7

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1140
<212> DNA
<213> 智人

<400> 1	
atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag	60
gcagccttggt ttctgctgag tgcctgcctg gtgaccttt gggggctagg agagccacca	120
gagcacactc tccgtacct ggtgtccac ctgacctccc tgcagctggg actgctgtta	180
aacgggggtct gcagcctggc tgaggagctg cgccacatcc actccaggta ccggggcagc	240
tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttgctg	300
ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgcctt cacttggatg	360
cttgccctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc	420
ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca	480
tggtcatatatt acatcgata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggaattcga	540

acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt 600

ctcctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgacct caacattcgc 660

ttcttgata aactgcccc aacagaccgtt gaccgggctg gcatcaagga tcgggtttac 720

agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag 780

tacgccacc ccttgagac tttgtttgcc atgtcacaat acagtcaagc tggctttagc 840

cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccgga cacttgagga catcctggca 900

gatccccctg agtctcagaa caactgccgc ctcattgcct accaggaacc tgcagatgac 960

agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020

gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgccagta cctccacgat gtccaagag 1080

cctgagctcc tcatcagtgg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttga 1140

<210> 2

<211> 1140

<212> DNA

<213> 智人

<400> 2

atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag 60

gcagccttgg ttctgtgag tgcctgcctg gtgaccttt gggggctagg agagccacca 120

gagcacactc tccgttacct ggtgtctccac ctgacctccc tgcagctggg actgtctgta 180

aacggggctt gcagcctggc tgaggagctg cgccacatcc actccaggta ccggggcagc 240

tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttgctg 300

ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gcccgcctt cacttggatg 360

cttgccctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc 420

ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca 480

tggtcatat acatcgata tctgcggtg atcctgccag agctccaggc ccggattcga 540

acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt 600

ctcctcccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgacct caacattcgc 660

ttcctggata aactgcccc aacgaccggt gaccatgctg gcatcaagga tcgggtttac	720
agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag	780
tacgccaccc ccttgagac ttgttttggc atgtcacaat acagtcaagc tggcttttagc	840
cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccgga cacttgagga catcctggca	900
gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcatctgct accaggaacc tgcagatgac	960
agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag	1020
gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgcccagta cctccacgat gtcccaagag	1080
cctgagctcc tcatcagtgg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttga	1140

<210> 3
<211> 1140
<212> DNA
<213> 智人

<400> 3 atgccccact ccagcctgca tccatccatc ccgtgtccca ggggtcacgg ggcccagaag	60
gcagccttgg ttctgtgag tgcctgcctg gtgaccttt gggggctagg agagccacca	120
gagcacactc tccggtacct ggtgtctccac ctagcctccc tgcagctggg actgctgtta	180
aacgggggtct gcagcctggc tgaggagctg cggcacatcc actccaggta ccggggcagc	240
tactggagga ctgtgcgggc ctgcctgggc tgccccctcc gccgtggggc cctgttgctg	300
ctgtccatct atttctacta ctccctccca aatgcggtcg gccgcctt cacttggatg	360
cttgccctcc tgggcctctc gcaggcactg aacatcctcc tgggcctcaa gggcctggcc	420
ccagctgaga tctctgcagt gtgtgaaaaa gggaatttca acgtggccca tgggctggca	480
tggtcattat acatcggata tctgcggctg atcctgccag agctccaggc ccggattcga	540
acttacaatc agcattacaa caacctgcta cggggtgcag tgagccagcg gctgtatatt	600
ctctctccat tggactgtgg ggtgcctgat aacctgagta tggctgacct caacattcgc	660
ttcctggata aactgcccc aacgaccgct gaccgagctg gcatcaagga tcgggtttac	720
agcaacagca tctatgagct tctggagaac gggcagcggg cgggcacctg tgtcctggag	780
tacgccaccc ccttgagac ttgttttggc atgtcacaat acagtcaagc tggcttttagc	840

cgggaggata ggcttgagca ggccaaactc ttctgccaga cacttgagga catcctggca 900

gatgcccctg agtctcagaa caactgccgc ctcatcgcct accaggaacc tgcagatgac 960

agcagcttct cgctgtccca ggaggttctc cggcacctgc ggcaggagga aaaggaagag 1020

gttactgtgg gcagcttgaa gacctcagcg gtgccagta cctccacgat gtcccaagag 1080

cctgagctcc tcatcagtgg aatggaaaag cccctccctc tccgcacgga tttctcttga 1140

<210> 4

<211> 187

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

Val Ala His Gly Leu Ala Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu

1 5 10 15

Ile Leu Pro Glu Leu Gln Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr

20 25 30

Asn Asn Leu Leu Arg Gly Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu

35 40 45

Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn

50 55 60

Ile Arg Phe Leu Asp Lys Leu Pro Gln Gln Thr Gly Asp Arg Ala Gly

65 70 75 80

Ile Lys Asp Arg Val Tyr Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn

85 90 95

Gly Gln Arg Ala Gly Thr Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln

100 105 110

Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu

115 120 125

Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys Leu Phe Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile
130 135 140

Leu Ala Asp Ala Pro Glu Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr
145 150 155 160

Gln Glu Pro Ala Asp Asp Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu
165 170 175

Arg His Leu Arg Gln Glu Glu Lys Glu Glu Val
180 185

<210> 5
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> His-TEV-Sumo-WT STING 建構物

<400> 5

Met His His His His His His Ser Ser Gly Val Asp Leu Gly Thr Glu
1 5 10 15

Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Asn Ala Met Ser Asp Ser Glu Val Asn Gln
20 25 30

Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr His Ile
35 40 45

Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys Ile Lys
50 55 60

Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys Arg Gln
65 70 75 80

Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile Arg Ile
85 90 95

Gln	Ala	Asp	Gln	Thr	Pro	Glu	Asp	Leu	Asp	Met	Glu	Asp	Asn	Asp	Ile	
			100					105						110		
Ile	Glu	Ala	His	Arg	Glu	Gln	Ile	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Ala	His	Gly	
		115					120					125				
Leu	Ala	Trp	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Leu	Arg	Leu	Ile	Leu	Pro	Glu	
		130					135				140					
Leu	Gln	Ala	Arg	Ile	Arg	Thr	Tyr	Asn	Gln	His	Tyr	Asn	Asn	Leu	Leu	
145					150					155					160	
Arg	Gly	Ala	Val	Ser	Gln	Arg	Leu	Tyr	Ile	Leu	Leu	Pro	Leu	Asp	Cys	
				165					170					175		
Gly	Val	Pro	Asp	Asn	Leu	Ser	Met	Ala	Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Phe	Leu	
			180						185				190			
Asp	Lys	Leu	Pro	Gln	Gln	Thr	Gly	Asp	Arg	Ala	Gly	Ile	Lys	Asp	Arg	
		195					200					205				
Val	Tyr	Ser	Asn	Ser	Ile	Tyr	Glu	Leu	Leu	Glu	Asn	Gly	Gln	Arg	Ala	
		210					215					220				
Gly	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Tyr	Ala	Thr	Pro	Leu	Gln	Thr	Leu	Phe	Ala	
225					230					235				240		
Met	Ser	Gln	Tyr	Ser	Gln	Ala	Gly	Phe	Ser	Arg	Glu	Asp	Arg	Leu	Glu	
				245						250				255		
Gln	Ala	Lys	Leu	Phe	Cys	Arg	Thr	Leu	Glu	Asp	Ile	Leu	Ala	Asp	Ala	
			260						265					270		
Pro	Glu	Ser	Gln	Asn	Asn	Cys	Arg	Leu	Ile	Ala	Tyr	Gln	Glu	Pro	Ala	
		275						280				285				
Asp	Asp	Ser	Ser	Phe	Ser	Leu	Ser	Gln	Glu	Val	Leu	Arg	His	Leu	Arg	

290				295				300							
Gln Glu Glu Lys Glu Glu Val															
305				310											
<210> 6															
<211> 187															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 6															
Val Ala His Gly Leu Ala Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu															
1				5				10				15			
Ile Leu Pro Glu Leu Gln Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr															
				20				25				30			
Asn Asn Leu Leu Arg Gly Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu															
35				40				45							
Pro Leu Asp Cys Gly Val Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn															
50				55				60							
Ile Arg Phe Leu Asp Lys Leu Pro Gln Gln Thr Gly Asp His Ala Gly															
65				70				75				80			
Ile Lys Asp Arg Val Tyr Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn															
				85				90				95			
Gly Gln Arg Ala Gly Thr Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln															
				100				105				110			
Thr Leu Phe Ala Met Ser Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu															
115				120				125							
Asp Arg Leu Glu Gln Ala Lys Leu Phe Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile															
130				135				140							

Leu Ala Asp Ala Pro Glu Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr
145 150 155 160

Gln Glu Pro Ala Asp Asp Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu
165 170 175

Arg His Leu Arg Gln Glu Glu Lys Glu Glu Val
180 185

<210> 7
<211> 311
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> His-TEV-Sumo-REF STING 155-341 建構物

<400> 7

Met His His His His His His Ser Ser Gly Val Asp Leu Gly Thr Glu
1 5 10 15

Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Asn Ala Met Ser Asp Ser Glu Val Asn Gln
20 25 30

Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr His Ile
35 40 45

Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys Ile Lys
50 55 60

Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys Arg Gln
65 70 75 80

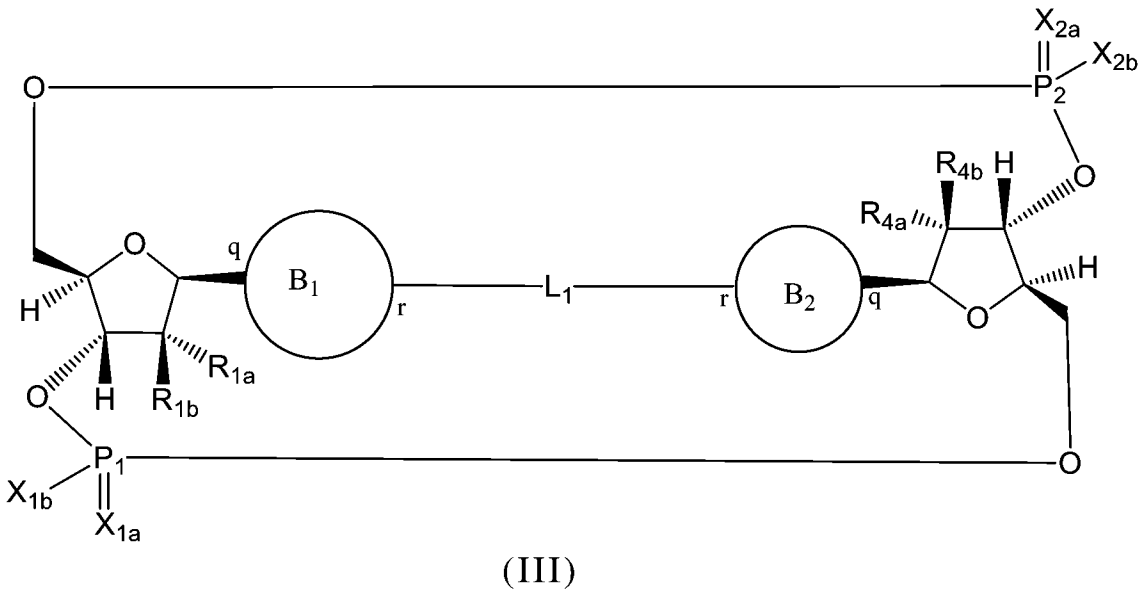
Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile Arg Ile
85 90 95

Gln Ala Asp Gln Thr Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn Asp Ile
100 105 110

Ile	Glu	Ala	His	Arg	Glu	Gln	Ile	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Ala	His	Gly
115					120					125					
Leu	Ala	Trp	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Leu	Arg	Leu	Ile	Leu	Pro	Glu
130					135					140					
Leu	Gln	Ala	Arg	Ile	Arg	Thr	Tyr	Asn	Gln	His	Tyr	Asn	Asn	Leu	Leu
145					150					155					160
Arg	Gly	Ala	Val	Ser	Gln	Arg	Leu	Tyr	Ile	Leu	Leu	Pro	Leu	Asp	Cys
165					170					175					
Gly	Val	Pro	Asp	Asn	Leu	Ser	Met	Ala	Asp	Pro	Asn	Ile	Arg	Phe	Leu
180					185					190					
Asp	Lys	Leu	Pro	Gln	Gln	Thr	Gly	Asp	His	Ala	Gly	Ile	Lys	Asp	Arg
195					200					205					
Val	Tyr	Ser	Asn	Ser	Ile	Tyr	Glu	Leu	Leu	Glu	Asn	Gly	Gln	Arg	Ala
210					215					220					
Gly	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Tyr	Ala	Thr	Pro	Leu	Gln	Thr	Leu	Phe	Ala
225					230					235					240
Met	Ser	Gln	Tyr	Ser	Gln	Ala	Gly	Phe	Ser	Arg	Glu	Asp	Arg	Leu	Glu
245					250					255					
Gln	Ala	Lys	Leu	Phe	Cys	Arg	Thr	Leu	Glu	Asp	Ile	Leu	Ala	Asp	Ala
260					265					270					
Pro	Glu	Ser	Gln	Asn	Asn	Cys	Arg	Leu	Ile	Ala	Tyr	Gln	Glu	Pro	Ala
275					280					285					
Asp	Asp	Ser	Ser	Phe	Ser	Leu	Ser	Gln	Glu	Val	Leu	Arg	His	Leu	Arg
290					295					300					
Gln	Glu	Glu	Lys	Glu	Glu	Val									
305					310										

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種通式(III)的化合物或其藥學上可接受的鹽，



其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 不會皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 不會皆為-F；

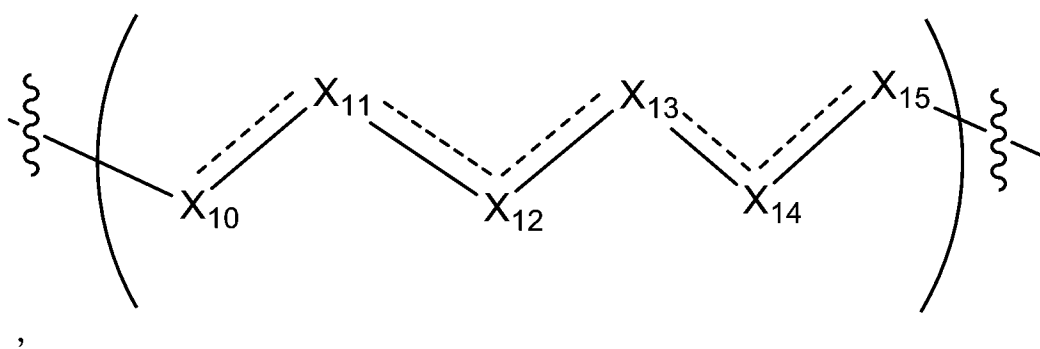
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中， R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

通式(III)中的 L_1 為四個、五個或六個碳的長度，且為

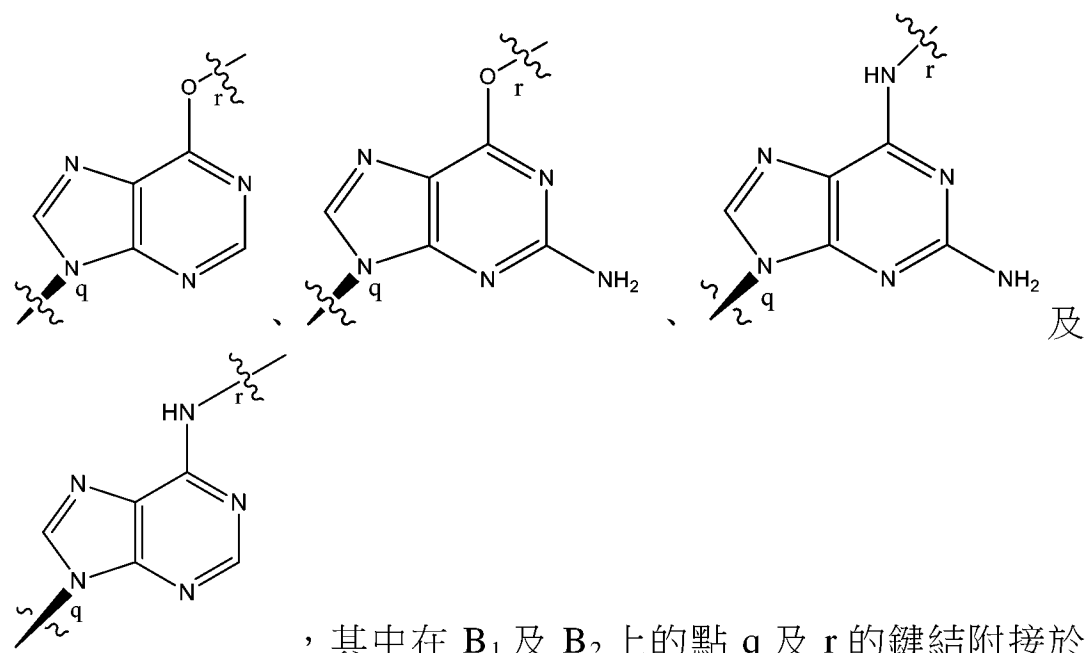


其中 ----- 表示單鍵、雙鍵或三鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ===== 表示雙鍵或三鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}-$ ，其中 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}-$ 為未被取代或被 (i) $-\text{OH}$ 、(ii) $-\text{F}$ 、(iii) $-\text{Cl}$ 、(iv) $-\text{NH}_2$ 或 (v) $-\text{D}$ 取代的，且當 X_{10} 或 X_{15} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

且其中包含 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 的群組中之任何兩個相鄰的成員選擇性地與其他原子形成 C_3 環烷基或 C_3 雜環烷基， C_3 雜環烷基包含 N 或 O 原子；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：

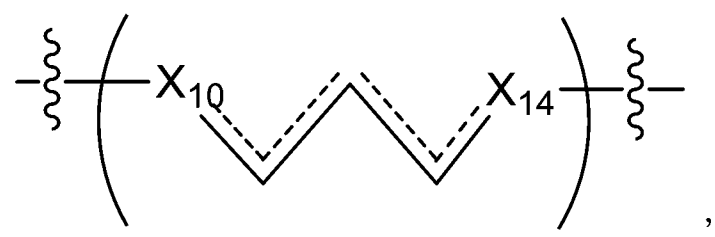


，其中在 B₁ 及 B₂ 上的點 q 及 r 的鍵結附接於在通式(III)上的點 q 及 r。

【請求項2】 如請求項 1 所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中：

- R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；
- R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 不會皆為-F；
- R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；
- R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 不會皆為-F；
- P₁ 及 P₂ 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；
- X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；
- X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；
- 其中，R₅ 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

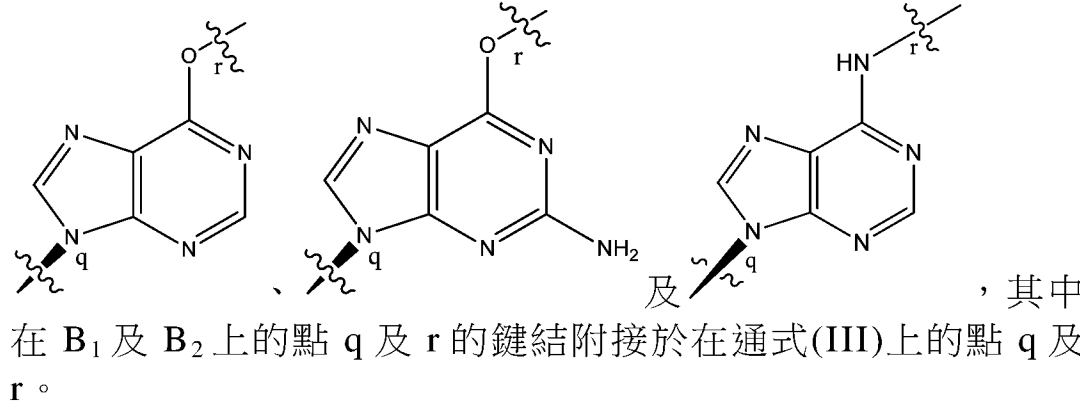
通式(III)中的 L₁ 為四個或五個碳的長度，且為



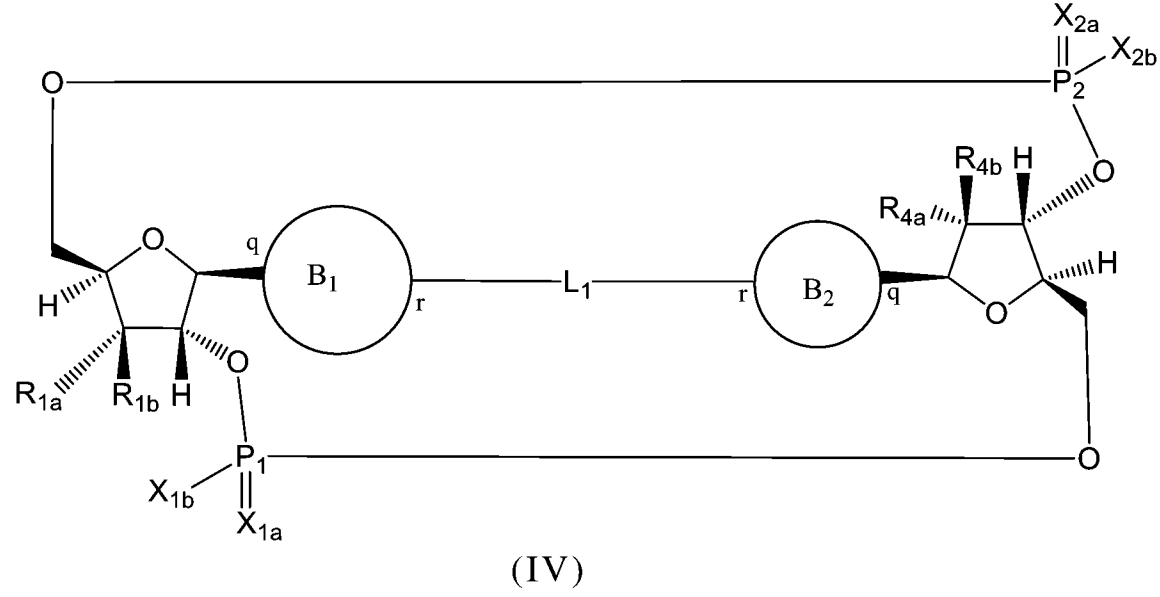
其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}-$ 或 $-\text{CH}_2-$ ，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



