(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2017 年 11 月 23 日 (23.11.2017)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2017/198122 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 519/00 (2006.01) *A61K 31/517* (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01) *A61P 31/16* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/084301

(22) 国际申请日: 2017 年 5 月 15 日 (15.05.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201610334744.6 2016年5月19日 (19.05.2016) CN

(71) 申请人: 四川大学 (SICHUAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。

(72) 发明人: 杨胜勇 (YANG, Shengyong); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。 魏于全 (WEI, Yuquan); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段24号, Sichuan 610065 (CN)。

(74) 代理人: 成都虹桥专利事务所 (普通合伙) (CHENGDU HONGQIAO PATENT LAW OFFICE); 中国四川省成都市武侯区一环路南一段22号KEN商务写字楼3层13、15、16号, Sichuan 610041 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR,

WO 2017/198122 A1

(54) **Title:** ANTI-INFLUENZA SMALL MOLECULE COMPOUND AND PREPARATION METHOD AND USE THEREOF

(54) **发明名称:** 抗流感小分子化合物及其制备方法和用途

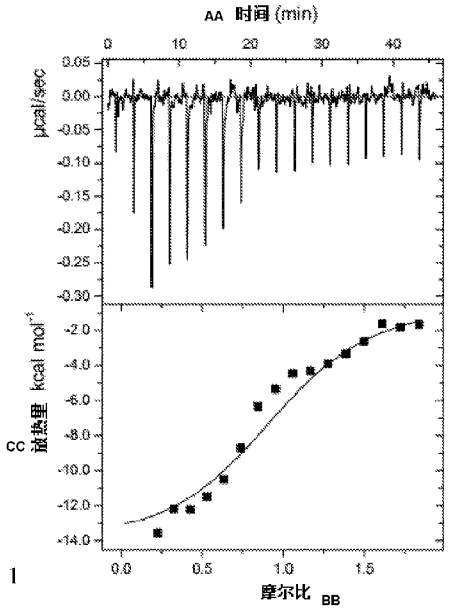
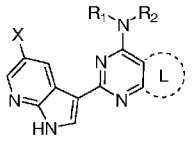


图 1



(I)

AA TIME (MIN)
BB MOLAR RATIO
CC HEAT RELEASE KCAL MOL^{-1}

(57) **Abstract:** The present invention belongs to the field of chemical medicine, and in particular, relates to an anti-influenza small molecule compound and a preparation method and use thereof. The technical problems to be solved by the invention are that there are a small number and few kinds of anti-influenza drugs able to be used clinically at present, and the anti-influenza drugs have a drug resistance, a narrow therapeutic window, great toxic side effects, poor clinical efficacy, etc. The solution of the invention to solve the technical problems is to provide an anti-influenza small molecule compound having the structure as shown in formula I. Also provided are a preparation method for and a use of the anti-influenza small molecule compound. The compound provided by the present invention may overcome the problems of drug resistance, poor efficacy and a narrow therapeutic window of the neuraminidase inhibitor and M2

[见续页]

LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明：

— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

ion channel inhibitor and other drugs used clinically at present, and has a great development value.

(57) 摘要：本发明属于化学医药领域，具体涉及抗流感小分子化合物及其制备方法和用途。本发明要解决的技术问题是目前临床上能运用的抗流感药物数量和种类都较少，而且这些抗流感药物存在耐药性、治疗窗窄、毒副作用大、临床疗效差等问题。发明解决上述技术问题的方案是提供一种抗流感小分子化合物，其结构如式Ⅰ所示。本发明还提供了上述抗流感小分子化合物的制备方法和用途。本发明提供的化合物可能克服目前临床使用的神经氨酸酶抑制剂和M2离子通道抑制剂等药物的耐药性、疗效差、治疗窗窄等问题，具有较大的开发价值。

抗流感小分子化合物及其制备方法和用途

技术领域

本发明属于化学医药领域，具体涉及抗流感小分子化合物及其制备方法和用途。

背景技术

流行性感冒（简称流感，Flu）是由流感病毒（Influenza virus）引起的呼吸系统疾病。根据病毒核蛋白和基质蛋白的抗原决定簇的差异，可将流感病毒分为甲（A）、乙（B）、丙（C）三种类型，其中 A 型流感最为常见，致病性强，易发生大范围流行，严重威胁人类生命与健康。禽流感病毒（Avian influenza virus）属于 A 型流感病毒，正常情况下仅在禽类等动物之间传播。但是有些变异株直接由禽类等动物传染给人类，给人类带来严重健康威胁，例如高致病性禽流感 H5N1、H7N9 等，其致死率可达 30%。历史上曾发生过多次严重的流感大流行，造成了上百万人死亡，给人类社会带来严重损失。

预防和治疗流感，通常采用疫苗接种和抗流感药物治疗两种方法。疫苗接种是目前预防流感的一种有效措施。成年人接种后可以达到较好预防效果，但是婴幼儿、老年人等免疫力较低者接种后效果并不理想。而且流感病毒不断地变异，旧疫苗难以对抗新病毒。化学药物是治疗流感的另一种重要手段，但是迄今为止，上市抗流感化学药物数量少，应用较多的是 M2 离子通道抑制剂、神经氨酸酶（NA）抑制剂以及核苷类抗病毒药物。

目前，上市的 M2 离子通道抑制剂仅有金刚烷胺（Amantadine，1966 年上市）、金刚乙胺（Rimantadine，1987 年上市），但仅对 A 型流感病毒有效，且金刚烷胺具有较大中枢神经系统不良反应，近年来涌现了较多耐药病毒株，耐药性成为了该类药物面临的重大问题。神经氨酸酶抑制剂（NAI）是一类强效的抗流感药物，除了 FDA 批准上市的奥司他韦（Oseltamivir，达菲，1999 年上市）和扎拉米韦（Zanamivir，1999 年上市），还有在局部地区上市的帕拉米韦（Peramivir，日本、韩国、中国上市）和拉尼那米韦（Laninamivir，日本上市）。尽管这类药物在体外显示了较好的抗流感效果，但来自国际循证医学协作组（Cochrane Collaboration）的报告指出，在临床上，目前并无证据支持奥司他韦具有防止流感病毒传播、或降低患者住院率和并发症风险的作用。另外，患者在感染流感病毒 48h 后，服用奥司他韦并不能起到抗流感效果。而且 NAI 也出现了严重的耐药情况。核苷类代表药物是利巴韦林（Ribavirin）和法匹拉韦（Favipiravir，T-705）。利巴韦林是一种广谱抗病毒上市药物，对 DNA 和 RNA 病毒均有抑制效果，作用机制尚不明确，在体内能引起溶血性贫血、心肺方面的毒性反应，所以临床应用受限。法匹拉韦主要抑制 RNA 病毒的复制，与利巴韦林相比具有活性较高、细胞毒性较小的优点，目前仅在日本上市。另外，盐酸阿比朵尔(arbidol hydrochloride)是 1993 年在俄罗斯上市抗流感病毒药物。它的作用机制尚不明确，可能是抑制 HA，通过阻止流感病毒外壳与

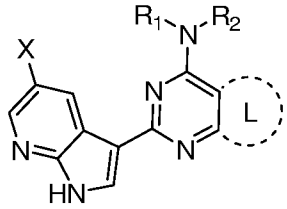
宿主细胞细胞膜的接触、黏附和融合，抑制病毒与细胞浆膜的融合及病毒与内吞囊泡之间的膜融合而达到抗病毒作用。

近年来，流感 RNA 聚合酶（RdRp）受到了广泛关注。RdRp 是由 PA、PB1 和 PB2 三个亚基组成的异源三聚体，在流感病毒基因组转录和复制过程中发挥重要作用。流感病毒 RNA 的转录具有特殊的“夺帽”机制，在此过程中，PB2 亚基负责识别和结合宿主前体 mRNA 的“帽子结构”，然后 PA 亚基剪切宿主 mRNA 得到引物，启动转录过程。抑制“夺帽”可以阻断转录过程，达到抑制流感病毒增殖的效果。因此，PB2 被认为是很有前途的抗流感药物靶标，已引起了制药公司和学术研究机构的高度重视。

发明内容

本发明要解决的技术问题是目前临床上能运用的抗流感药物数量和种类都较少，而且这些抗流感药物存在耐药性、治疗窗窄、毒副作用大、临床疗效差等问题。

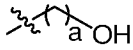
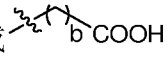
本发明解决上述技术问题的方案是提供一种抗流感小分子化合物，其结构如式 I 所示：

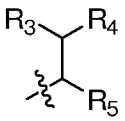
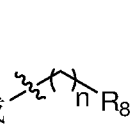


式 I

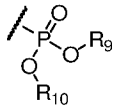
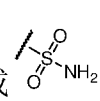
其中，X 为-H、卤素、氰基、-CF_3、C1～C4 烷氧基、C1～C4 烷基、氨基或 C1～C3 氨酰基；

L 为饱和或不饱和的 4～10 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C4～C10 环烷基；所述饱和或不饱和的 4～10 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；

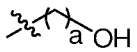
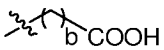
R_1 和 R_2 组合成取代或未取代的 5～8 元饱和杂环烷基，所述的杂原子为 N，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 5～8 元饱和杂环烷基的取代基为-H、-NH_2、卤素、-CF_3、氰基、C1～C4 烷基、  或  ；a、b 为 0～4；

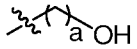
或者 R_1 为-H 或 C1～C10 烷基；R_2 为  、 或  ； n 为 0～4；

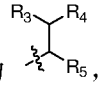
R_4、R_5 独立的为-H 或 C1～C10 烷基；或者 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C10 环烷基、C5～C10 的桥环烷基、C5～C10 的稠环烷基、5～10 元饱和杂环烷基、5～10 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～10 元饱和杂环烷基、5～10 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；

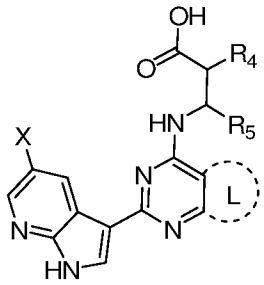
R_3 为 、 、 、 、  或  ，R_9 为 C1～C5 烷基，R_{10}

为氢或 C1～C5 烷基；

R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C10 芳基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代 C5～C10 芳基或苄基的取代基为 C1～C6 烷基、C1～C6 烷氧基、卤素、-CF_3 或氰基；a、b 为 0～4；

R_8 为取代或未取代的 C5～C10 环烷基、取代或未取代的 5～10 元饱和或不饱和杂环、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环或取代或未取代的 C5～C15 的桥环烷基；所述 5～10 元饱和或不饱和杂环的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～3 个；所述取代 C5～C10 环烷基的取代基为-H、  、卤素、C1～C4 烷基或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环的取代基为-H、-OH、-SO_2NH_2、-CF_3、卤素、C1～C4 烷基或-COOH；所述取代 5～10 元饱和或不饱和杂环的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、-OH、-CF_3、C1～C4 烷基、C1～C4 羰基、-COOH 或-NH_2；所述取代 C5～C15 的桥环烷基的取代基为-H、-OH、-COOH、C1~C4 烷基或-NH_2；a 为 0～4。

作为本发明优选的方案，当 R_1 为 H，R_2 为  ，R_3 为 时，其结构如式Ⅱ所示：



式Ⅱ

其中，X 为卤素或 C1～C4 烷基；L 为饱和或不饱和的 5～8 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～8 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C8 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基、5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1~3。

优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1~3 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基、5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3。

再进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基或 5~8 元饱和杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3。

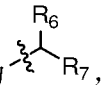
更进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基或 5～8 元饱和杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3。

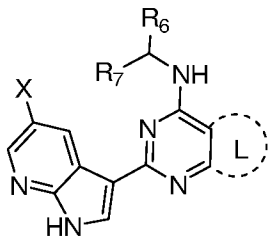
优选的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基或 5～8 元饱和杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～2。

进一步优选的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基或 C5～C8 的稠环烷基。

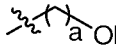
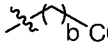
更进一步优选的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基或 C5～C8 的桥环烷基。

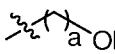
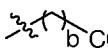
最优的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_1 和 R_2 组合形成环，所述的环为 C5～C6 环烷基或 C5～C8 的桥环烷基。

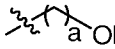
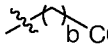
上述抗流感小分子化合物中，当 R_1 为 H，R_2 为  ，时，其结构如式III所示：

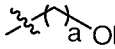
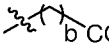


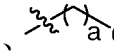
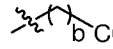
式III

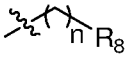
其中，X 为卤素或 C1～C4 烷基；L 为饱和或不饱和的 5～8 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～8 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C8 芳基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代 C5～C8 芳基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、卤素、-CF_3 或氰基；a、b 为 0～3。

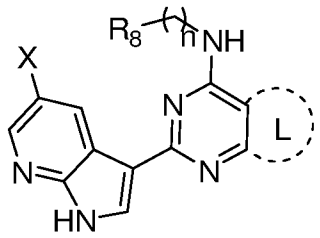
优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C6 芳基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代 C5～C6 芳基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、卤素、-CF_3 或氰基；a、b 为 0～2。

再进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代苯基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基或卤素；a、b 为 0～2。

更进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代苯基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、-F、-Cl 或-Br；a、b 为 0～2。

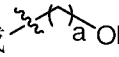
最优的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代苯基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、-F、-Cl 或-Br；a、b 为 0～2。

上述抗流感小分子化合物，当 R_1 为 H，R_2 为  时，其结构如式Ⅳ所示：

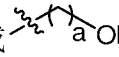


式Ⅳ

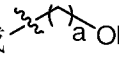
其中，n 为 0～4，X 为卤素或 C1～C4 烷基；L 为饱和或不饱和的 5～8 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～8 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；

R_8 为取代或未取代的 C5～C8 环烷基、取代或未取代的 5～8 元芳杂基、取代或未取代的 5～8 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～8 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的 C5～C10 芳基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～8 元饱和或不饱和杂环烷基、5～8 元芳杂基的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～3 个；所述取代 C5～C8 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～8 元芳杂基、5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元不饱和杂环烷基的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、$-CF_3$ 或 C1～C4 羰基；所述取代 C5～C10 芳基的取代基为卤素、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、卤素、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH，a 为 0～3。

优选的，n 为 0～4，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；

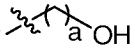
R_8 为取代或未取代的 C5～C6 环烷基、取代或未取代的 5～6 元芳杂基、取代或未取代的 5～6 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～6 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的 C5～C8 芳基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～6 元饱和或不饱和杂环烷基、5～6 元芳杂基的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 C5～C6 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～6 元芳杂基、5～6 元饱和杂环烷基、5～6 元不饱和杂环烷基的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、$-CF_3$ 或 C1～C3 羰基；所述取代 C5～C8 芳基的取代基为卤素、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH；a 为 0～3。

更优选的，n 为 0～3，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；

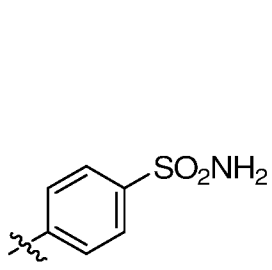
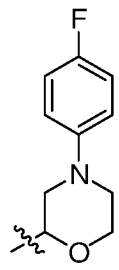
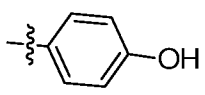
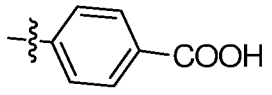
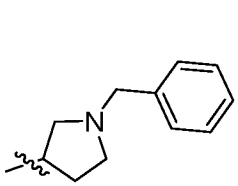
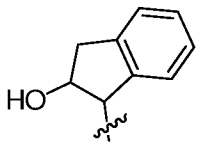
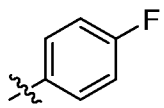
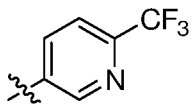
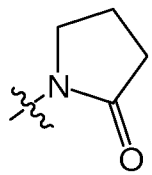
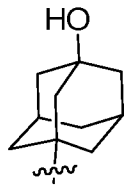
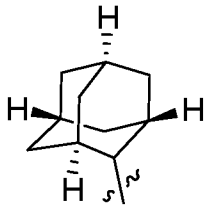
R_8 为取代或未取代的 C5～C6 环烷基、取代或未取代的 5～6 元芳杂基、取代或未取代的 5～6 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～6 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的 C5～C6 芳基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～6 元饱和或不饱和杂环烷基、5～6 元芳杂基的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 C5～C6 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代

5～6 元芳杂基、5～6 元饱和杂环烷基、5～6 元不饱和杂环烷基的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、-CF_3 或 C1～C3 羰基；所述取代 C5～C6 芳基的取代基为卤素、-OH、-SO_2NH_2、-CF_3 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、-CF_3 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH；a 为 0～3。

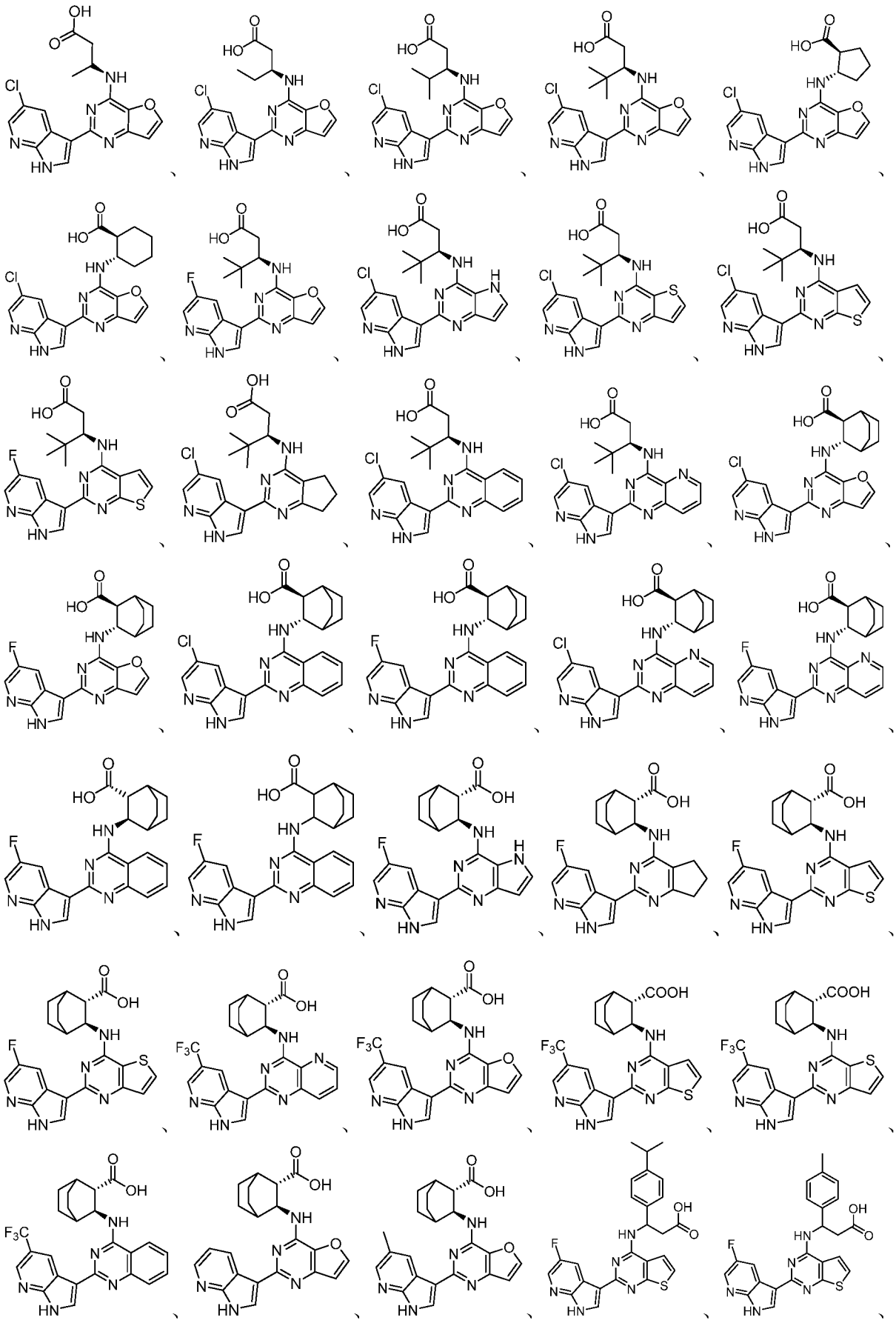
进一步优选的，n 为 0～3，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；

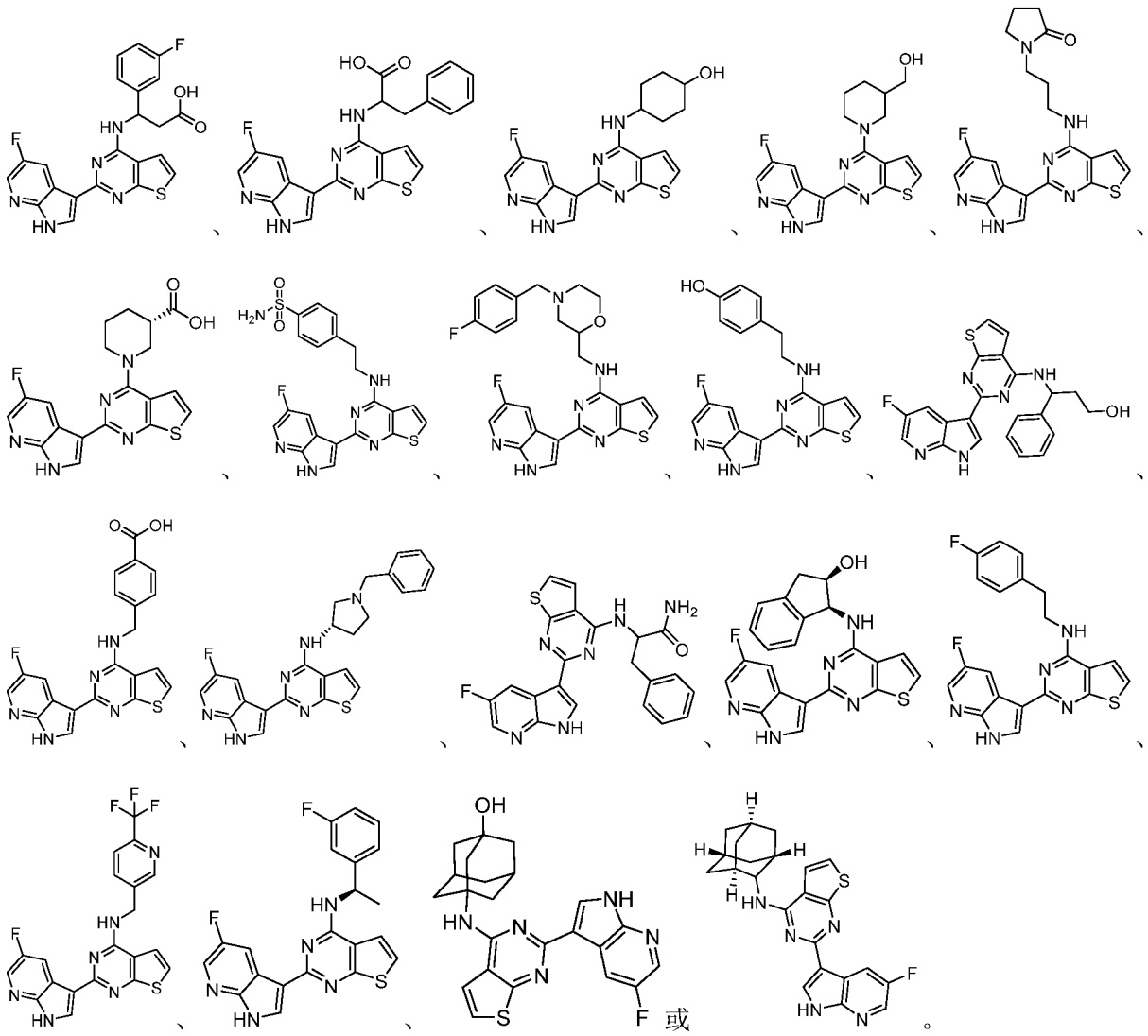
R_8 为取代或未取代的 C5～C6 环烷基、取代或未取代的 5～6 元芳杂基、取代或未取代的 5～6 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～6 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～6 元饱和或不饱和杂环烷基、5～6 元芳杂基的杂原子为 N、O，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 C5～C6 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～6 元芳杂基、5～6 元饱和杂环烷基、5～6 元不饱和杂环烷基的取代基为氟取代的苄基、-F、-Cl、-Br、苯基、苄基、-CF_3 或 C1～C2 羰基；所述取代苯基的取代基为-F、-Cl、-Br、-OH、-SO_2NH_2、-CF_3 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、-CF_3 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH；a 为 0～2。

