(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108137641 B
(45)授权公告日 2022.04.01

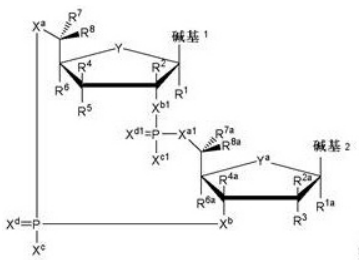
(21)申请号 201680059485.9
(22)申请日 2016.08.11
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108137641 A
(43)申请公布日 2018.06.08
(30)优先权数据
62/204677 2015.08.13 US
62/268723 2015.12.17 US
62/356125 2016.06.29 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.04.11
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/046444 2016.08.11
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/027646 EN 2017.02.16
(73)专利权人 默沙东公司
地址 美国新泽西州
(72)发明人 M.D.阿特曼 B.安德烈森 W.张 M.L.奇尔德斯 J.N.卡明 A.M.海德尔 T.J.亨德森 J.P.朱厄尔 梁睿 林钟元 刘洪 卢旻 A.B.诺尔思拉普 R.D.奥特 T.休 B.W.特罗特 Q.T.张 S.P.沃尔什 赵卡克
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 温宏艳 万雪松
(51)Int.Cl.
C07H 21/00(2006.01)
A61K 31/7084(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
(56)对比文件
WO 2014/189805 A1,2014.11.27
WO 2014/189806 A1,2014.11.27 (续)
审查员 刘露
权利要求书6页 说明书324页
序列表11页

(54)发明名称

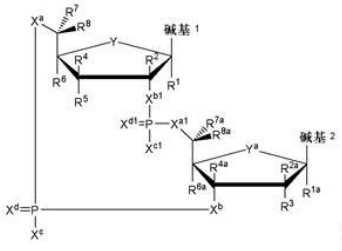
作为sting激动剂的环状双核苷酸化合物

(57)摘要

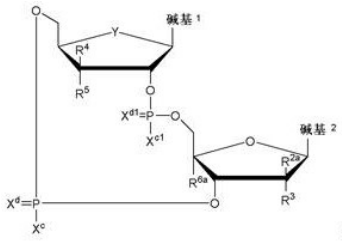
提供了一类通式(I)、通式(I')或通式(I")的多环化合物,其中碱基^1、碱基^2、Y、Y^a、X^a、X^{a1}、X^b、X^{b1}、X^c、X^{c1}、X^d、X^{d1}、R^1、R^{1a}、R^2、R^{2a}、R^3、R^4、R^{4a}、R^5、R^6、R^{6a}、R^7、R^{7a}、R^8和R^{8a}定义于本文中,所述化合物可用作I型干扰素产生的诱导剂,特别是可用作为STING活性剂。还提供了用于合成化合物的方法和化合物的用途。



(I)



(I')



(I")

CN 108137641 B

[转续页]

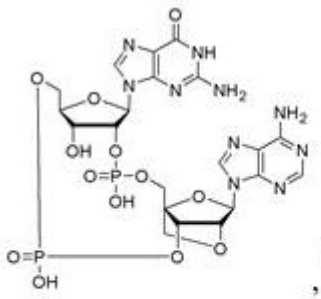
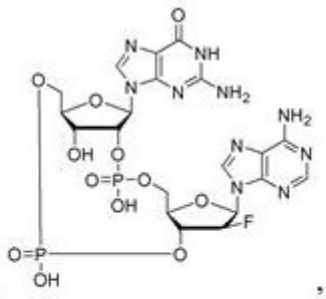
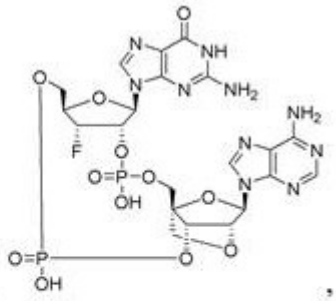
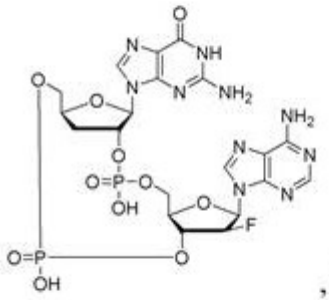
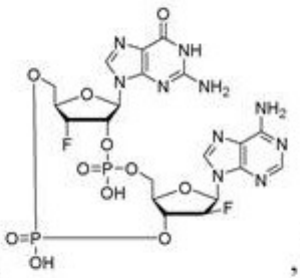
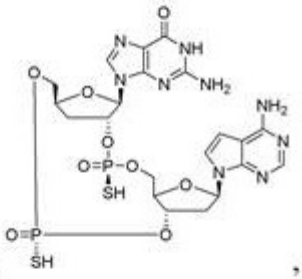
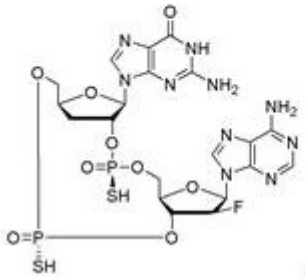
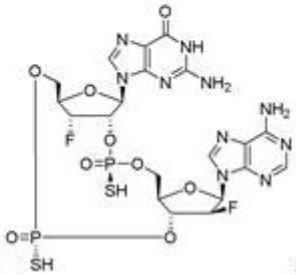
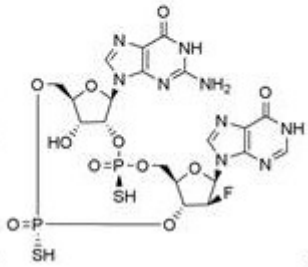
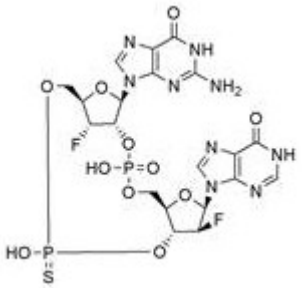
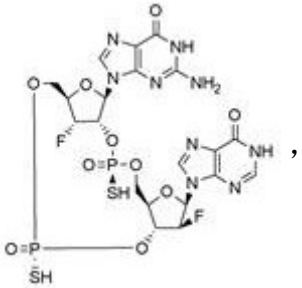
[接上页]

(56)对比文件

WO 2014/179335 A1,2014.11.06

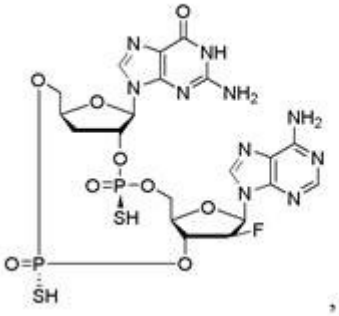
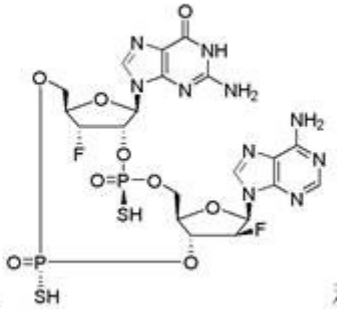
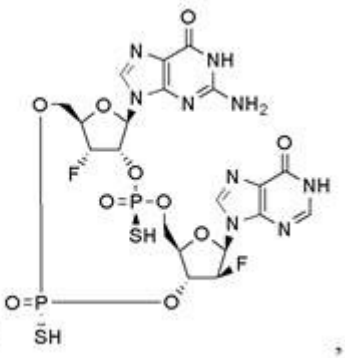
Zhang, X et al..Cyclic GMP-AMP Containing Mixed Phosphodiester Linkages Is An Endogenous High-Affinity Ligand for STING.《Molecular Cell》.2013,第51卷(第2期),第226-235页.

1.选自以下的化合物：


，

，

，

，

，

，

，

，

，

和

，

及其药学上可接受的盐。

2.根据权利要求1所述的化合物，所述化合物选自：


，

和

，

及其药学上可接受的盐。

3.药物组合物,所述药物组合物包含:

(a) 根据权利要求1所述的化合物或其药学上可接受的盐;和

(b) 药学上可接受的载体。

4.根据权利要求1所述的化合物在制备用于诱导受试者中的免疫反应的药物中的用途。

5.根据权利要求3所述的药物组合物在制备用于诱导受试者中的免疫反应的药物中的用途。

6.根据权利要求1所述的化合物在制备用于诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的药物中的用途。

7.根据权利要求3所述的药物组合物在制备用于诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的药物中的用途。

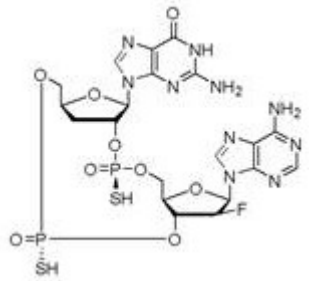
8.根据权利要求1所述的化合物在制备用于治疗受试者中的细胞增殖病症的药物中的用途。

9.权利要求8的用途,其中所述细胞增殖病症是癌症。

10.根据权利要求3所述的药物组合物在制备用于治疗受试者中的细胞增殖病症的药物中的用途。

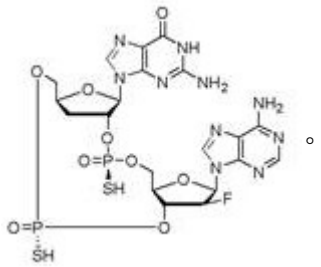
11.权利要求10的用途,其中所述细胞增殖病症是癌症。

12.根据权利要求1所述的化合物,所述化合物选自:



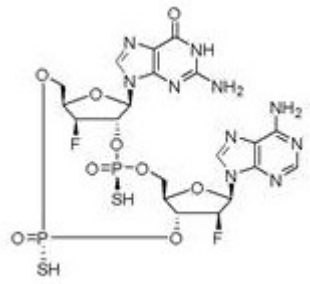
及其药学上可接受的盐。

13.根据权利要求12所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



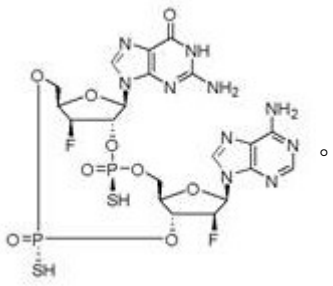
。

14.化合物,所述化合物选自:



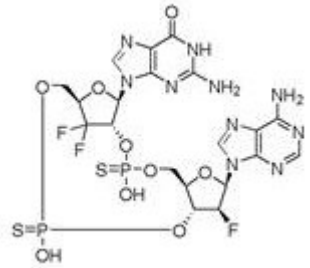
及其药学上可接受的盐。

15.根据权利要求14所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



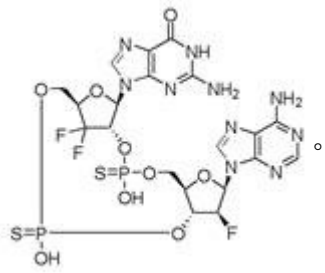
。

16.化合物,所述化合物选自:



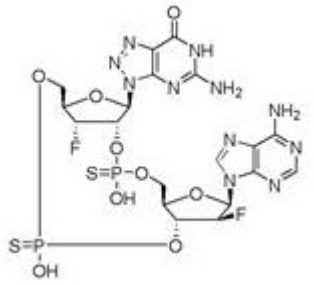
及其药学上可接受的盐。

17.根据权利要求16所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



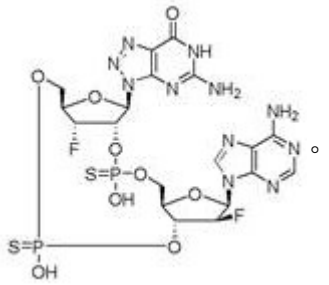
。

18.化合物,所述化合物选自:



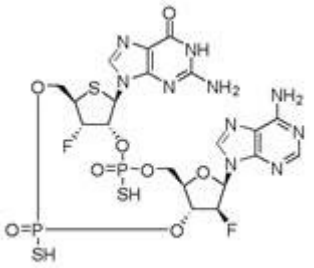
及其药学上可接受的盐。

19.根据权利要求18所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



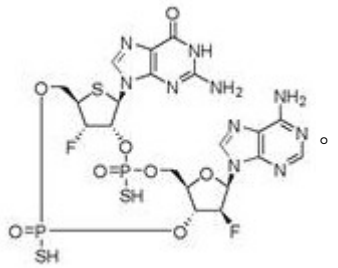
。

20.化合物,所述化合物选自:



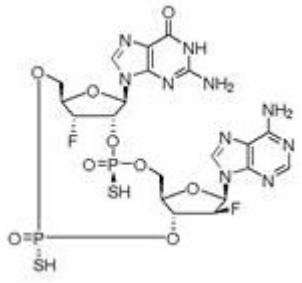
及其药学上可接受的盐。

21.根据权利要求20所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



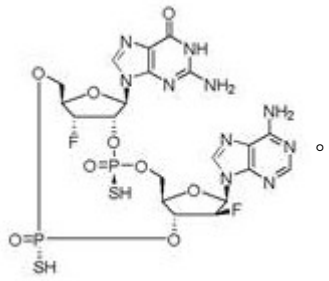
。

22.根据权利要求1所述的化合物,所述化合物选自:



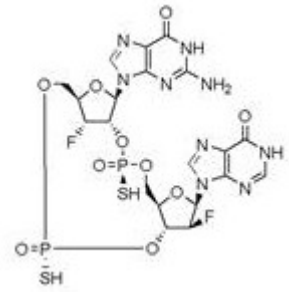
及其药学上可接受的盐。

23.根据权利要求22所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



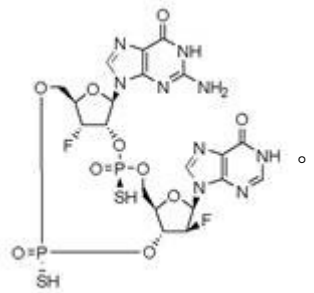
。

24.根据权利要求1所述的化合物,所述化合物选自:



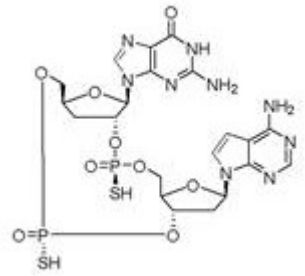
及其药学上可接受的盐。

25.根据权利要求24所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



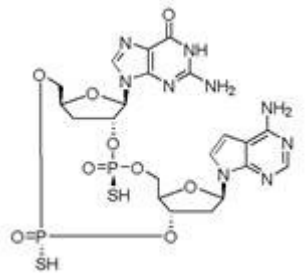
。

26.根据权利要求1所述的化合物,所述化合物选自:



及其药学上可接受的盐。

27.根据权利要求26所述的化合物,其中所述化合物是以下化合物的药学上可接受的盐:



。

作为sting激动剂的环状双核苷酸化合物

发明领域

[0001] 本公开涉及可用作为活化STING途径的STING(干扰素基因的刺激物(Stimulator of Interferon Genes))激动剂的环状双核苷酸化合物和其衍生物。本公开还涉及用于合成此类环状双核苷酸化合物的方法和其用途。

[0002] 发明背景

[0003] 免疫系统已进化为识别且中和不同类型的威胁以维持宿主的内稳态,且其通常分成以下两组:适应性和先天性。适应性免疫系统专门识别并非天然表达于宿主中的外来抗原且通过许多白细胞子集的协调作用来确立抗-抗原反应。适应性免疫反应的标志是其针对所遇到的抗原提供"记忆"或持久免疫性的能力。尽管该特定和持久效应对于宿主健康和存活至关重要,但适应性免疫反应需要一定时间来生成成熟反应。

[0004] 先天性免疫系统补偿该时间延迟且专门针对不同损伤或危险信号快速作用。其提供针对细菌、病毒、寄生虫和其它感染性威胁的第一道防线,但其也对某些与细胞或组织损害相关的危险信号强烈反应。先天性免疫系统不具有抗原特异性,但的确对各种效应物机制反应。补体系统的调理作用、吞噬作用、活化和可溶性生物活性分子(诸如细胞因子或趋化因子)的产生是先天性免疫系统介导其反应的所有机制。通过对上述这些损害相关分子模式(DAMP)或病原体相关分子模式(PAMP)反应,先天性免疫系统能够针对宽范围的对宿主的威胁提供广泛保护。

[0005] 游离胞质DNA和RNA在这些PAMP和DAMP内。最近已证明,用于胞质DNA的主要传感器是cGAS(环状GMP-AMP合成酶)。在识别胞质DNA后,cGAS催化环状双核苷酸2'-3' cGAMP(强烈结合ER-跨膜衔接蛋白STING的非典型第二信使)的生成。cGAMP结合的STING经历构象变化,其易位至核周隔室且诱导关键转录因子IRF-3和NF-κB的活化。这导致I型干扰素的强烈诱导和促炎性细胞因子(诸如IL-6、TNF-α和IFN-γ)的产生。

[0006] 已非常充分地确定I型干扰素和促炎性细胞因子对免疫系统的各种细胞的重要性。具体而言,这些分子通过增强树突细胞和巨噬细胞将抗原摄取、处理、呈递且交叉呈递至T细胞的能力来强烈强化T细胞活化。通过上调关键共刺激分子(诸如CD80或CD86)来增大这些抗原呈递细胞的T细胞刺激能力。最终,I型干扰素可快速接合其同源受体且触发干扰素反应基因的活化,其可显著有助于适应性免疫细胞活化。

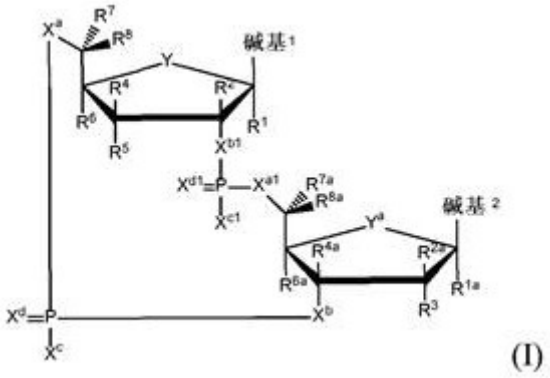
[0007] 从治疗观点来看,已显示,I型干扰素通过直接抑制人类乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒复制且通过刺激对病毒感染细胞的免疫反应而具有抗病毒活性。将可诱导I型干扰素产生的化合物用于疫苗中,其中其充当佐剂,通过减小剂量且扩大免疫反应来增强对抗原的特异性免疫反应且使副效应最小化。

[0008] 另外,干扰素和可诱导干扰素产生的化合物具有治疗人类癌症的潜在用途。此类分子可能用作为具有多条活性途径的抗癌剂。干扰素可直接抑制人类肿瘤细胞增殖且可与各种批准的化学治疗剂协同作用。I型干扰素可通过诱导适应性和先天性免疫细胞两者的活化来显著增强抗肿瘤免疫反应。最后,干扰素可通过调节与组织再建模相关的酶表达来抑制肿瘤侵袭。

[0009] 鉴于I型干扰素和I型干扰素诱导的化合物作为抗病毒剂和抗癌剂的潜力，仍需要可诱导有效I型干扰素产生的新药剂。随着越来越多的数据证明cGAS-STING胞质DNA传感途径具有诱导I型干扰素的显著能力，STING活化剂的开发在当前抗肿瘤疗法领域中正快速占据重要位置。

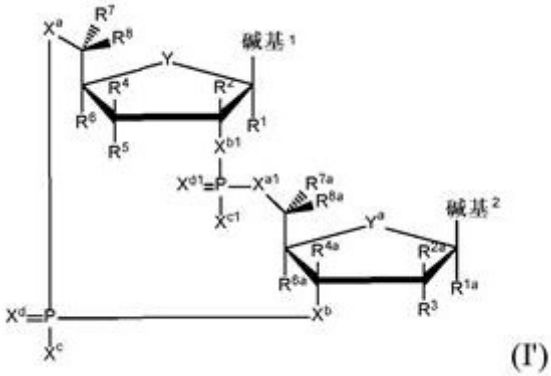
[0010] 发明概述

[0011] 本公开涉及通式(I)、通式(I')和/或通式(I″)的新型环状双核苷酸化合物。具体而言，本公开涉及具有一般结构式(I)的化合物：

[0012] 

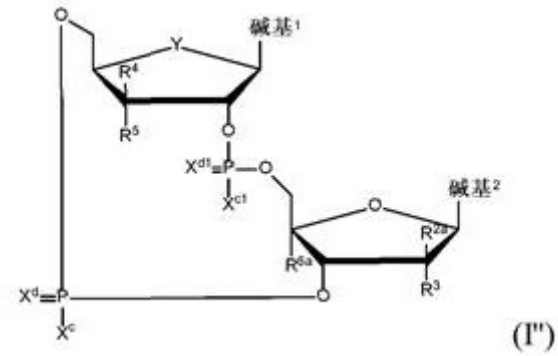
(I)

[0013] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，如本文所述。本公开还涉及具有一般结构式(I')的化合物：

[0014] 

(I')

[0015] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，如本文所述。本公开还涉及具有一般结构式(I'')的化合物：

[0016] 

(I'')

[0017] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，如本文所述。

[0018] 本公开的实施方案包括通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I'')的化合物和其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药以及通式(I)的化合物、通式(I')

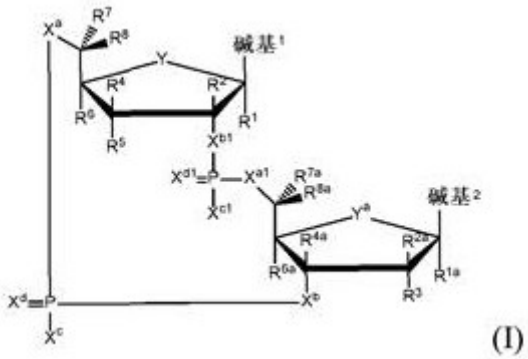
的化合物和/或通式(I'')的化合物和其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药的合成和分离。还公开了通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I'')的化合物的用途。

[0019] 本公开的其它实施方案、方面和特征将在随后的描述、实施例和所附权利要求书中进一步描述或将从随后的描述、实施例和所附权利要求书中是显而易见的。

[0020] 发明详述

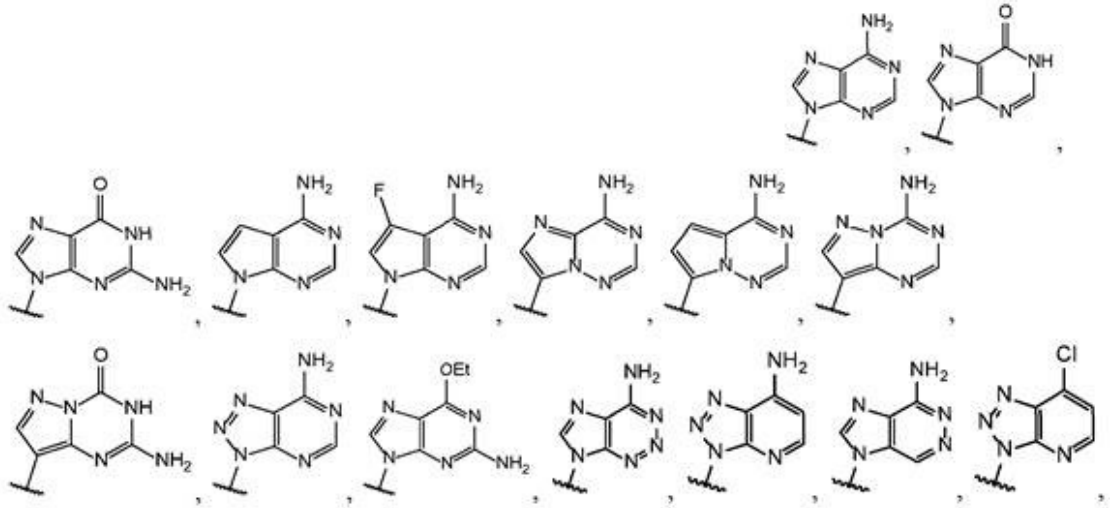
[0021] 本公开包括上述通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I'')的化合物和其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。这些化合物和其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物和/或前药可用作为诱导干扰素产生的药剂。

[0022] 本公开的第一个实施方案涉及通式(I)的环状双核苷酸化合物：

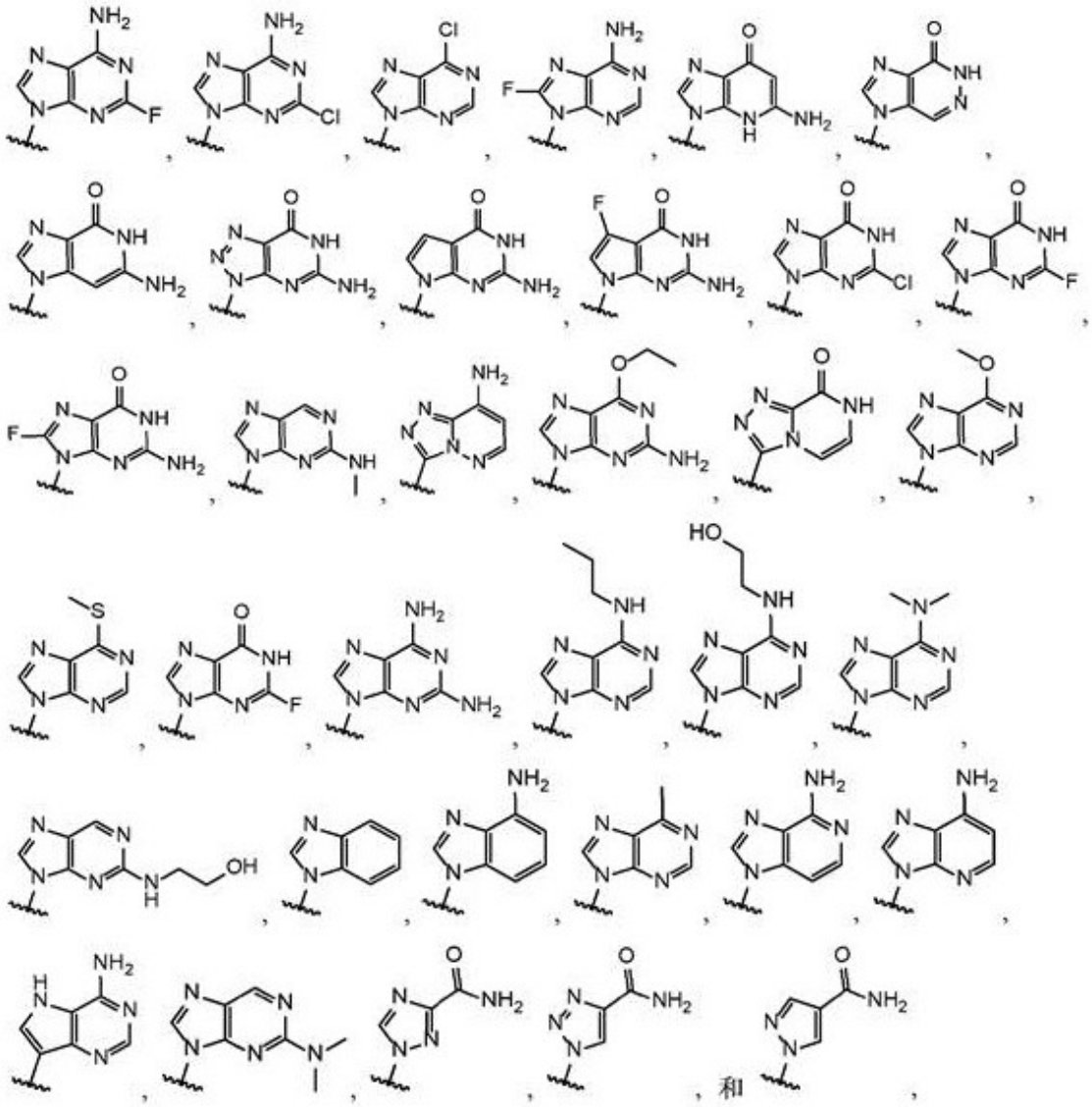
[0023] 

(I)

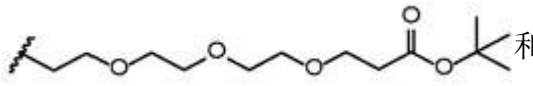
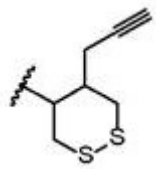
[0024] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

[0025] 

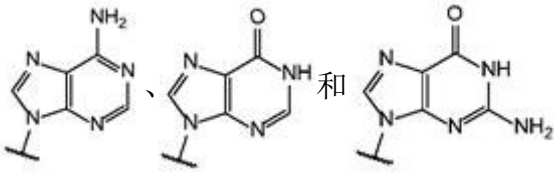
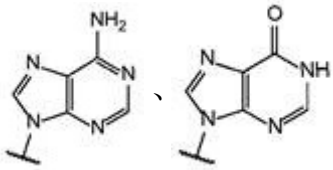
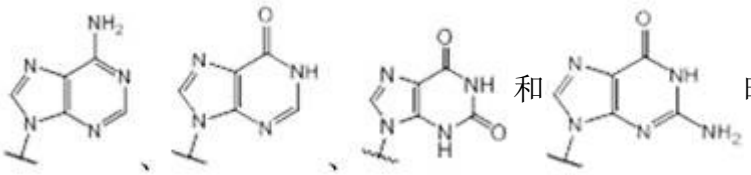
[0026]

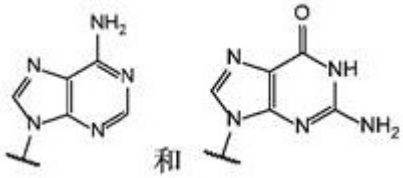


[0027] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；Y和Y^a各自独立地选自：-O-、-S-、$-SO_2-$、$-CH_2-$和$-CF_2-$；X^a和X^{a1}各自独立地选自：O、C和S；X^b和X^{b1}各自独立地选自：O、C和S；X^c和X^{c1}各自独立地选自：O^-、S^-、OR^9和NR^9R^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自：O和S；R^1和R^{1a}各自独立地选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^1和R^{1a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^2和R^{2a}各自独立地选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^2和R^{2a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^3选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6

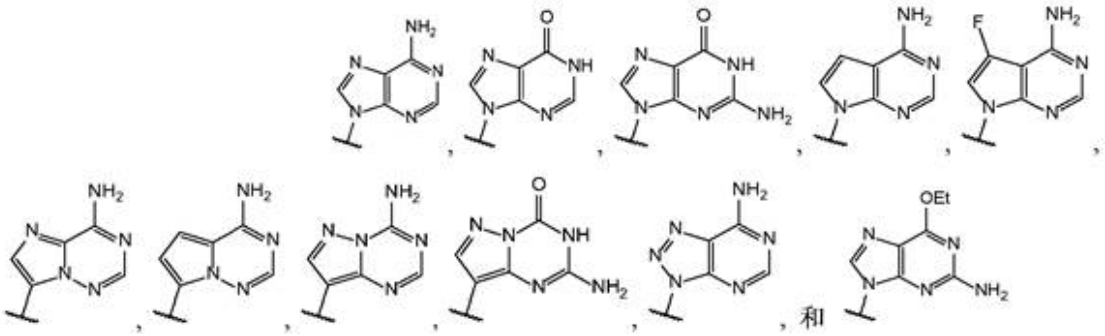
炔基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^4和R^{4a}各自独立地选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^4和R^{4a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^5选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^6和R^{6a}各自独立地选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^6和R^{6a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^7和R^{7a}各自独立地选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^7和R^{7a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^8和R^{8a}各自独立地选自：H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^8和R^{8a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；每个R^9独立地选自：H、C_1-C_{20}烷基、  和  ，其中每个R^9 C_1-C_{20}烷基任选地被0至3个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；任选地R^{1a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^{1a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合；任选地R^{2a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^{2a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合；任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合；任选地R^4和R^5连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合；任选地R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^5和R^6连接以形成-

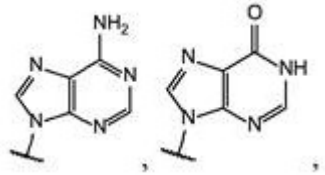
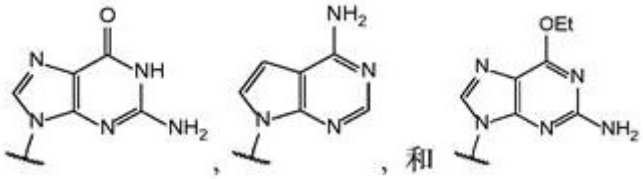
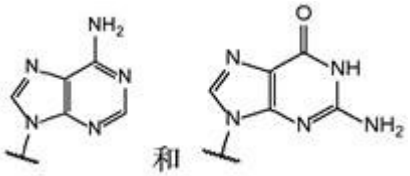
O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合；任选地R^7和R^8连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基；且任选地R^{7a}和R^{8a}连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基。

[0028] 在该实施方案的具体方面中，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH或SH，X^d和X^{d1}各自为O，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自  时，R^5和R^3并不都选自H、F和OH。也就是说，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH或SH，X^d和X^{d1}各自为O，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自  时，R^5和R^3中仅一个选自H、F和OH，或R^5和R^3无一选自H、F和OH。在该方面的进一步具体实例中，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH，X^d和X^{d1}各自为O或S，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自  时，R^5和R^3并不都选自H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基，其中所述C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH。

[0029] 在该实施方案的进一步具体方面，当碱基[1]和碱基[2]各自选自  和 ，且R^{2a}是F且R^5是F时，X^c和X^{c1}中的至少一个是SR^9。

[0030] 在第一个实施方案的第一个方面，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

[0031] 

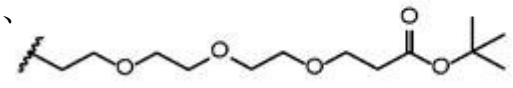
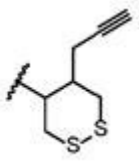
[0032] ，其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$。在具体实例中，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：  ，  ，其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$。在甚至更具体实例中，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：  ，其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中所提供。

[0033] 在第一个实施方案的第二个方面，Y和Y^a各自独立地选自-O-和-S-。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个方面中所提供。

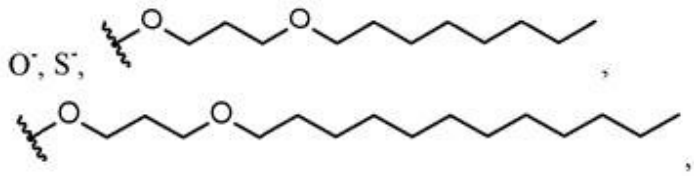
[0034] 在第一个实施方案的第三个方面，X^a和X^{a1}各自独立地选自O和S。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第二个方面中所提供。

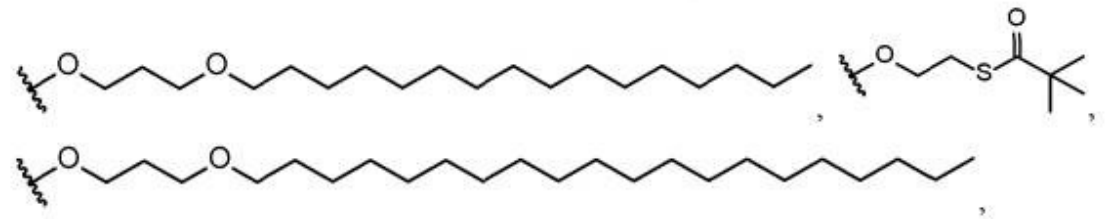
[0035] 在第一个实施方案的第四个方面，X^b和X^{b1}各自独立地选自O和S。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第三个方面中所提供。

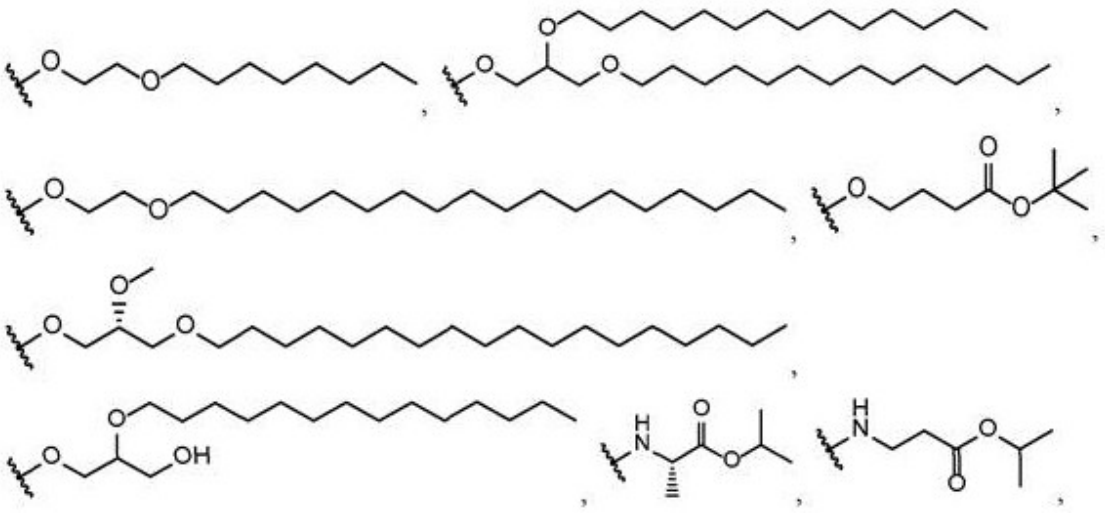
[0036] 在第一个实施方案的第五个方面，X^c和X^{c1}各自独立地选自O^-、S^-、OR^9和NR^9R^9，其中

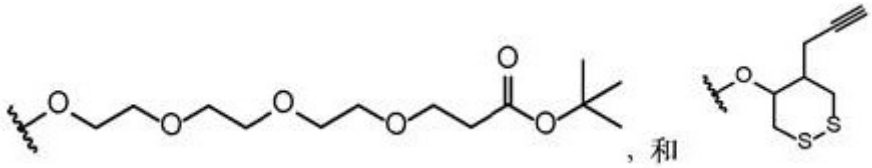
每个R^9独立地选自H、C_1-C_{20}烷基、  和  ，其中每个R^9 C_1-C_{20}烷基任选地被0至3个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基。在具体实例中，

[0037] X^c和X^{c1}各自独立地选自：



[0038] 

[0039] 

[0040]  和。在该方面的所有实例中，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第四个方面中所提供。

[0041] 在第一个实施方案的第六个方面，X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第五个方面中所提供。

[0042] 在第一个实施方案的第七个方面，R^1和R^{1a}各自为H。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第六个方面中所提供。

[0043] 在第一个实施方案的第八个方面，R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^2和R^{2a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的

取代基取代:F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中,R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第七个方面中所提供。

[0044] 在第一个实施方案的第九个方面,R^3选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基,其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代:F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中,R^3各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第八个方面中所提供。

[0045] 在第一个实施方案的第十个方面,R^4和R^{4a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基,其中所述R^4和R^{4a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代:F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中,R^4和R^{4a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第九个方面中所提供。

[0046] 在第一个实施方案的第十一个方面,R^5选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基,其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代:F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中,R^5各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十个方面中所提供。

[0047] 在第一个实施方案的第十二个方面,R^6和R^{6a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

[0048] 在第一个实施方案的第十三个方面,R^7和R^{7a}各自为H。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十二个方面中所提供。

[0049] 在第一个实施方案的第十四个方面,R^8和R^{8a}各自为H。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十三个方面中所提供。

[0050] 在第一个实施方案的第十五个方面,R^{1a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^{1a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^3位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

[0051] 在第一个实施方案的第十六个方面,R^{2a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^{2a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^3位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

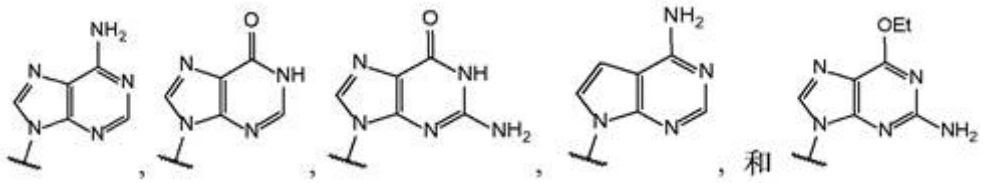
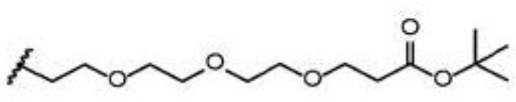
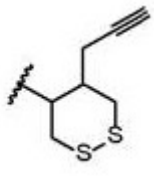
[0052] 在第一个实施方案的第十七个方面,R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基和-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^3位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

[0053] 在第一个实施方案的第十八个方面，R^4和R^5通过C_1-C_6亚烷基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基连接，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

[0054] 在第一个实施方案的第十九个方面，R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

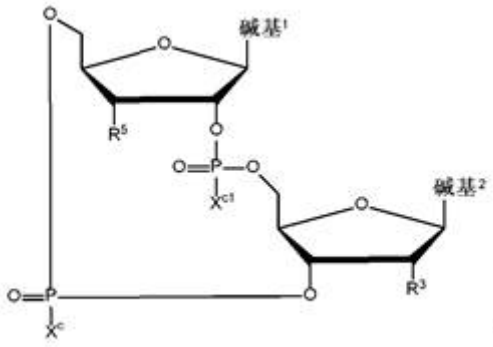
[0055] 在第一个实施方案的第二十个方面，R^7和R^8连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

[0056] 在第一个实施方案的第二十一个方面，R^{7a}和R^{8a}连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中或上述第一个至第十四个方面中所提供。

[0057] 在第一个实施方案的第二十二个方面，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：  ，其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；Y和Y^a各自独立地选自：-O-、-S-、-SO_2-、-CH_2-和-CF_2-；X^a和X^{a1}各自独立地选自O和S；X^b和X^{b1}各自独立地选自O和S；X^c和X^{c1}各自独立地选自O^-、S^-、OR^9和NR^9R^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^1和R^{1a}各自为H；R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^2和R^{2a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^3选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^4和R^{4a}各自独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^4和R^{4a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^5选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^6和R^{6a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^6和R^{6a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^7和R^{7a}各自为H；R^8和R^{8a}各自为H；每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、  和  ，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至

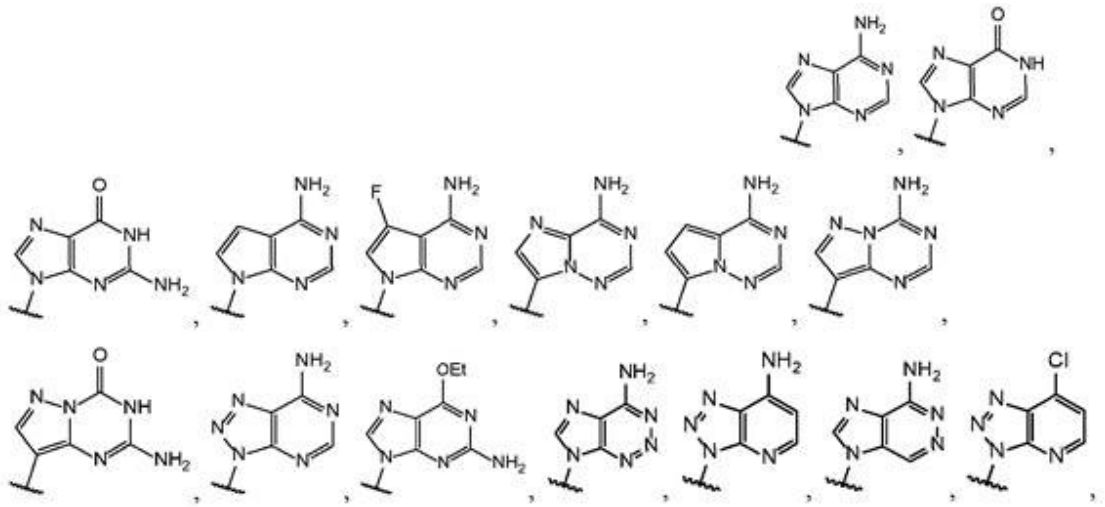
2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基和-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合，或任选地R^4和R^5通过C_1-C_6亚烷基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基连接，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中所提供。

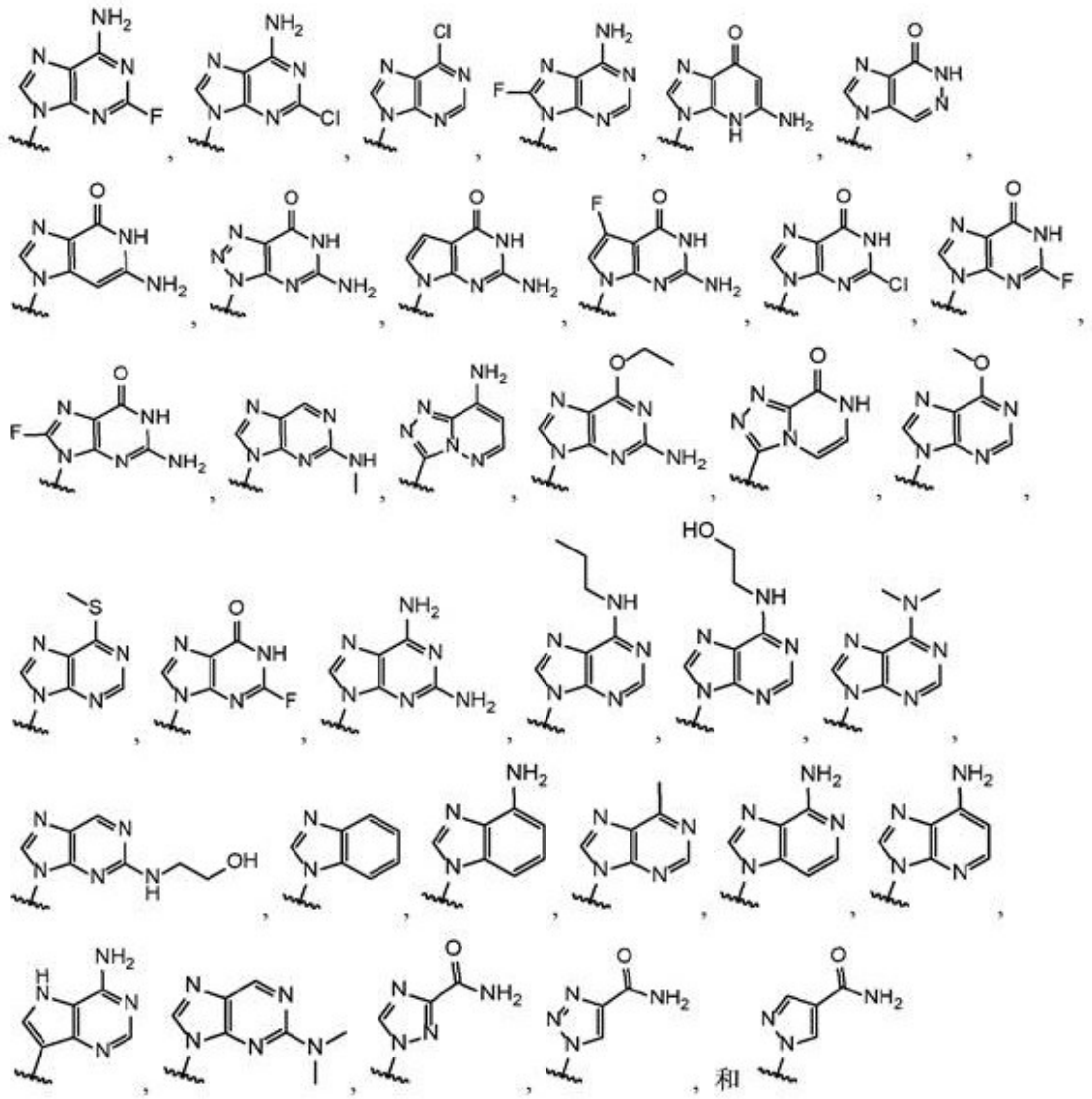
[0058] 在第一个实施方案的第二十三个方面，式(I)的化合物是式(Ia)的化合物：

[0059] 

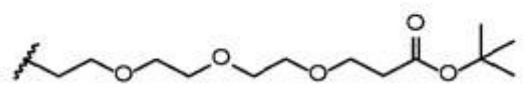
(Ia)

[0060] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

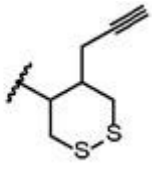
[0061] 

[0062] 

[0063] ，其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；X^c和X^{c1}各自独立地选自O^-、S^-、OR^9和NR^9R^9；R^3选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^5选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^3和R^5并不都选自OH、被OH取代的C_1-C_6烷基和被OH取代的C_1-C_6卤代烷基；且每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、

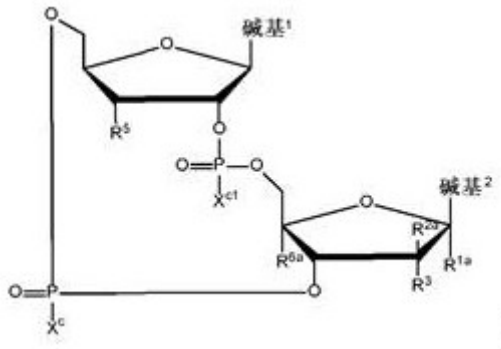


和



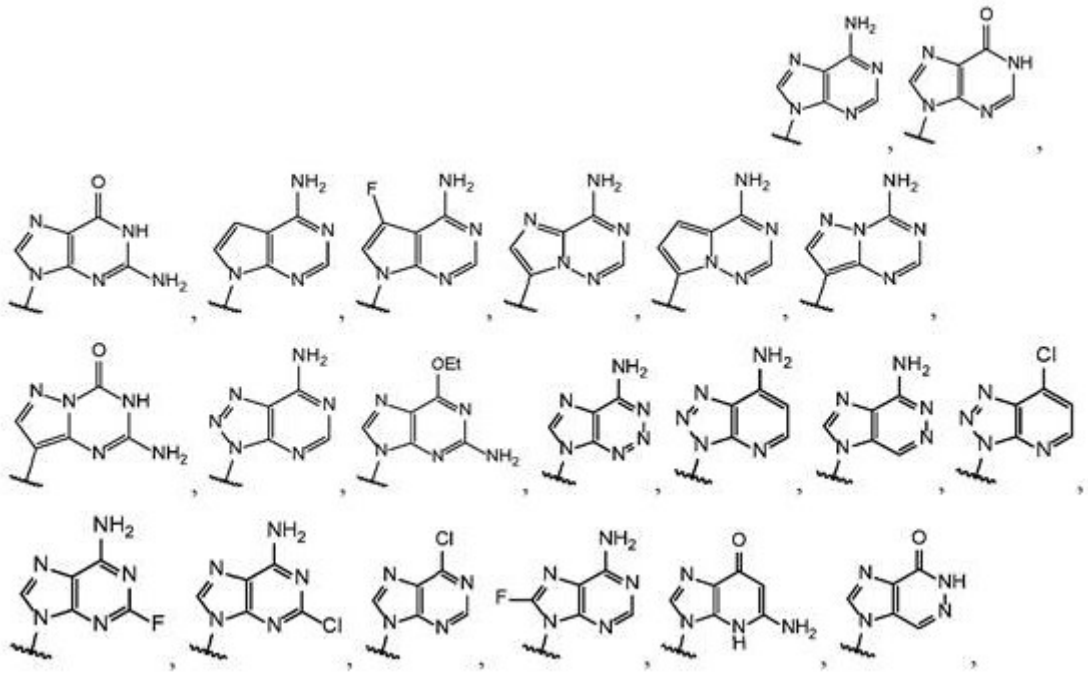
，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中所提供。

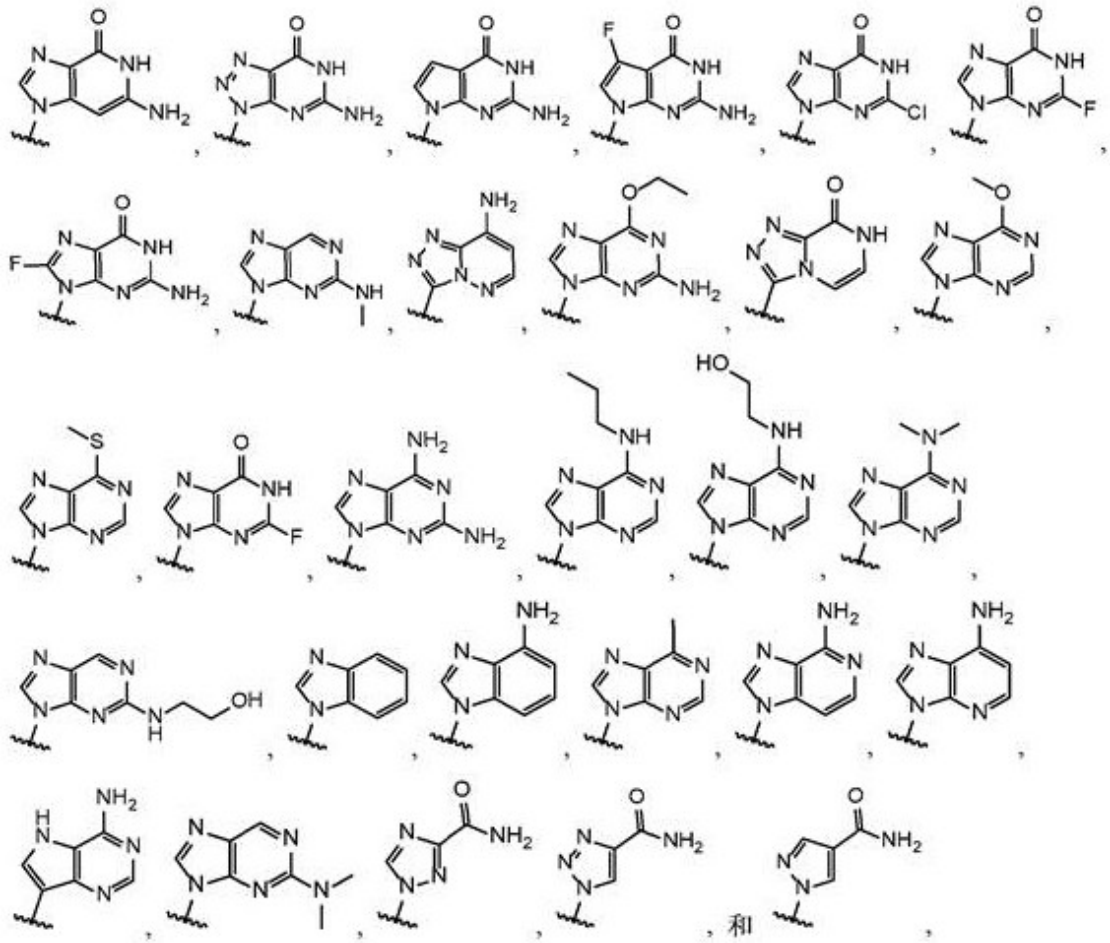
[0064] 在第一个实施方案的第二十四个方面，式(I)的化合物是式(Ib)的化合物：

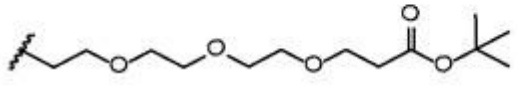
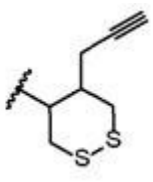
[0065] 

(Ib)

[0066] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

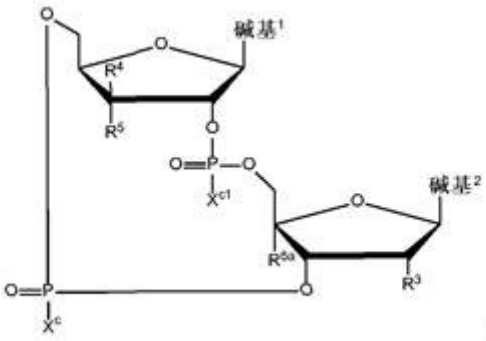
[0067] 

[0068] 

[0069] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；X^c和X^{c1}各自独立地选自O^-、S^-、OR^9和NR^9R^9；R^{1a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^{1a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^{2a}选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^{2a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^3选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^5选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^3和R^5并不都选自OH、被OH取代的C_1-C_6烷基和被OH取代的C_1-C_6卤代烷基；R^{6a}选自H、F、Cl、I、Br、OH、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基；每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、  和  ，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被

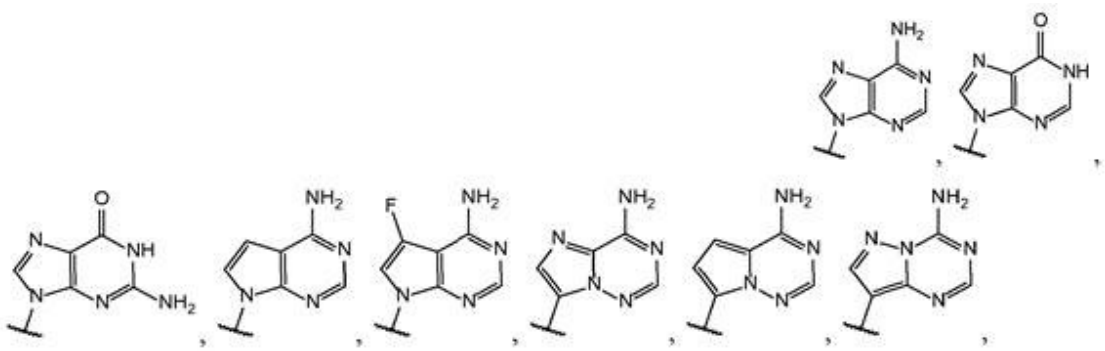
1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；且任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基和-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中所提供。