【請求項3】 一種通式(IV)的化合物或其藥學上可接受的鹽，



其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 不會皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 不會皆為-F；

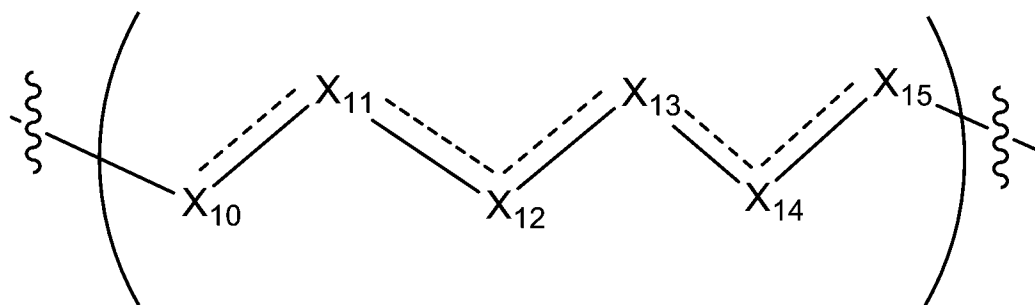
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中， R_5 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

通式(IV)中的 L_1 為四個、五個或六個碳的長度，且為

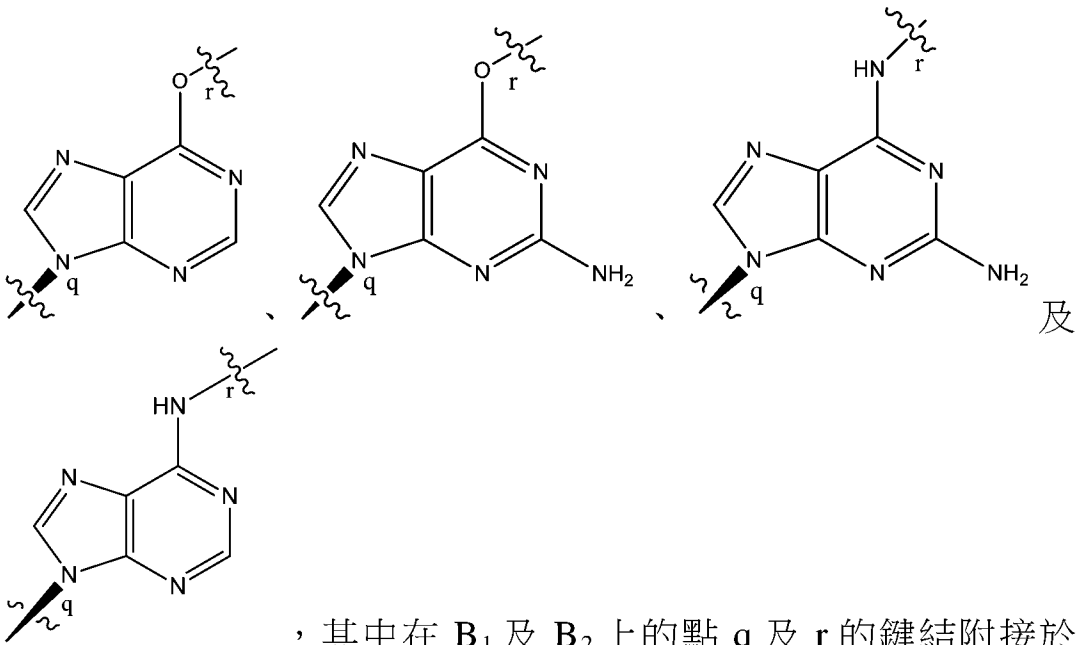


其中 ----- 表示單鍵、雙鍵或三鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ===== 表示雙鍵或三鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 係獨立地選自鍵結、-CH₂- 或-CH-，其中-CH₂-或-CH-為未被取代或被(i)-OH、(ii)-F、(iii)-Cl、(iv)-NH₂ 或(v)-D 取代的，且當 X_{10} 或 X_{15} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

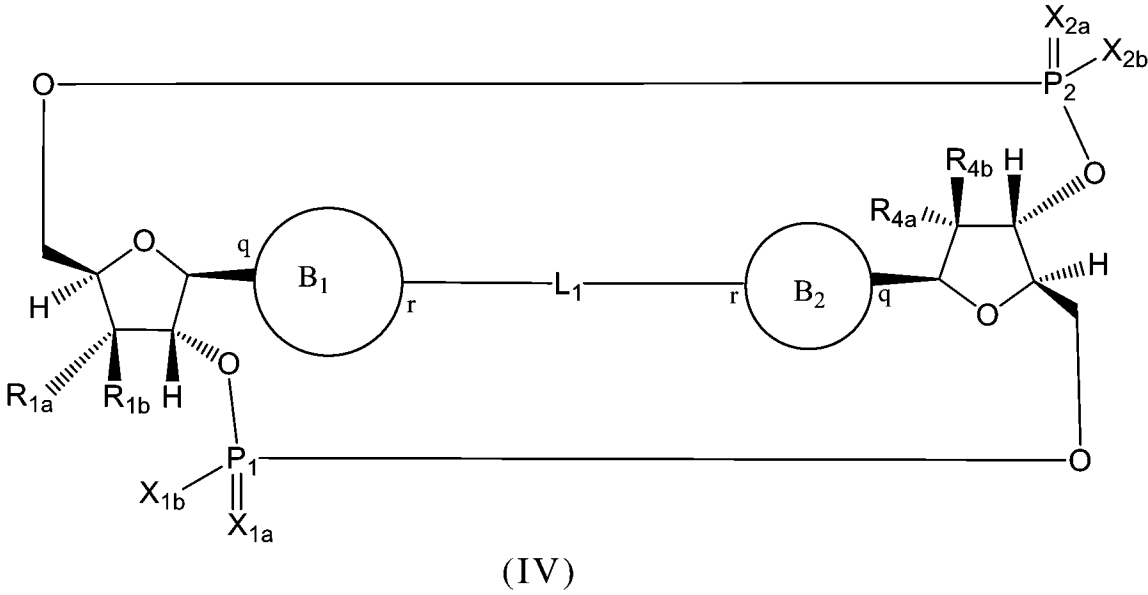
且其中包含 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 的群組中之任何兩個相鄰的成員選擇性地與其他原子形成 C_3 環烷基或 C_3 雜環烷基， C_3 雜環烷基包含 N 或 O 原子；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



，其中在 B_1 及 B_2 上的點 q 及 r 的鍵結附接於在通式(IV)上的點 q 及 r 。

【請求項4】 一種通式(IV)的化合物或其藥學上可接受的鹽，



其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 不會皆為 -F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 不會皆為 -F；

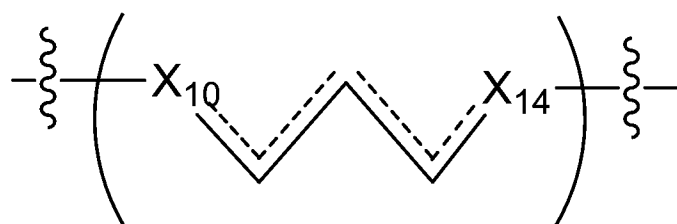
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中， R_5 係選自由 -H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及 -OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

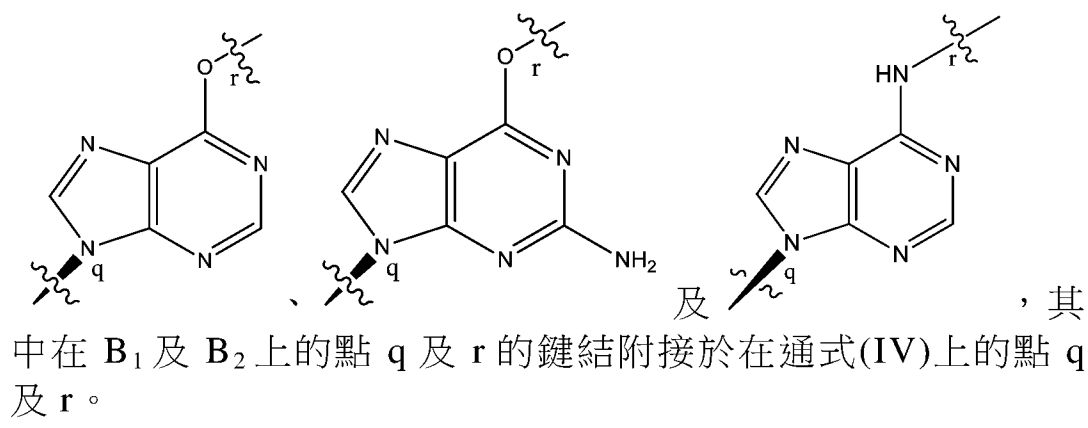
通式(IV)中的 L_1 為四個或五個碳的長度，且為



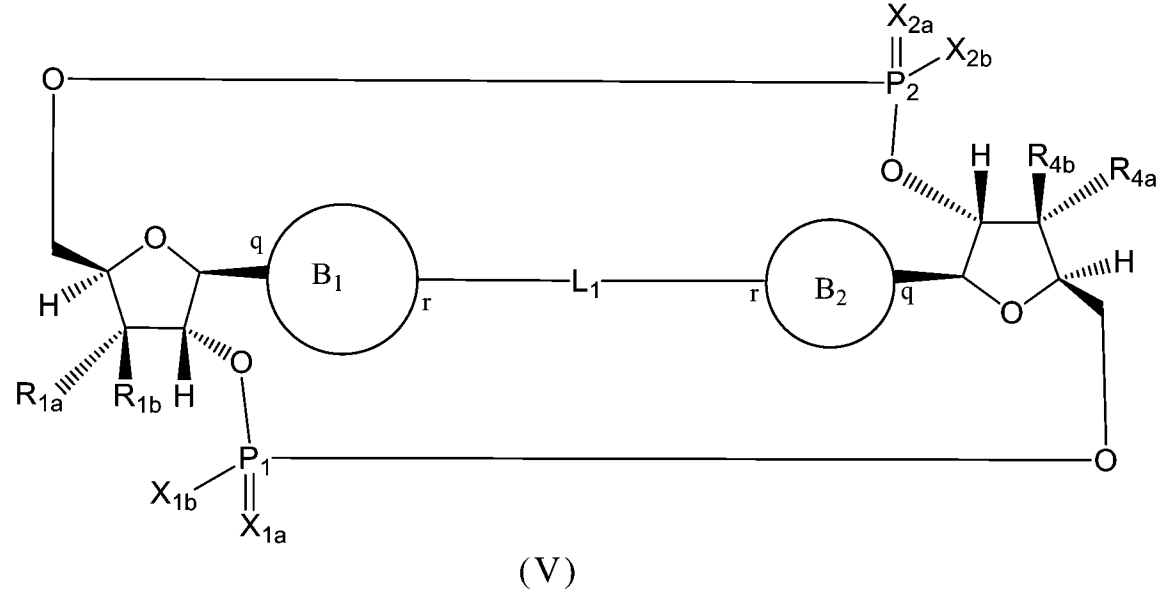
其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X_{10} 及 X_{14} 係獨立地選自鍵結、-CH-或 -CH₂-，且其中當 X_{10} 或 X_{14} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



【請求項5】 一種通式(V)的化合物或其藥學上可接受的鹽，



其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 不會皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 不會皆為-F；

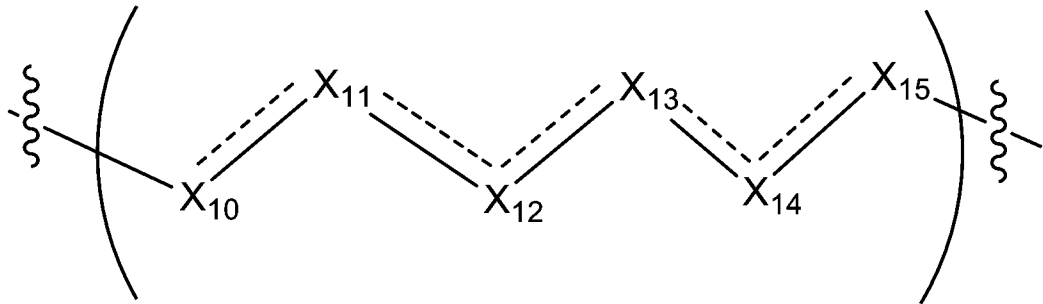
P_1 及 P_2 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自 $-OR_5$ 或 $-SR_5$ ；

其中， R_5 係選自由 $-H$ 、 C_{1-6} 烷基、 $-C(O)C_{1-6}$ 烷基及 $-OC(O)OC_{1-6}$ 烷基所組成的群組；

通式(V)中的 L_1 為四個或五個碳的長度，且為

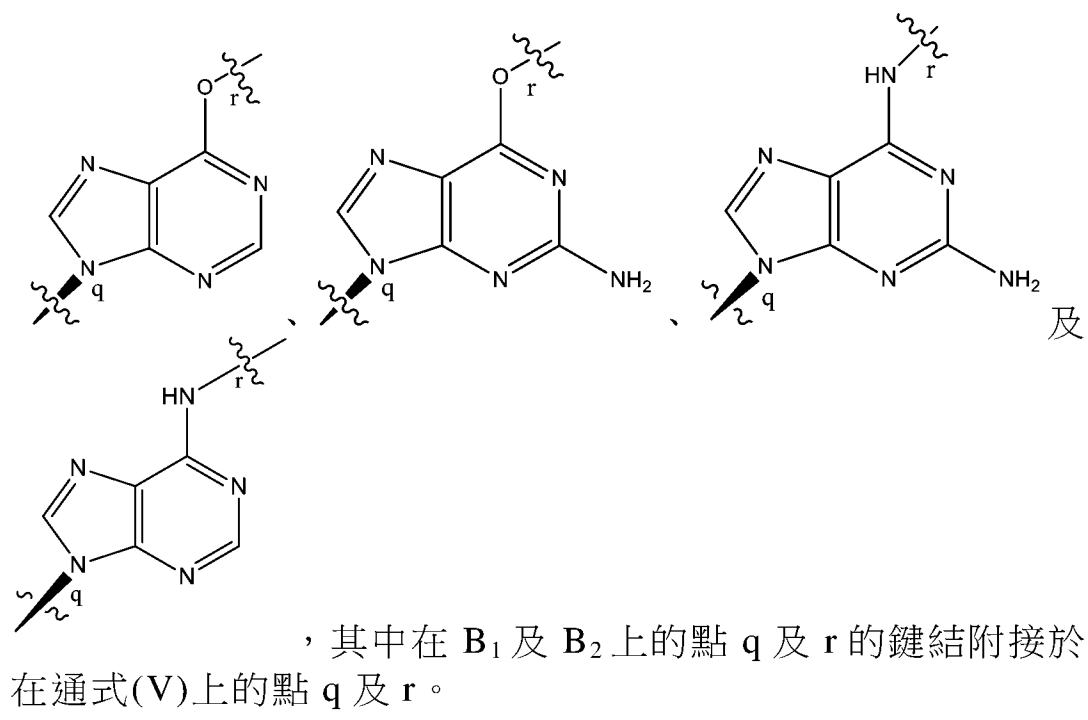


其中 ----- 表示單鍵、雙鍵或三鍵，且其中 L_1 中出現 0 或 1 的 ===== 表示雙鍵或三鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

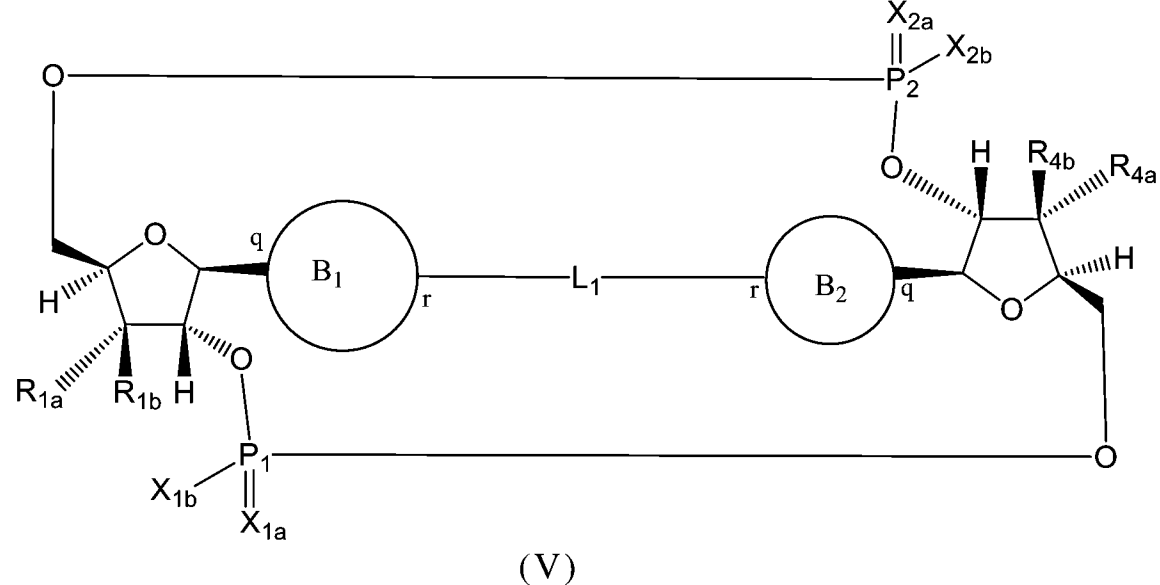
其中 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 係獨立地選自鍵結、 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}-$ ，其中 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{CH}-$ 為未被取代或被 (i)-OH、(ii)-F、(iii)-Cl、(iv)- NH_2 或 (v)-D 取代的，且當 X_{10} 或 X_{15} 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

且其中包含 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 及 X_{15} 的群組中之任何兩個相鄰的成員選擇性地與其他原子形成 C_3 環烷基或 C_3 雜環烷基， C_3 雜環烷基包含 N 或 O 原子；

其中， B_1 及 B_2 係獨立地選自：



【請求項6】 一種通式(V)的化合物或其藥學上可接受的鹽，



其中

R_{1a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{1b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{1a} 及 R_{1b} 不會皆為-F；

R_{4a} 係選自由-H 及-F 所組成的群組；

R_{4b} 係選自由-H 及-F 所組成的群組，其中 R_{4a} 及 R_{4b} 不會皆為

-F；

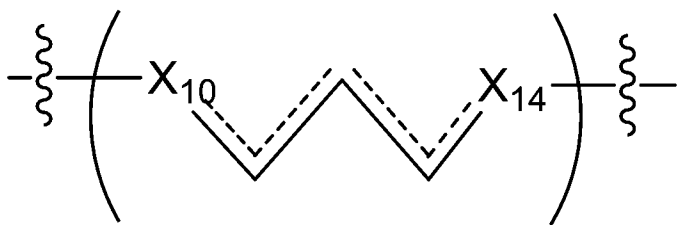
P₁ 及 P₂ 各自獨立地具有 S 或 R 的立體化學組態；

X_{1a} 及 X_{2a} 係為相同或不同的，且獨立地選自=O 或=S；

X_{1b} 及 X_{2b} 係為相同或不同的，且獨立地選自-OR₅ 或-SR₅；

其中，R₅ 係選自由-H、C₁₋₆ 烷基、-C(O)C₁₋₆ 烷基及-OC(O)OC₁₋₆ 烷基所組成的群組；

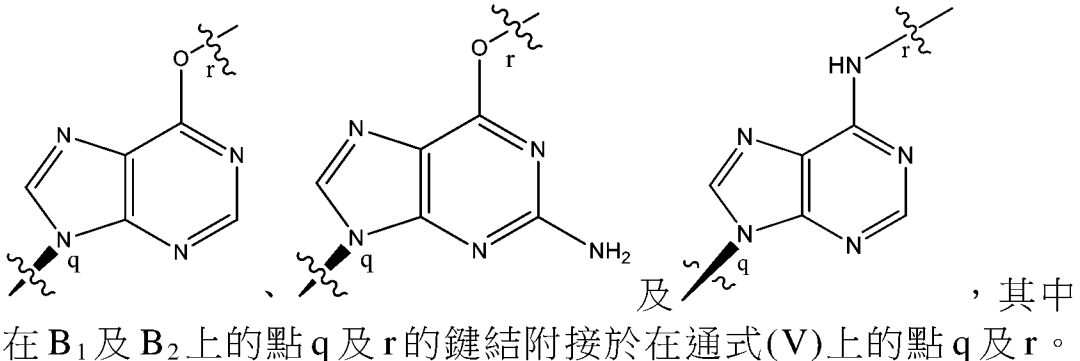
通式(V)中的 L₁ 為四個或五個碳的長度，且為



其中 ----- 表示單鍵或雙鍵，且其中 L₁ 中出現 0 或 1 的 ----- 表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為順式或反式；