最优的，n 为 0～3，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1 个；

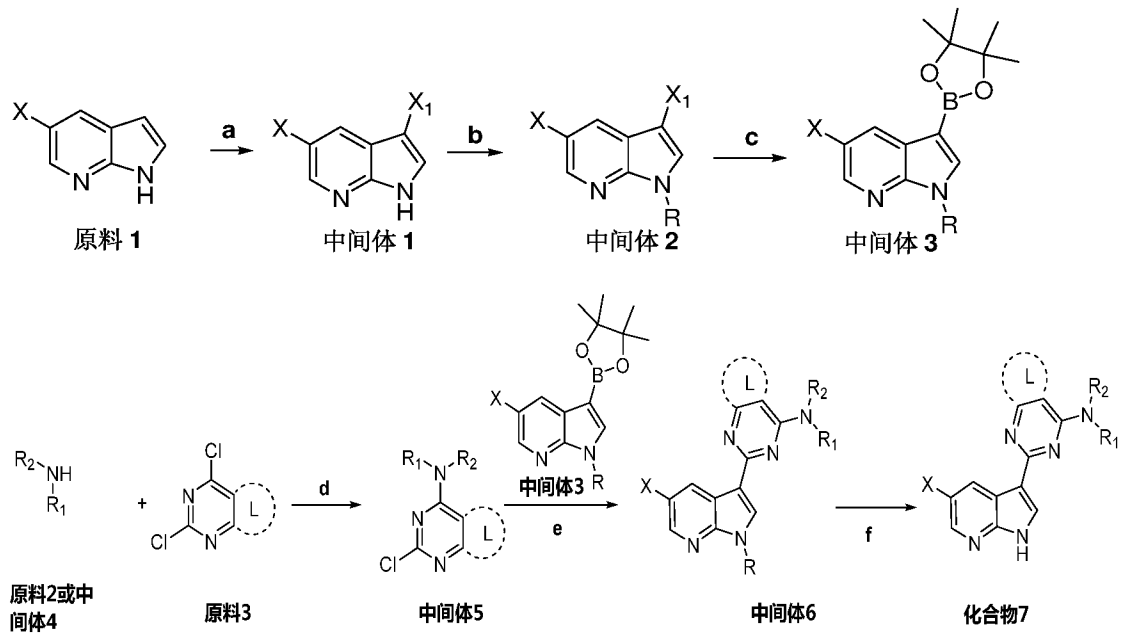
R_8 为  、  、  、  、  、  、  、  、  、  、  或。

上述抗流感小分子化合物的具体结构式为：



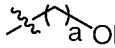


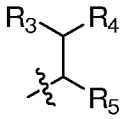
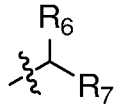
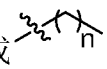
本发明还提供了上述抗流感小分子化合物的制备方法，其合成路线为：



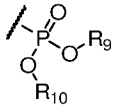
其中，X 为-H、卤素、氰基、$-CF_3$、C1～C4 烷氧基、C1～C4 烷基、氨基或 C1～C3 氨酰基；

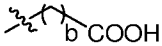
L 为饱和或不饱和的 4～10 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C4～C10 环烷基；所述饱和或不饱和的 4～10 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；

R_1 和 R_2 组合成取代或未取代的 5～8 元饱和杂环烷基，所述的杂原子为 N，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 5～8 元饱和杂环烷基的取代基为-H、$-NH_2$、卤素、$-CF_3$、氰基、C1～C4 烷基、  或 ；a、b 为 0～4；

或者 R_1 为-H 或 C1～C10 烷基；R_2 为  、  或  ； n 为 0～4；

R_4、R_5 独立的为-H 或 C1～C10 烷基；或者 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C10 环烷基、C5～C10 的桥环烷基、C5～C10 的稠环烷基、5～10 元饱和杂环烷基、5～10 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～10 元饱和杂环烷基、5～10 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；

R_3 为 、 、 、 、  或 ，R_9 为 C1～C5 烷基，R_{10} 为氢或 C1～C5 烷基；

R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C10 芳基、取代或未取代的苄基、 、  或$-CONH_2$；所述取代 C5～C10 芳基或苄基的取代基为 C1～C6 烷基、C1～C6 烷氧基、卤素、$-CF_3$ 或氰基；a、b 为 0～4；

R_8 为取代或未取代的 C5～C10 环烷基、取代或未取代的 5～10 元饱和或不饱和杂环、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环或取代或未取代的 C5～C15 的桥环烷基；所述 5～10 元饱和或不饱和杂环的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～3 个；所述取代 C5～C10 环烷基的取代基为-H、 、卤素、C1～C4 烷基或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环的取代基为-H、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$、卤素、C1～C4 烷基或-COOH；所述取代 5～10 元饱和或不饱和杂环的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、-OH、$-CF_3$、C1～C4 烷基、C1～C4 羰基、-COOH 或$-NH_2$；所述取代 C5～C15 的桥环烷基的取代基为-H、-OH、-COOH、C1~C4 烷基或$-NH_2$；a 为 0～4。

上述抗流感小分子化合物制备方法的操作步骤包括：

a、原料 1 与卤代试剂进行卤代反应制备得到中间体 1；所述的卤代试剂为 NIS（N-碘代丁二酰亚胺）、NBS（N-溴代丁二酰亚胺）、Br_2、I_2、ICl、IBr 等中的任意一种；所述原料 1 与卤代试剂的摩尔比为 1∶1.2~2；所述反应的温度为 0℃~80℃；所述反应的时间为 0.5h ~ 8h。

b、中间体 1 在碱存在下与酰氯反应制备得到中间体 2；所述的碱为 NaH、KOH、NaOH、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3 等中的任意一种；所述的酰氯为 TsCl（对甲苯磺酰氯）、苯磺酰氯、甲磺酰氯等中的任意一种；所述中间体 1 与碱、酰氯的摩尔比为 1∶2~4∶1~1.5；所述反应的温度为 0℃~50℃；所述反应的时间为 0.5h~4h。

c、中间体 2 在过渡金属催化下，与硼酸酯试剂在碱存在下反应制备得到中间体 3；所述的过渡金属为 $Pd_4(PPh_3)_4$、$PdAc_2$、$Pd_2(dba)_3$、$Pd(PPh_3)_2Cl_2$、$Pd(PPh_3)_2Cl_2$ DCM 等中的任意一种；所述的硼酸酯试剂为联硼酸频那醇酯等；所述的碱为 KOAc、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3 等中的任意一种；所述中间体 2 与过渡金属、硼酸酯试剂、碱的摩尔比为 1∶0.05~0.2∶1.5~2∶2~4；所述反应的温度为 60℃~ 90℃；所述反应的时间为 0.5h~24h。

d、原料 2 或中间体 4 与原料 3 在碱存在下反应制备得到中间体 5；所述的碱为 DIEA（N,N-二异丙基乙胺）、TEA（三乙胺）、KOAc、K_2CO_3、Na_2CO_3、Cs_2CO_3 等中的任意一种；所述中间体 4 与原料 3、碱的摩尔比为 1∶1~1.2∶2~4；所述反应的温度为室温~90℃；所述反应的时间为 5h~48h。若中间体 5 含有异构体，则采用制备 SFC 或制备 HPLC 进行手性拆分。

其中中间体 4 的制备为：若原料 2 中 R_2 包含-COOH，需经酸或二氯亚砜（$SOCl_2$）催化成酯反应制备得到中间体 4；所述的酸为浓硫酸等；所述原料 2 与酸或 $SOCl_2$ 的摩尔比为 1∶5~15；所述反应的温度为 0℃~ 90℃；所述反应的时间为 4h~24h。

e、中间体 5 与中间体 3 在过渡金属催化下、碱存在下发生偶联反应，制备得到中间体 6；所述的过渡金属为 $Pd_4(PPh_3)_4$、$PdAc_2$、$Pd_2(dba)_3$、$Pd(PPh_3)_2Cl_2$、$Pd(PPh_3)_2Cl_2$ DCM 等中的任意一种；所述的碱为 Cs_2CO_3、KOAc 、K_2CO_3、Na_2CO_3、KOH、NaOH 等中的任意一种；所述中间体 5 与中间体 3、过渡金属、碱的摩尔比为 1∶1~1.2∶0.05~0.2∶2~4；所述反应的温度为室温~90℃；所述反应的时间为 5h~48h。

f、中间体 6 在碱存在下，0～50℃反应脱去保护基 R 和上述中间体 4 引入的酯保护，可制备得到化合物 7；所述的碱为 KOH、NaOH、甲醇钠、乙醇钠等中的任意一种；所述中间体 6 与碱的摩尔比为 1∶4~10；所述碱性反应的时间为 5h~24h。

本发明上述抗流感小分子化合物包括其互变异构体、立体异构体及其所有比例的混合物，还包括其同位素取代的化合物。

本发明还提供了上述抗流感小分子化合物药学上可接受的盐。

本发明所用的术语“药学上可接受的”是指在在合理的医学判断范围，能适于用来与人类和其他哺乳动物的组织接触，而没有不当毒性、刺激、过敏反应等，其在对受者给药时能直接或间接地提供本发明的化合物或化合物的前药。

本发明还提供了上述抗流感小分子化合物药学上可接受的水合物。术语“水合物”表示进一步通过非共价分子间作用力结合化学计量或非化学计量的水的化合物。

本发明还提供了上述抗流感小分子化合物药学上可接受的多晶型物。术语“多晶型物”表示化合物或其复合物的固体结晶形式，其可以通过物理方法，例如 X.射线粉末衍

射图或红外光谱进行表征。

本发明还提供了上述抗流感小分子化合物药学上可接受的药物组合物，这种药物组合物是由式**I**所示的抗流感小分子化合物及其盐或水合物添加药学上可以接受的辅助性成分制备而成的。

上述药物组合物可以为液体形式或固体形式。其中，所述的液体形式可以为水溶液形式。所述的固体形式可以为粉末、颗粒、片剂或冻干粉形式。该药物组合物还含有注射用水、盐水溶液、葡萄糖水溶液、注射/输注用盐水、注射/输注用葡萄糖、格林氏溶液或含有乳酸盐的格林氏溶液。

式**I**所示的抗流感小分子化合物及其盐、水合物或药物组合物在制备抗流感药物中的用途。

本发明还提供了上述式**I**所示的抗流感小分子化合物及其盐、水合物或药物组合物在制备口服或静脉注射制剂中的用途。所述的口服或静脉注射制剂至少包含一种式**I**所示的抗流感小分子化合物及其盐、水合物或药物组合物以及任意的赋形剂和/或佐剂。

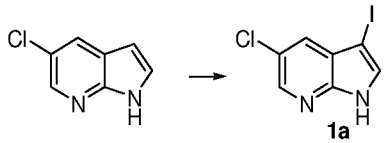
本发明的有益效果在于：首先，本系列化合物在体外对流感病毒具有很强的抑制效果，在抗流感活性测试中，大部分化合物对流感病毒 H1N1（A/PR/8/34）的 EC_{50}（半数有效浓度）达到了纳摩尔级水平，活性最优的化合物 **7z** 对流感病毒 H1N1 感染导致的小鼠死亡和肺部炎症有显著保护和抑制效果作用。其次，本系列化合物毒性较小，大部分化合物对 MDCK 细胞（马丁狗肾细胞）的 CC_{50}（半数毒性浓度）在 10 uM 以上，化合物选择性较好。再次，本系列化合物针对的是靶标是流感 RNA 聚合酶（RdRP）的 PB2 亚基（碱性蛋白 2），该亚基是近年来的开发抗流感药物的热点靶标，但是目前尚无上市药物。针对该靶标的抑制剂，可能克服目前临床使用的神经氨酸酶抑制剂和 M2 离子通道抑制剂等药物的耐药性、疗效差、治疗窗窄等问题，具有较大的开发价值。

附图说明

图 1　化合物 **7j** 的 ITC 测试结果：得到 **7j** 与 $PB2_{318-483}$ 蛋白的 K_d 值为 0.87～1.6μM，ΔH 为-14530±782,8 cal/mol，ΔS 为-21.5 cal/mol/deg。

具体实施方式

实施例 1：3-碘-5-氯-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶(中间体 1a)的制备



1a

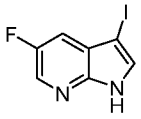
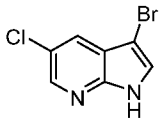
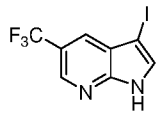
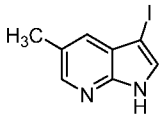
向 500 mL 圆底烧瓶中加入 5-氯-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶（5 g，32.77 mmol），用 150 mL 丙酮溶解完全，分批加入 NIS（8.86 g，39.4 mmol），常温搅拌，10 min 后有白色固体析出，30 min 后反应完毕，减压蒸馏除去溶剂，加入 1M 的硫代硫酸钠水溶液 20 mL，常温搅拌，滤出固体，用水洗涤 3 次，干燥后重结晶得到白色固体，产率 91%。

^{1}H NMR(400 MHz，DMSO-d_6) 12.35 (s, 1H)，8.30 (d, *J*= 2.0 Hz, 1H)，7.94 (d, *J*=1.6 Hz,

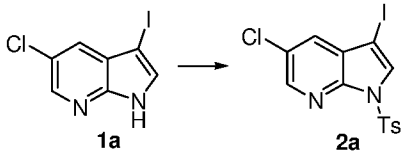
1H)，7.84 (d, *J*= 2.0 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 278.6 $[M+H]^+$。

按照中间体 **1a** 类似的制备方法，以 5-X-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶为原料，以 NIS 或 NBS 等为卤代试剂，以 DMF、THF、丙酮等为溶剂，常温、低温或加热反应，可得到中间体 **1b-e**。

表 1　中间体 **1b-e** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	^{1}H NMR 和 MS
1b		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.26 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 262.7 $[M+H]^+$。
1c		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.34 (s, 1H), 8.30 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 232.9 $[M+H]^+$。
1d		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.54 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.90 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 312.8 $[M+H]^+$。
1e		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.93 (s, 1 H), 8.09 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.47 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 258.7 $[M+H]^+$。

实施例 2：3-碘-5-氯-1-对甲苯磺酰基-吡咯并[2,3-*b*]吡啶(中间体 2a)的制备

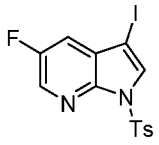
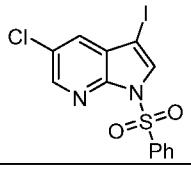
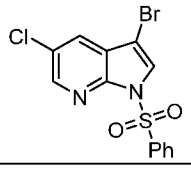
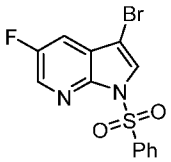
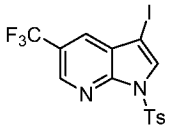
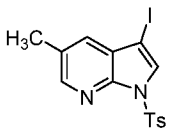


向 250 mL 圆底烧瓶中加入 3-碘-5-氯-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶（8.35 g，30 mmol），溶于 50 mL 无水四氢呋喃，冰浴，搅拌，缓慢分批加入 NaH（1.44 g，60 mmol），有气泡产生。15 min 后，缓慢滴加 TsCl（6.86 g，36mmol）四氢呋喃溶液 20 mL，30 min 后滴加完毕，移至室温反应 30 min。反应完毕后，减压蒸馏除去溶剂，得到固体粗品，加入 40 mL 二氯甲烷溶解粗品，用水萃取 3 次，分离出 DCM 层，用无水硫酸镁干燥，过滤，蒸干滤液即得到产品，浅黄色固体，产率 99%; ESI-MS m/z：432.9 $[M+H]^+$。

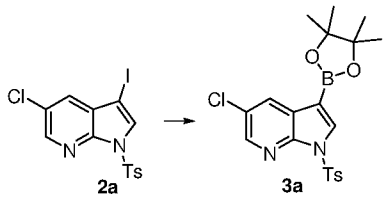
按照中间体 **2a** 类似的制备方法，3-卤-5-X-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶为原料，与对甲苯磺酰氯、苯磺酰氯等反应，可得

表 2　中间体 **2b-g** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	^{1}H NMR 和 MS

2b		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.43 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.74 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 416.9 $[M+H]^+$。
2c		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.43 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.10-8.00 (m, 3H), 7.69 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 7.7 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 418.9 $[M+H]^+$。
2d		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.43 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.05 (s, 2H), 7.69 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 7.7 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 370.9 $[M+H]^+$。
2e		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.49 (dd, J = 2.4, 1.6 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.19 – 8.10 (m, 2H), 7.94 (dd, J = 8.4, 2.7 Hz, 1H), 7.81 – 7.73 (m, 1H), 7.70 – 7.60 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 354.9 $[M+H]^+$。
2f		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.81 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.13 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 466.8 $[M+H]^+$。
2g		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.24 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.99 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.41 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.34 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 412.9 $[M+H]^+$。

实施例 3：3-硼酸频哪醇酯-5-氯-1-对甲苯磺酰基-吡咯并[2,3-*b*]吡啶(中间体 3a)的制备



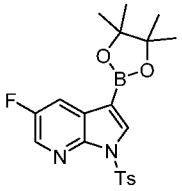
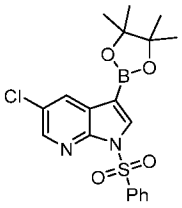
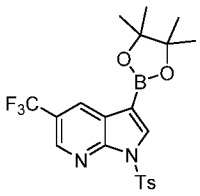
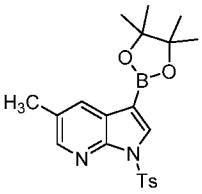
2a **3a**

向 50 mL 双颈瓶中加入 3-碘-5-氯-1-对甲苯磺酰基-吡咯并[2,3-*b*]吡啶（10.7 g，25 mmol）、醋酸钾（4.9 g，50 mmol）、$PdCl_2$(dppf)DCM（2.04 g，2.5 mmol）以及联硼酸频哪醇酯（7.62 g，30 mmol），溶于 20mL 的 1,4-二氧六环中，抽真空，氮气置换 3 次，80℃反应过夜。反应完毕后，减压蒸馏除去溶剂，重新加入 DCM 溶解，用弗洛里硅土过滤，滤液蒸干后，用正己烷和甲基叔丁基醚重结晶可得到产品 **3a**，黄棕色固体，产率 52%。

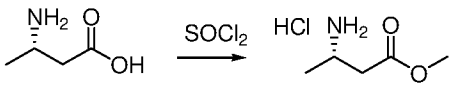
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$)：8.36 (d, J = 1.6 Hz, 1H)，8.17(d, J = 1.6 Hz, 2H)，8.09(m, 2H)，7.30(m, 2H)，2.39(s, 3 H)，1.37(s, 12H)ppm; ESI-MS m/z：433.1$[M+H]^+$。

按照中间体 **3a** 类似的制备方法，可以得到中间体 **3b-e**。

表 3　中间体 **3b-e** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	**^{1}H NMR 和 MS**
3b		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.38 (dd, J = 2.7, 1.3 Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.02 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.81 (dd, J = 8.4, 2.7 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.4 Hz,2H), 2.32 (s, 3H), 1.29 (s, 12H) ppm; ESI-MS m/z: 417.2 $[M+H]^+$。
3c		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.46 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.93 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.64 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.55 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 1.56 (s, 12H) ppm; ESI-MS m/z: 419.4 $[M+H]^+$。
3d		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.53 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.03 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.24 (s, 12H) ppm; ESI-MS m/z: 467.2 $[M+H]^+$。
3e		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.22 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.89 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 1.32 (s, 12H) ppm; ESI-MS m/z: 413.2 $[M+H]^+$。

实施例 4：(*S*)-3-氨基丁酸甲酯盐酸盐（中间体 4a）的合成



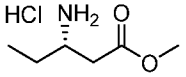
4a

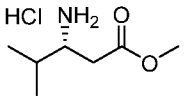
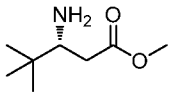
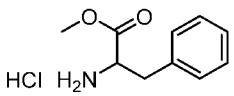
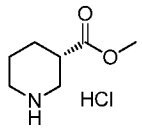
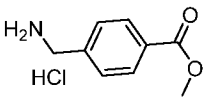
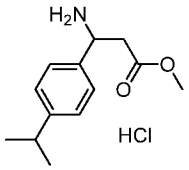
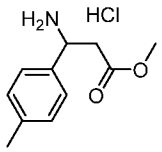
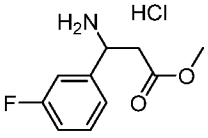
将(*S*)-3-氨基丁酸（500 mg，4.85 mmol）分散于 20 mL 甲醇中，冰浴，缓慢滴加 3 mL 二氯亚砜，固体逐渐消失，反应液变澄清。滴加完毕后，移至 80℃反应过夜。反应完全后，旋干溶剂，得到无色油状物即为产品，产率约 100%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.48 (br s, 2H)，7.73(br s, 1H),，3.84~3.70（m, 1H），3.75 (s, 3H)，2.92 (dd, J = 17.2, 7.2 Hz, 1H)，2.77 (dd, J = 17.2, 4.8 Hz, 1H)，1.53 (d, J = 6.4 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z：118.0 $[M+H]^+$。

按照中间体 **4a** 类似的制备方法，可以得到中间体 **4b-j**。

表 4　中间体 **4b-j** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	**^{1}H NMR 和 MS**
4b		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.38 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.67 - 3.54 (m, 1H), 2.91 (dd, J = 17.2, 7.0 Hz, 1H), 2.81 (dd, J = 17.1, 5.2 Hz, 1H), 1.97 (dt, J = 14.0, 7.0 Hz, 1H), 1.81 (td, J =