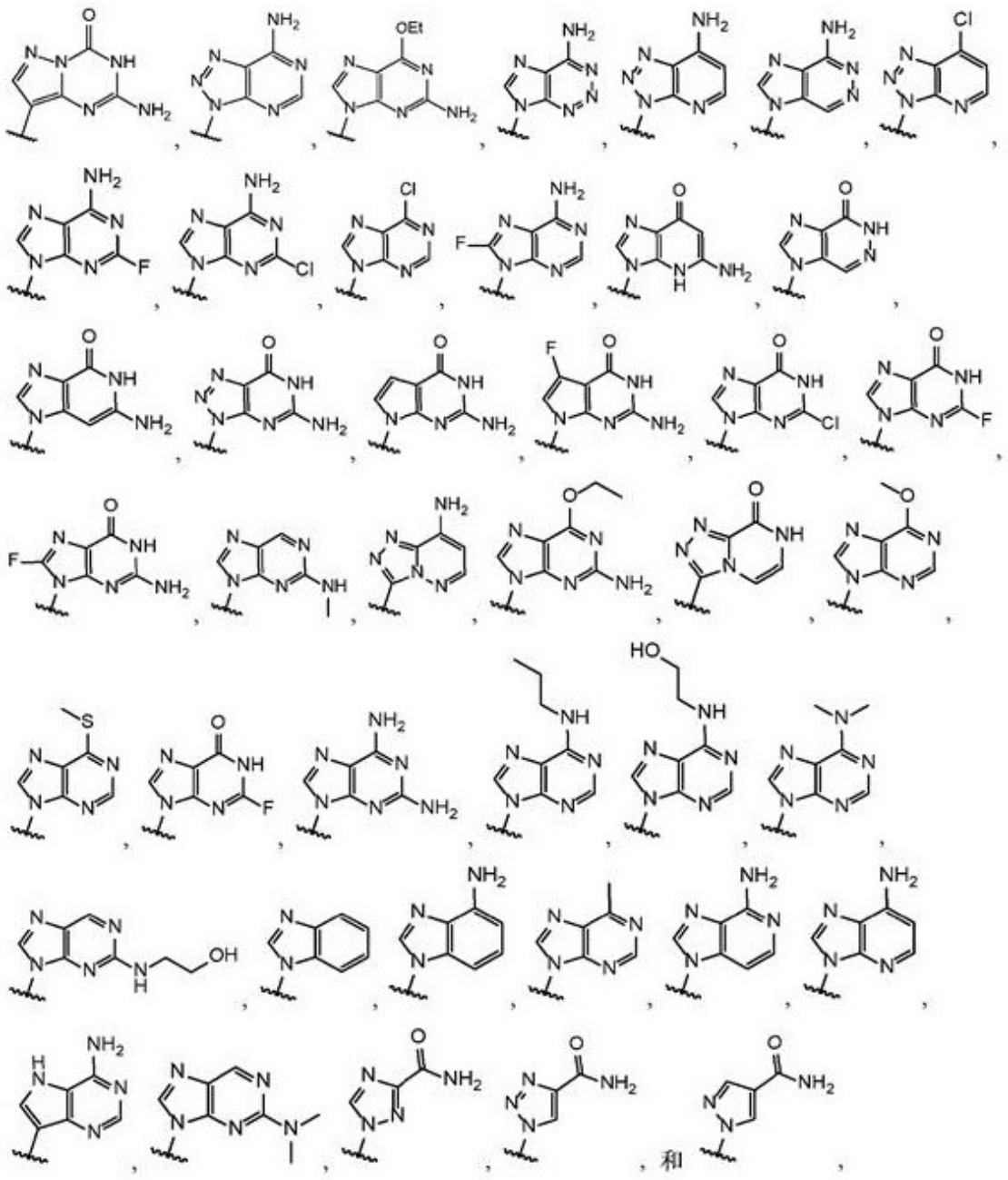
[0070] 在第一个实施方案的第二十五个方面，式(I)的化合物是式(Ic)的化合物：

[0071] 

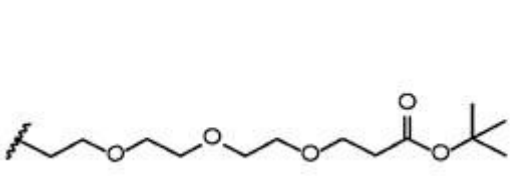
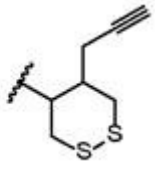
(Ic)

[0072] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基^{1}和碱基^{2}各自独立地选自：

[0073] 

[0074] 

[0075] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；X^c和X^{c1}各自独立地选自O^-、S^-、OR^9和NR^9R^9；R^3选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^4选自H、F、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^4 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^5选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；R^3和R^5并不都选自OH、被OH取代的C_1-C_6烷基和被OH取代的C_1-C_6卤代烷基；R^{6a}选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^{6a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、I、Br和OH；每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、


和

，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；且任选地R^4和R^5通过C_1-C_6亚烷基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基连接，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第一个实施方案的通式(I)中所提供。

[0076] 第一个实施方案的第二十六个方面涉及药物组合物，所述药物组合物包含(a)根据上文第一个实施方案的任一通式(I)化合物或上述第一个至第二十五个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药；和(b)药学上可接受的载体。

[0077] 第一个实施方案的第二十七个方面涉及诱导受试者中的免疫反应的方法，其包括将治疗有效量的根据上文第一个实施方案的任一通式(I)化合物或上述第一个至第二十五个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0078] 第一个实施方案的第二十八个方面涉及诱导受试者中的免疫反应的方法，其包括将治疗有效量的根据上述第二十六个方面的组合物给药至所述受试者。

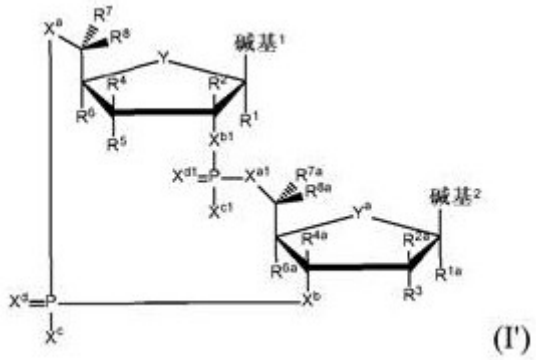
[0079] 第一个实施方案的第二十九个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上文第一个实施方案的任一通式(I)化合物或上述第一个至第二十五个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0080] 第一个实施方案的第三十个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上述第二十六个方面的组合物给药至所述受试者。

[0081] 第一个实施方案的第三十一个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性细胞因子产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上文第一个实施方案的任一通式(I)化合物或上述第一个至第二十五个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

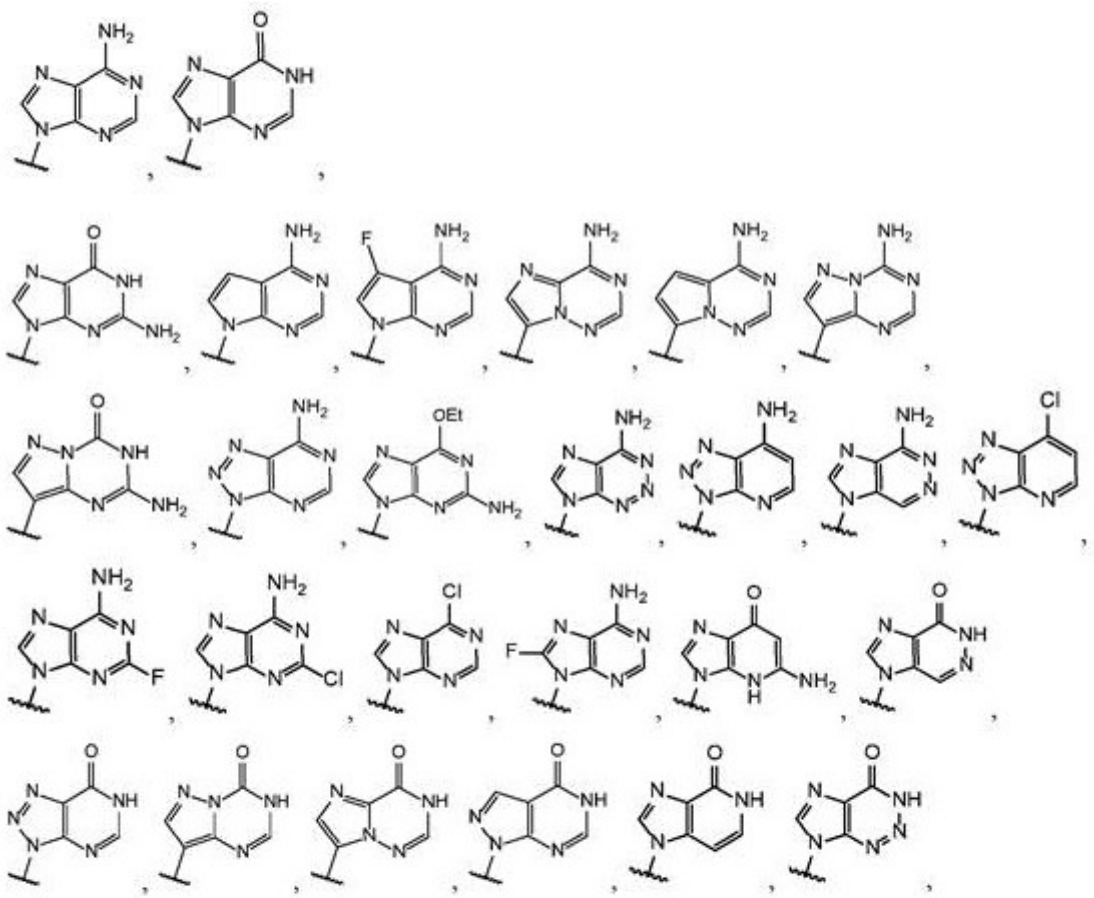
[0082] 第一个实施方案的第三十二个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性细胞因子产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上述第二十六个方面的组合物给药至所述受试者。

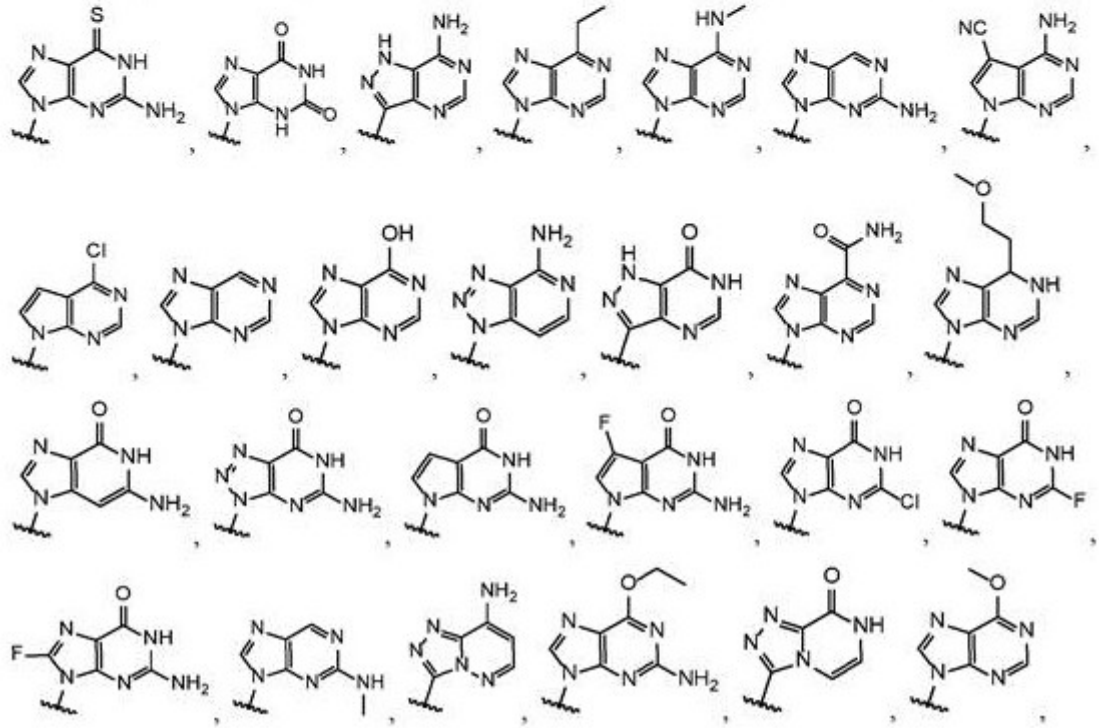
[0083] 本公开的第二个实施方案涉及通式(I')的环状双核苷酸化合物：

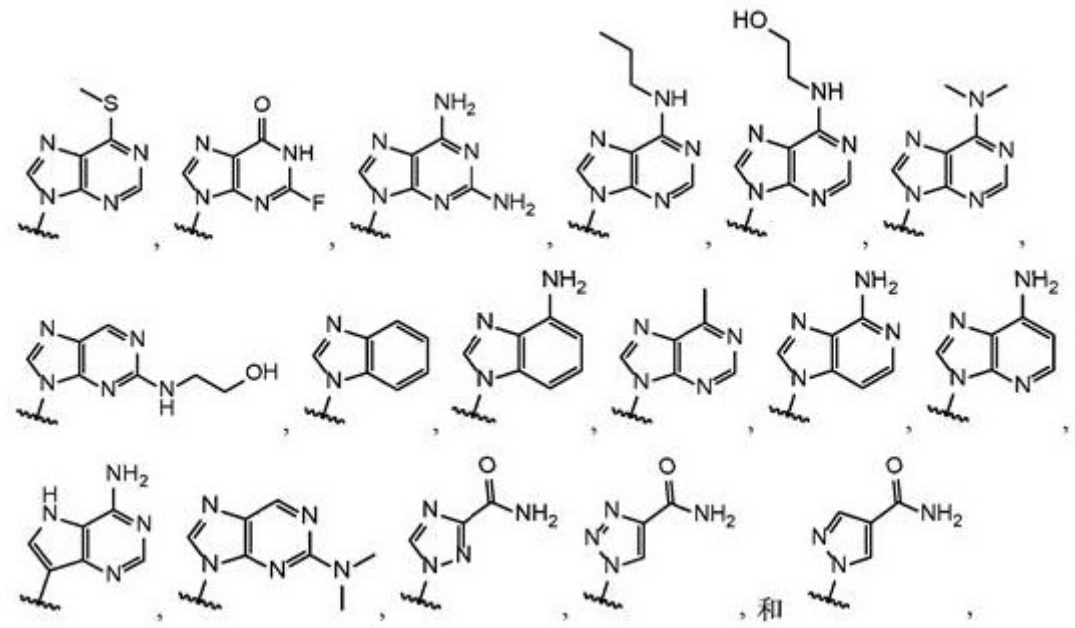
[0084]


(I')

[0085] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

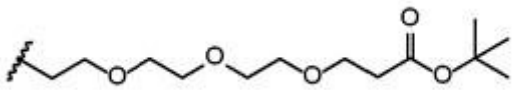
[0086] 

[0087] 

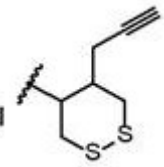
[0088] 

[0089] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自：F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；Y和Y^a各自独立地选自-O-和-S-；X^a和X^{a1}各自独立地选自O和S；X^b和X^{b1}各自独立地选自O和S；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9、SR^9和NR^9R^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^1和R^{1a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^1和R^{1a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^2和R^{2a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^4和R^{4a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^4和R^{4a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN、NR^9R^9和N_3；R^6和R^{6a}各

自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^6和R^{6a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^7和R^{7a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^7和R^{7a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^8和R^{8a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^8和R^{8a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；每个R^9独立地选自H、C_1-C_{20}烷基、

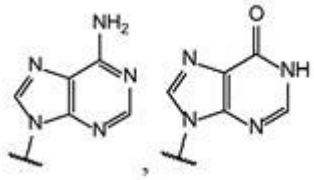


和

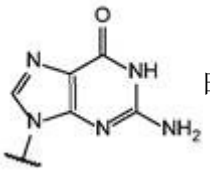


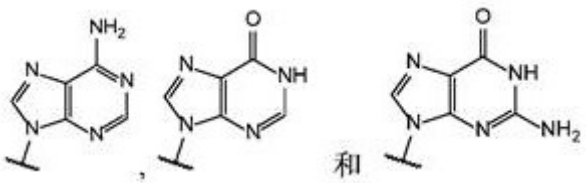
，其中每个R^9 C_1-C_{20}烷基任选地被0至3个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基，-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；任选地R^{1a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^{1a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合；任选地R^{2a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^{2a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合；任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合；任选地R^4和R^5连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合；任选地R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合；任选地R^7和R^8连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基；且任选地R^{7a}和R^{8a}连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基。

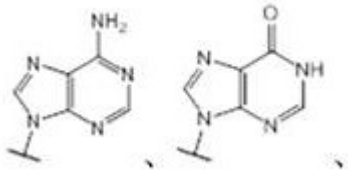
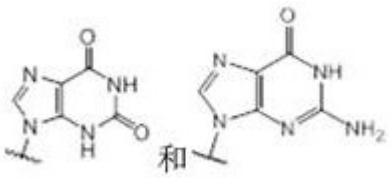
[0090] 在该实施方案的具体方面中，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH或SH，X^d和X^{d1}各自为O，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自



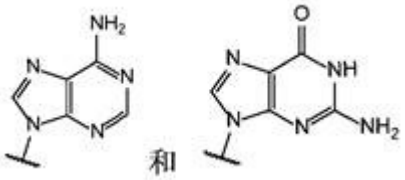
和


时，R^5和R^3并不都选自H、F和OH。也就是说，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH或SH，X^d和X^{d1}各自为O，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基^{1}和碱基^{2}各自选自

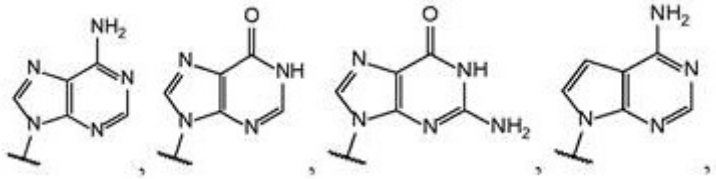

时，R^5和R^3中仅一个选自H、F和OH，或R^5和R^3无一选自H、F和OH。在该方面的进一步具体实例中，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH，X^d和X^{d1}各自为O或S，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基^{1}和碱基^{2}各自选自

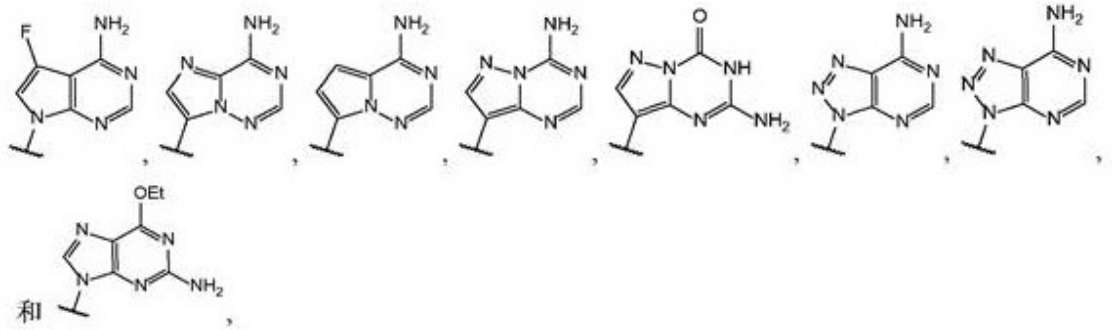


时，R^5和R^3并不都选自H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基，其中所述C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH。

[0091] 在该实施方案的进一步具体方面，当碱基^{1}和碱基^{2}各自选自

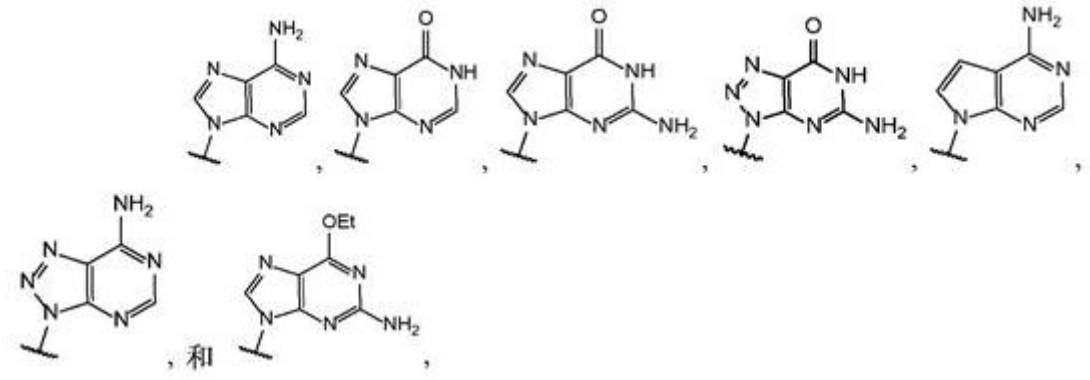

，且R^{2a}是F且R^5是F时，X^c和X^{c1}中的至少一个是SR^9。

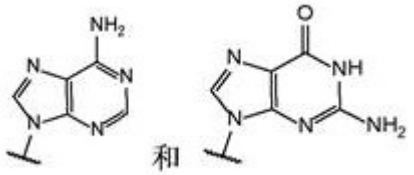
[0092] 在第二个实施方案的第一个方面，碱基^{1}和碱基^{2}各自独立地选自：

[0093] 

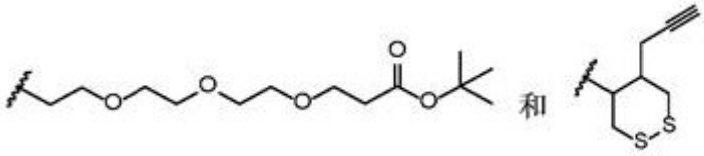
[0094] 

[0095] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$。在具体实例中，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

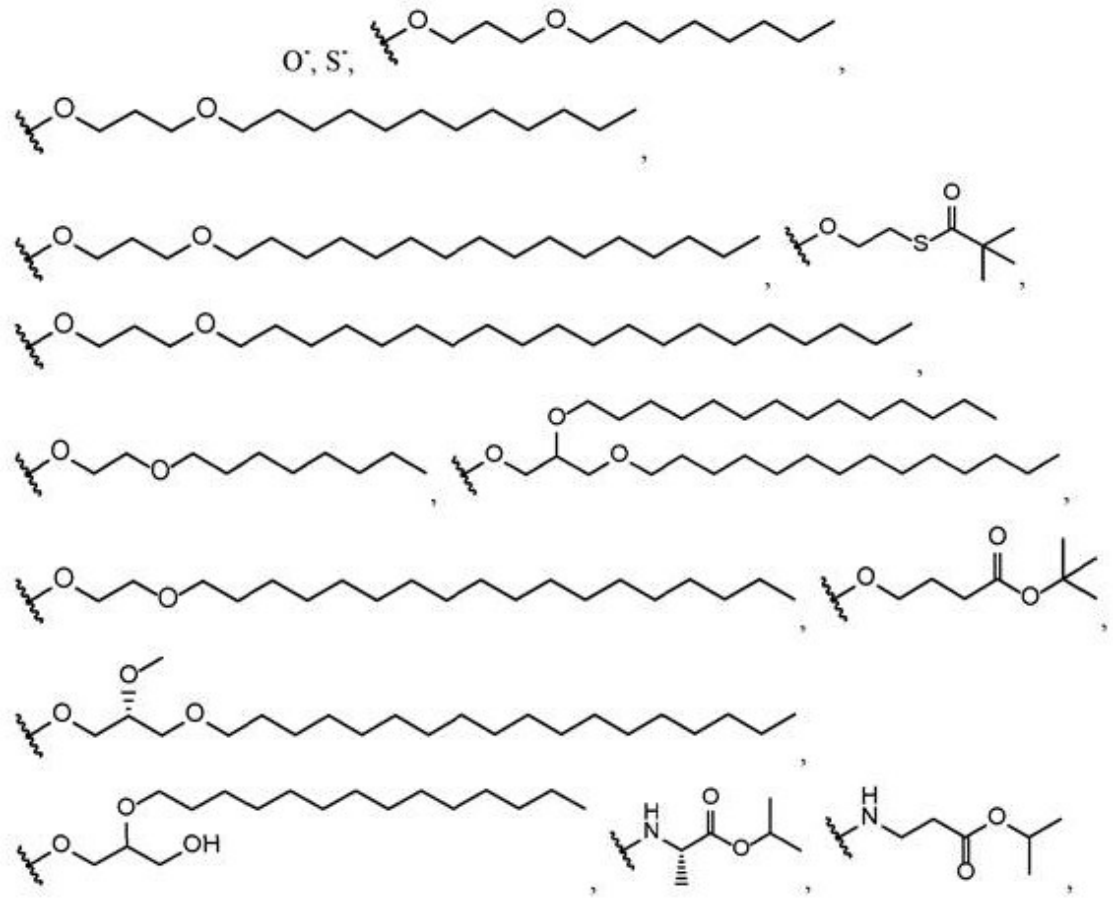
[0096] 

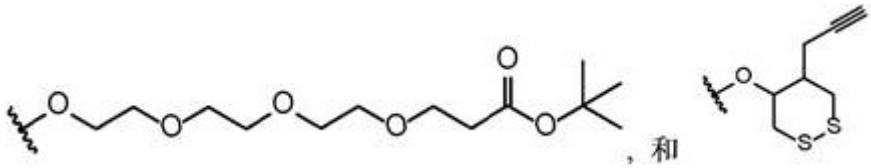
[0097] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$。在甚至更具体实例中，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自： 

，其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中所提供。

[0098] 在第二个实施方案的第二个方面，X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9、SR^9和NR^9R^9，其中每个R^9独立地选自H、C_1-C_{20}烷基、 

[0099] 其中每个R^9 C_1-C_{20}烷基任选地被0至3个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基。在具体实例中，X^c和X^{c1}各自独立地选自：

[0100] 

[0101]  。在该方面的所有实例中，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个方面中所提供。

[0102] 在第二个实施方案的第三个方面，R^1和R^{1a}各自为H。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第二个方面中所提供。

[0103] 在第二个实施方案的第四个方面，R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^2和R^{2a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中，R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第三个方面中所提供。

[0104] 在第二个实施方案的第五个方面，R^3选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中，R^3各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在甚至更具体实例中，R^3选自NH_2和N_3。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第四个方面中所提供。

[0105] 在第二个实施方案的第六个方面，R^4和R^{4a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^4和R^{4a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的

取代基取代:F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3。在具体实例中,R^4和R^{4a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在甚至更具体实例中,R^4和R^{4a}各自为F。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第五个方面中所提供。

[0106] 在第二个实施方案的第七个方面,R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基,其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代:F、Cl、Br、I、OH、CN、NR^9R^9和N_3。在具体实例中,R^5各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、CN、N_3、CF_3、CH_3、CH_2OH和CH_2CH_3。在甚至更具体实例中,R^5选自NH_2和N_3。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第六个方面中所提供。

[0107] 在第二个实施方案的第八个方面,R^6和R^{6a}各自独立地选自H、F、Cl、I、Br、OH、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第七个方面中所提供。

[0108] 在第二个实施方案的第九个方面,R^7和R^{7a}各自独立地选自H和C_1-C_6烷基。在具体实例中,R^7和R^{7a}各自独立地选自H和CH_3。在更具体实例中,R^{7a}为CH_3。在额外实例中,R^7和R^{7a}各自为H。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第八个方面中所提供。

[0109] 在第二个实施方案的第十个方面,R^8和R^{8a}各自独立地选自H和C_1-C_6烷基。在具体实例中,R^8和R^{8a}各自独立地选自H和CH_3。在更具体实例中,R^{8a}为CH_3。在额外实例中,R^8和R^{8a}各自为H。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第九个方面中所提供。

[0110] 在第二个实施方案的第十一个方面,R^{1a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^{1a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^3位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十个方面中所提供。

[0111] 在第二个实施方案的第十二个方面,R^{2a}和R^3连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基、C_2-C_6亚炔基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^{2a}和R^3连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^3位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

[0112] 在第二个实施方案的第十三个方面,R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基和-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^3位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

[0113] 在第二个实施方案的第十四个方面,R^4和R^5通过C_1-C_6亚烷基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基连接,使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下,所述O在R^5位置处结合。在该方面,所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

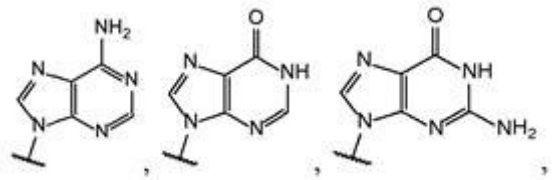
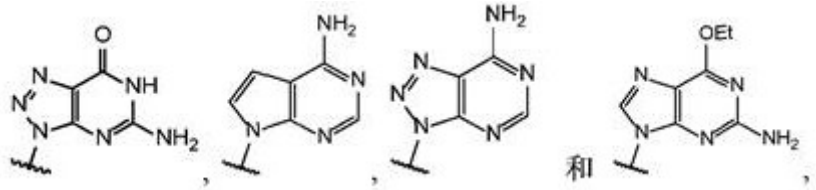
[0114] 在第二个实施方案的第十五个方面,R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基,使得在R^5和R^6连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-

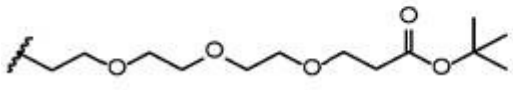
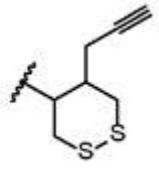
C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

[0115] 在第二个实施方案的第十六个方面，R^7和R^8连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

[0116] 在第二个实施方案的第十七个方面，R^{7a}和R^{8a}连接以形成C_1-C_6亚烷基、C_2-C_6亚烯基或C_2-C_6亚炔基。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中或上述第一个至第十一个方面中所提供。

[0117] 在第二个实施方案的第十八个方面，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

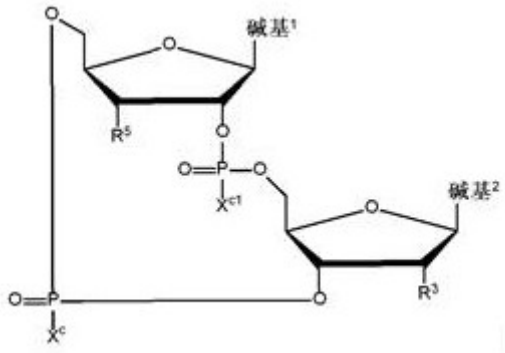
[0118] 


其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；Y和Y^a各自独立地选自-O-和-S-；X^a和X^{a1}各自独立地选自O和S；X^b和X^{b1}各自独立地选自O和S；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9、SR^9和NR^9R^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^1和R^{1a}各自为H；R^2和R^{2a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^2和R^{2a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^4和R^{4a}各自独立地选自H、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^4和R^{4a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN、NR^9R^9和N_3；R^6和R^{6a}各自独立地选自H、F、Cl、Br、I、OH、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^6和R^{6a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I、OH、CN和N_3；R^7和R^{7a}各自为H；R^8和R^{8a}各自为H；每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、  和  ，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基和-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚

炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合，或任选地R^4和R^5通过C_1-C_6亚烷基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基连接，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面的所有实例中，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中所提供。

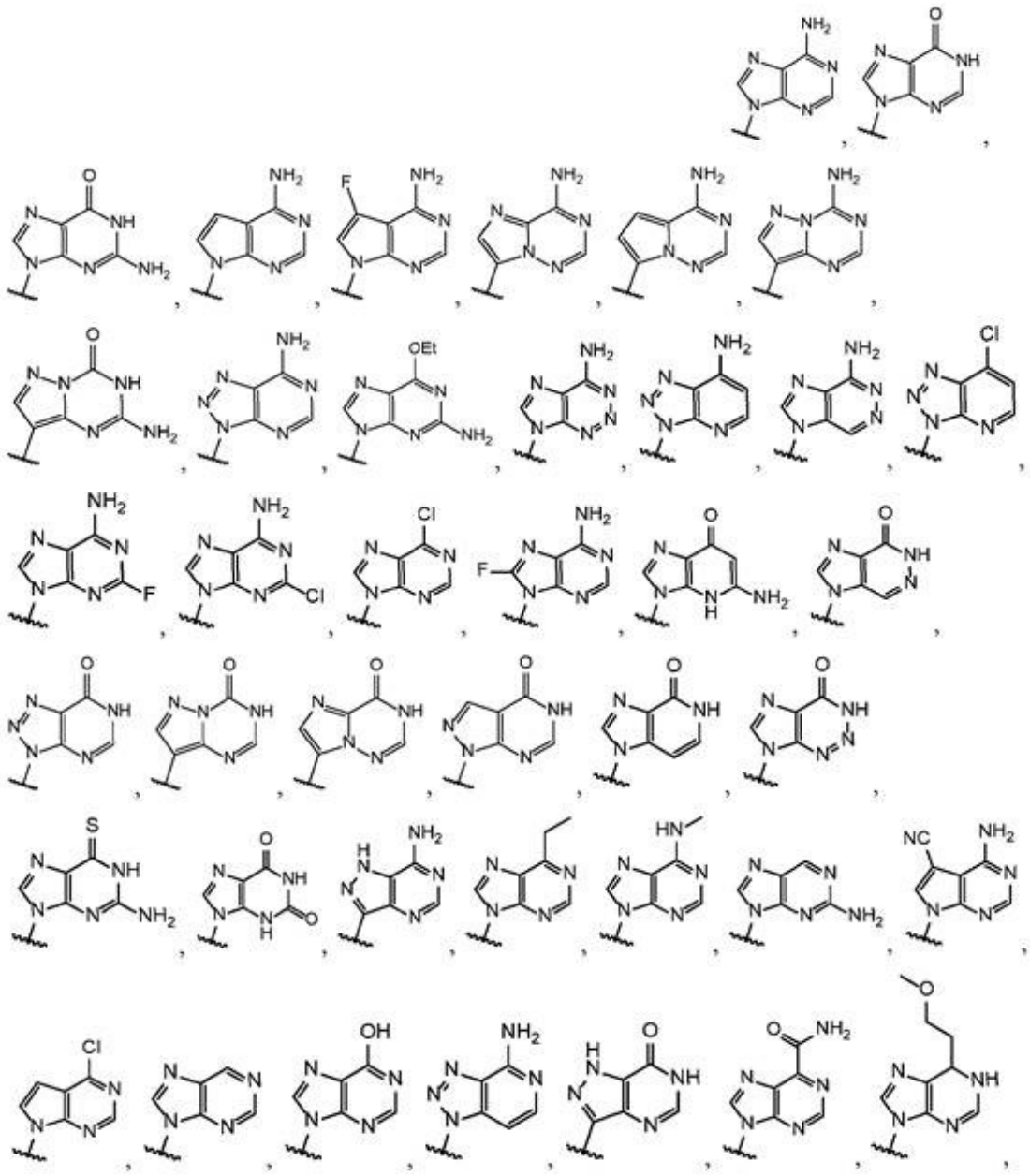
[0119] 在第二个实施方案的第十九个方面，式(I')的化合物是式(I'a)的化合物：

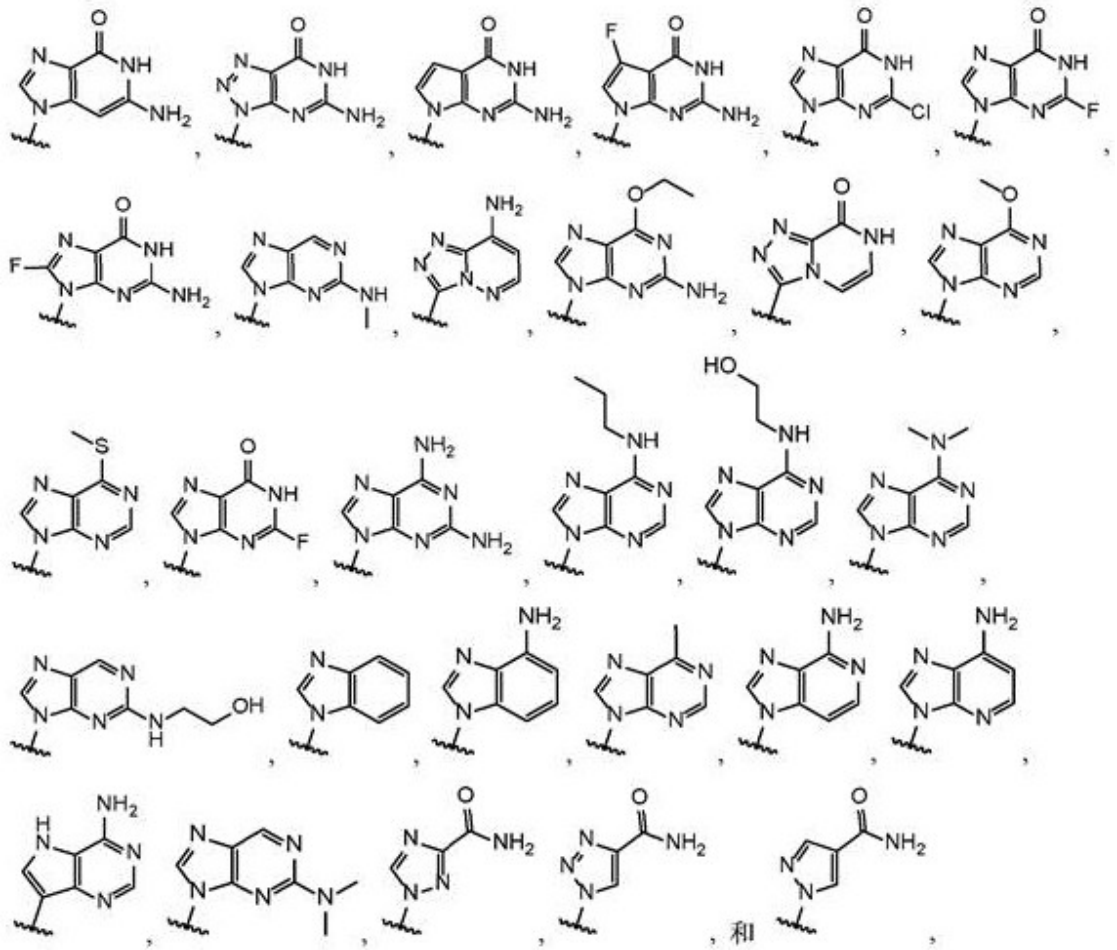
[0120]



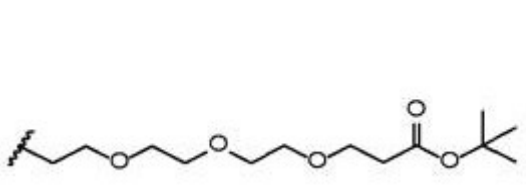
(I'a)

[0121] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

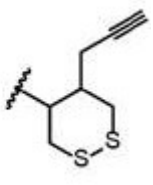
[0122] 

[0123] 

[0124] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9、SR^9和NR^9R^9；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^3和R^5并不都选自：OH、被OH取代的R^5 C_1-C_6烷基或被OH取代的C_1-C_6卤代烷基；且每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、

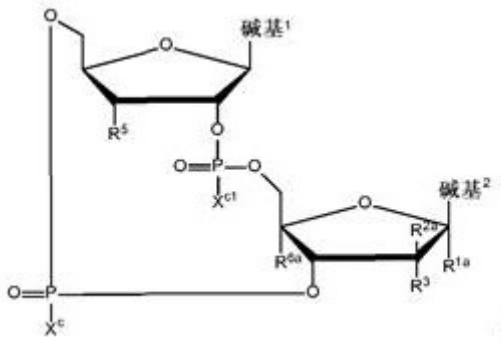


和



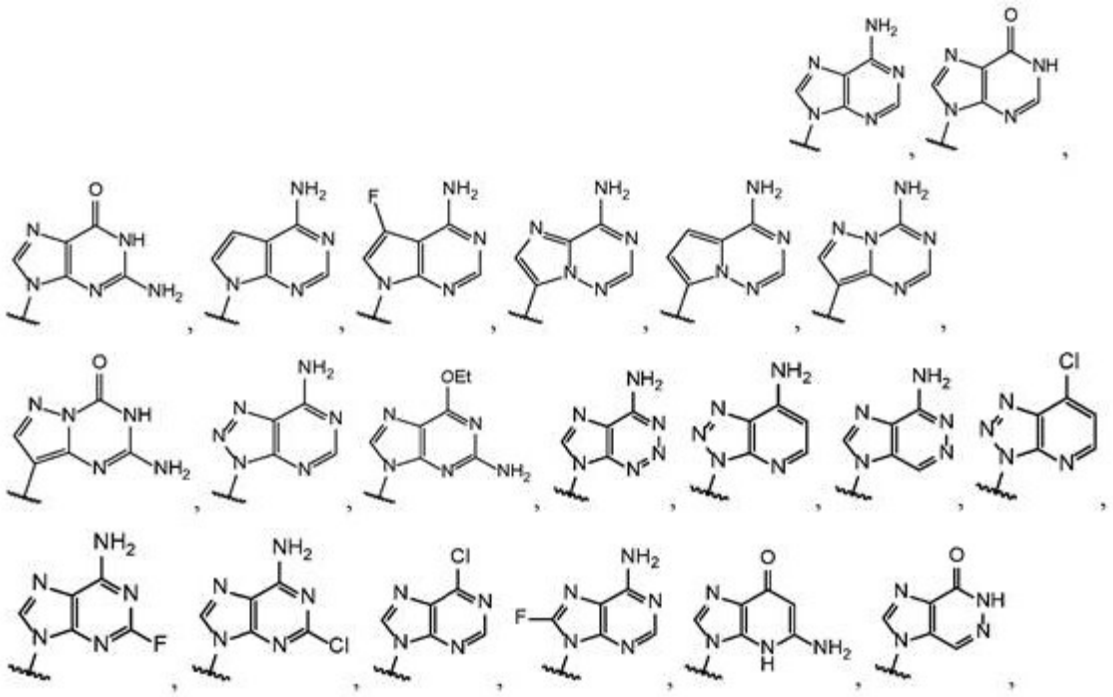
，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基。在该方面的所有实例中，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中所提供。

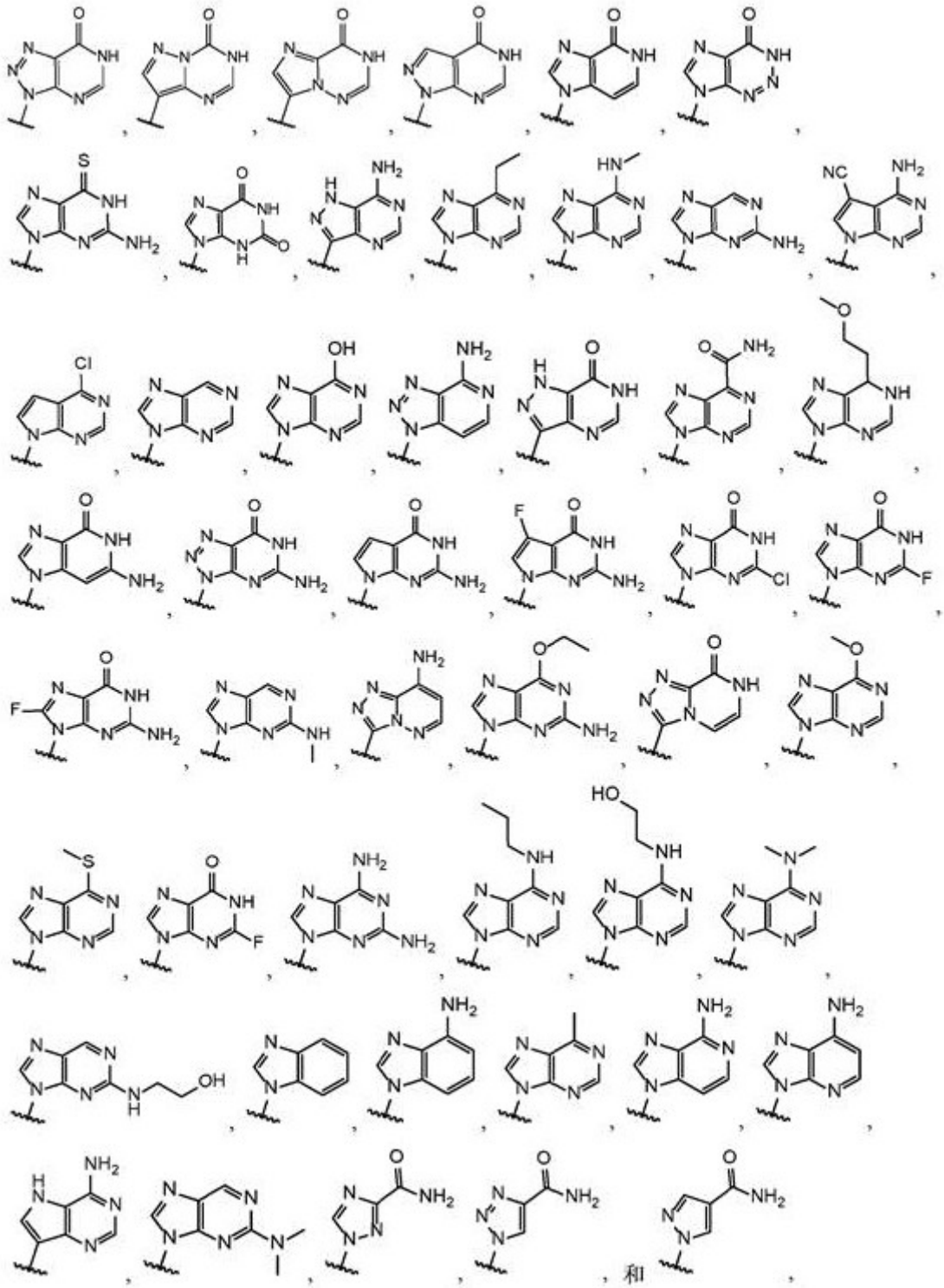
[0125] 在第二个实施方案的第二十个方面，式(I')的化合物是式(I'b)的化合物：

[0126] 

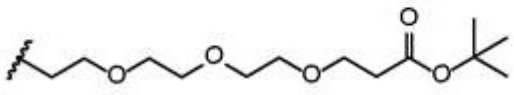
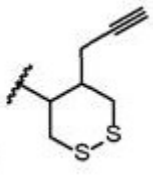
(I'b)

[0127] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

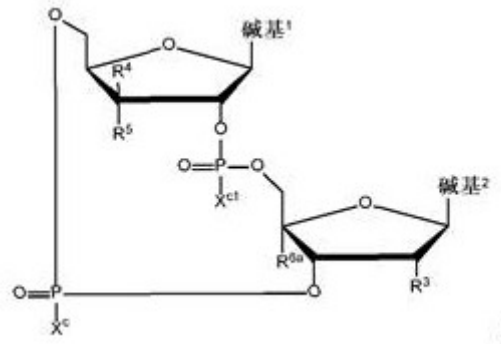
[0128] 

[0129] 

[0130] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9、SR^9和NR^9R^9；R^{1a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基，其中所述R^{1a} C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、

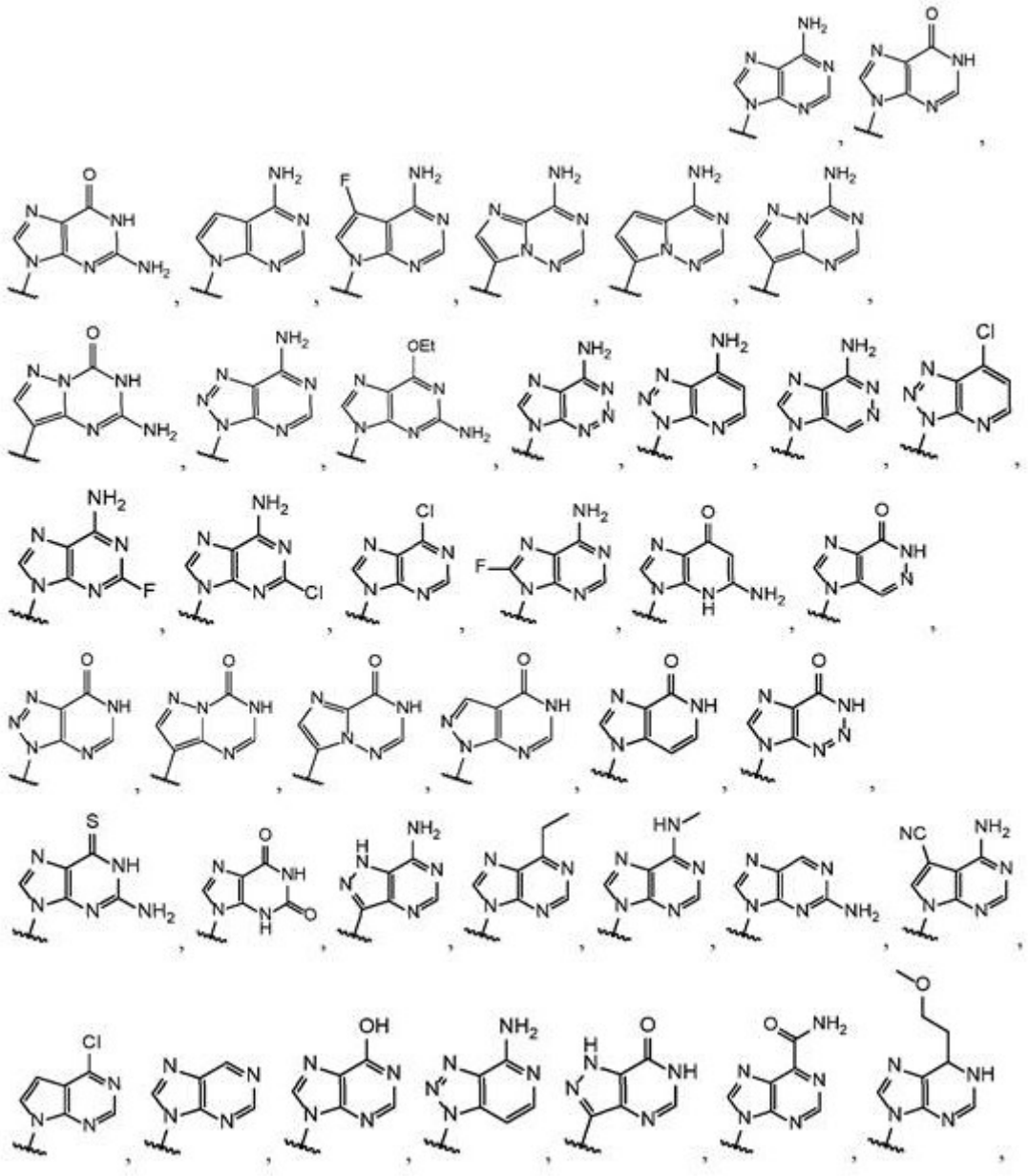
Br、I、OH、CN和N_3；R^{2a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^{2a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^3和R^5并不都选自OH、被OH取代的C_1-C_6烷基和被OH取代的C_1-C_6卤代烷基；R^{6a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基；每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、  和  ，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；且任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基和-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第二个实施方案的通式(I')中所提供。

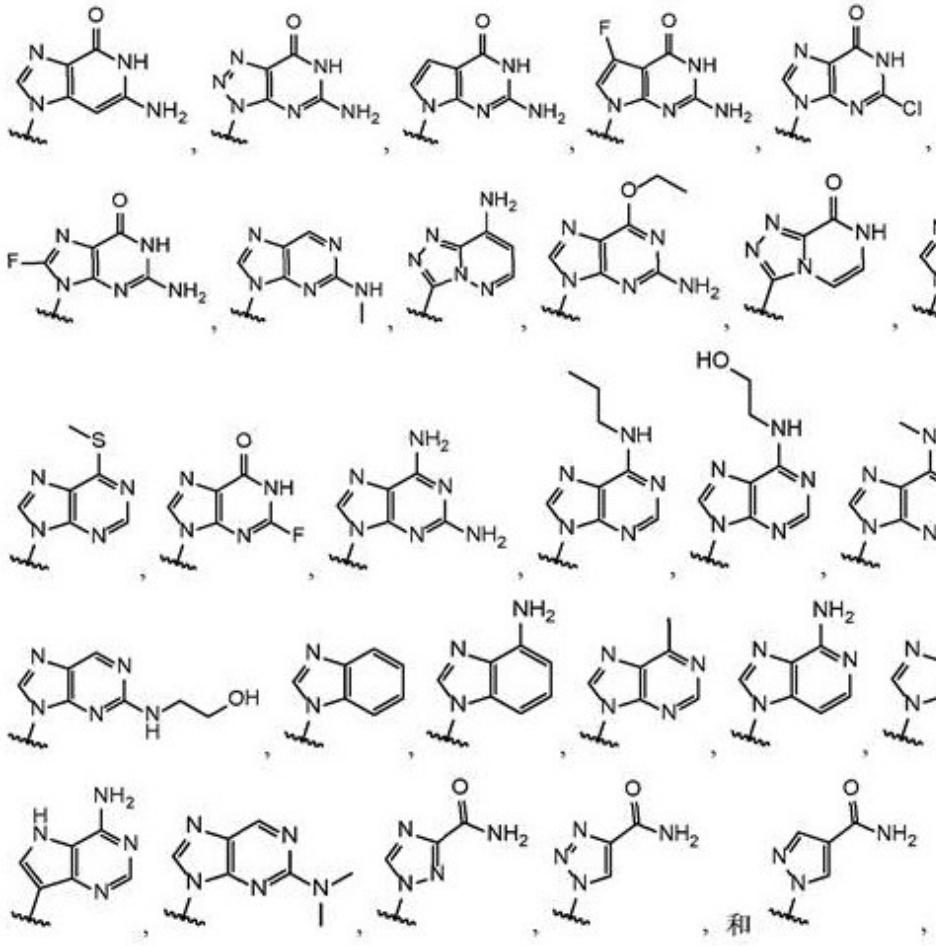
[0131] 在第二个实施方案的第二十一个方面，式(I')的化合物是式(I'c)的化合物：

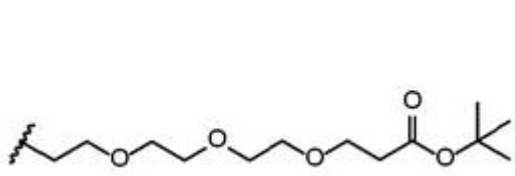
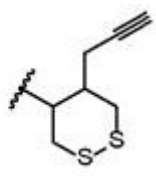
[0132] 

(I'c)

[0133] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

[0134] 

[0135] 

[0136] 其中碱基[1]和碱基[2]各自可独立地被0-3个取代基R^{10}取代，其中每个R^{10}独立地选自F、Cl、I、Br、OH、SH、NH_2、C_{1-3}烷基、C_{3-6}环烷基、O(C_{1-3}烷基)、O(C_{3-6}环烷基)、S(C_{1-3}烷基)、S(C_{3-6}环烷基)、NH(C_{1-3}烷基)、NH(C_{3-6}环烷基)、N(C_{1-3}烷基)$_2$和N(C_{3-6}环烷基)$_2$；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9、SR^9和NR^9R^9；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^3 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^4选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^4 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^5 C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；R^{6a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基和C_1-C_6卤代烷基，其中所述R^{6a} C_1-C_6烷基或C_1-C_6卤代烷基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH；每个R^9独立地选自H、C_2-C_3烷基、  和  ，其中每个R^9 C_2-C_3烷基任选地被1至2个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；且任选地R^4和R^5通过C_1-C_6亚烷基、-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基连接，使得在R^4和R^5连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^5位置处结合。在该方面，所有其它基团都如上文第二

个实施方案的通式(I')中所提供。

[0137] 第二个实施方案的第二十二个方面涉及药物组合物,所述药学上可接受的组合物包含(a)根据上文第二个实施方案的任一通式(I')的化合物或上述第一个至第二十一个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药;和(b)药学上可接受的载体。

[0138] 第二个实施方案的第二十三个方面涉及诱导受试者中的免疫反应的方法,其包括将治疗有效量的根据上文第二个实施方案的任一通式(I')的化合物或上述第一个至第二十一个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0139] 第二个实施方案的第二十四个方面涉及诱导受试者中的免疫反应的方法,其包括将治疗有效量的根据上述第二十二个方面的组合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

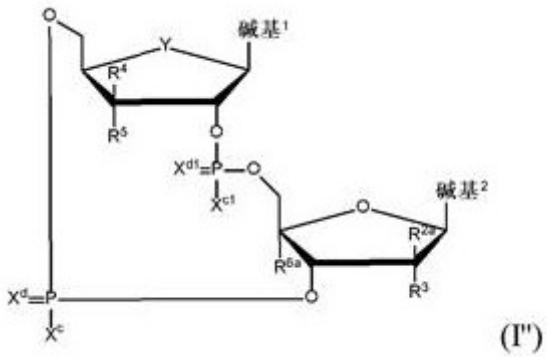
[0140] 第二个实施方案的第二十五个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法,其包括将治疗有效量的根据上文第二个实施方案的任一通式(I')的化合物或上述第一个至第二十一个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0141] 第二个实施方案的第二十六个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法,其包括将治疗有效量的根据上述第二十二个方面的组合物给药至所述受试者。

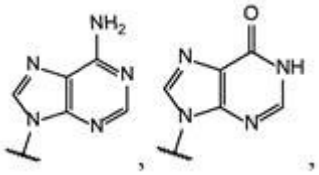
[0142] 第二个实施方案的第二十七个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性细胞因子产生的方法,其包括将治疗有效量的根据上文第二个实施方案的任一通式(I')的化合物或上述第一个至第二十一个方面中的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0143] 第二个实施方案的第三十三个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性细胞因子产生的方法,其包括将治疗有效量的根据上述第二十二个方面的组合物给药至所述受试者。

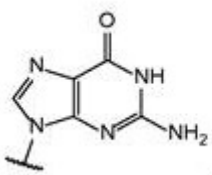
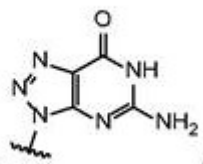
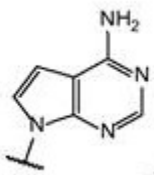
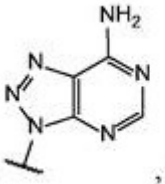
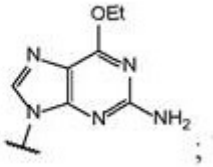
[0144] 本公开的第三个实施方案涉及通式(I")的环状双核苷酸化合物:

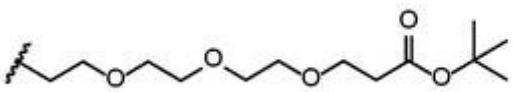
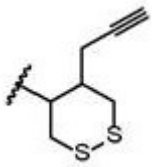
[0145] 

(I")

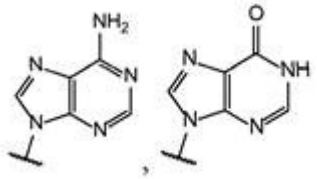
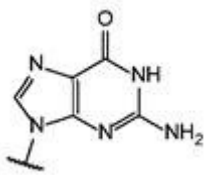
[0146] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药,其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自: 

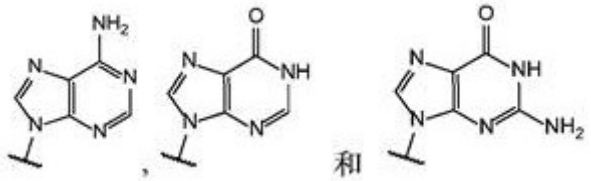
,





，和

；Y选自-O-和-S-；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9和SR^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^{2a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^4选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^{6a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；每个R^9独立地选自H、C_1-C_{20}烷基、

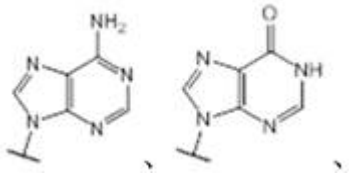

和

，其中每个R^9 C_1-C_{20}烷基任选地被O至3个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基；且任选地R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合。

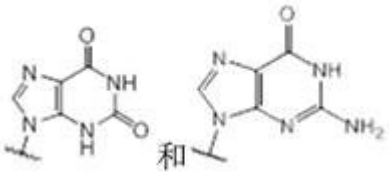
[0147] 在该实施方案的具体方面中，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH或SH，X^d和X^{d1}各自为O，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自


和

时，R^5和R^3并不都选自H、F和OH。也就是说，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH或SH，X^d和X^{d1}各自为O，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自



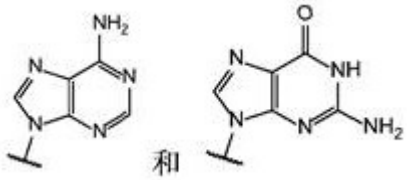
时，R^5和R^3中仅一个选自H、F和OH，或R^5和R^3无一选自H、F和OH。在该方面的进一步具体实例中，当Y和Y^a各自为O，X^a和X^{a1}各自为O，X^b和X^{b1}各自为O，且X^c和X^{c1}各自为OH，X^d和X^{d1}各自为O或S，R^1和R^{1a}各自为H，R^2为H，R^6和R^{6a}各自为H，R^7和R^{7a}各自为H，R^8和R^{8a}各自为H，且碱基[1]和碱基[2]各自选自





时，R^5和R^3并不都选自H、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基，其中所述C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基和C_2-C_6炔基被0至3个选自以下的取代基取代：F、Cl、Br、I和OH。

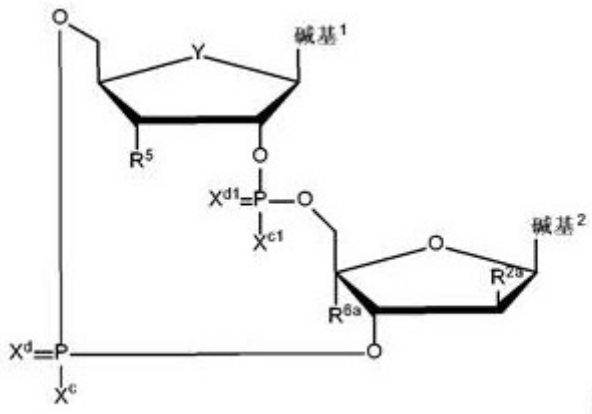
[0148] 在该实施方案的进一步具体方面中，当碱基[1]和碱基[2]各自选自



，且R^{2a}是F且R^5是F时，X^c和X^{c1}中的至少一个是SR^9。

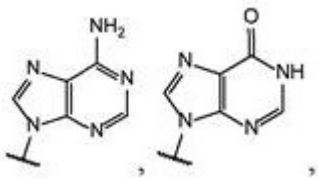
[0149] 在第三个实施方案的第一个方面，式(I")的化合物是式(I"a)的化合物：

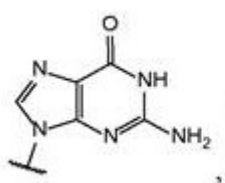
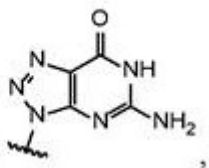
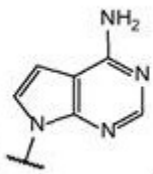
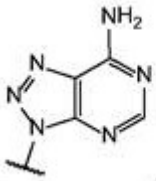
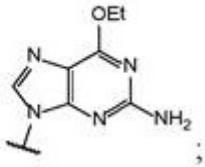
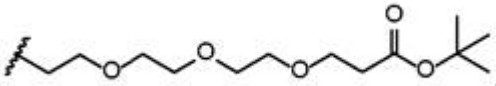
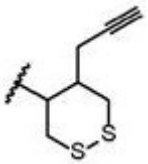
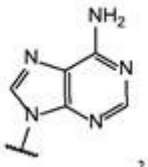
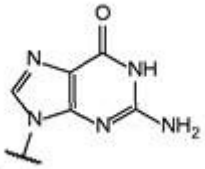
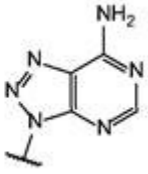
[0150]



(I"a)

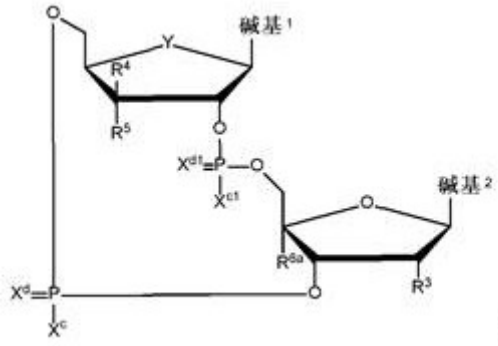
[0151] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：



[0152]  、  、  、  、和  ；Y选自-O-和-S-；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9和SR^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^{2a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^{6a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；且每个R^9独立地选自H、C_1-C_{20}烷基、  ，和  ，其中每个R^9 C_1-C_{20}烷基任选地被0至3个独立地选自以下的取代基取代：OH、-O-C_1-C_{20}烷基、-S-C(O)C_1-C_6烷基和C(O)OC_1-C_6烷基。在该方面的实例中，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：  、  和  ；Y选自-O-和-S-；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9和SR^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^{2a}为F；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^{6a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；且每个R^9独立地为H。

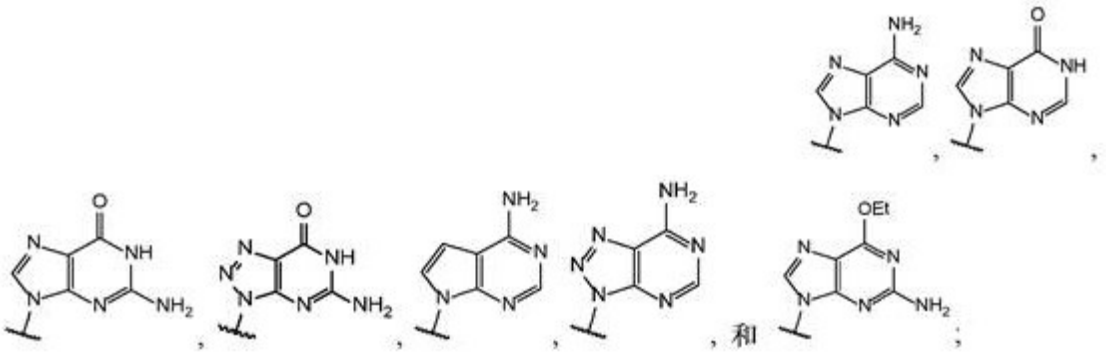
[0153] 在第三个实施方案的第二个方面，式(I″)的化合物是这样的化合物，其中R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合。

[0154] 在第三个实施方案的第三个方面，式(I″)的化合物是式(I″b)的化合物：

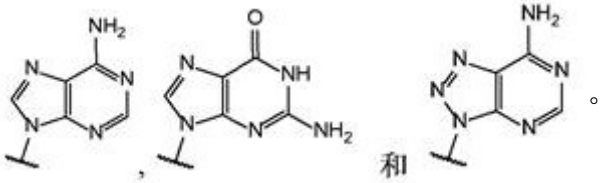
[0155] 

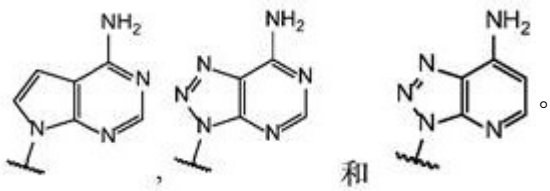
(I"b)

[0156] 或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，其中碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：

[0157] 
，和；

[0158] Y选自-O-和-S-；X^c和X^{c1}各自独立地选自OR^9和SR^9；X^d和X^{d1}各自独立地选自O和S；R^3选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^4选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^5选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH_2、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；R^{6a}选自H、F、Cl、Br、I、OH、CN、N_3、C_1-C_6烷基、C_2-C_6烯基、C_2-C_6炔基、C_1-C_6卤代烷基、C_2-C_6卤代烯基、C_2-C_6卤代炔基、-O-C_1-C_6烷基、-O-C_2-C_6烯基和-O-C_2-C_6炔基；每个R^9独立地为H；且R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基，使得在R^3和R^{6a}连接以形成-O-C_1-C_6亚烷基、-O-C_2-C_6亚烯基或-O-C_2-C_6亚炔基的情况下，所述O在R^3位置处结合。在该方面的实例中，碱基[1]和碱基[2]各自独立地选自：


和。

[0159] 在第三个实施方案的第四个方面，式(I″)的化合物是这样的化合物，其中碱基[1]和碱基[2]中至少一个各自独立地选自： 
和。

[0160] 第三个实施方案的第五个方面涉及药物组合物，所述药物组合物包含(a)根据第三个实施方案的任一通式(I″)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药；和(b)药学上可接受的载体。

[0161] 第三个实施方案的第六个方面涉及诱导受试者中的免疫反应的方法，其包括将治疗有效量的根据上文第三个实施方案的通式(I″)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0162] 第三个实施方案的第七个方面涉及诱导受试者中的免疫反应的方法，其包括将治疗有效量的根据上述第五个方面的组合物给药至所述受试者。

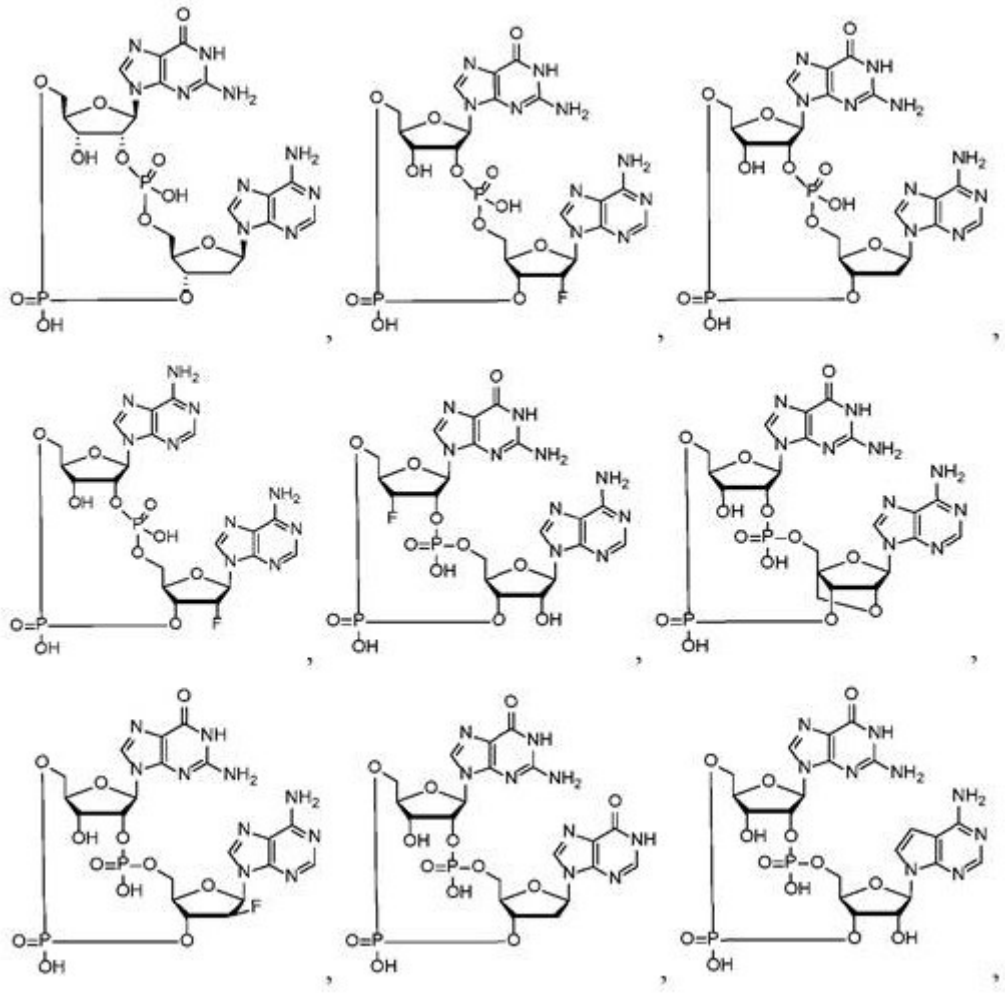
[0163] 第三个实施方案的第八个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上文第三个实施方案的通式(I″)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0164] 第三个实施方案的第九个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上述第五个方面的组合物给药至所述受试者。

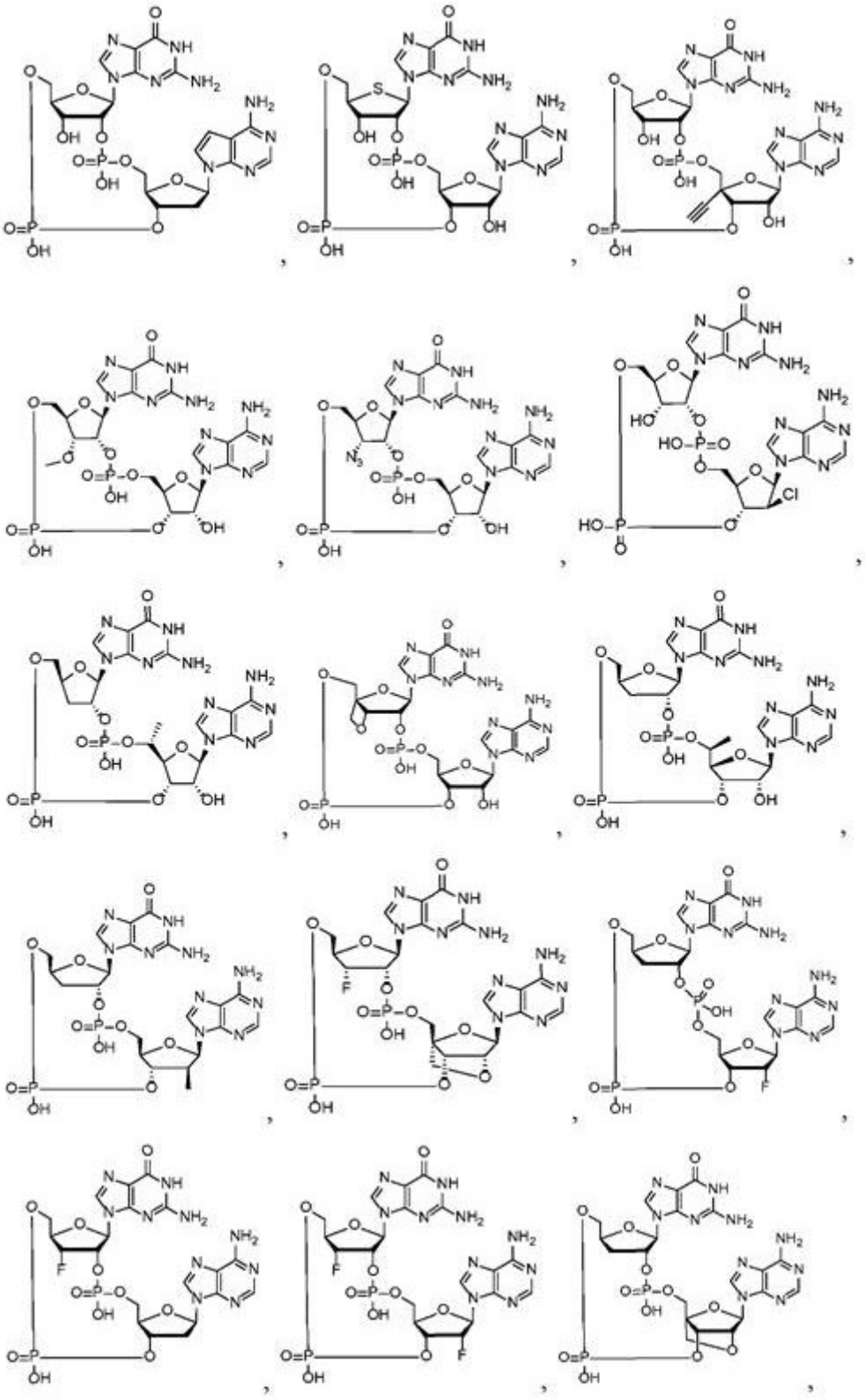
[0165] 第三个实施方案的第十个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性细胞因子产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上文第三个实施方案的通式(I″)的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者。

[0166] 第三个实施方案的第十一个方面涉及诱导受试者中的STING依赖性细胞因子产生的方法，其包括将治疗有效量的根据上述第五个方面的组合物给药至所述受试者。

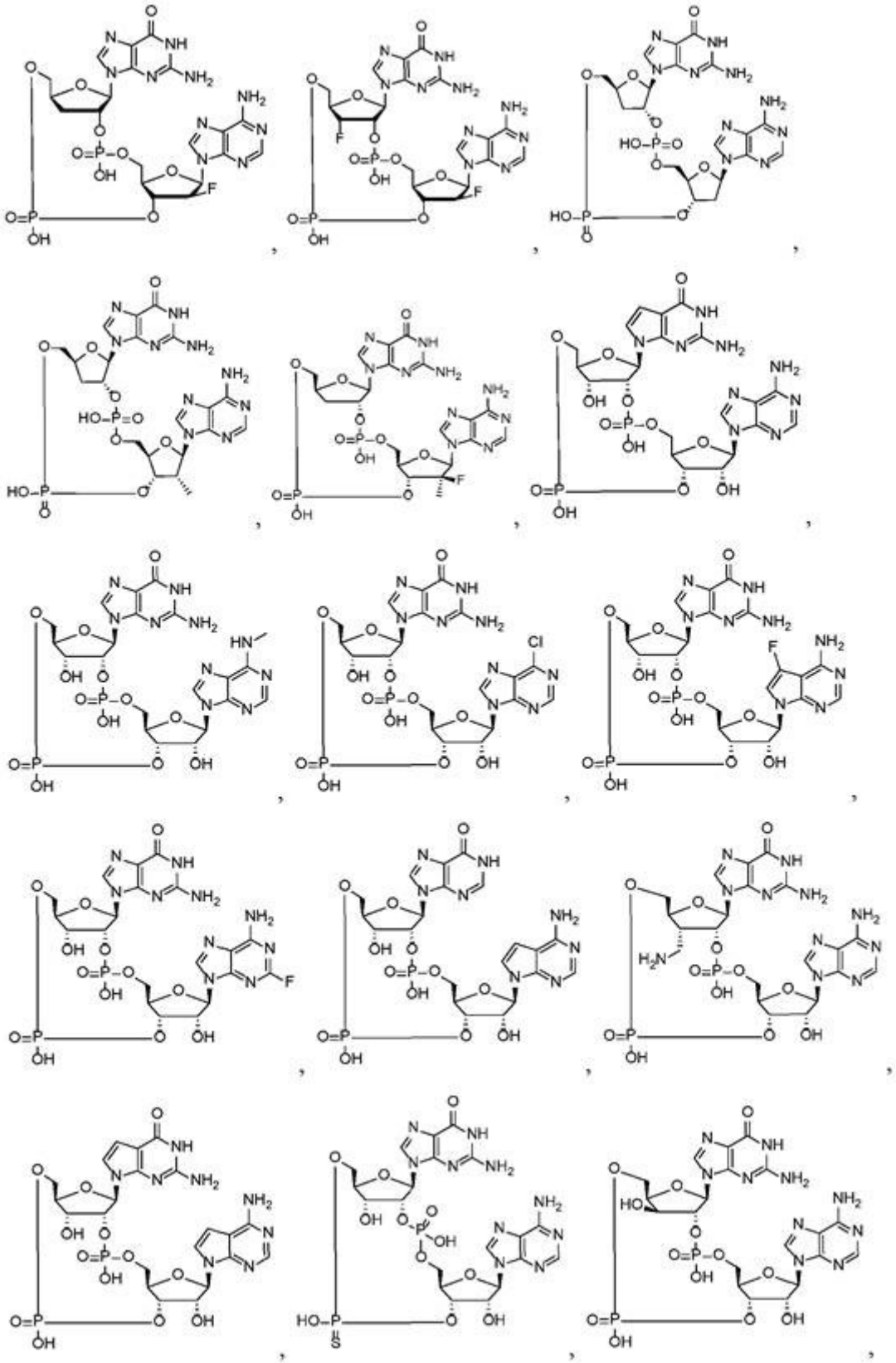
[0167] 在一个额外实施方案中，所述化合物选自：

[0168] 

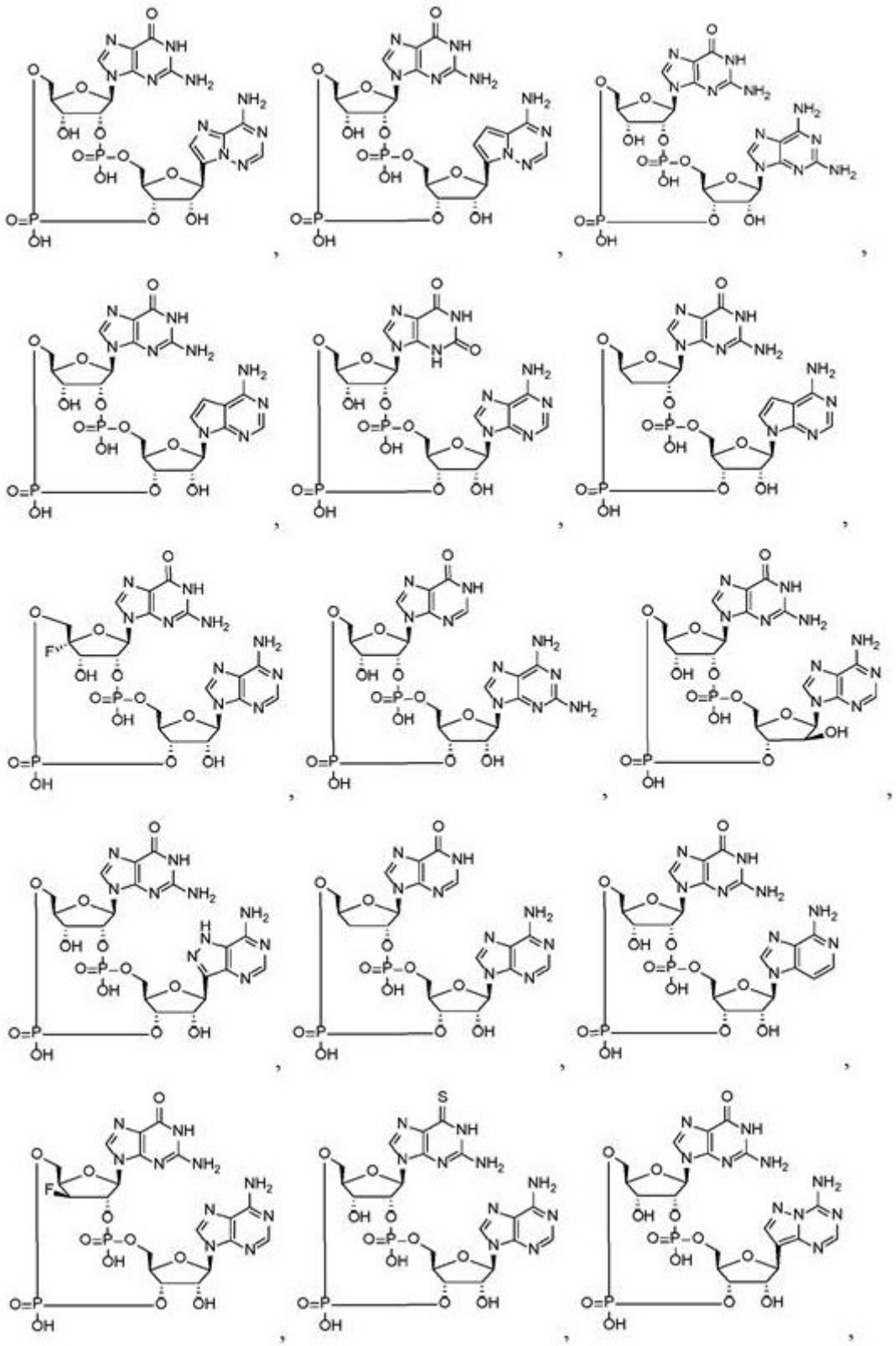
[0169]

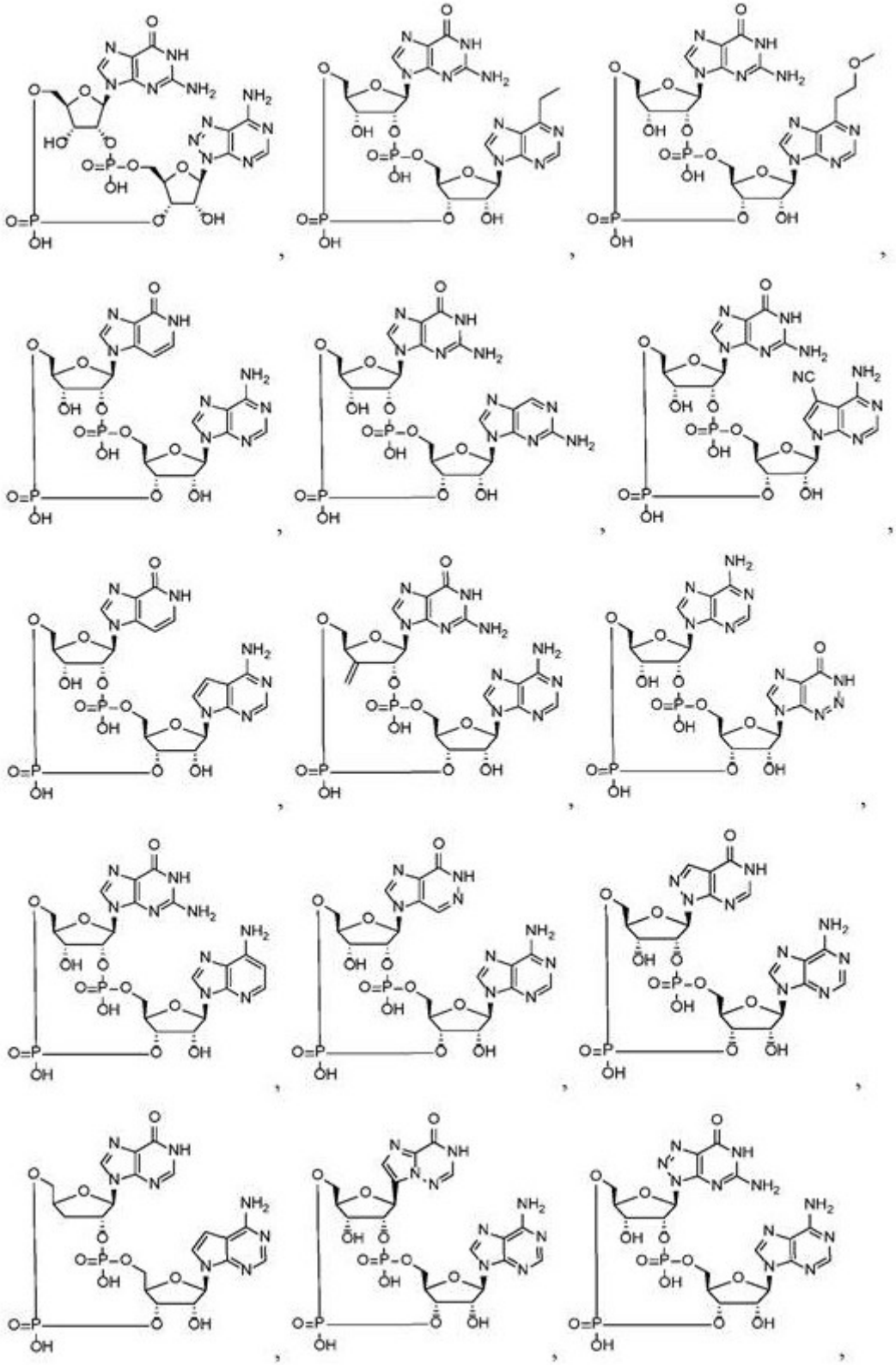


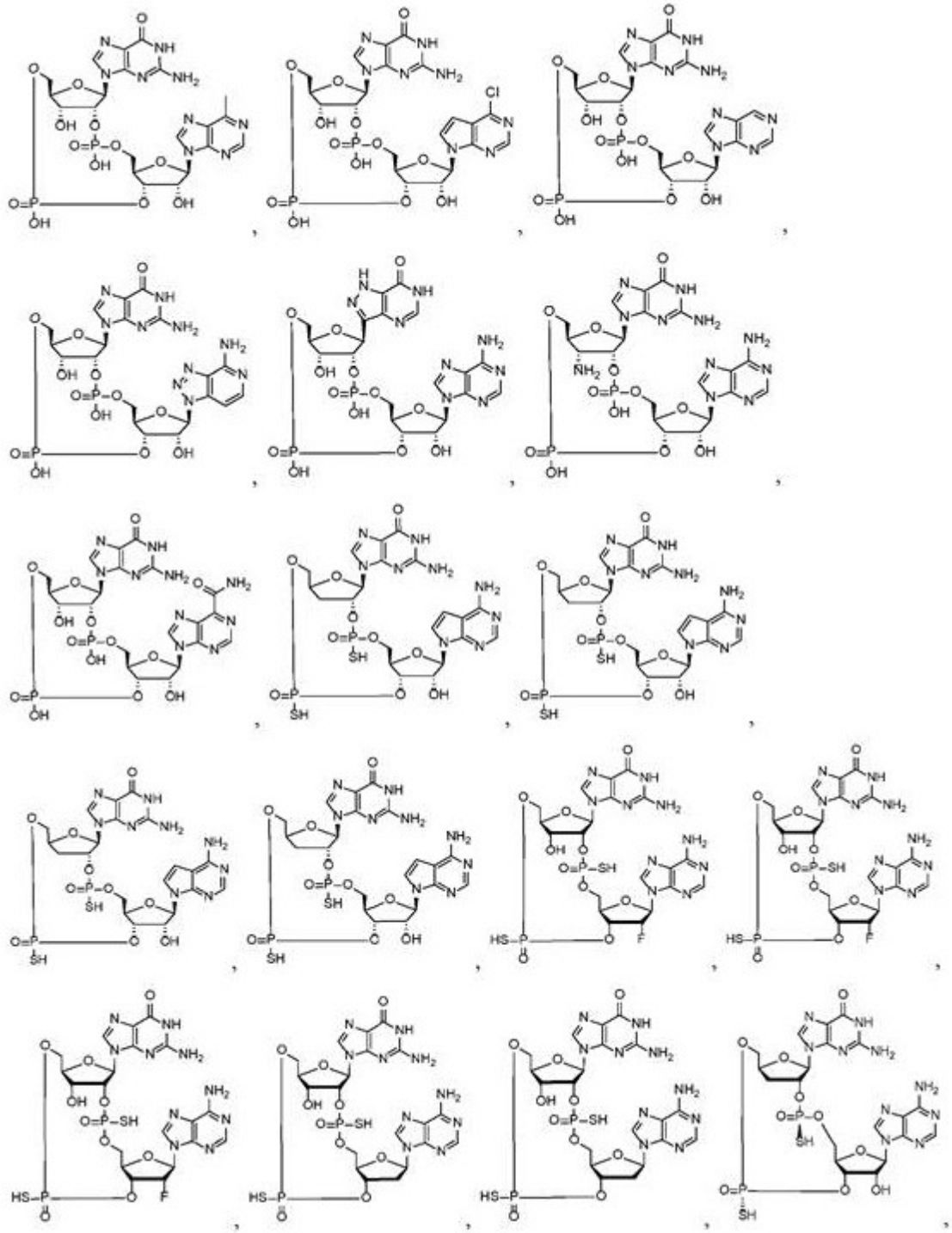
[0170]

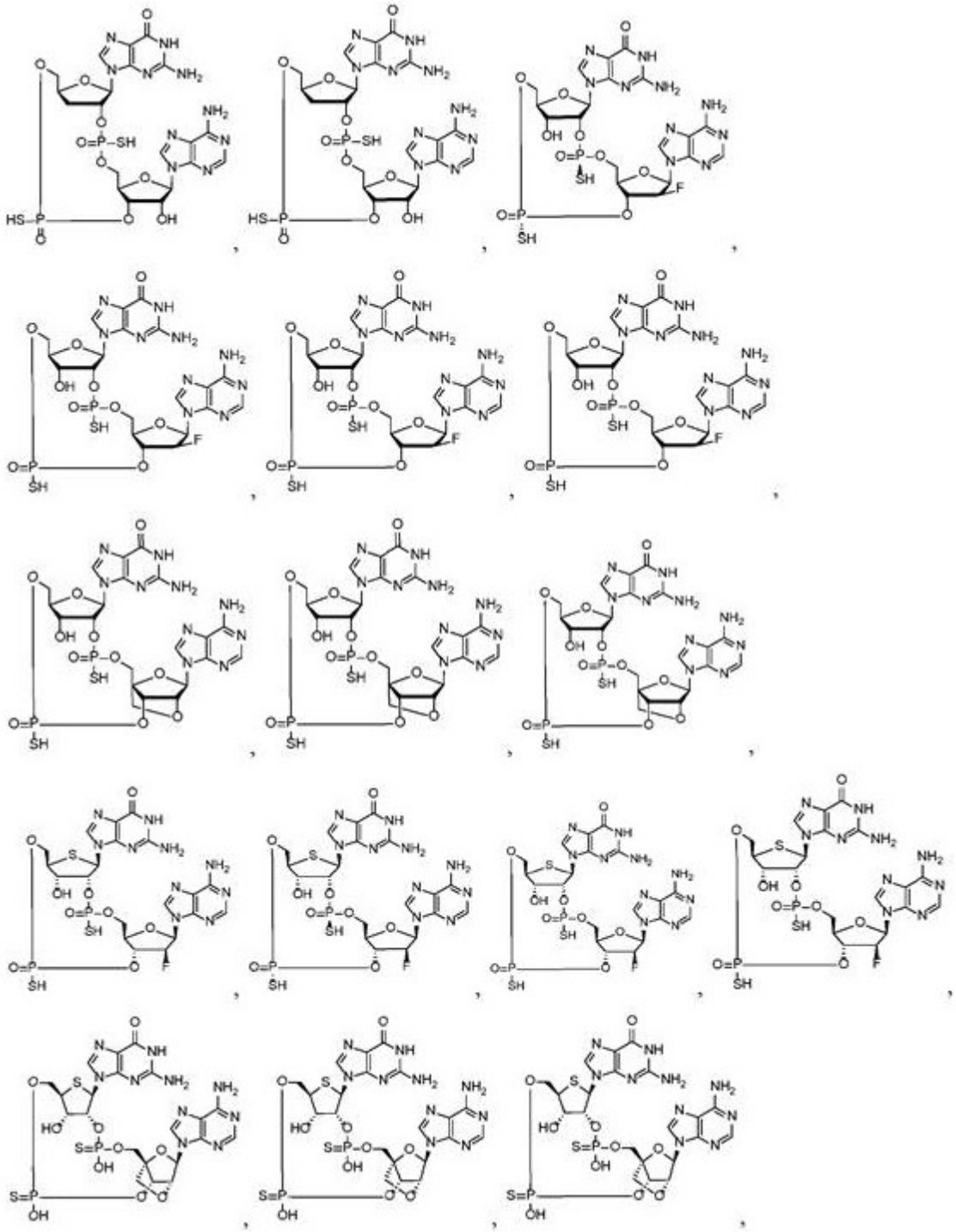


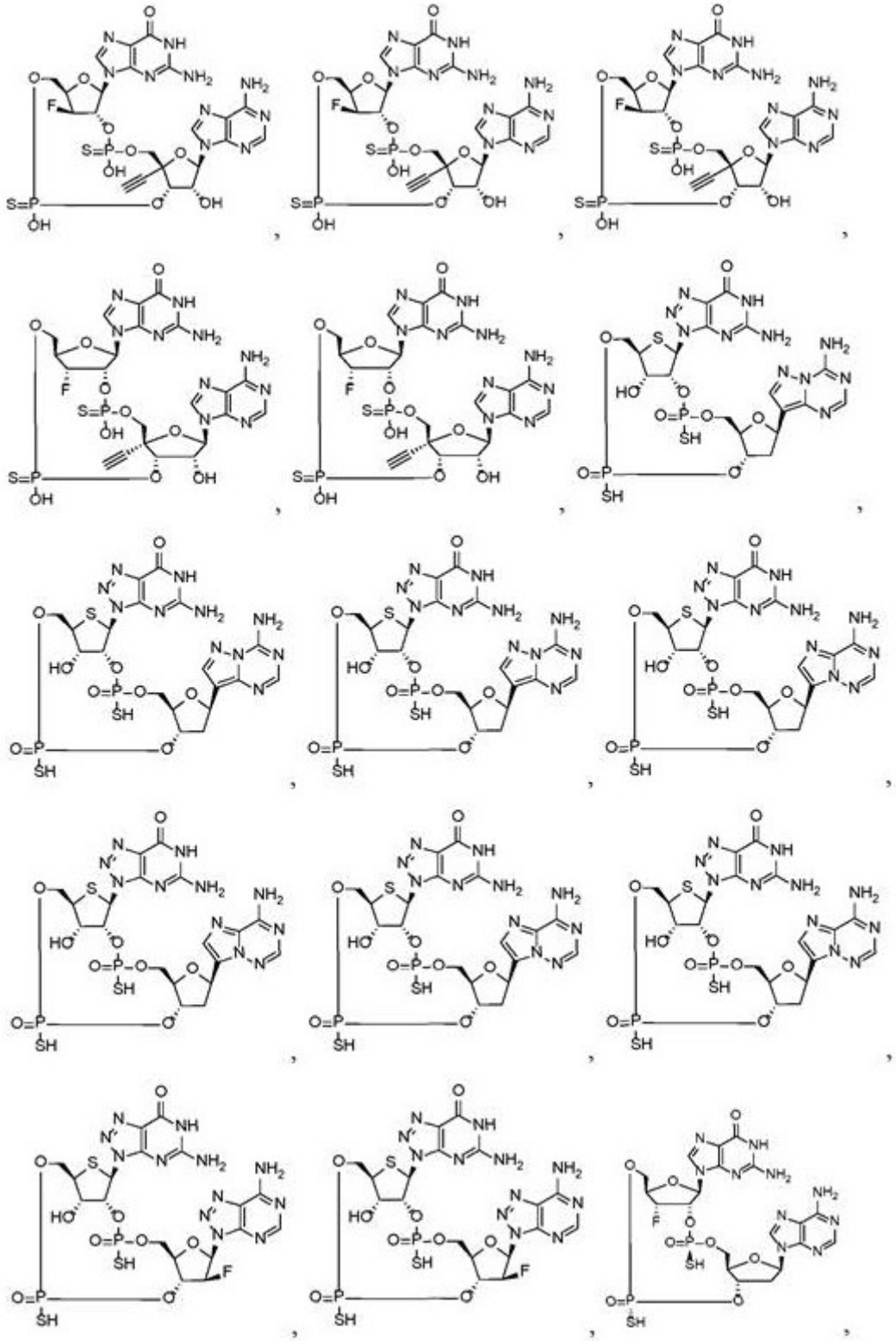
[0171]

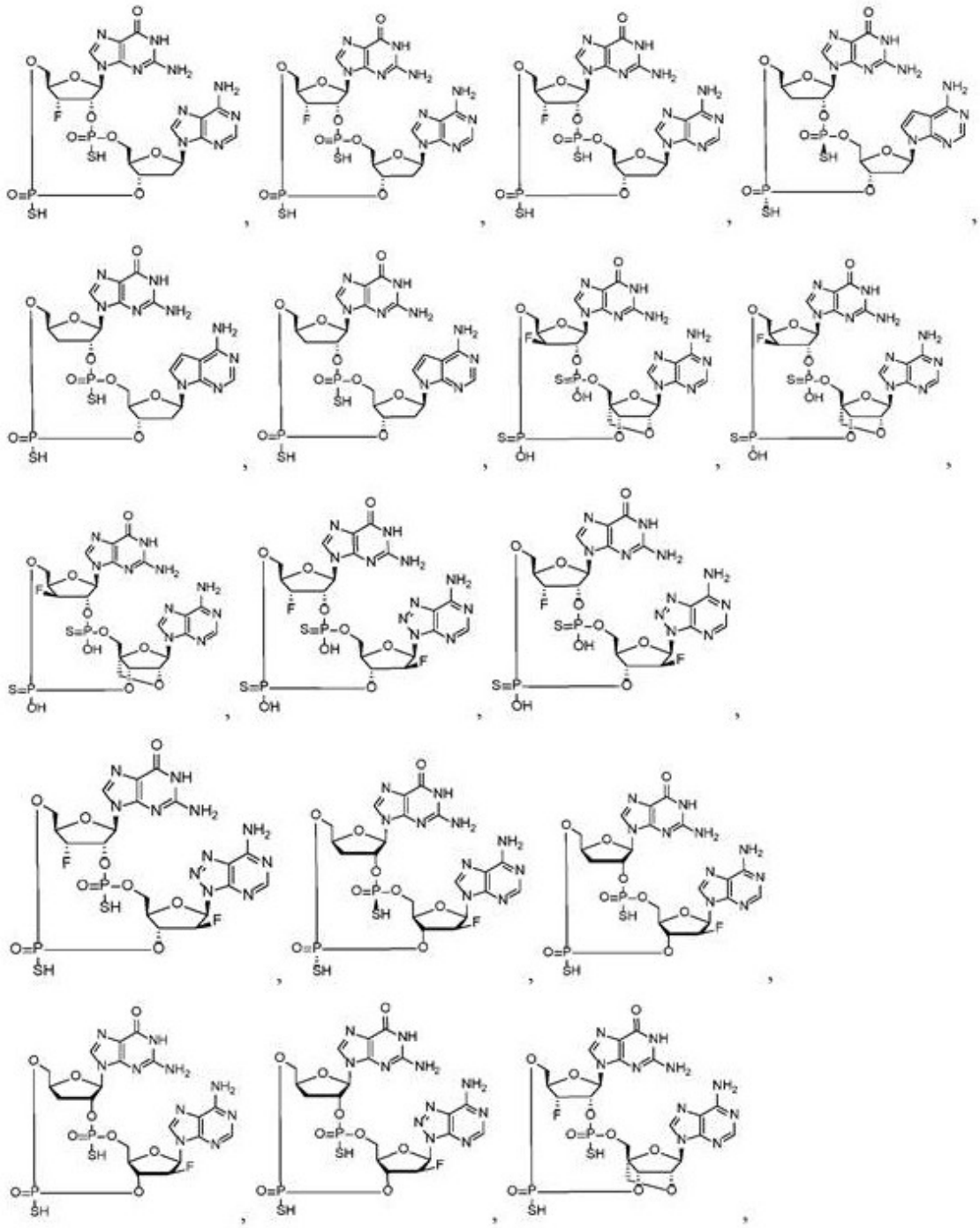


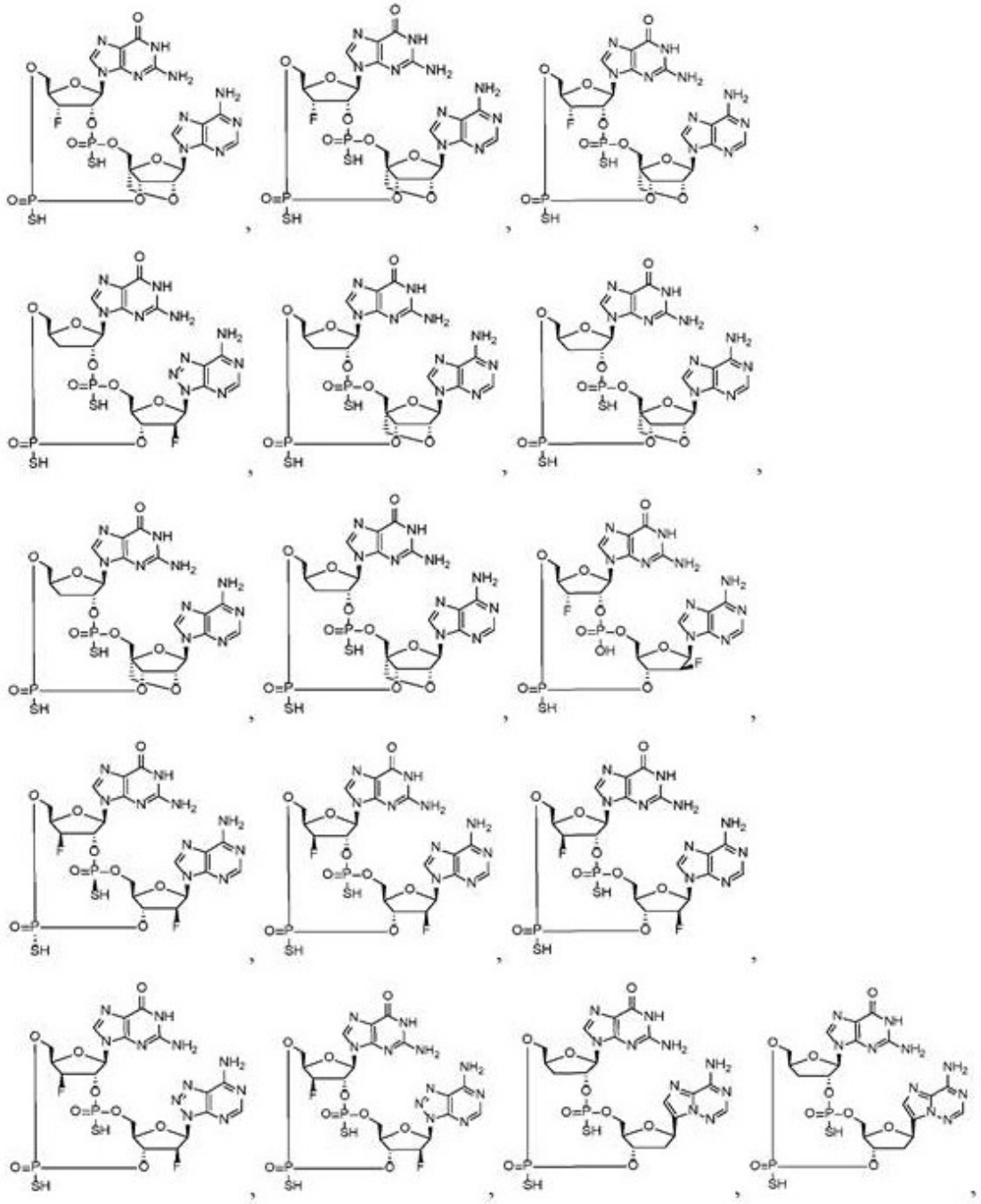
[0172] 

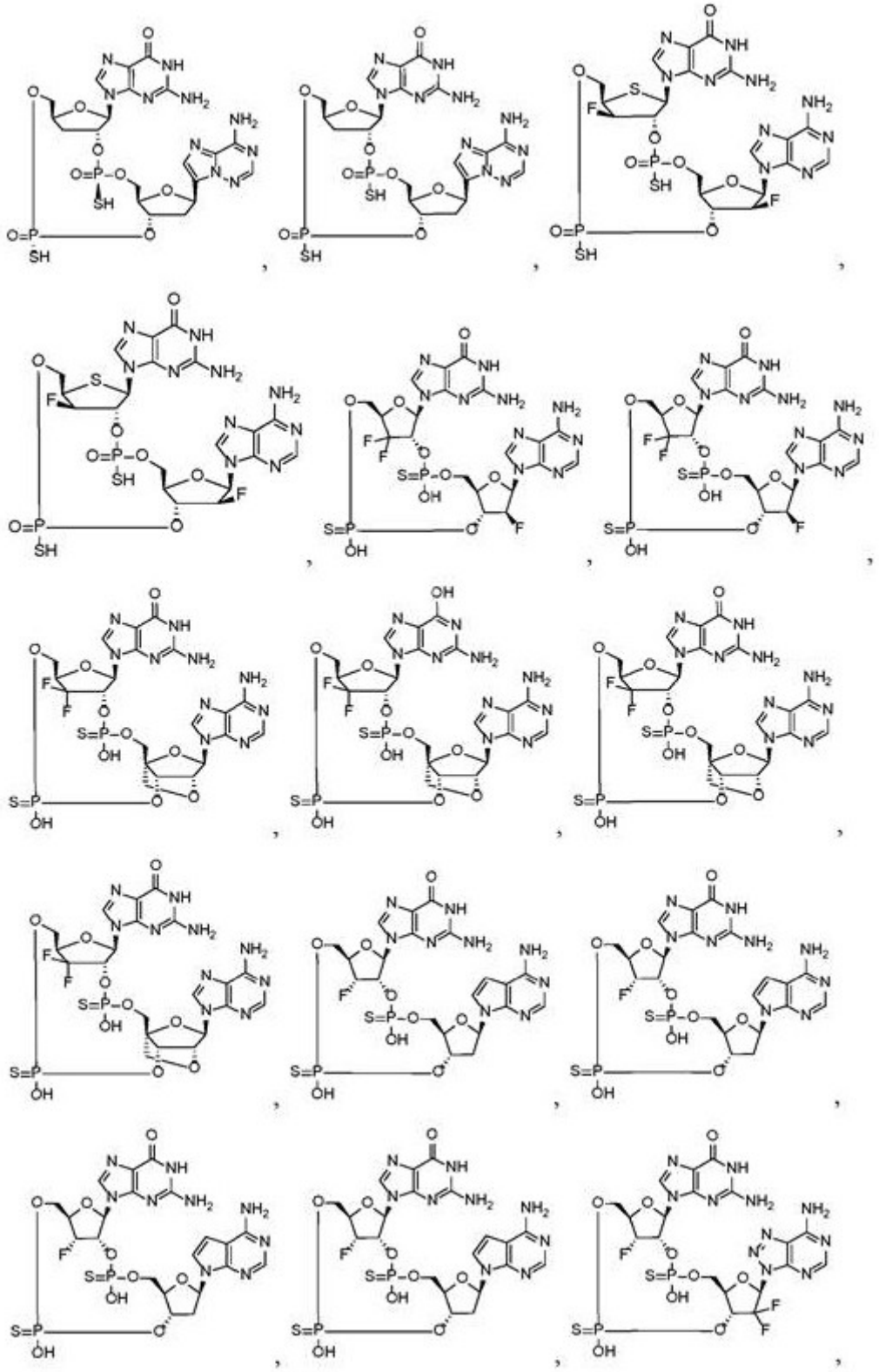
[0173] 

[0174] 

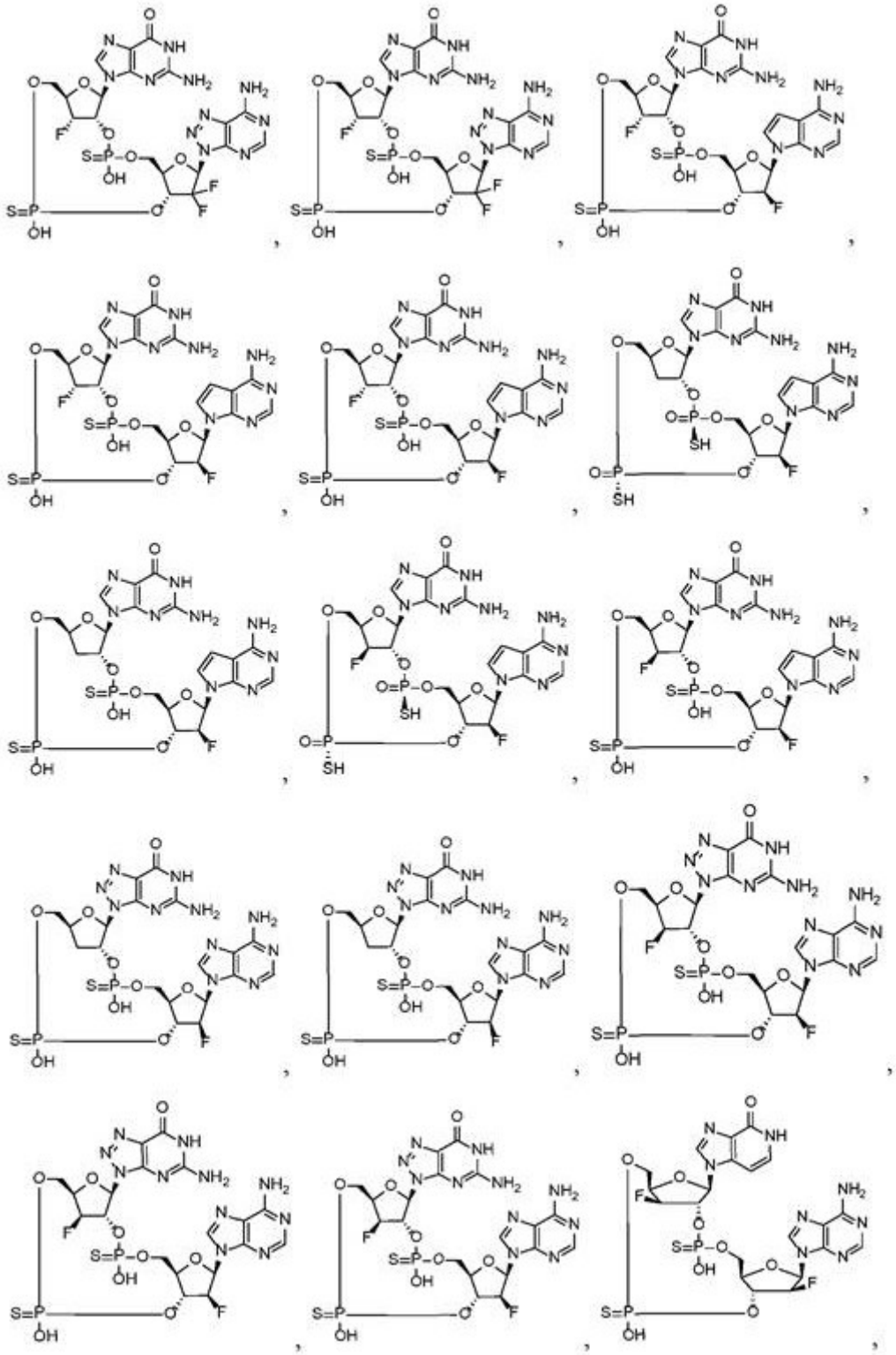
[0175] 