其中 X₁₀ 及 X₁₄ 係獨立地選自鍵結、-CH-或 -CH₂-，且其中當 X₁₀ 或 X₁₄ 為鍵結時，該鍵結不是雙鍵；

其中，B₁ 及 B₂ 係獨立地選自：



【請求項7】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中

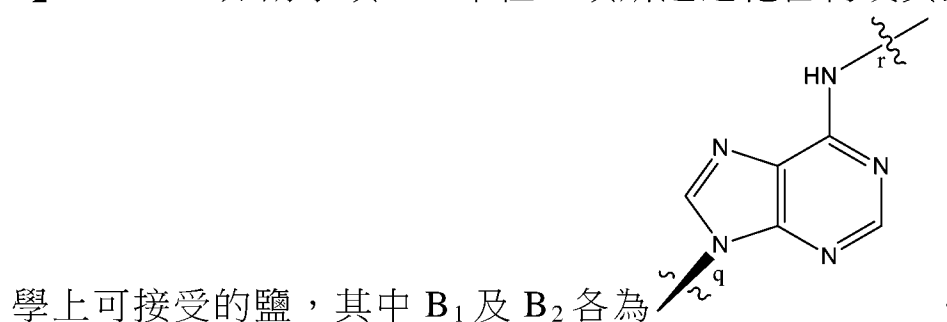
- (i) P₁ 及 P₂ 的立體化學組態皆為 R，P₁ 的立體化學組態為 R 且 P₂ 為 S，或 P₁ 的立體化學組態為 S 且 P₂ 為 R；及

(ii) 在 L_1 中一個 ===== 的出現表示雙鍵，其中關於雙鍵的幾何為反式。

【請求項8】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R_{1a} 及 R_{4a} 各為 $-F$ 。

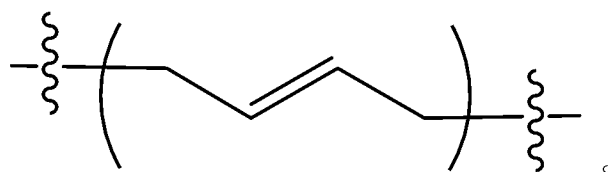
【請求項9】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 R_{1b} 及 R_{4b} 各為 $-F$ 。

【請求項10】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥



【請求項11】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 X_{1a} 及 X_{2a} 皆為 $=O$ 且其中 X_{1b} 及 X_{2b} 皆為 $-SH$ 。

【請求項12】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 L_1 為

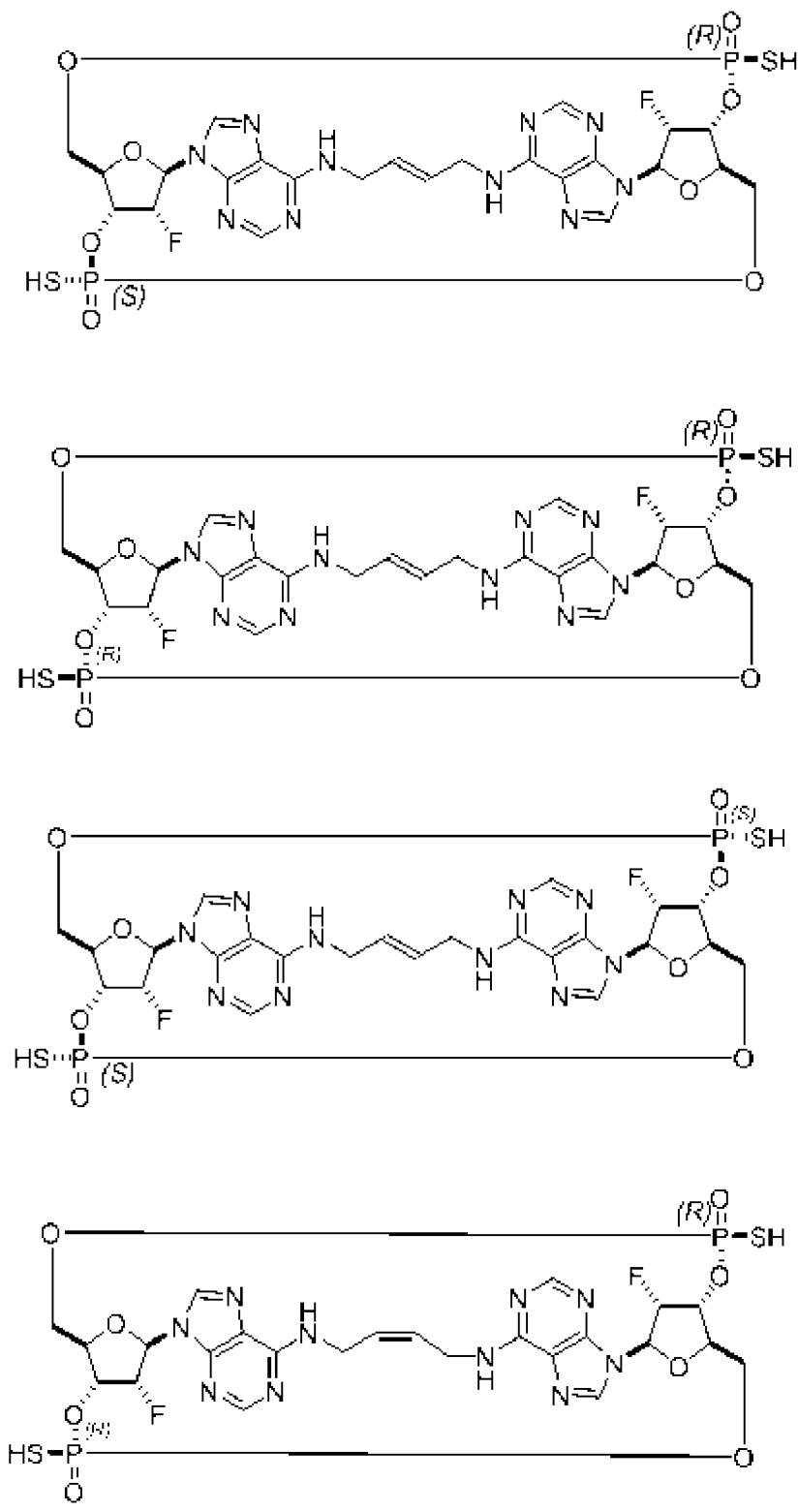


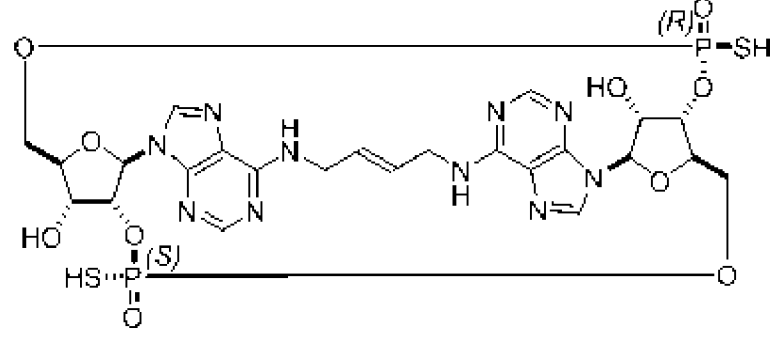
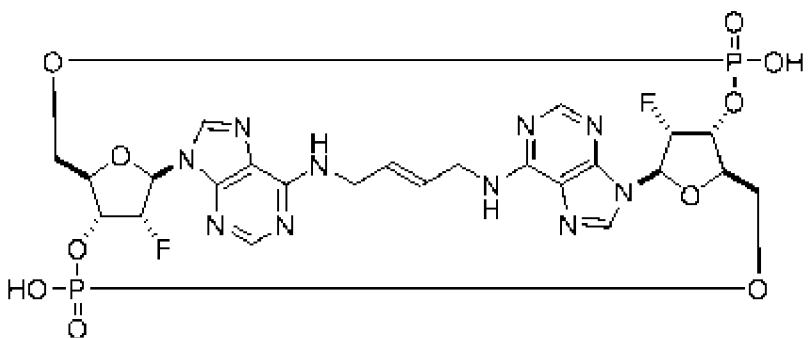
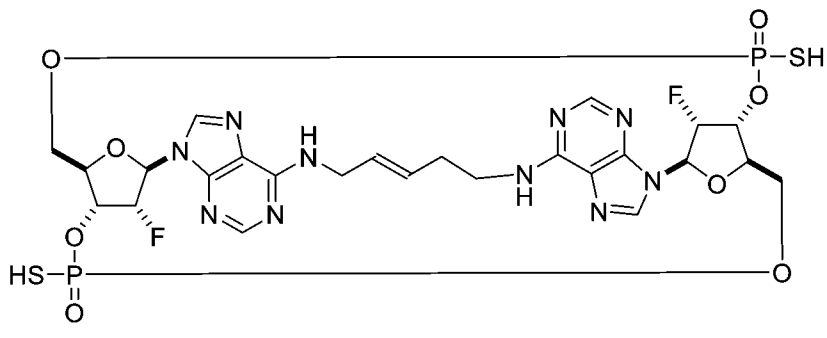
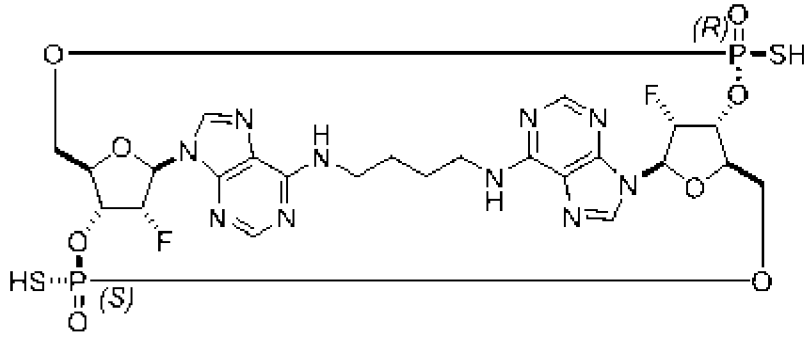
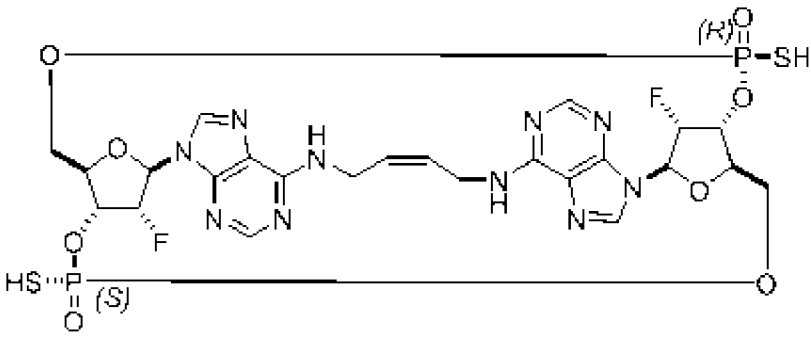
【請求項13】 如請求項 1 或請求項 2 所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 L_1 為五個碳的長度。

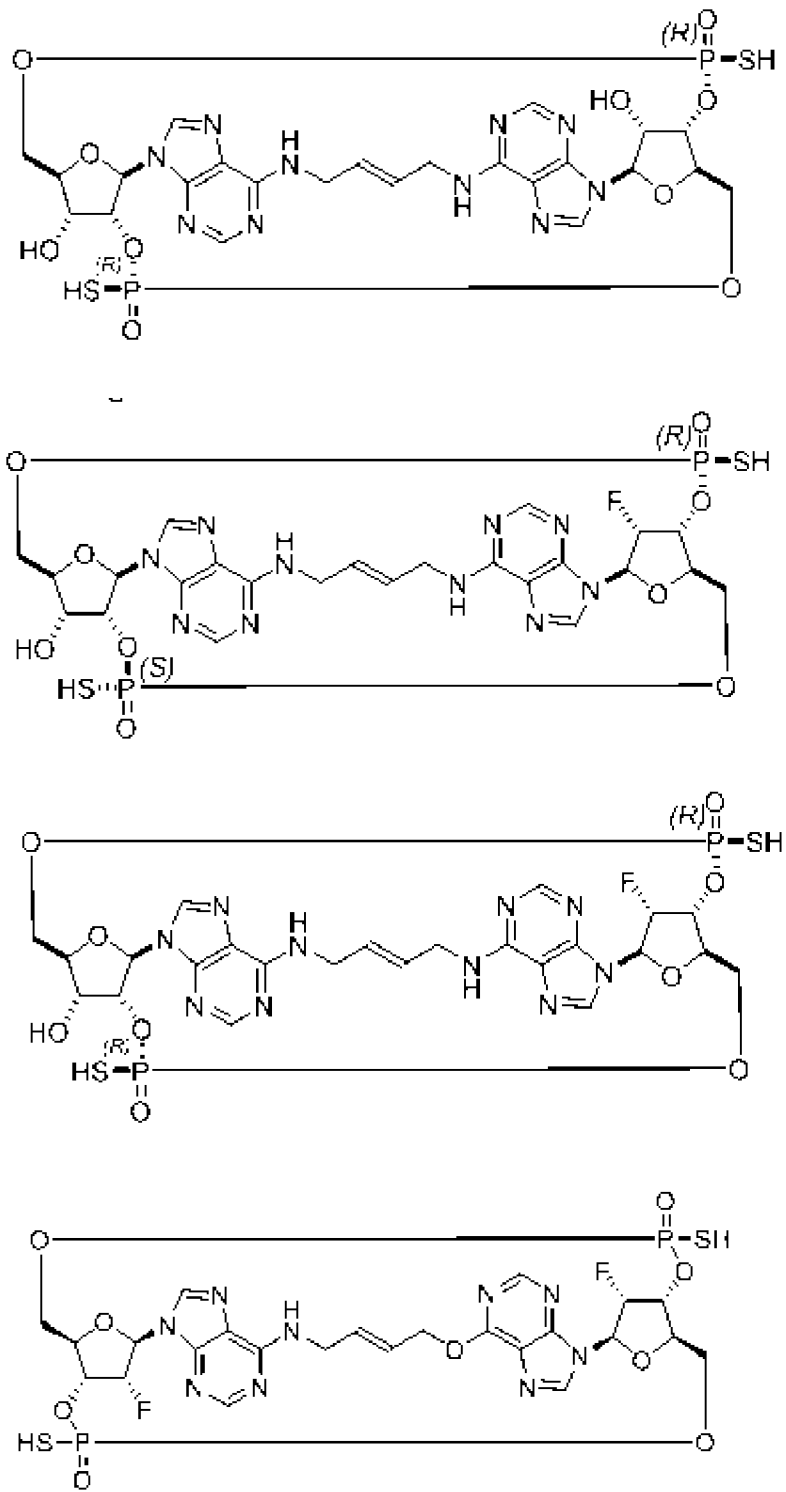
【請求項14】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中 L_1 為四個碳的長度。

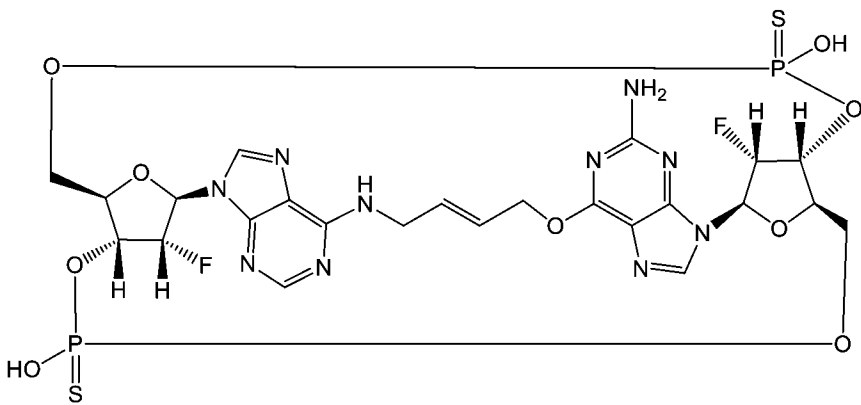
【請求項15】 一種選自由以下組成之群組之化合物或其藥學上可

接受的鹽，

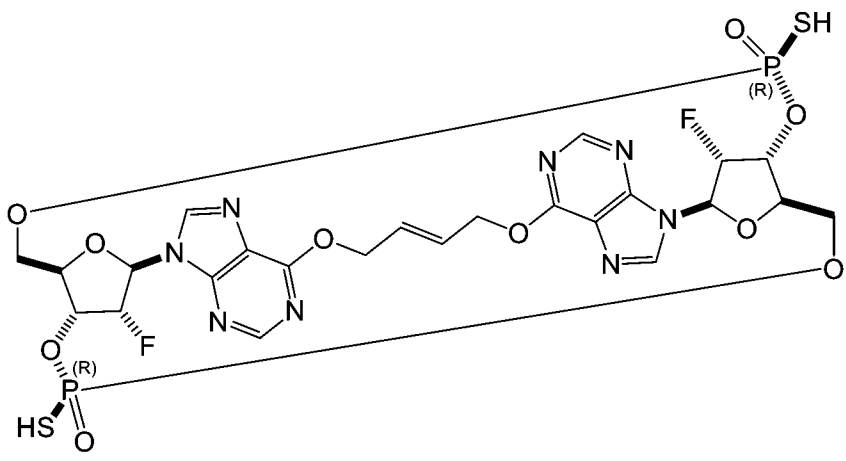
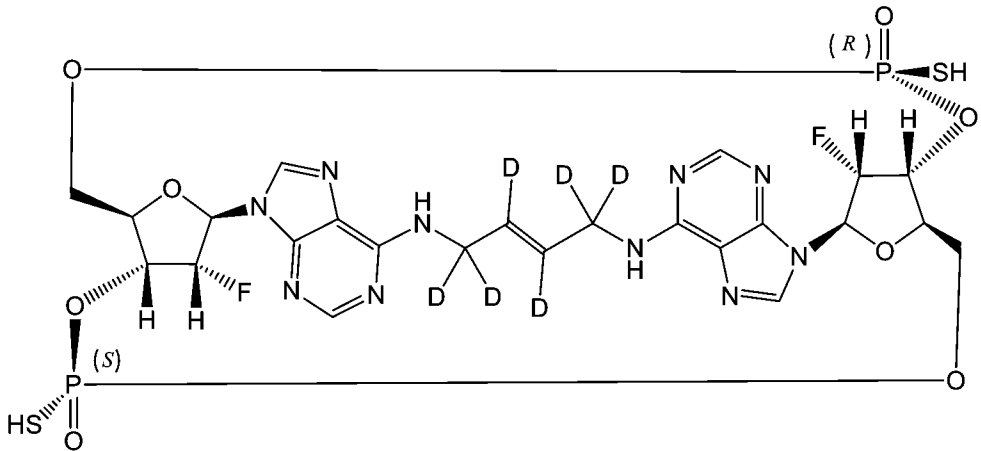
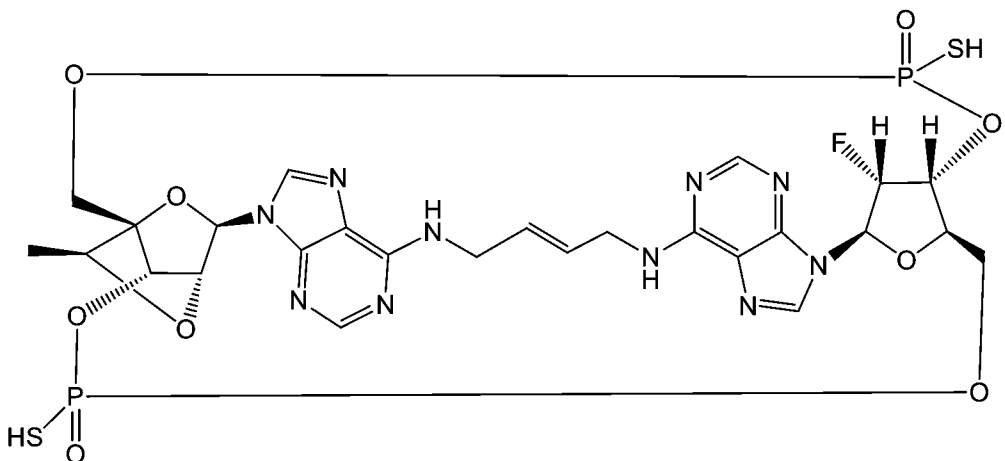