		14.4, 7.2 Hz, 1H), 1.06 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 132.2 $[M+H]^+$。
4c		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.47 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.65 - 3.45 (m, 1H), 2.88 (dd, *J* = 16.8, 7.2 Hz, 1H), 2.06 - 1.90 (m, 1H), 1.87-1.71 (m, 1H), 1.09 (t, *J* = 6.8 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 146.0 $[M+H]^+$。
4d		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.70 (s, 3H), 2.93 (dd, *J* = 10.8, 2.4 Hz, 1H), 2.56 (dd, *J* = 15.2, 2.4 Hz, 1H), 2.14 (dd, *J* = 15.2, 10.8 Hz, 1H), 1.42 (br s, 2H), 0.91 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 160.1 $[M+H]^+$。
4e		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 3H), 7.40 – 7.29 (m, 4H), 7.26 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.14 (d, *J* = 14.3 Hz, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.21 (d, *J* = 14.1 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 180.1 $[M+H]^+$。
4f		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.40 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.29 – 3.20 (m, 1H), 2.96 – 2.70 (m, 3H), 2,38-2.30 (m, 1H), 2.09 – 1.97 (m, 1H), 1.85 – 1.73 (m, 1H), 1.61-1.40 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 144.2 $[M+H]^+$。
4g		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.50 (s, 3H), 8.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.11 (s, 2H), 3.87 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 166.1 $[M+H]^+$。
4h		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.72 (s, 3H), 7.30 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 5.34 (dd, *J* = 14.7, 8.5 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.01 (dd, *J* = 16.0, 7.6 Hz, 2H), 2.99 – 2.88 (m, 1H), 1.20 (d, *J* = 14.6 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 222.3 $[M+H]^+$。
4i		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.72 (s, 3H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 4.70 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.02 (d, *J* = 16.0 Hz, 2H), 2.26 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 194.2 $[M+H]^+$。
4j		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 3H), 7.39 (dd, *J* = 14.2, 7.6 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.01 – 6.83 (m, 1H), 4.75 (d, *J* = 14.6 Hz, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.06 (d, *J* = 14.3 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 198.1 $[M+H]^+$。

实施例 5：(1*S*,2*S*)- 2-氨基环己甲酸甲酯（中间体 4k）的合成

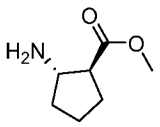
4k

将(1*S*,2*S*)-2-氨基环己甲酸（500 mg，3.49 mmol）溶于 15 mL 甲醇，冰浴下缓慢加入 2 mL 浓硫酸，滴加完毕后，升温至 80℃回流过夜。反应完毕后，蒸干溶剂，加入 10 mL 冰水，用稀氢氧化钠溶液调节 pH 至 8 ~ 9，用 DCM 萃取水层 3 次，合并有机层，用无水硫酸镁干燥，过滤，蒸干滤液即得到产品，无色油状物，产率 96%。

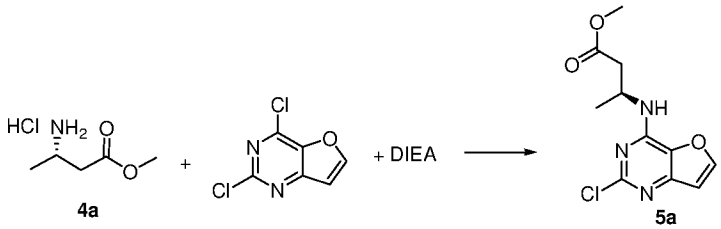
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 3.59 (s, 3H)，2.63 (td, J = 10.8, 4.0 Hz, 1H)，2.01 (ddd, J = 12.0, 10.0, 3.6 Hz, 1H)，1.84~1.71 (m, 2H)，1.71~1.57 (m, 2H)，1.51 (br s, 2H)，1.39~0.96 (m, 4H)ppm; ESI-MS m/z: 158.3 $[M+H]^+$。

按照中间体 **4k** 类似的制备方法，可得到中间体 **4l**。

表 5　中间体 **4l** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	**^{1}H NMR 和 MS**
4l		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 3.60 (s, 3H), 3.26 (dd, J = 14.8, 7.6 Hz, 1H), 2.37 (dd, J = 16.2, 8.0 Hz, 1H), 2.17 (br s, 2H), 1.98 – 1.87 (m, 1H), 1.87 – 1.75 (m, 1H), 1.74 – 1.60 (m, 2H), 1.61 – 1.49 (m, 1H), 1.37 – 1.22 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 144.1 $[M+H]^+$。

实施例 6：(*S*)-3-((2-氯呋喃并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)氨基)丁酸甲酯（中间体 5a）的制备



4a **5a**

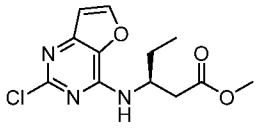
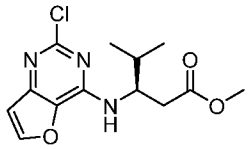
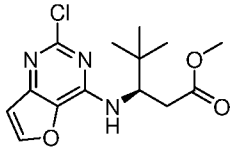
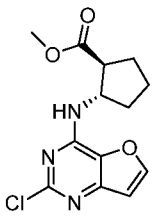
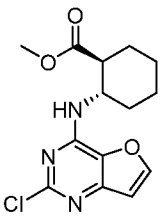
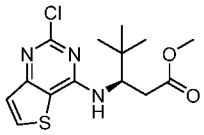
将 2,4-二氯呋喃并[3,2-*d*]嘧啶（250 mg，1.32 mmol）、DIEA（0.87 mL，5.28 mmol）和中间体 **4a**（203 mg，1.32 mmol）用 20 mL 甲醇溶解完全，80℃回流过夜，反应完毕后，减压蒸馏除去溶剂，拌样，柱层析，以 PE:EA=3:1 洗脱得到产品，白色固体，产率 60%。

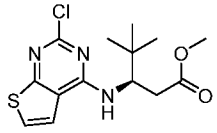
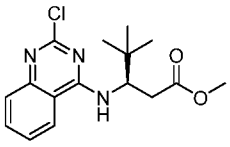
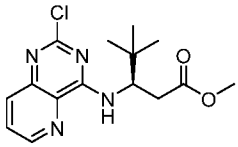
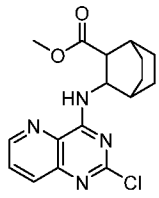
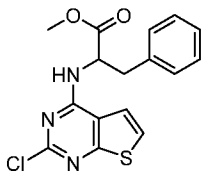
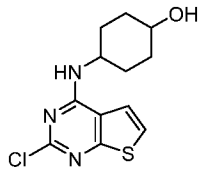
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ7.73 (d, J =2.0 Hz，1 H)，6.78 (d, J= 2.0 Hz, 1 H)，5.95 (d, J= 2.8 Hz,1 H)，4.79 (ddt, J= 9.2, 6.8, 5.2 Hz, 1 H)，3.72 (s, 3 H)，2.70 (qd, J =16.0, 5.2 Hz, 2 H)，1.40 (d, J= 6.8 Hz , 3 H) ppm; ESI-MS m/z：270.1 $[M+H]^+$。

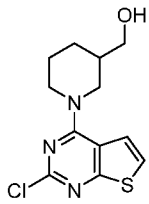
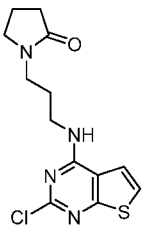
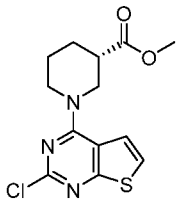
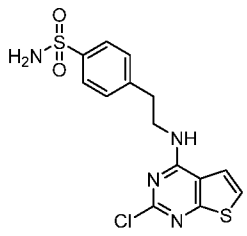
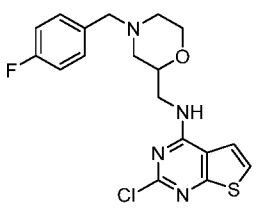
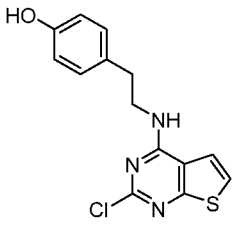
按照中间体 **5a** 类似的制备方法，以含不同取代基的胺类化合物与氯代嘧啶类衍生物为原料 ，以 DIEA、碳酸钠、碳酸铯等有机碱或无机碱作碱，乙醇、乙腈、四氢呋喃

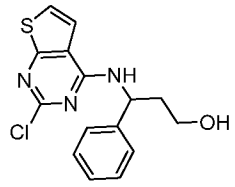
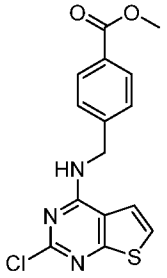
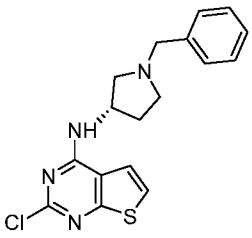
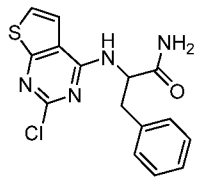
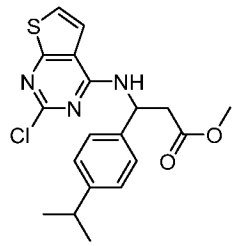
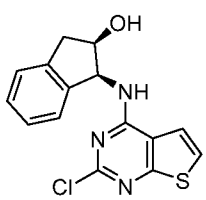
等作溶剂，常温或加热反应，得到中间体 **5b-5z、5aa-af**，表征数据如下：

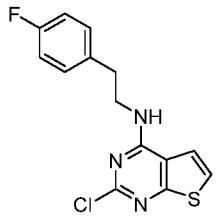
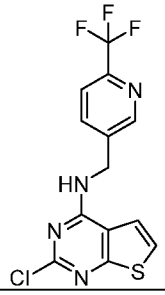
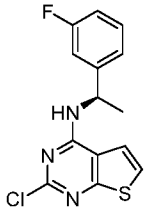
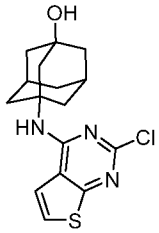
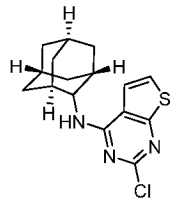
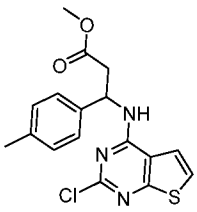
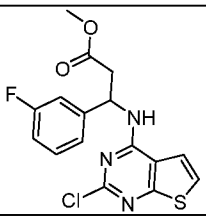
表 6　中间体 **5b-5z、5aa-af** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	^{1}H NMR 和 MS
5b		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.29 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.54 – 4.43 (m, 1H), 3.54 (s, 3H), 2.62 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 1.69 – 1.54 (m, 2H), 0.86 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 284.0 $[M+H]^+$。
5c		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.29 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.26 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.56 – 4.40 (m, 1H), 3.55 (s, 3H), 2.79 – 2.55 (m, 1H), 1.98– 1.76 (m, 1H), 1.65 – 1.53 (m, 1H), 0.90 (d, J =6.8 Hz, 6H) ppm ; ESI-MS m/z: 298.1 $[M+H]^+$。
5d		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.29 (s, 1H), 8.23 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.58 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 3.55(s, 3H), 2.72–2.68 (m, 1H), 2.60 –2.53 (m, 1H), 1.03 –0.81 (m, 9H) ppm ; ESI-MS m/z: 325.2 $[M+H]^+$。
5e		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.73 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.39 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.78 (p, J = 7.6 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.74 (dd, J = 16.4, 8.0 Hz, 1H), 2.35 (td, J = 13.2, 7.2 Hz, 1H), 2.11 (ddd, J = 14.2, 11.2, 7.0 Hz, 1H), 2.06 – 1.90 (m, 2H), 1.91 – 1.79 (m, 2H), 1.73 – 1.64 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 296.1 $[M+H]^+$。
5f		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.33 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 6.94 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.34 – 4.19 (m, 1H), 3.44 (s, 3H), 2.63 – 2.52 (m, 1H), 1.97 – 1.84 (m, 2H), 1.79 – 1.65 (m, 2H), 1.40 – 1.32 (m, 2H), 1.29 – 1.13 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 310.0 $[M+H]^+$。
5g		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.17 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 8.02 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.69 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 3.47 (s, 3H), 2.79 – 2.55 (m, 2H), 0.92 (s, 9H) ppm ; ESI-MS m/z: 328.2 $[M+H]^+$。

5h		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.91 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.77 – 4.61 (m, 1H), 3.47 (s, 3H), 2.79 –2.72 (m, 1H), 2.63 – 2.51 (m, 1H), 0.93 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 328.2 $[M+H]^+$。
5i		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.80 – 7.71 (m, 3H), 7.50 – 7.44 (m, 1H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.88 – 4.75 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.72 (dd, J = 15.2, 4.8 Hz, 1H), 2.63 (dd, J = 15.2, 6.4 Hz, 1H), 1.03 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 322.4 $[M+H]^+$。
5j		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.83 (dd, J = 4.4, 1.6 Hz, 1H), 8.63 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 8.07 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, 1H), 7.86 (dd, J = 8.4, 4.4 Hz, 1H), 4.65 (td, J = 10.4, 3.2 Hz, 1H), 3.48 (s, 3H), 2.88 (dd, J = 16.0, 10.4 Hz, 1H), 2.73 (dd, J = 16.0, 3.2 Hz, 1H), 0.95 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 323.5 $[M+H]^+$。
5k		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.78 – 7.70 (m, 2H), 7.66 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.43 (m, 1H), 5.95 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 4.69 – 4.53 (m, 1H), 3.45 (s, 3H), 2.52 – 2.42 (m, 1H), 2.00 – 1.97 (m, 2H), 1.93 – 1.82 (m, 1H), 1.82 – 1.73 (m, 2H), 1.72 – 1.58 (m, 3H), 1.51 – 1.39 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 347.4 $[M+H]^+$。
5l		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.79 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.34 – 7.23 (m, 4H), 7.18 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 4.91 (ddd, J = 9.6, 7.7, 5.6 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.20 (ddd, J = 23.6, 13.8, 7.7 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 348.2 $[M+H]^+$。
5m		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.08 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.60 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 4.00 – 3.91 (m, 1H), 3.48 – 3.37 (m, 1H), 1.90 (dd, J = 12.8, 10.3 Hz, 4H), 1.43 – 1.22 (m, 4H) ppm; ESI-MS m/z: 284.1 $[M+H]^+$。

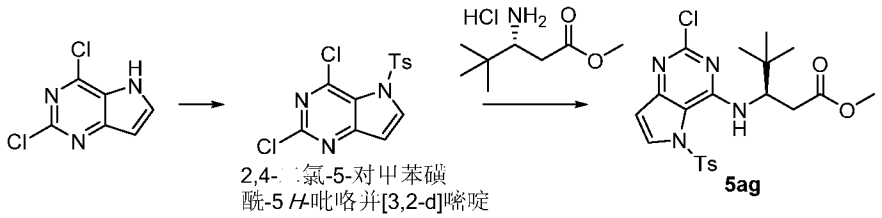
5n		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.68 – 7.59 (m, 2H), 4.74 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 3.41 (dt, *J* = 9.7, 4.7 Hz, 1H), 3.31 – 3.26 (m, 1H), 3.25 – 3.15 (m, 1H), 3.03 (dd, *J* = 13.3, 10.3 Hz, 1H), 1.85 – 1.64 (m, 3H), 1.62 – 1.47 (m, 1H), 1.37 – 1.21 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 284.2 $[M+H]^+$。
5o		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.41 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.62 – 7.55 (m, 2H), 3.48 – 3.35 (m, 4H), 3.27 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.22 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.99 – 1.87 (m, 2H), 1.80 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 311.1 $[M+H]^+$。
5p		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.63 (dd, *J* = 19.4, 6.1 Hz, 2H), 4.46 (dd, *J* = 13.3, 3.4 Hz, 1H), 4.19 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.70 – 3.55 (m, 4H), 3.52 – 3.44 (m, 1H), 2.83 – 2.70 (m, 1H), 2.09 – 1.97 (m, 1H), 1.86 – 1.73 (m, 2H), 1.61 (dt, *J* = 14.3, 10.9 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 312.0 $[M+H]^+$。
5q		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.58 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.59 (dd, *J* = 19.4, 6.1 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.30 (s, 2H), 3.72 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 3.03 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 369.2 $[M+H]^+$。
5r		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.53 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.13 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.80 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 3.73 – 3.66 (m, 1H), 3.47 (ddd, *J* = 29.5, 16.2, 7.2 Hz, 5H), 2.78 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 2.57 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 2.06 (td, *J* = 11.2, 3.0 Hz, 1H), 1.92 – 1.82 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 393.2 $[M+H]^+$。
5s		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.18 (s, 1H), 8.50 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.62 – 7.51 (m, 2H), 7.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.74 – 6.63 (m, 2H), 3.61 (dd, *J* = 14.3, 6.2 Hz, 2H), 2.87 – 2.75 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 306.1 $[M+H]^+$。

5t		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.66 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.47 – 7.29 (m, 4H), 7.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.42 (dd, *J* = 14.6, 8.3 Hz, 1H), 4.60 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.55 – 3.39 (m, 2H), 2.18 – 1.90 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 320.1 $[M+H]^+$。
5u		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.05 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.65 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 4.80 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 334.1 $[M+H]^+$。
5v		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.45 – 7.25 (m, 4H), 7.21 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.42 (dd, *J* = 14.3, 8.2 Hz, 1H), 3.62 (s, 2H), 3.20 – 3.05 (m, 4H), 1.91 (m, 1H),1.66 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 345.1 $[M+H]^+$。
5w		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.53 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.81 – 7.73 (m, 2H), 7.58 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.18 (m, 4H), 4.86 (ddd, *J* = 12.1, 8.4, 3.9 Hz, 1H), 3.19 (dd, *J* = 13.7, 3.8 Hz, 1H), 3.02 (dd, *J* = 13.7, 11.0 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 333.2 $[M+H]^+$。
5x		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.72 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.64 (dd, *J* = 20.4, 5.9 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 5.74 (dd, *J* = 14.7, 8.5 Hz, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.01 (ddd, *J* = 22.0, 16.0, 7.6 Hz, 2H), 2.91 – 2.79 (m, 1H), 1.19 (d, *J* = 14.6 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 390.2 $[M+H]^+$。
5y		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.36 – 7.14 (m, 4H), 5.71 (dd, *J* = 8.3, 5.0 Hz, 1H), 5.17 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.63 (dd, *J* = 8.7, 3.6 Hz, 1H), 3.16 (dd, *J* = 16.2, 5.0 Hz, 1H), 2.91 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H) ppm;

		ESI-MS m/z: 318.0 $[M+H]^+$。
5z		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.51 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 7.58 (m, 2H), 7.35 – 7.24 (m, 2H), 7.17 – 7.06 (m, 2H), 3.67 (dd, *J* = 13.1, 7.0 Hz, 2H), 2.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 308.1 $[M+H]^+$。
5aa		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.05 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.08 – 8.02 (m, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.64 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.82 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 345.2 $[M+H]^+$。
5ab		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.70 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.39 (td, *J* = 8.1, 6.2 Hz, 1H), 7.30 – 7.21 (m, 2H), 7.08 (td, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 5.45 (m, 1H), 1.56 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 308.1 $[M+H]^+$。
5ac		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.80 (s, 1H), 7.57 – 7.52 (m, 2H), 4.61 (s, 1H), 2.22 (s, 2H), 2.16 – 2.01 (m, 6H), 1.59 (q, *J* = 11.9 Hz, 4H), 1.54 – 1.45 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 336.1 $[M+H]^+$。
5ad		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.96 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.25 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 2.13 (d, *J* = 14.7 Hz, 4H), 1.87 (d, *J* = 10.1 Hz, 6H), 1.74 (s, 2H), 1.55 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 320.0 $[M+H]^+$。
5ae		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.64 (dd, *J* = 19.9, 6.0 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 5.70 (dd, *J* = 14.8, 8.5 Hz, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.00 (d, *J* = 16.0, Hz, 2H), 2.26 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 362.1 $[M+H]^+$。
5af		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.66 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.40 (dd, *J* = 14.2, 7.6 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.18 – 7.05 (m, 1H), 5.75

		(dd, *J* = 14.6, 8.5 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.04 (qd, *J* = 16.2, 7.6 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 366.0 $[M+H]^+$。

实施例 7：(*R*)-3-((2-氯-5-甲苯磺酰-5*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)氨基)-4,4-二甲基戊酸甲酯（中间体 5ag）的制备



第一步，制备 2,4-二氯-5-对甲苯磺酰-5*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶：

将 2,4-二氯吡咯并[3,2-*d*]嘧啶（500 mg，2.67 mmol）溶于 15 mL 无水 THF，冰浴，缓慢分批加入 NaH（64 mg，5.34 mmol）。15 min 后，缓慢滴入 TsCl（510 mg，2.67 mmol）的 THF 溶液 10 mL，30 min 后滴加完毕，室温反应 1 h。减压蒸馏除去溶剂，残留物用 DCM 溶解，用水萃取三次，DCM 层用无水硫酸镁干燥，过滤除去硫酸镁，蒸干滤液，即得到中间体 2,4-二氯-5-对甲苯磺酰-5*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶，白色固体，产率 98%。

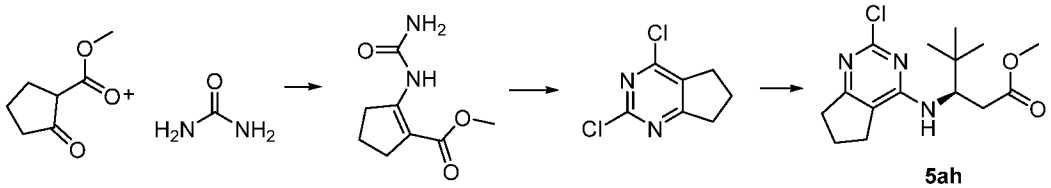
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.69 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H)，7.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H)，7.49 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H)，7.15 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H)，2.40 (s, 3H) ppm。

第二步，制备(*R*)-3-((2-氯-5-甲苯磺酰-5*H*-吡咯并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)氨基)-4,4-二甲基戊酸甲酯：

将上一步得到的中间体（342 mg，1.0 mmol）用 20 mL 的 MeCN 溶解，加入三乙胺（202 mg，2 mmol）和中间体 **4d**（235 mg，1.2 mmol），80℃回流过夜。反应完毕后，减压蒸干溶剂，残留物拌样过柱，以 PE:EA=4:1 洗脱得到产物 **5ag**，白色固体，产率 43%。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.12 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H)，7.71 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H)，7.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H)，7.44 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H)，6.82 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H)，4.63 (td, *J* = 10.0, 3.2 Hz, 1H)，3.47 (s, 3H)，2.84 (dd, *J* = 14.8, 3.2 Hz, 1H)，2.42 (dd, *J* = 14.8, 10.0 Hz, 1H)，2.36 (s, 3H)，0.98 (s, 9H) ppm。ESI-MS m/z：465.1 $[M+H]^+$。

实施例 8：(*R*)-3-((2-氯-6,7-二氢-5*H*-环戊二烯并[*d*]嘧啶-4-基)氨基)-4,4-二甲基戊酸甲酯（中间体 5ah）的制备



第一步，制备 2-脲基环戊-1-烯-1-羧酸甲酯：

将甲基-2-氧代环戊烷-1-羧酸（5 g，35.17 mmol）用 25 mL 甲醇溶解，加入尿素（4.225

g，70.3 mmol）以及 2 mL 浓盐酸，80℃回流，10 min 后有白色固体析出，回流过夜。反应完全后，过滤得到中间体 2-脲基环戊-1-烯-1-羧酸甲酯，产率 90%。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.41 (s, 1H), 6.75 (s, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.02 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.38 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.82 – 1.70 (m, 2H) ppm。