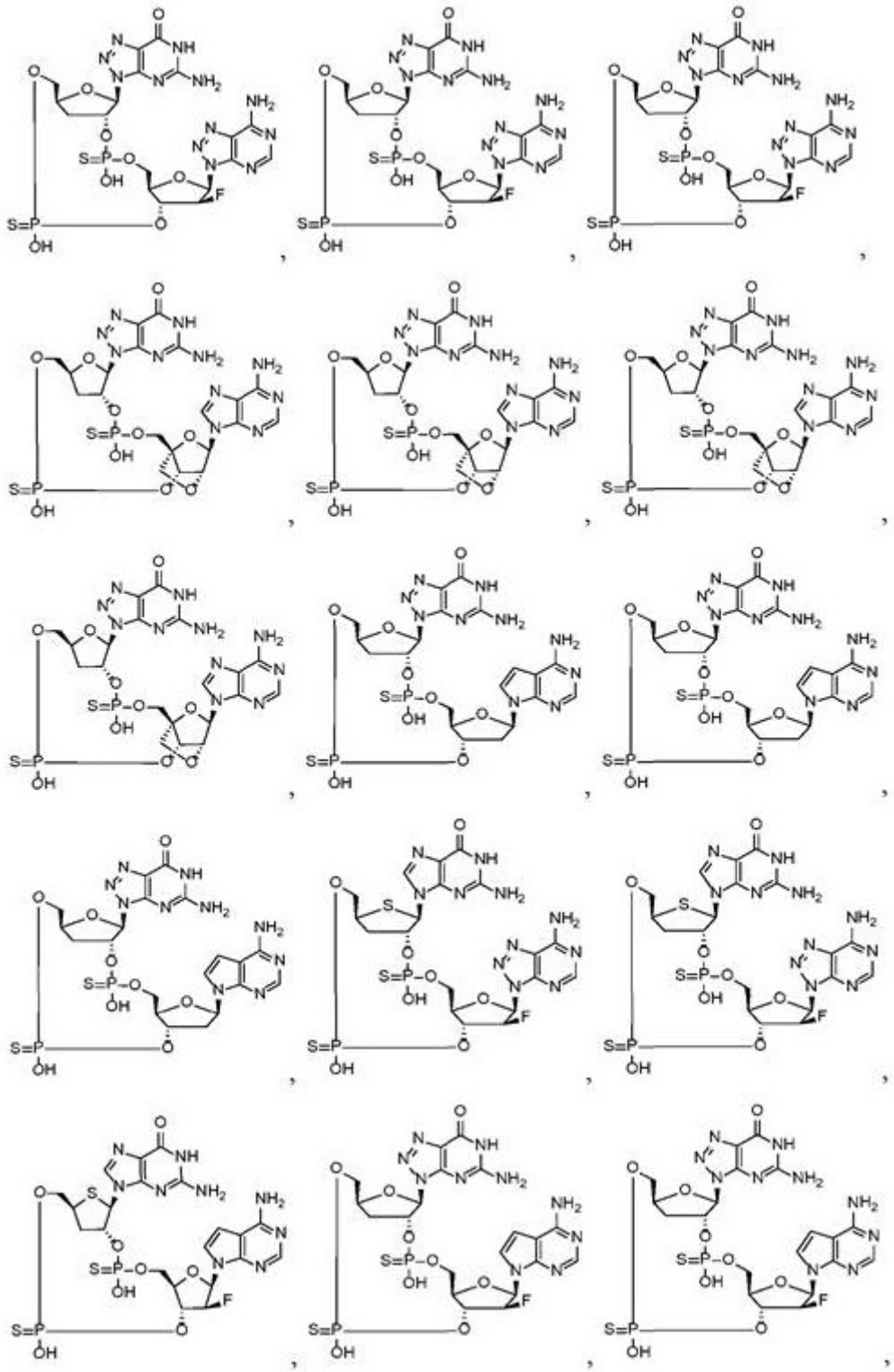
[0176] 

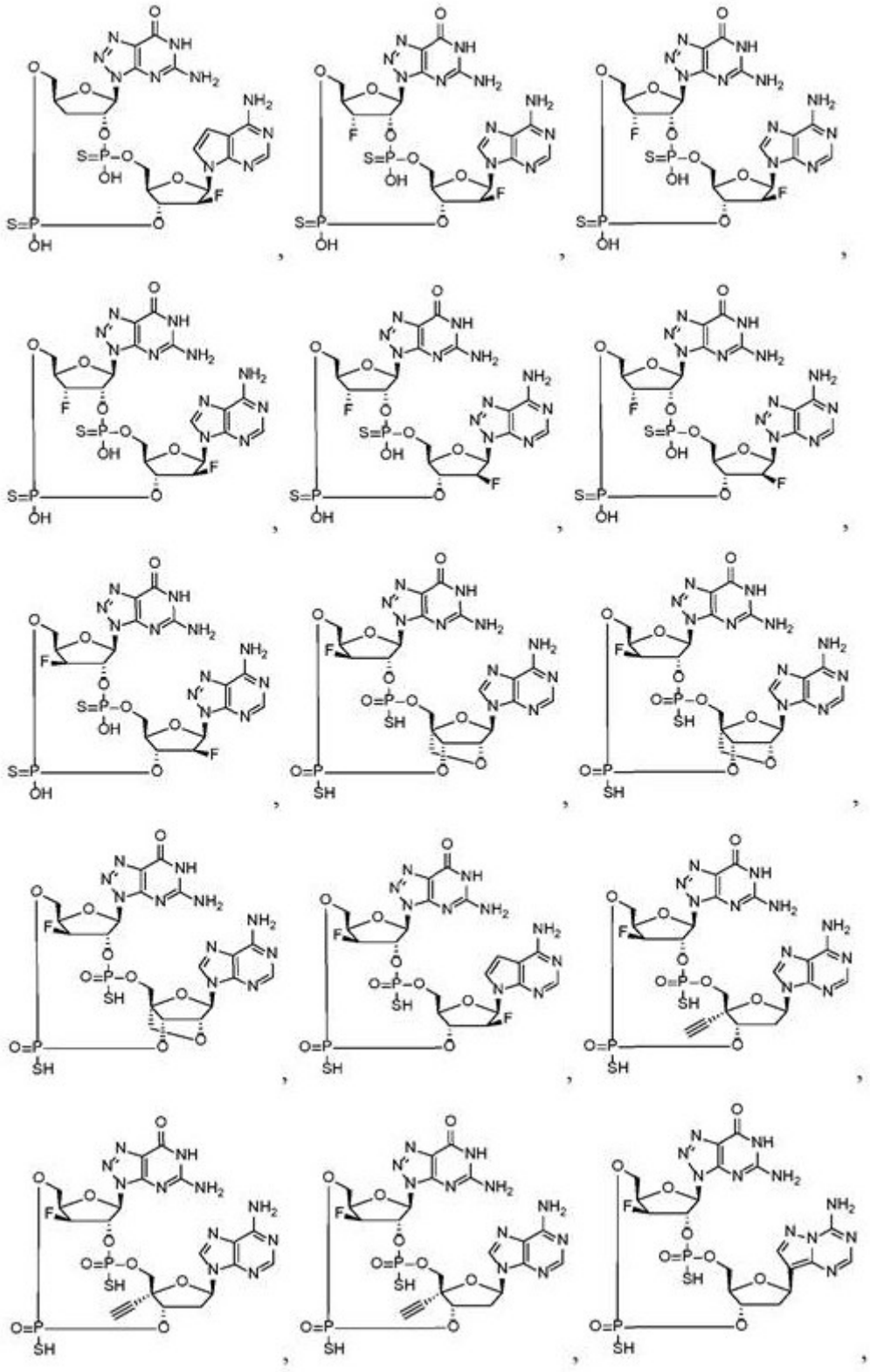
[0177] 

[0178] 

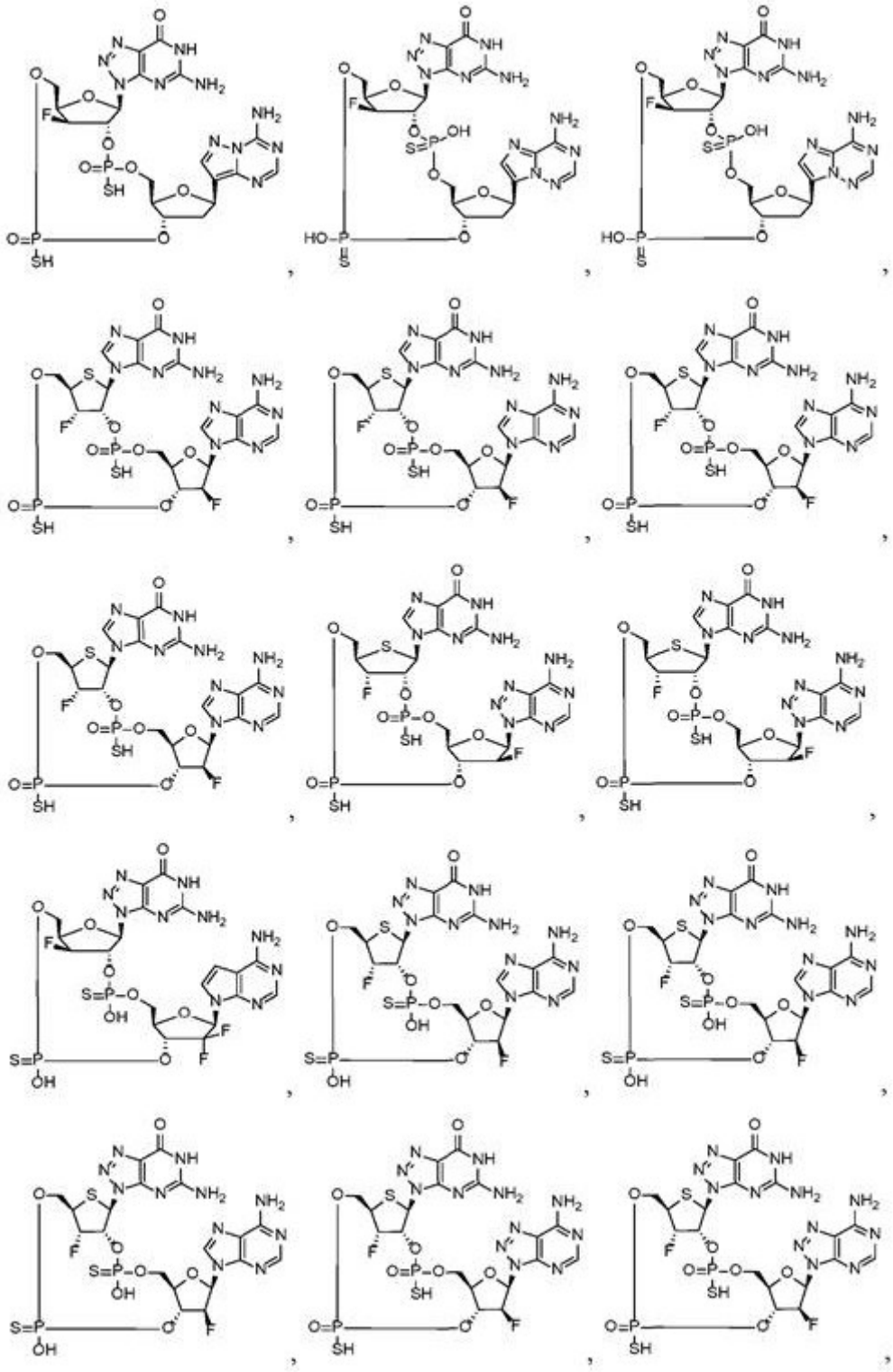
[0179]



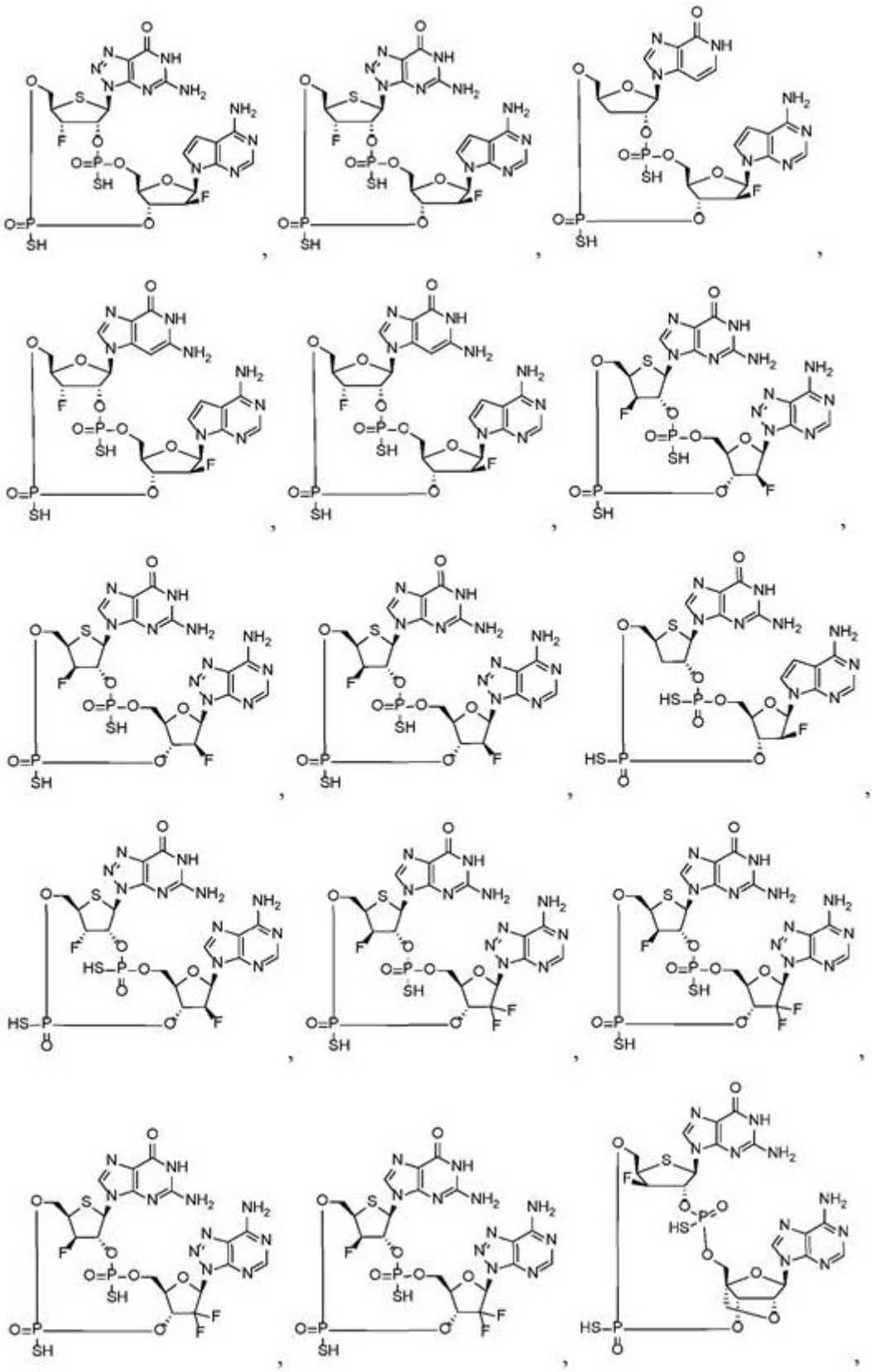
[0180] 

[0181] 

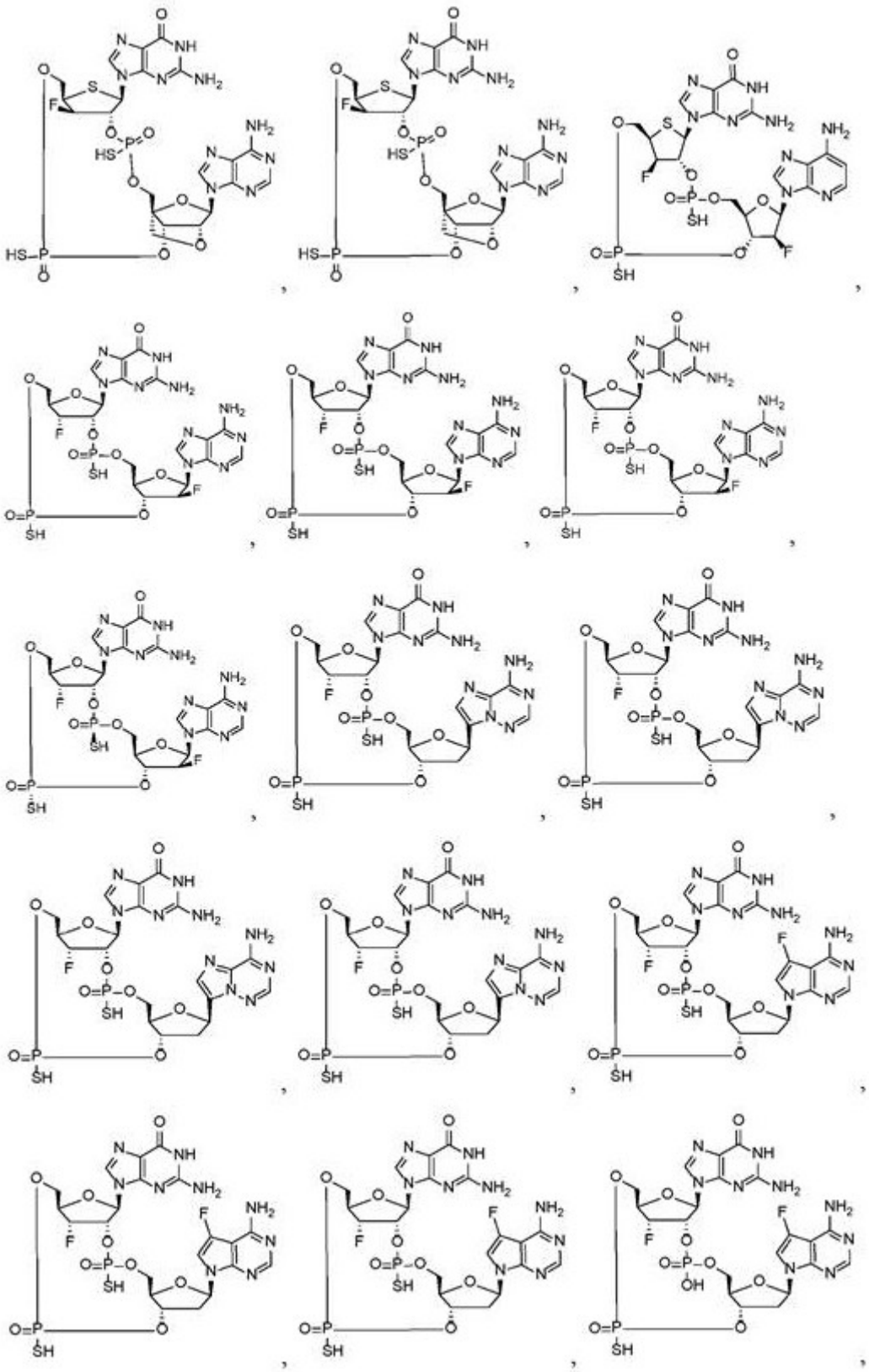
[0182]

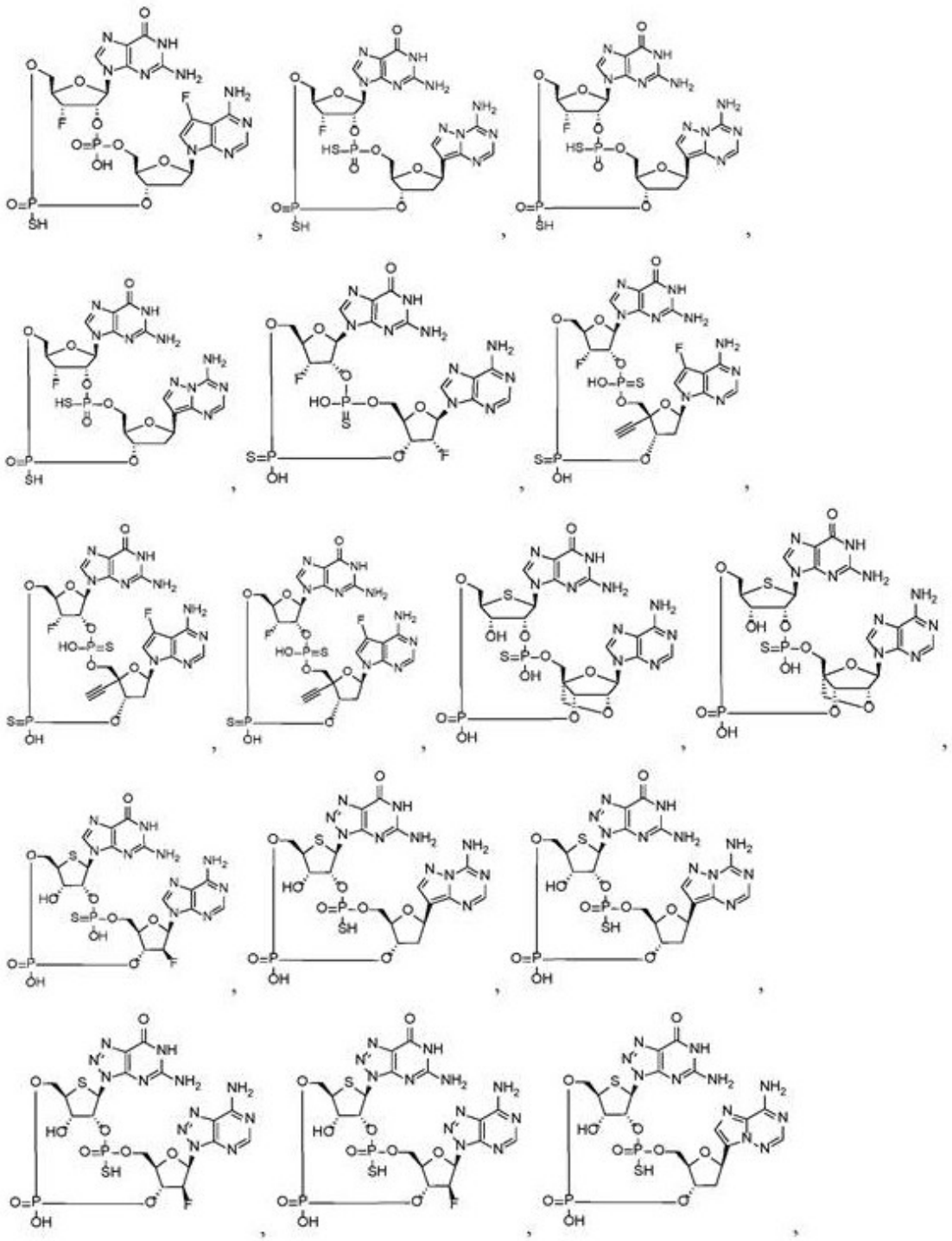


[0183]

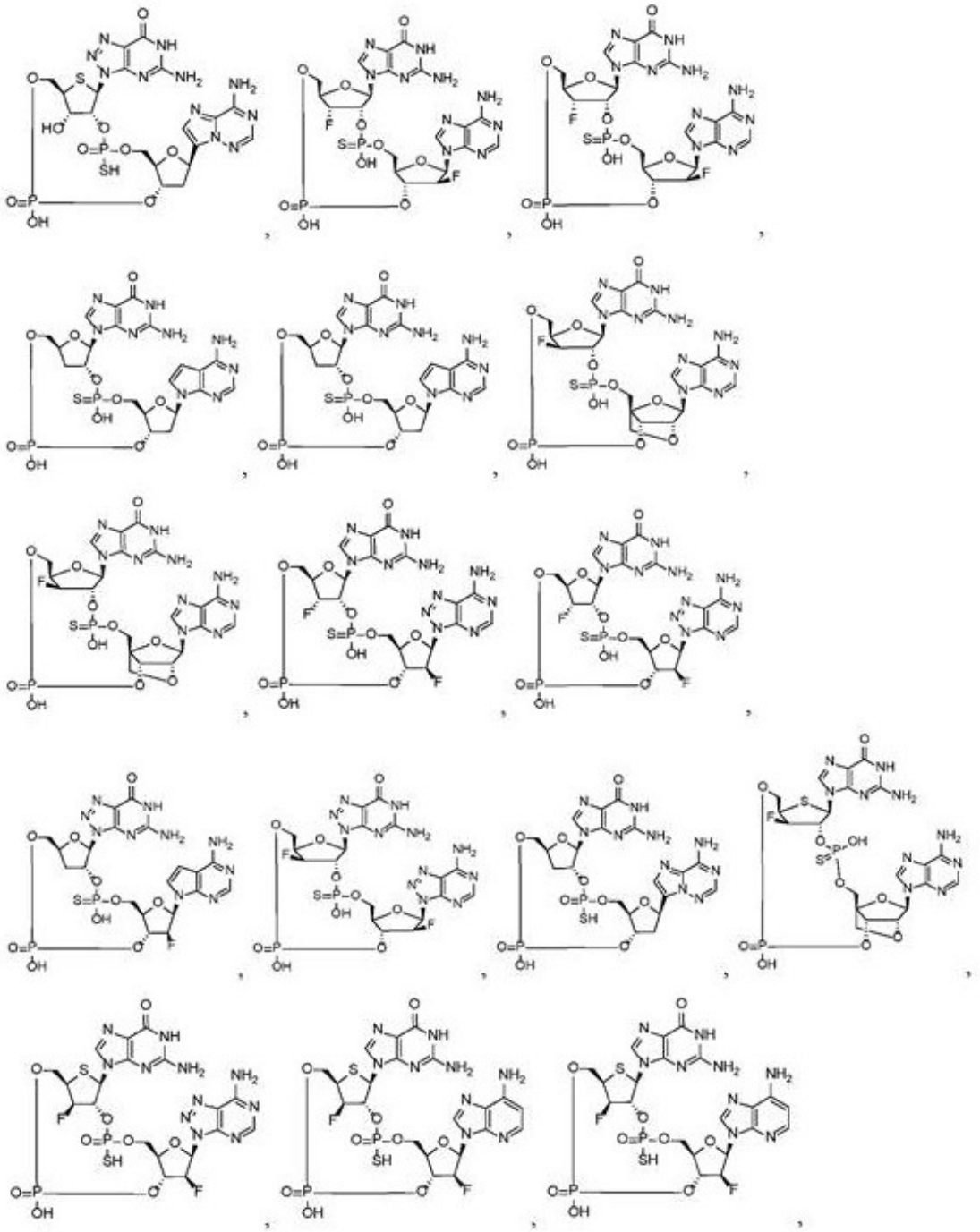


[0184]

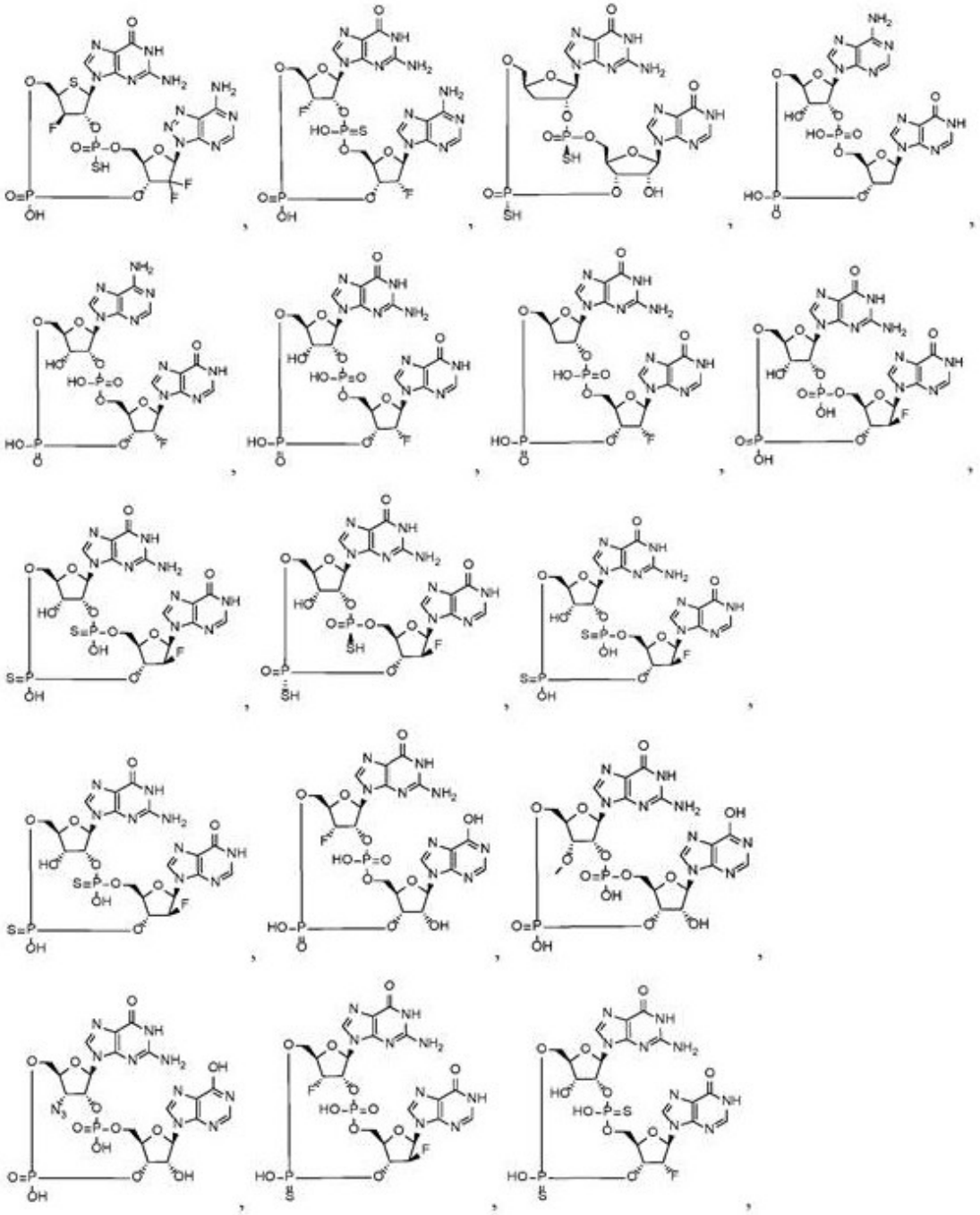


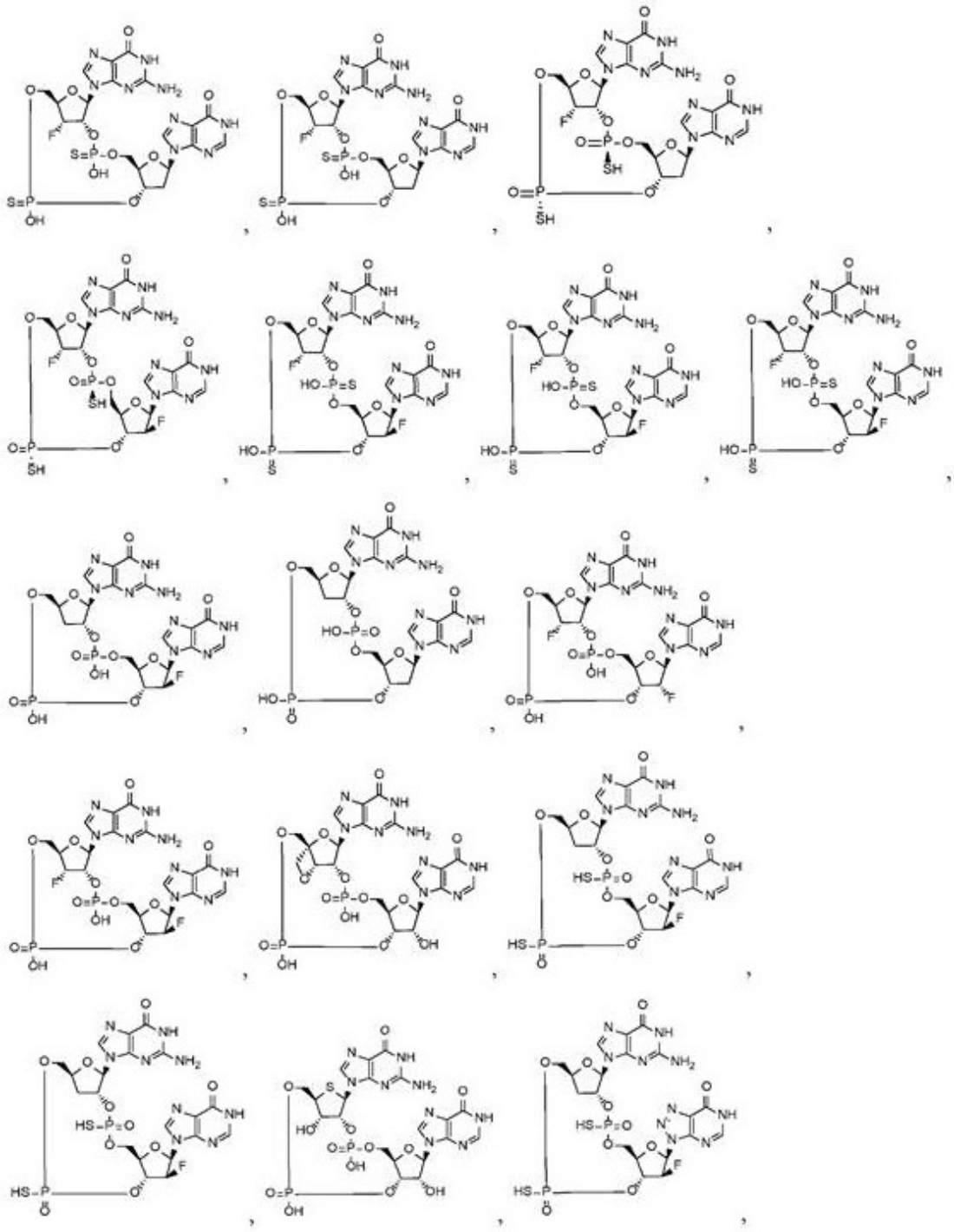
[0185] 

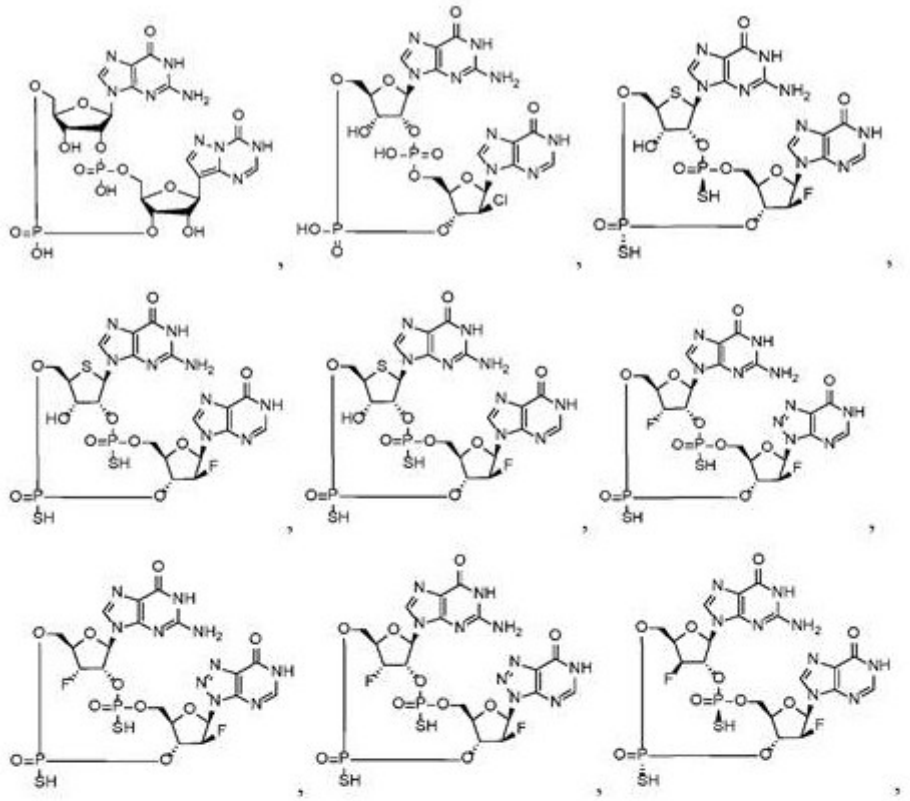
[0186]



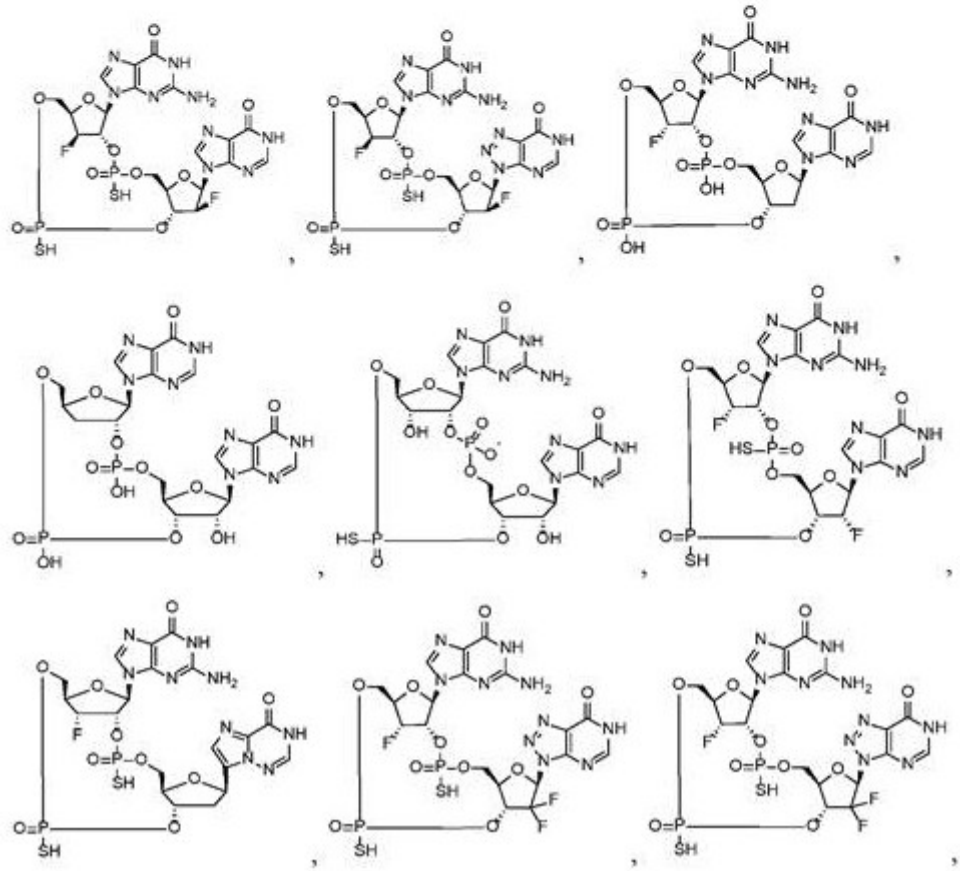
[0187]

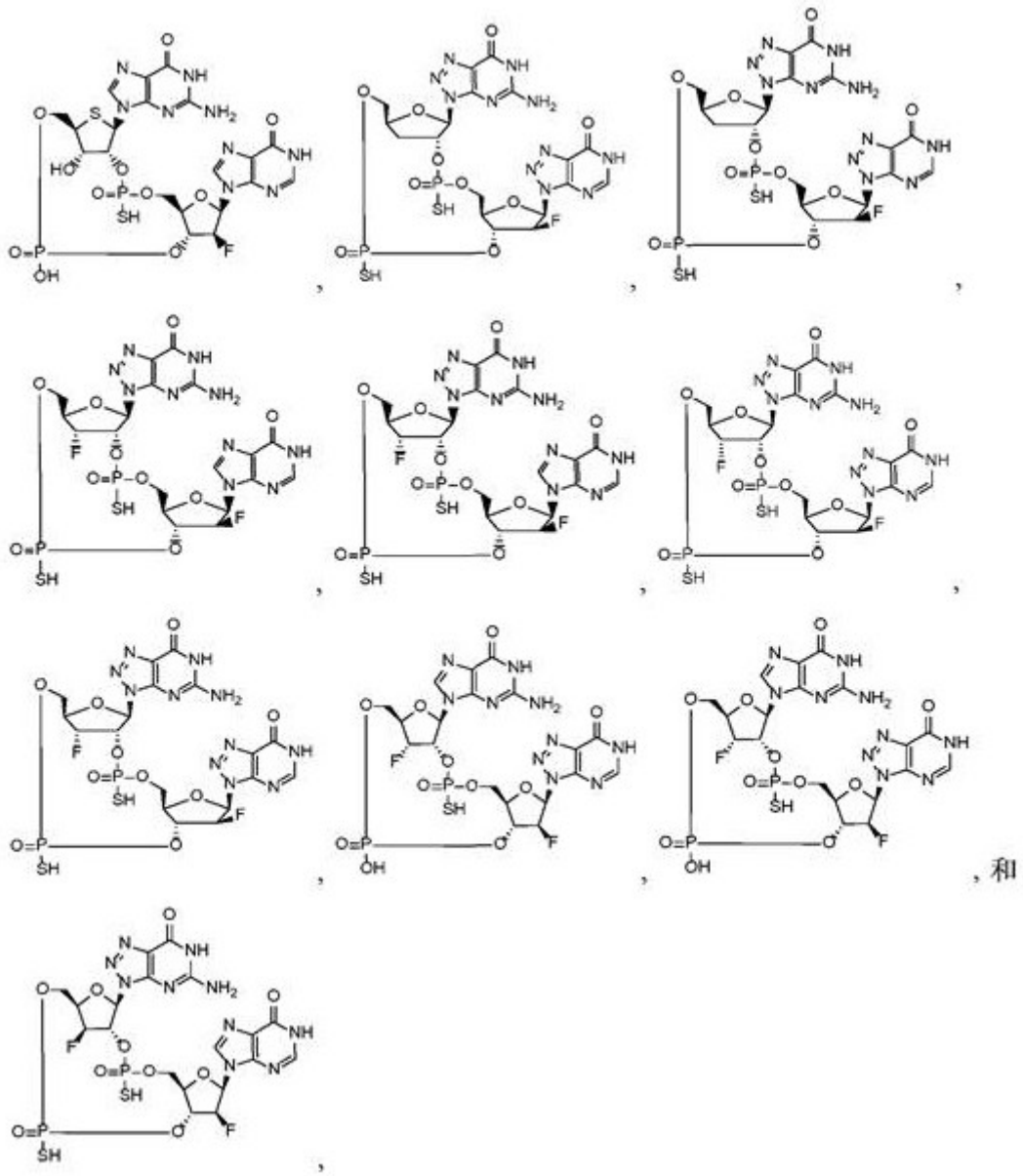


[0188] 

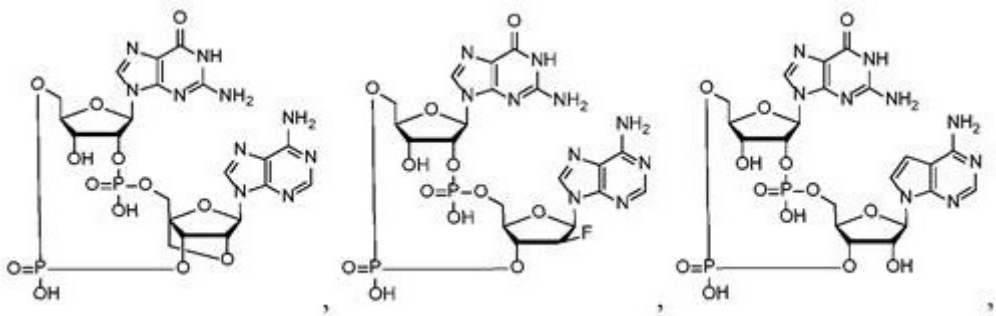


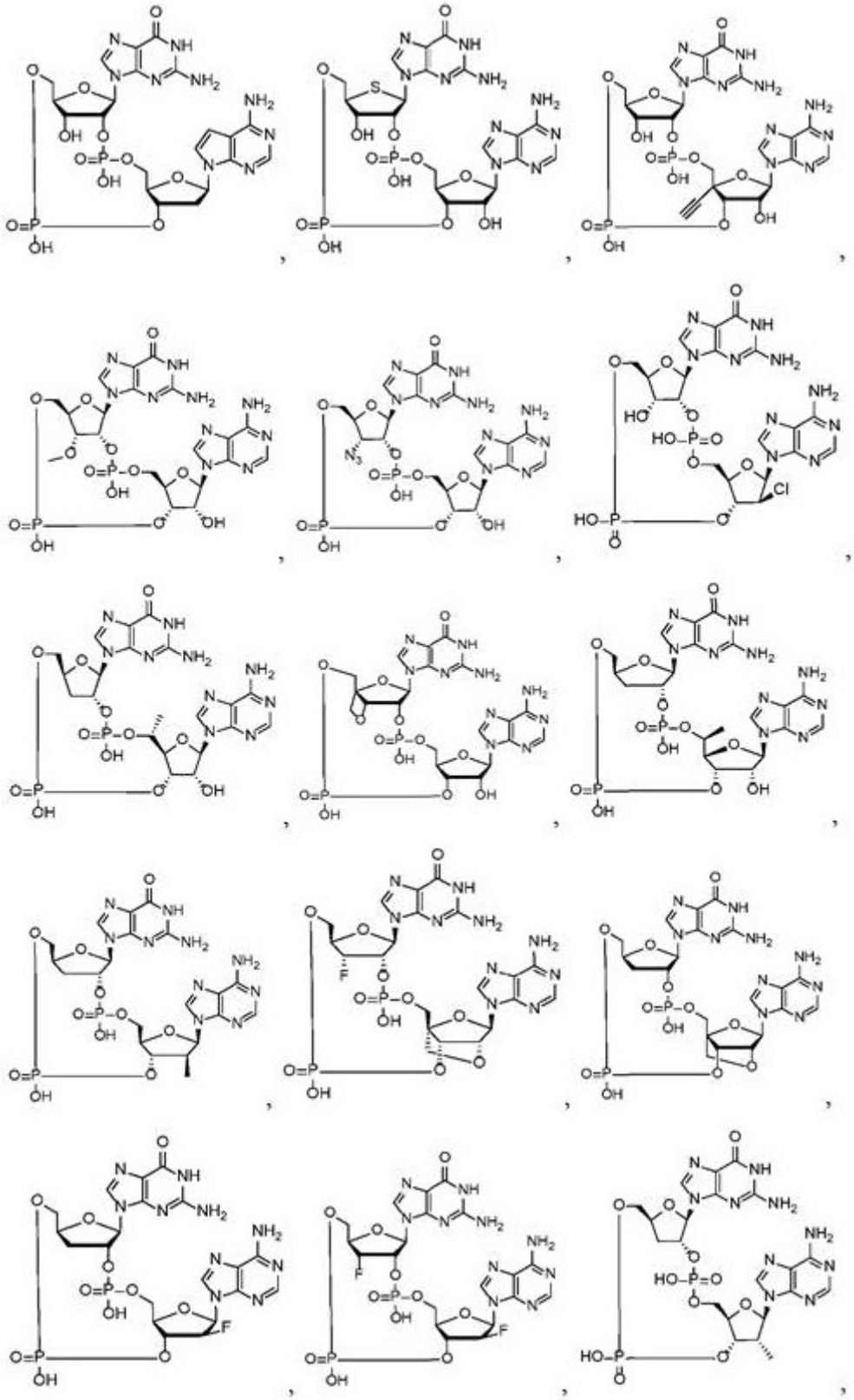
[0189]



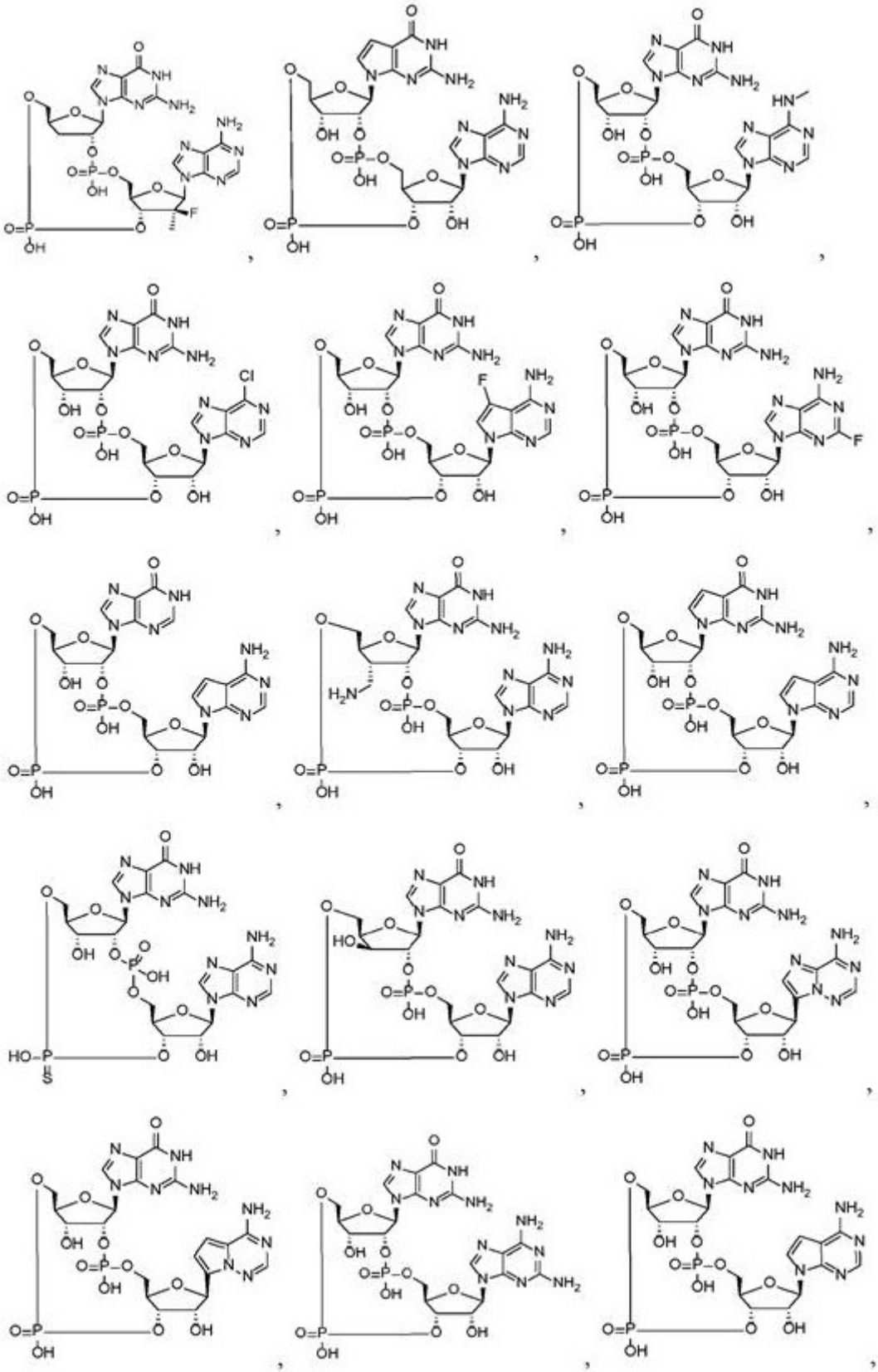
[0190] 

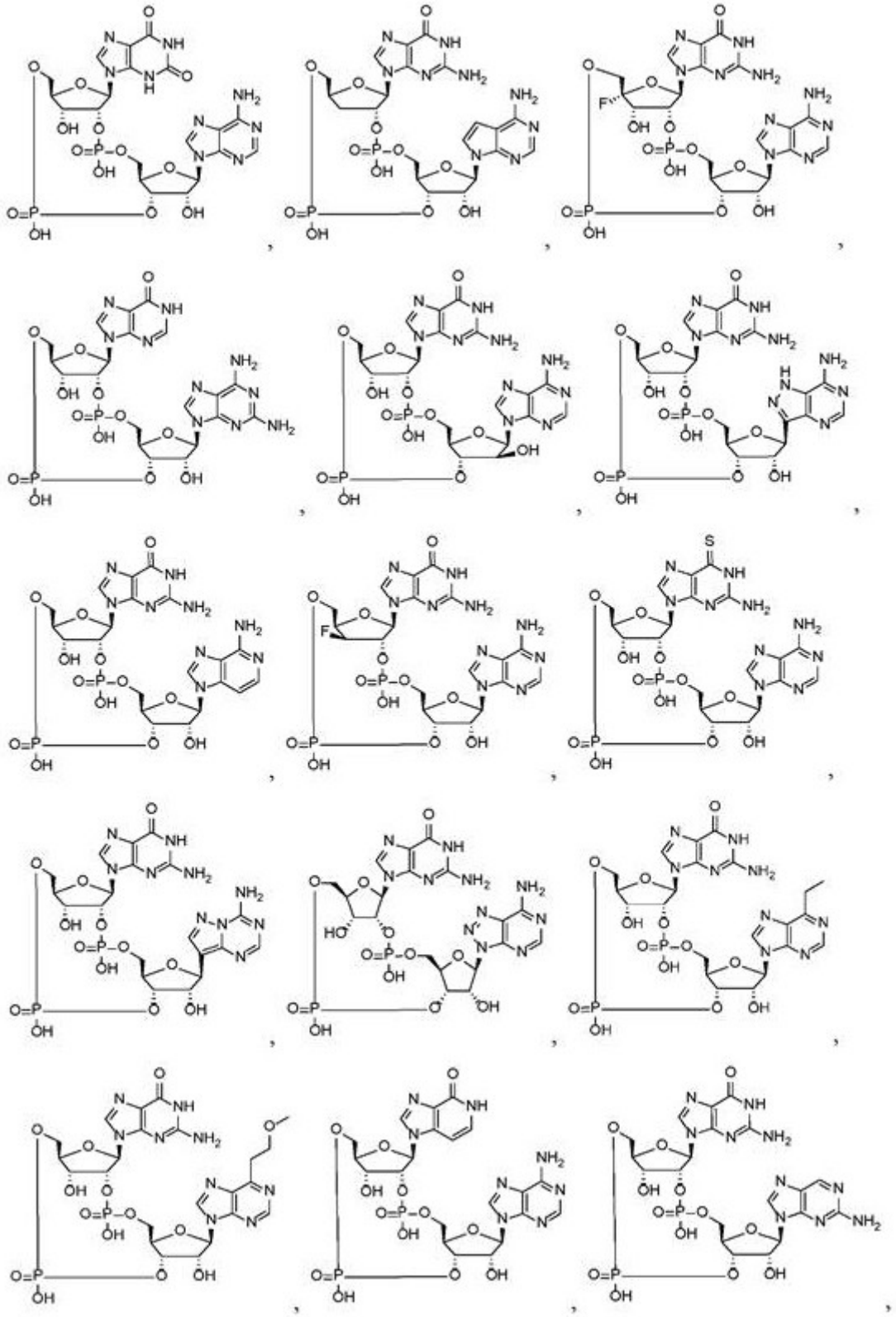
[0191] 及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。在该实施方案的方面，所述化合物选自：

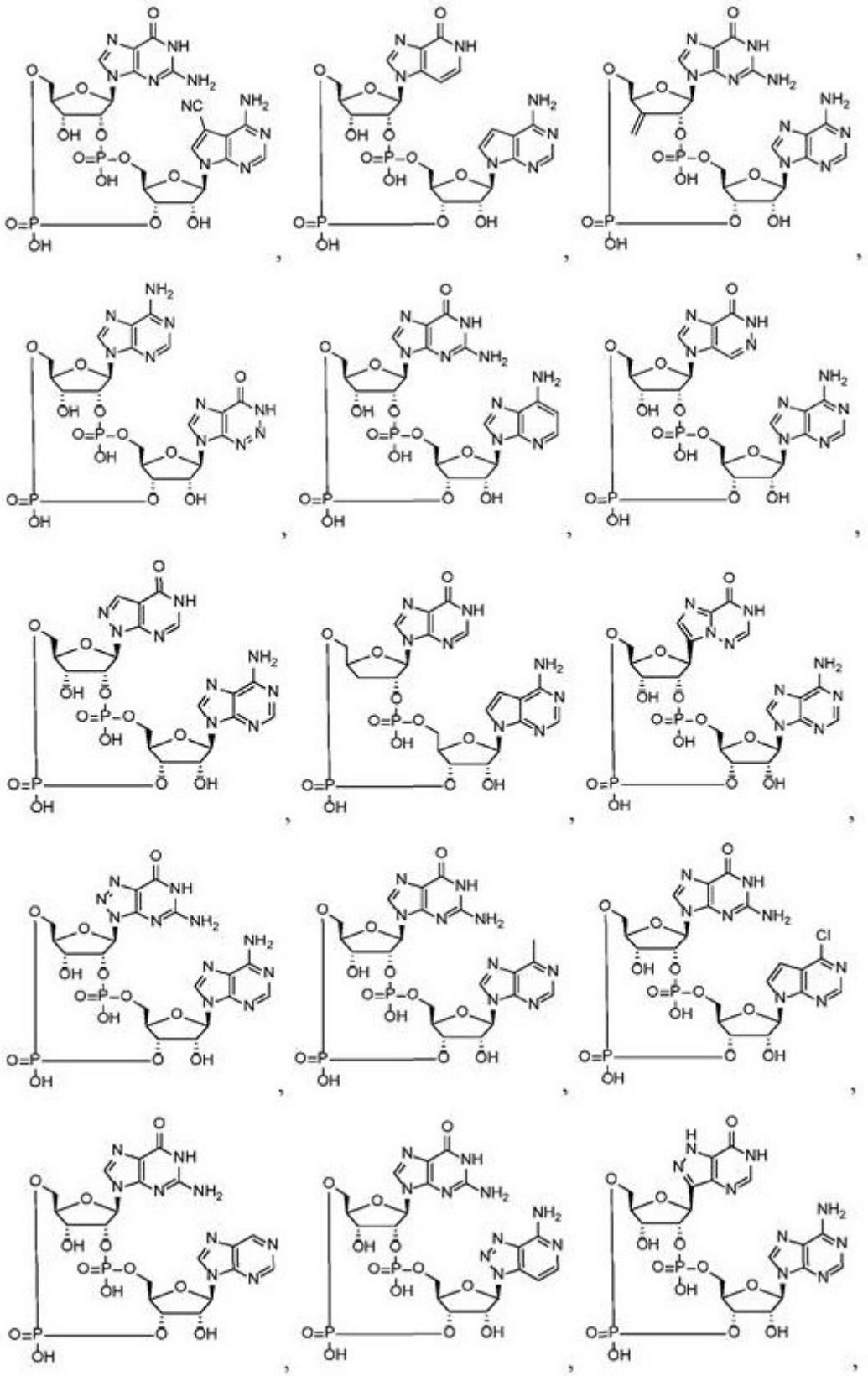
[0192] 

[0193] 