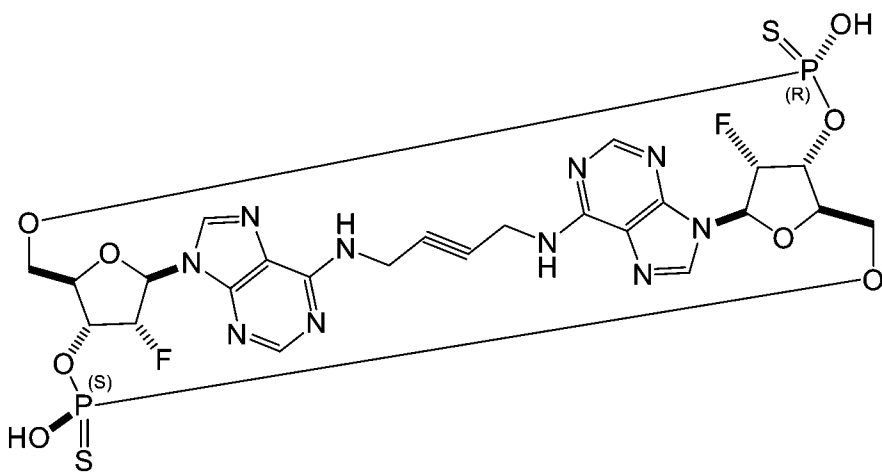
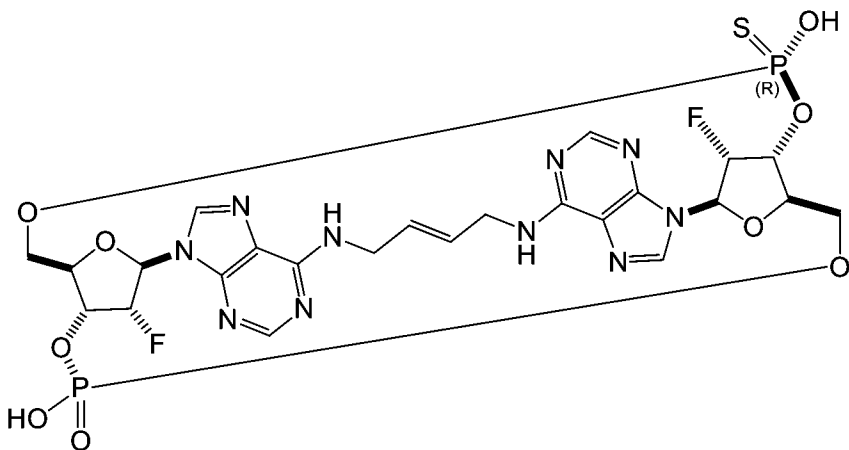
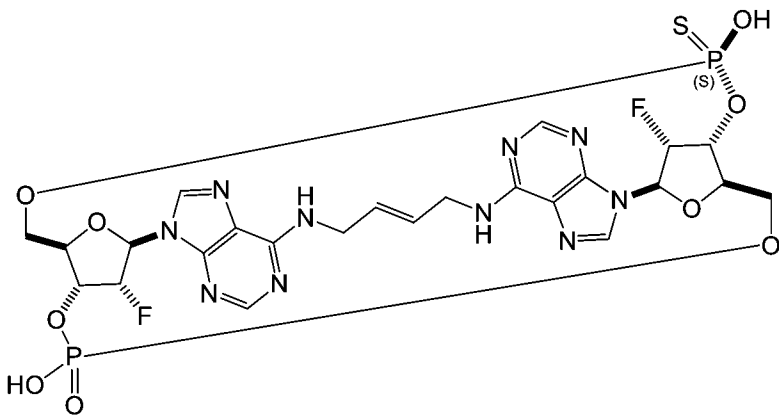


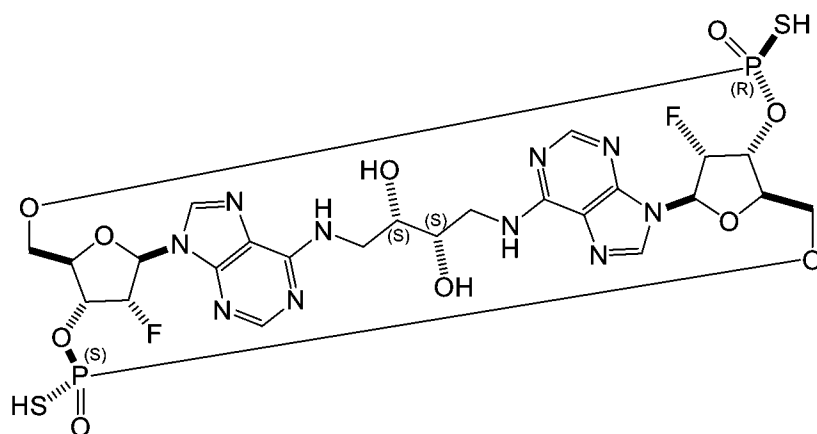
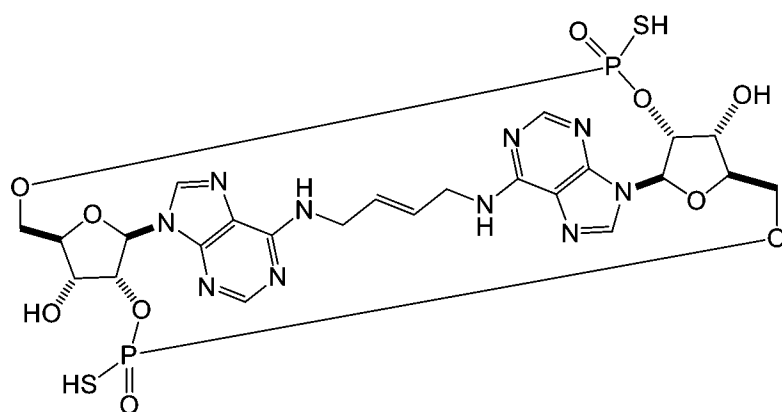
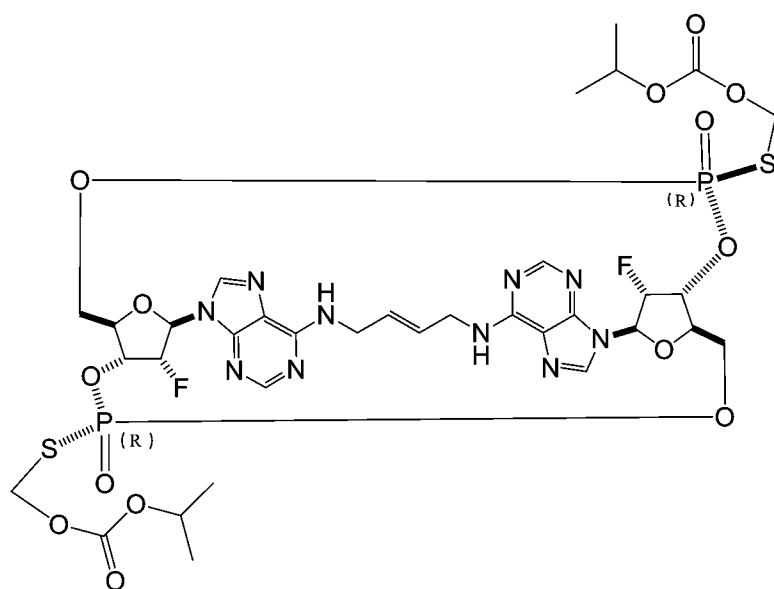


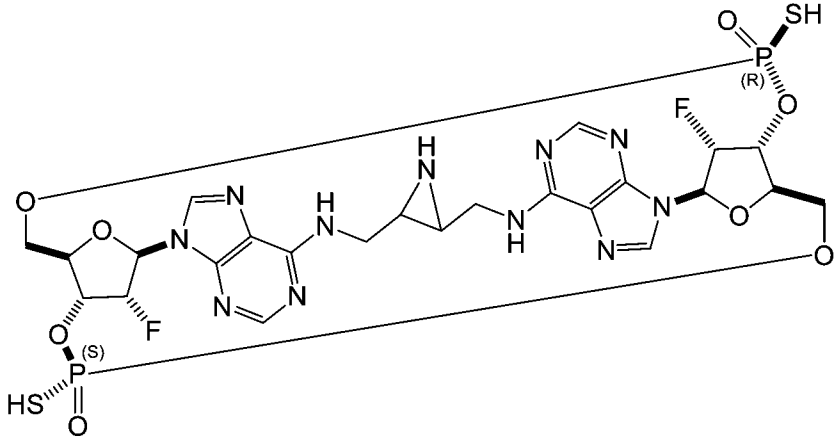
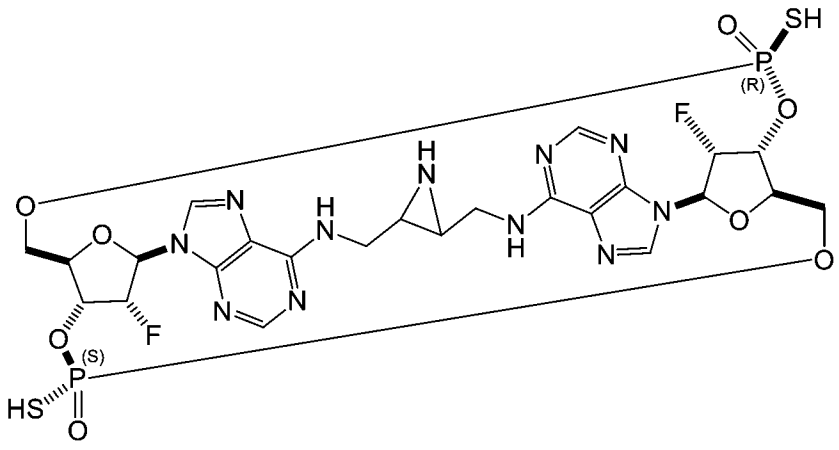
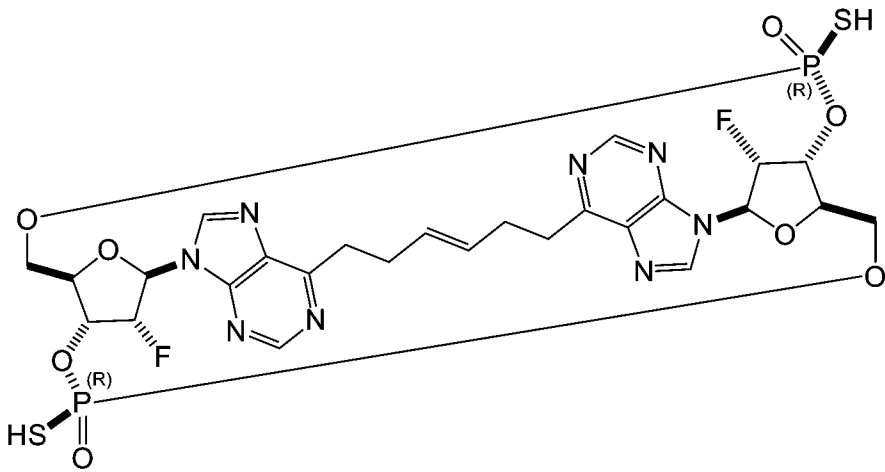
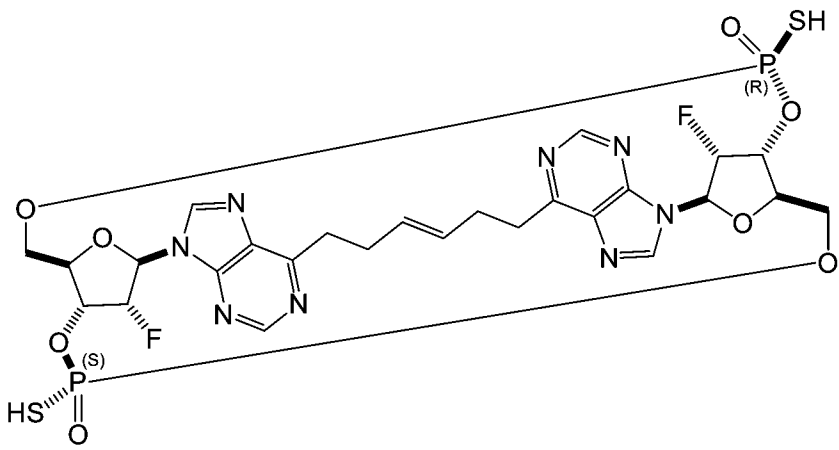


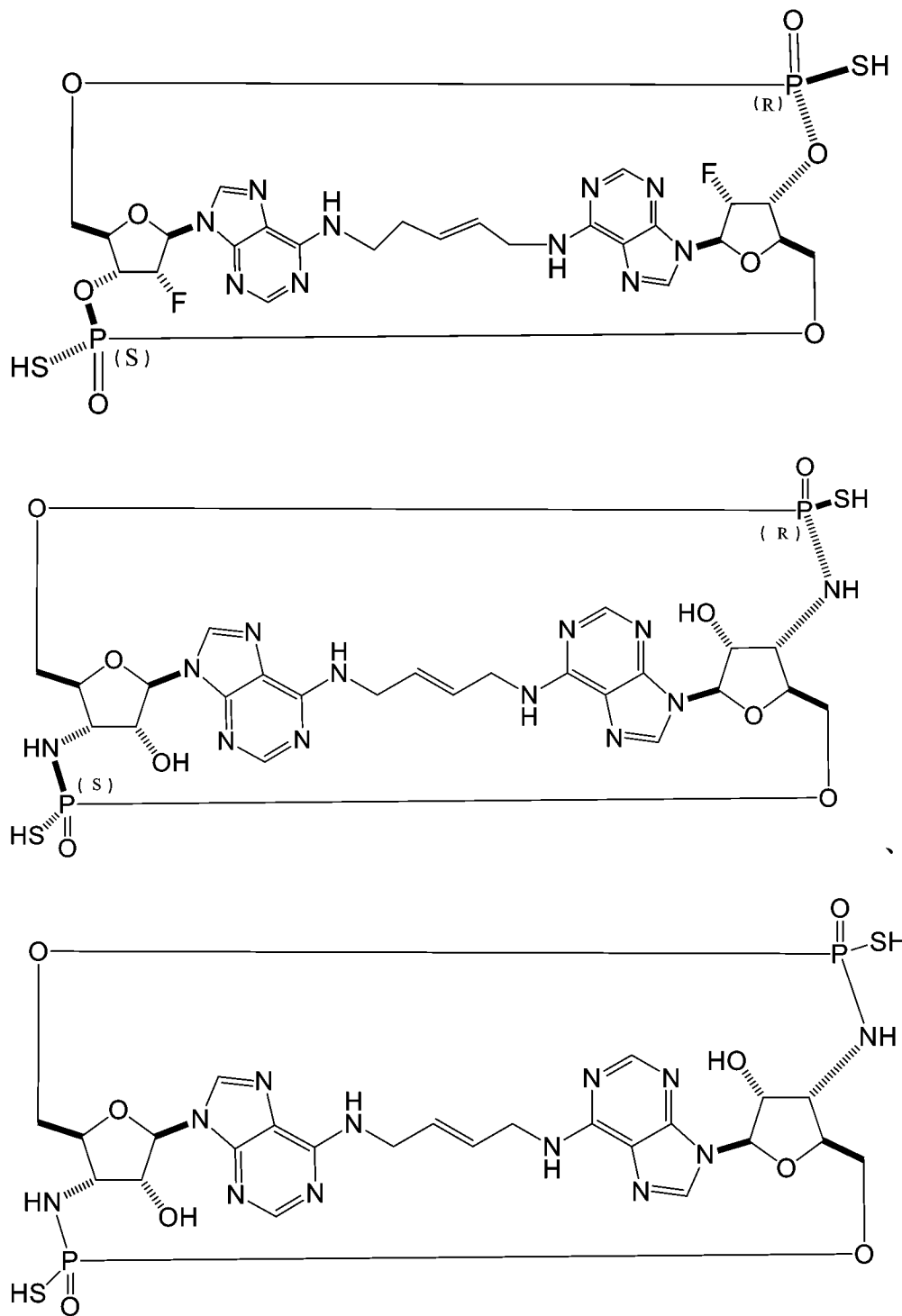
及



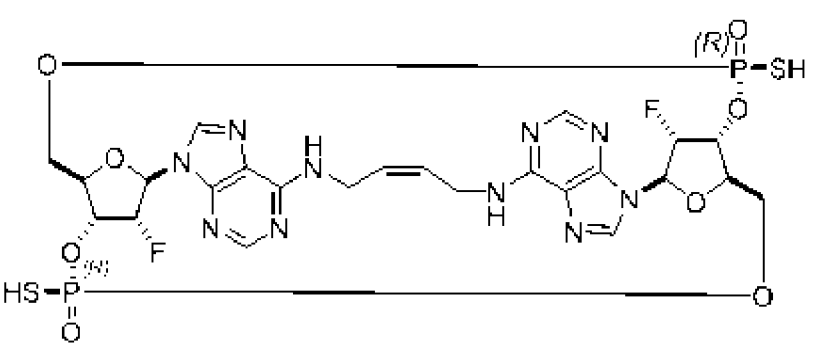
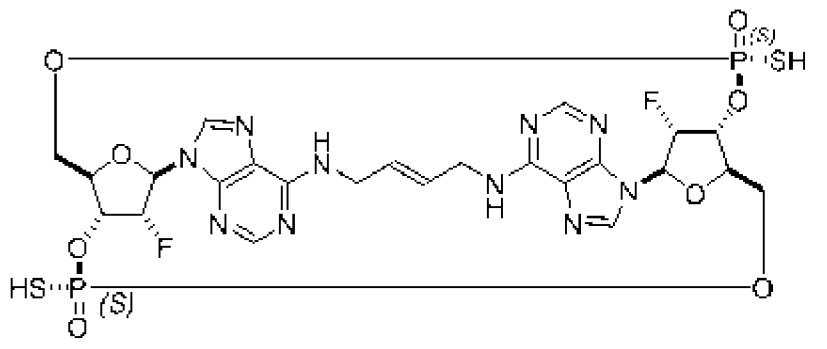
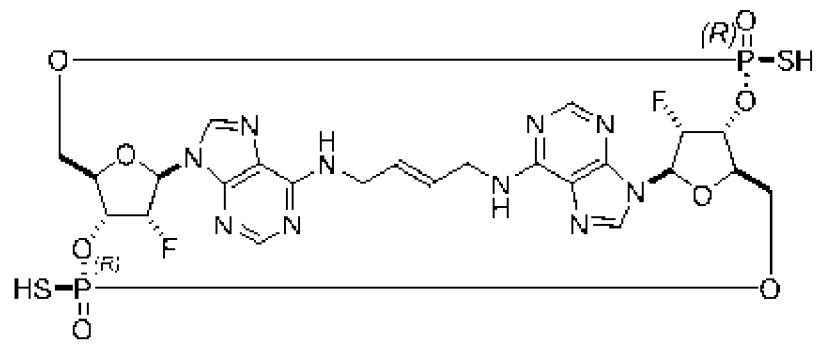
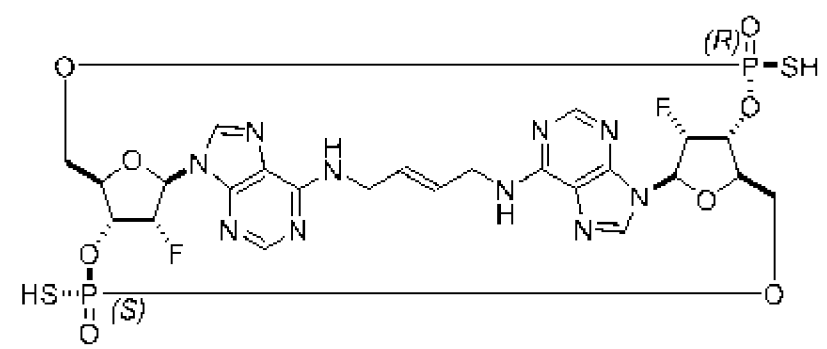