第二步，制备 2,4-二氯-6,7-二氢-5*H*-环戊二烯并[*d*]嘧啶：

将上一步得到的中间体用 10 mL 三氯氧磷溶解，80℃回流，反应液黄棕色。5 h 反应完全后，减压蒸馏除去溶剂，得到棕色油状物，加入 10 mL 冰水，立即有棕色固体析出，过滤，干燥即得中间体 2,4-二氯-6,7-二氢-5*H*-环戊二烯并[*d*]嘧啶，黄棕色固体，产率 54%。

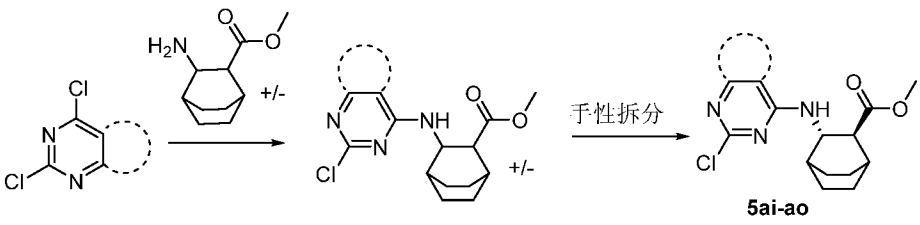
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 3.04 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.93 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.20 – 2.07 (m, 2H) ppm ; ESI-MS m/z: 188.9 $[M+H]^+$。

第三步，制备(*R*)-3-((2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基）氨基)-4,4-二甲基戊酸甲酯：

将上一步得到的中间体（500 mg，2.64 mmol）用 20 mL 乙腈溶解，加入 DIEA（0.8 ml，5.28 mmol）和中间体 **4d**（442 mg，2.77 mmol），升温至 80℃反应。24 h 后，反应完毕，拌样柱层析，以 PE:EA=4:1 洗脱得到中间体 **5ah**，白色固体，产率 31%。

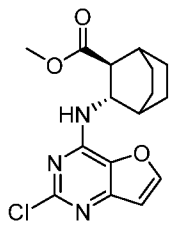
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6.88 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 4.50 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 3.49 (s, 3H), 2.76 – 2.65 (m, 3H), 2.65 - 2.57 (dd, J = 11.2, 3.2 Hz, 3H), 2.10 – 1.92 (m, 2H), 0.88 (s, 9H)ppm; ESI-MS m/z: 312.1 $[M+H]^+$。

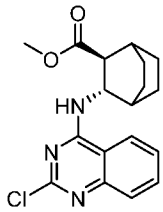
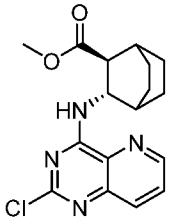
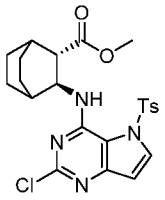
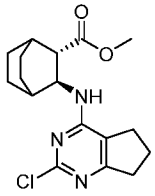
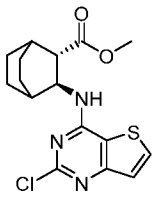
实施例 9：中间体 5ai-ao 的合成

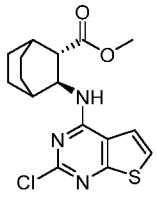


按照实施例 6 所述的合成方法，可得到 **5ai-ao** 的消旋体，再用制备级超临界流体色谱进行手性拆分，可得到中间体 **5ai-ao**，表征数据如下：

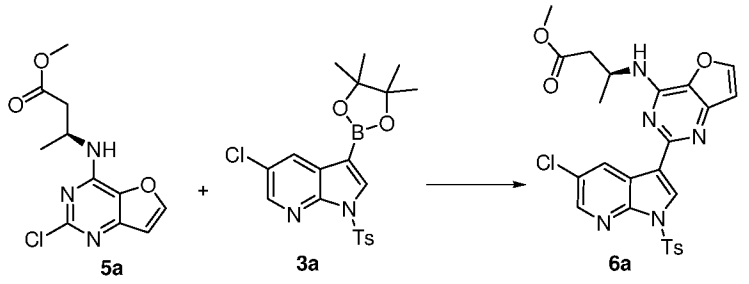
表 7　中间体 **5ai-ao** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

编号	结构	^{1}H NMR 和 MS
5ai		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.40 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 6.95 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.57-4.30(m, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.17 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 2.82 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 2.10 – 1.29 (m, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 336.9 $[M+H]^+$。

5aj		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.80 – 7.70 (m, 2H), 7.66 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.48 - 7.44 (m, 1H), 5.92 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.62 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.48 (dd, *J* = 3.8, 1.8 Hz, 1H), 2.06 – 1.94 (m, 2H), 1.94 – 1.83 (m, 1H), 1.83 – 1.73 (m, 2H), 1.73 – 1.60 (m, 4H), 1.52 – 1.40 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 346.6 $[M+H]^+$。
5ak		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.71 – 8.62 (m, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.65 (dd, *J* = 8.5, 4.3 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.65 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.53 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 2.08 – 1.95 (m, 2H), 1.92 – 1.78 (m, 2H), 1.78 – 1.55 (m, 5H), 1.47 (t, *J* = 12.1 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 347.4 $[M+H]^+$。
5al		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.84 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.19 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.55 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.38 (td, *J* = 4.2, 2.2 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 1.93 (dd, *J* = 5.5, 2.8 Hz, 1H), 1.89 (dt, *J* = 7.7, 4.0 Hz, 1H), 1.85 – 1.73 (m, 2H), 1.67 – 1.58 (m, 4H), 1.53 (s, 1H), 1.45 – 1.37 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 489.1 $[M+H]^+$。
5am		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.52 (s, 1H), 4.38 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.79 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.57 (s, 2H), 2.28 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 2.10 – 2.00 (m, 2H), 1.90 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.76 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 1.58 – 1.50 (m, 6H), 1.39 – 1.30 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 336.1 $[M+H]^+$。
5an		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.74 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 5.22 (s, 1H), 4.66 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.46 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 2.02 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 1.95 (dd, *J* = 5.4, 2.6 Hz, 1H), 1.85 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.73 – 1.62 (m, 6H), 1.51 – 1.43 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 352.1 $[M+H]^+$。

5ao		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.11 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.52 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 3.64 (s, 3H), 2.76 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.94 (s, 1H), 1.84 (s, 1H), 1.80 – 1.47 (m, 6H), 1.42 (d, *J* = 11.8 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 352.1 $[M+H]^+$。

实施例 10：(*S*)-3-((5-氯-1-对甲苯磺酰基-1*H*-吡咯并[2,3-*d*]吡啶-3-基)呋喃并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)氨基)-丁酸甲酯（中间体 6a）的合成

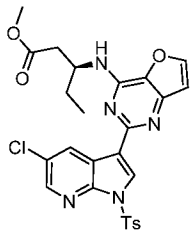


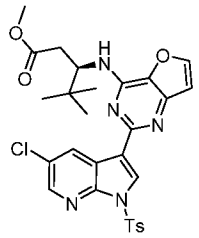
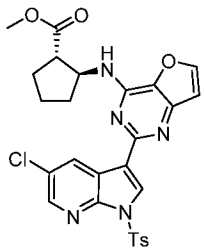
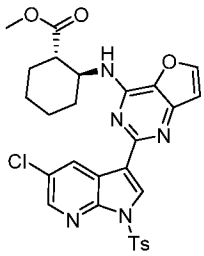
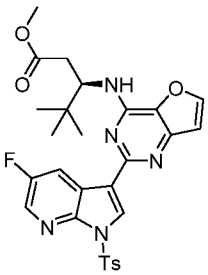
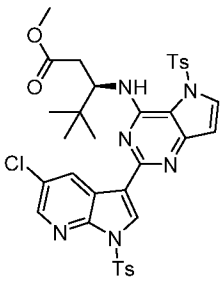
将(*R*)-3-((2-氯呋喃并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)氨基)-丁酸甲酯 **5a**（160 mg，0.593 mmol）、中间体 **3a**（308 mg，0.7119 mmol）、碳酸铯（390 mg，1.2 mmol）和 $PdCl_2$(dppf)DCM（49 mg，0.06 mmol）用 10 mL 的 1,4-二氧六环溶解，加入 2 mL 水，抽真空，氮气置换三次，置于 80℃反应，6 h 后反应完毕。减压蒸馏除去溶剂，残留物用 DCM 溶解，拌样，柱层析，以 PE:EA=4:1 洗脱得到中间体 **6a**，白色固体，产率 85%。

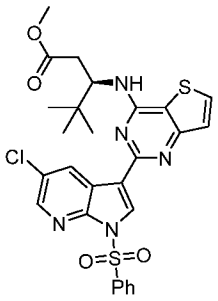
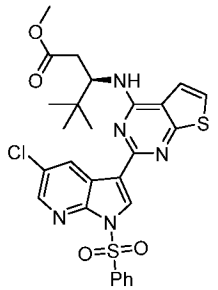
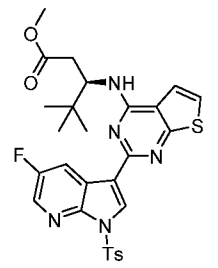
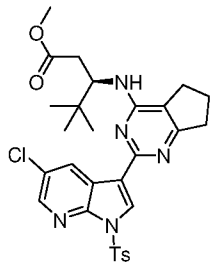
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) 8.94 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H), 8.49 (s, 1 H), 8.48 (d, *J*= 2.4Hz, 1 H), 8.28 (d, *J*= 2.4 Hz, 1 H), 8.07 (d, *J*=8.4 Hz, 2 H), 7.99 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.45 (d, *J*=8.4 Hz, 2 H), 7.08 (d, *J*= 2.0 Hz, 1 H), 4.83 (dt, *J*= 14.0, 7.2 Hz, 1 H), 3.55 (s, 3H), 2.81 (dd, *J*= 15.2, 7.2 Hz, 1 H), 2.63 (dd, *J*= 15.2, 6.6 Hz, 1 H), 2.36 (s, 3 H), 1.35 (d, *J*= 6.6 Hz, 3H)ppm; ESI-MS m/z: 540.1 $[M+H]^+$。

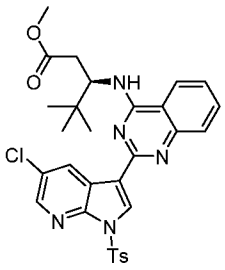
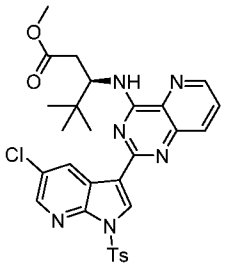
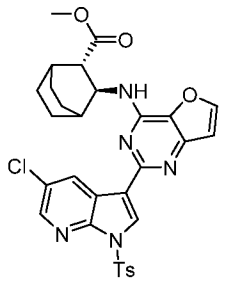
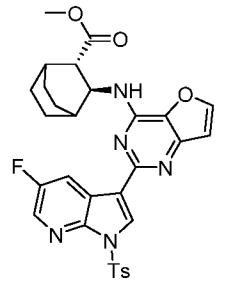
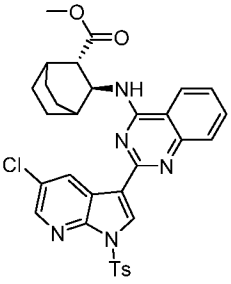
按照中间体 **6a** 类似的制备方法，可以得到中间体 **6b-6z、6aa-6az** 和 **6ba-6bb**，表征数据如下：

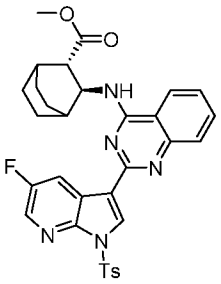
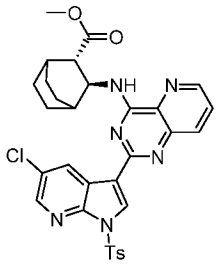
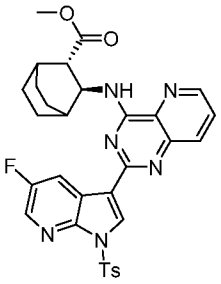
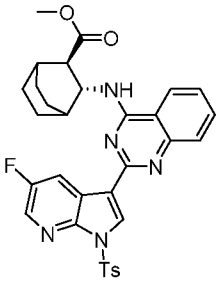
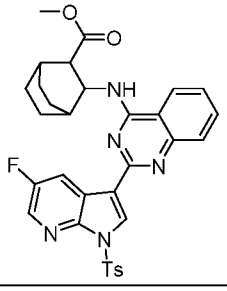
表 8　中间体 **6b-6z、6aa-6az** 和 **6ba-6bb** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

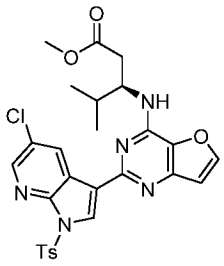
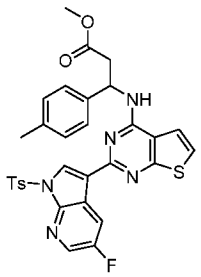
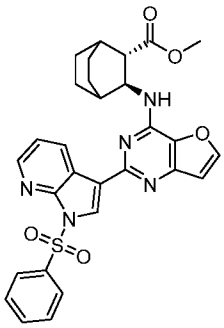
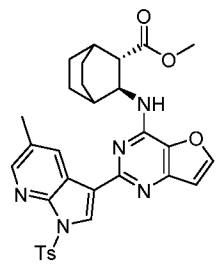
编号	**结构**	**^{1}H NMR 和 MS**
6b		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.95 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.47 (d, *J* =2.4 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 4.69 (td, *J* = 14.0, 7.2 Hz, 1H), 3.51 (s, 3H), 2.78 – 2.61 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.71 (dt, *J* = 14.0, 7.2 Hz, 2H), 0.95 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 553.2 $[M+H]^+$。

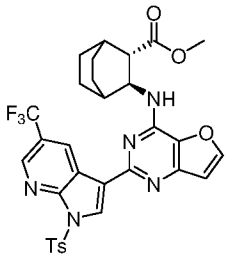
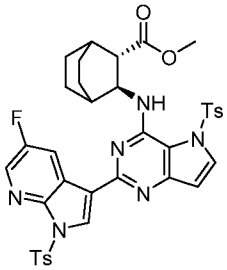
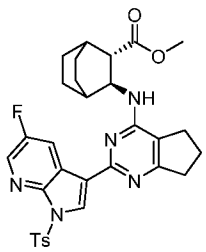
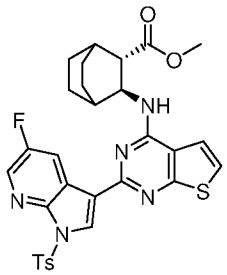
6c		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.06 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.49 (s, 1H),8.28 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.98 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.00 – 4.84 (m, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.80 (dd, J = 15.2, 2.4 Hz, 1H), 2.72 – 2.56 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 0.99 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 596.2 $[M+H]^+$。
6d		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.96 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.48 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.19 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.97 – 4.80 (m, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.90 – 2.78 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.26 – 2.01 (m, 3H), 1.95 – 1.73 (m, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 566.2 $[M+H]^+$。
6e		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.99 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.55 – 8.44 (m, 2H), 8.28 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.4 Hz, 3H), 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.06 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.56 – 4.42 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.64 (td, J = 12.0, 3.6 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.01 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 1.87 – 1.70 (m, 2H), 1.48 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 1.34 – 1.20 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 580.1 $[M+H]^+$。
6f		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.99 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.55 – 8.44 (m, 2H), 8.28 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.4 Hz, 3H), 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.06 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.56 – 4.42 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.64 (td, J = 12.0, 3.6 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.01 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 1.87 – 1.70 (m, 2H), 1.65 – 1.51 (m, 1H), 1.48 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 1.34 – 1.20 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 580.1 $[M+H]^+$。
6g		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.95 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.49 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.09 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.56 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.43 (dd, J = 8.0, 6.0 Hz, 4H), 6.96 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 4.94 (td, J = 9.2, 3.2 Hz,

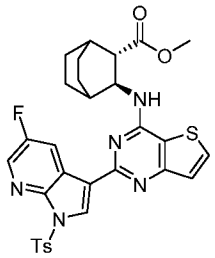
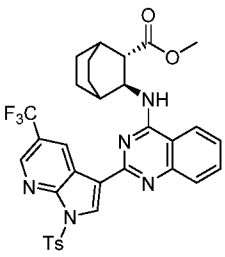
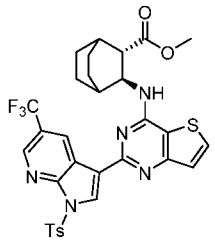
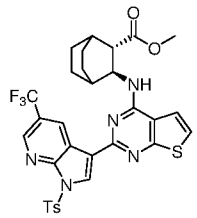
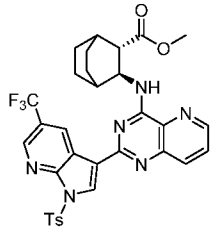
		1H), 3.40 (s, 3H), 2.93 (dd, *J* = 14.8, 3.6 Hz, 1H), 2.48 – 2.41 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 1.05 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 735.2 $[M+H]^+$。
6h		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.11 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.24 – 8.19 (m, 2H), 8.17 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.77 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.66 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.48 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.04 (s, 1H), 3.40 (s, 3H), 2.83 (dd, *J* = 15.6, 2.4 Hz, 1H), 2.67 (dd, *J* = 15.6, 10.8 Hz, 1H), 0.99 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 584.2 $[M+H]^+$。
6i		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.07 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.25 – 8.19 (m, 2H), 7.77 (dd, *J* = 9.2, 6.8 Hz, 2H), 7.67 (dd, *J* = 15.6, 7.6 Hz, 3H), 7.58 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.07– 4.96 (m, 1H), 3.39 (s, 3H), 2.87 (dd, *J* = 15.6, 2.8 Hz, 1H), 2.60 (dd, *J* = 15.4, 10.9 Hz, 1H), 1.00 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 584.2 $[M+H]^+$。
6j		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.77 (dd, *J* = 9.3, 2.9 Hz, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.10 – 4.94 (m, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.87 (dd, *J* = 15.4, 2.7 Hz, 1H), 2.60 (dd, *J* = 15.5, 10.8 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 0.99 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 582.2 $[M+H]^+$。
6k		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.03 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.49 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.66 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 4.95– 4.80 (m, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.88 – 2.77 (m, 2H), 2.76 – 2.63 (m, 2H), 2.60-2.50 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.09–1.97 (m, 2H), 0.94 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 582.2 $[M+H]^+$。

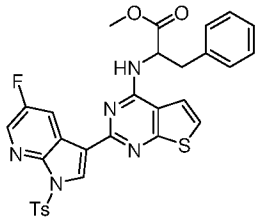
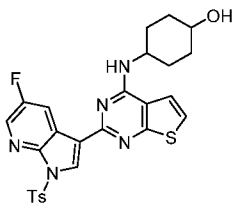
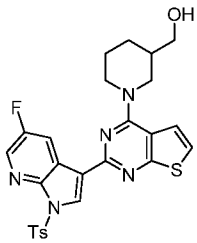
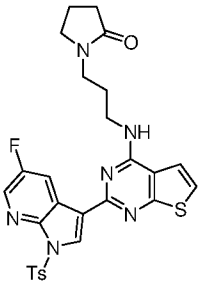
6l		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.15 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.51 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.43 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.87 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.82–7.78 (m, 2H), 7.82 (ddd, J = 8.2, 6.8, 4.0 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.18 – 5.08 (m, 1H), 3.40 (s, 3H), 2.87 (dd, J = 15.2, 2.8 Hz, 1H), 2.73 (dd, J = 15.2, 10.8 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.03 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 592.1 $[M+H]^+$。
6m		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.14 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.80 (dd, J = 4.4, 1.6 Hz, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.52 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 8.24 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, 1H) , 8.10 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.86 (dd, J = 8.4, 4.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.95 (td, J = 9.6, 3.5 Hz, 1H), 3.42 (s, 3H), 2.94 – 2.80 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.03 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 594.1 $[M+H]^+$。
6n		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.99 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.38 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.74 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.24 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 4.97 – 4.87 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.48 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.16 – 1.67 (m, 7H), 1.64 – 1.43 (m, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 607.1 $[M+H]^+$。
6o		1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.72 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.47 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.29 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.07 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.86 – 4.73 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.93 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.04 – 1.27 (m, 10H) ppm; ESI-MS m/z: 590.7 $[M+H]^+$。
6p		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.06 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.50 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.41 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.15 – 8.02 (m, 3H), 7.88 – 7.75 (m, 2H), 7.59 – 7.49 (m, 1H), 7.46 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.92 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.04 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.03 (br s, 2H), 1.95 – 1.74 (m, 3H), 1.75 – 1.34

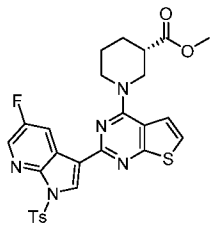
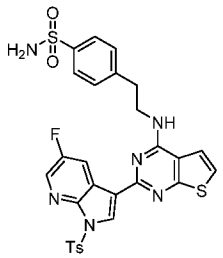
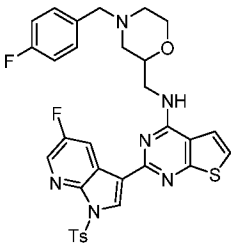
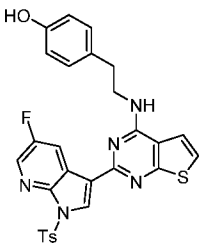
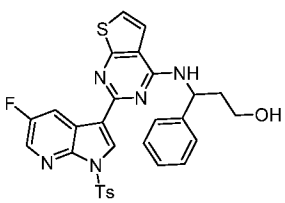
		(m, 5H) ppm; ESI-MS m/z: 617.3 $[M+H]^+$。
6q		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.76 (dd, *J* = 9.2, 2.8 Hz, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 13.2, 7.6 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.78 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.88 (s, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.09 – 1.98 (m, 2H), 1.97 – 1.37 (m, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 600.7 $[M+H]^+$。
6r		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.06 (s, 1H), 8.79 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.62 (s, 2H), 8.51 (s, 1H), 8.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.86 (dd, *J* = 8.4, 4.0 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.22(d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H) , 2.00 (br s, 2H), 1.94 – 1.79 (m, 3H), 1.74 – 1.36 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z: 618.2 $[M+H]^+$。
6s		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.85 – 8.76 (m, 2H), 8.63 (s, 1H), 8.58 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 8.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.86 (dd, *J* = 8.4, 4.0 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.86 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.20(d, *J* = 6.8 Hz, 1H),2.37 (s, 3H), 2.09 – 1.96 (m, 2H), 1.93-1.76(m, 3H), 1.75 – 1.38 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z: 601.8 $[M+H]^+$。
6t		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.76 (dd, *J* = 9.2, 2.8 Hz, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 13.2, 7.6 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.78 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.88 (s, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.29 (s, 3H), 2.09 – 1.98 (m, 2H), 1.97 – 1.37 (m, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 600.7 $[M+H]^+$。
6u		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.76 (dd, *J* = 9.2, 2.8 Hz, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.23 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 13.2, 7.6 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.78 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.88 (s, 1H), 3.66 (s, 3H),