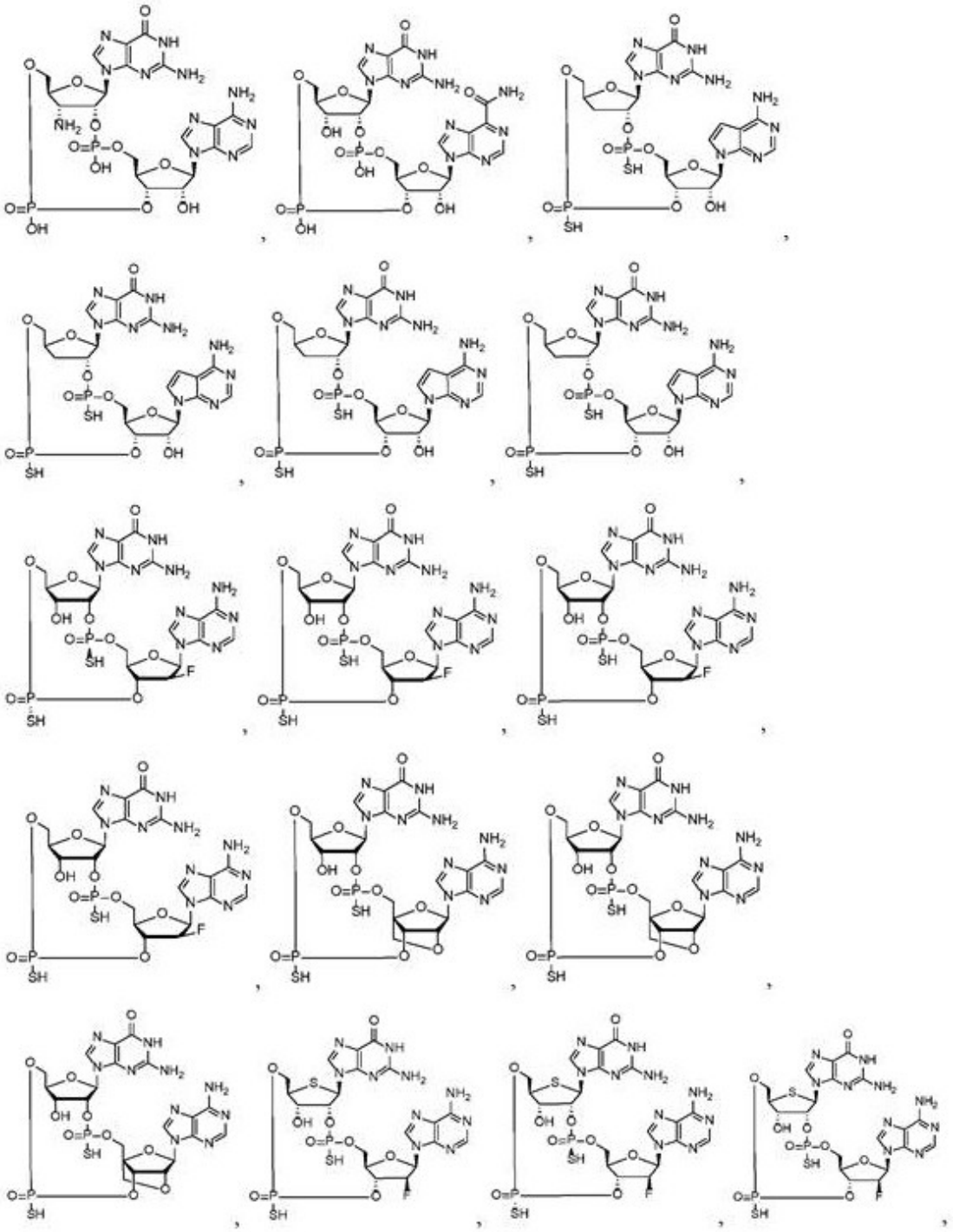
[0194]



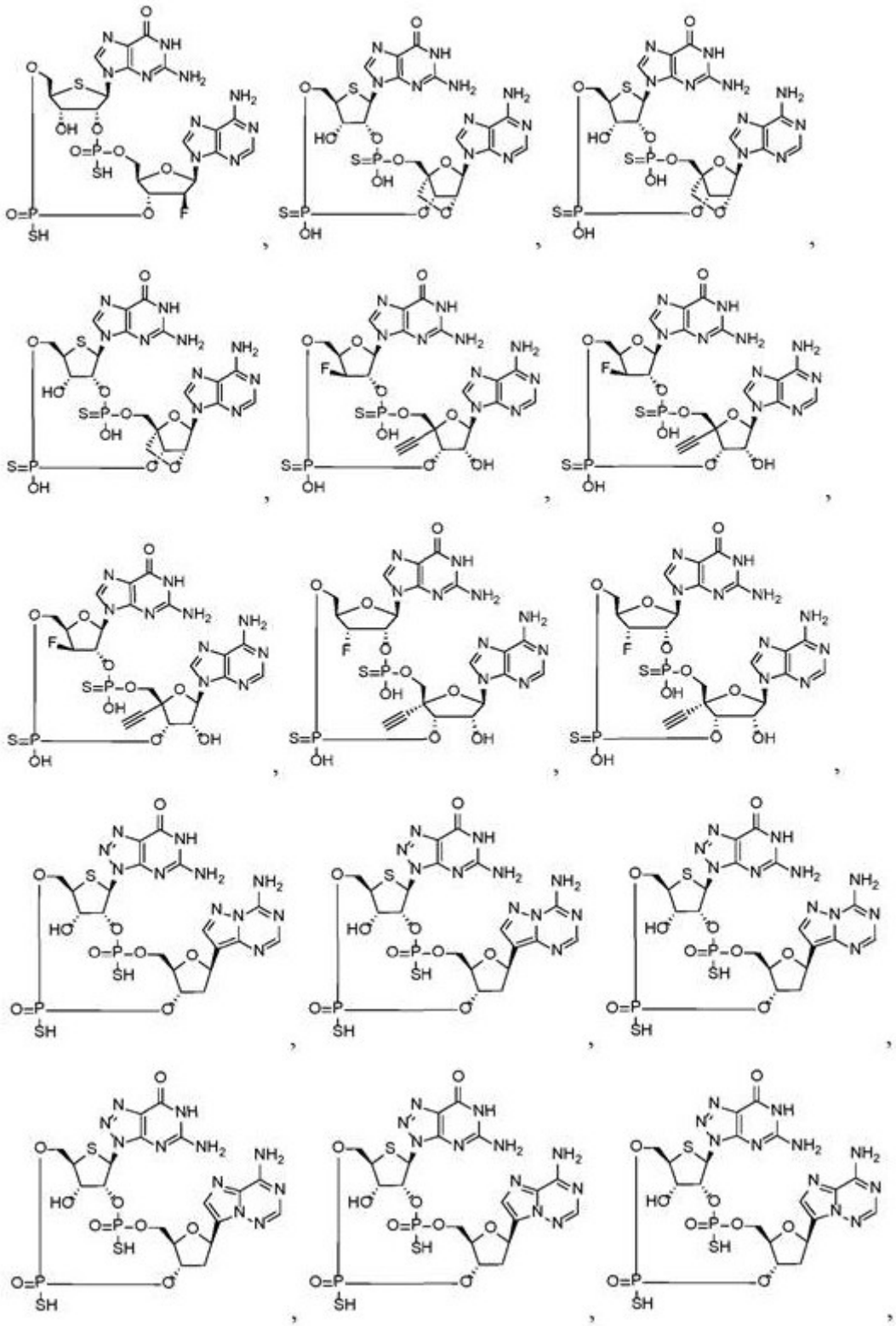
[0195] 

[0196] 

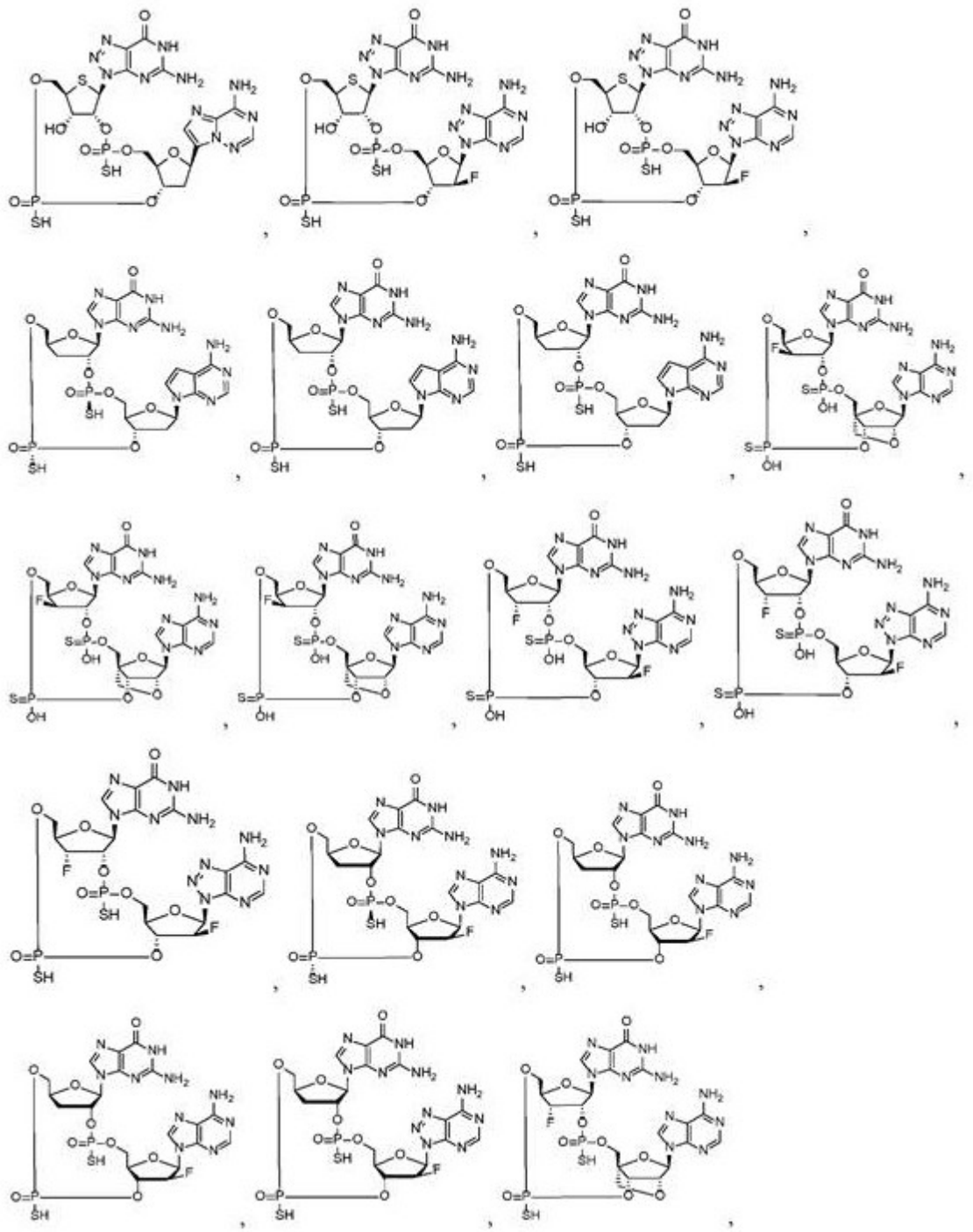
[0197]

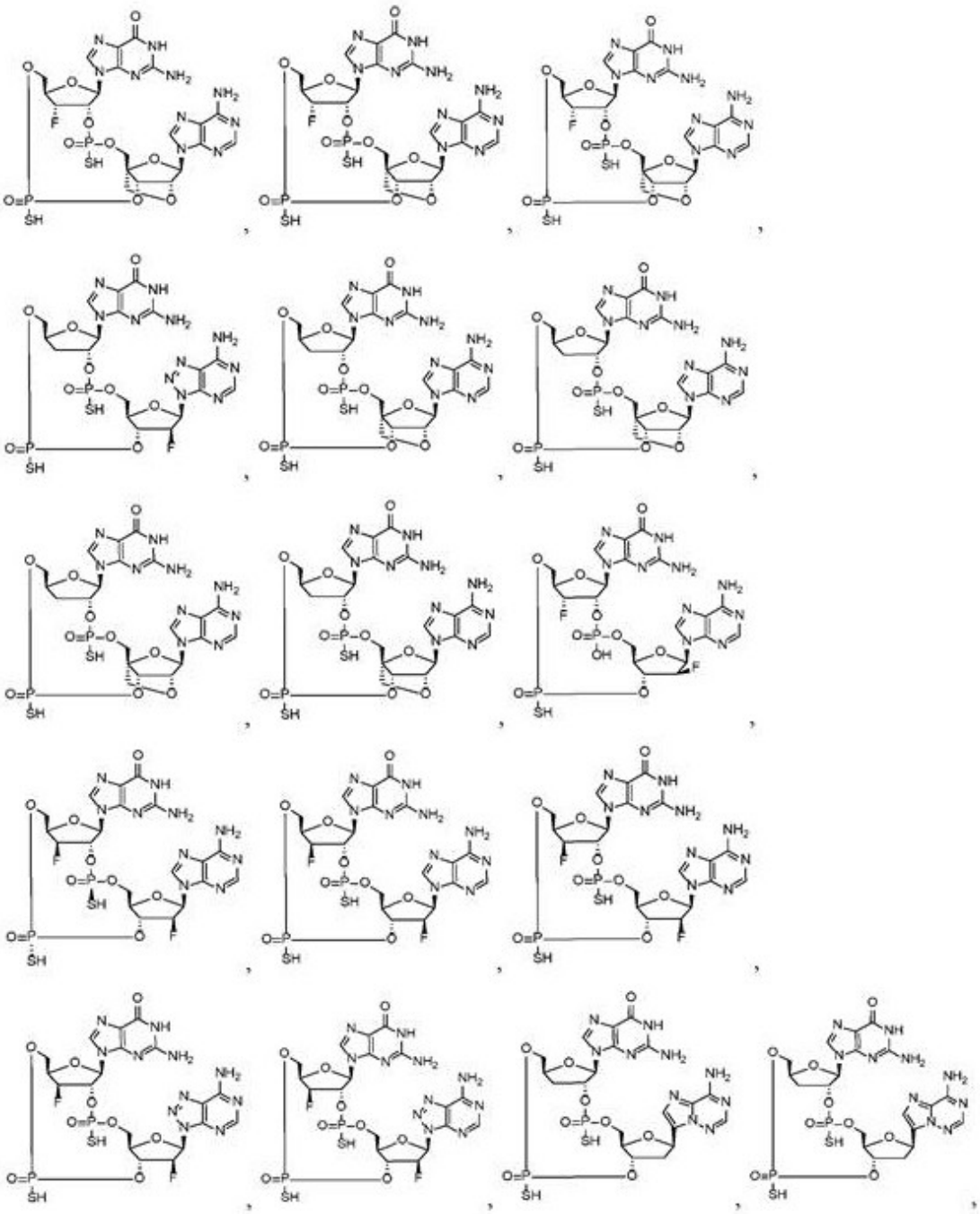


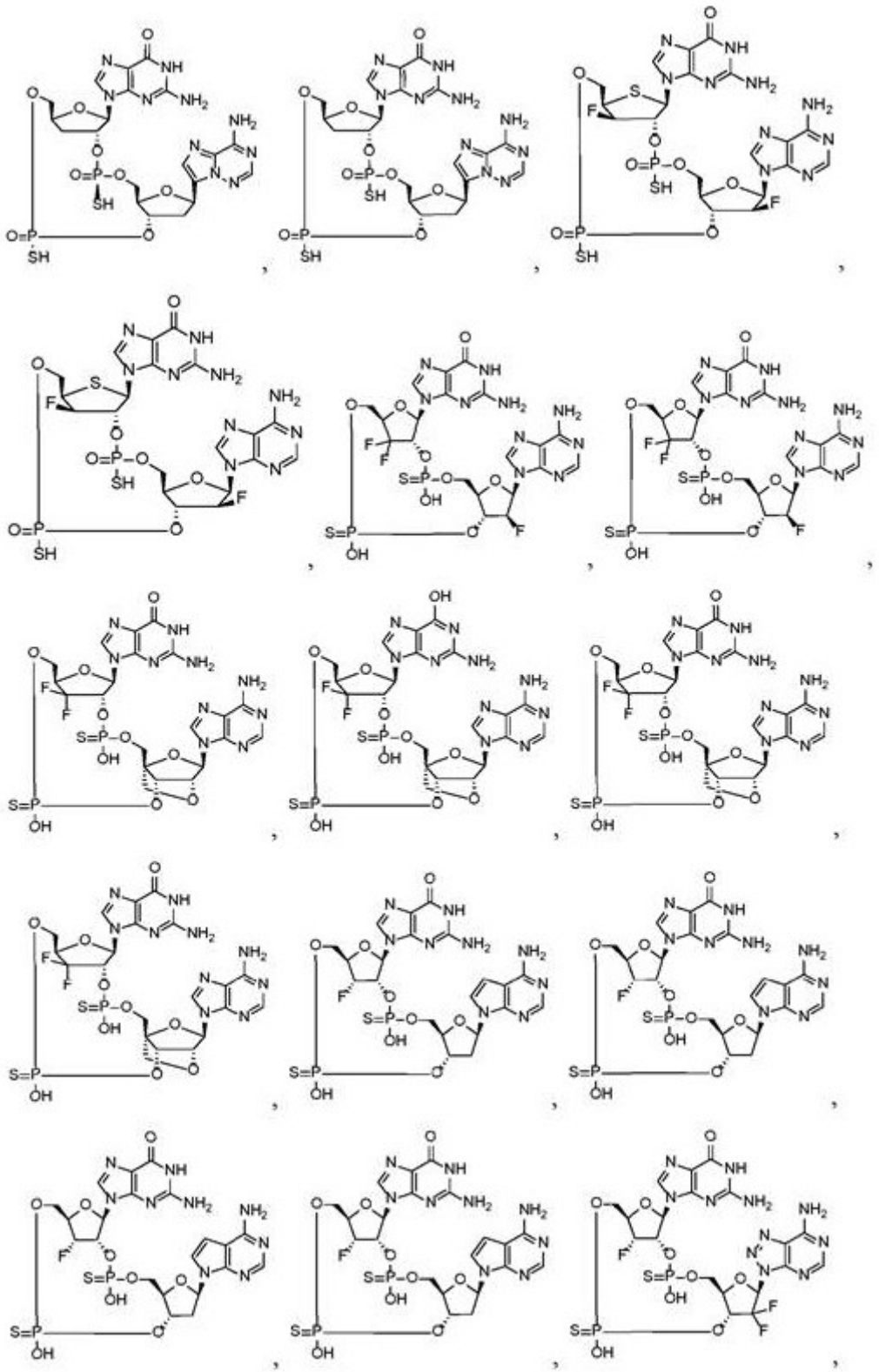
[0198]

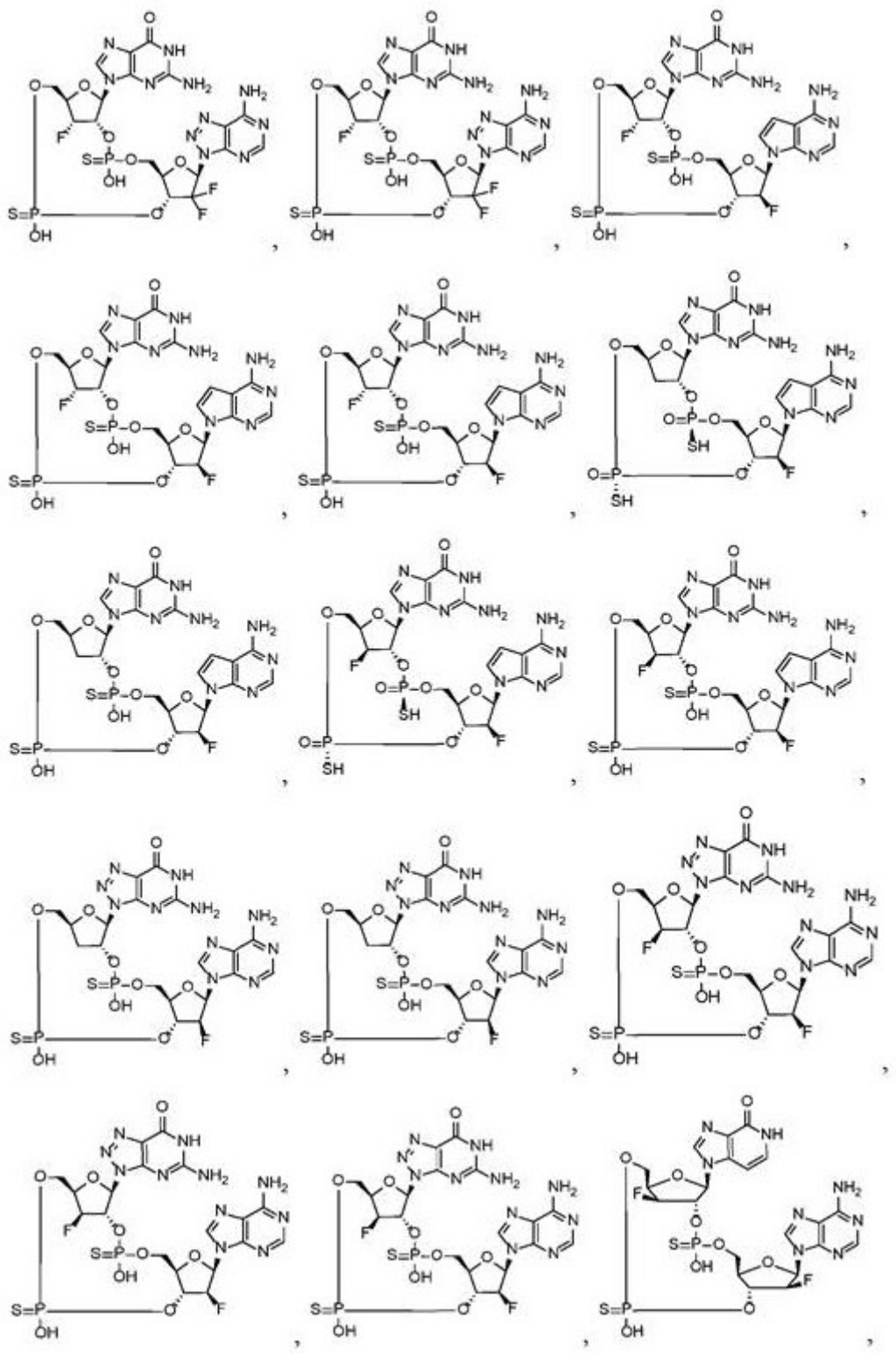


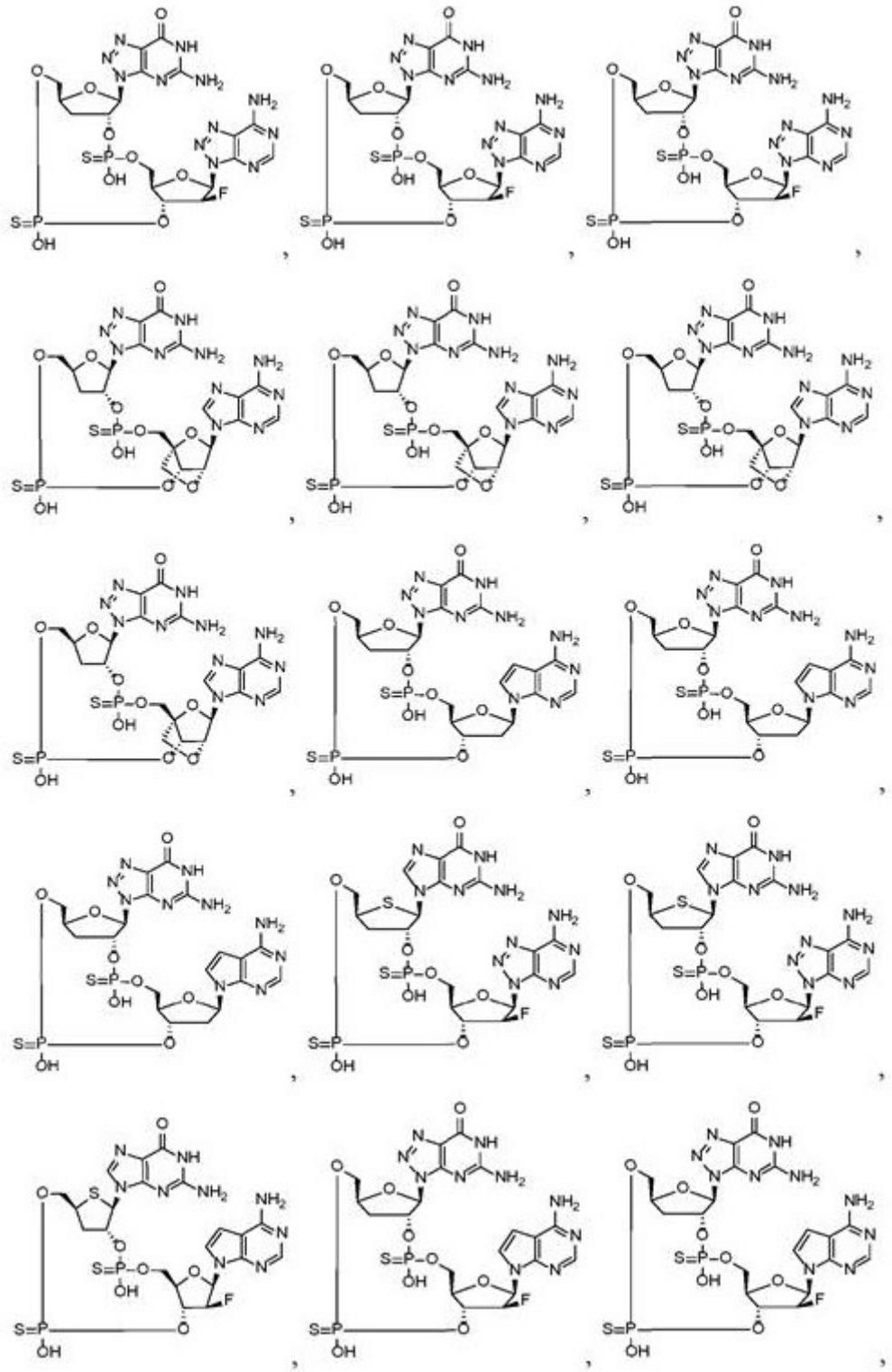
[0199]



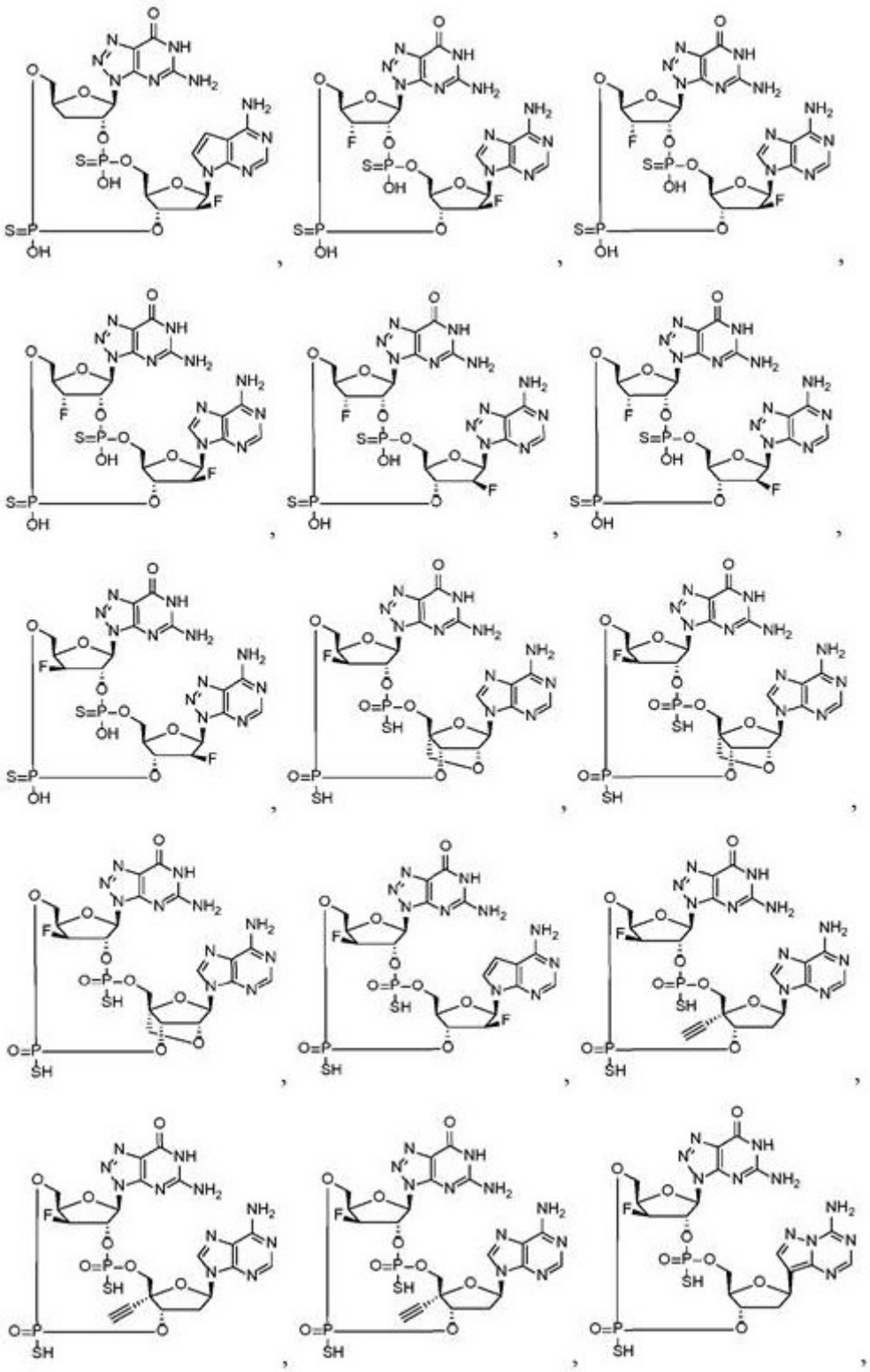
[0200] 

[0201] 

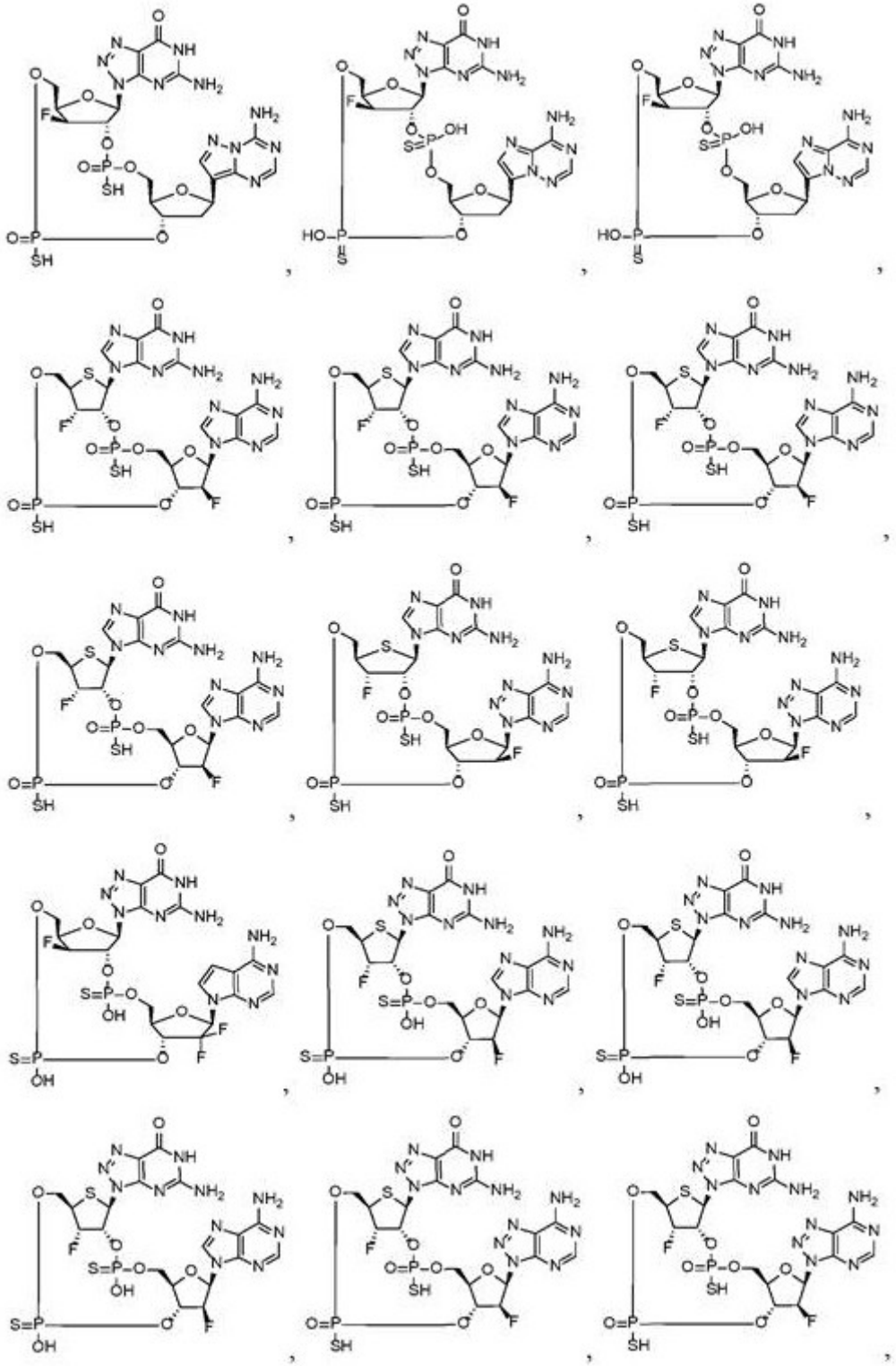
[0202] 

[0203] 

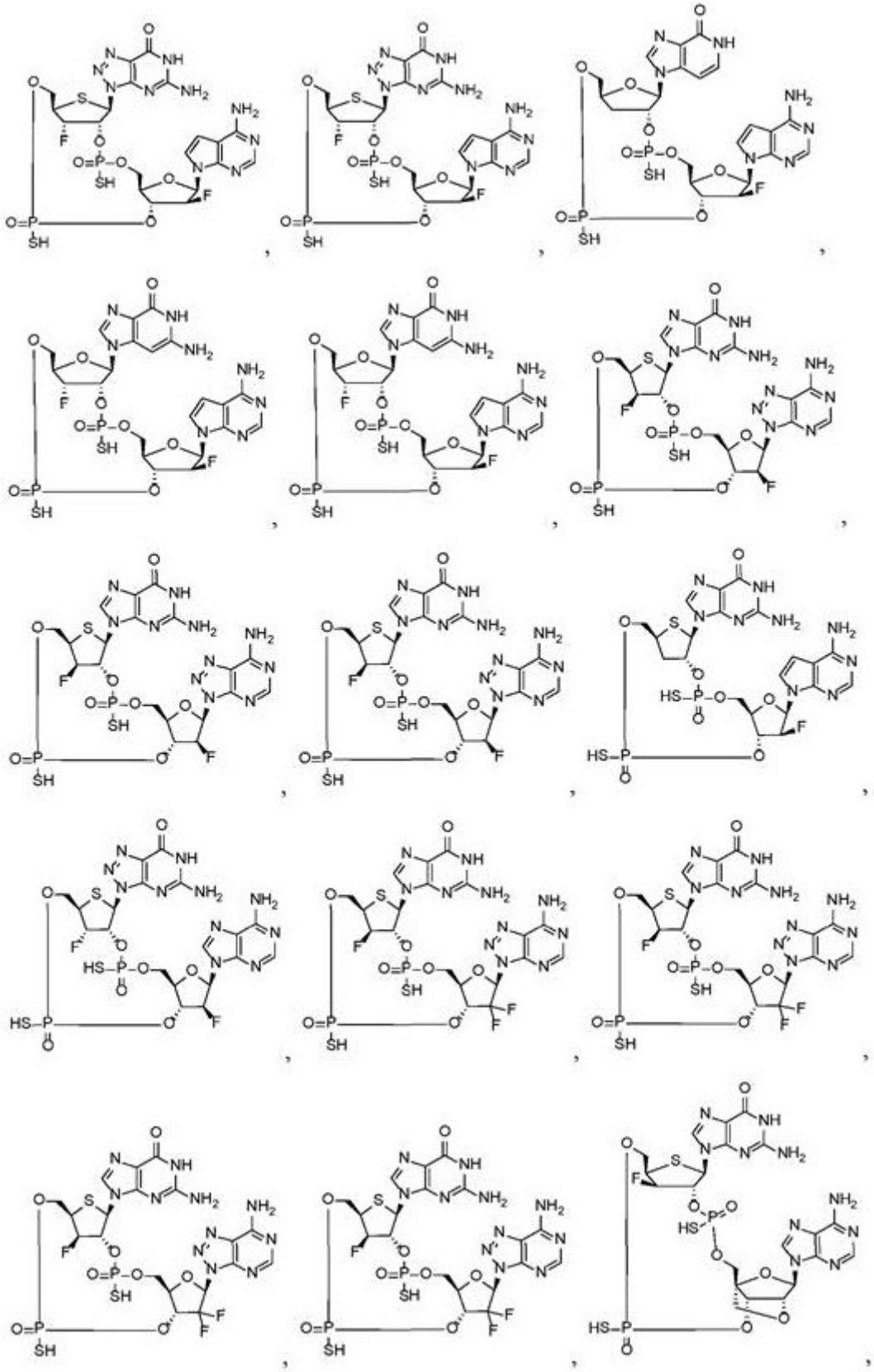
[0204]



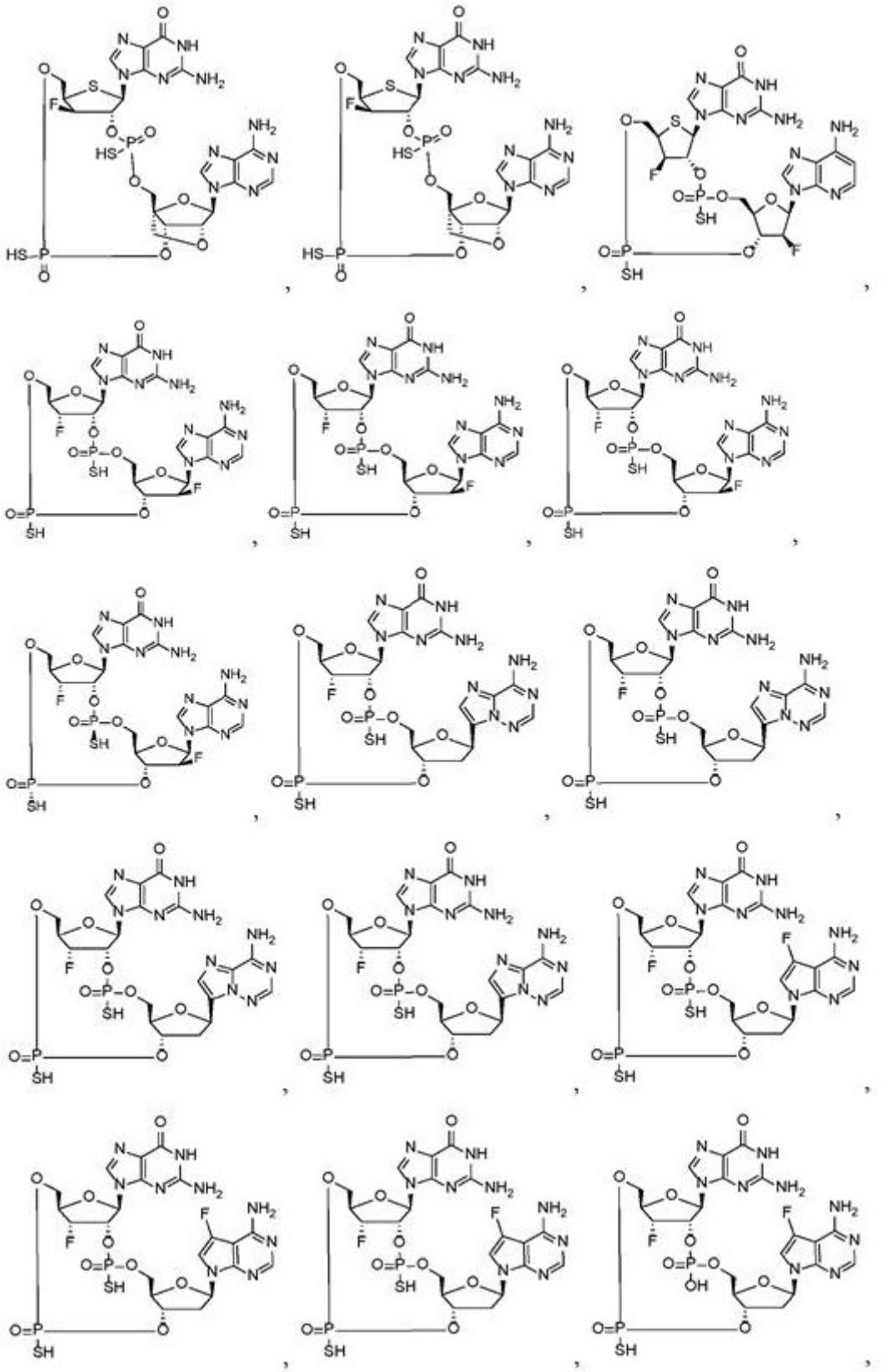
[0205]



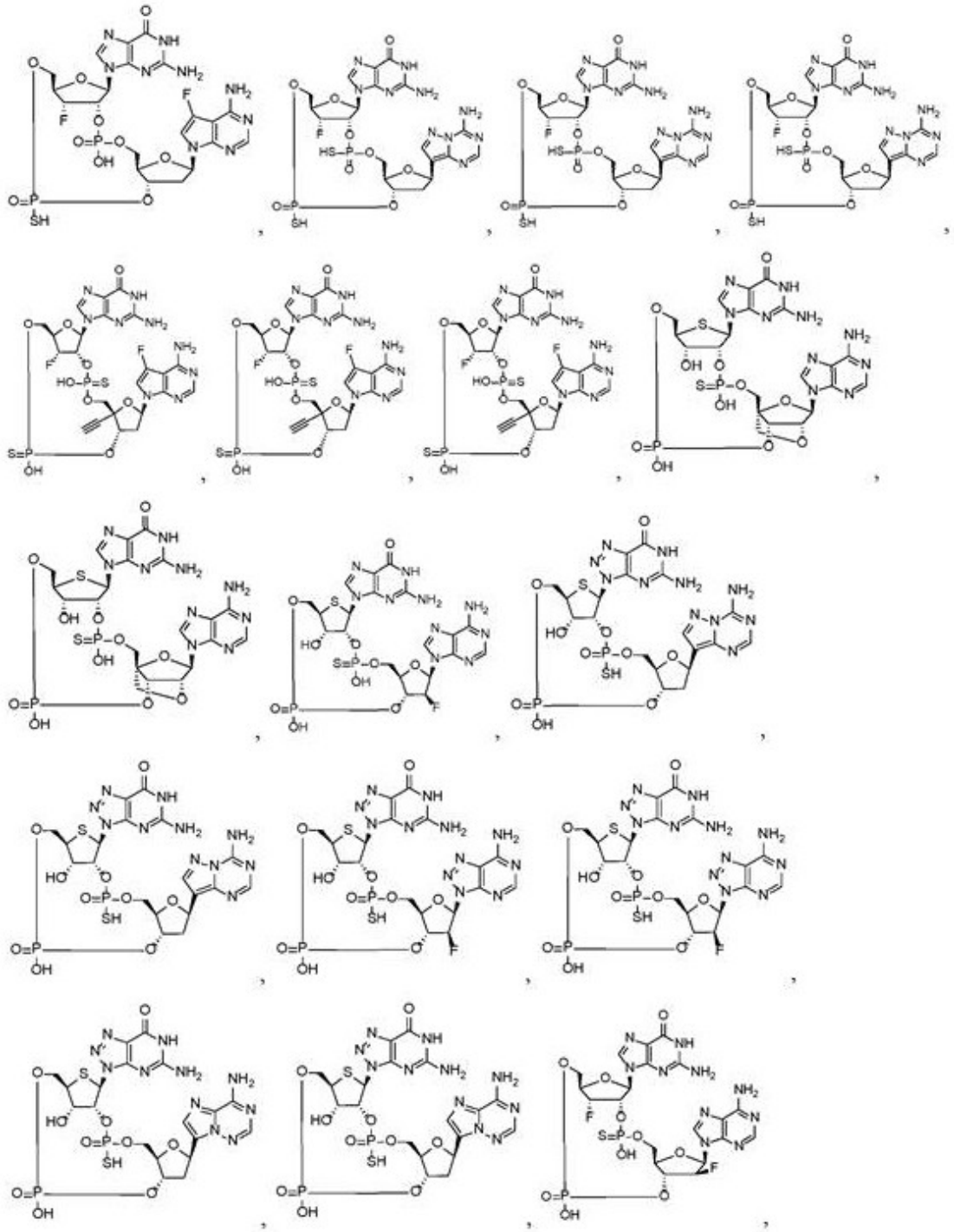
[0206]

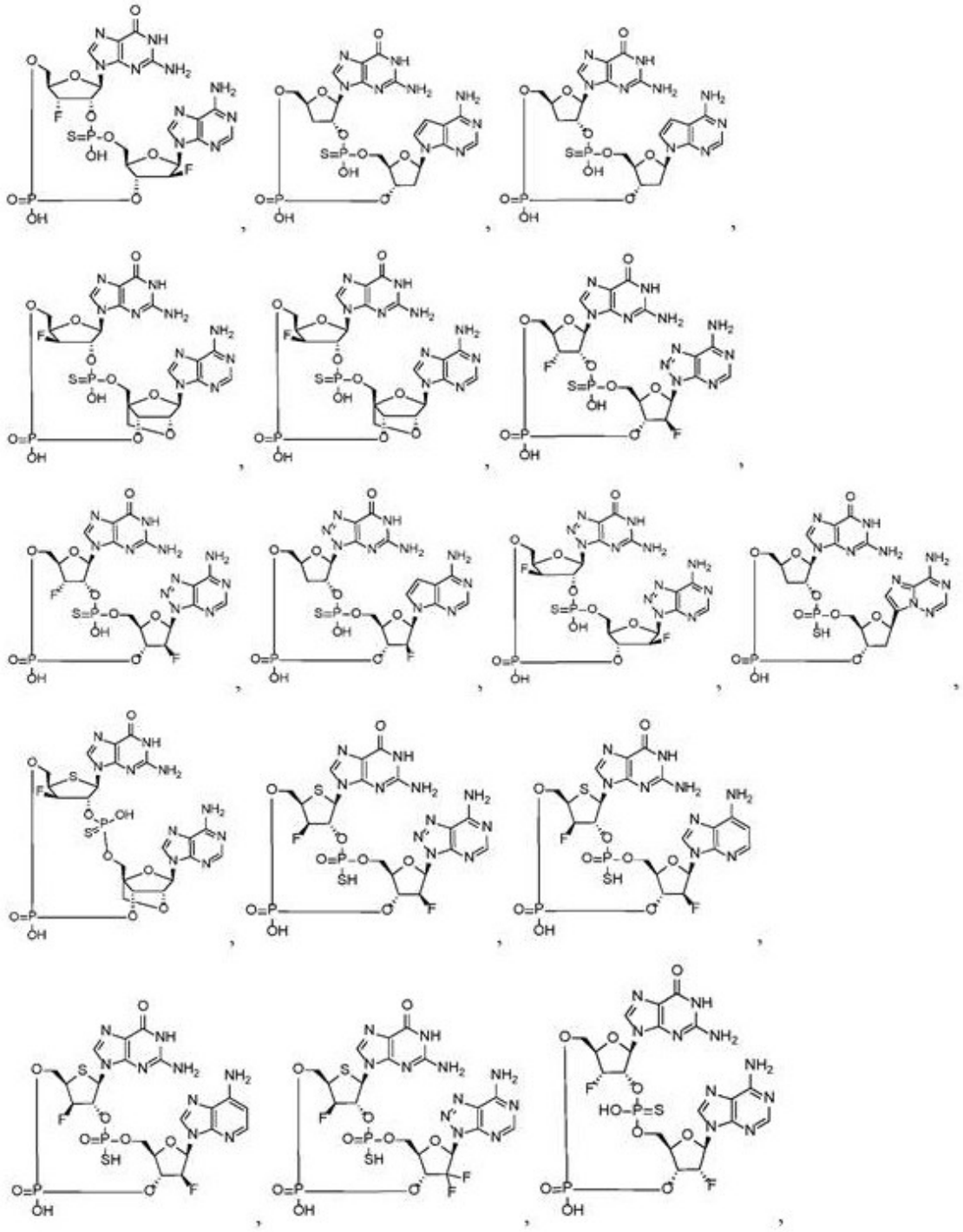


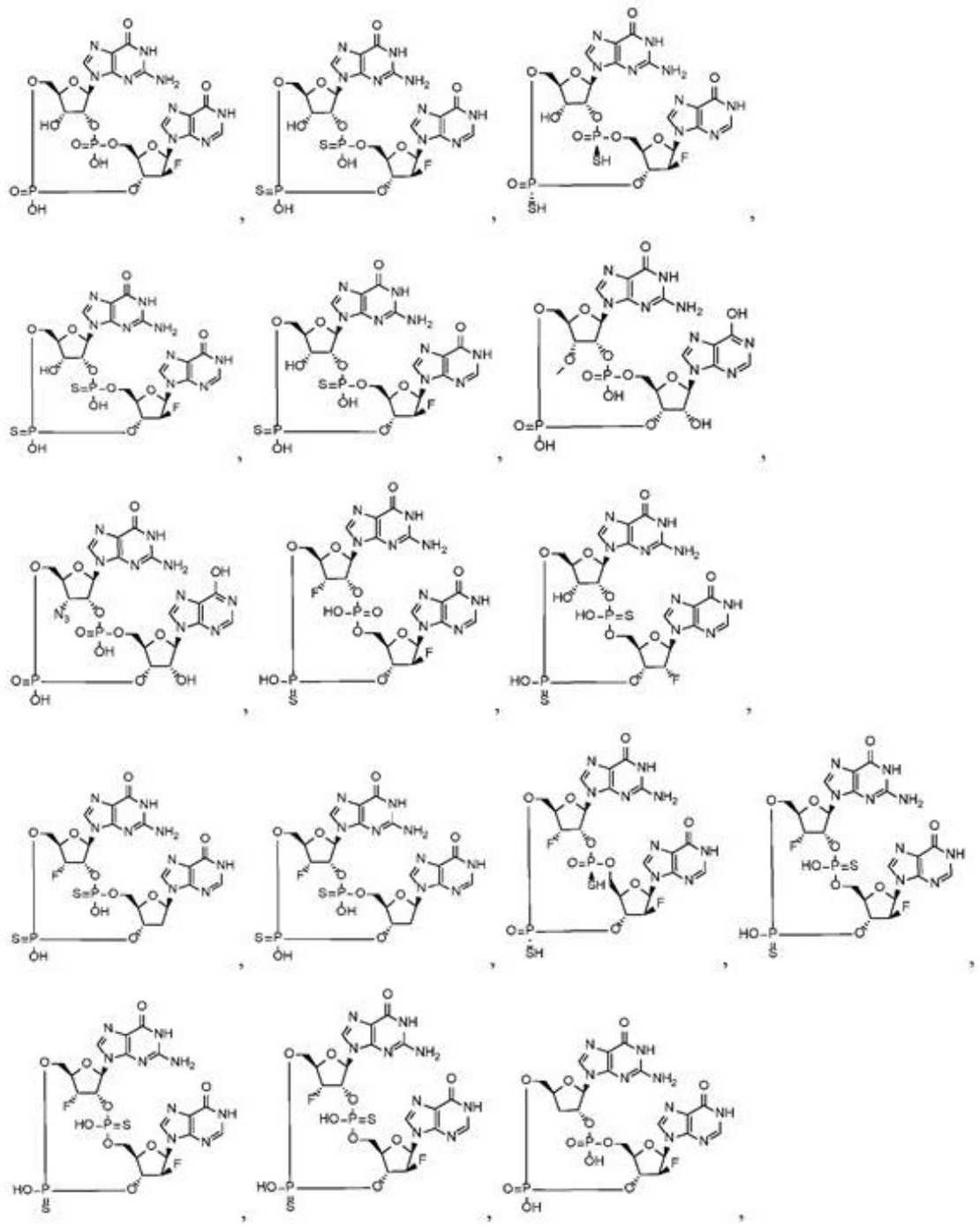
[0207]

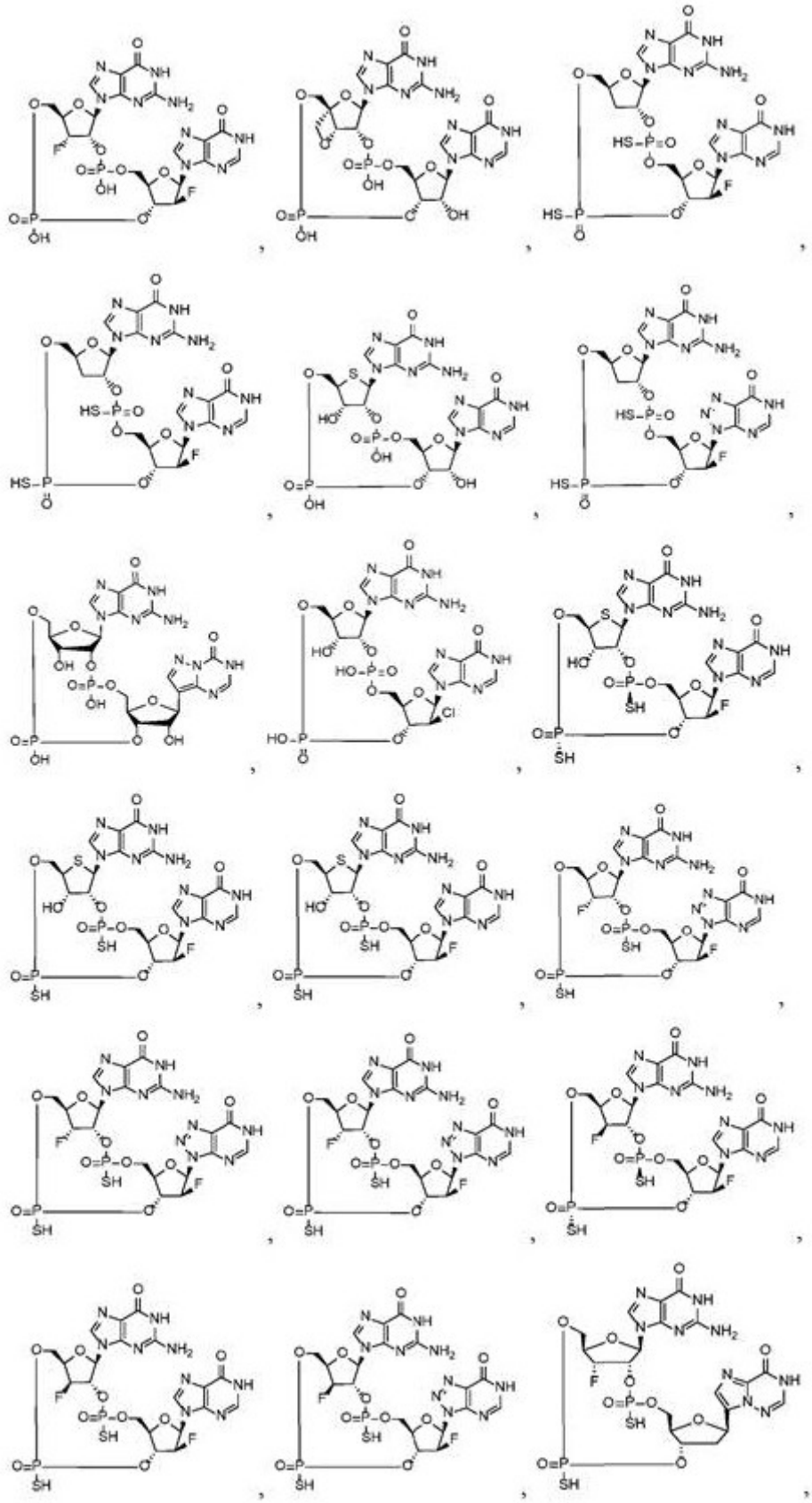


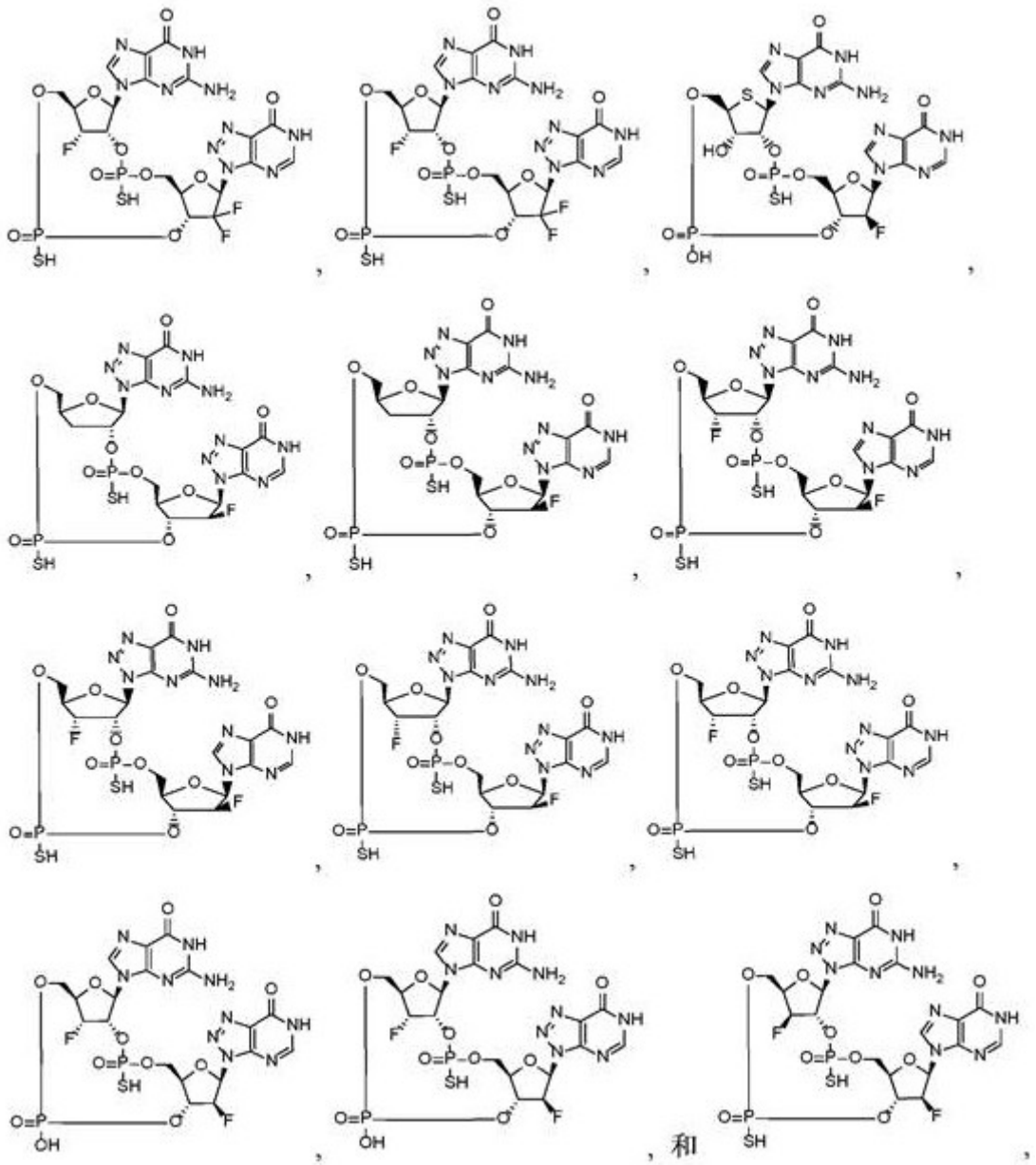
[0208]