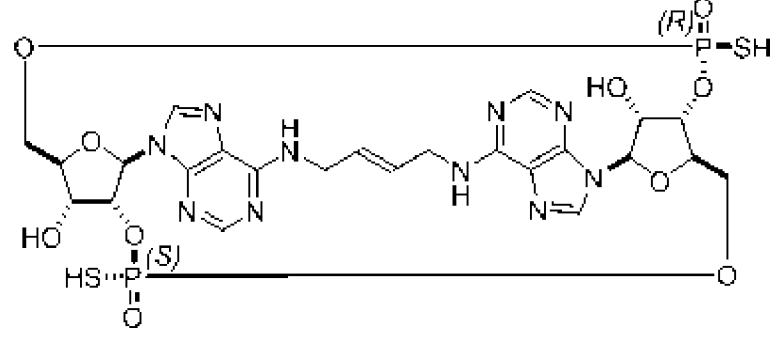
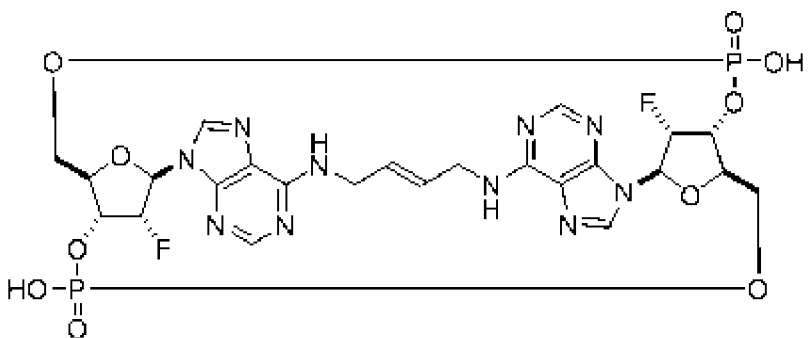
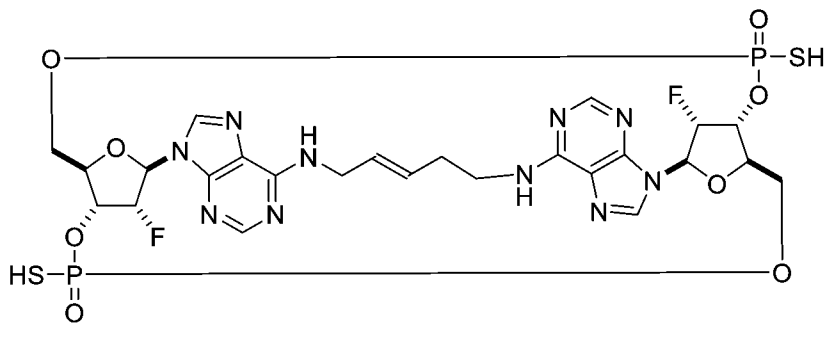
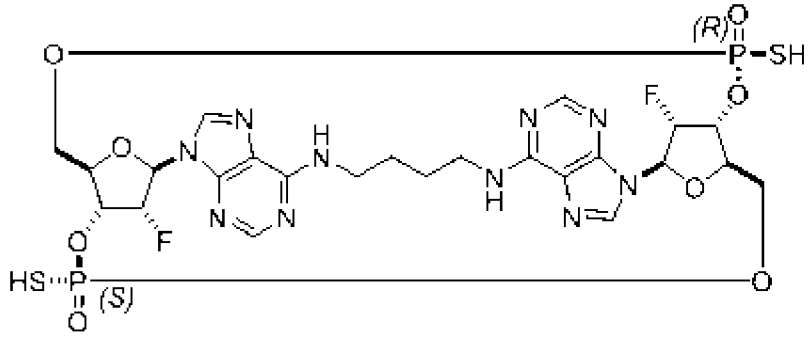
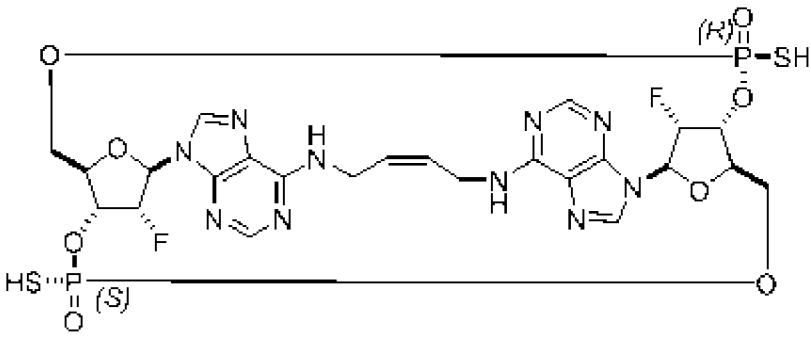


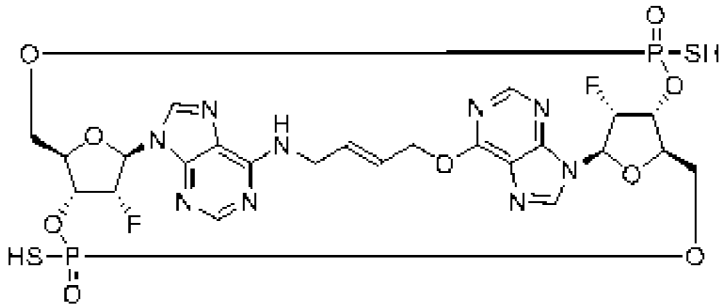
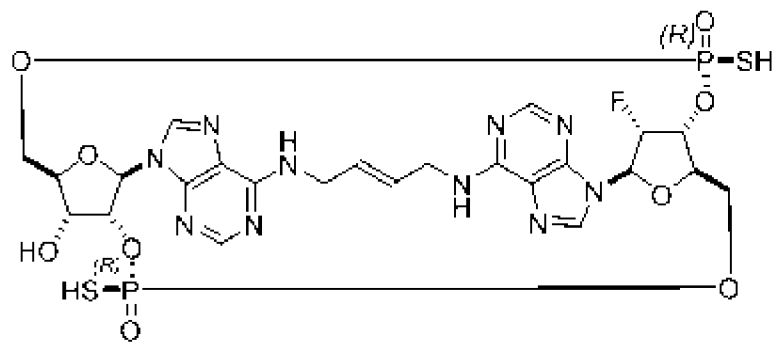
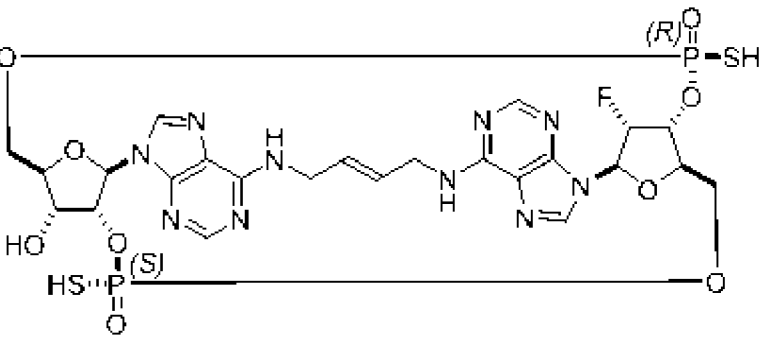
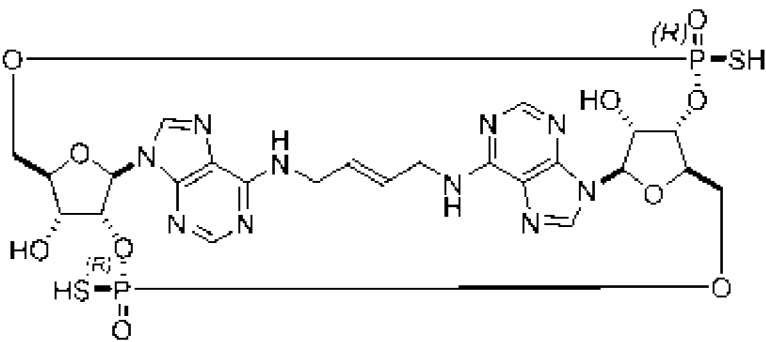


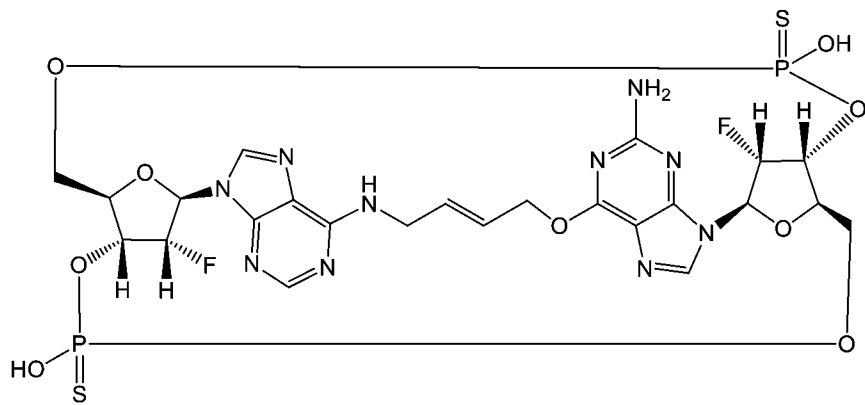


【請求項16】 如申請專利範圍第 15 項所述之化合物及其藥學上可接受的鹽，其係選自由以下所組成之群組：

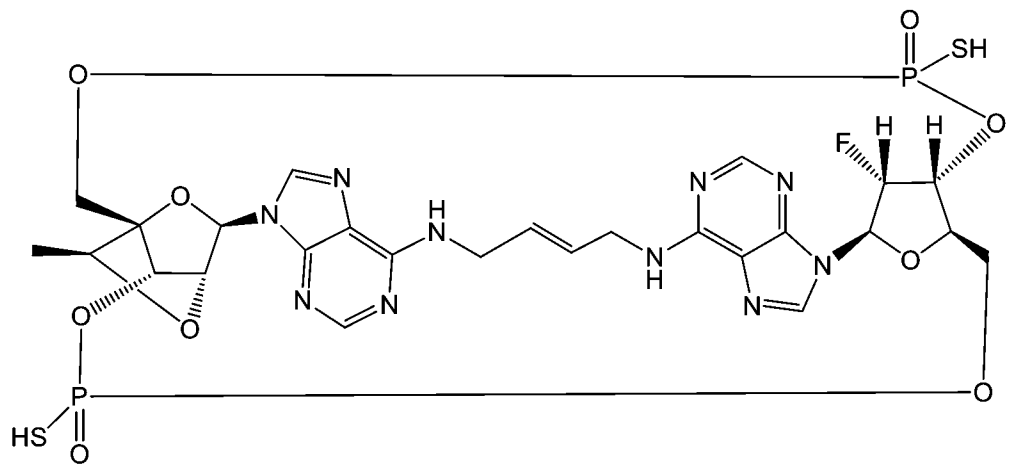






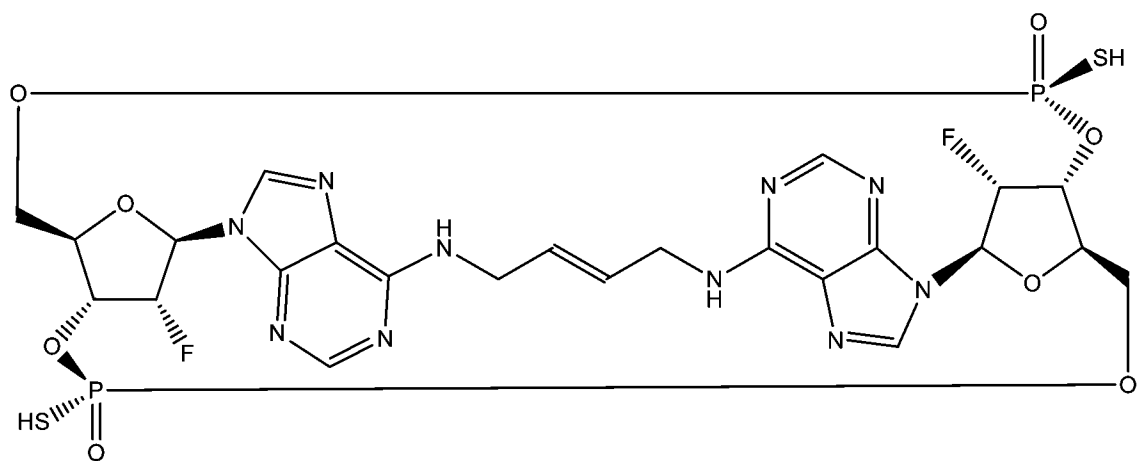


及



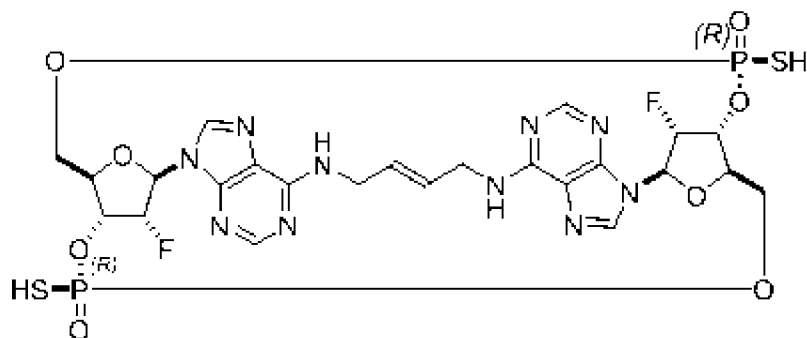
【請求項17】 如請求項 1-6、15 或 16 中任一項所述之化合物及其藥學上可接受的鹽，其中該化合物及其藥學上可接受的鹽具有由以下所組成之群組中的至少其一：(i)在人類 STING HAQ 分析中的 EC₅₀ 值小於 100 微莫耳；(ii) 在人類 STING AQ 分析中的 EC₅₀ 值小於 100 微莫耳；(iii)在人類 STING WT 分析中的 EC₅₀ 值小於 100 微莫耳；及(iv) 在人類 STING REF 分析中的 EC₅₀ 值小於 100 微莫耳。

【請求項18】 一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該化合物為：



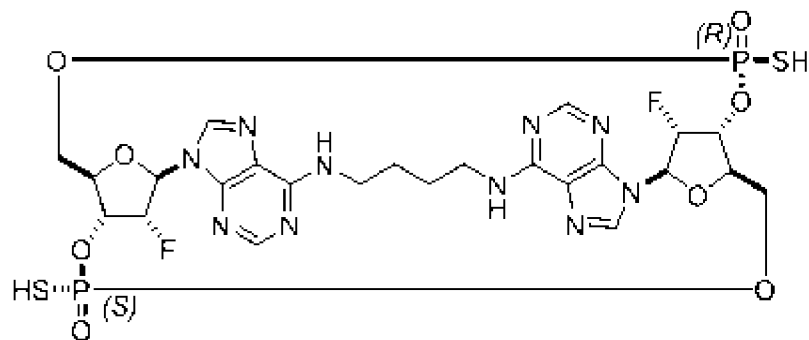
或其藥學上可接受的鹽。

【請求項19】 一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該化合物為：



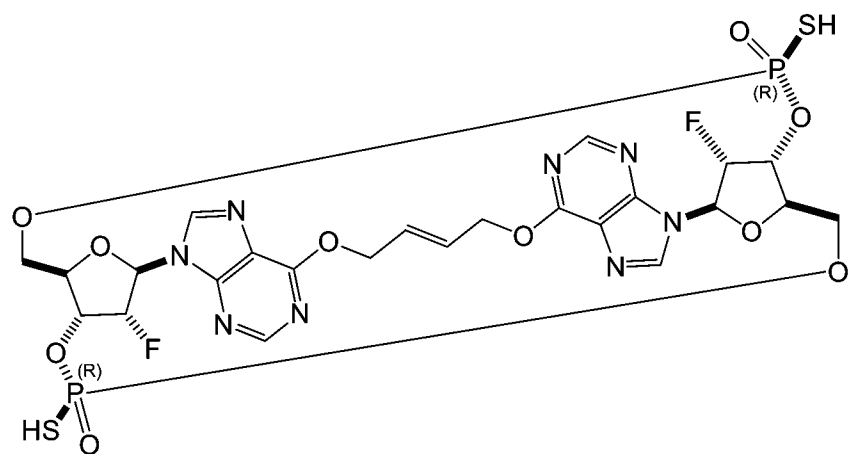
或其藥學上可接受的鹽。

【請求項20】 一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該化合物為：



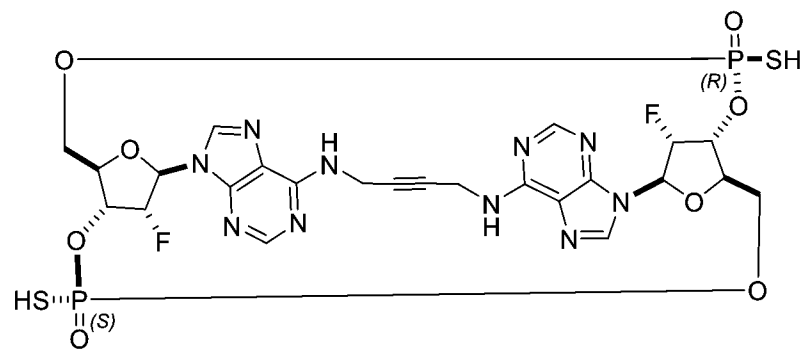
或其藥學上可接受的鹽。

【請求項21】 一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該化合物為：



或其藥學上可接受的鹽。

【請求項22】 一種化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該化合物為：



或其藥學上可接受的鹽。

【請求項23】 如請求項 1-6 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，其中該藥學上可接受的鹽為二銨鹽。

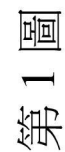
【請求項24】 一種如請求項 1-22 中任一項的化合物。

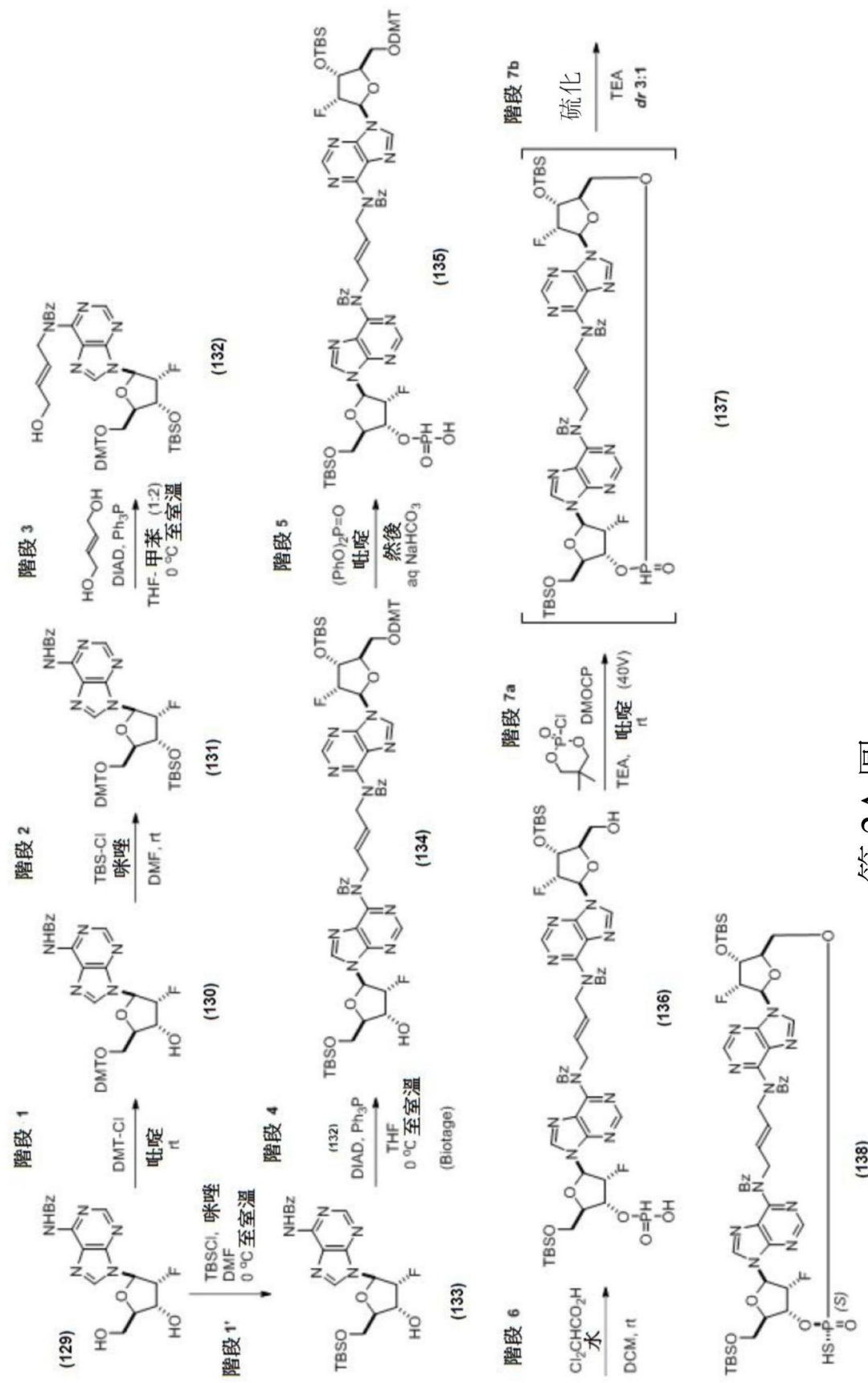
【請求項25】 一種醫藥組成物，其包含如請求項 1-24 中任一項所述之化合物或其藥學上可接受的鹽，及藥學上可接受的賦形劑。