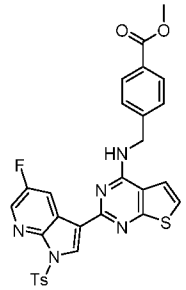
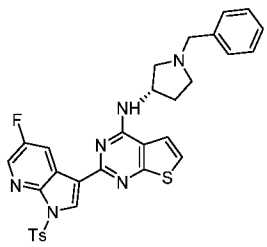
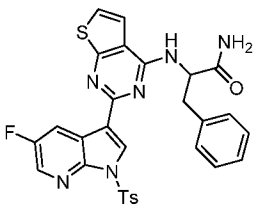
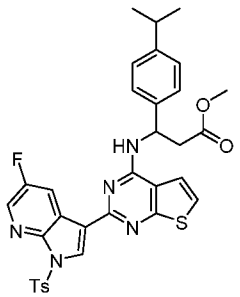
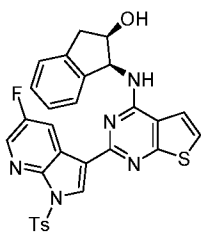
		2.29 (s, 3H), 2.09 – 1.98 (m, 2H), 1.97 – 1.37 (m, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 600.7 $[M+H]^+$。
6v		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.95 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.47 (d, *J* =2.4 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.95 (s, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 4.69 (td, *J* = 14.0, 7.2 Hz, 1H), 3.51 (s, 3H), 2.78 – 2.61 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.81 (m, 1H), 0.94 (d, *J* = 7.2 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 568.2 $[M+H]^+$。
6w		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 8.56 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.32 – 8.28 (m, 2H), 7.89 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 5.76 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 2.85 – 2.77 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.25 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 616.1 $[M+H]^+$。
6x		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.95 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.44 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.78 – 7.71 (m, 1H), 7.64 (dd, *J* = 10.6, 4.9 Hz, 2H), 7.44 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.78 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.61 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H), 2.92 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 2.00 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.79 (dd, *J* = 22.8, 11.5 Hz, 3H), 1.64 (s, 1H), 1.58 (d, *J* = 26.1 Hz, 2H), 1.44 (dd, *J* = 24.4, 12.1 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 558.2 $[M+H]^+$。
6y		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.04 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 3.62 (s, 3H), 2.82 (s, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 1.96 (d, *J* = 21.4 Hz, 2H), 1.79 (s, 2H), 1.62 (d, *J* = 13.0 Hz, 2H), 1.50 (s, 2H), 1.39 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 586.2 $[M+H]^+$。

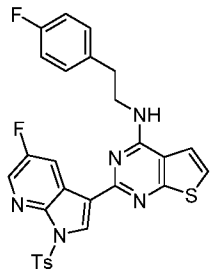
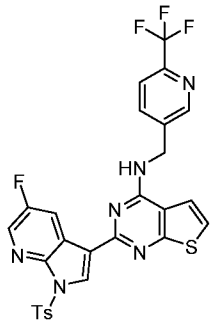
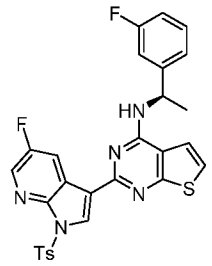
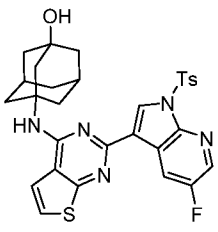
6z		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.28 (s, 1H), 8.71 (s, 2H), 8.18 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.29 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.98 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.72 (d, *J* = 10.7 Hz, 3H), 2.49 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.11 (s, 1H), 2.01 (s, 2H), 1.89 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 1.79 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 1.74 (s, 1H), 1.71 (d, *J* = 2.9 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 640.2 $[M+H]^+$。
6aa		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (dd, *J* = 9.0, 2.8 Hz, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.09 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 6.6 Hz, 4H), 6.97 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.79 (s, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.03 (s, 1H), 2.00 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.86 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 1.78 (d, *J* = 12.5 Hz, 2H), 1.64 (d, *J* = 13.5 Hz, 2H), 1.47 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 743.2 $[M+H]^+$。
6ab		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (dd, *J* = 9.0, 2.9 Hz, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.23 – 8.19 (m, 2H), 8.03 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 3.0 Hz, 2H), 4.72 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.40 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 2.87 (s, 2H), 2.63 (s, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.07 (s, 2H), 1.99 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 1.93 (s, 1H), 1.84 (t, *J* = 11.6 Hz, 1H), 1.62 (d, *J* = 1.6 Hz, 5H), 1.52 – 1.38 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 590.2 $[M+H]^+$。
6ac		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.69 – 8.65 (m, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 5.28 (s, 1H), 4.89 (s, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.39 (s, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.19 – 2.12 (m, 4H), 2.03 (s, 2H), 1.78 (d, *J* = 13.2 Hz, 4H) ppm; ESI-MS m/z: 606.2 $[M+H]^+$。

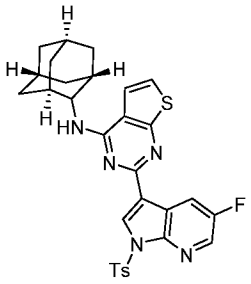
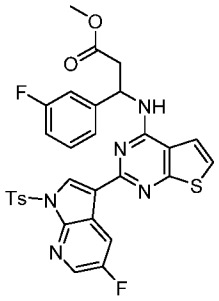
6ad		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.68 (dd, *J* = 9.1, 2.8 Hz, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.84 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 3.62 (d, *J* = 14.6 Hz, 3H), 2.86 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.34 (d, *J* = 11.8 Hz, 3H), 2.01 (s, 2H), 1.89 – 1.37 (m, 8H) ppm; ESI-MS m/z: 606.2 $[M+H]^+$。
6ae		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.41 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.91 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.78 – 7.72 (m, 1H), 7.70 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.48 – 7.42 (m, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.86 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 5.00 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.52 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.39 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 2.09 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H), 2.00 – 1.91 (m, 2H), 1.73 (d, *J* = 10.7 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 650.2 $[M+H]^+$。
6af		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.31 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 5.00 (dd, *J* = 14.9, 6.6 Hz, 2H), 3.71 (s, 3H), 2.49 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.07 (d, *J* = 25.1 Hz, 2H), 1.91 (d, *J* = 14.2 Hz, 2H), 1.84 – 1.66 (m, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 656.1 $[M+H]^+$。
6ag		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.28 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 7.17 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.30 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.99 (s, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.48 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.09 (s, 1H), 2.03 (s, 1H), 1.91 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 1.73 (dd, *J* = 15.7, 8.2 Hz, 6H), 1.52 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 656.1 $[M+H]^+$。
6ah		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 9.38 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.65 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 8.13 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 8.4, 4.3 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H),

		4.98 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.59 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.10 (dd, *J* = 14.2, 2.4 Hz, 2H), 1.92 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 1.81 – 1.67 (m, 4H), 1.65 (s, 1H), 1.52 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 651.2 $[M+H]^+$。
6ai		^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.70 (s, 1H), 8.63 (dd, *J* = 8.9, 2.8 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.30 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 7.27 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.10 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.33 – 5.23 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.43 (dd, *J* = 13.8, 5.7 Hz, 1H), 3.32 (dd, *J* = 13.8, 6.6 Hz, 1H), 2.38 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 602.1 $[M+H]^+$。
6aj		^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.68 (s, 1H), 8.63 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.13 (s, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.28 (s, 1H), 3.82 – 3.68 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.32 (s, 2H), 2.15 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 2.05 (s, 1H), 1.91 (s, 1H), 1.62 (d, *J* = 12.2 Hz, 2H), 1.51 – 1.39 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 538.1 $[M+H]^+$。
6ak		^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.64 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 2H), 8.30 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.29 (s, 2H), 7.23 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.50 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 4.41 (d, *J* = 12.9 Hz, 1H), 3.71 (dd, *J* = 10.6, 5.0 Hz, 1H), 3.65 – 3.57 (m, 1H), 3.52 (dd, *J* = 16.6, 6.7 Hz, 1H), 3.42 (dd, *J* = 13.3, 9.0 Hz, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.07 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 1.99 – 1.83 (m, 2H), 1.71 (dt, *J* = 13.8, 9.9 Hz, 1H), 1.58 (s, 1H), 1.51 – 1.40 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 538.1 $[M+H]^+$。
6al		^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.72 – 8.61 (m, 2H), 8.30 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.29 (s, 2H), 7.23 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 3.73 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.48 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.49 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.11 (dd, *J* = 14.9, 7.5 Hz, 2H), 1.94 (s, 2H), 1.60 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z:

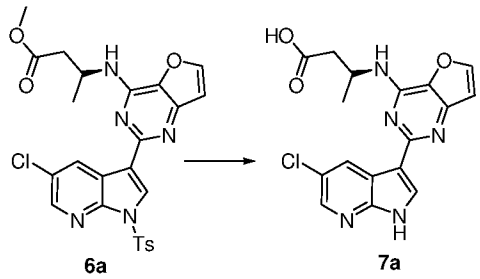
		565.1 $[M+H]^+$。
6am		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.67 (s, 1H), 8.63 (dd, *J* = 9.0, 2.8 Hz, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.31 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.71 – 4.57 (m, 2H), 4.43 – 4.29 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.37 – 3.28 (m, 1H), 2.88 – 2.78 (m, 1H), 2.76 – 2.68 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.17 (dd, *J* = 8.3, 4.3 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 566.1 $[M+H]^+$。
6an		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 – 8.61 (m, 2H), 8.49 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.53 (s, 2H), 7.44 (s, 2H), 7.30 (s, 2H), 3.88 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.13 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 623.1 $[M+H]^+$。
6ao		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.70 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.08 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H),7.30 – 7.22 (m, 2H), 7.04 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.76 – 3.60 (m, 3H), 2.72 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 2.36 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H),1.89 (t, *J* = 10.0 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 647.2 $[M+H]^+$。
6ap		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.78 – 8.65 (m, 2H), 8.32 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.97 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.87 (s, 2H), 2.36 (d, *J* = 10.1 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 560.6 $[M+H]^+$。
6aq		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.50 (s, 1H), 8.32 (dd, *J* = 8.8, 2.8 Hz, 1H), 8.24 (dd, *J* = 2.7, 1.0 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.47 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.36 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.23 (s, 2H), 7.20 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.61 (td, *J* = 11.7, 5.7 Hz, 1H), 3.85 (d, *J* = 3.3 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.22 – 2.07 (m, 2H)

		ppm; ESI-MS m/z: 574.1 $[M+H]^+$。
6ar		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.59 (s, 1H), 8.47 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.07 (dd, *J* = 8.2, 4.2 Hz, 3H), 7.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.31 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.27 (s, 2H), 7.19 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.01 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.70 (s, 3H), 2.37 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 588.1 $[M+H]^+$。
6as		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.68 – 8.61 (m, 2H), 8.31 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.41 – 7.32 (m, 4H), 7.29 (t, *J* = 6.1 Hz, 3H), 7.25 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.03 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.75 (s, 2H), 3.12 – 3.02 (m, 1H), 2.92 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 2.83 (dd, *J* = 10.0, 6.3 Hz, 1H), 2.50 – 2.44 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.08 (d, *J* = 25.9 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 599.2 $[M+H]^+$。
6at		^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.62 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.04 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.71 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 5.7 Hz, 3H), 7.30 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 7.24 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H), 5.00 (s, 1H), 3.30 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 3.17 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 2.37 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 587.1 $[M+H]^+$。
6au		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.53 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 3H), 8.07 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.1, 2.5 Hz, 4H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 5.89 (dd, *J* = 14.4, 7.5 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.12 (dd, *J* = 15.8, 9.1 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 16.0, 5.8 Hz, 1H), 2.83 (dt, *J* = 13.5, 6.8 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.15 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 644.2 $[M+H]^+$。
6av		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.62 (s, 1H), 8.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.36 – 7.30 (m,

		2H), 7.23 (s, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.70 (dd, *J* = 8.2, 4.9 Hz, 1H), 4.75 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 2.92 (t, *J* = 15.8 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 570.1 $[M+H]^+$。
6aw		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.63 (dd, *J* = 9.0, 2.8 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 8.29 (dd, *J* = 10.5, 4.3 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.36 (dd, *J* = 8.4, 5.7 Hz, 2H), 7.12 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.84 (dd, *J* = 13.9, 6.4 Hz, 2H), 3.02 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 562.1 $[M+H]^+$。
6ax		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.90 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.44 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.35 (dd, *J* = 9.0, 2.8 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.68 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 5.00 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.33 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 599.1 $[M+H]^+$。
6ay		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.47 (s, 1H), 8.44 (s, 2H), 8.37 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.41 – 7.27 (m, 3H), 7.04 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.58 – 5.50 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.63 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 562.1 $[M+H]^+$。
6az		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.30 (d, *J* = 12.1 Hz, 4H), 2.18 (d, *J* = 12.2 Hz, 4H), 1.75 (d, *J* = 11.2 Hz, 2H), 1.68 (d, *J* = 10.7 Hz, 3H), 1.60 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 590.2 $[M+H]^+$。

6ba		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.60 (dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.97 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 4.43 (s, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.25 (s, 2H), 2.18 (d, *J* = 12.5 Hz, 2H), 2.04 – 1.89 (m, 5H), 1.86 (s, 1H), 1.77 (s, 2H), 1.58 (d, *J* = 12.4 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 574.2 $[M+H]^+$。
6bb		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.62 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.34 – 8.20 (m, 2H), 7,79 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.57 (m, 3H), 7.45 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.90 (s, 1H), 5.89 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.37 (s, 3H), 2.91 (m, 2H), 2.34 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 620.1 $[M+H]^+$。

实施例 11：(*S*)-3 - ((2-(5-氯-1*H*-吡咯并[2,3-*b*]吡啶-3-基)呋喃并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)氨基)丁酸（化合物 7a）的制备



6a **7a**

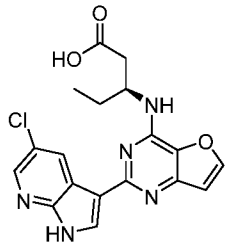
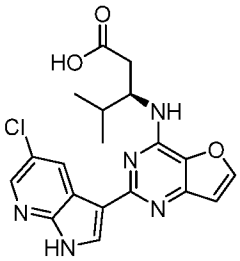
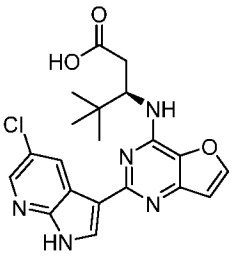
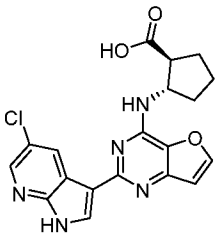
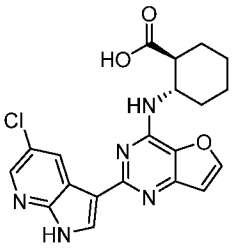
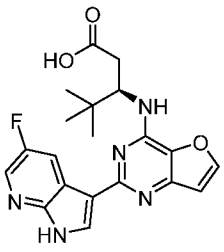
将得到的中间体 **6a**（80 mg，0.15 mmol）用 MeOH:THF=1:1 溶解完全，加入 3 mL 饱和氢氧化钠水溶液，50℃搅拌过夜。反应完全后，减压蒸馏除去溶剂，加入 5 mL 水，EA 萃取一次，弃去有机层。水层用盐酸调 pH 至 7，有大量白色固体析出，过滤，用水洗涤所得固体 3 次，干燥，重结晶即得产物 **7a**，近白色固体，产率 81%。

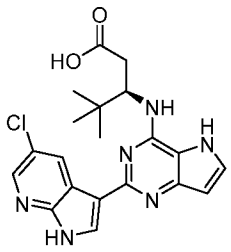
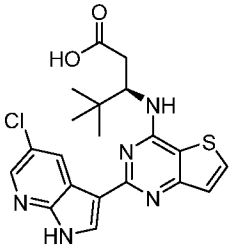
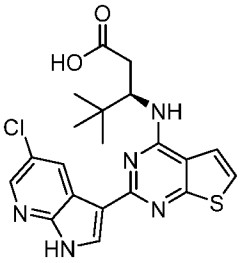
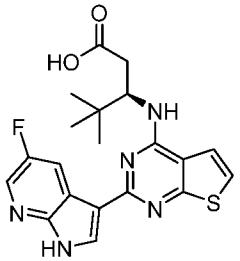
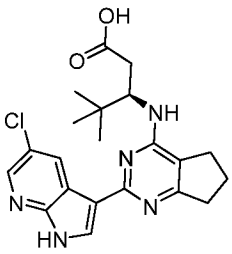
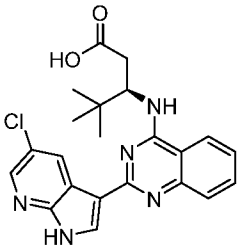
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 15.04 (br s, 1H),12.94 (s, 1H), 9.45 (br s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.40 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 5.01~4.81 (m, 1H), 2.82 (dd, *J* = 16.0, 7.2 Hz, 1H), 2.72~2.56 (m, 1H), 1.41 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z:370.6 $[M-H]^-$。

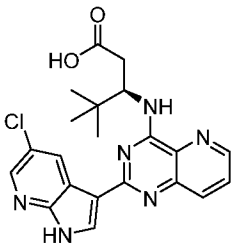
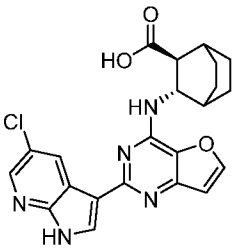
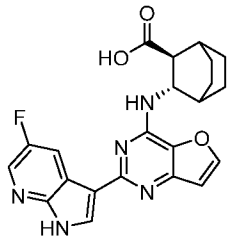
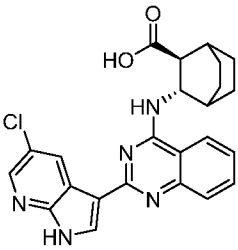
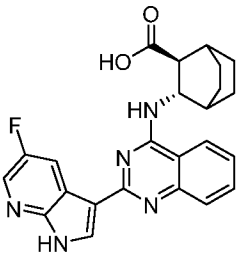
化合物 **7b-z、7aa-7az 及 7ba-bb** 用上述类似方法可得到，其表征数据如表 9 所示：

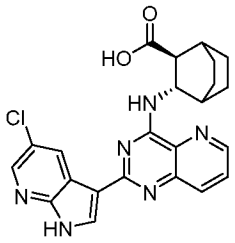
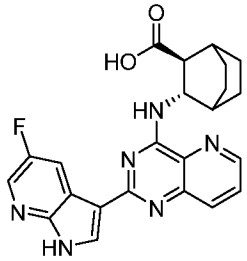
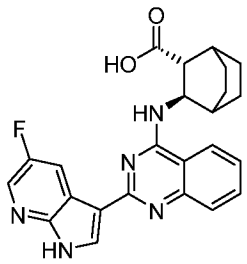
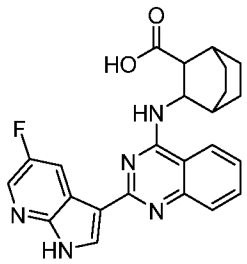
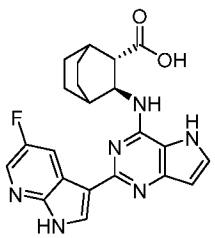
表 9　化合物 **7b-z、7aa-7az 及 7ba-bb** 的结构、^{1}H NMR 和 ESI-MS

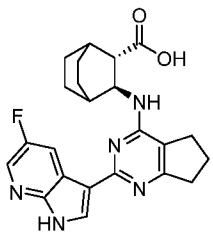
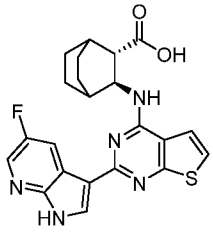
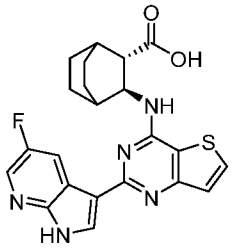
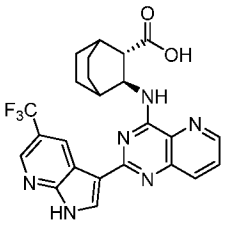
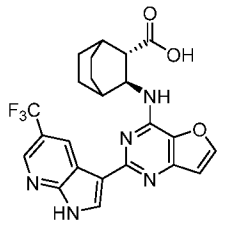
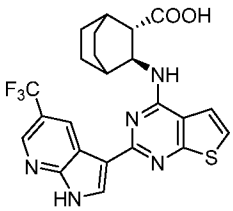
编号	结构	**^{1}H NMR 和 MS**

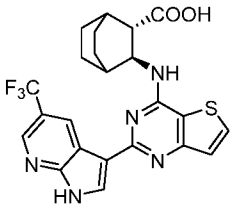
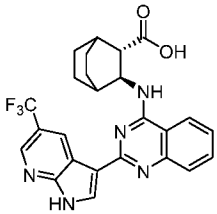
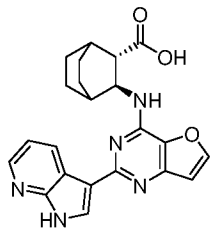
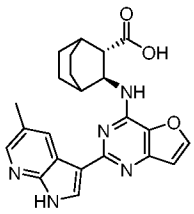
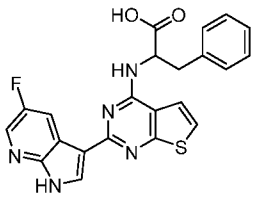
7b		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.70 (s, 2H), 8.84 (s, 2H), 8.62 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.82 – 4.66 (m, 1H), 2.80 – 2.60 (m, 2H), 1.87 – 1.60 (m, 2H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 384.6 [M-H]$^-$。
7c		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.30 (s, 1H), 12.09 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.29 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 4.84 – 4.63 (m, 1H), 2.74 – 2.57 (m, 2H), 2.12 – 1.96 (m, 1H), 0.99 (d, J = 6.8 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 398.7 [M-H]$^-$。
7d		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.88 (s, 1H), 12.21 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.15 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 5.14 – 4.94 (m, 1H), 2.82 (d, J = 15.0 Hz, 1H), 2.70 – 2.55 (m, 1H), 1.03 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 412.6 [M-H]$^-$。
7e		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.53 (s, 1H), 12.21 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.32 (s, 3H), 7.07 (s, 1H), 5.06 – 4.88 (m, 1H), 2.96 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 2.36 – 2.01 (m, 4H), 1.91 – 1.62 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 396.4 [M-H]$^-$。
7f		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.79 (s, 1H), 12.17 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.63 – 4.47 (m, 1H), 2.72 – 2.59 (m, 1H), 2.20 – 2.02 (m, 2H), 1.93– 1.73 (m, 2H), 1.69 – 1.39 (m, 2H), 1.37 – 1.21 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 410.7 [M-H]$^-$。
7g		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.15 (s, 1H), 12.02 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.40 – 8.09 (m, 3H), 7.69 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 4.97 (s, 1H), 2.77 – 2.62 (m, 1H), 2.61 – 2.55 (m, 1H), 0.99 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 396.7 [M-H]$^-$。