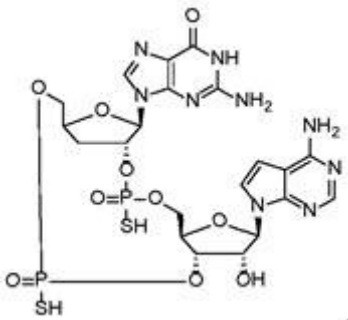
[0209] 

[0210] 

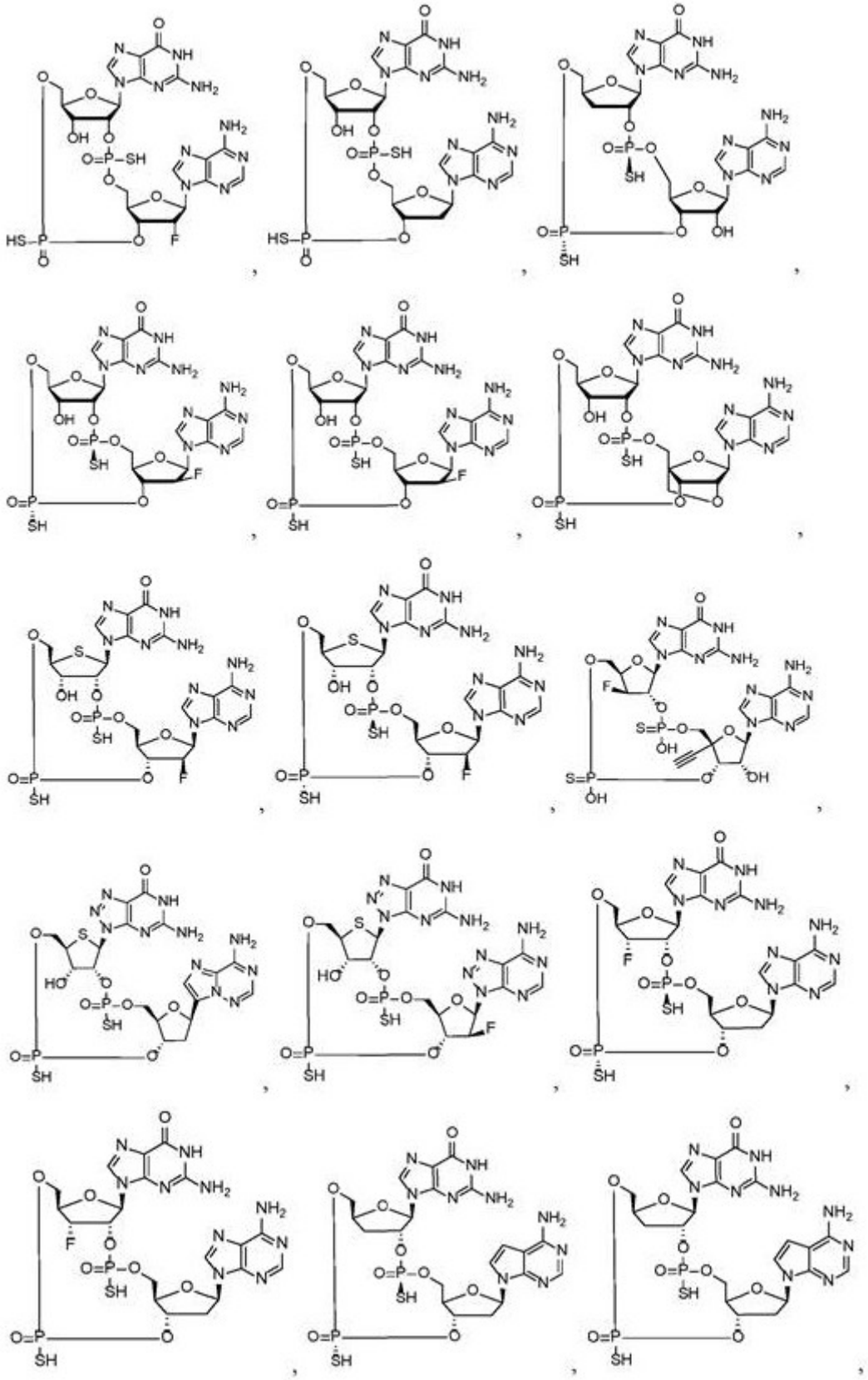
[0211] 

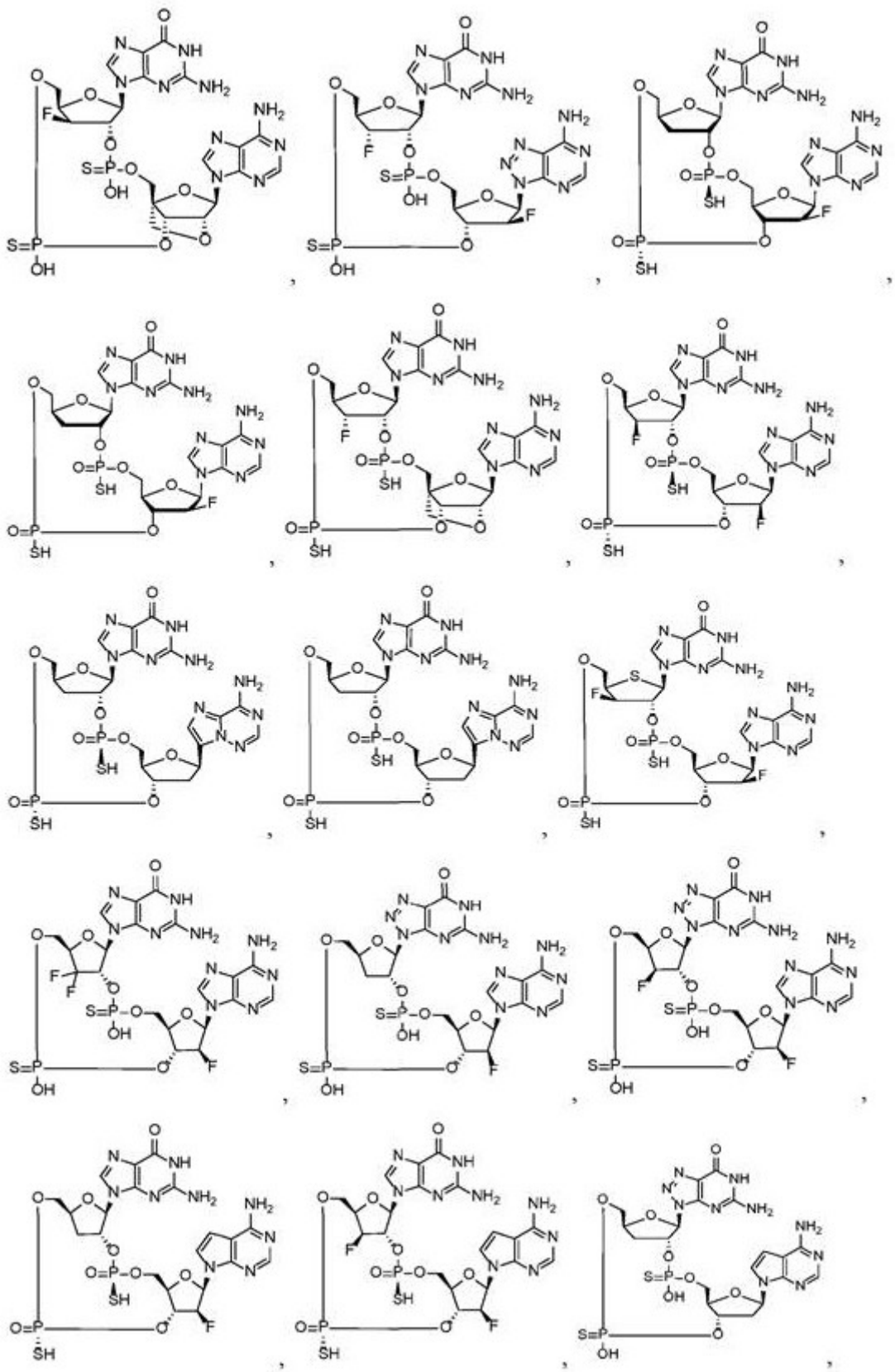
[0212] 

[0213] 及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。在具体方面，所述化合物选自：

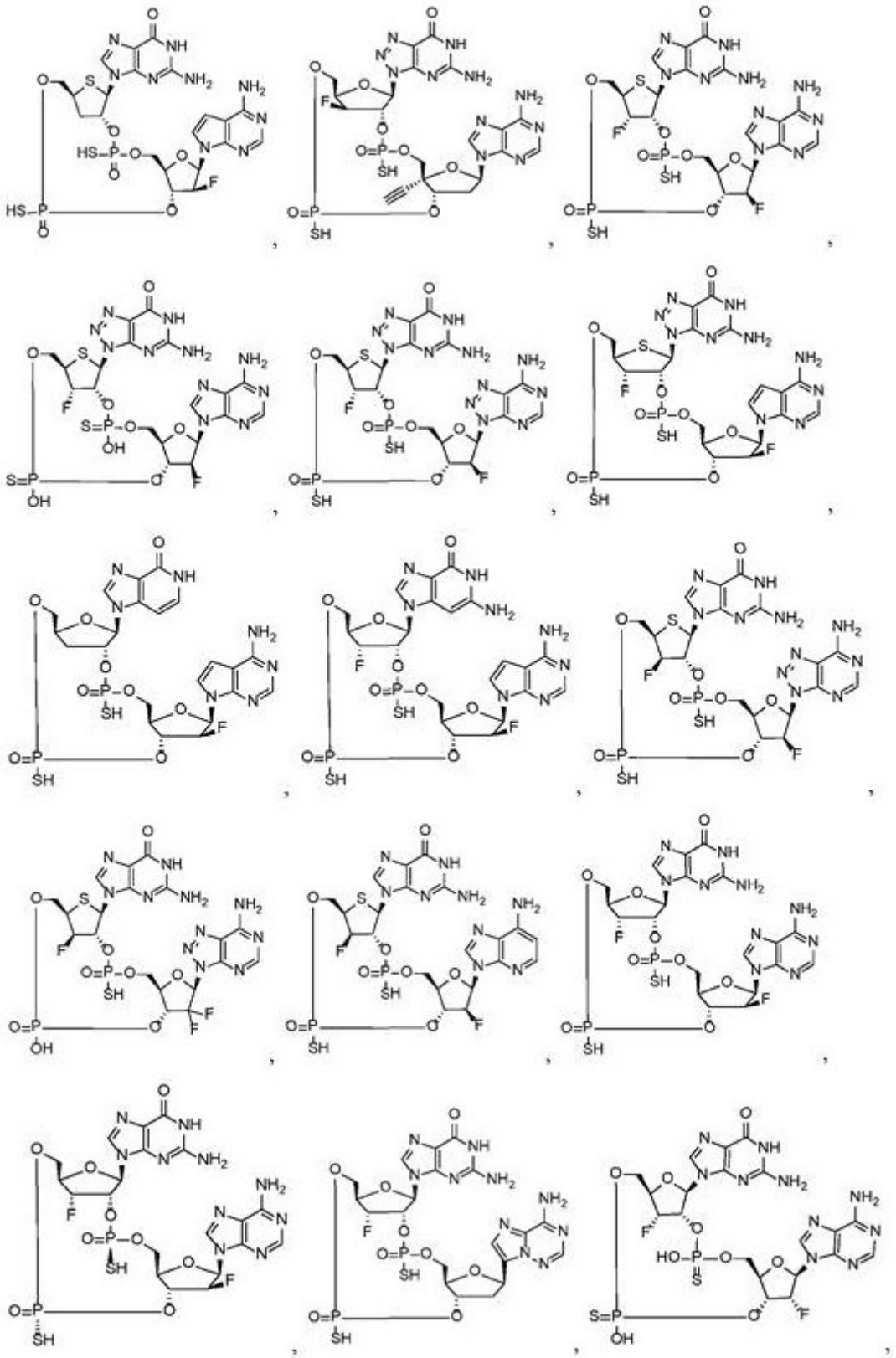
[0214] 

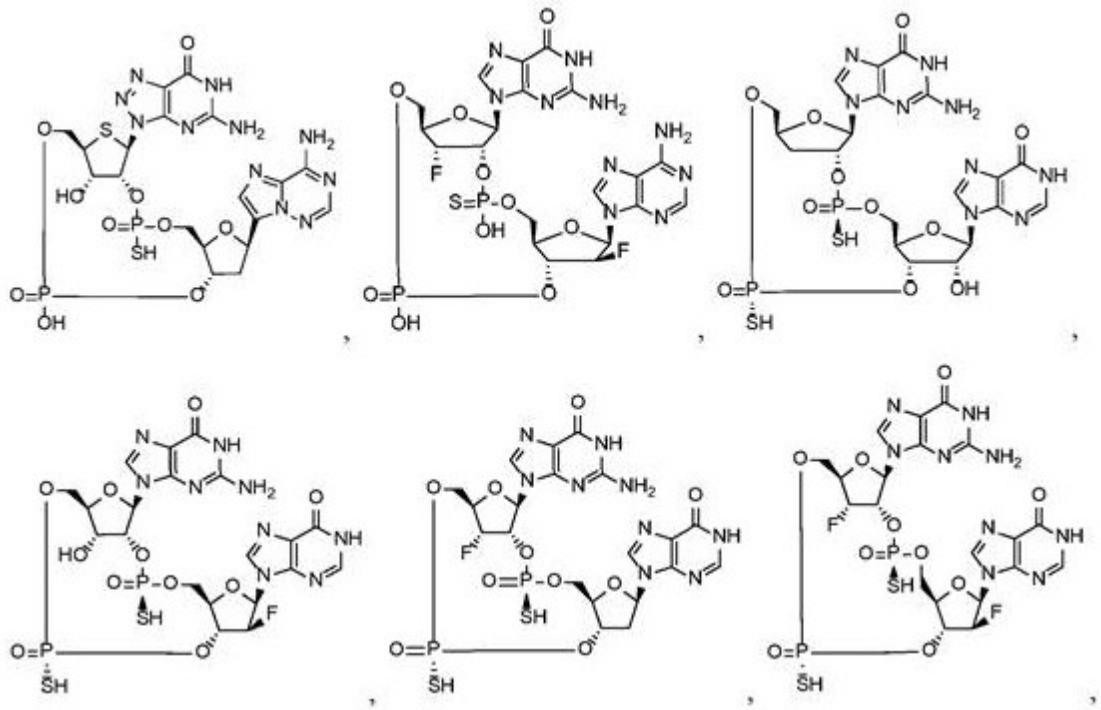
[0215]

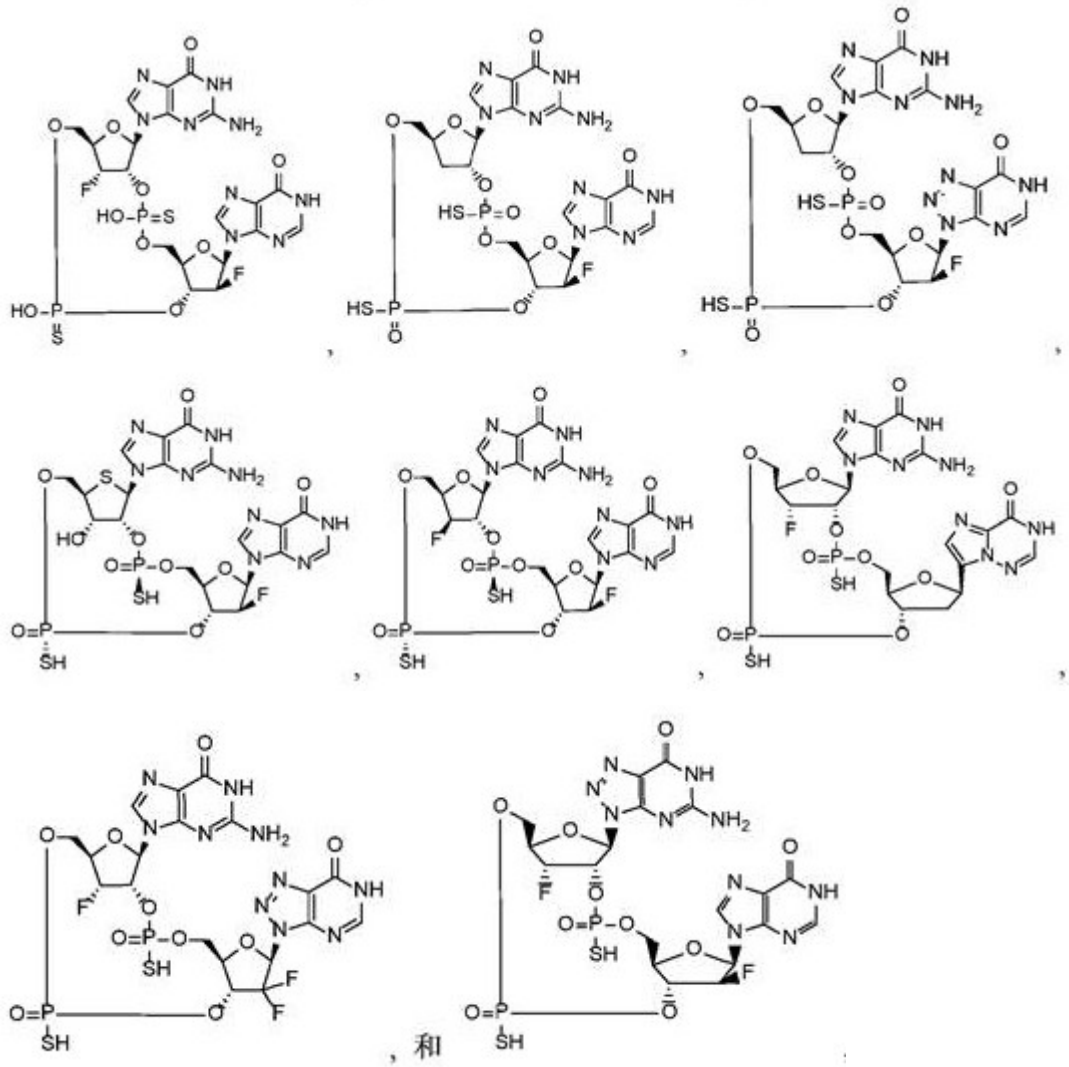


[0216] 

[0217]

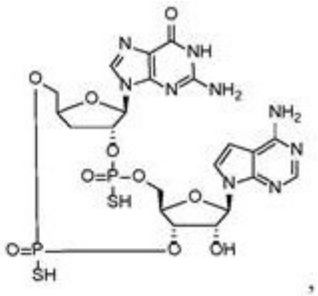


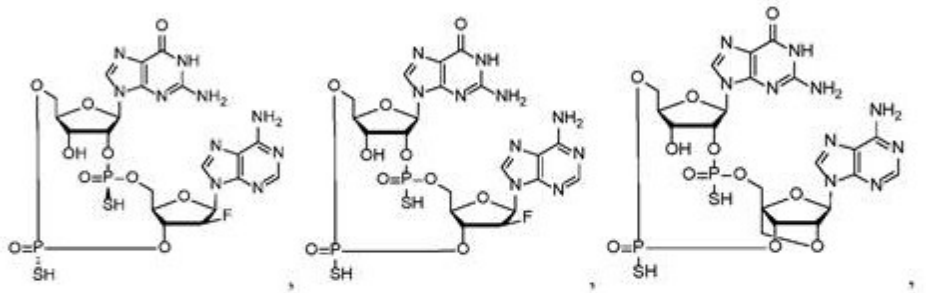
[0218] 

[0219] 

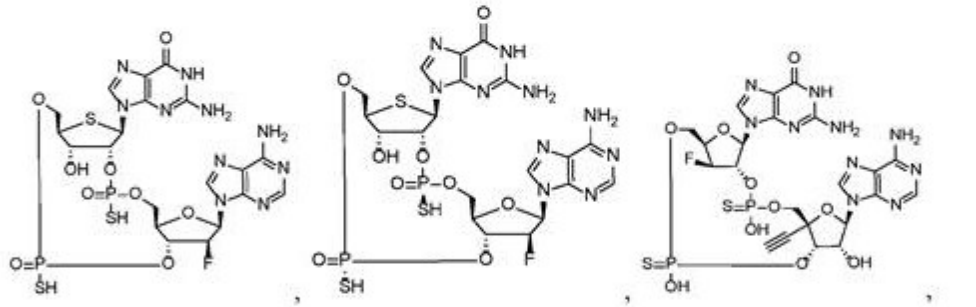
[0220] 及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。在该实施方案的更具体方面，

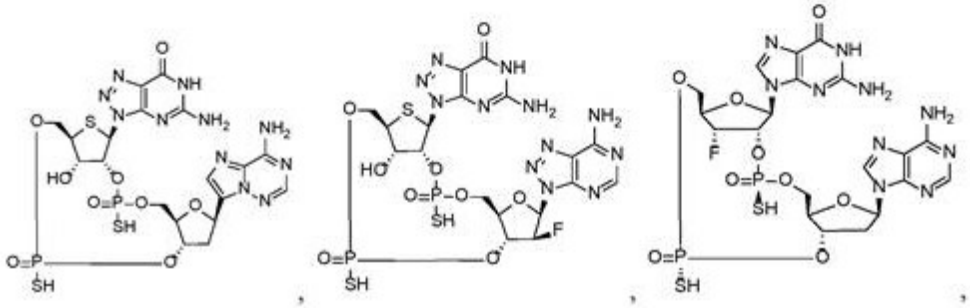
所述化合物选自：

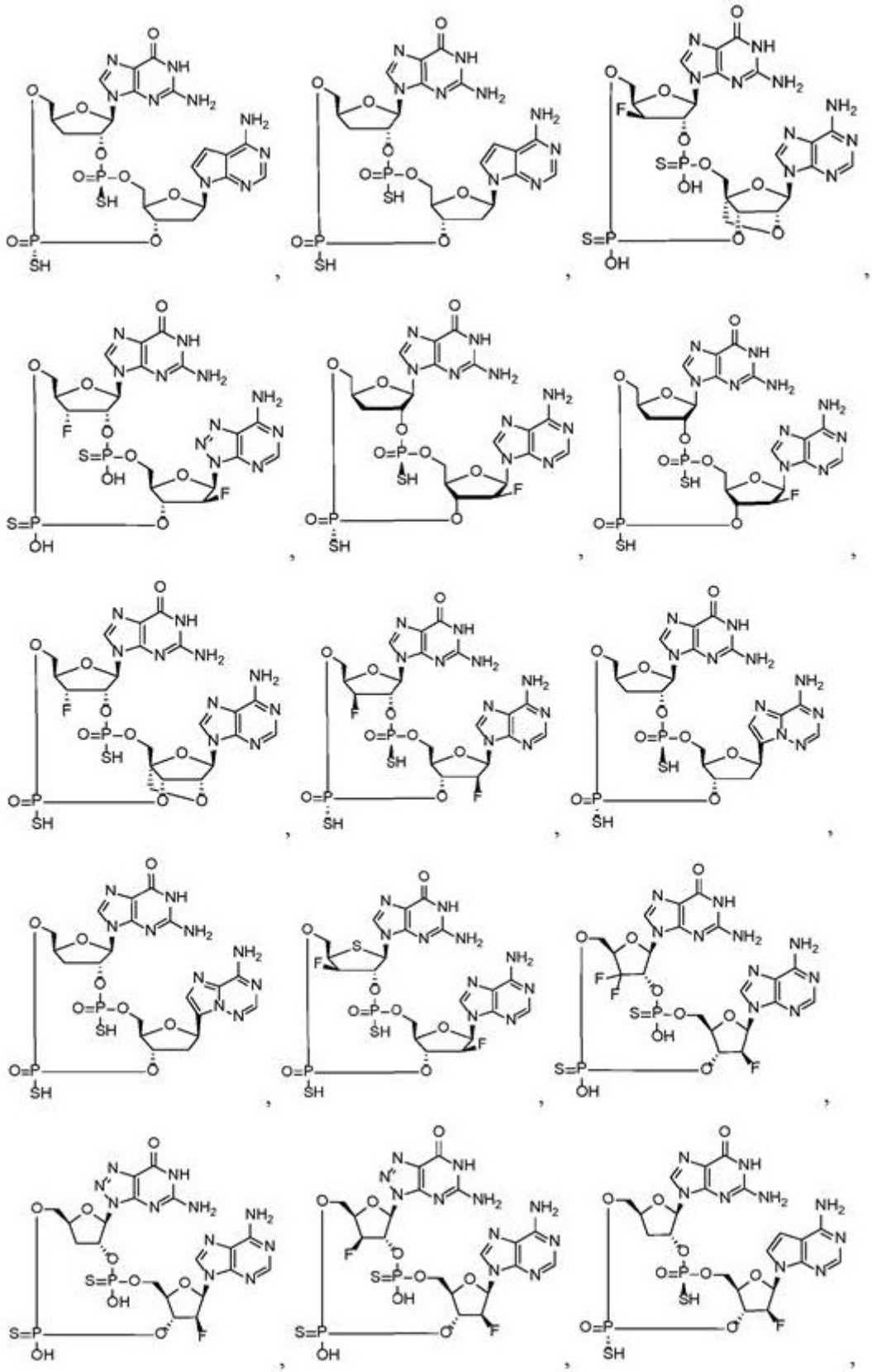




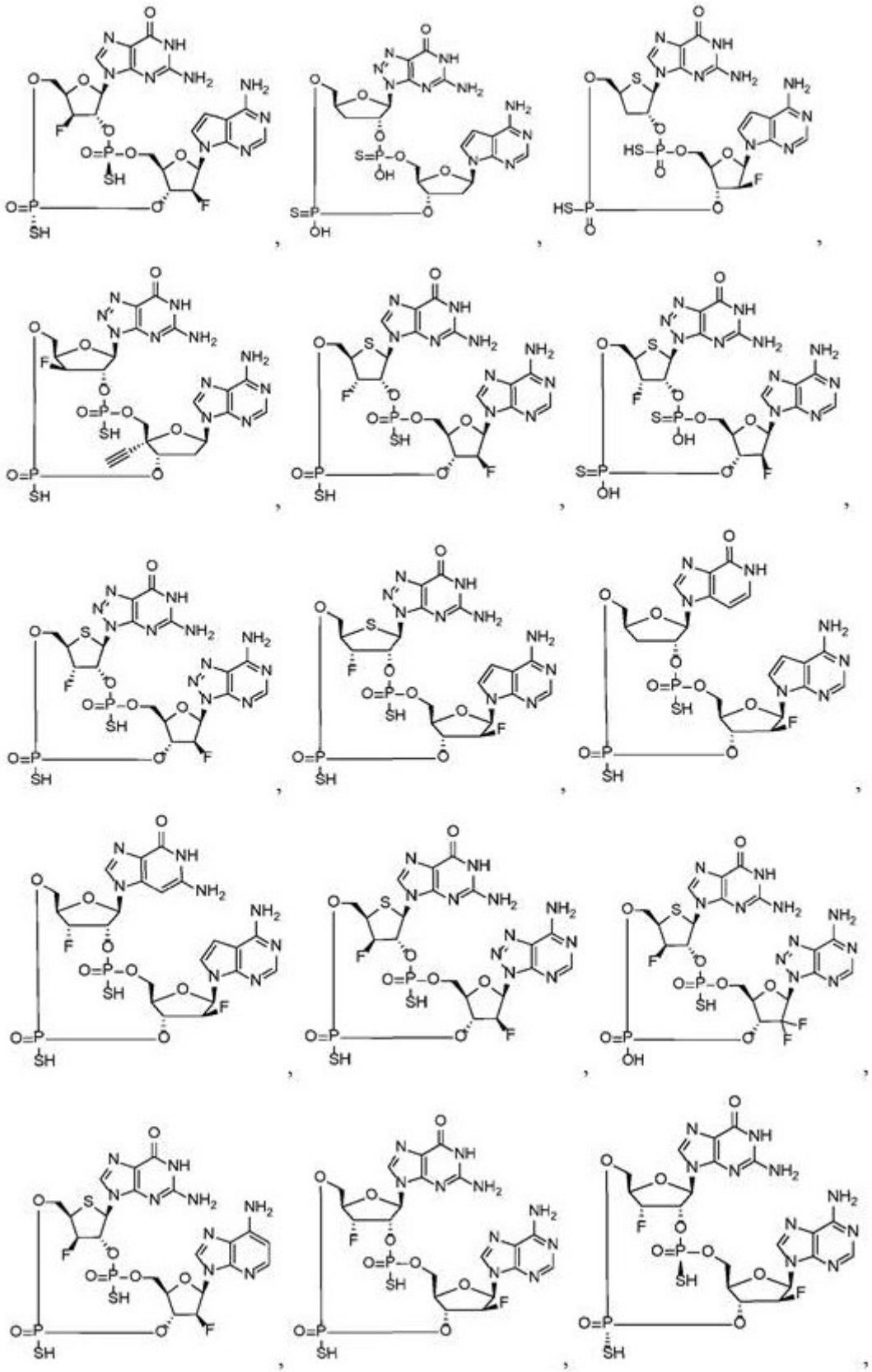
[0221]

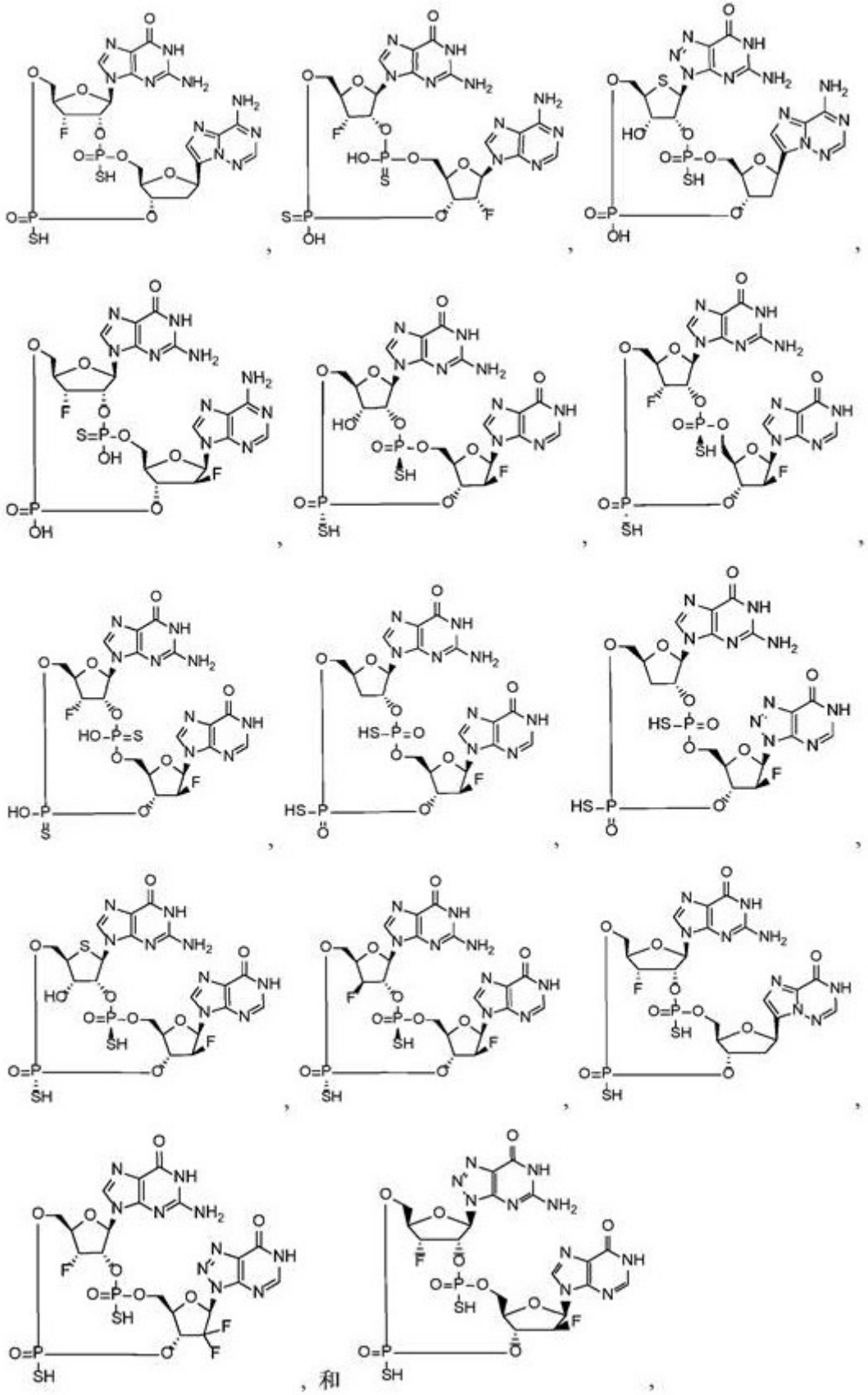




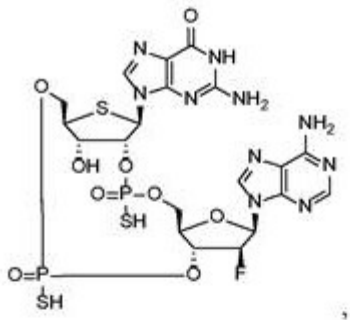
[0222] 

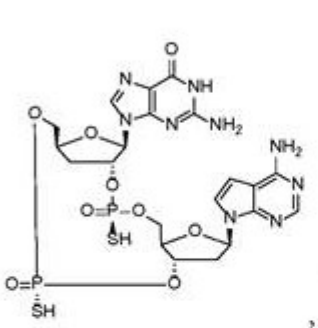
[0223]

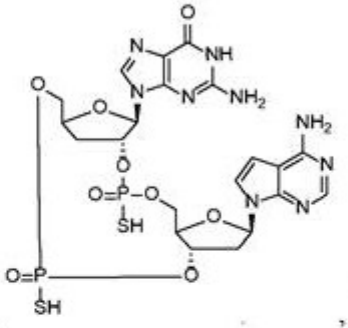


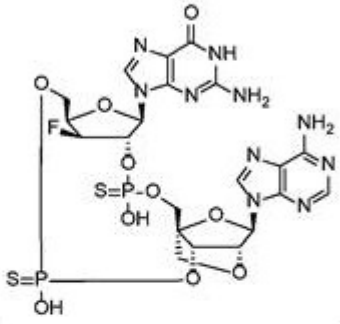
[0224] 

[0225] 及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。在更更具体方面，所述化合物选自：

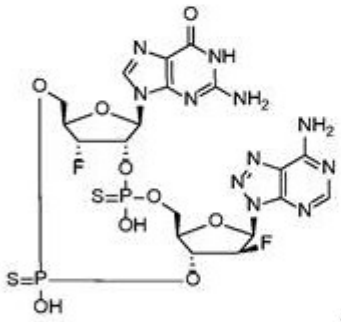


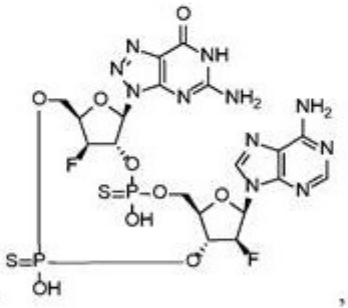


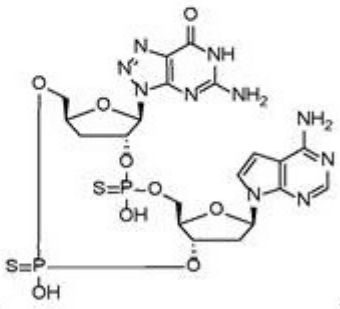


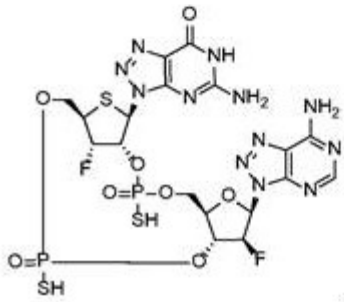


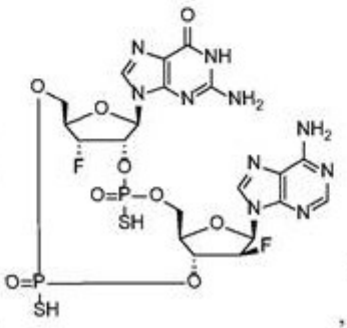
[0226]

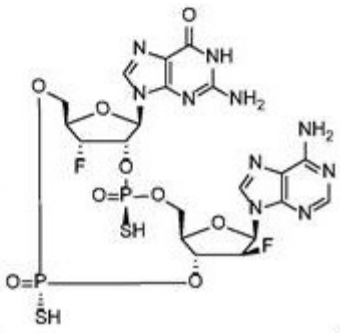


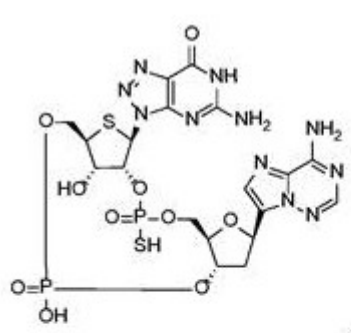
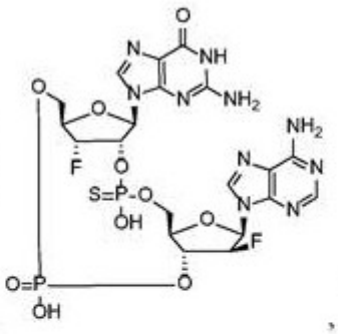
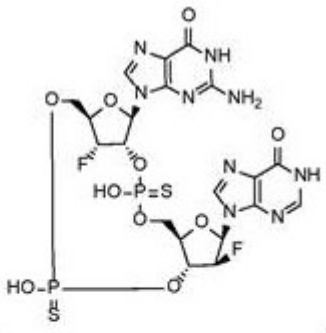


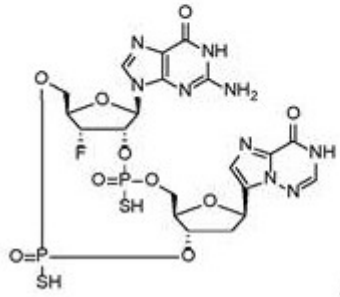








[0227]  ，  ，  ，和

 ，

[0228] 及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。

[0229] 在另一个实施方案中，对于通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I″)的化合物，变量碱基^{1}、碱基^{2}、Y、Y^{a}、X^{a}、X^{a1}、X^{b}、X^{b1}、X^{c}、X^{c1}、X^{d}、X^{d1}、R^{1}、R^{1a}、R^{2}、R^{2a}、R^{3}、R^{4}、R^{4a}、R^{5}、R^{6}、R^{6a}、R^{7}、R^{7a}、R^{8}、R^{8a}、R^{9}和R^{10}各自彼此独立地选择。

[0230] 在本公开的另一个实施方案中，本公开的化合物选自下文所示的实施例1至348中所描绘的示例性物质。

[0231] 本公开的其它实施方案包括以下：

[0232] (a) 药物组合物，其包含有效量的通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，和药学上可接受的载体。

[0233] (b) (a)的药物组合物，进一步包含选自以下的第二治疗剂：STING激动剂化合物、抗病毒化合物、抗原、佐剂、CTLA-4和PD-1途径拮抗剂和其它免疫调节剂、脂质、脂质体、肽、抗癌剂和化学治疗剂。

[0234] (c) 药物组合(combination)，其为(i)通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药，和(ii)选自以下的第二治疗剂：STING激动剂化合物、抗病毒化合物、抗原、佐剂、CTLA-4和PD-1途径拮抗剂和其它免疫调节剂、脂质、脂质体、肽、抗癌剂和化学治疗剂；其中通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药和第二治疗剂各自以使得该组合有效用于诱导患者中的免疫反应的量来采用。

[0235] (e) 诱导患者中的免疫反应的方法，其包括向所述受试者给药有效量的通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。

[0236] (f) 诱导患者中的免疫反应的方法，其包括向所述受试者给药有效量的(a)的组合物、(b)的组合物或(c)的组合。

[0237] (g) 诱导患者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法，其包括向所述受试者给药有效量的通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物。

[0238] (h) 诱导患者中的STING依赖性I型干扰素产生的方法，其包括向所述受试者给药有效量的(a)的组合物、(b)的组合物或(c)的组合。

[0239] (i) 诱导患者中的STING依赖性细胞因子产生的方法，其包括向所述受试者给药有效量的通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。

[0240] (j) 诱导患者中的STING依赖性细胞因子产生的方法，其包括向所述受试者给药有效量的(a)的组合物、(b)的组合物或(c)的组合。

[0241] (k) 治疗受试者中的细胞增殖病症的方法，所述方法包括将治疗有效量的通式(I)的化合物或通式(I')的化合物或通式(I'')的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药给药至所述受试者；

[0242] (l) (k)的方法，其中所述细胞增殖病症是癌症。

[0243] (m). 治疗受试者中的细胞增殖病症的方法，所述方法包括将治疗有效量的(a)的药物组合物、(b)的组合物或(c)的组合给药至所述受试者。

[0244] (n) (m)的方法，其中所述细胞增殖病症是癌症。

[0245] 本公开还包括本公开的化合物，其用于：(i)(a)诱导患者中的免疫反应或(b)诱导患者中的STING依赖性细胞因子产生，(ii)作为用于(a)或(b)的药剂，或(iii)制备用于(a)或(b)的药剂。在这些用途中，本公开的化合物可任选地与一种或多种选自以下的第二治疗剂组合采用：STING激动剂化合物、抗病毒化合物、抗原、佐剂、CTLA-4和PD-1途径拮抗剂和其它免疫调节剂、脂质、脂质体、肽、抗癌剂和化学治疗剂。

[0246] 本公开的额外实施方案包括上文(a)-(n)中所述的药物组合物、组合和方法以及前述段落中所述的用途，其中，其中所用的本公开的化合物是上述化合物的实施方案、方面、种类、亚类或特征之一的化合物。在所有这些实施方案中，如果适当，所述化合物可任选地以药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药的形式来使用。

[0247] 在上文所提供的化合物的实施方案中，应理解，每个实施方案可在此组合提供稳定化合物且与实施方案的描述一致的程度上与一个或多个其它实施方案进行组合。进一步应理解，作为上文(a)至(n)所提供的组合物和方法的实施方案应理解为包括化合物的所有实施方案，包括由于实施方案的组合而获得的这些实施方案。

[0248] 如本文所用的术语“受试者”(或者本文中称为“患者”)是指已经是治疗、观察或实验的对象的动物、优选哺乳动物，诸如人类，男性或女性。受试者还是指牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠、小鼠、鱼和鸟中的一种或多种。在实施方案中，受试者是人类。

[0249] 如本文所用，术语“免疫反应”涉及下列反应中的任何一种或多种：特异性免疫反应、非特异性免疫反应、特异性和非特异性反应、先天性反应、初级免疫反应、适应性免疫性、二级免疫反应、记忆免疫反应、免疫细胞活化、免疫细胞增殖、免疫细胞分化和细胞因子表达。在某些实施方案中，将通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药与一种或多种额外治疗剂联合给药，所述额外治疗剂包括意欲刺激对一种或多种预定抗病毒化合物、抗原、佐剂、CTLA-4和PD-1途径拮抗剂和其它免疫调节剂、脂质、脂质体、肽、抗癌剂和化学治疗剂等的免疫反应的疫苗。在某些实施方案中，将通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药与一种或多种额外组合物联合给药，所述额外组合物包

括意欲刺激对一种或多种预定抗病毒化合物、抗原、佐剂、CTLA-4和PD-1途径拮抗剂和其它免疫调节剂、脂质、脂质体、肽、抗癌剂和化学治疗剂等的免疫反应的疫苗。

[0250] 化合物

[0251] 术语“烷基”是指具有指定范围内的数目的碳原子的单价直链或支链、饱和脂肪族烃基团。因此，例如，“C_{1-6}烷基”(或“C_1-C_6烷基”)是指己基烷基和戊基烷基异构体以及正-、异-、仲-和叔-丁基、正-和异-丙基、乙基和甲基中的任一者。作为另一实例，“C_{1-4}烷基”是指正-、异-、仲-和叔-丁基、正-和异丙基、乙基和甲基。

[0252] 如本文所用，术语“亚烷基”是指具有指定范围内的数目的碳原子的双价直链、饱和脂肪族烃基团。

[0253] 如本文所用，术语“烯基”是指具有指定范围内的数目的碳原子且包括一个或多个双键的单价直链或支链、不饱和脂肪族烃基团。

[0254] 如本文所用，术语“亚烯基”是指具有指定范围内的数目的碳原子且包括一个或多个双键的二价直链、不饱和脂肪族烃基团。

[0255] 如本文所用，术语“炔基”是指具有指定范围内的数目的碳原子且包括一个或多个三键的单价直链或支链、不饱和脂肪族烃基团。

[0256] 如本文所用，术语“亚炔基”是指具有指定范围内的数目的碳原子且包括一个或多个三键的二价直链、不饱和脂肪族烃基团。

[0257] 术语“卤素(halogen)”(或“卤素或卤代(halo)”)是指氟、氯、溴和碘(或者称为氟、氯、溴和碘或F、Cl、Br和I)。

[0258] 术语“卤代烷基”是指如上所定义的烷基，其中一个或多个氢原子已被卤素所替代。因此，例如，“C_{1-6}卤代烷基”(或“C_1-C_6卤代烷基”)是指如上所定义具有一个或多个卤素取代基的C_1至C_6直链或支链烷基基团。术语“氟烷基”具有类似含义，除了卤素取代基限于氟。合适的氟烷基包括系列$(CH_2)_{0-4}CF_3$(即三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、3,3,3-三氟-正丙基等)。

[0259] 如本文所用，术语“卤代烯基”是指如上所定义的烯基，其中一个或多个氢原子已被卤素所替代。

[0260] 如本文所用，术语“卤代炔基”是指如上所定义的炔基，其中一个或多个氢原子已被卤素所替代。

[0261] 如本文所用，术语“螺环(spirocycle)”或“螺环的环(spirocyclic ring)”是指通过单一原子上的诸取代基形成的侧链环状基团。例如，在通式(I)中，可通过R^{2a}和R^3形成螺环。

[0262] 除非明确相反地指出，否则本文所引用的所有范围都是包括性的；即，该范围包括范围的上限值和下限值以及其之间的所有值。作为一个实例，温度范围、百分比、当量范围和本文所述的类似术语包括范围的上限值和下限值以及其之间的任一连续值。本文所提供的数值和术语“约”的使用可包括±1%、±2%、±3%、±4%、±5%、±10%、±15%和±20%和其数值当量的变型。

[0263] 如本文所用，术语“一个/种或多个/种”项包括选自目录的单一项以及两个/种或更多个/种选自目录的项的混合物。

[0264] 在通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物中，诸个原子可呈现

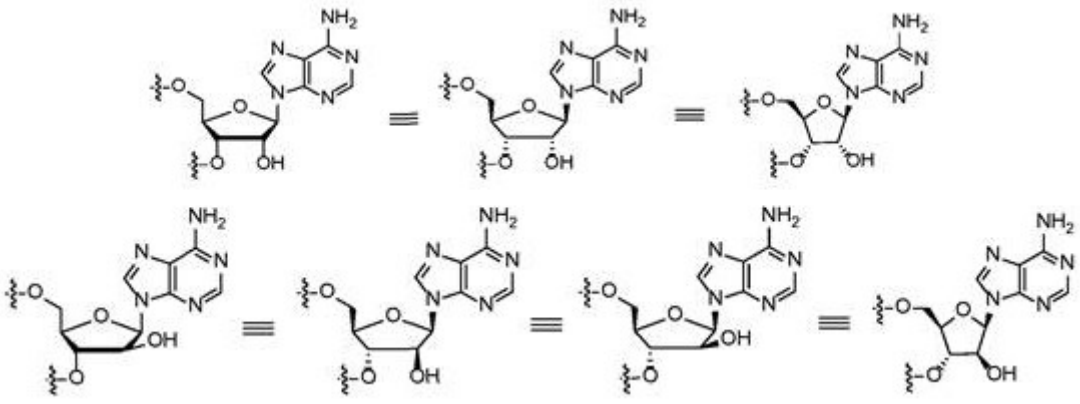
其自然同位素丰度，或者可以使一种或多种原子人工富集于具有相同原子序数、但原子质量或质量数不同于在自然界中主要发现的原子质量或质量数的特定同位素中。本公开意欲包括通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物的所有适合的同位素变型。例如，氢(H)的不同同位素形式包括氕(^{1}H)和氘(^{2}H)。氕是发现于自然界中的主要的氢同位素。富含氘可提供某些治疗优点，诸如，增加体内半衰期或减少剂量需求，或可提供可用作表征生物样品的标准品的化合物。通式(I)内的同位素富集的化合物可在无需过多实验的情况下通过本领域技术人员众所周知的常规技术或通过类似于描述于本文方案和实施例中的那些的方法使用适当的同位素富集的试剂和/或中间体来制备。

[0265] 在通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物的具体实施方案中，所述化合物同位素富集氘。在这些实施方案的方面中，R^{1}、R^{1a}、R^{2}、R^{2a}、R^{3}、R^{4}、R^{4a}、R^{5}、R^{6}、R^{6a}、R^{7}、R^{7a}、R^{8}、R^{8a}、R^{9}和R^{10}中的一个或多个可以是氘。

[0266] 正如在本文所提供的具体化合物的一般结构式和结构中所示的那样，在手性中心处的直线包括(R)和(S)立体异构体两者及其混合物。而且，除非另外指出(例如100%纯化的化合物)，否则提及在某一位置处的特定的立体化学提供了具有指定立体化学的化合物，但并不排除存在在指定位置处的具有不同立体化学的立体异构体。

[0267] 权利要求书中叙述或描绘不指示特定立体构型或此指示针对少于所有手性中心的特定化合物(即物质)意欲涵盖化合物的外消旋物、外消旋混合物、各自个别对映异构体、非对映异构混合物和各自个别非对映异构体，其中此类形式由于一个或多个不对称中心的存在是可能的。立体异构体的混合物的分离可以在中间体步骤在合成通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物期间来实施，或其可对最终的外消旋产物来进行。绝对立体化学可通过结晶产物或结晶中间体(如果需要，其可用含有已知构型的立体性中心的试剂衍生)的X-射线晶体学来测定。或者，可通过振动圆二色性(VCD)光谱分析来测定绝对立体化学。本发明包括所有此类异构体以及此类外消旋物、对映异构体、非对映异构体和互变异构体的盐、溶剂化物(其包括水合物)和溶剂化的盐和其混合物。

[0268] 本领域技术人员将认识到，手性化合物和尤其糖类化合物可以许多不同的等效的方式绘制。本领域技术人员将进一步认识到，取代基在核糖上的身份和区域化学位置可广泛变化且适用立体化学等效物的相同原理(无论取代基)。此类等效物的非限制性实例包括下文例举的那些。

[0269] 

[0270] 盐

[0271] 本文所述的具有适当官能团的化合物可以作为盐提供。本文通过参照可能的盐来

描述此类化合物的实例。此类参照仅仅是说明性的。额外的实施方案包括本文所述的具有合适基团的任何化合物的盐。

[0272] 药学上可接受的盐可与化合物一起用于治疗患者。然而，非药物盐可用于制备中间体化合物。

[0273] 药学上可接受的盐适于给药至患者、优选人类。合适的盐包括酸加成盐，其可例如通过混合化合物的溶液与药学上可接受的酸(诸如盐酸、硫酸、乙酸、三氟乙酸或苯甲酸)的溶液来形成。可将携带酸性部分的化合物与合适的药学上可接受的盐混合以提供例如碱金属盐(例如钠盐或钾盐)、碱土金属盐(例如钙盐或镁盐)和与合适有机配体形成的盐(诸如季铵盐)。同样，在存在酸(-COOH)或醇基团的情况下，可采用药学上可接受的酯来修饰化合物的溶解性或水解特征。

[0274] 制备化合物的方法

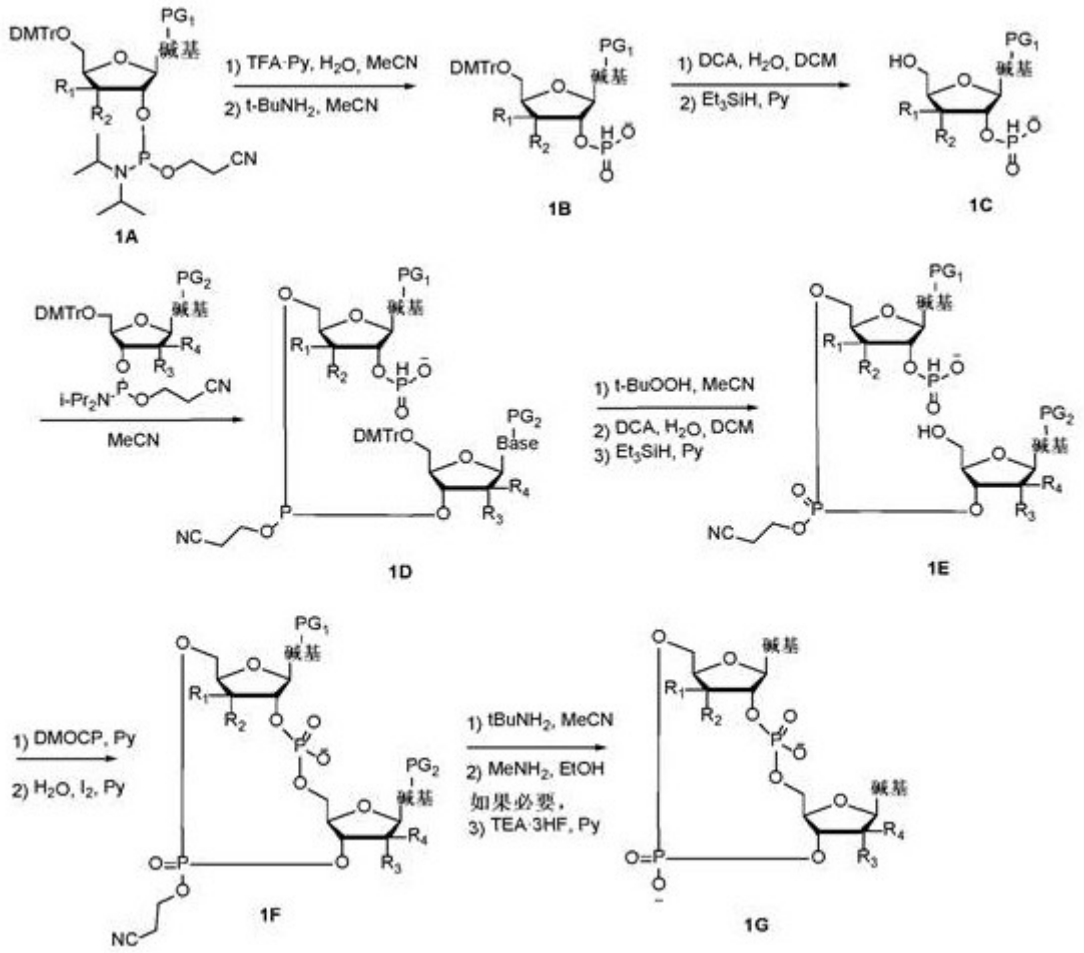
[0275] 用于制备通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药的几种方法描述于下列方案和实施例中。起始原料和中间体购自商业来源，从已知程序制备，或另外说明。在一些情况下，可改变进行反应方案的步骤的顺序以促进反应或避免不期望的反应产物。