【請求項26】 一種如請求項 1-24 中任一項所述的化合物或其藥學上可接受的鹽或如請求項 25 所述之醫藥組成物作為製備治療癌症藥物的用途。

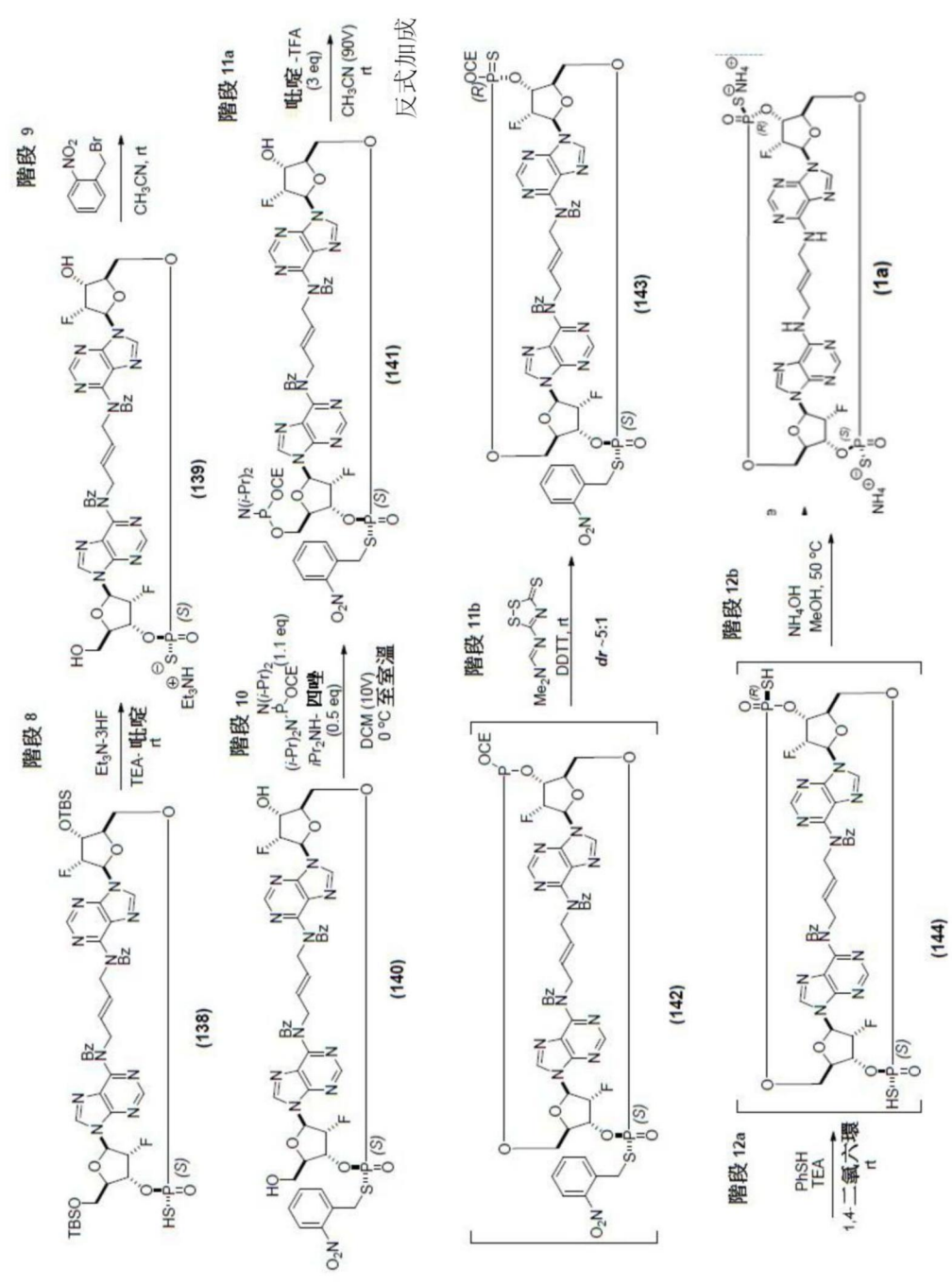
- 【請求項27】 如請求項 26 所述之用途，其中該癌症選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。
- 【請求項28】 如請求項 26 所述之用途，其中該癌症係為具有 REF STING 對偶基因之患者之癌症。
- 【請求項29】 如請求項 26 所述之用途，其中該癌症係為具有 WT STING 對偶基因之患者之癌症。
- 【請求項30】 如請求項 26 所述之用途，其中該癌症係為具有 AQ STING 對偶基因之患者之癌症。
- 【請求項31】 如請求項 26 所述之用途，其中該癌症係為具有 HAQ STING 對偶基因之患者之癌症。
- 【請求項32】 如請求項 28 所述之用途，其中該癌症選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。
- 【請求項33】 如請求項 29 所述之用途，其中該癌症選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。
- 【請求項34】 如請求項 30 所述之用途，其中該癌症選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。
- 【請求項35】 如請求項 31 所述之用途，其中該癌症選自由黑色素瘤、大腸直腸癌、乳癌、急性骨髓性白血病、大腸癌、肝癌及神經膠質瘤所組成之群組。

- 【請求項36】 如請求項 26 所述之用途，其中該癌症為轉移性的。
- 【請求項37】 如請求項 32 所述之用途，其中該癌症為轉移性的。
- 【請求項38】 如請求項 33 所述之用途，其中該癌症為轉移性的。
- 【請求項39】 如請求項 34 所述之用途，其中該癌症為轉移性的。
- 【請求項40】 如請求項 35 所述之用途，其中該癌症為轉移性的。