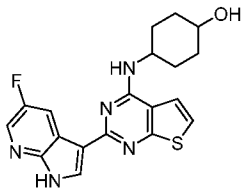
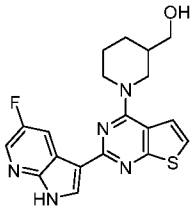
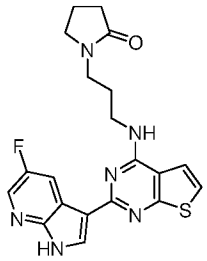
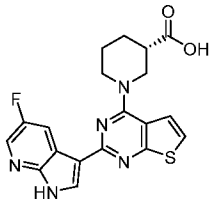
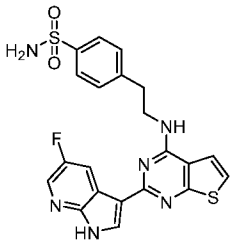
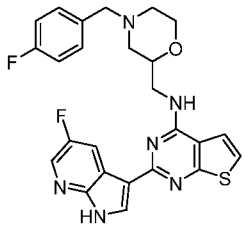
7h		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.09 (s, 1H), 11.99 (s, 1H), 10.97 (s, 1H), 9.06 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.37 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.03 – 4.93 (m, 1H), 2.78 (dd, J = 14.4, 3.2 Hz, 1H), 2.33 (dd, J = 14.4, 10.8 Hz, 1H), 1.03 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 411.6 [M-H]$^-$。
7i		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.71 (s, 1H), 12.13 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.68 (s, 2H), 8.38 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 5.19 – 5.04 (m, 1H), 2.80 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 2.71 – 2.58 (m, 1H), 1.03 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 428.6 [M-H]$^-$。
7j		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.70 (s, 1H), 9.00 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.37 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.87 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.13 – 5.04 (m, 1H), 2.81 (dd, J = 15.4, 2.0 Hz, 1H), 2.60 (dd, J = 15.4, 10.8 Hz,1H), 1.04 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 428.6 [M-H]$^-$。
7k		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.65 (s, 1H), 8.71 (dd, J = 9.8, 2.8 Hz, 2H), 8.57 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.87 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 5.12 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 2.88 – 2.78 (m, 1H), 2.65 – 2.54 (m, 1H), 1.02 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 412.5 [M-H]$^-$。
7l		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.24 (s, 1H), 8.97 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.24 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 4.54 – 4.39 (m, 1H), 2.77 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.71– 2.57 (m, 2H), 2.29 (dd, J = 14.8, 4.8 Hz, 1H), 2.13 (dd, J = 14.8, 5.2 Hz, 1H), 2.05 – 1.90 (m, 2H), 0.98 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 411.5 [M-H]$^-$。
7m		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.24 (s, 1H), 12.23 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 9.36（s, 1H）, 9.03 (s, 1H), 8.69 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.47 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.03 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.73 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 5.35 – 5.22 (m, 1H), 2.98 – 2.79 (m, 2H), 1.07 (s, 9H) ppm; ESI-MS

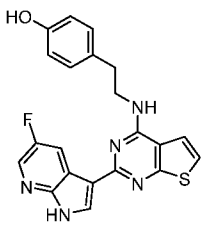
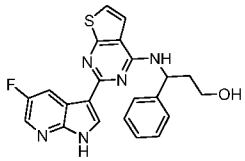
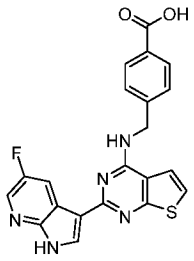
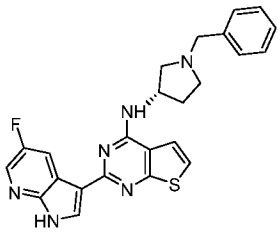
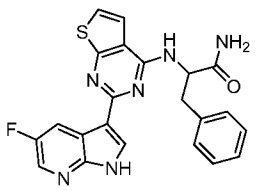
		m/z: 422.3 [M-H]$^-$。
7n		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.46 (s, 1H), 9.07 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.31 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.77 (dd, J = 8.4, 4.4 Hz, 1H), 4.92 – 4.80 (m, 1H), 2.69 – 2.56 (m, 2H), 1.04 (s, 9H) ppm; ESI-MS m/z: 423.9 [M-H]$^-$。
7o		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.88 (s, 2H), 9.41 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 5.08 –4.95 (m, 1H), 2.95 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 2.08 (s, 1H), 1.97 – 1.94 (m, 2H), 1.81 – 1.36 (m, 7H) ppm ; ESI-MS m/z: 436.8 [M-H]$^-$。
7p		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.29 (s, 1H), 12.15 (s, 1H), 8.65 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.22 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.21 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 4.86–4.74 (m, 1H), 2.85 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 2.02 (s, 2H), 1.93 – 1.70 (m, 3H), 1.69 – 1.31 (m, 5H) ppm ; ESI-MS m/z: 420.5 [M-H]$^-$。
7q		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.77 (s, 1H), 12.40 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.54 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.96 – 7.79 (m, 2H), 7.56 (s, 1H), 5.08 (s, 1H), 3.09 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 2.08 (d, J = 21.6 Hz, 2H), 2.03 – 1.91 (m, 1H), 1.91 – 1.78 (m, 2H), 1.75 – 1.34 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z: 446.8 [M-H]$^-$。
7r		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.75 (s, 1H), 12.41 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.66 (dd, J = 9.6, 2.4 Hz, 2H), 8.57 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.04 – 7.81 (m, 2H), 7.57 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 5.07 (s, 1H), 3.11 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 2.10 (d, J = 9.8 Hz, 2H), 1.85 (d, J = 7.9 Hz, 3H), 1.77 – 1.29 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z:430.1 [M-H]$^-$。

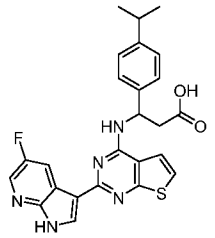
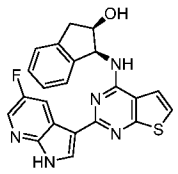
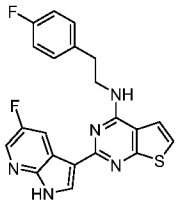
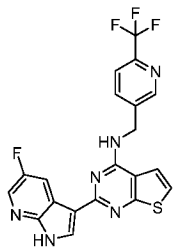
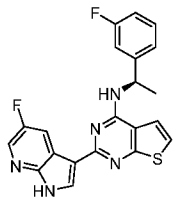
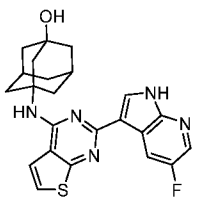
7s		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.54 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.65 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.75 (dd, *J* = 8.4, 4.2 Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 2.45 (s, 1H), 2.09 (d, *J* = 17.2 Hz, 2H), 2.02 – 1.87 (m, 1H), 1.74 (s, 2H), 1.64 – 1.16 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z:447.9 [M-H]$^-$。
7t		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.53 (s, 1H), 8.74 (dd, *J* = 9.6, 2.0 Hz, 1H), 8.65 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J* = 8.4, 4.0 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.93 (s, 1H), 2.47 (s, 1H), 2.09 (d, *J* = 14.8 Hz, 2H), 1.88 (s, 1H), 1.82 – 1.15 (m,7H) ppm; ESI-MS m/z:431.3 [M-H]$^-$。
7u		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.29 (s, 1H), 12.26 (s, 1H), 8.74 (dd, *J* = 9.8, 2.8 Hz, 1H), 8.35 (dd, *J* = 12.8, 5.4 Hz, 2H), 8.29 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.73 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 7.42 (ddd, *J* = 8.1, 5.2, 2.9 Hz, 1H), 4.89 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 2.96 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 2.07 (d, *J* = 10.6 Hz, 2H), 1.85 (d, *J* = 27.1 Hz, 3H), 1.72 – 1.29 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z:430.1 [M-H]$^-$。
7v		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.57 (s, 1H), 12.39 (s, 1H), 8.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.61 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.83 (s, 2H), 7.52 (s, 1H), 5.01 (s, 1H), 3.05 (s, 1H), 2.29 (s, 1H), 2.09 (s, 2H), 1.84 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.74 – 1.32 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z: 430.1[M-H]$^-$。
7w		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.96 (s, 1H), 8.72 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 21.6 Hz, 2H), 7.39 (s, 2H), 6.32 (s, 1H), 4.79 (s, 1H), 3.53 (s, 1H), 2.05 (d, *J* = 17.7 Hz, 2H), 1.84 (s, 2H), 1.61 (d, *J* = 35.2 Hz, 4H), 1.40 (d, *J* = 16.7 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 419.2 [M-H]$^-$。

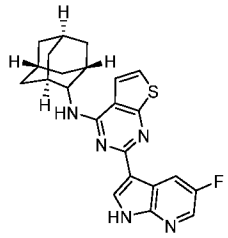
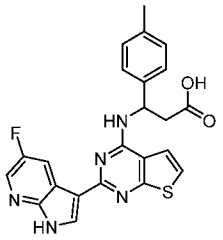
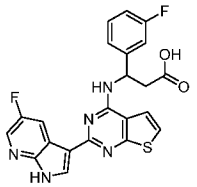
7x		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.13 (s, 1H), 8.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 19.4 Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 4.73 (s, 1H), 2.87 – 2.61 (m, 5H), 1.98 (d, *J* = 15.9 Hz, 3H), 1.84 (s, 1H), 1.75 (s, 2H), 1.60 (s, 2H), 1.55 – 1.28 (m, 3H), 1.23 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 420.2 [M-H]$^-$。
7y		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.31 (s, 1H), 8.63 (dd, *J* = 9.8, 2.7 Hz, 1H), 8.34 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.71 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.47 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.87 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 2.81 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 2.05 (s, 2H), 1.94 – 1.83 (m, 1H), 1.79 (s, 2H), 1.71 – 1.37 (m, 5H) ppm; ESI-MS m/z: 436.1 [M-H]$^-$。
7z		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.76 (s, 1H), 12.47 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.60 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.55 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 2.96 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 2.06 (d, *J* = 23.6 Hz, 2H), 1.94 – 1.75 (m, 3H), 1.76 – 1.62 (m, 1H), 1.56 (dd, *J* = 31.1, 20.4 Hz, 3H), 1.45 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 436.1 [M-H]$^-$。
7aa		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.71 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 8.72 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.80 (dd, *J* = 8.6, 4.0 Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 3.01 (s, 1H), 2.01 (d, *J* = 21.3 Hz, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.60 (s, 3H), 1.45 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 481.2 [M-H]$^-$。
7ab		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.56 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.27 (d, *J* = 51.6 Hz, 2H), 7.83 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 4.89 (s, 1H), 2.78 (s, 1H), 2.01 (s, 1H), 1.90 (s, 1H), 1.79 (s, 2H), 1.56 (s, 2H), 1.48 – 1.30 (m, 2H), 1.24 (s, 1H), 0.86 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 470.1 [M-H]$^-$。
7ac		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.65 (s, 1H), 12.32 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 2.79 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 2.05 (s,

		1H), 1.92 (s, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.59 (s, 3H), 1.48 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 1.39 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 486.1 $[M-H]^-$。
7ad		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.58 (s, 1H), 12.23 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.98 (s, 1H), 2.86 (s, 1H), 1.99 (dd, *J* = 24.9, 17.6 Hz, 3H), 1.79 (s, 3H), 1.58 (s, 2H), 1.46 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 486.1 $[M-H]^-$。
7ae		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.63 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.39 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.74 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.48 – 7.41 (m, 1H), 5.00 (s, 1H), 2.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.06 (s, 1H), 1.98 (s, 1H), 1.82 (s, 2H), 1.59 (d, *J* = 12.8 Hz, 3H), 1.51 – 1.38 (m, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 480.1 $[M-H]^-$。
7af		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.32 (s, 1H), 12.10 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.29 (s, 3H), 7.21 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 2.88 (s, 1H), 2.09 – 1.33 (m, 10H) ppm; ESI-MS m/z: 402.1 $[M-H]^-$。
7ag		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.23 (s, 1H), 11.80 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.00 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H), 1.81 (d, *J* = 16.7 Hz, 2H), 1.62 (s, 2H), 1.49 (d, *J* = 30.6 Hz, 2H), 1.39 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 416.2 $[M-H]^-$。
7ah		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.29 (s, 1H), 8.56 (dd, *J* = 9.7, 2.5 Hz, 1H), 8.34 – 8.24 (m, 2H), 8.15 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.25 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.95 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 3.27 – 3.19 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 432.1 $[M-H]^-$。

7ai		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.40 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 4.17 (s, 1H), 2.13 (s, 2H), 1.97 (s, 2H), 1.60 (s, 2H), 1.43 (s, 4H) ppm; ESI-MS m/z: 384.1 $[M+H]^+$。
7aj		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.51 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 47.1 Hz, 2H), 7.52 (dd, *J* = 30.7, 5.3 Hz, 2H), 4.65 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 3.45 (s, 1H), 3.40 – 3.33 (m, 1H), 3.27 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 3.11 – 3.00 (m, 1H), 1.82 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H), 1.61 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 1.34 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 1.23 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 384.1 $[M+H]^+$。
7ak		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.54 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 24.2 Hz, 2H), 7.91 (s, 1H), 7.50 (dd, *J* = 46.9, 5.6 Hz, 2H), 3.63 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.36 (s, 4H), 2.21 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.91 (d, *J* = 4.1 Hz, 4H) ppm; ESI-MS m/z: 411.1 $[M+H]^+$。
7al		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.34 (s, 1H), 8.53 (dd, *J* = 9.7, 2.6 Hz, 1H), 8.32 (d, *J* = 27.7 Hz, 2H), 7.55 (dd, *J* = 12.2, 6.1 Hz, 2H), 4.58 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 19.2, 9.2 Hz, 2H), 2.69 (d, *J* = 13.9 Hz, 2H), 2.08 – 1.95 (m, 2H), 1.89 – 1.76 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 396.1 $[M-H]^-$。
7am		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.40 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.52 – 7.43 (m, 3H), 7.24 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 3.86 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.11 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 469.1 $[M+H]^+$。
7an		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.55 (dd, *J* = 9.7, 2.5 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.30 – 7.22 (m, 2H), 7.04 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.76 – 3.60 (m, 4H), 2.92 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 2.57 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H), 2.09 (t, *J* = 10.0 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 493.2

		$[M+H]^+$。
7ao		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.72 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.78 (s, 2H), 2.91 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 406.1 $[M+H]^+$。
7ap		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.41 (dd, *J* = 9.8, 2.4 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.66 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 2.23 – 2.08 (m, 2H), 2.07 – 1.94 (m, 2H), 1.79 – 1.72 (m, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 420.1 $[M+H]^+$。
7aq		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 1H), 8.42 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.88 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 418.1 $[M-H]^-$。
7ar		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.51 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.37 – 7.27 (m, 4H), 7.22 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 4.82 (s, 1H), 3.65 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 3.05 – 2.97 (m, 1H), 2.74 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.56 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.38 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 445.1 $[M+H]^+$。
7as		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.53 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.71 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 5.7 Hz, 3H), 7.24 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H), 5.00 (s, 1H), 3.24 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 3.14 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 433.1 $[M+H]^+$。

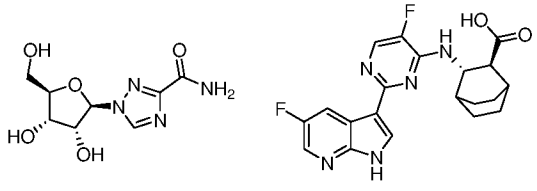
7at		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.26 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.47 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.31 – 8.21 (m, 2H), 7.70 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 13.1, 6.7 Hz, 3H), 7.16 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 5.90 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.92 (s, 1H), 2.85 – 2.73 (m, 2H), 1.13 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H) ppm; ESI-MS m/z: 474.1 $[M-H]^-$。
7au		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.52 (dd, *J* = 9.8, 2.7 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.23 (dt, *J* = 14.5, 7.0 Hz, 2H), 6.06 – 5.99 (m, 1H), 4.76 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 3.23 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.19 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 2.99 (s, 1H) ppm; ESI-MS m/z:416.1 $[M+H]^+$。
7av		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.56 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 33.0 Hz, 2H), 8.07 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.46 – 7.28 (m, 3H), 7.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.04 (s, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 408.1 $[M+H]^+$。
7aw		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.49 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.87 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.36 – 8.26 (m, 2H), 8.24 (s, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.99 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 445.1 $[M+H]^+$。
7ax		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.31 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.22 (s, 2H), 7.76 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 15.4 Hz, 3H), 7.02 (s, 1H), 5.67 – 5.57 (m, 1H), 1.62 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 408.1 $[M+H]^+$。
7ay		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.58 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 16.9 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 2.28 (s, 2H), 2.22 (s, 6H), 1.73 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H), 1.65 (s, 3H), 1.56 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H) ppm; ESI-MS m/z: 436.1

		$[M+H]^+$。
7az		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.49 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 4.58 (m, 1H), 2.27 (s, 2H), 2.21 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H), 2.03 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H), 1.95 (d, *J* = 12.3 Hz, 3H), 1.87 (s, 1H), 1.78 (s, 2H), 1.59 (d, *J* = 12.5 Hz, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 420.2 $[M+H]^+$。
7ba		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.36 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.57 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.30 – 8.27 (m, 2H), 7.70 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 5.76 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.86 – 2.73 (m, 2H), 2.25 (s, 3H) ppm; ESI-MS m/z: 446.1 $[M-H]^-$。
7bb		^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.26 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.31 – 8.21 (m, 2H), 7.56 (m, 3H), 7.16 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.90 (s, 1H), 5.89 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 2.91 (m, 2H) ppm; ESI-MS m/z: 450.1 $[M-H]^-$。

实施例 12：化合物的抗流感活性测试

实验采用测定流感病毒神经氨酸酶（NA）活性来检测病毒的复制水平。

实验材料：MUNANA（2'-(4-Methylumbellifery)-α-D-N-acetylneuraminic acid，2'-(4-甲基伞型酮)-α-D-N-乙酰神经氨酸）、MDCK 细胞（马丁狗肾细胞）、流感病毒 H1N1（A/PR/8/34）、利巴韦林（Ribavirin）均来源于武汉威立得生物医药有限公司。VX-787（(2S,3S)-3-((5-氟-2-(5-氟-1H-吡咯[2,3-b]吡啶-3-基)嘧啶-4-基)氨基)二环[2.2.2]辛烷-2-羧酸）来源于四川大学生物治疗国家重点实验室。



Ribavirin VX-787

实验原理：流感病毒 NA 是一种具有酶活性的表面糖蛋白，在病毒感染末期，能水解 HA-SA 糖苷键，切断病毒与宿主细胞的联系，对流感病毒的释放与传播有重要作用。MUNANA 是流感病毒 NA 的特异性荧光底物，在 NA 作用下产生的催化产物在激发光照射下，可以产生荧光，荧光强度的变化，可以灵敏反映 NA 活性与数量，间接反映流

感病毒增殖情况。

方法步骤：MDCK 细胞（马丁狗肾细胞）接种于 96 孔细胞培养板中，37℃培养过夜后备用。MDCK 细胞用 PBS 洗两遍后同时加入药物（本发化合物）及流感病毒 H1N1（A/PR/8/34），药物设置八个浓度，两个复孔。加药完毕后，置于 37℃细胞培养箱培养 24 h，显微镜下观察细胞病变（CPE），并取培养液上清进行神经氨酸酶活力检测。实验设置空白对照孔（正常 MDCK 细胞），病毒对照孔（病毒感染后未加药物），阳性药物对照孔（感染后加利巴韦林或者 VX-787）。

抑制率（%）=100 -（样品孔-空白对照）/（病毒对照-空白对照）*100%

最后用 Graphpad Prism 软件拟合得出半数有效浓度（EC_{50}）。

实施例 13：药物对 MDCK 细胞的毒性

采用了 alamarBlue®（Invitrogen）试剂盒检测药物对细胞的毒性作用。

实验原理：alamarBlue®是一种氧化还原指示剂，能根据代谢活性产生吸光度变化和荧光信号。alamarBlue®易溶于水，其氧化形式进入细胞后经线粒体酶还原产生可测量的荧光及颜色变化，用于细胞活性和细胞增殖的定量分析以及体外细胞毒性研究。这种测定是基于具有代谢活性的细胞将试剂转换成荧光和比色指示剂的能力，受损和无活性细胞具有较低的天然代谢活性，对应的信号较低。因此荧光信号强弱，可以反映细胞活性的高低。

方法步骤：MDCK 细胞接种于 96 孔细胞培养板中，细胞贴壁后加入含药培养基。药物终浓度为 100 μM、33.33 μM、11.11 μM、3.70 μM、1.23 μM、0.41 μM、0.14 μM、0.046 μM 共八个浓度，两个复孔。加药培养后，光镜下观察药物引起的细胞病变效应（CPE），加入 alamarBlue®，37℃孵育 2 h，荧光检测 alamarBlue®的还原情况，激发光 570 nm，发射光 595 nm。

细胞活性（%）=（样品孔-空白对照）/（细胞对照-空白对照）* 100%

最后用 Graphpad Prism 软件拟合得出细胞半数抑制浓度（CC_{50}）。

表 10 为测试化合物对流感病毒 H1N1（A/PR/8/34）的抑制活性以及细胞毒性，其中，A 表示< 100 nM，B 表示 100 nM ~ 500 nM，C 表示 500 nM ~ 1 μM，D 表示 1 μM ~ 10 μM，E 表示> 10 μM。

表 10 化合物对流感病毒 H1N1（A/PR/8/34）的抑制活性以及细胞毒性

化合物	H1N1（A/PR/8/34）CPE EC_{50}	MDCK CC_{50}
7a	D	E
7b	D	E
7c	B	E
7d	A	E
7e	C	E
7f	B	E

7g	B	E
7h	B	E
7i	A	D
7j	B	D
7k	A	E
7l	C	E
7m	B	E
7n	A	E
7o	A	E
7p	A	E
7q	A	E
7r	A	E
7s	A	E
7t	B	E
7u	D	E
7v	A	E
7w	B	E
7x	B	E
7y	A	E
7z	A	E
7aa	B	E
7ab	A	E
7ac	A	D
7ad	A	E
7ae	A	D
7af	A	E
7ag	A	E
7ah	E	E
7ai	C	E
7aj	C	E
7ak	C	E
7al	E	E
7am	E	E
7an	B	E

7ao	E	E
7ap	D	E
7aq	E	E
7ar	B	D
7as	D	E
7at	C	E
7au	E	E
7av	E	E
7aw	C	E
7ax	C	D
7ay	B	E
7az	B	E
7ba	C	E
7bb	C	E
利巴韦林	14.37 μM	>500 μM
VX-787	3 nM	>10 μM

由上表可知，该系列化合物对流感病毒 H1N1（A/PR/8/34）具有很好的抑制活性。EC_{50} 均明显优于阳性对照利巴韦林。大部分化合物与 VX-787 相比，EC_{50}、CC_{50} 处于相同数量级水平。

实施例 14：测定 $PB2_{318-483}$ 蛋白与小分子之间的 Kd 值

实验目的：检测化合物 **7j** 与 $PB2_{318-483}$ 蛋白的结合能力。选择等温滴定量热仪（ITC）测定小分子和蛋白的 Kd 值。

实验材料：$PB2_{318-483}$ 蛋白（流感 RNA 聚合酶 PB2 亚基的 318-483 肽段，即“帽子”结合域）来源于四川大学生物治疗国家重点实验室。

实验步骤：

1)利用过分子筛的磷酸盐缓冲液和 DMSO(二甲基亚砜)，配制不同浓度的 $PB2_{318-483}$ 蛋白溶液和小分子溶液。蛋白溶液的终浓度分别为 5μM、10μM、20μM、50μM，DMSO 含量为 1%。再根据蛋白和小分子浓度为 1:10 的比例配制小分子溶液。

2）取 350μL 蛋白溶液和 80μL 小分子溶液，13000rpm 离心 2min。将蛋白溶液缓慢的加到 ITC 的样品池内，防止产生气泡；将小分子溶液加入到滴定针内，开始滴定。设置滴定条件为 25℃；第一滴 0.5μL，2s，其余每滴 2μL，4s，共 20 滴；间隔 150 s。滴定完毕后，分析滴定结果。