[0276] *方法1*

[0277] 用于制备本公开的实施例的一种方法详述于方案1中。该程序适当地修改自先前所报告的用于环状双核苷酸合成的程序(Barbara L. Gaffney等人，*One-Flask Syntheses of c-di-GMP and the [Rp,Rp] and [Rp,Sp] Thiophosphate Analogues*，12 ORG. LETT. 3269-3271 (2010))。该序列开始于修饰的核糖-核苷，其具有其氨基基团用烷基或苯基羰基基团适当保护的核碱基、在2'-O位置处具有氨基磷酸酯官能团且在5'-O位置处具有DMTr醚。其用水性TFA/吡啶条件进行处理且随后用叔丁胺处理以将2'-氨基磷酸酯部分转化成H-膦酸酯。然后，在酸性条件下去除DMTr醚。使所得的5'-羟基基团与完全保护的第二修饰的核糖-核苷的3'-氨基磷酸酯反应以得到环化化合物。其立即用叔丁基氢过氧化物进行氧化。然后，第二核糖-核苷的5'-羟基用二氯乙酸进行去保护。使用2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷2-氧化物作为偶联剂，使在第一核糖-核苷的2'-O处的H-膦酸酯与第二核糖-核苷的5'-OH反应以得到环状产物。其立即用碘水溶液氧化。使用用叔丁胺和甲胺以及氟化物阴离子(在硅烷基保护的情况下)的处理，提供期望的环状双核苷酸1G。

[0278] 方案1

[0279]

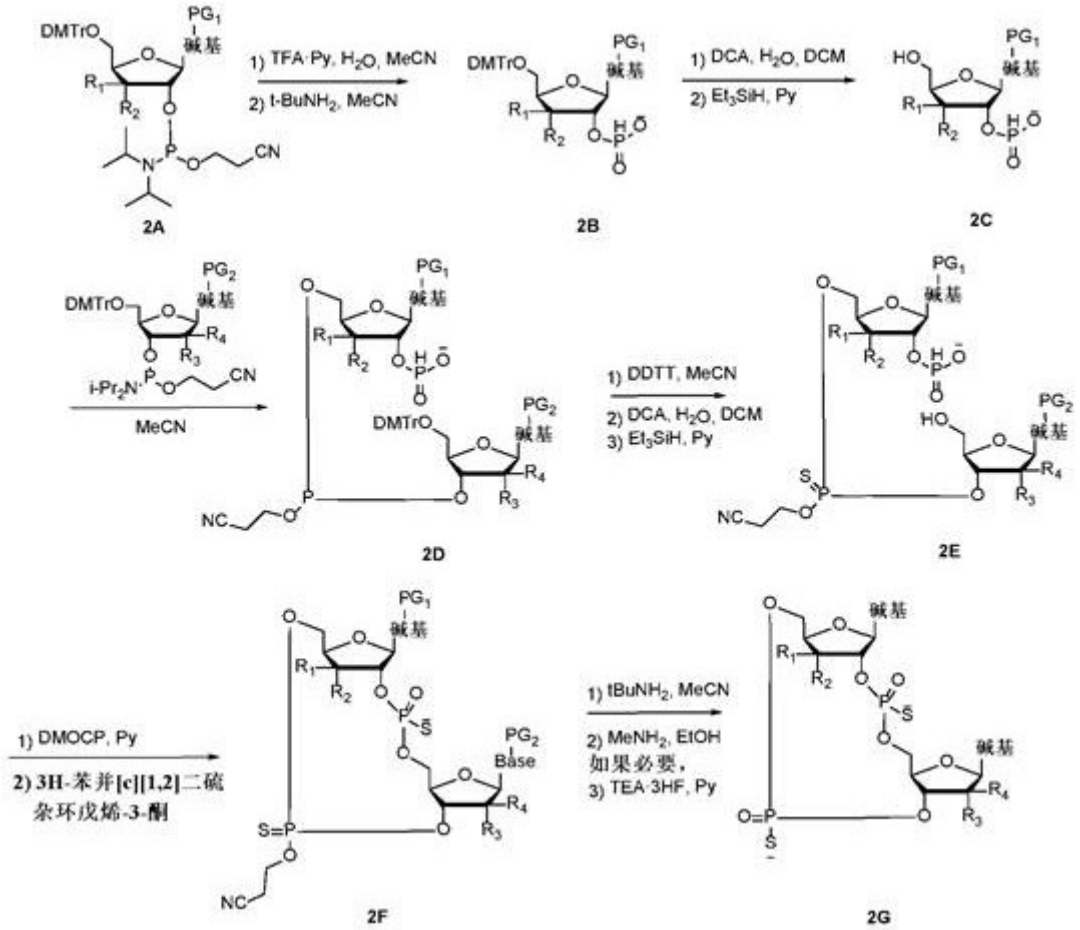


[0280] *方法2*

[0281] 用于制备本公开的实施例的另一种方法详述于方案2中。该程序修改自方案1。该序列开始于修饰的核糖-核苷，其具有其氨基基团用烷基或苯基羰基基团适当保护的核碱基、在2'-O位置处具有氨基磷酸酯官能团且在5'-O位置处具有DMTr醚。其用水性TFA/吡啶条件处理且随后用叔丁胺处理以将2'-氨基磷酸酯部分转化成H-膦酸酯。然后，在酸性条件下去除DMTr醚。使所得的5'-羟基基团与完全保护的第二修饰的核糖-核苷的3'-氨基磷酸酯反应以得到环化化合物。其立即用(E)-N,N-二甲基-N'-(3-硫酮-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺进行硫代酯化。然后，第二核糖-核苷的5'-羟基基团用二氯乙酸去保护。使用2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷2-氧化物作为偶联剂，使在第一核糖-核苷的2'-O处的H-膦酸酯与第二核糖-核苷的5'-OH反应以得到环状产物。其立即用3H-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮进行硫代酯化。使用用叔丁胺和甲胺以及氟化物阴离子(在硅烷基保护的情况下)的处理提供期望的环状双核苷酸二硫代磷酸酯2G。

[0282] 方案2

[0283]



[0284] 使用方法

[0285] 可将本文所述的具有治疗应用的化合物(例如通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物和实施例1至348的化合物)给药至患者以用于诱导免疫反应、诱导STING依赖性细胞因子产生和/或诱导抗肿瘤活性的目的。术语"给药"和其变体(例如"给药"化合物)意指将化合物提供至需要治疗的个体。当化合物与一种或多种其它活性剂(例如可用于治疗HCV感染的抗病毒剂或用于治疗癌症的抗肿瘤剂)组合提供时,"给药"和其变体各自应理解为包括同时和连续提供化合物或盐和其它药剂。

[0286] 本文公开的化合物是STING激动剂和病毒复制的抑制剂。这些化合物潜在地可用于治疗疾病或病症,包括,但不限于细胞增殖病症,诸如癌症。

[0287] 细胞增殖病症包括,但不限于癌症。此类癌症的实例包括,但不限于急性淋巴母细胞性白血病;急性类骨髓性白血病;肾上腺皮质癌;AIDS相关淋巴瘤;AIDS相关恶性肿瘤;肛门癌;星形细胞瘤;胆管癌;膀胱癌;骨癌,骨肉瘤/恶性纤维性组织细胞瘤;脑干胶质瘤;脑星形细胞瘤脑肿瘤;脑星形细胞瘤/恶性神经胶质瘤脑肿瘤;室管膜瘤脑肿瘤;髓母细胞瘤脑肿瘤;幕上原始神经外胚层瘤脑肿瘤;视通路和下丘脑神经胶质瘤脑肿瘤;乳腺癌;支气管腺瘤/类癌;类癌肿瘤;胃肠类癌肿瘤;肾上腺皮质癌;胰岛细胞癌;原发性中枢神经系统淋巴瘤;脑星形细胞瘤/恶性神经胶质瘤;子宫颈癌;慢性淋巴细胞性白血病;慢性骨髓性白血病;慢性骨髓增生性病症;腱鞘透明细胞肉瘤;结肠癌;结肠直肠癌;皮肤T细胞淋巴瘤;子宫内膜癌;室管膜瘤;卵巢上皮癌;食管癌;食管癌;尤文氏家族肿瘤(Ewing's Family of Tumors);颅外生殖细胞瘤;肝外胆管癌;眼内黑色素瘤眼癌;视网膜母细胞瘤眼癌;胆囊癌;

胃(Gastric)(Stomach)癌;胃肠类癌肿瘤;儿童期颅外生殖细胞瘤;性腺外生殖细胞瘤;卵巢生殖细胞瘤;妊娠滋养细胞肿瘤;儿童期脑干神经胶质瘤;儿童期视通路和下丘脑神经胶质瘤;毛细胞白血病;头颈癌;肝细胞(肝)癌;霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's Lymphoma);咽下癌;下丘脑和视通路神经胶质瘤;眼内黑色素瘤;胰岛细胞癌(内分泌胰腺癌);卡波西氏肉瘤(Kaposi's Sarcoma);肾癌;喉癌;急性淋巴母细胞性白血病;急性类骨髓性白血病;慢性淋巴细胞性白血病;慢性骨髓性白血病;毛细胞白血病;唇癌和口腔癌;肝癌;非小细胞肺癌;小细胞肺癌;淋巴母细胞性白血病;AIDS-相关淋巴瘤;中枢神经系统(原发性)淋巴瘤;皮肤T细胞淋巴瘤;霍奇金氏淋巴瘤;怀孕期间的霍奇金氏淋巴瘤;非霍奇金氏淋巴瘤;原发性中枢神经系统淋巴瘤;华氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia);男性乳腺癌;恶性间皮瘤;恶性胸腺瘤;儿童期髓母细胞瘤;黑色素瘤;眼内黑色素瘤;梅克尔细胞癌(Merkel Cell Carcinoma);恶性间皮瘤;潜伏的原发性转移性鳞状颈癌;儿童期多发性内分泌赘瘤形成综合征;多发性骨髓瘤/浆细胞赘瘤;蕈样肉芽肿病;骨髓发育异常综合征;慢性骨髓性白血病;类骨髓性白血病;多发性骨髓瘤;慢性骨髓增生性病症;鼻腔和鼻旁窦癌;鼻咽癌;神经胚细胞瘤;非霍奇金氏淋巴瘤;非小细胞肺癌;口癌;口腔癌和唇癌;口咽癌;骨肉瘤/骨恶性纤维性组织细胞瘤;卵巢上皮癌;卵巢生殖细胞瘤;卵巢低度恶性潜在肿瘤;胰腺癌;鼻旁窦和鼻腔癌;甲状旁腺癌;阴茎癌;嗜铬细胞瘤;松果体和幕上原始神经外胚层瘤;垂体瘤;浆细胞赘瘤/多发性骨髓瘤;胸膜肺母细胞瘤;妊娠期癌和乳腺癌;妊娠期淋巴瘤和霍奇金氏淋巴瘤;妊娠期淋巴瘤和非霍奇金氏淋巴瘤;原发性中枢神经系统淋巴瘤;原发性肝癌;前列腺癌;直肠癌;肾细胞(肾)癌;肾盂和输尿管移行细胞癌症;视网膜母细胞瘤;横纹肌肉瘤;唾液腺癌症;尤文氏家族肿瘤肉瘤;卡波西氏肉瘤;(骨肉瘤)/骨恶性纤维性组织细胞瘤肉瘤;软组织肉瘤;塞扎里综合征;皮肤癌;皮肤癌(黑色素瘤);梅克尔细胞皮肤癌;小细胞肺癌;小肠癌;软组织肉瘤;潜伏的原发性转移性鳞状颈癌;胃(Stomach)(Gastric)癌;幕上原始神经外胚层瘤;皮肤T细胞淋巴瘤;睾丸癌;恶性胸腺瘤;甲状腺癌;肾盂和输尿管移行细胞癌症;妊娠滋养细胞肿瘤;输尿管和肾盂移行细胞癌症;尿道癌;子宫肉瘤;阴道癌;视通路和下丘脑神经胶质瘤;外阴癌;华氏巨球蛋白血症;和维尔姆斯氏肿瘤(Wilms' Tumor)。

[0288] 在一个实施方案中,癌症是脑癌,诸如星形细胞肿瘤(例如纤维状细胞性星形细胞瘤、室管膜下巨细胞星形细胞瘤、弥漫性星形细胞瘤、多形性黄色星形细胞瘤、间变性星形细胞瘤、星形细胞瘤、巨细胞神经胶母细胞瘤、神经胶母细胞瘤、继发性神经胶母细胞瘤、原发性成人神经胶母细胞瘤和原发性儿科神经胶母细胞瘤);寡树突胶质细胞肿瘤(例如,寡树突神经胶质瘤和间变性寡树突神经胶质瘤);寡树突星形细胞肿瘤(例如寡星形细胞瘤和间变性寡星形细胞瘤);室管膜瘤(例如粘液乳头状室管膜瘤和间变性室管膜瘤);髓母细胞瘤;原始神经外胚层瘤、神经鞘瘤、脑膜瘤、非典型脑膜瘤、间变性脑膜瘤和垂体腺瘤。在另一个实施方案中,脑癌是神经胶质瘤、多形性神经胶母细胞瘤、副神经节瘤或幕上原始神经外胚层瘤(sPNET)。

[0289] 在另一个实施方案中,癌症是白血病,诸如急性类骨髓性白血病(AML)、骨髓发育异常综合征(MDS)、慢性骨髓性白血病(CML)、骨髓增殖性赘瘤(MPN)、MPN后AML、MDS后AML、del(5q)相关高风险MDS或AML、胚细胞期慢性骨髓性白血病(blast-phase chronic myelogenous leukemia)、血管免疫胚细胞淋巴瘤和急性淋巴母细胞性白血病。

[0290] 在一个实施方案中，癌症是皮肤癌，包括黑色素瘤。在另一个实施方案中，癌症是前列腺癌、乳腺癌、甲状腺癌、结肠癌或肺癌。在另一个实施方案中，癌症是肉瘤，包括中心性软骨肉瘤、中心性和骨膜软骨瘤和纤维肉瘤。在另一个实施方案中，癌症是胆管癌。

[0291] 如本文所用，术语“治疗(treatment)”和“治疗(treating)”是指其中可减缓、中断、中止、控制或停止本文所述的疾病或病症的进展的所有过程。该术语不必指示所有疾病或病症症状的完全消除。

[0292] 术语“给药(administration)”和或“给药(administering)”化合物应理解为包括向受试者提供本文所述的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药和前者的组合物。

[0293] 给药至受试者的化合物的量是足以在受试者中诱导免疫反应和/或诱导STING依赖性I型干扰素产生的量。在一个实施方案中，化合物的量可以是“有效量”或“治疗有效量”，其中以分别在组织、系统、动物或人类中引发由研究者、兽医、医师或其它临床医师所寻求的生物或医学(即意欲治疗)反应的量来给药标题化合物。有效量不必包括对于与化合物的给药相关的毒性和安全性的考虑。

[0294] 化合物的有效量将随以下因素而变化：所选的特定化合物(例如考虑化合物的功效、效力和/或半衰期)；所选给药途径；所治疗病况；所治疗病况的严重程度；所治疗受试者的年龄、大小、体重和身体状况；所治疗受试者的医疗史；治疗的持续时间；并行疗法的性质；期望治疗效应；和类似因素；且可通常由本领域技术人员来确定。

[0295] 可通过任何合适途径(包括经口和肠胃外给药)来给药本文公开的化合物。肠胃外给药通常通过注射或输注，且包括静脉内、肌内和皮下注射或输注。

[0296] 本文公开的化合物可以一次给药或根据给药方案来给药，其中对于给定时间段以不同时间间隔来给药许多剂量。例如，剂量可每天给药一次、两次、三次或四次。可给药剂量直至实现期望治疗效应或无限给药以维持期望治疗效应。用于本文公开的化合物的合适给药方案取决于该化合物的药代动力学性质，诸如可由本领域技术人员测定的吸收、分布和半衰期。另外，本文公开的化合物的合适给药方案(包括给药此类方案的持续时间)取决于所治疗疾病或病况、疾病或病况的严重程度、所治疗受试者的年龄和身体状况、所治疗受试者的医疗史、并行疗法的性质、期望治疗效应和技术人员已知和所知范围内的类似因素。此类技术人员将进一步理解，合适的给药方案可能需要鉴于个别受试者对给药方案的反应或随时间推移在个别受试者需要改变时进行调整。典型日剂量可根据所选的特定的给药途径而变化。

[0297] 本公开的一个实施方案提供用于治疗细胞增殖病症的方法，其包括向需要其治疗的受试者给药治疗有效量的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物。在一个实施方案中，所述细胞增殖病症是癌症。

[0298] 在一个实施方案中，所述癌症是脑癌、白血病、皮肤癌、前列腺癌、甲状腺癌、结肠癌、肺癌或肉瘤。在另一个实施方案中，所述癌症选自：神经胶质瘤、多形性神经胶母细胞瘤、副神经节瘤、幕上原始神经外胚层瘤、急性类骨髓性白血病、骨髓发育异常综合征、慢性骨髓性白血病、黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌、甲状腺癌、结肠癌、肺癌、中心性软骨肉瘤、中心性和骨膜软骨瘤肿瘤、纤维肉瘤和胆道癌。

[0299] 在一个实施方案中，本文公开通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式

(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药在疗法中的用途。该化合物可用于在受试者(诸如需要此抑制的哺乳动物)中诱导免疫反应和/或诱导STING依赖性I型干扰素产生的方法中,其包括向该受试者给药有效量的化合物。

[0300] 在一个实施方案中,本文公开用于潜在治疗以诱导免疫反应和/或诱导STING依赖性I型干扰素产生的药物组合物,其包含至少一种通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。

[0301] 在一个实施方案中,本文公开通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药在制造用于治疗以诱导免疫反应和/或诱导STING依赖性I型干扰素产生的药剂中的用途。在一个实施方案中,待治疗的疾病或病症是细胞增殖病症。在另一个实施方案中,所述细胞增殖病症是癌症。在另一个实施方案中,所述癌症是脑癌、白血病、皮肤癌、乳腺癌、前列腺癌、甲状腺癌、结肠癌、肺癌或肉瘤。在另一个实施方案中,所述癌症是神经胶质瘤、多形性神经胶母细胞瘤、副神经节瘤、幕上原始神经外胚层瘤、急性类骨髓性白血病、骨髓发育异常综合征、慢性骨髓性白血病、黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌、甲状腺癌、结肠癌、肺癌、中心性软骨肉瘤、中心性和骨膜软骨瘤肿瘤、纤维肉瘤和/或胆道癌。

[0302] 组合物

[0303] 如本文所用的术语"组合物"意欲涵盖包含指定量的指定化合物的剂型以及直接或间接源自指定量的指定化合物的组合的任一剂型。此术语意欲涵盖包含通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂的剂型。因此,本公开的组合物涵盖通过混合本公开的化合物和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂制备的任一组合物。"药学上可接受的"意指载体或赋形剂与本文公开的化合物和与组合物的其它成分相容。

[0304] 出于诱导免疫反应和/或诱导STING依赖性I型干扰素产生的目的,可通过使得活性剂与药剂的作用位点接触的方式来给药化合物(任选地呈盐、水合物、溶剂化物或前药的形式)。其可通过可与药物联合使用的常规方式作为个别治疗剂或与治疗剂的组合进行给药。其可单独给药,但通常与基于所选给药途径和标准药物实践而选择的药物载体一起给药。

[0305] 在一个实施方案中,本文公开组合物,其包含通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。该组合物可以整体形式制备和包装,其中可提取有效量的本公开的化合物且然后(诸如以粉剂或糖浆剂)给予受试者。或者,该组合物可以单位剂型来制备和包装,其中每个物理离散单元含有有效量的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物。

[0306] 通常将本文公开的化合物和药学上可接受的载体或赋形剂配制成适于通过期望给药途径给药至受试者的剂型。例如,剂型包括适用于以下情况的那些:(1)经口给药,诸如片剂、胶囊、囊片、丸剂、糖锭剂、粉剂、糖浆剂、酏剂、悬浮剂、溶液剂、乳剂、小药囊和扁囊剂;和(2)肠胃外给药,诸如无菌溶液、悬浮液和用于重构的粉剂。合适的药学上可接受的载体或赋形剂将根据所选特定剂型而变化。另外,合适的药学上可接受的载体或赋形剂可针对其可在组合物中发挥的特定功能进行选择。例如,某些药学上可接受的载体或赋形剂可针对其促进均匀剂型的产生的能力进行选择。某些药学上可接受的载体或赋形剂可针对其

促进稳定剂型的产生的能力进行选择。某些药学上可接受的载体或赋形剂可针对其促进本文公开的化合物一旦在给药至受试者就从身体的一个器官或部分至身体的另一器官或另一部分的携带或转运的能力进行选择。某些药学上可接受的载体或赋形剂可针对其增强患者顺从性的能力进行选择。

[0307] 合适的药学上可接受的赋形剂包括下列类型的赋形剂:稀释剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂、填充剂、助流剂、造粒剂、包衣剂、润湿剂、溶剂、共溶剂、悬浮剂、乳化剂、甜味剂、矫味剂、气味遮蔽剂、着色剂、抗结块剂、保湿剂、螯合剂、塑化剂、粘度增加剂、抗氧化剂、防腐剂、稳定剂、表面活性剂和缓冲剂。

[0308] 技术人员具有本领域的知识和技术以适当量选择合适的药学上可接受的载体和赋形剂以用于本公开中。另外,存在许多技术人员可用的来源,其描述药学上可接受的载体和赋形剂且可用于选择合适的药学上可接受的载体和赋形剂。实例包含Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company)、The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited)和The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press)。

[0309] 使用本领域技术人员已知的技术和方法来制备本公开的组合物。本领域通常使用的一些方法描述于Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company)中。

[0310] 在一个实施方案中,本公开涉及包含有效量的本公开的化合物和稀释剂或填充剂的固体口服剂型,诸如片剂或胶囊。合适的稀释剂和填充剂包括乳糖、蔗糖、右旋糖、甘露醇、山梨醇、淀粉(例如玉米淀粉、马铃薯淀粉和预胶化淀粉)、纤维素和其衍生物(例如微晶纤维素)、硫酸钙和磷酸氢钙。口服固体剂型可进一步包含粘合剂。合适的粘合剂包含淀粉(例如玉米淀粉、马铃薯淀粉和预胶化淀粉)、明胶、阿拉伯树胶、海藻酸钠、海藻酸、黄蓍胶、瓜尔胶、聚维酮(povidone)和纤维素和其衍生物(例如微晶纤维素)。口服固体剂型可进一步包含崩解剂。合适的崩解剂包括交聚维酮(crospovidone)、乙醇酸淀粉钠、交联羧甲基纤维素、海藻酸和羧基甲基纤维素钠。口服固体剂型可进一步包含润滑剂。合适的润滑剂包括硬脂酸、硬脂酸镁、硬脂酸钙和滑石。

[0311] 当适当时,用于经口给药的剂量单位制剂可被微囊化。该组合物也可如,例如,通过将微粒材料包衣或包埋于聚合物、蜡等中来制备以延长或维持释放。

[0312] 本文公开的化合物也可与作为可靶向药物载体的可溶性聚合物偶联。此类聚合物可包括用棕榈酰残基取代的聚乙烯基吡咯烷酮、吡喃共聚物、聚羟丙基甲基丙烯酰胺苯酚、聚羟乙基天冬酰胺苯酚或聚环氧乙烷聚赖氨酸。此外,本公开的化合物可与一类可用于实现药物的受控释放的生物可降解聚合物偶联,所述聚合物例如聚乳酸、聚ε己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯和水凝胶的交联或两亲性嵌段共聚物。

[0313] 在一个实施方案中,本公开涉及液体口服剂型。口服液体诸如溶液、糖浆和酏剂可以剂量单位形式制备,使得给定量含有预定量的本文公开的化合物。糖浆可通过将本公开的化合物溶解于合适矫味的水溶液中来制备;而酏剂通过使用无毒醇性媒介物来制备。悬浮剂可通过将本文公开的化合物分散于非毒性媒介物中来配制。也可添加增溶剂和乳化剂

(诸如乙氧基化异硬脂醇和聚氧乙烯山梨糖醇醚)、防腐剂、矫味添加剂(诸如薄荷油或其它天然甜味剂或糖精或其它人工甜味剂等)。

[0314] 在一个实施方案中,本公开涉及用于肠胃外给药的组合物。适于肠胃外给药的组合物包括含水和无水无菌注射液,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使得制剂与预期受体的血液等渗的溶质;以及含水和无水无菌悬浮液,其可包括悬浮剂和增稠剂。所述组合物可以单位剂量或多剂量容器(例如密封安瓿和小瓶)呈现,且可储存于冷冻干燥(冻干)条件下,仅需要在即将使用前添加无菌液体载体(例如注射用水)。可从无菌粉剂、颗粒和片剂制备临时注射溶液和悬浮液。

[0315] 组合

[0316] 通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和/或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药可与一种或多种额外治疗剂组合给药。在实施方案中,可共同给药一种或多种通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药和一种或多种额外治疗剂。可以单一剂型给药额外治疗剂与通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药,或可以分开剂型给药额外治疗剂与含有通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药的剂型。额外治疗剂可以是一种或多种选自以下的药剂:STING激动剂化合物、抗病毒化合物、抗原、佐剂、抗癌剂、CTLA-4、LAG-3和PD-1途径拮抗剂、脂质、肽、细胞毒性剂、化学治疗剂、免疫调节细胞系、检查点抑制剂、血管内皮生长因子(VEGF)受体抑制剂、拓扑异构酶II抑制剂、平滑抑制剂、烷基化剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢物、类视黄醇类物质和免疫调节剂,包括但不限于抗癌疫苗。应理解,上述额外治疗剂的描述可以是重叠的。还应理解,治疗组合进行优化,且应理解,基于个别患者需要来确定使用通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物和一种或多种其它治疗剂的最佳组合。

[0317] 本文公开的化合物可与一种或多种其它活性剂组合使用,所述其它活性剂包括但不限于用于预防、治疗、控制、改善特定疾病或病况(例如细胞增殖病症)或减小其风险的其它抗癌剂。在一个实施方案中,将本文公开的化合物与一种或多种其它抗癌剂进行组合,所述其它抗癌剂用于预防、治疗、控制、改善本文公开的化合物对其有用的特定疾病或病况或减小其风险。此类其它活性剂可通过其常用途径和量与本公开的化合物同时或依次给药。

[0318] 当同时使用本文公开的化合物与一种或多种其它活性剂时,涵盖除本文公开的化合物外还含有此类其它活性剂的组合物。因此,本公开的组合物包括除本文公开的化合物外还含有一种或多种其它活性成分的那些组合物。本文公开的化合物可与一种或多种其它治疗剂同时或在其之前或之后给药。本文公开的化合物可通过相同或不同给药途径分开给药,或以相同药物组合物与其它药剂(诸药剂)一起给药。

[0319] 作为组合提供的产品可包括包含通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药和一种或多种其它活性剂的组合物(一起在同一药物组合物中),或可包括包含通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药的组合物和包含一种或多种其它治疗剂的组合物(以分开形式,例如以试剂盒形式或以经设计以使得能够分开给药(并行或以分开给药时间表)的任一形式)。

[0320] 本文公开的化合物与第二活性剂的重量比可变化且将取决于每种药剂的有效剂量。通常，将使用各自的有效剂量。本文公开的化合物和其它活性剂的组合通常也在上文所提及的范围内，但在每种情况下，应使用每种活性剂的有效剂量。在此类组合中，本文公开的化合物和其它活性剂可分开给药或结合给药。另外，一种要素可在其它药剂(诸药剂)给药之前、同时或之后进行给药。

[0321] 在一个实施方案中，本公开提供包含通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药和至少一种其它治疗剂的组合物，其作为组合制剂以用于同时、分开或依次用于疗法中。在一个实施方案中，该疗法是细胞增殖病症(诸如癌症)的治疗。

[0322] 在一个实施方案中，本公开提供包含两种或更多种分开药物组合物的试剂盒，所述分开药物组合物中的至少一种含有通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药。在一个实施方案中，该试剂盒包含分开保留所述组合物的装置，诸如容器、分开的瓶子或分开的箔包。此试剂盒的实例是如通常用于包装片剂、胶囊等的泡罩包。

[0323] 本公开的试剂盒可用于给药不同剂型(例如口服和肠胃外剂型)，用于以不同剂量间隔给药分开组合物，或针对彼此滴定的分开组合物。为了有助于顺从性，本公开的试剂盒通常包含用于给药的说明书。

[0324] 本文公开通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药用于治疗细胞增殖病症的用途，其中制备用于与另一种活性剂一起给药的药剂。本公开还提供另一种活性剂用于治疗细胞增殖病症的用途，其中将该药剂与通式(I)的化合物一起给药。

[0325] 本公开还提供通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药用于治疗细胞增殖病症的用途，其中该患者已先前(例如在24小时内)用另一种活性剂进行治疗。本公开还提供另一种治疗剂用于治疗细胞增殖病症的用途，其中该患者已先前(例如在24小时内)用通式(I)的化合物、通式(I')的化合物或通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药进行治疗。可在给药本文公开的化合物之后一周、数周、一个月或数月应用第二药剂。

[0326] 可与本文公开的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物组合使用的STING激动剂化合物包括但不限于环状双核苷酸化合物。

[0327] 可与本文公开的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物组合使用的抗病毒化合物包括乙型肝炎病毒(HBV)抑制剂、丙型肝炎病毒(HCV)蛋白酶抑制剂、HCV聚合酶抑制剂、HCV NS4A抑制剂、HCV NS5A抑制剂、HCV NS5b抑制剂和人类免疫缺陷病毒(HIV)抑制剂。

[0328] 可与本文公开的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物组合使用的抗原和佐剂包括B7共刺激分子、白介素-2、干扰素-y、GM-CSF、CTLA-4拮抗剂、OX-40/OX-40配体、CD40/CD40配体、沙格司亭(sargramostim)、左旋咪唑(levamisol)、牛痘病毒、卡介苗(Bacille Calmette-Guerin)(BCG)、脂质体、明矾、弗氏完全或不完全佐剂(Freund's complete or incomplete adjuvant)、脱毒内毒素、矿物油、表面活性物质(诸如脂卵磷脂、普罗尼克(pluronic)多元醇、聚阴离子、肽和油)或碳氢化合物乳液。可添加佐剂(诸如

氢氧化铝或磷酸铝)以增加疫苗触发、增强或延长免疫反应的能力。分开使用或与所述组合物组合使用的额外物质,诸如细胞因子、趋化因子,和细菌核酸序列(如CpG)、toll-样受体(TLR)9激动剂,以及用于TLR 2、TLR 4、TLR 5、TLR 7、TLR 8、TLR9的额外激动剂,包括脂蛋白、LPS、单磷酰脂质A、脂磷壁酸(lipoteichoic acid)、咪喹莫特(imiquimod)、瑞喹莫德(resiquimod),和另外视黄酸可诱导基因I(RIG-I)激动剂(诸如聚I:C),也是潜在佐剂。

[0329] CLTA-4和PD-1途径是免疫反应的重要负调节剂。活化的T细胞上调结合于抗原呈递细胞上且抑制T细胞刺激、IL-2基因表达和T-细胞增殖的CTLA-4;这些抗肿瘤效应已在结肠癌、转移前列腺癌和转移黑色素瘤的小鼠模型中观察到。PD-1结合至活性T细胞且抑制T细胞活化;PD-1拮抗剂也已表明抗肿瘤效应。可与本文公开的通式(I)的化合物组合使用的CTLA-4和PD-1途径拮抗剂包括伊匹单抗(ipilimumab)、曲美目单抗(tremelimumab)、纳武单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、CT-011、AMP-224和MDX-1106。

[0330] “PD-1拮抗剂”或“PD-1途径拮抗剂”意指阻断癌细胞上表达的PD-L1与免疫细胞(T细胞、B细胞或NKT细胞)上表达的PD-1的结合且优选地还阻断癌细胞上表达的PD-L2与免疫细胞表达的PD-1的结合的任何化学化合物或生物分子。PD-1和其配体的替代名称或同义词包括:对于PD-1,为PDCD1、PD1、CD279和SLEB2;对于PD-L1,为PDCD1L1、PDL1、B7H1、B7-4、CD274和B7-H;和对于PD-L2,为PDCD1L2、PDL2、B7-DC、Btdc和CD273。在本公开的其中治疗人类个体的治疗方法、药剂和用途的任一者中,PD-1拮抗剂阻断人类PD-L1与人类PD-1的结合,且优选地阻断人类PD-L1和PD-L2与人类PD-1的结合。人类PD-1氨基酸序列可见于NCBI基因座编号:NP_005009。人类PD-L1和PD-L2氨基酸序列可分别见于NCBI基因座编号:NP_054862和NP_079515。

[0331] 可用于本公开的治疗方法、药剂和用途中的任一者中的PD-1拮抗剂包括特异性结合PD-1或PD-L1且优选地特异性结合人类PD-1或人类PD-L1的单克隆抗体(mAb)或其抗原结合片段。mAb可以是人类抗体、人源化抗体或嵌合抗体且可包括人类恒定区。在一些实施方案中,人类恒定区选自:IgG1、IgG2、IgG3和IgG4恒定区,并在优选实施方案中,人类恒定区是IgG1或IgG4恒定区。在一些实施方案中,抗原结合片段选自:Fab、Fab'-SH、$F(ab')_2$、scFv和Fv片段。

[0332] 结合人类PD-1且可用于本公开的治疗方法、药剂和用途中的mAb的实例描述于美国专利号US7488802、US7521051、US8008449、US8354509和US8168757、PCT国际专利申请公开号WO2004/004771、WO2004/072286和WO2004/056875和美国专利申请公开号US2011/0271358。

[0333] 结合人类PD-L1且可用于本公开的治疗方法、药剂和用途中的mAb的实例描述于PCT国际专利申请号WO2013/019906和WO2010/077634 A1和美国专利号US8383796中。可用作本公开的治疗方法、药剂和用途中的PD-1拮抗剂的特定抗人类PD-L1 mAb包括MPDL3280A、BMS-936559、MEDI4736、MSB0010718C和分别包含WO2013/019906中SEQ ID NO: 24和SEQ ID NO: 21的重链和轻链可变区的抗体。

[0334] 可用于本公开的治疗方法、药剂和用途中的任一者中的其它PD-1拮抗剂包括特异性结合PD-1或PD-L1且优选地特异性结合人类PD-1或人类PD-L1的免疫粘附分子,例如含有融合至免疫球蛋白分子的恒定区(例如Fc区)的PD-L1或PD-L2的细胞外或PD-1结合部分的融合蛋白。特异性结合PD-1的免疫粘附分子的实例描述于PCT国际专利申请公开号WO2010/

027827和WO2011/066342中。可用作本公开的治疗方法、药剂和用途中的PD-1拮抗剂的特定融合蛋白包括AMP-224(也称为B7-DCIg),其为PD-L2-FC融合蛋白且结合人类PD-1。

[0335] 可与本文公开的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药组合使用的细胞毒性剂的实例包括但不限于三氧化二砷(以商品名TRISENOX®销售)、天冬酰胺酶(也称为L-天冬酰胺酶和欧文氏菌属(Erwinia) L-天冬酰胺酶,以商品名ELSPAR®和KIDROLASE®销售)。

[0336] 可与本文公开的通式(I)的化合物、通式(I')的化合物和通式(I")的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物或前药组合使用的化学治疗剂包括乙酸阿比特龙(abiraterone acetate)、六甲蜜胺(altretamine)、脱水长春碱(anhydrovinblastine)、澳瑞他汀(auristatin)、贝沙罗汀(bexarotene)、比卡鲁胺(bicalutamide)、BMS 184476、2,3,4,5,6-五氟-N-(3-氟-4-甲氧基苯基)苯磺酰胺、博来霉素、N,N-二甲基-L-缬氨酰基-L-缬氨酰基-N-甲基-L-缬氨酰基-L-脯氨酰基-1-L脯氨酸-叔丁基酰胺、恶病质素(cachectin)、西马多丁(cemadotin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、3',4'-二脱氢-4'脱氧-8'-norvin-caleukoblastine、多西紫杉醇(docetaxol)、多西他赛(doxetaxel)、环磷酰胺、卡铂(carboplatin)、卡莫司汀(carmustine)、顺铂(cisplatin)、念珠藻素(cryptophycin)、环磷酰胺、阿糖胞苷(cytarabine)、达卡巴嗪(dacarbazine)(DTIC)、放线菌素(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、decitabine dolastatin、多柔比星(doxorubicin)(阿霉素(adriamycin))、依托泊苷(etoposide)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、非那雄胺(finasteride)、氟他胺(flutamide)、羟基脲和羟基脲紫杉烷、异环磷酰胺(ifosfamide)、利阿唑(liarozole)、氯尼达明(lonidamine)、洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、MDV3100、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)(氮芥(nitrogen mustard))、美法仑(melphalan)、羟乙基磺酸米伏布尔(mivobulin isethionate)、利索新(rhizoxin)、sertenef、链脲霉素(streptozocin)、丝裂霉素(mitomycin)、氨甲喋呤(methotrexate)、紫杉烷类(taxanes)、尼鲁米特(nilutamide)、纳武单抗、奥那司酮(onapristone)、紫杉醇(paclitaxel)、派姆单抗、泼尼氮芥(prednimustine)、丙卡巴肼(procarbazine)、RPR109881、磷酸雌莫司汀(stramustine phosphate)、他莫昔芬(tamoxifen)、他索那敏(tasonermin)、紫杉醇(taxol)、维甲酸(tretinoin)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、硫酸长春地辛(vindesine sulfate)和长春氟宁(vinflunine)。

[0337] 血管内皮生长因子(VEGF)受体抑制剂的实例包括但不限于贝伐珠单抗(bevacizumab)(以商标AVASTIN由Genentech/Roche销售)、阿西替尼(axitinib)(描述于PCT国际专利公开号WO01/002369中)、丙氨酸布立尼布(Brivanib Alaninate)(2-氨基丙酸(S)-((R)-1-(4-(4-氟-2-甲基-1H-吲哚-5-基氧基)-5-甲基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-6-基氧基)丙烷-2-基)酯,也称为BMS-582664)、莫特塞尼(motesanib)(N-(2,3-二氢-3,3-二甲基-1H-吲哚-6-基)-2-[(4-吡啶基甲基)氨基]-3-吡啶甲酰胺且描述于PCT国际专利申请公开号WO02/068470中)、帕瑞肽(pasireotide)(也称为SO 230且描述于PCT国际专利公开号WO02/010192中)和索拉菲尼(sorafenib)(以商品名NEXAVAR销售)。

[0338] 拓扑异构酶II抑制剂的实例包括但不限于依托泊苷(也称为VP-16和磷酸依托泊苷,以商品名TOPOSAR、VEPESID和ETOPOPHOS销售)和替尼泊苷(teniposide)(也称为VM-26,

以商品名VUMON销售)。

[0339] 烷基化剂的实例包括但不限于5-氮胞苷(以商品名VIDAZA销售)、地西他滨(decitabine)(以商品名DECOGEN销售)、替莫唑胺(temozolomide)(以商品名TEMODAR和TEMODAL由Schering-Plough/Merck销售)、放线菌素(dactinomycin)(也称为放线菌素-D且以商品名COSMEGEN销售)、美法仑(也称为L-PAM、L-溶肉瘤素和苯丙氨酸氮芥,以商品名ALKERAN销售)、六甲蜜胺(也称为六甲基三聚氰胺(HMM)、以商品名HEXALEN销售)、卡莫司汀(以商品名BCNU销售)、苯达莫司汀(以商品名TREANDA销售)、白消安(以商品名BUSULFEX®和MYLERAN®销售)、卡铂(以商品名PARAPLATIN®销售)、洛莫司汀(也称为CCNU,以商品名CEENU®销售)、顺铂(也称为CDDP,以商品名PLATINOL®和PLATINOL®-AQ销售)、苯丁酸氮芥(以商品名LEUKERAN®销售)、环磷酰胺(以商品名CYTOXAN®和NEOSAR®销售)、达卡巴嗪(也称为DTIC、DIC和咪唑甲酰胺,以商品名DTIC-DOME®销售)、六甲蜜胺(也称为六甲基三聚氰胺(HMM),以商品名HEXALEN®销售)、异环磷酰胺(以商品名IFEX®销售)、丙卡巴肼(以商品名MATULANE®销售)、二氯甲基二乙胺(也称为氮芥、氮芥(mustine)和盐酸氮芥(mechloroethamine hydrochloride),以商品名MUSTARGEN®销售)、链脲霉素(以商品名ZANOSAR®销售)、噻替派(也称为硫代磷酰胺、TESPA和TSPA,且以商品名THIOPLEX®销售)。

[0340] 抗肿瘤抗生素的实例包括但不限于多柔比星(以商品名ADRIAMYCIN®和RUBEX®销售)、博来霉素(以商品名LENOXANE®销售)、柔红霉素(也称为柔红霉素盐酸盐(dauorubicin hydrochloride)、道诺霉素(daunomycin)和红比霉素盐酸盐(rubidomycin hydrochloride),以商品名CERUBIDINE®销售)、柔红霉素脂质体(柠檬酸柔红霉素脂质体,以商品名DAUNOXOME®销售)、米托蒽醌(mitoxantrone)(也称为DHAD,以商品名NOVANTRONE®销售)、表柔比星(epirubicin)(以商品名ELLENCE™销售)、伊达比星(idarubicin)(以商品名IDAMYCIN®、IDAMYCIN PFS®销售)和丝裂霉素C(以商品名MUTAMYCIN®销售)。

[0341] 抗代谢剂的实例包括但不限于克拉屈滨(claribine)(2-氯脱氧腺苷,以商品名LEUSTATIN®销售)、5-氟尿嘧啶(以商品名ADRUCIL®销售)、6-硫鸟嘌呤(以商品名PURINETHOL®销售)、培美曲塞(pemetrexed)(以商品名ALIMTA®销售)、阿糖胞苷(也称为阿糖胞嘧啶(Ara-C),以商品名CYTOSAR-U®销售)、阿糖胞苷脂质体(也称为脂质体Ara-C,以商品名DEPOCYT™销售)、地西他滨(以商品名DACOGEN®销售)、羟基脲(以商品名HYDREA®、DROXIA™和MYLOCEL™销售)、氟达拉滨(fludarabine)(以商品名FLUDARA®销售)、氟尿苷(floxuridine)(以商品名FUDR®销售)、克拉屈滨(cladribine)(也称为2-氯脱氧腺苷(2-CdA),以商品名Leustatin™销售)、氨甲蝶呤(也称为甲胺蝶呤(amethopterin)、胺甲蝶呤钠(MTX),以商品名RHEUMATREX®和TREXALL™ 销售)和喷司他丁(pentostatin)(以商品名NIPENT®销售)。

[0342] 类视黄醇类物质的实例包括但不限于阿利维A酸(alitretinoin)(以商品名PANRETIN®销售)、维A酸(tretinoin)(全反视黄酸,也称为ATRA,以商品名VESANOID®销售)、异维甲酸(Isotretinoin)(13-顺式-视黄酸,以商品名ACCUTANE®、AMNESTEEM®、CLARAVIS®、CLARUS®、DECUTAN®、ISOTANE®、IZOTECH®、ORATANE®、ISOTRET®和SOTRET®销售)和贝沙罗汀(bexarotene)(以商品名TARGRETIN®销售)。

[0343] 活性:STING生物化学[3H]cGAMP竞争测定

[0344] 通过在STING生物化学[^{3}H]cGAMP竞争测定中表明以20uM或更小的EC_{50}结合至

STING蛋白并在THP1细胞测定中在30uM下以20%或更大发光诱导在IFN-β分泌中表明干扰素产生,本文实施例中所述的个别化合物被定义为STING激动剂。

[0345] 使用放射性过滤-结合测定通过与氚化的cGAMP配体竞争人类STING受体膜的能力来定量化合物结合STING的能力。该结合测定采用获得自过表达内部制备的全长HAQ STING和也内部纯化的氚化的cGAMP配体的Hi-Five细胞膜的STING受体。

[0346] 缩写

[0347] ^{1}H -NMR 质子核磁共振光谱

[0348] ^{19}F-NMR ^{19}F核磁共振光谱

[0349] ^{31}P-NMR ^{31}P核磁共振光谱

[0350] Å 埃

[0351] A^{Bz} 6-*N*-苯甲酰基腺嘌呤

[0352] aq 水性

[0353] Ar 氩

[0354] ATP 5'-三磷酸腺苷

[0355] Bz 苯甲酰基

[0356] CD_3OD 富含氚的甲基醇,富含氚的甲醇

[0357] $CHCl_3$ 三氯甲烷

[0358] Ci 居里,放射性的非标准单位;1Ci = 3.7×10^{10}Bq,其中Bq是贝可,放射性的SI单位,等同于每秒1次分解(dps)

[0359] CO_2 二氧化碳

[0360] d 双重峰

[0361] d 天(诸天)

[0362] D_2O 富含氚的水

[0363] DCA 二氯乙酸

[0364] DCM, CH_2Cl_2 二氯甲烷

[0365] ddd 双重峰的双峰的双峰

[0366] ddt 三重峰的双峰的双峰

[0367] DDTT (E)-N,N-二甲基-N'-(3-硫酮-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺

[0368] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[0369] DMOCP 2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷2-氧化物

[0370] DMSO 二甲亚砜

[0371] DMTr 4,4'-二甲氧基三苯甲基

[0372] DMTrCl 4,4'-二甲氧基三苯甲基氯

[0373] dq 四重峰的双峰

[0374] EC_{50} 半数最大有效浓度,在特定暴露时间后诱导在基线与最大值之间的一半的反应的药物、抗体或毒物的浓度

[0375] eq 当量

[0376] ES 电子喷雾

[0377] Et 乙基

[0378] Et_2O 乙醚

[0379] Et_3SiH 三乙基硅烷

[0380] EtOAc 乙酸乙酯

[0381] EtOH 乙基醇,乙醇

[0382] g 克

[0383] GTP 5'-三磷酸鸟苷

[0384] h 小时

[0385] H_2O 水

[0386] HEPES 2-[4-(2-羟基乙基)哌嗪-1-基]乙磺酸,两性离子有机化学缓冲剂

[0387] hept 七重峰

[0388] Hex 已烷类化合物

[0389] HF-Pyr 氟化氢-吡啶络合物

[0390] HPLC 高效液相色谱

[0391] Hz 赫兹

[0392] ITP 5'-三磷酸肌苷

[0393] J NMR耦合常数

[0394] LCMS 液相色谱-质谱

[0395] m 多重峰

[0396] M 摩尔浓度,每升摩尔数

[0397] mCi 毫居里

[0398] Me 甲基

[0399] MeCN 乙腈

[0400] $MeNH_2$ 甲胺

[0401] mg 毫克

[0402] $MgCl_2$ 氯化镁

[0403] MHz 兆赫

[0404] min 分钟(诸分钟)

[0405] mL,ml 毫升

[0406] mM 每升毫摩尔

[0407] mmol 毫摩尔

[0408] MOI 感染复数

[0409] MPLC 中压液相色谱

[0410] MTBE 甲基叔丁基醚,甲基叔丁基醚

[0411] Na_2SO_4 硫酸钠

[0412] NaCl 氯化钠

[0413] $NaHCO_3$ 碳酸氢钠

[0414] $NaHSO_3$ 亚硫酸氢钠

[0415] NaOH 氢氧化钠

[0416] ng 纳克(诸纳克)

[0417] NH_4HCO_3 碳酸氢铵

[0418] NH_4OH 氢氧化铵

[0419] nL 纳升

[0420] nm 纳米

[0421] nM 纳摩尔浓度

[0422] P_2O_5 五氧化二磷

[0423] Py 吡啶

[0424] q 四重峰

[0425] RPM, rpm 每分钟转数

[0426] RT, rt 室温,大约25°C

[0427] s 单峰

[0428] sat 饱和的

[0429] t 三重峰

[0430] TBS 叔丁基二甲基甲硅烷基

[0431] TMA 三甲胺

[0432] TEA, Et_3N 三乙胺

[0433] TFA 三氟乙酸

[0434] TLC 薄层色谱

[0435] TMSCl 三甲基甲硅烷基氯

[0436] T_R 保留时间

[0437] TrisCl 三(羟基甲基)氨基甲烷盐酸盐

[0438] v/v 体积/体积

[0439] λ_{em} 发射波长

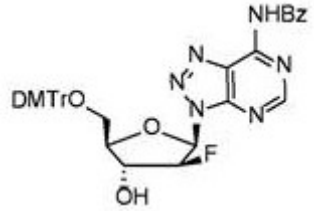
[0440] λ_{ex} 激发波长

[0441] μg 微克

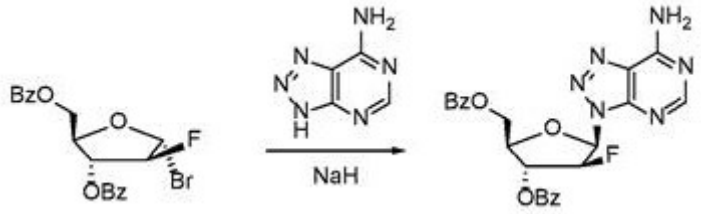
[0442] μL, uL 微升

[0443] μM, uM 微摩尔浓度。

[0444] 制备1:N-(3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺

[0445] 

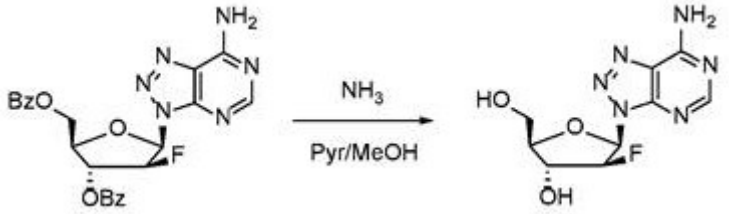
[0446] *步骤1:苯甲酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯*

[0447] 

[0448] 向3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-胺(2.36g, 17.4mmol)于NMP (50ml)中的混合物中添加NaH (60%, 0.744g, 18.6mmol)。将混合物剧烈搅拌并在1小时之后,气泡生成已完全停止。将混合物以一部分添加至苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4-氟四氢呋喃-2-基)甲酯(纯净的,5.25g, 12.4mmol)中。将反应物搅拌18小时。LCMS显示具有期望质量的几个峰(m/e=479)。向反应物中添加EtOAc(70mL)和水(70mL)。分离各层,并用半饱和盐水(3×10mL)和盐水(1×10mL)洗涤有机层,干燥($MgSO_4$),并浓缩。经由用己烷中的0至50% EtOAc洗脱的二氧化硅柱纯化粗制物以得到产物。

[0449] LCMS (ES, m/z): 479.3 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d_6): δ 8.62 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.10-8.04 (m, 2H), 7.97-7.90 (m, 2H), 7.77-7.69 (m, 1H), 7.67-7.55 (m, 3H), 7.49-7.42 (m, 2H), 6.97 (dd, J = 6.5, 3.1Hz, 1H), 6.49 (dt, J = 17.6, 6.9Hz, 1H), 6.16 (dt, J = 56, 6.6Hz, 1H), 4.76-4.62 (m, 3H).

[0450] *步骤2:(2R,3R,4S,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇*

[0451] 

[0452] 向苯甲酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(2.00g, 4.18mmol)于吡啶(10mL)中的溶液中添加MeOH中的NH_3 (7N, 20mL, 140mmol)。将其搅拌48小时。LCMS显示反应完成(m/e=271)。将其浓缩并通过用CH_2Cl_2中的10% MeOH洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到期望产物。

[0453] LCMS (ES, m/z): 271.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d6): δ 8.54 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 6.73 (dd, *J* = 6.5, 2.6Hz, 1H), 6.00 (d, *J* = 5.4Hz, 1H), 5.51 (ddd, *J* = 53, 7.2, 6.5Hz, 1H), 4.93 (t, *J* = 5.8Hz, 1H), 4.86-4.74 (m, 1H), 3.91-3.83 (m, 1H), 3.77-3.61 (m, 2H).

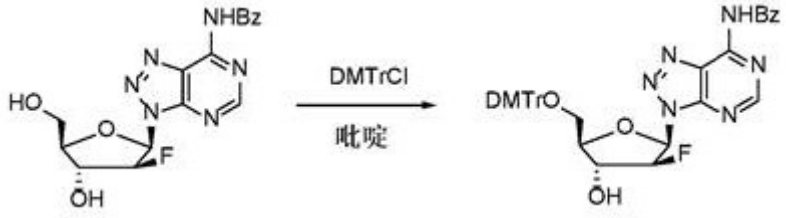
[0454] *步骤3:N-(3-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺*

[0455] 

[0456] 在0℃下，向(2R,3R,4S,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(1.34g，4.96mmol)于吡啶(30mL)中的溶液中添加TMSCl (1.46mL，11.4mmol)。将其温热至室温并搅拌1小时。然后，将其再冷却至0℃并逐滴添加BzCl (0.921mL，7.93mmol)。将反应物经2小时缓慢温热至室温。LCMS显示反应完成(m/e=375，479)。添加水(3mL)。将其冷却至0℃且添加NH_3的MeOH溶液(7N，2.8mL，20mmol)。在1小时之后，浓缩反应混合物。将其通过用CH_2Cl_2中的0至10% MeOH洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到产物。

[0457] LCMS (ES, m/z): 375.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d_6): δ 11.95 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.6Hz, 2H), 7.73-7.66 (m, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.7Hz, 2H), 6.91 (d, *J* = 6.2Hz, 1H), 6.06 (d, *J* = 5.6Hz, 1H), 5.59 (t, *J* = 53, 6.8Hz, 1H), 4.90 (t, *J* = 5.8Hz, 1H), 4.82 (dq, *J* = 19.8, 7.0Hz, 1H), 3.92 (td, *J* = 7.6, 2.9Hz, 1H), 3.75 (ddd, *J* = 12.1, 5.6, 3.0Hz, 1H), 3.66 (dt, *J* = 12.0, 6.6Hz, 1H).

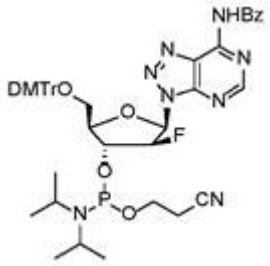
[0458] *步骤4：N-(3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺*

[0459] 

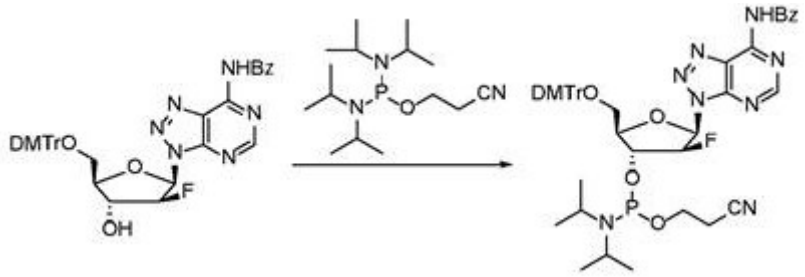
[0460] 在0℃下，向N-(3-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)-四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺(1.25g,3.34mmol)于吡啶(15mL)中的溶液中添加DMTrCl (1.58g，4.68mmol)。将其在室温下搅拌1小时。LCMS显示具有期望质量的峰(m/e=677)。将其部分地浓缩(至5mL)，并添加EtOAc(20mL)和水(10mL)。分离各层，并用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机物用盐水(5mL)洗涤，干燥($MgSO_4$)，浓缩并通过用己烷中的0至60% EtOAc洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到产物。

[0461] LCMS (ES, m/z): 675.5 $[M-H]^-$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d_6): δ 8.13 - 8.07 (m, 2H), 7.69 (t, *J* = 7.4Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.6Hz, 2H), 7.35-7.29 (m, 2H), 7.23-7.10 (m, 6H), 6.97 (d, *J* = 6.5Hz, 1H), 6.81-6.74 (m, 2H), 6.74-6.67 (m, 2H), 6.07 (d, *J* = 5.7Hz, 1H), 5.62 (dt, *J* = 53, 7.0Hz, 1H), 4.91-4.79 (m, 1H), 4.15-4.07 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.44 (dd, *J* = 10.4, 8.0Hz, 1H), 3.21 (dd, *J* = 10.3, 2.4Hz, 1H).

[0462] 制备2：二异丙基亚磷酰胺(phosphoramidite)(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯

[0463] 

[0464] *步骤1:二异丙基亚磷酰胺(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯*

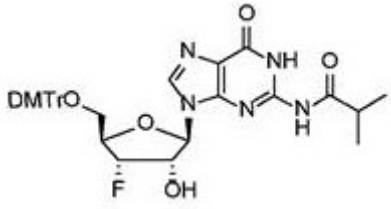
[0465] 

[0466] 在室温下,向3-((双(二异丙基氨基)膦基)氧基)丙腈(8.02g, 26.6mmol)于ACN(90mL)中的溶液中添加2,2,2-三氟乙酸吡啶-1-鎓(3.85g, 19.95mmol)和N-(3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺(9g, 13.30mmol)于ACN (90mL)中的溶液。将所得混合物搅拌1小时。然后,将其浓缩并将残余物溶于CH_2Cl_2 (1000mL)中。将其用$NaHCO_3$水溶液(1%, 2×300mL)、水(300mL)和盐水(300mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩,并通过用水中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

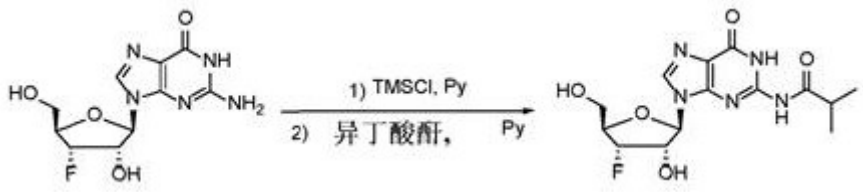
[0467] LCMS (ES, m/z): 877.5 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.01 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.11 (d, J = 7.6Hz, 2H), 7.66 (dt, J = 42.3, 7.5Hz, 3H), 7.32 (td J = 7.2, 6.6, 2.9Hz,

[0468] 2H), 7.22-7.00 (m, 9H), 6.83-6.63 (m, 4H), 5.86 (ddt, J = 52.8, 17.6, 6.9Hz, 1H), 5.16 (td, J = 17.7, 17.2, 8.8Hz, 1H), 3.78-3.63 (m, 7H), 3.59-3.35 (m, 5H), 2.74 (t, J = 5.9Hz, 1H), 2.63 (t, J = 5.9Hz, 1H), 1.23-0.99 (m, 10H), 0.91 (d, J = 6.7Hz, 2H). ^{31}P-NMR: (162MHz, DMSO-d_6): δ 150.26, 149.60 (2 s, 1P).