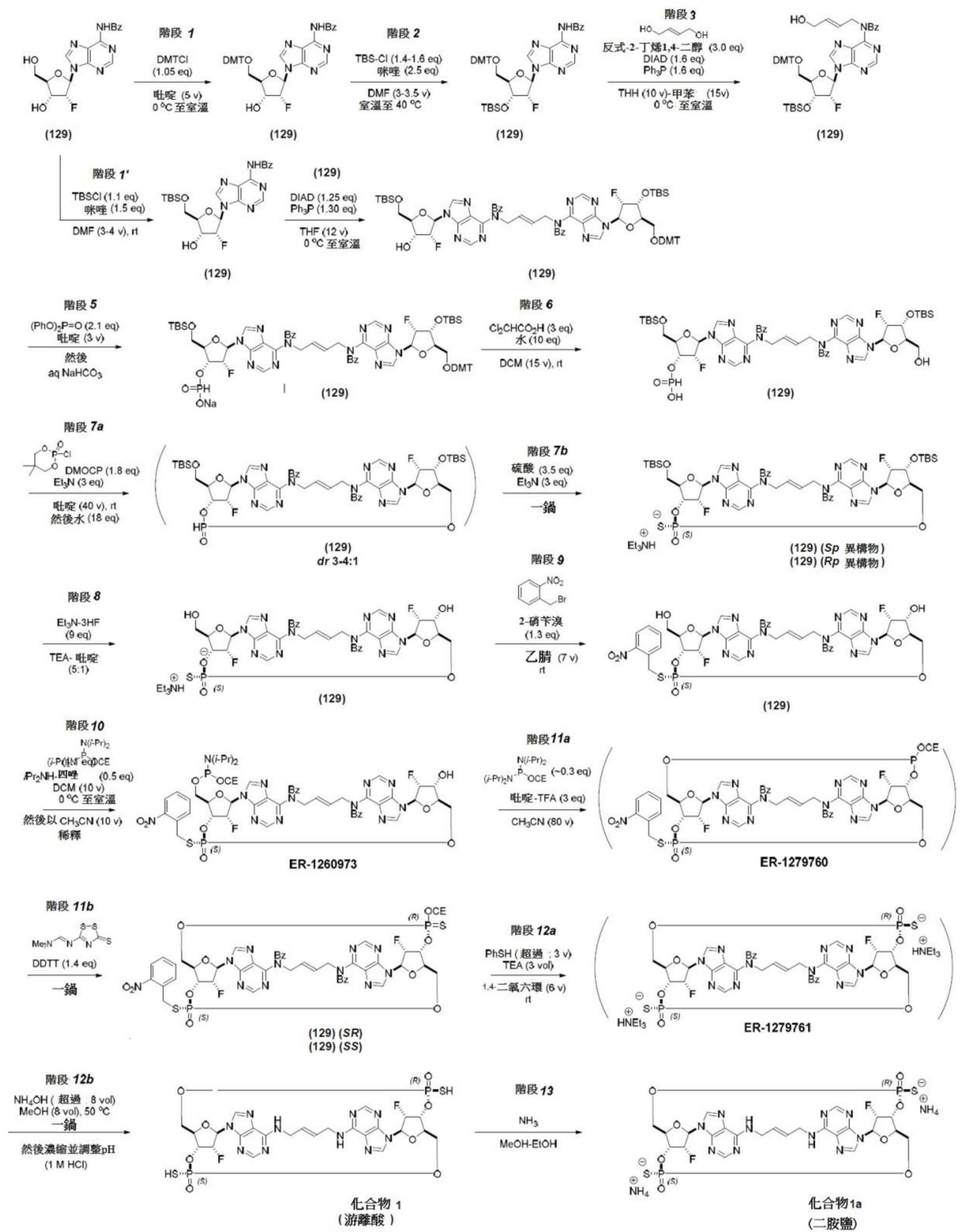




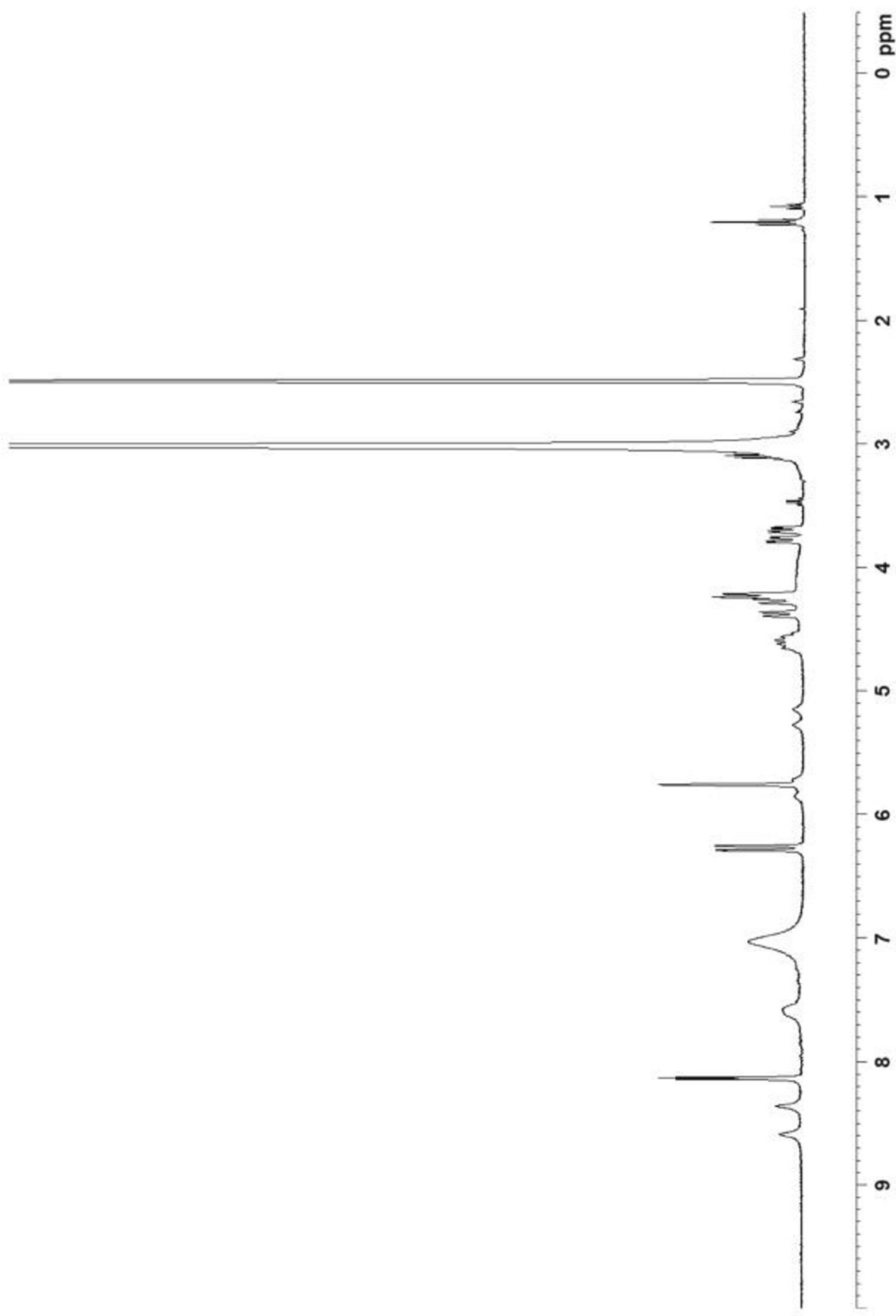
第 2A 圖



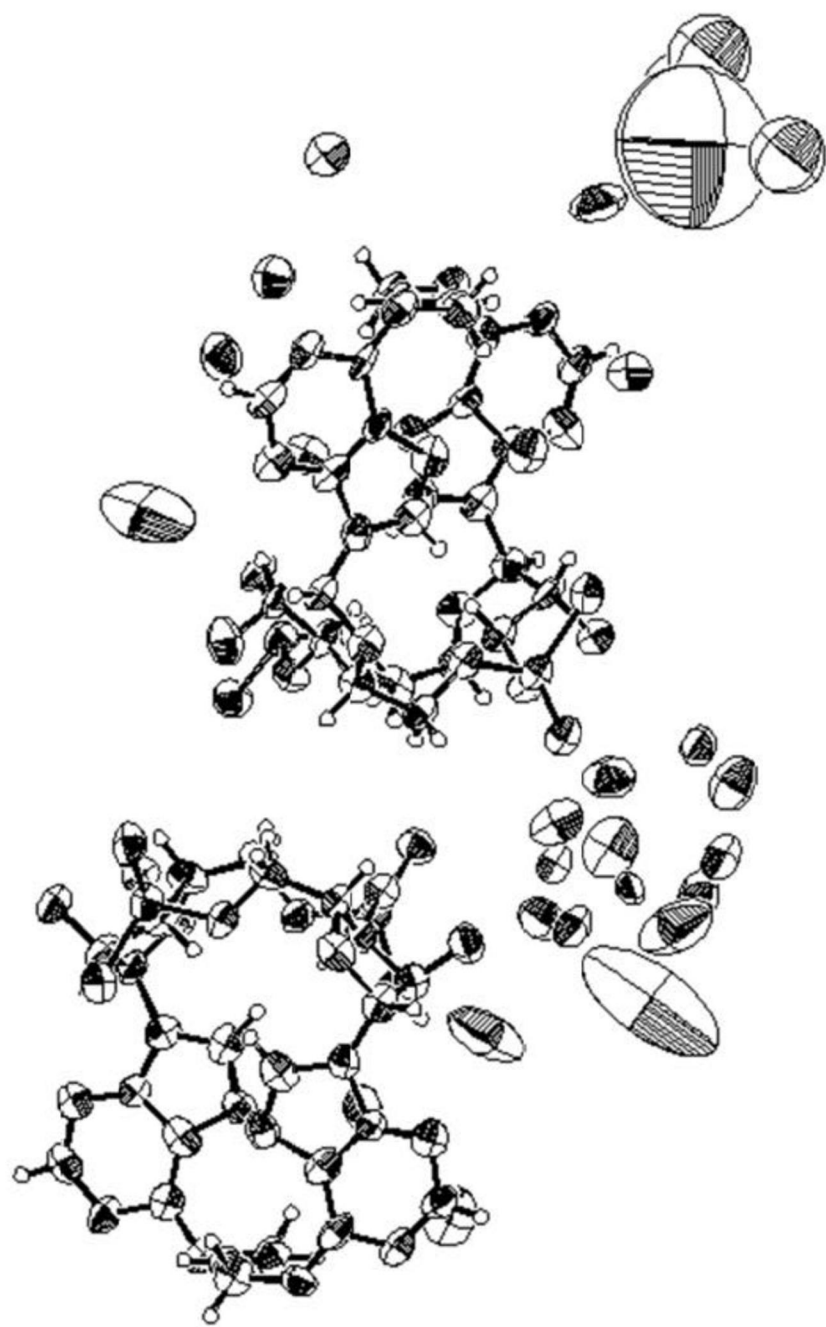
第2B圖



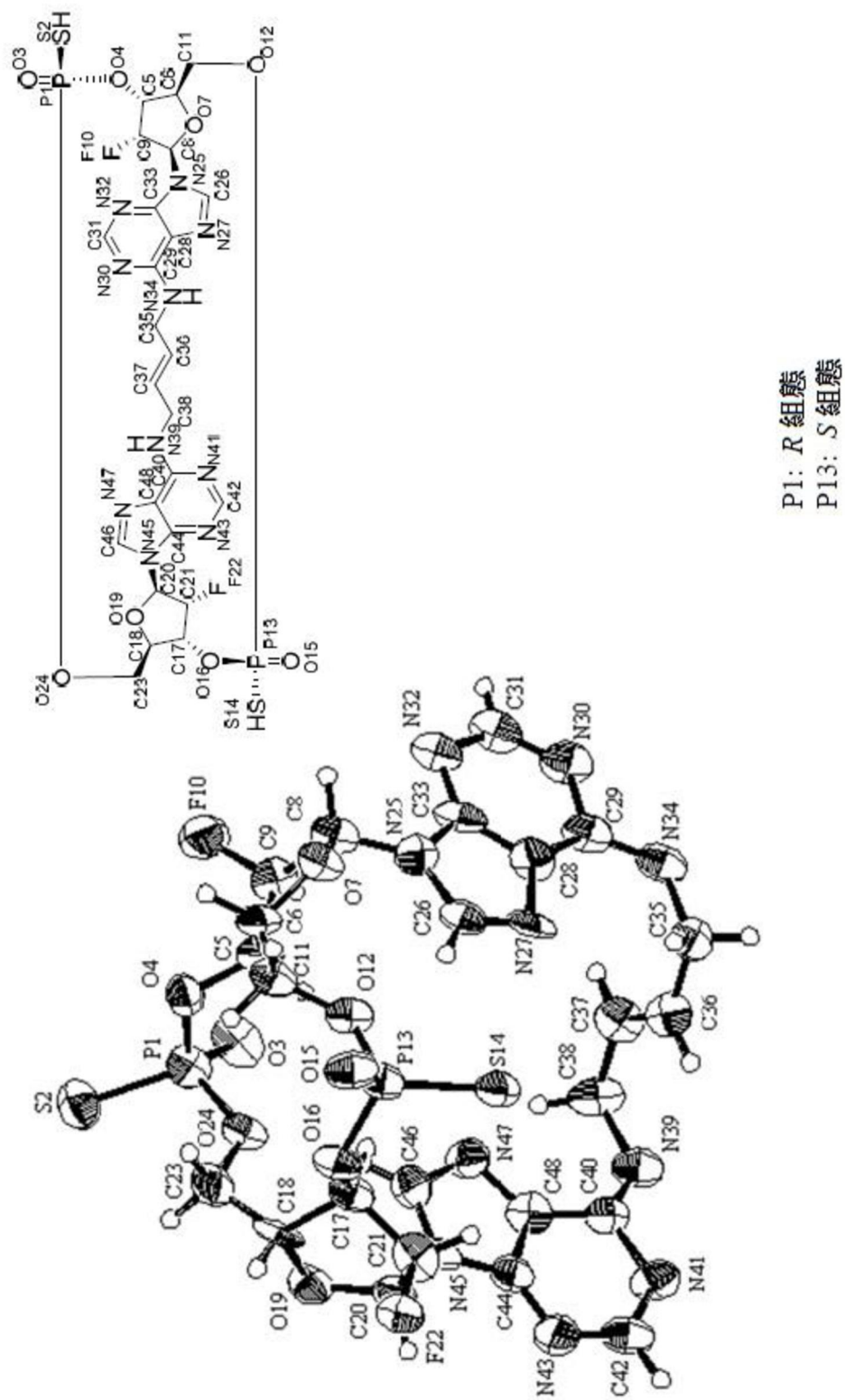
第 2C 圖



第 3 圖



第 4A 圖



第4B圖

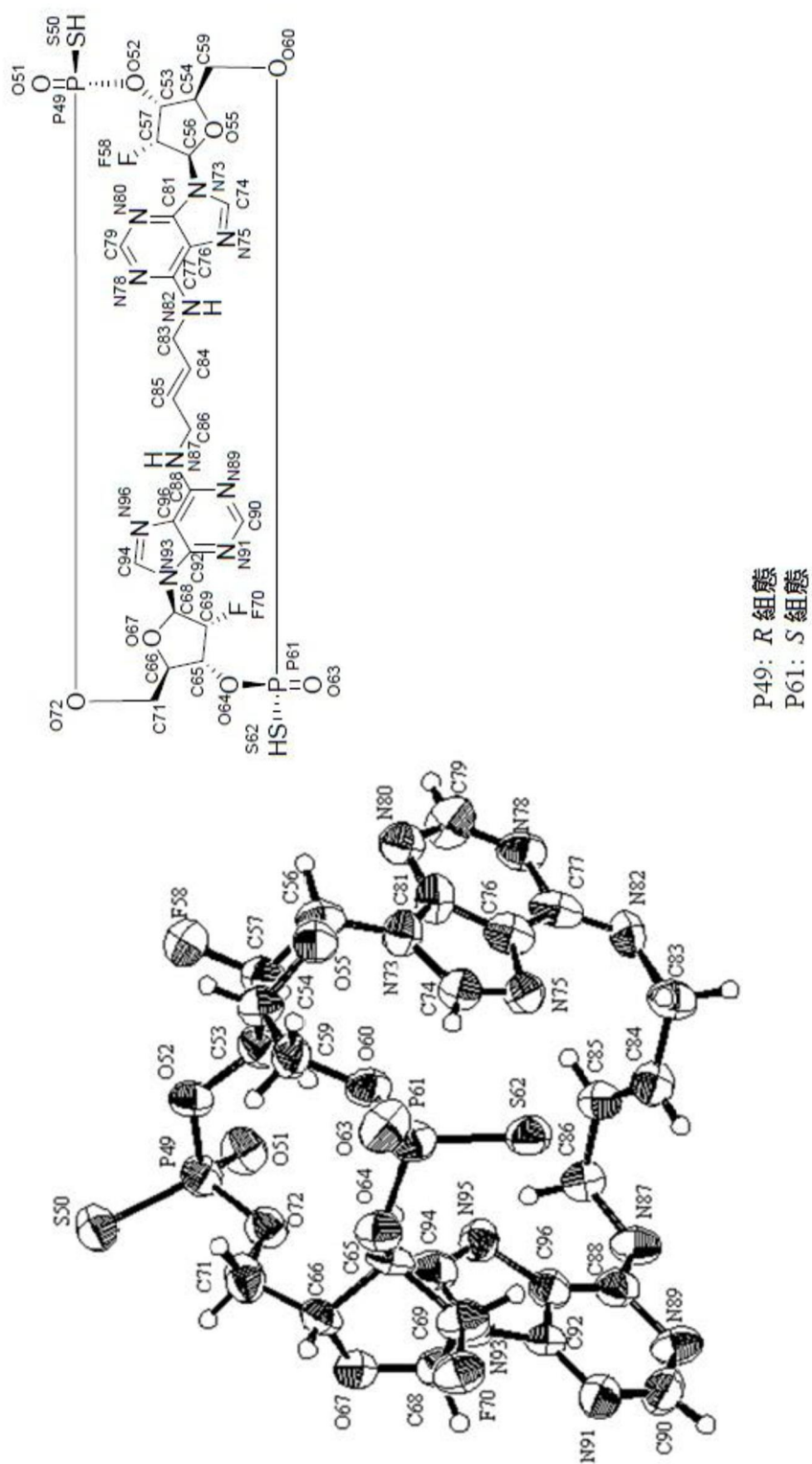
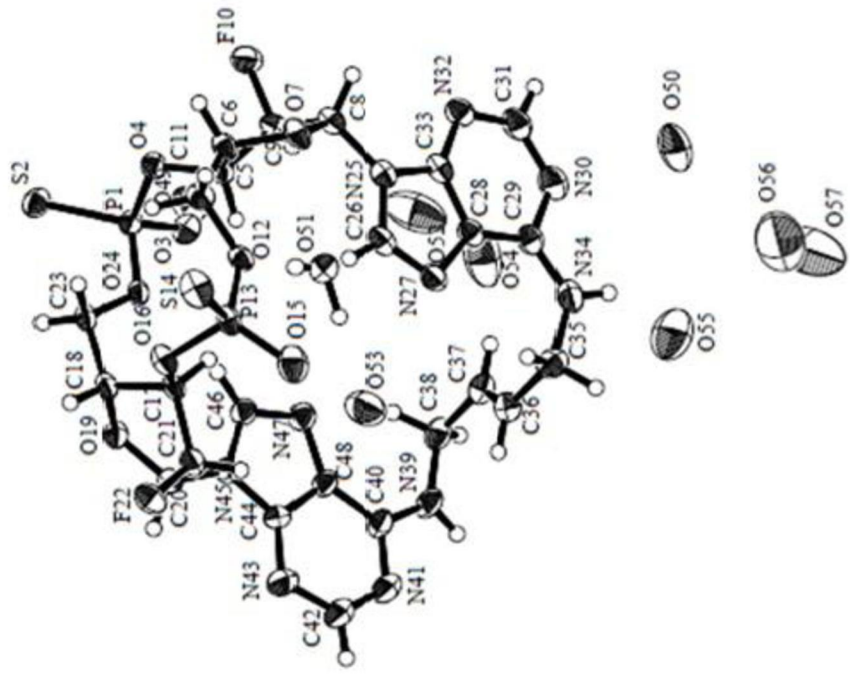
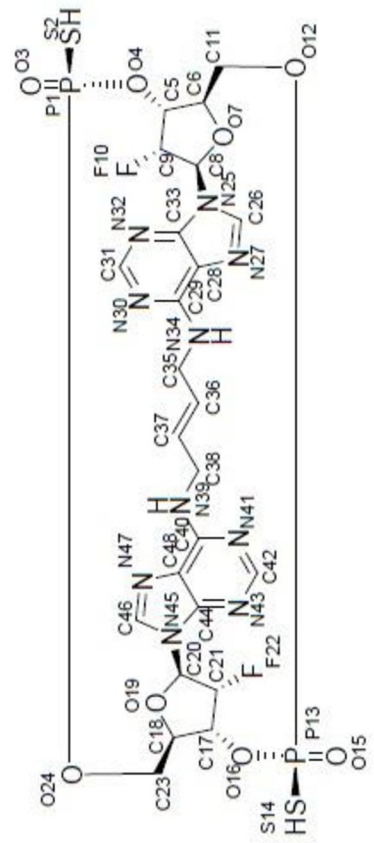


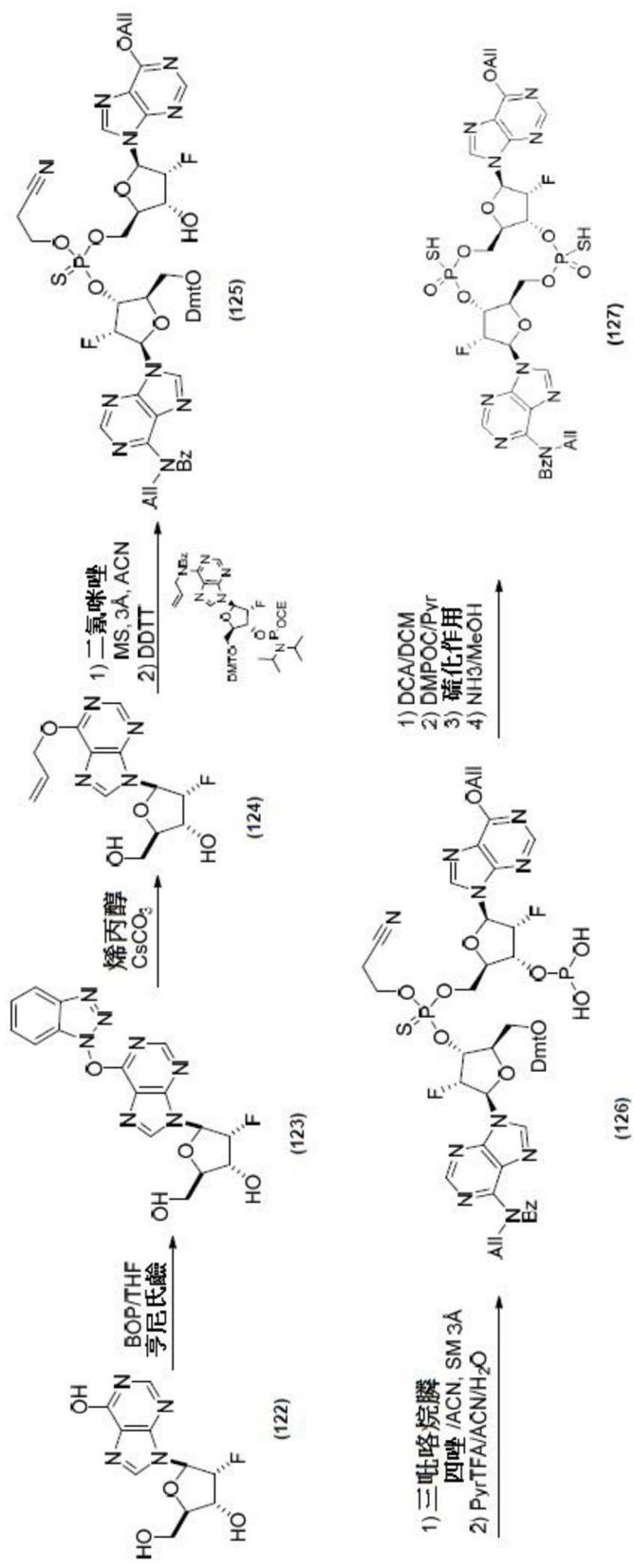
圖 4C 第



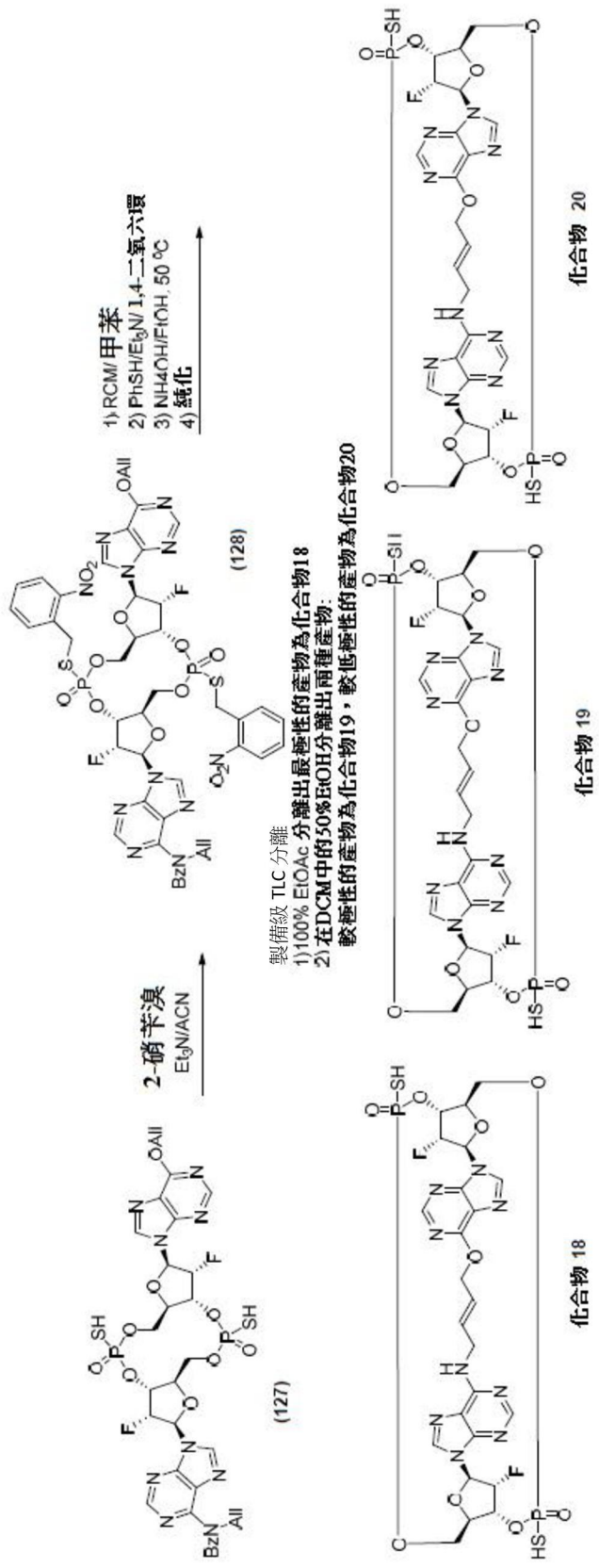
P1: *R* 組態
P13: *R* 組態

第4D 圖



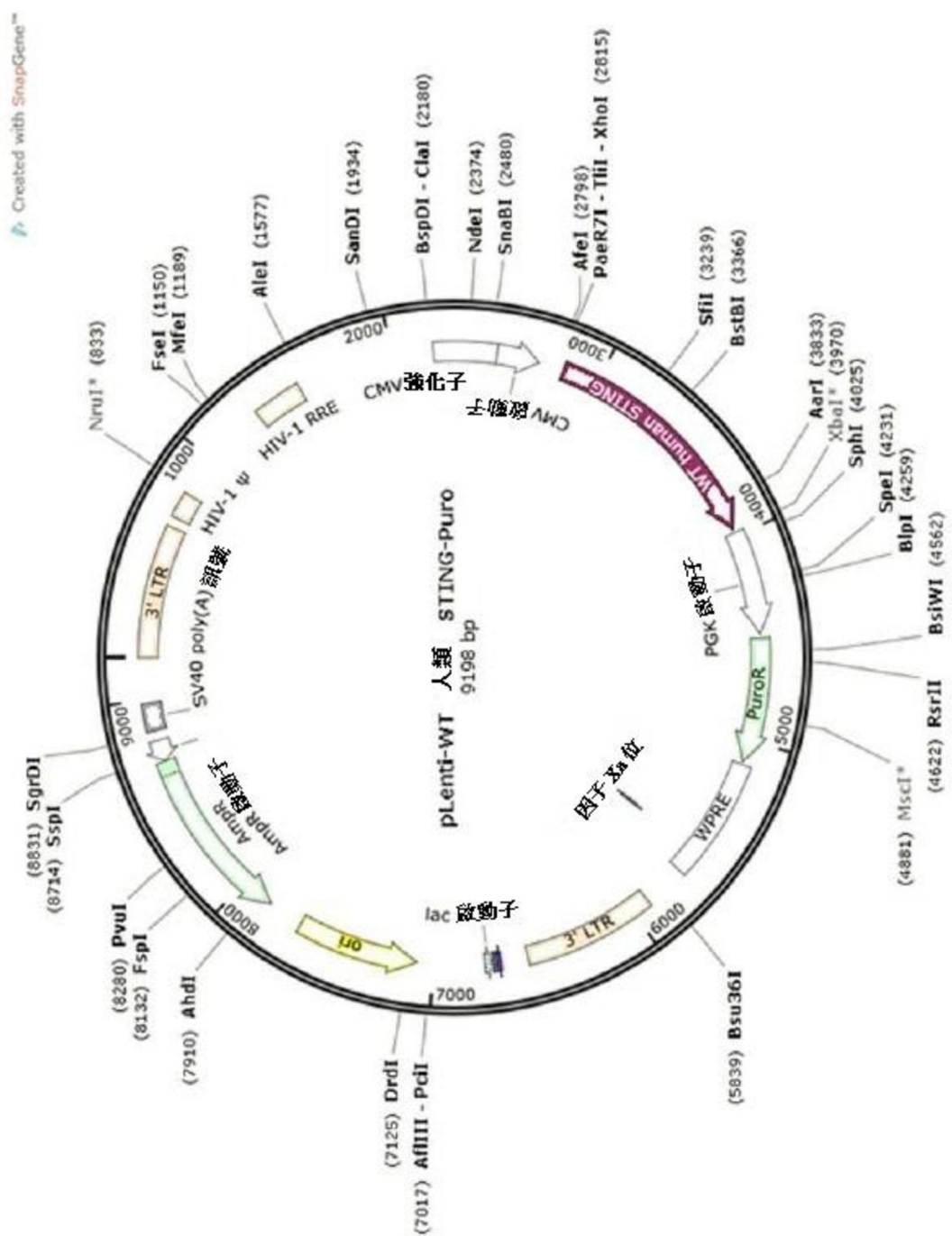


第 5A 圖

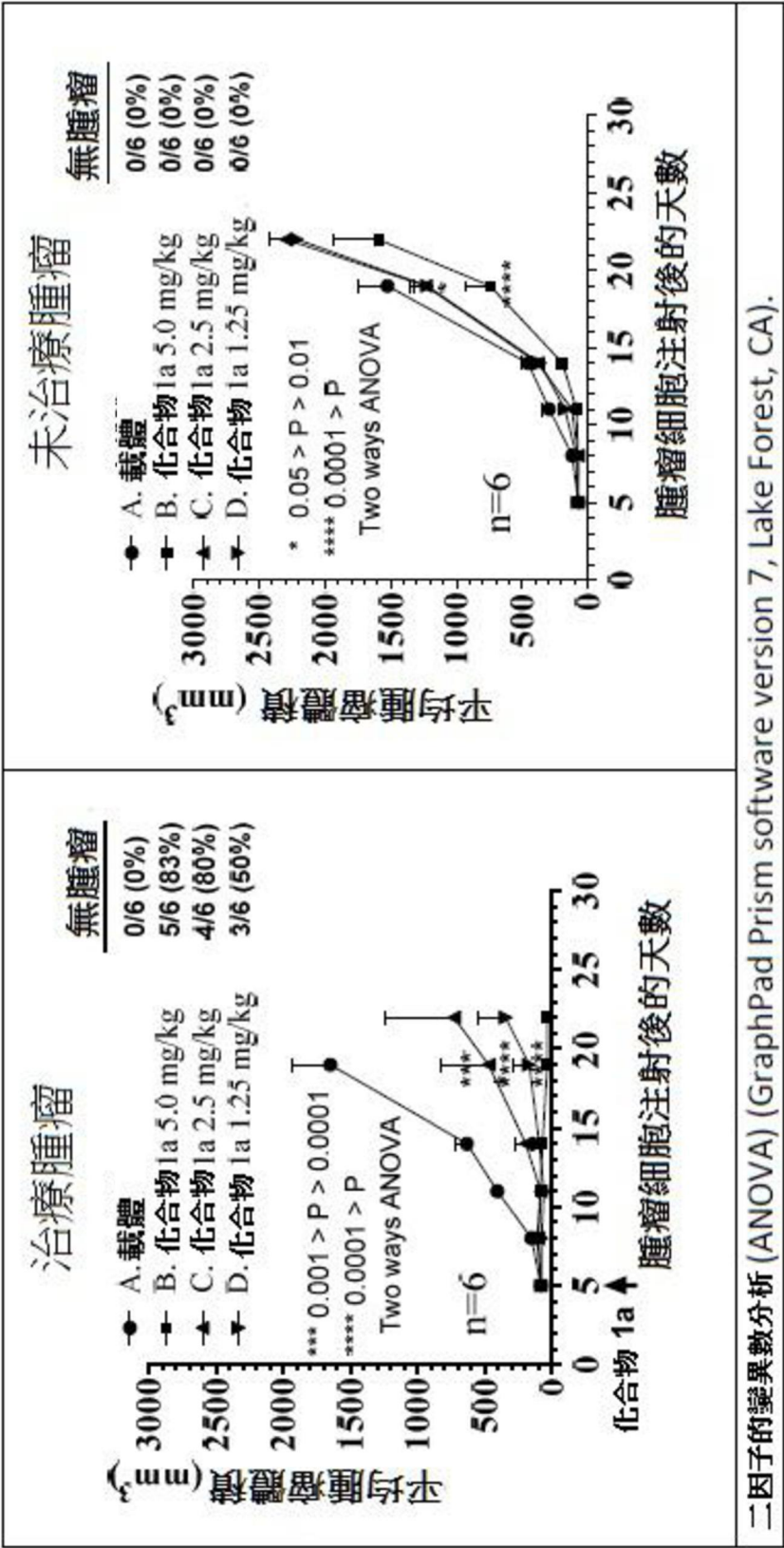


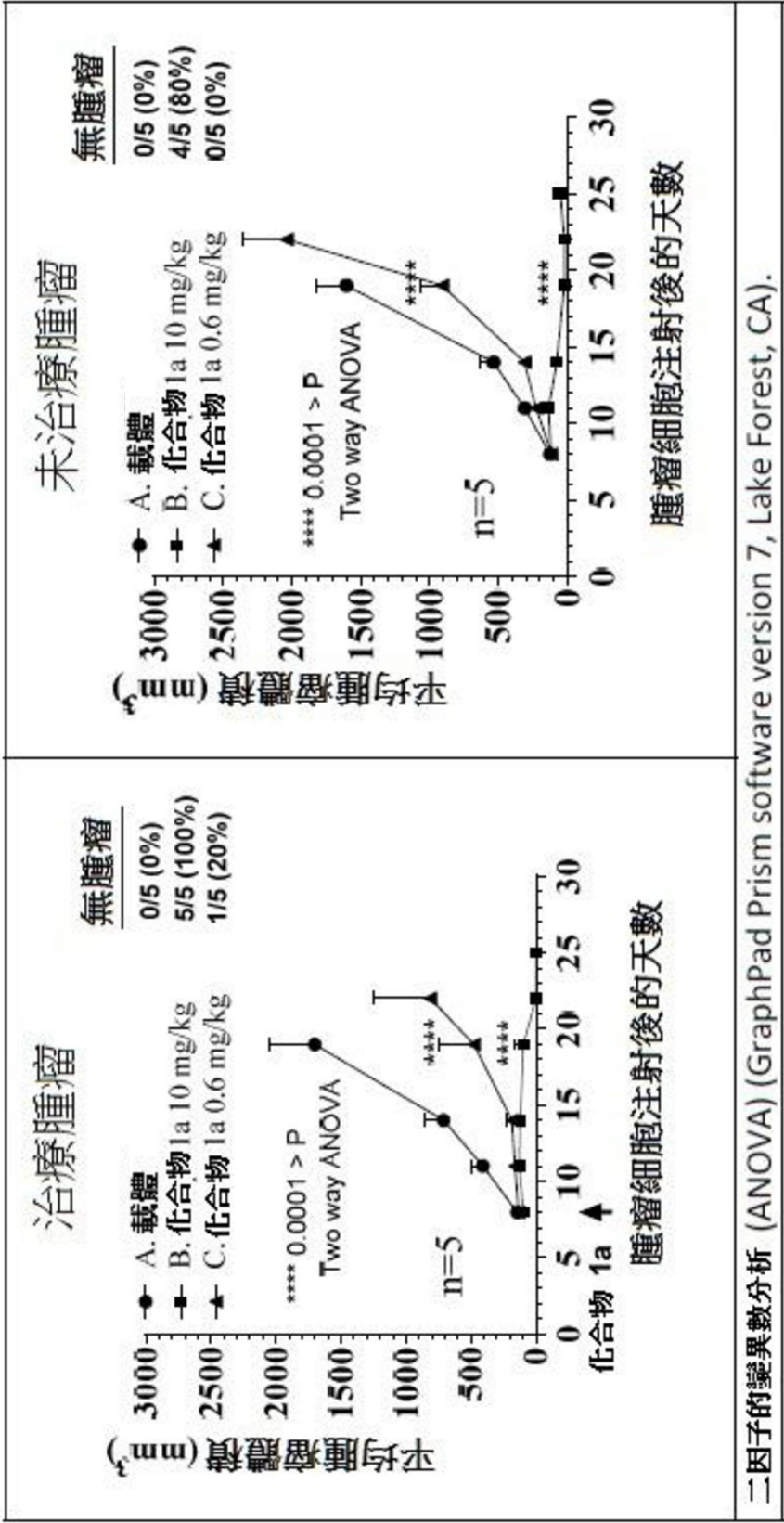
製備級 TLC 分離
1) 100% EtOAc 分離出最極性的產物為化合物18
2) 在DCM中的50%EtOH分離出兩種產物:
較極性的產物為化合物19, 較低極性的產物為化合物20