实验结果：图 1 为化合物 **7j** 的 ITC 测试结果，得到 **7j** 与 $PB2_{318-483}$ 蛋白的 K_d 值为 0.87～1.6 μM，△H（焓变）为-14530±782.8 cal/mol，△S（熵变）为-21.5 cal/mol/deg，其中△H 反映小分子与蛋白的特异性结合能力，△S 反映溶剂效应以及化合物构象转变

等。由数据可知化合物 **7j** 能特异性结合 $PB2_{318-483}$ 蛋白，K_d 值处于微摩尔级水平。

实施例 15：化合物的药代动力学研究

实验目的：单次给予 SD 大鼠受试药物，于不同时间点采集血样，LC-MS/MS 测定给予受试物后大鼠血浆中受试物的浓度并计算相关参数。

实验材料：SPF级SD大鼠（雄性，6周，体重160-180g）来源于上海西普尔-必凯实验动物有限公司。受试药物最终配置浓度为1 mg/mL，溶媒为5% DMSO + 10% (乙醇：蓖麻油=1:1) + 85% saline。

实验步骤：

1）所有动物给药前禁食10-14小时，SD大鼠单次静脉注射和口服给予受试药物，给药后4小时恢复给食。

2）样品采集与处理：经颈静脉穿刺采血，每个样品采集约0.20 mL，肝素钠抗凝，采血时间点如下：静脉给药组采血时间：给药后2 min, 5 min, 15 min, 30 min，1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 72 h。口服给药组采血时间：给药后5 min,10 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h, 6 h, 48 h, 72 h。血液样本采集后置于冰上，离心分离血浆(离心条件：8000转/分钟，6分钟，2-8 ℃，收集的血浆分析前存放于－80 ℃。

3）药物代谢动力学分析：根据药物的血药浓度数据，使用药代动力学计算软件WinNonlin5.2非房室模型分别计算供试品的药代动力学参数。

实验结果：以**7z**为例，其药代动力学参数如表11所示。

表11　SD大鼠单次静脉注射或口服**7z**的主要药代动力学参数

参数 \ 给药途径	**iv-5mg/kg**	**po-10mg/kg**
$T_{1/2}$ / h	4.17±0.34	2.69±0.87
T_{max} / h	0.03±0.00	0.67±0.29
C_{max} / ng*mL^{-1}	102507.72±6086.12	11868.82±4805.00
$AUC_{(0-t)}$ / h*ng*mL	34584.48±12534.90	31204.58±16119.54
Cl / mL*h^{-1}*kg^{-1}	155.35±46.86	-
F / %	-	45.12±23.09

实施例 16：化合物对甲型流感病毒 A/FM/1/47 (H1N1) 感染小鼠的保护作用

实验材料：甲型流感病毒鼠肺适应株 A/FM/1/47 (H1N1)，接种鸡胚，收集尿囊液保存。ICR 小鼠，体重 18~22 g, 来源于扬州大学比较医学中心，许可证号：SCXK（苏）2012-0004。给药期间自由进食、饮水，每天 12 小时光照，12 小时黑暗，温度 22 ± 2℃，湿度 55-70 %。

实验方法：适应性饲养 3 天后，开始进行实验。除未感染对照组以外，其它各组小鼠用乙醚轻度麻醉，鼻腔内接种用生理盐水稀释的相当于 8 × LD_{50} 的流感病毒 A/FM/1/47 (H1N1)的鸡胚尿囊液 50 μL/只，阳性对照奥司他韦组小鼠于感染后 2 h 首次灌胃给药，给药剂量为 100 mg/kg，供试给药组于病毒感染 24 h 后以 40 mg/kg 首次灌胃

给药，以后每日 1 次，病毒对照组及未感染对照组同法口服生理盐水，每日 1 次，给药体积为 0.1 mL/10 g 体重。共 7 天。第 5 天，记录体重损失百分比。自感染之日起，连续 14 d，记录小鼠每日体重、死亡数、死亡时间，计算死亡保护率。

死亡保护率(%) = 病毒对照组死亡率(%) -实验组死亡率(%)。

实施例 17：药物对流感病毒 H1N1 感染导致的小鼠肺部炎症的缓解作用

实验方法：适应性饲养 3 天后，开始进行实验。除未感染对照组以外，其它各组小鼠用乙醚轻度麻醉，鼻腔内接种用生理盐水稀释的相当于 8 × LD_{50} 的流感病毒 A/FM/1/47 (H1N1)的鸡胚尿囊液 50 μL/只，阳性对照奥司他韦组小鼠于感染后 2 h 首次灌胃给药，给药剂量为 100 mg/kg，供试给药组于病毒感染 24 h 后以 40 mg/kg 首次灌胃给药，以后每日 1 次，病毒对照组及未感染对照组同法口服生理盐水，每日 1 次，给药体积为 0.1 mL/10 g 体重。共 5 天。第 6 天每组取 3 只小鼠称重，摘除眼球放血致死，取出全肺，称重，计算肺指数及肺指数抑制率。

肺指数 =小鼠肺重/小鼠体重 × 100

$$\text{肺指数抑制率}\ (\%) = \frac{\text{病毒对照组肺指数均数} - \text{给药组肺指数均数}}{\text{病毒对照组肺指数均数}} \times 100\,\%$$

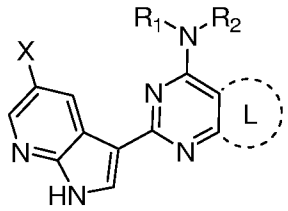
表 12 化合物 **7z** 对流感病毒感染小鼠体重、生存率及肺部炎症的影响

组别	存活率 (%)	失重百分比（%，第五天）	肺指数（第六天）	肺指数抑制率 (%，第六天)
正常对照组	100	-	0.57	-
模型对照组	0	30%	2.09	-
奥司他韦对照组 100 mg/kg/d	80	15%	1.46	41.64
化合物 **7z** 40 mg/kg/d	90	10%	1.16	60.99

实验结果：以 **7z** 为例，口服给药 40 mg/kg/d，小鼠存活率达到了 90 %；在第五天，病毒对照组小鼠平均重量损失 30%，化合物 **7z** 治疗组平均重量损失 10%；小鼠的肺指数为 1.16，与病毒对照组（2.09）相比有明显降低，肺指数抑制率达到了 60.99 %。因此化合物 **7z** 对流感病毒引起的死亡及肺部炎症有明显的保护和抑制作用，且效果优于奥司他韦对照组。

权利要求书

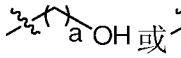
1、抗流感小分子化合物，其结构如式 I 所示：

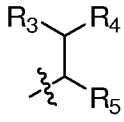
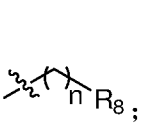


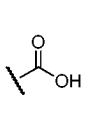
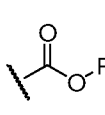
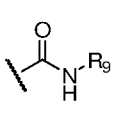
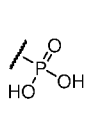
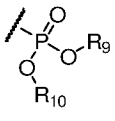
式 I

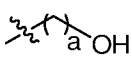
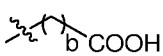
其中，X 为-H、卤素、氰基、-CF_3、C1～C4 烷氧基、C1～C4 烷基、氨基或 C1～C3 氨酰基；

L 为饱和或不饱和的 4～10 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C4～C10 环烷基；所述饱和或不饱和的 4～10 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；

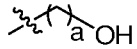
R_1 和 R_2 组合成取代或未取代的 5～8 元饱和杂环烷基，所述的杂原子为 N，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 5～8 元饱和杂环烷基的取代基为-H、-NH_2、卤素、-CF_3、氰基、C1～C4 烷基、  或 ；a、b 为 0～4；

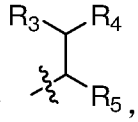
或者 R_1 为-H 或 C1～C10 烷基；R_2 为  、 或  ； n 为 0～4；

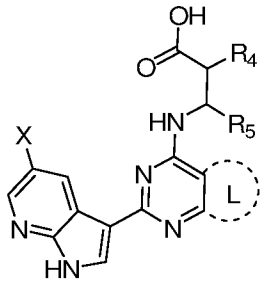
R_4、R_5 独立的为-H 或 C1～C10 烷基；或者 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C10 环烷基、C5～C10 的桥环烷基、C5～C10 的稠环烷基、5～10 元饱和杂环烷基、5～10 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～10 元饱和杂环烷基、5～10 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；R_3 为  、  、  、  、  或 ，R_9 为 C1～C5 烷基，R_{10} 为氢或 C1～C5 烷基；

R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C10 芳基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代 C5～C10 芳基或苄基的取代基为 C1～C6 烷基、C1～C6 烷氧基、卤素、-CF_3 或氰基；a、b 为 0～4；

R_8 为取代或未取代的 C5～C10 环烷基、取代或未取代的 5～10 元饱和或不饱和杂环、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环或取代或未取代的 C5～C15 的桥环烷基；所述 5～10 元饱和或不饱和杂环的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～

3 个；所述取代 C5～C10 环烷基的取代基为-H、  、卤素、C1～C4 烷基或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环的取代基为-H、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$、卤素、C1～C4 烷基或-COOH；所述取代 5～10 元饱和或不饱和杂环的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、-OH、$-CF_3$、C1～C4 烷基、C1～C4 羰基、-COOH 或$-NH_2$；所述取代 C5～C15 的桥环烷基的取代基为-H、-OH、-COOH、C1~C4 烷基或$-NH_2$；a 为 0～4。

2、根据权利要求 1 所述的抗流感小分子化合物，当 R_1 为 H，R_2 为  ，R_3 为 时，其结构如式Ⅱ所示：



式Ⅱ

其中，X 为卤素或 C1～C4 烷基；L 为饱和或不饱和的 5～8 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～8 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；

R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C8 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基、5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1~3。

3、根据权利要求 2 所述的抗流感小分子化合物，其特征在于：

X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1~3 个；R_4、R_5 独立地为-H 或 C1～C4 烷基；或 R_4 和 R_5 组合形成环，所述的环为 C5～C8 环烷基、C5～C8 的桥环烷基、C5～C8 的稠环烷基、5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基或 5～10 元螺环杂环烷基；所述 5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元桥环杂环烷基、5～10 元螺环杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述杂原子的个数为 1～3；

再进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和

或不饱和的C5～C6环烷基；所述5～6元杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述的杂原子为1～3个；R_4、R_5独立地为-H或C1～C4烷基；或R_4和R_5组合形成环，所述的环为C5～C8环烷基、C5～C8的桥环烷基、C5～C8的稠环烷基或5~8元饱和杂环烷基；所述5～8元饱和杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述杂原子的个数为1～3；

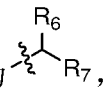
更进一步优选的，X为卤素；L为饱和或不饱和的5～6元杂环烷基、饱和或不饱和的C5～C6环烷基；所述5～6元杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述的杂原子为1～2个；R_4、R_5独立地为-H或C1～C4烷基；或R_4和R_5组合形成环，所述的环为C5～C8环烷基、C5～C8的桥环烷基、C5～C8的稠环烷基或5～8元饱和杂环烷基；所述5～8元饱和杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述杂原子的个数为1～3；

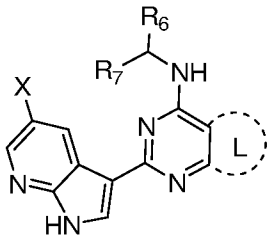
优选的，X为卤素；L为不饱和的5～6元杂环烷基、饱和或不饱和的C5～C6环烷基；所述5～6元杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述的杂原子为1～2个；R_4、R_5独立地为-H或C1～C4烷基；或R_4和R_5组合形成环，所述的环为C5～C8环烷基、C5～C8的桥环烷基、C5～C8的稠环烷基或5～8元饱和杂环烷基；所述5～8元饱和杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述杂原子的个数为1～2；

进一步优选的，X为卤素；L为不饱和的5～6元杂环烷基、饱和或不饱和的C5～C6环烷基；所述5～6元杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述的杂原子为1～2个；R_4、R_5独立地为-H或C1～C4烷基；或R_4和R_5组合形成环，所述的环为C5～C8环烷基、C5～C8的桥环烷基或C5～C8的稠环烷基；

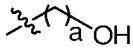
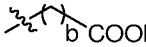
更进一步优选的，X为卤素；L为不饱和的5～6元杂环烷基、饱和或不饱和的C5～C6环烷基；所述5～6元杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述的杂原子为1～2个；R_4、R_5独立地为-H或C1～C4烷基；或R_4和R_5组合形成环，所述的环为C5～C8环烷基或C5～C8的桥环烷基；

最优的，X为卤素；L为不饱和的5～6元杂环烷基、饱和或不饱和的C5～C6环烷基；所述5～6元杂环烷基的杂原子为N、O或S，所述的杂原子为1个；R_4、R_5独立地为-H或C1～C4烷基；或R_1和R_2组合形成环，所述的环为C5～C6环烷基或C5～C8的桥环烷基。

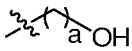
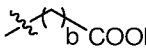
4、根据权利要求1所述的抗流感小分子化合物，其特征在于：当R_1为H，R_2为  ，时，其结构如式III所示：

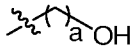
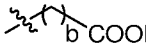


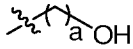
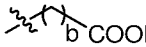
式III

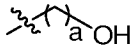
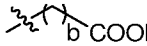
其中，X 为卤素或 C1～C4 烷基；L 为饱和或不饱和的 5～8 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～8 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C8 芳基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代 C5～C8 芳基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、卤素、-CF_3 或氰基；a、b 为 0～3。

5、根据权利要求 4 所述的抗流感小分子化合物，其特征在于：

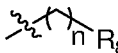
X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的 C5～C6 芳基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代 C5～C6 芳基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、卤素、-CF_3 或氰基；a、b 为 0～2；

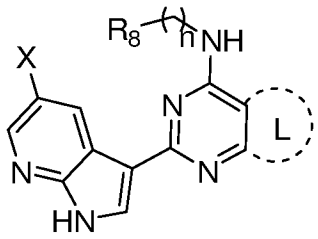
再进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代苯基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基或卤素；a、b 为 0～2；

更进一步优选的，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代苯基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、-F、-Cl 或-Br；a、b 为 0～2；

最优的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1 个；R_6、R_7 独立的为 C1～C4 烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的苄基、  、  或-$CONH_2$；所述取代苯基或苄基的取代基为 C1～C4 烷基、-F、-Cl 或-Br；a、b 为 0～2。

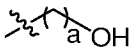
6、根据权利要求 1 所述的抗流感小分子化合物，其特征在于：当 R_1 为 H，

R_2 为  时，其结构如式Ⅳ所示：



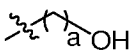
式Ⅳ

其中，n 为 0～4，X 为卤素或 C1～C4 烷基；L 为饱和或不饱和的 5～8 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～8 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；

R_8 为取代或未取代的 C5～C8 环烷基、取代或未取代的 5～8 元芳杂基、取代或未取代的 5～8 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～8 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的 C5～C10 芳基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～8 元饱和或不饱和杂环烷基、5～8 元芳杂基的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～3 个；所述取代 C5～C8 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～8 元芳杂基、5～8 元饱和杂环烷基、5～8 元不饱和杂环烷基的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、$-CF_3$ 或 C1～C4 羰基；所述取代 C5～C10 芳基的取代基为卤素、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、卤素、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH，a 为 0～3。

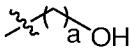
7、根据权利要求 6 所述的抗流感小分子化合物，其特征在于：

n 为 0～4，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C8 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～3 个；

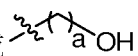
R_8 为取代或未取代的 C5～C6 环烷基、取代或未取代的 5～6 元芳杂基、取代或未取代的 5～6 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～6 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的 C5～C8 芳基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～6 元饱和或不饱和杂环烷基、5～6 元芳杂基的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 C5～C6 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～6 元芳杂基、5～6 元饱和杂环烷基、5～6 元不饱和杂环烷基的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、$-CF_3$ 或 C1～C3 羰基；所述取代 C5～C8 芳基的取代基为卤素、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、$-CF_3$ 或-COOH；

所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH；a 为 0～3；

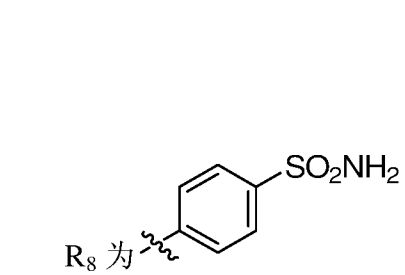
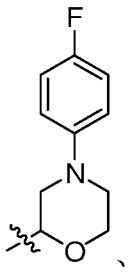
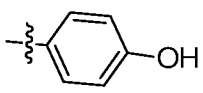
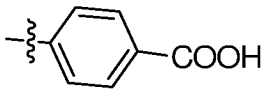
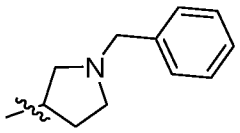
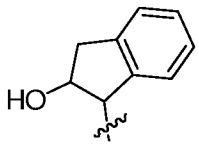
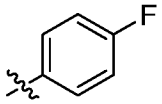
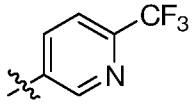
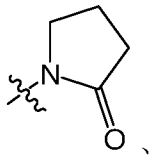
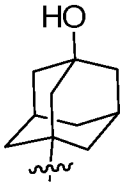
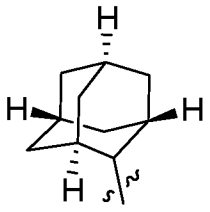
优选的，n 为 0～3，X 为卤素；L 为饱和或不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；

R_8 为取代或未取代的 C5～C6 环烷基、取代或未取代的 5～6 元芳杂基、取代或未取代的 5～6 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～6 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的 C5～C6 芳基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～6 元饱和或不饱和杂环烷基、5～6 元芳杂基的杂原子为 N、O、S，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 C5～C6 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～6 元芳杂基、5～6 元饱和杂环烷基、5～6 元不饱和杂环烷基的取代基为卤素取代的苄基、卤素、苯基、苄基、$-CF_3$ 或 C1～C3 羰基；所述取代 C5～C6 芳基的取代基为卤素、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH；a 为 0～3；

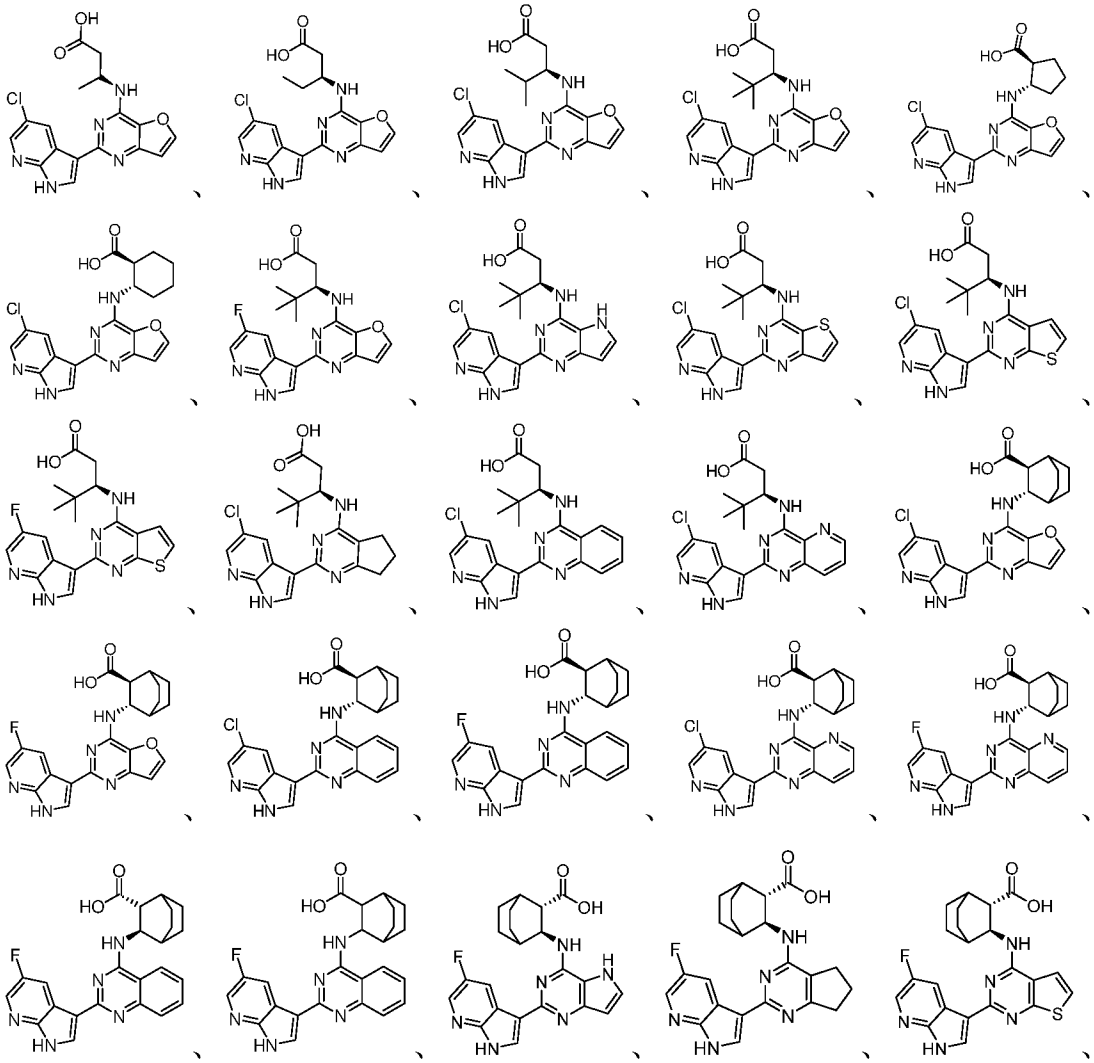
进一步优选的，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1～2 个；