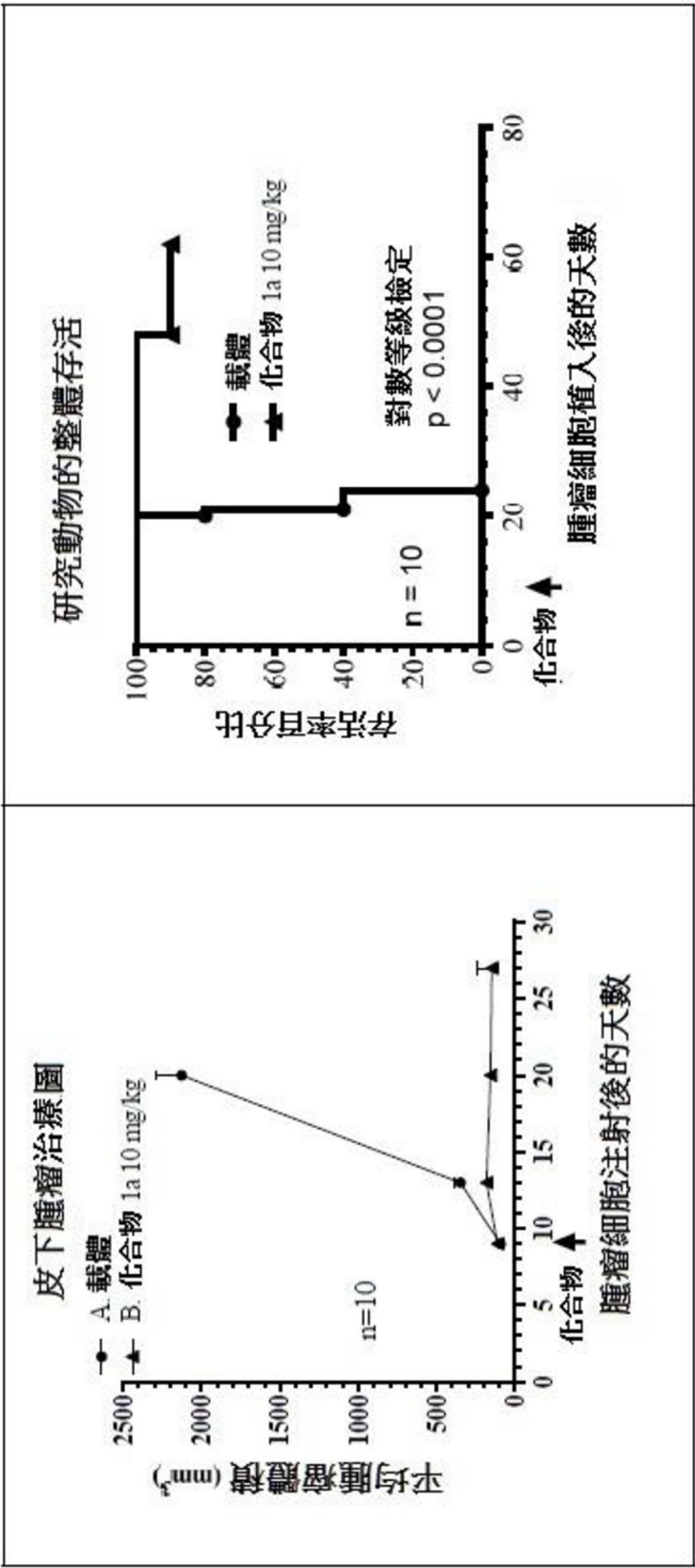
第5B 圖



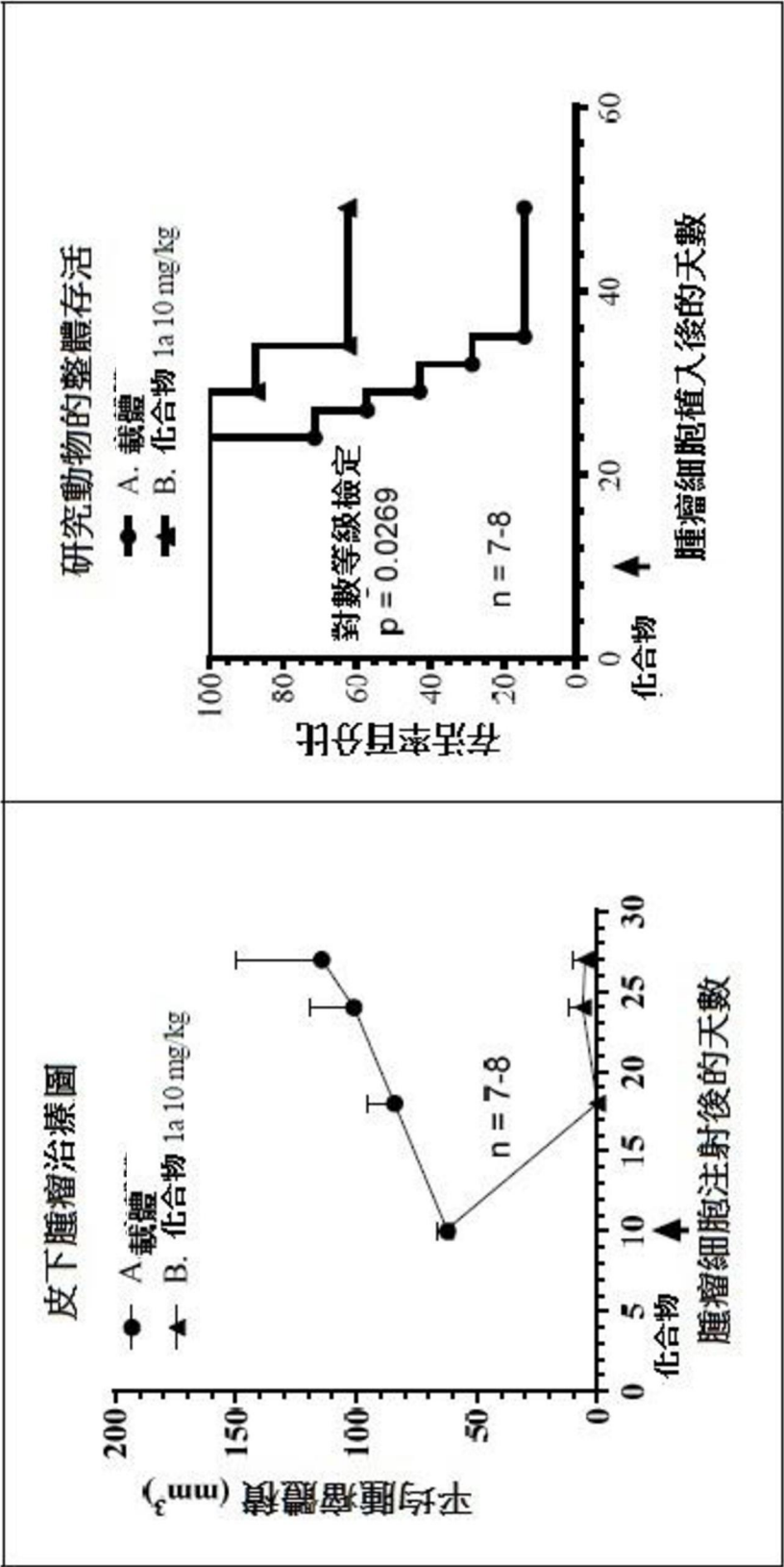
第 6 圖



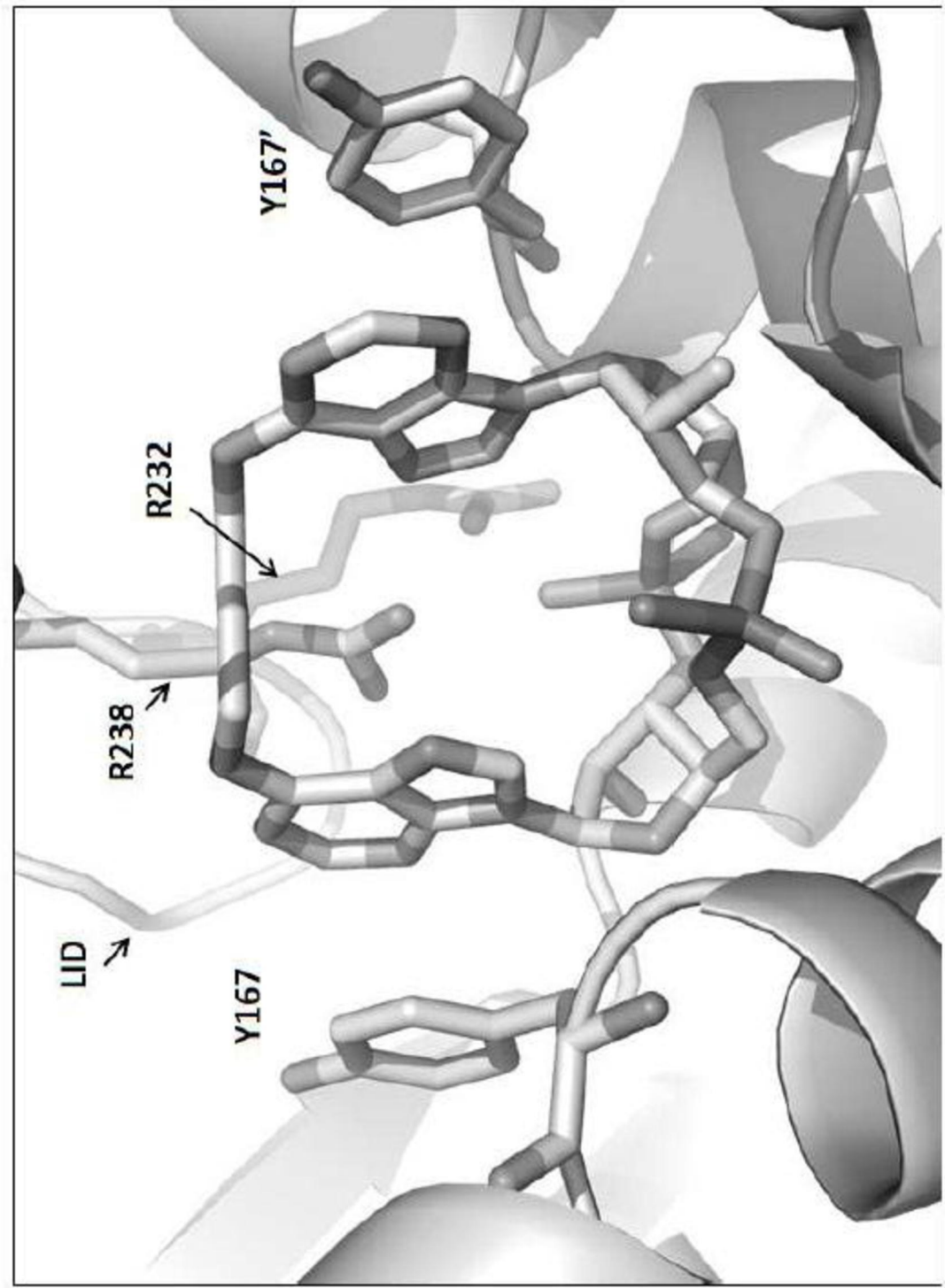




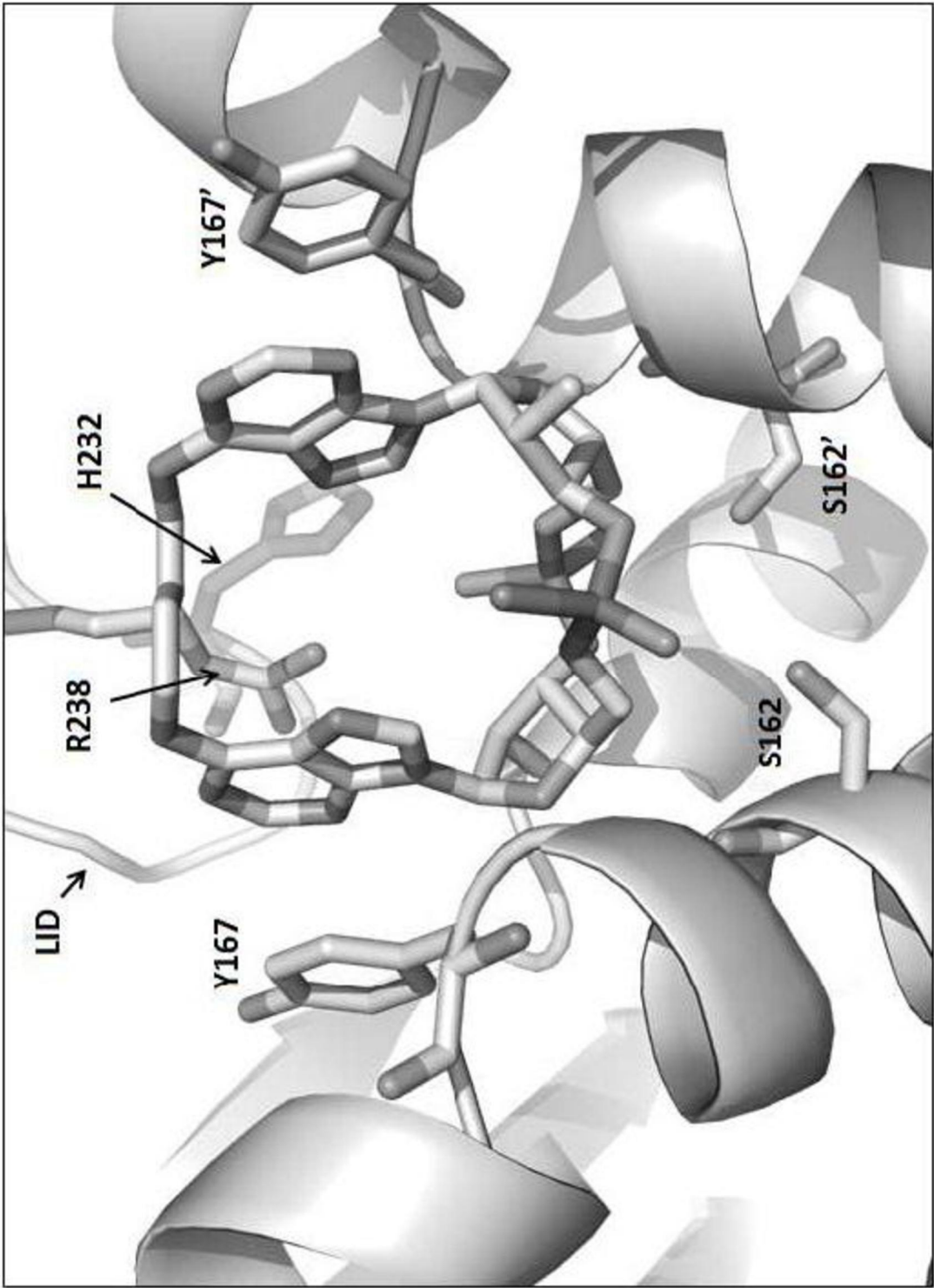
第 9 圖



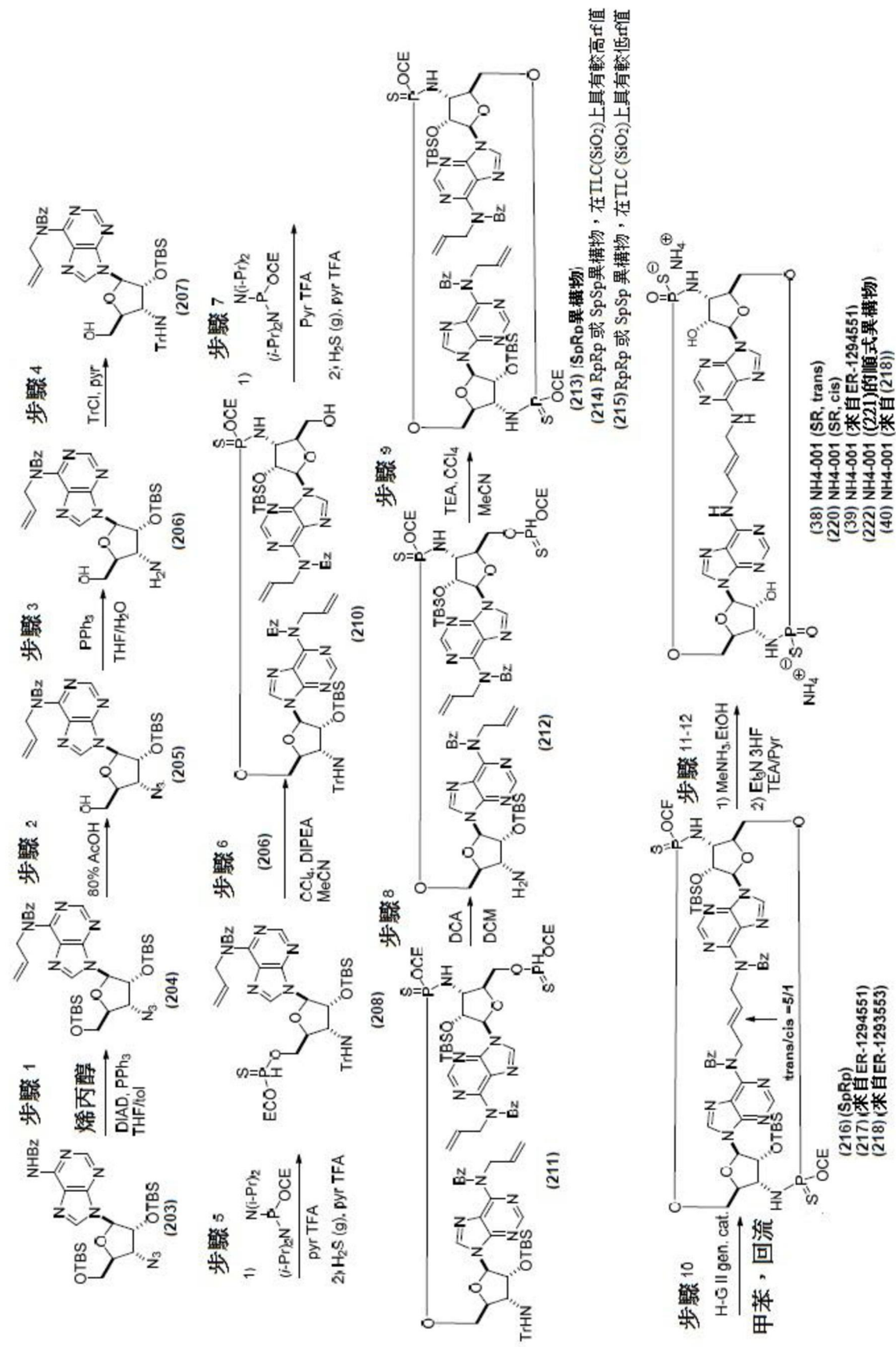
第 10 圖



第 11 圖



第 12 圖



第 13 圖