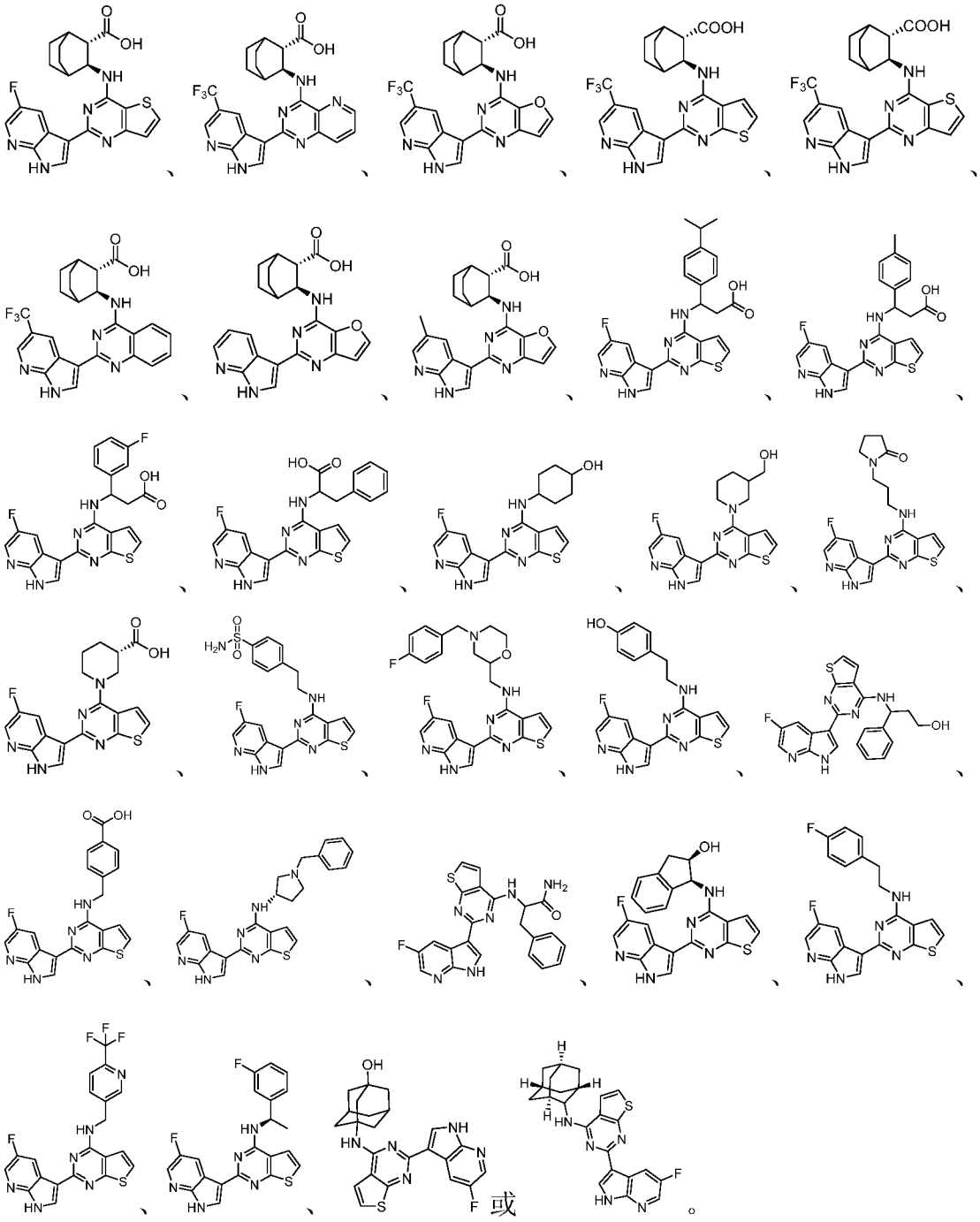
R_8 为取代或未取代的 C5～C6 环烷基、取代或未取代的 5～6 元芳杂基、取代或未取代的 5～6 元饱和杂环烷基、取代或未取代的 5～6 元不饱和杂环烷基、取代或未取代的苯基、取代或未取代的 C5～C10 不饱和环烷基或取代或未取代的 C5～C12 的桥环烷基；所述 5～6 元饱和或不饱和杂环烷基、5～6 元芳杂基的杂原子为 N、O，杂原子个数为 1～2 个；所述取代 C5～C6 环烷基的取代基为-H 或  ；所述取代 5～6 元芳杂基、5～6 元饱和杂环烷基、5～6 元不饱和杂环烷基的取代基为氟取代的苄基、-F、-Cl、-Br、苯基、苄基、$-CF_3$ 或 C1～C2 羰基；所述取代苯基的取代基为-F、-Cl、-Br、-OH、$-SO_2NH_2$、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C10 不饱和环烷基的取代基为-OH、$-CF_3$ 或-COOH；所述取代 C5～C12 的桥环烷基的取代基为-H、-OH 或-COOH；a 为 0～2；

最优的，n 为 0～3，X 为卤素；L 为不饱和的 5～6 元杂环烷基、饱和或不饱和的 C5～C6 环烷基；所述 5～6 元杂环烷基的杂原子为 N、O 或 S，所述的杂原子为 1 个；

R_8 为  、  、  、  、  、  、  、  、  、  或  。

8、根据权利要求 1 所述的抗流感小分子化合物，其特征在于：其结构式为：





或。

9、权利要求 1～8 任一项所述抗流感小分子化合物药学上可接受的盐。

10、权利要求 1～8 任一项所述抗流感小分子化合物药学上可接受的水合物。

11、药物组合物，这种药物组合物是由权利要求 1～8 任一项所述抗流感小分子化合物、权利要求 9 所述的盐或权利要求 10 所述的水合物添加药学上可以接受的辅助性成分制备而成的。

12、权利要求 1～8 任一项所述抗流感小分子化合物、权利要求 9 所述的盐、权利要求 10 所述的水合物或权利要求 11 所述的药物组合物在制备抗流感药物中的用途。

13、权利要求 1～8 任一项所述抗流感小分子化合物、权利要求 9 所述的盐、权利要求 10 所述的水合物或权利要求 11 所述的药物组合物在制备口服或静脉注射制剂中的用途。

5

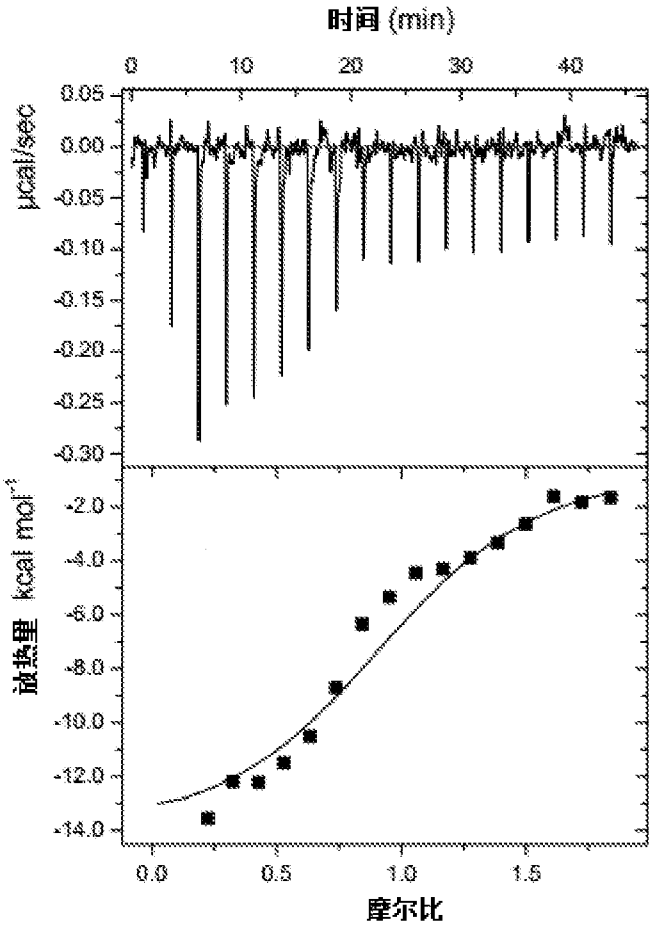

时间 (min)
0
10
20
30
40
0.05
0.00
-0.05
-0.10
-0.15
-0.20
-0.25
-0.30
µcal/sec
-2.0
-4.0
-6.0
-8.0
-10.0
-12.0
-14.0
放热量 kcal mol-1
0.0
0.5
1.0
1.5
摩尔比

图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/084301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 519/00 (2006.01) i; C07D 471/04 (2006.01) i; A61K 31/519 (2006.01) i; A61K 31/517 (2006.01) i; A61P 31/16 (2006.01) i
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY, CAPLUS, MARPAT, CNABS, DWPI, CNKI: a search has been carried out according to a structure of formula I, pyrrolopyridine, flu, pyrrolo[2, 3-b]pyridin+, pyrrolo, pyridin+, pyrimidin+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005095400 A1 (VERTEX PHARMA), 13 October 2005 (13.10.2005), description, page 280, compound 404 and page 318, paragraphs [0146]-[0148]	1, 4-5, 11, 13
A	WO 2005095400 A1 (VERTEX PHARMA), 13 October 2005 (13.10.2005), description, page 280, compound 404 and page 318, paragraphs [0146]-[0148]	2-3, 6-10, 12
A	WO 2007084557 A2 (VERTEX PHARMA), 26 July 2007 (26.07.2007), description, embodiments	1-13
A	WO 2010148197 A1 (VERTEX PHARMA), 23 December 2010 (23.12.2010), description, embodiments	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03 August 2017 (03.08.2017)	**23 August 2017 (23.08.2017)**
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer **ZHAO, Zhenzhen** Telephone No.: (86-10) **62086358**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/084301

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2005095400 A1	13 October 2005	JP 5566992 B2	06 August 2014
		US 8722889 B2	13 May 2014
		CN 101676285 A	24 March 2010
		AU 2005228904 B2	10 May 2012
		AU 2012203384 A8	02 August 2012
		AR 079749 A2	15 February 2012
		PT 2332940 E	30 January 2013
		US 2012258958 A1	11 October 2012
		JP 2007531760 A	08 November 2007
		CY 1111716 T1	07 October 2015
		JP 2012046548 A	08 March 2012
		MX PA06011327 A	15 December 2006
		US 2009176763 A1	09 July 2009
		EP 2786995 A1	08 October 2014
		JP 4937112 B2	23 May 2012
		HK 1098471 A1	09 April 2010
		IL 177807 D0	31 December 2006
		EP 2332940 B1	31 October 2012
		EP 1730146 A1	13 December 2006
		NO 20160876 A	24 October 2006
		RU 2403252 C2	10 November 2010
		NZ 584499 A	26 August 2011
		BR PI0509369 A	11 September 2007
		TW I465437 B	21 December 2014
		HK 1142882 A1	18 July 2014
		KR 101216372 B1	04 January 2013
		NZ 549880 A	30 April 2010
		AU 2012203382 A1	28 June 2012
		DE 602005027825 D1	16 June 2011
		CA 2560454 C	21 May 2013
		NO 340403 B1	10 April 2017
		AU 2005228904 A1	13 October 2005
		CA 2560454 A1	13 October 2005
		US 8188281 B2	29 May 2012
		KR 20120126121 A	20 November 2012
		DK 1730146 T3	15 August 2011
		EP 2311837 A1	20 April 2011
		IL 216734 D0	31 January 2012
		AR 048454 A1	26 April 2006
		JP 2013249315 A	12 December 2013
		US 8987454 B2	24 March 2015
		TW I471133 B	01 February 2015
		US 7507826 B2	24 March 2009
		SI 1730146 T1	30 September 2011
		AU 2012203384 A1	28 June 2012
		CN 103554104 A	05 February 2014
		ES 2398712 T3	21 March 2013
		RU 2010119561 A	20 November 2011
		HR P20110566 T1	30 September 2011
WO 2007084557 A2	26 July 2007	RU 2011151085 A	20 June 2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/084301

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		EP 2537849 A2	26 December 2012
		US 2016008359 A1	14 January 2016
		TW 201302747 A	16 January 2013
		US 2014336171 A1	13 November 2014
		BR PI0706537 A2	29 March 2011
		KR 20080085174 A	23 September 2008
		CN 102532134 A	04 July 2012
		TW 201412738 A	01 April 2014
		WO 2007084557 A3	27 September 2007
		KR 101235103 B1	21 February 2013
		JP 2013010793 A	17 January 2013
		EP 1973911 B1	13 January 2016
		TW I405761 B	21 August 2013
		JP 2009525962 A	16 July 2009
		NZ 601687 A	28 March 2014
		NO 20083501 A	14 October 2008
		HK 1210780 A1	06 May 2016
		US 8450489 B2	28 May 2013
		NO 20083501 B	14 October 2008
		RU 2453548 C2	20 June 2012
		JP 5728454 B2	03 June 2015
		AU 2007207533 B2	31 May 2012
		TW 201302746 A	16 January 2013
		KR 101409727 B1	20 June 2014
		TW I423976 B	21 January 2014
		TW I424999 B	01 February 2014
		JP 2014210823 A	13 November 2014
		US 2010311743 A1	09 December 2010
		US 2013237516 A1	12 September 2013
		CA 2636189 A1	26 July 2007
		AR 060316 A1	11 June 2008
		EP 2559694 A2	20 February 2013
		CN 104650077 A	27 May 2015
		JP 5591471 B2	17 September 2014
		TW 200806664 A	01 February 2008
		KR 20130041313 A	24 April 2013
		CN 102532133 A	04 July 2012
		NZ 592968 A	31 August 2012
		EP 2559694 A3	03 April 2013
		AU 2007207533 A1	26 July 2007
		US 8822681 B2	02 September 2014
		US 2012165307 A1	28 June 2012
		NZ 569899 A	30 June 2011
		EP 1973911 A2	01 October 2008
		ZA 200805053 B	24 November 2010
		JP 2013010792 A	17 January 2013
		US 9120790 B2	01 September 2015
		US 7767816 B2	03 August 2010
WO 2010148197 A1	23 December 2010	JP 2016204390 A	08 December 2016
		CA 2764177 A1	23 December 2010

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/084301

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		SI 2442809 T1	31 January 2017
		AU 2010262905 A1	12 January 2012
		AR 077130 A1	03 August 2011
		IL 216980 D0	29 February 2012
		SG 176722 A1	30 January 2012
		DK 2442809 T3	19 December 2016
		JP 2015034177 A	19 February 2015
		NZ 619259 A	31 July 2015
		JP 2012530713 A	06 December 2012
		US 2012171245 A1	05 July 2012
		RS 55341 B1	31 March 2017
		TW 201103935 A	01 February 2011
		HR P20161577 T1	27 January 2017
		US 9345708 B2	24 May 2016
		ZA 201109127 B	29 July 2015
		US 8829007 B2	09 September 2014
		PT 2442809 T	06 December 2016
		EA 201270032 A1	30 July 2012
		EP 2442809 B1	31 August 2016
		KR 20120097471 A	04 September 2012
		KR 20170015551 A	08 February 2017
		US 2014142119 A1	22 May 2014
		CN 104151312 B	15 June 2016
		HU E031048 T2	28 June 2017
		PL 2442809 T3	28 February 2017
		EA 201500871 A1	30 November 2016
		US 9518056 B2	13 December 2016
		MX 2011013475 A	14 March 2012
		EC SP12011610 A	29 February 2012
		NZ 597059 A	31 January 2014
		US 2016152614 A1	02 June 2016
		CN 104151312 A	19 November 2014
		HK 1169326 A1	20 May 2016
		LT 2442809 T	12 December 2016
		US 2017100400 A1	13 April 2017
		GE P20156325 B	10 July 2015
		SG 10201405826R A	30 December 2014
		HK 1215530 A1	02 September 2016
		JP 2015038146 A	26 February 2015
		AP 3631 A	08 March 2016
		US 2014296201 A1	02 October 2014
		EA 025276 B1	30 December 2016
		HK 1204322 A1	13 November 2015
		SG 10201405827P A	27 November 2014
		CY 1118246 T1	28 June 2017
		TW I574963 B	21 March 2017
		CN 104940202 A	30 September 2015
		EA 201500266 A1	30 October 2015

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2017/084301

A. 主题的分类

C07D 519/00(2006.01)i; C07D 471/04(2006.01)i; A61K 31/519(2006.01)i; A61K 31/517(2006.01)i; A61P 31/16(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07D

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用）)

REGISTRY，CAPLUS，MARPAT，CNABS，DWPI，CNKI依据式I的结构进行了检索，流感，吡咯并[2,3-d]吡啶，吡咯并吡啶，嘧啶，flu，pyrrolo[2,3-b]pyridin+，pyrrolo，pyridin+，pyrimidin+

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 2005095400 A1 (VERTEX PHARMA) 2005年 10月 13日 (2005-10-13) 说明书第280页化合物404，第318页[00146]-[00148]段	1，4-5，11，13
A	WO 2005095400 A1 (VERTEX PHARMA) 2005年 10月 13日 (2005-10-13) 说明书第280页化合物404，第318页[00146]-[00148]段	2-3，6-10，12
A	WO 2007084557 A2 (VERTEX PHARMA) 2007年 7月 26日 (2007-07-26) 说明书实施例	1-13
A	WO 2010148197 A1 (VERTEX PHARMA) 2010年 12月 23日 (2010-12-23) 说明书实施例	1-13

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2017年 8月 3日	2017年 8月 23日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 赵贞贞 电话号码 (86-10)62086358

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2017/084301

检索报告引用的专利文件			公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
WO	2005095400	A1	2005年 10月 13日	JP	5566992	B2	2014年 8月 6日
				US	8722889	B2	2014年 5月 13日
				CN	101676285	A	2010年 3月 24日
				AU	2005228904	B2	2012年 5月 10日
				AU	2012203384	A8	2012年 8月 2日
				AR	079749	A2	2012年 2月 15日
				PT	2332940	E	2013年 1月 30日
				US	2012258958	A1	2012年 10月 11日
				JP	2007531760	A	2007年 11月 8日
				CY	1111716	T1	2015年 10月 7日
				JP	2012046548	A	2012年 3月 8日
				MX	PA06011327	A	2006年 12月 15日
				US	2009176763	A1	2009年 7月 9日
				EP	2786995	A1	2014年 10月 8日
				JP	4937112	B2	2012年 5月 23日
				HK	1098471	A1	2010年 4月 9日
				IL	177807	D0	2006年 12月 31日
				EP	2332940	B1	2012年 10月 31日
				EP	1730146	A1	2006年 12月 13日
				NO	20160876	A	2006年 10月 24日
				RU	2403252	C2	2010年 11月 10日
				NZ	584499	A	2011年 8月 26日
				BR	PI0509369	A	2007年 9月 11日
				TW	I465437	B	2014年 12月 21日
				HK	1142882	A1	2014年 7月 18日
				KR	101216372	B1	2013年 1月 4日
				NZ	549880	A	2010年 4月 30日
				AU	2012203382	A1	2012年 6月 28日
				DE	602005027825	D1	2011年 6月 16日
				CA	2560454	C	2013年 5月 21日
				NO	340403	B1	2017年 4月 10日
				AU	2005228904	A1	2005年 10月 13日
				CA	2560454	A1	2005年 10月 13日
				US	8188281	B2	2012年 5月 29日
				KR	20120126121	A	2012年 11月 20日
				DK	1730146	T3	2011年 8月 15日
				EP	2311837	A1	2011年 4月 20日
				IL	216734	D0	2012年 1月 31日
				AR	048454	A1	2006年 4月 26日
				JP	2013249315	A	2013年 12月 12日
				US	8987454	B2	2015年 3月 24日
				TW	I471133	B	2015年 2月 1日
				US	7507826	B2	2009年 3月 24日
				SI	1730146	T1	2011年 9月 30日
				AU	2012203384	A1	2012年 6月 28日
				CN	103554104	A	2014年 2月 5日
				ES	2398712	T3	2013年 3月 21日
				RU	2010119561	A	2011年 11月 20日
				HR	P20110566	T1	2011年 9月 30日
WO	2007084557	A2	2007年 7月 26日	RU	2011151085	A	2013年 6月 20日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2017/084301

检索报告引用的专利文件	公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
		EP	2537849	A2	2012年 12月 26日
		US	2016008359	A1	2016年 1月 14日
		TW	201302747	A	2013年 1月 16日
		US	2014336171	A1	2014年 11月 13日
		BR	PI0706537	A2	2011年 3月 29日
		KR	20080085174	A	2008年 9月 23日
		CN	102532134	A	2012年 7月 4日
		TW	201412738	A	2014年 4月 1日
		WO	2007084557	A3	2007年 9月 27日
		KR	101235103	B1	2013年 2月 21日
		JP	2013010793	A	2013年 1月 17日
		EP	1973911	B1	2016年 1月 13日
		TW	I405761	B	2013年 8月 21日
		JP	2009525962	A	2009年 7月 16日
		NZ	601687	A	2014年 3月 28日
		NO	20083501	A	2008年 10月 14日
		HK	1210780	A1	2016年 5月 6日
		US	8450489	B2	2013年 5月 28日
		NO	20083501	B	2008年 10月 14日
		RU	2453548	C2	2012年 6月 20日
		JP	5728454	B2	2015年 6月 3日
		AU	2007207533	B2	2012年 5月 31日
		TW	201302746	A	2013年 1月 16日
		KR	101409727	B1	2014年 6月 20日
		TW	I423976	B	2014年 1月 21日
		TW	I424999	B	2014年 2月 1日
		JP	2014210823	A	2014年 11月 13日
		US	2010311743	A1	2010年 12月 9日
		US	2013237516	A1	2013年 9月 12日
		CA	2636189	A1	2007年 7月 26日
		AR	060316	A1	2008年 6月 11日
		EP	2559694	A2	2013年 2月 20日
		CN	104650077	A	2015年 5月 27日
		JP	5591471	B2	2014年 9月 17日
		TW	200806664	A	2008年 2月 1日
		KR	20130041313	A	2013年 4月 24日
		CN	102532133	A	2012年 7月 4日
		NZ	592968	A	2012年 8月 31日
		EP	2559694	A3	2013年 4月 3日
		AU	2007207533	A1	2007年 7月 26日
		US	8822681	B2	2014年 9月 2日
		US	2012165307	A1	2012年 6月 28日
		NZ	569899	A	2011年 6月 30日
		EP	1973911	A2	2008年 10月 1日
		ZA	200805053	B	2010年 11月 24日
		JP	2013010792	A	2013年 1月 17日
		US	9120790	B2	2015年 9月 1日
		US	7767816	B2	2010年 8月 3日
WO 2010148197 A1	2010年 12月 23日	JP	2016204390	A	2016年 12月 8日
		CA	2764177	A1	2010年 12月 23日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2017/084301

检索报告引用的专利文件	公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
		SI	2442809	T1	2017年 1月 31日
		AU	2010262905	A1	2012年 1月 12日
		AR	077130	A1	2011年 8月 3日
		IL	216980	D0	2012年 2月 29日
		SG	176722	A1	2012年 1月 30日
		DK	2442809	T3	2016年 12月 19日
		JP	2015034177	A	2015年 2月 19日
		NZ	619259	A	2015年 7月 31日
		JP	2012530713	A	2012年 12月 6日
		US	2012171245	A1	2012年 7月 5日
		RS	55341	B1	2017年 3月 31日
		TW	201103935	A	2011年 2月 1日
		HR	P20161577	T1	2017年 1月 27日
		US	9345708	B2	2016年 5月 24日
		ZA	201109127	B	2015年 7月 29日
		US	8829007	B2	2014年 9月 9日
		PT	2442809	T	2016年 12月 6日
		EA	201270032	A1	2012年 7月 30日
		EP	2442809	B1	2016年 8月 31日
		KR	20120097471	A	2012年 9月 4日
		KR	20170015551	A	2017年 2月 8日
		US	2014142119	A1	2014年 5月 22日
		CN	104151312	B	2016年 6月 15日
		HU	E031048	T2	2017年 6月 28日
		PL	2442809	T3	2017年 2月 28日
		EA	201500871	A1	2016年 11月 30日
		US	9518056	B2	2016年 12月 13日
		MX	2011013475	A	2012年 3月 14日
		EC	SP12011610	A	2012年 2月 29日
		NZ	597059	A	2014年 1月 31日
		US	2016152614	A1	2016年 6月 2日
		CN	104151312	A	2014年 11月 19日
		HK	1169326	A1	2016年 5月 20日
		LT	2442809	T	2016年 12月 12日
		US	2017100400	A1	2017年 4月 13日
		GE	P20156325	B	2015年 7月 10日
		SG	10201405826R	A	2014年 12月 30日
		HK	1215530	A1	2016年 9月 2日
		JP	2015038146	A	2015年 2月 26日
		AP	3631	A	2016年 3月 8日
		US	2014296201	A1	2014年 10月 2日
		EA	025276	B1	2016年 12月 30日
		HK	1204322	A1	2015年 11月 13日
		SG	10201405827P	A	2014年 11月 27日
		CY	1118246	T1	2017年 6月 28日
		TW	I574963	B	2017年 3月 21日
		CN	104940202	A	2015年 9月 30日
		EA	201500266	A1	2015年 10月 30日