[0469] 制备3. N-(9-((2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

[0470] 

[0471] *步骤1:N-(9-((2R,3S,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0472] 

[0473] 在0-5℃下,向2-氨基-9-((2R,3S,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(Carbosynth目录编号ND10826,1.50g, 5.26mmol)于吡啶(30mL)中的悬浮液中添加TMSCl (2.86g, 26.3mmol),并将混合物在室温下搅拌30分钟。然后,逐滴添加异丁酸酐(2.50g, 15.8mmol),并将其再搅拌2小时。然后,添加MeOH (5.3mL)。在5分钟之后,逐滴添加NH_4OH (10.5mL)并继续搅拌30分钟。将反应混合物在减压下浓缩,并向残余物中添加CH_2Cl_2(18mL)中的MeOH (2mL)。过滤掉不溶物,并将滤液浓缩,并通过快速柱色谱用CH_2Cl_2中的2-10% MeOH纯化,以得到产物。

[0474] LCMS (ES, m/z): 356.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.11 (s, 1H), 11.68 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 5.98 (d, J = 6.1Hz, 1H), 5.85 (d, J = 8.0Hz, 1H), 5.24 (t, J = 5.4Hz, 1H), 5.14 (d, J = 4.1Hz, 0.5H), 5.01 (d, J = 4.2Hz, 0.5H), 4.87-4.69 (m, 1H), 4.26 (t, J = 4.4Hz, 0.5H), 4.19 (t, J = 4.4Hz, 0.5H), 3.61 (t, J = 4.9Hz, 2H), 2.77 (hept, J = 6.8Hz, 1H), 1.13 (d, J = 6.7Hz, 6H). ^{19}F-NMR: (376MHz, DMSO-d_6): δ -197.5 (s).

[0475] *步骤2:N-(9-((2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0476] 

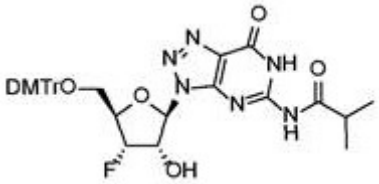
[0477] 将N-(9-((2R,3S,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(1.30g, 3.66mmol)与吡啶(3×10mL)共蒸发并再溶于吡啶(26mL)中。在0-5℃下,向该溶液中添加DMTrCl (1.36g, 4.02mmol)。将其在室温下搅拌3小时且然后浓缩。添加CH_2Cl_2 (40mL, 具有1% Et_3N),并将其用$NaHCO_3$饱和水溶液(15mL)、水(10mL)和盐水(10mL)洗涤。将有机溶液干燥(Na_2SO_4),浓缩并通过硅胶柱色谱用CH_2Cl_2 (1% Et_3N)中的0-10% MeOH纯化以得到产物。

[0478] LCMS (ES, m/z): 656.2 $[M-H]^-$. ^{1}H-NMR: (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.10 (s, 1H), 11.61 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.40-7.31 (m, 2H), 7.31-7.19 (m, 7H), 6.89-6.78 (m, 4H), 6.08 (d, J = 6.1Hz, 1H), 5.87 (d, J = 7.3Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 4.1, 1.8Hz, 0H), 5.10 (d, J = 4.4Hz, 0H), 4.96 (dq, J = 22.4, 5.9Hz, 1H), 4.30 (dt, J = 26.1, 4.6Hz, 1H), 3.74 (d, J = 1.1Hz, 6H), 3.39 (dd, J = 10.6, 5.7Hz, 1H), 3.22 (dd, J = 10.6, 3.8Hz, 1H), 2.76 (p, J = 6.8Hz, 1H), 1.13 (d, J = 6.8Hz, 6H). ^{19}F-NMR: (376MHz, DMSO-d_6): δ -198.1 (s, 1F).

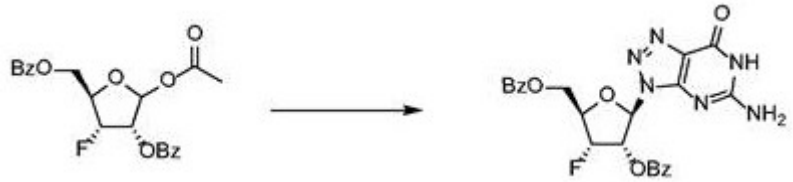
[0479] 制备3的产物可以任选地根据制备22,步骤4和5(下面)的程序来处理,以提供膦酸氢(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-

6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯。LCMS (ES, m/z): 720 [M-H]⁻。

[0480] 制备4:N-(3-((2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺

[0481] 

[0482] *步骤1:苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-5-(5-氨基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0483] 

[0484] 在室温下,向8-氮杂鸟嘌呤(5.14g, 33.8mmol)于无水CH_3CN (100mL)中的悬浮液中逐滴添加(E)-N-(三甲基甲硅烷基)亚氨酰乙酸(acetimidate)三甲基甲硅烷基酯(16.53mL, 67.6mmol),然后将混合物在70℃下搅拌2小时。将反应物冷却至室温,并添加苯甲酸((2R,3R,4S)-5-乙酰氧基-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(6.8g, 16.90mmol)于无水CH_3CN (20mL)中的溶液,随后逐滴添加氯化锡(IV)(67.6mL, 67.6mmol)。将均质溶液在70℃下搅拌2小时。将反应物冷却至室温并浓缩。将残余物溶于EtOAc(1000mL)中并通过倒入$NaHCO_3$饱和水溶液(500mL)来中和。分离有机层,并用EtOAc(4×500mL)萃取水层。将有机层合并并用水(3×700mL)、盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤,并浓缩,以未经进一步纯化即提供标题化合物。LCMS (ES, m/z): 495.3 $[M + H]^+$。

[0485] *步骤2:苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(5-异丁酰胺基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0486] 

[0487] 在室温下,向来自步骤1的苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-5-(5-氨基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(8g, 16.18mmol)于无水DMA(40mL)中的溶液中逐滴添加异丁酸酐(4.02mL, 24.27mmol)。将混合物在140℃下搅拌4小时。将反应物冷却并用EtOAc(600mL)稀释,用NH_4Cl饱和水溶液(4×500mL)、盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。将粗产物通过MPLC(220g硅胶,用100%己烷至100%乙酸乙酯的梯度洗脱)纯化以提供苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(5-异丁酰胺基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯。LCMS (ES, m/z): 565.3 $[M + H]^+$。

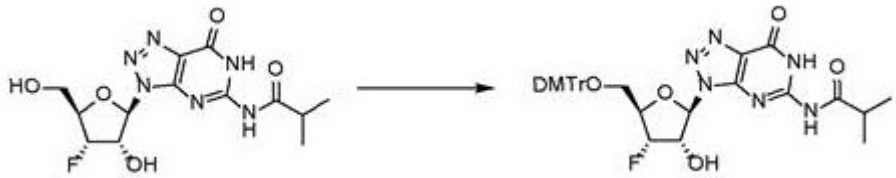
[0488] *步骤3:N-(3-((2R,3S,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7-氧*

代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺

[0489] 

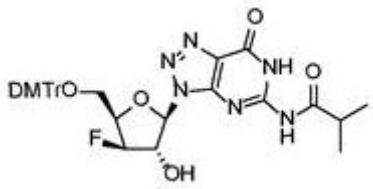
[0490] 在0℃下,向苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(5-异丁酰胺基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(6g, 10.63mmol)于THF (20mL)、CH_3OH (16mL)和水(4mL)中的溶液中添加5N NaOH水溶液(4.89mL, 24.45mmol)并搅拌1小时。用甲酸(1.223mL, 31.9mmol)中和反应物。去除溶剂,且残余物通过MPLC(120g硅胶,用100% CH_2Cl_2至20% CH_3OH/CH_2Cl_2的梯度洗脱)纯化,以提供N-(3-((2R,3S,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺。LCMS (ES, m/z): 357.2 $[M + H]^+$。

[0491] *步骤4:N-(3-((2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺*

[0492] 

[0493] 在0℃下,向N-(3-((2R,3S,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺(3g, 8.42mmol)于无水吡啶(40mL)中的溶液中添加4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(3.42g, 10.10mmol)。去除冰浴,并使反应混合物达到室温并搅拌2小时。将混合物用EtOAc(400mL)稀释,使用$NaHCO_3$饱和水溶液(100mL)、水(3×100mL)、盐水洗涤,并经无水硫酸钠干燥,过滤并浓缩。粗产物通过MPLC(120g硅胶,用100% CH_2Cl_2至15% CH_3OH/CH_2CH_2的梯度洗脱)纯化,以提供N-(3-((2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺。LCMS (ES, m/z): 659.3 $[M + H]^+$。

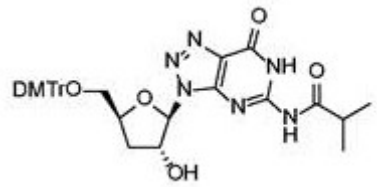
[0494] 制备5:N-(3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺

[0495] 

[0496] 根据类似于针对制备4所述程序的程序使用步骤1中的适当取代的核糖来制备N-(3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-

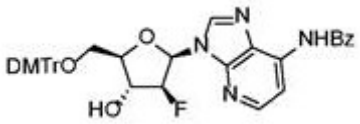
2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺。LCMS (ES, m/z): 659.4 [M + H]$^+$。

[0497] 制备6:N-(3-((2R,3R,5S)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-羟基四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺

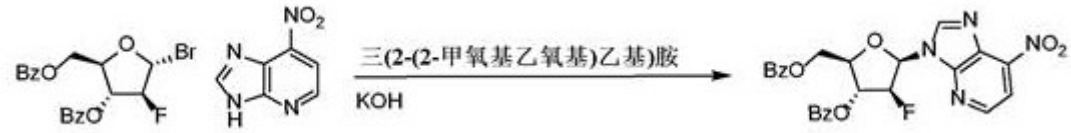
[0498] 

[0499] 根据类似于那些针对制备4所述程序的程序使用步骤1中的适当取代的核糖来制备N-(3-((2R,3R,5S)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-羟基四氢呋喃-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺。LCMS (ES, m/z): 641.2 [M + H]$^+$。

[0500] 制备7:3-{5-*O*-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基(arabinofuranosyl)}-*N*-(苯基羰基)-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺

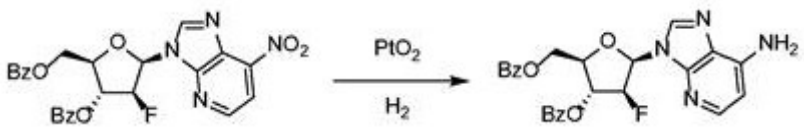
[0501] 

[0502] *步骤1:3-[2-脱氧-2-氟-3,5-双-O-(苯基羰基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基]-7-硝基-3H-咪唑并[4.5-b]吡啶*

[0503] 

[0504] 向新研磨的KOH(308mg, 5.48mmol)于乙腈(50mL)中的搅拌混合物中添加三(2-(2-甲氧基乙氧基)乙基)胺(0.070mL, 0.219mmol)。将反应混合物在环境温度下陈化15分钟,随后以单一部分添加7-硝基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶(600mg, 3.66mmol)。将所得混合物在环境温度下搅拌15分钟。逐滴添加2-脱氧-2-氟-3,5-双-*O*-(苯基羰基)-α-D-呋喃阿拉伯糖基溴(1700mg, 4.02mmol)于乙腈(10mL)中的溶液并将所得混合物在室温下剧烈搅拌17小时。将反应混合物用氯化铵饱和水溶液(80mL)稀释并用DCM(3×150mL)萃取。将有机萃取物合并,经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。所得残余物通过硅胶上的柱色谱(120g, 预包装,0-70%乙酸乙酯/己烷)纯化,以提供3-[2-脱氧-2-氟-3,5-双-*O*-(苯基羰基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基]-7-硝基-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶。MS: 507 (M+H)$^+$。

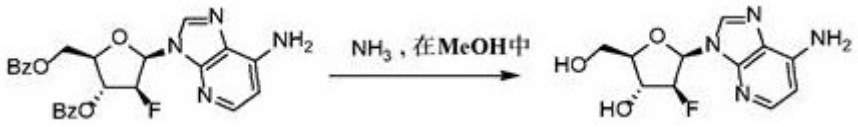
[0505] *步骤2:3-[2-脱氧-2-氟-3,5-双-O-(苯基羰基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基]-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-7-胺*

[0506] 

[0507] 在室温下,向3-[2-脱氧-2-氟-3,5-双-*O*-(苯基羰基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基]-7-硝基-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶(1380mg, 2.72mmol)于甲醇(55mL)中的搅拌溶液中添加氧化

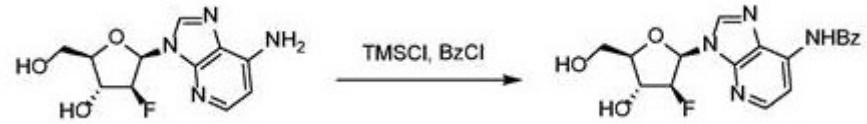
铂(IV)(61.9mg，0.272mmol)。将反应混合物置于氢气气氛下并在室温下搅拌72小时。通过过滤通过硅藻土(CELITE)塞来去除催化剂。在减压下浓缩滤液，且所得残余物通过硅胶柱色谱(80g，预包装，0-40%(3:1乙酸乙酯:乙醇)/己烷)纯化，以提供3-[2-脱氧-2-氟-3,5-双-*O*-(苯基羰基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基]-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺。MS：477 $(M+H)^+$。

[0508] *步骤3:3-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-7-胺*

[0509] 

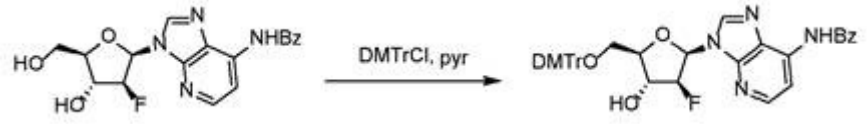
[0510] 在环境温度下，向3-[2-脱氧-2-氟-3,5-双-*O*-(苯基羰基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基]-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺(995mg，2.09mmol)于甲醇(36mL)中的搅拌溶液中添加氨(7N，于甲醇中，12mL，84.0mmol)。使所得溶液达到80℃并搅拌5小时。将反应混合物冷却至室温并在减压下浓缩。将所得残余物悬浮于甲醇/二氯甲烷中并超声处理直至从溶液沉淀出固体。通过过滤通过玻璃熔料来收集固体，提供3-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺。MS：269 $(M+H)^+$。

[0511] *步骤4:3-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-N-(苯基羰基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-7-胺*

[0512] 

[0513] 在室温下，向3-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺(550mg，2.05mmol)于吡啶(6.5mL)中的搅拌溶液中添加TMSCl (2.62mL，20.5mmol)。将所得溶液搅拌1.5小时，随后添加苯甲酰氯(0.357mL，3.08mmol)。在再搅拌一小时之后，向反应混合物中添加水(2.15mL)，然后将其搅拌45分钟。将反应混合物冷却至0℃并添加氨水溶液(28% w/w)(0.370mL，4.79mmol)。使反应混合物返回室温并搅拌45分钟且然后在减压下浓缩。将所得残余物溶于水(20mL)中并用乙酸乙酯(3×40mL)萃取。合并有机萃取物，用盐水洗涤，经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。所得残余物通过硅胶上的柱色谱(120g，预包装，0-7%甲醇/二氯甲烷)纯化，以提供3-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-*N*-(苯基羰基)-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺。MS：373 $(M+H)^+$。

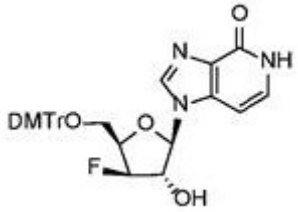
[0514] *步骤5:3-{5-O-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基}-N-(苯基羰基)-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-7-胺*

[0515] 

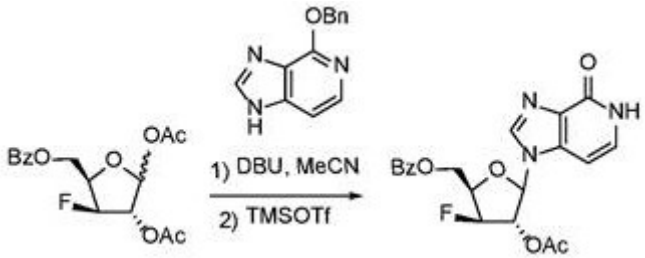
[0516] 在0℃下，向3-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-*N*-(苯基羰基)-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺(185mg，0.497mmol)和4Å分子筛于吡啶(3mL)中的搅拌混合物中以单一部分添加4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(253mg，0.745mmol)。使反应混合物温热至室温并搅拌18小时。通过过滤去除筛并在减压下浓缩滤液。将所得残余物溶于甲醇/乙醚的混合物中并添加至水中。分离各相，并用乙醚(3×)萃取水层。将有机萃取物合并，用盐水洗涤，经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。所得残余物通过硅胶上的柱色谱(40g，预包装，0-40%(3:1乙酸

乙酯:乙醇)/己烷)纯化,以提供3-{5-*O*-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基}-*N*-(苯基羰基)-3*H*-咪唑并[4,5-*b*]吡啶-7-胺。MS: 675 $(M+H)^+$。

[0517] 制备8:1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮

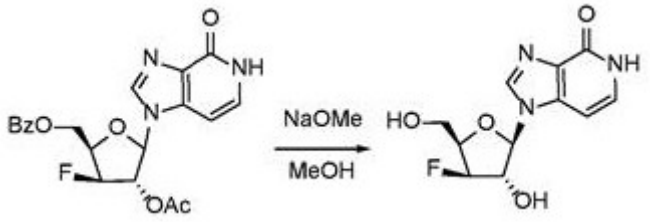
[0518] 

[0519] *步骤1:苯甲酸((2R,3S,4S)-4-乙酰氧基-3-氟-5-(4-氧代-4,5-二氢-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0520] 

[0521] 在0℃和Ar下,向4-(苄基氧基)-1*H*-咪唑并[4,5-*c*]吡啶(0.795g, 3.53mmol)和二乙酸(3*S*,4*S*,5*R*)-5-((苯甲酰基氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-2,3-二基酯(1g, 2.94mmol)于ACN (20mL)和CH_2Cl_2(10mL)中的悬浮液中添加2,3,4,6,7,8,9,10-八氢嘧啶并[1,2-*a*]氮杂䓬(1.34g, 8.815mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌30分钟。然后,向溶液中添加三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯(3.92g, 17.65mmol),并将其在0℃下搅拌30分钟。然后,将其加热至80℃持续16小时。将反应物冷却至室温并添加$NaHCO_3$饱和水溶液(10mL)和水(30mL)。将其用EtOAc(3×50mL)萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经(Na_2SO_4)干燥,浓缩,且残余物通过用CH_2Cl_2中的1%至10% MeOH洗脱的硅胶柱色谱纯化,以得到产物。LCMS (ES, m/z): 416.3 $[M + H]^+$。

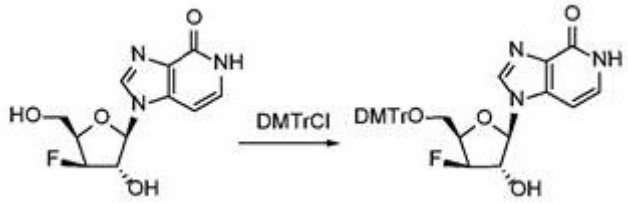
[0522] *步骤2:1-((2R,3S,4R,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮*

[0523] 

[0524] 向苯甲酸((2*R*,3*S*,4*S*)-4-乙酰氧基-3-氟-5-(4-氧代-4,5-二氢-1*H*-咪唑并[4,5-*c*]吡啶-1-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(2.5g, 5.3mmol)于MeOH (10mL)中的溶液中添加甲醇钠(3.47g, 21.2mmol)。将溶液在室温下搅拌1小时。将其用AcOH中和,并浓缩溶液。残余物通过用0至30% ACN/NH_4HCO_3水溶液(5mM)洗脱的反相(AQ C18)色谱纯化,以得到产物。

[0525] LCMS (ES, m/z): 270.0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 11.31 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.23 (d, J = 7.1Hz, 1H), 6.62 (d, J = 7.1Hz, 1H), 6.37 (d, J = 2.9Hz, 1H), 5.85 (d, J = 2.8Hz, 1H), 5.22 – 4.98 (m, 2H), 4.54 (d, J = 17.7Hz, 1H), 4.28 (dtd, J = 29.6, 6.0, 3.1Hz, 1H), 3.93 – 3.62 (m, 2H).

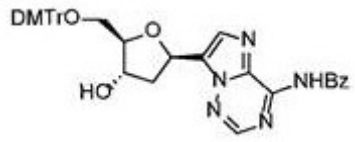
[0526] *步骤3:1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮*

[0527] 

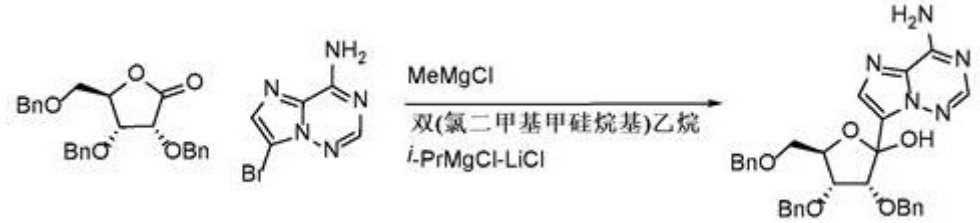
[0528] 在室温下,向1-((2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1*H*-咪唑并[4,5-*c*]吡啶-4(5*H*)-酮(340mg, 1.26mmol)于吡啶(3mL)中的搅拌溶液中添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)双(甲氧基苯)(426mg, 1.1mmol)。将其搅拌4小时。在减压下浓缩混合物,且残余物通过用CH_2Cl_2中的1%至10% MeOH (0.5% Et_3N)洗脱的硅胶柱色谱纯化,以得到产物。

[0529] LCMS (ES, m/z): 572.3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 11.32 (d, J = 5.9Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.41 (d, J = 7.8Hz, 2H), 7.37 – 7.15 (m, 8H), 6.86 (dd, J = 10.5, 8.6Hz, 4H), 6.60 (d, J = 7.1Hz, 1H), 6.50 – 6.36 (m, 1H), 5.92 (d, J = 2.6Hz, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.27 – 5.06 (m, 1H), 4.65 – 4.42 (m, 2H), 3.73 (d, J = 2.6Hz, 6H), 3.30 – 3.24 (m, 1H).

[0530] 制备9:*N*-(7-((2*R*,4*S*,5*R*)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺

[0531] 

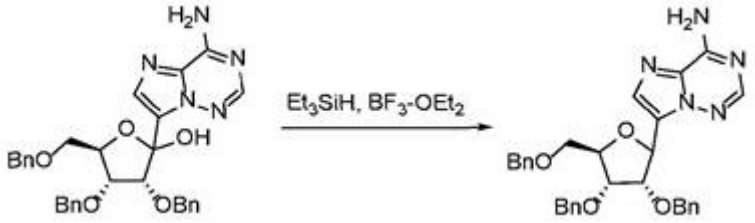
[0532] *步骤1:(3R,4R,5R)-2-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)四氢呋喃-2-醇*

[0533] 

[0534] 在0℃下,向7-溴咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-胺(41g, 0.19mol)于THF(0.50L)中的搅拌混合物中逐滴添加MeMgBr(3.0M,于THF中,66mL, 0.19mol)以维持内部温度低于10℃。以一部分添加双(氯二甲基甲硅烷基)乙烷(41g, 190mmol)。然后逐滴添加MeMgBr(3.0M,于乙醚中,66mL, 0.19mol)以维持内部温度低于10℃。添加*i*-PrMgCl-LiCl(1.3M,于THF中, 0.16L, 0.21mol),同时维持内部温度低于10℃。在0℃下,逐滴添加(3*R*,

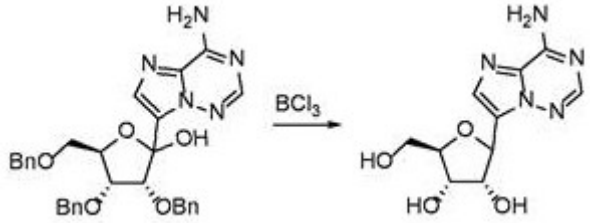
4*R*,5*R*)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)二氢呋喃-2(3*H*)-酮(160g, 0.38mol)于THF中的混合物,且然后使混合物温热至室温并搅拌12小时。将混合物用氯化铵饱和水溶液(100mL)稀释并用乙酸乙酯(3×1000mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。所得残余物通过柱色谱(柱高度:2500mm,直径:1000mm,己烷中的25%至75%乙酸乙酯梯度)纯化,以提供(3*R*,4*R*,5*R*)-2-(4-氨基咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)-四氢呋喃-2-醇。

[0535] *步骤2:7-((3S,4R,5R)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-胺*

[0536] 

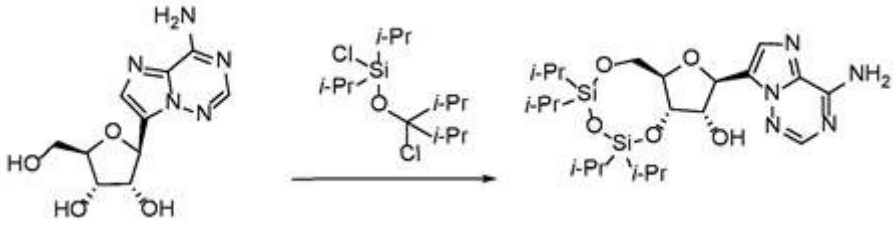
[0537] 在0℃下,向(3*R*,4*R*,5*R*)-2-(4-氨基咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)四氢呋喃-2-醇(64g, 0.12mmol)于DCM(1.3L)中的搅拌混合物中添加三乙基甲硅烷(81g, 0.69mol),且然后添加三氟化硼二乙基醚合物(21g, 0.15mol)。然后使混合物温热至25℃,并将混合物搅拌1小时。添加更多的三氟化硼二乙基醚合物(57g, 0.40mol),且然后将混合物加热至35℃持续4小时。在冷却至室温后,将混合物用碳酸氢钠饱和水溶液(200mL)淬灭且然后用乙酸乙酯(3×300mL)萃取。将合并的有机层经硫酸钠干燥并在减压下浓缩。所得残余物通过柱色谱(己烷中的15-75%乙酸乙酯梯度)纯化,以提供7-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-胺。MS (ES, m/z) = 538 [M + H]+。

[0538] *步骤3:(3R,4S,5R)-2-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-5-(羟基甲基)-四氢呋喃-3,4-二醇*

[0539] 

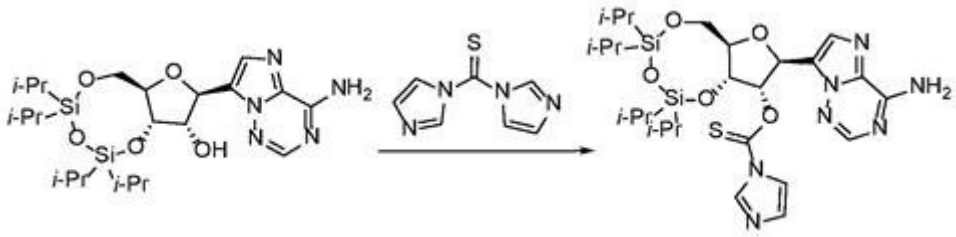
[0540] 在-78℃下,向7-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-双(苄基氧基)-5-((苄基氧基)甲基)-四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-胺(12g, 22mmol)于DCM(850mL)中的搅拌混合物中逐滴添加三氯化硼(18g, 0.16mol)。在完成后,将混合物在-78℃下搅拌3小时。在3小时之后,将混合物在-78℃下用甲醇(50mL)淬灭,并将混合物温热至25℃。将混合物在减压下浓缩。残余物通过柱色谱(二氯甲烷中的9-25%甲醇梯度)纯化,以提供(3*R*,4*S*,5*R*)-2-(4-氨基咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇。

[0541] *步骤4:(6aR,8S,9S,9aS)-8-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-醇*

[0542] 

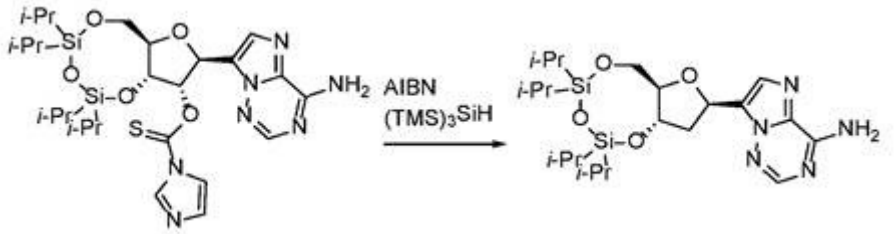
[0543] 向(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(4-氨基咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇(4.0g, 15mmol)于吡啶(0.10L)中的搅拌混合物中添加1,3-二氯-1,1,3,3-四异丙基二硅杂氧杂环己烷(5.8mL, 18mmol)。在3小时之后,将混合物用甲苯(50mL)稀释且然后浓缩。将所得混合物溶于DCM和甲醇中且然后添加硅胶(40g)。浓缩混合物,置于真空下持续1小时且然后通过柱色谱(己烷中的0-80%乙酸乙酯梯度)纯化以提供(6a*R*,8*S*,9*S*,9a*S*)-8-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-醇。MS (ES, m/z) = 510 [M + H]+。

[0544] *步骤5:1H-咪唑-1-硫代甲酸(carbothioate)O-((6aR,8S,9S,9aR)-8-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-基)酯*

[0545] 

[0546] 向(6a*R*,8*S*,9*S*,9a*S*)-8-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-醇(6.45g, 12.7mmol)于乙腈(63.0mL)和吡啶(63.0mL)中的混合物中添加1,1'-硫代羰基二咪唑(2.71g, 15.2mmol)。在90分钟之后,添加更多的1,1'-硫代羰基二咪唑(2.71g, 15.2mmol),并将混合物搅拌过夜。在搅拌过夜之后,将混合物浓缩并通过柱色谱(己烷中的0-100%乙酸乙酯梯度)纯化以提供1H-咪唑-1-硫代甲酸*O*-((6a*R*,8*S*,9*S*,9a*R*)-8-(4-氨基咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-基)酯。MS (ES, m/z) = 620 [M + H]+。

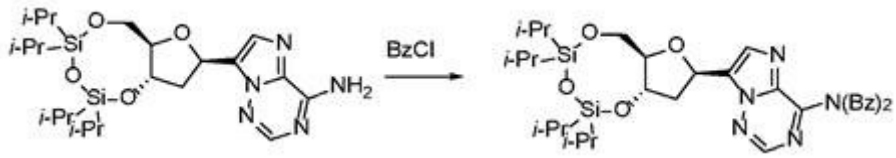
[0547] *步骤6:7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-8-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-胺*

[0548] 

[0549] 向*O*-((6a*R*,8*S*,9*S*,9a*R*)-8-(4-氨基咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-7-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-基)

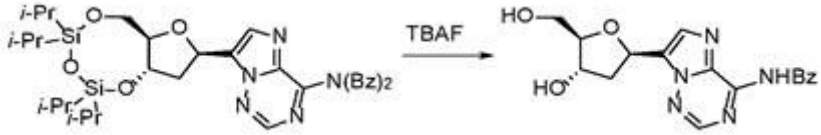
(5.65g, 9.11mmol)于甲苯(91.0mL)中的混合物中添加2,2'-偶氮双(2-甲基丙腈(0.300g, 1.82mmol)和三(三甲基甲硅烷基)甲硅烷(4.22mL, 13.7mmol)。将混合物加热至85℃持续30分钟。在30分钟之后,将混合物冷却至室温且直接置于柱上并纯化(己烷中的0-80%乙酸乙酯梯度)以提供7-((6a*R*,8*R*,9a*S*)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-8-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-胺。MS (ES, m/z) = 494 [M + H]+ 494。

[0550] *步骤7:N-苯甲酰基-N-(7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-8-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺*

[0551] 

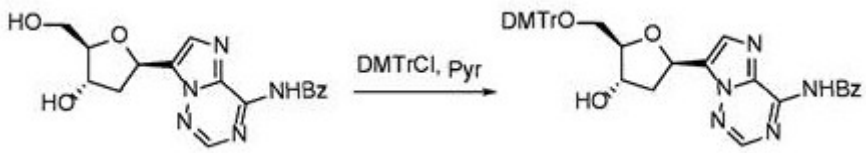
[0552] 向7-((6a*R*,8*R*,9a*S*)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-8-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-胺(15.7g, 31.8mmol)于吡啶(64.0mL)中的混合物中添加苯甲酰氯(11.0mL, 95.0mmol),并将混合物加热至50℃持续45分钟。在45分钟之后,将混合物冷却至室温。在冷却之后,形成沉淀物并过滤掉。用DCM(50mL)和甲苯(50mL)稀释滤液。将混合物浓缩至约50mL。过滤混合物,并用DCM洗涤固体。合并滤液和洗涤液,装载至柱上,并纯化(己烷中的0-50%乙酸乙酯梯度)以提供*N*-苯甲酰基-*N*-(7-((6a*R*,8*R*,9a*S*)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-8-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺。MS (ES, m/z) = 702 [M + H]+。

[0553] *步骤8:N-(7-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺*

[0554] 

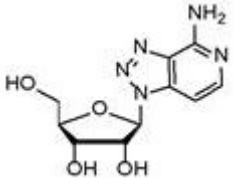
[0555] 向*N*-苯甲酰基-*N*-(7-((6a*R*,8*R*,9a*S*)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6*H*-呋喃并[3,2-*f*][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-8-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺(10g, 14mmol)于四氢呋喃(0.14L)中的混合物中添加TBAF (1.0M,于THF中, 29mL, 29mmol),并将混合物搅拌1小时。在1小时之后,将混合物浓缩并通过柱色谱纯化以提供*N*-(7-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢-呋喃-2-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺。MS (ES, m/z) = 356 [M + H]+。

[0556] *步骤9:N-(7-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺*

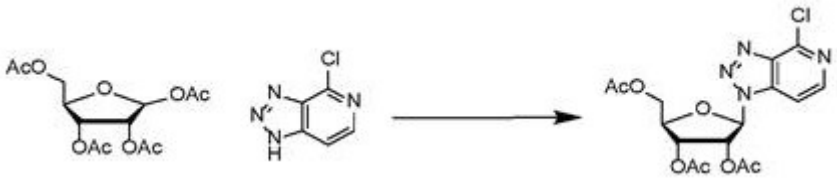
[0557] 

[0558] 在0℃下，向*N*-(7-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺(6.1g，17mmol)于吡啶(86mL)中的混合物中添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)双(甲氧基苯)(5.8g，17mmol)，并将混合物温热至室温过夜。在搅拌过夜之后，将混合物用甲苯稀释且然后在减压下浓缩以提供粗产物。将粗产物通过硅胶色谱(己烷中的0-100%乙酸乙酯梯度)纯化以提供*N*-(7-((2*R*,4*S*,5*R*)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4-基)苯甲酰胺。MS (ES，m/z) = 658 [M + H]+。

[0559] 制备10：(2R,3R,4S,5R)-2-(4-氨基-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-1-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇

[0560] 

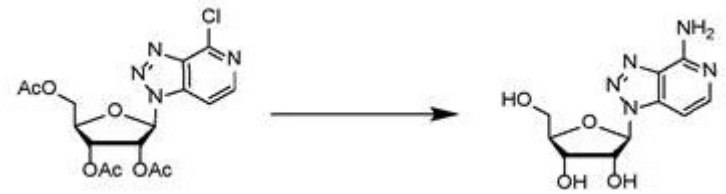
[0561] *步骤1：二乙酸(2R,3R,4R,5R)-2-(乙酰氧基甲基)-5-(4-氯-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-1-基)四氢呋喃-3,4-二基酯*

[0562] 

[0563] 向4-氯-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶(1.0g，6.5mmol)和三乙酸(3R,4R,5R)-5-(乙酰氧基甲基)四氢呋喃-2,3,4-三基酯(3.1g，9.7mmol)于硝基甲烷(50mL)中的悬浮液中添加$BF_3 \cdot Et_2O$ (1.23mL，9.7mmol)，并将所得混合物在50℃下加热2小时。将反应混合物冷却至室温，用100mL DCM稀释并用$NaHCO_3$饱和水溶液(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将分离的有机层经Na_2SO_4干燥并在真空中浓缩。残余物通过用0-100% EtOAc:EtOH (3:1)/己烷洗脱的硅胶柱纯化。

[0564] LCMS (ES, m/z): 413.07 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, 氯仿-*d*) δ 8.40 (d, *J* = 5.8Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 5.8Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 4.1Hz, 1H), 6.17 (dd, *J* = 5.3, 4.1Hz, 1H), 5.74 (t, *J* = 5.3Hz, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.58 (ddd, *J* = 5.3, 3.9, 2.9Hz, 1H), 4.42 (dd, *J* = 12.5, 3.0Hz, 1H), 4.25 (dd, *J* = 12.5, 3.9Hz, 1H), 2.17 (d, *J* = 18.8Hz, 6H), 2.03 (s, 3H).

[0565] *步骤2：(2R,3R,4S,5R)-2-(4-氨基-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-1-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇*

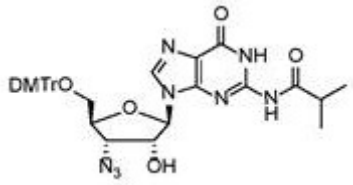
[0566] 

[0567] 向二乙酸(2R,3R,4R,5R)-2-(乙酰氧基甲基)-5-(4-氯-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-

c]吡啶-1-基)四氢呋喃-3,4-二基酯(1.2g, 2.9mmol)于MeOH (8.3mL)中的溶液中添加氨于MeOH中的7N溶液(8.3mmol, 58.1mmol)。将反应混合物在150℃下在密封Q-Tube™压力管反应器中搅拌18小时。在减压下去除过量溶剂,且残余物通过用0-10% 乙腈/H_2O(含有0.05% TFA)洗脱的反相硅胶柱纯化。

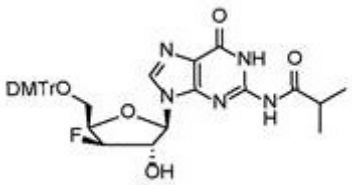
[0568] LCMS (ES, m/z): 268.17 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 13.87 (s, 2H), 9.34 (s, 4H), 7.89 (d, J = 7.1Hz, 2H), 7.51 (d, J = 7.0Hz, 2H), 7.42 (s, 4H), 7.32 (s, 6H), 7.22 (s, 5H), 6.69 (s, 2H), 6.30 (d, J = 4.9Hz, 2H), 5.72 (s, 2H), 5.41 (s, 2H), 4.75 – 4.67 (m, 0H), 4.65 (t, J = 5.0Hz, 2H), 4.27 (t, J = 4.6Hz, 2H), 4.07 (q, J = 4.2Hz, 2H), 3.86 – 3.67 (m, 2H), 3.69 – 3.58 (m, 2H), 3.54 (dd, J = 12.0, 4.7Hz, 2H), 3.48 – 3.38 (m, 1H), 3.28 (s, 1H), 3.23 (s, 0H), 1.76 (d, J = 0.5Hz, 5H), 1.11 (dt, J = 26.0, 7.1Hz, 1H).

[0569] 制备11:9-{3-叠氮基-5-O-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-脱氧-β-D-呋喃核糖基}-2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

[0570] 

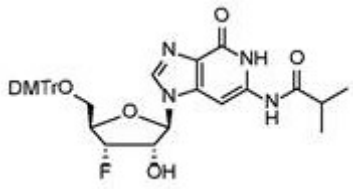
[0571] 根据所公开的程序(*Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* 2005, *24*(10-12), 1707-1727)来制备标题化合物。

[0572] 制备12:9-{5-*O*-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-脱氧-3-氟-β-D-呋喃木糖基}-2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮

[0573] 

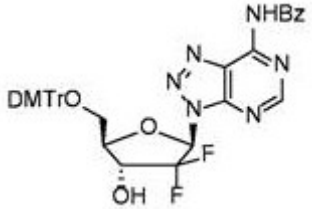
[0574] 根据所公开的程序(Tetrahedron *Letters*, 1989, *30*(24), 3171-3174)来制备标题化合物。

[0575] 制备13:1-{5-*O*-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-脱氧-3-氟-β-D-呋喃核糖基}-6-[(2-甲基丙酰基)氨基]-1,5-二氢-4*H*-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮

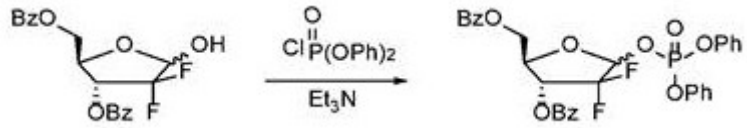
[0576] 

[0577] 根据所公开的程序(WO2002057425)来制备标题化合物。

[0578] 制备14:N-(3-((2R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,3-二氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺

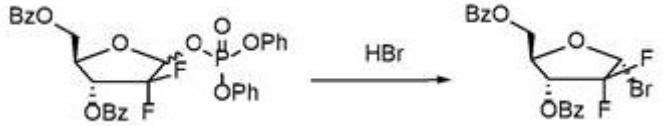
[0579] 

[0580] *步骤1:苯甲酸((2R,3R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-((二苯氧基磷酰基)氧基)-4,4-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0581] 

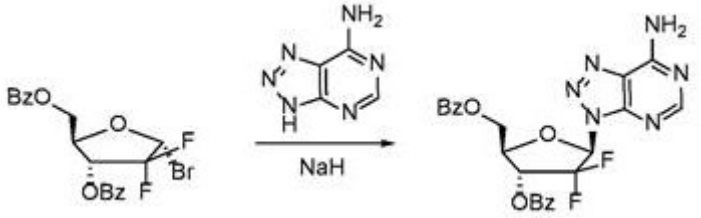
[0582] 在0℃下,向甲苯(150mL)中的苯甲酸((2R,3R)-3-(苯甲酰基氧基)-4,4-二氟-5-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯(20.0g, 52.9mmol)中逐滴添加甲苯(20mL)中的Et_3N(7.74mL, 55.5mmol)和二苯基磷酰氯(12.1mL, 58.2mmol)。将反应物温热至室温并搅拌3小时。LCMS显示反应完成(m/e=611)。添加水(30mL)和HCl水溶液(1M, 5mL)。分离各层,并用CH_2Cl_2(2×30mL)萃取水层。将合并的有机溶液用$NaHCO_3$饱和水溶液(20mL)和盐水(20mL)洗涤,干燥($MgSO_4$),并浓缩。将其通过用己烷中的0至30% EtOAc洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到产物。LCMS (ES, m/z): 611.3 $[M + H]^+$。

[0583] *步骤2:苯甲酸((2R,3R,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4,4-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0584] 

[0585] 在0℃下,向苯甲酸((2R,3R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-((二苯氧基磷酰基)氧基)-4,4-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(23.8g, 39.0mmol)中添加乙酸中的HBr(33%, 51.2mL, 292mmol)。在其温热至室温时,将其搅拌。在6小时之后,LCMS显示反应完成(m/e=441和443)。添加CH_2Cl_2(200mL),并用水(2×50mL)、$NaHCO_3$饱和水溶液(2×50mL)和盐水(50mL)洗涤有机层。将其干燥($MgSO_4$)并浓缩以得到粗产物。其未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 441.1, 443.1 $[M + H]^+$。

[0586] *步骤3:苯甲酸(2R,3R,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-4,4-二氟四氢呋喃-3-基酯*

[0587] 

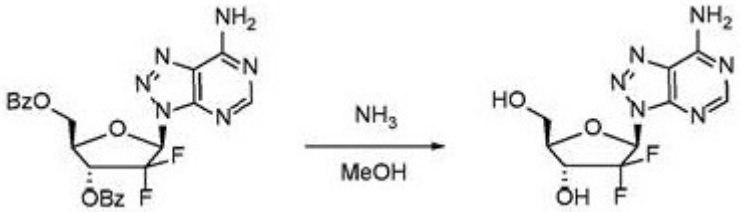
[0588] 向3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-胺(3.21g, 23.6mmol)于NMP(60mL)中的混合物中添加NaH(60%, 0.979g, 24.5mmol)。将混合物剧烈搅拌,并在1小时之后,气泡生成已完全停止。向混合物中添加苯甲酸((2R,3R,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4,4-二氟四氢

呋喃-2-基)甲基酯(纯净的,8.00g, 18.1mmol)。将混合物剧烈搅拌30分钟。然后,将其加热至90℃持续5小时。将其冷却至室温,并添加CH_2Cl_2(300mL)和水(150mL)。分离各相,并将有机层用水(8×150mL)和盐水(50mL)洗涤,干燥($MgSO_4$)并浓缩。残余物通过用0%至30% EtOAc洗脱的二氧化硅柱色谱纯化,以得到期望产物。

LCMS (ES, m/z): 497.1 $[M + H]^+$.

[0589] ^{1}H NMR (500MHz, 氯仿-*d*) δ 8.44 (s, 1H), 8.15-8.08 (m, 2H), 8.08 - 7.99 (m, 2H), 7.63 (ddt, *J* = 8.7, 7.1, 1.3Hz, 1H), 7.56-7.44 (m, 3H), 7.40-7.32 (m, 2H), 6.79-6.68 (m, 2H), 6.04 (bs, 2H), 4.92-4.84 (m, 1H), 4.80-4.72 (m, 2H).

[0590] *步骤4:(2R,3R,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4,4-二氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇*

[0591] 

[0592] 向苯甲酸(2R,3R,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-4,4-二氟四氢呋喃-3-基酯(1.05g, 2.11mmol)中添加MeOH中的氨(7N, 9.0mL, 63mmol),并将混合物搅拌24小时。LCMS显示反应完成(m/e=289)。将其浓缩并通过用CH_2Cl_2中的0至15% MeOH洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到期望产物。

LCMS (ES, m/z): 289.1 $[M + H]^+$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d_6): δ 8.65 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 6.65 (d, *J* = 12.4Hz, 1H), 6.40 (d, *J* = 6.7Hz, 1H), 5.03 (dd, *J* = 6.4, 5.3Hz, 1H), 4.83 (dq, *J* = 16.5, 8.9Hz, 1H), 4.00 (t, *J* = 6.7Hz, 1H), 3.77 (ddd, *J* = 12.3, 5.2, 2.5Hz, 1H), 3.68 (dt, *J* = 12.5, 6.3Hz, 1H).

[0593]

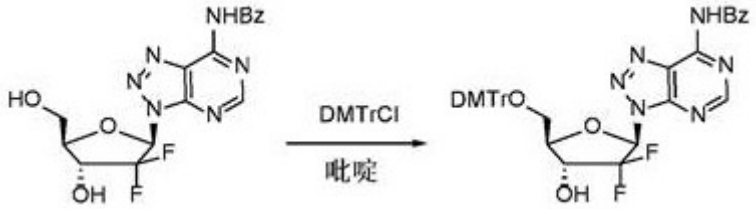
[0594] *步骤5:N-(3-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺*

[0595] 

[0596] 在0℃下,向(2R,3R,5R)-5-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4,4-二氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(0.57g, 2.0mmol)于吡啶(15mL)中的溶液中添加TMSCl (0.55mL, 4.3mmol)。将其温热至室温并搅拌1小时。然后,将其再冷却至0℃并逐滴添加BzCl (0.34mL, 2.9mmol)。将反应物经2小时缓慢温热至室温。LCMS显示反应完成(m/e=393, 497)。将其冷却至0℃,并添加氢氧化铵(28%, 1.1mL, 7.9mmol)。在30分钟之后,将其浓缩并通过用CH_2Cl_2中的0至10% MeOH洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到产物。

[0597] LCMS (ES, m/z): 393.3 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d_6): δ 12.02 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.13-8.07 (m, 2H), 7.73-7.66 (m, 1H), 7.64-7.55 (m, 2H), 6.86 (d, *J* = 11.6Hz, 1H), 6.46 (d, *J* = 6.7Hz, 1H), 5.01 (dd, *J* = 6.3, 5.4Hz, 1H), 4.86 (dt, *J* = 16.7, 8.3Hz, 1H), 4.04 (ddd, *J* = 8.8, 6.2, 2.6Hz, 1H), 3.78 (ddd, *J* = 12.3, 5.4, 2.7Hz, 1H), 3.68 (dt, *J* = 12.4, 6.2Hz, 1H).

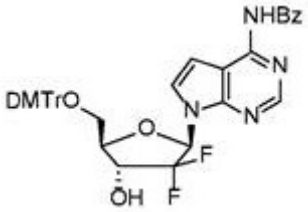
[0598] *步骤6:N-(3-((2R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,3-二氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺*

[0599] 

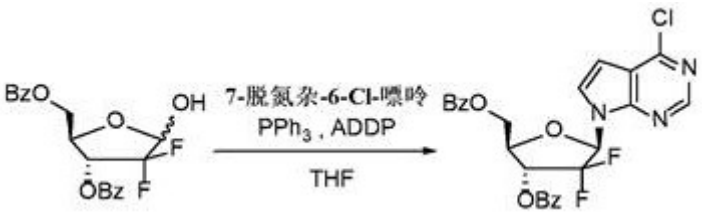
[0600] 在0℃下,向N-(3-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)-四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺(0.68g, 1.7mmol)于吡啶(15mL)中的溶液中添加DMTrCl (0.65g, 1.9mmol)。将其在室温下搅拌1小时。LCMS显示具有期望质量的峰(m/e=695)。将其部分地浓缩(至5mL),并添加EtOAc(20mL)和水(10mL)。分离各相,并用EtOAc(2×10mL)萃取水层。将合并的有机部分用盐水洗涤,干燥($MgSO_4$),浓缩并通过用己烷中的0%至60% EtOAc洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到产物。

[0601] LCMS (ES, m/z): 695.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (500MHz, DMSO-d_6): δ 12.05 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 7.6Hz, 2H), 7.70 (m, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.7Hz, 2H), 7.38-7.32 (m, 2H), 7.25-7.13 (m, 7H), 6.96 (d, *J* = 11.9Hz, 1H), 6.84-6.73 (m, 4H), 6.48 (d, *J* = 6.9Hz, 1H), 4.97 (dq, *J* = 16.7, 8.3Hz, 1H), 4.23 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.42-3.36 (m, 1H), 3.32-3.28 (m, 1H).

[0602] 制备15:N-(7-((2R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,3-二氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)苯甲酰胺

[0603] 

[0604] *步骤1:苯甲酸((2R,3R,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-4,4-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0605] 

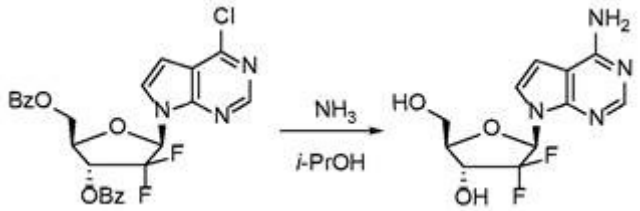
[0606] 向4-氯-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶(4.06g, 26.4mmol)和苯甲酸((2R,3R)-3-(苯甲

酰基氧基)-4,4-二氟-5-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯(10.0g, 26.4mmol)和三苯基膦(20.80g, 79mmol)于THF (100mL)中的溶液中逐滴添加(*E*)-二氮烯-1,2-二基双(哌啶-1-基甲酮)(20.01g, 79mmol)。将其缓慢温热至室温。在搅拌2小时之后,浓缩混合物。残余物通过使用石油醚中的0-20% EtOAc的硅胶柱色谱纯化,以得到产物。

LCMS

[0607] (ES, m/z): 514.3 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.71 (s, 1H), 8.08-7.87 (m, 5H), 7.76-7.42 (m, 6H), 6.98 (dd, *J* = 10.3, 7.9Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 3.8Hz, 1H), 6.29 (ddd, *J* = 10.0, 6.0, 3.8Hz, 1H), 5.44 (q, *J* = 5.5Hz, 1H), 4.79-4.60 (m, 2H).

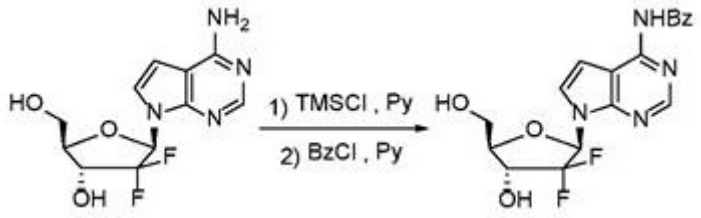
[0608] *步骤2:(2R,3R,5R)-5-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-4,4-二氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇*

[0609] 

[0610] 将苯甲酸((2R,3R,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-4,4-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(1.9g, 3.70mmol)于NH_3/2-丙醇(在-78℃下是饱和的,100mL)中的溶液在90℃下搅拌16小时。将其冷却至室温,浓缩,并通过使用CH_2Cl_2中的0-10% MeOH的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

[0611] LCMS (ES, m/z): 287.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.06 (s, 1H), 7.40-7.25 (m, 1H), 7.14 (s, 2H), 6.82 (d, *J* = 5.9Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 3.7Hz, 1H), 6.34 (dd, *J* = 16.2, 2.1Hz, 1H), 4.88 (t, *J* = 5.7Hz, 1H), 4.27 (ddd, *J* = 9.9, 6.2, 3.6Hz, 1H), 4.08 (dq, *J* = 6.8, 4.1, 3.5Hz, 1H), 3.78 (dt, *J* = 11.1, 5.4Hz, 1H), 3.62 (dt, *J* = 11.4, 5.8Hz, 1H).

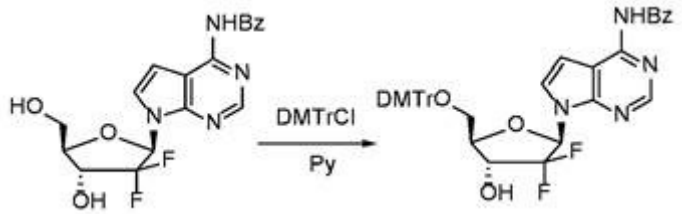
[0612] *步骤3:N-(7-((2R,4R,5R)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)苯甲酰胺*

[0613] 

[0614] 在0℃下,向(2*R*,3*R*,5*R*)-5-(4-氨基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-7-基)-4,4-二氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(900mg, 3.14mmol)于吡啶(15mL)中的溶液中添加氯三甲基甲硅烷(3.42g, 31.4mmol)。将其经1小时温热至室温并逐滴添加苯甲酰氯(663mg, 4.72mmol)。在2小时之后,添加NH_4OH (28%, 15.00mL),并将其搅拌0.5小时。浓缩所得混合物,并将残余物通过使用CH_2Cl_2中的0-10% MeOH的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

[0615] LCMS (ES, m/z): 391.1 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 8.61 (s, 1H), 8.08-7.98 (m, 2H), 7.97-7.91 (m, 1H), 7.67-7.51 (m, 2H), 7.50-7.47 (m, 1H), 6.70 (d, *J* = 3.9Hz, 1H), 6.56 (dd, *J* = 15.6, 1.5Hz, 1H), 4.32 (dd, *J* = 9.4, 3.6Hz, 1H), 4.16 (d, *J* = 5.6Hz, 1H), 3.80 (dd, *J* = 11.5, 5.2Hz, 1H), 3.66 (dd, *J* = 11.5, 6.5Hz, 1H), 3.12 (s, 2H).

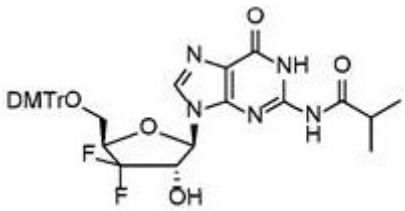
[0616] *步骤4:N-(7-((2R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,3-二氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)苯甲酰胺*

[0617] 

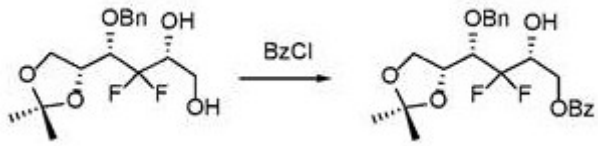
[0618] 在0℃下,向*N*-(7-((2*S*,4*R*,5*R*)-3,3-二氟-4-羟基-5-(羟基甲基)-四氢呋喃-2-基)-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-4-基)苯甲酰胺(1.1g, 2.82mmol)于吡啶(12mL)中的溶液中添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)-双(甲氧基苯)(0.955g, 2.82mmol)。将其温热至室温并搅拌3小时。浓缩混合物。将产物通过使用CH_2Cl_2中的0-10% MeOH的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

[0619] LCMS (ES, m/z): 693.3 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 11.25 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.09-8.01 (m, 2H), 7.60-7.48 (m, 2H), 7.47-7.36 (m, 3H), 7.33-7.18 (m, 7H), 6.91-6.78 (m, 4H), 6.75-6.57 (m, 3H), 5.76 (s, 1H), 4.55-4.33 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.44 (t, *J* = 8.7Hz, 1H), 3.35 (s, 1H).

[0620] 制备16:N-(9-((2R,3S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4,4-二氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

[0621] 

[0622] *步骤1:苯甲酸(2R,4S)-4-(苄基氧基)-4-((R)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)-3,3-二氟-2-羟基丁酯*

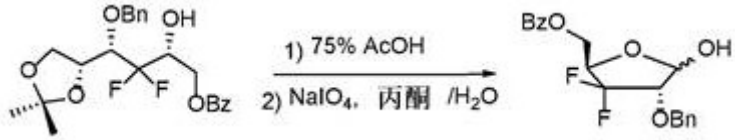
[0623] 

[0624] 在-70℃下经50分钟,向(2R,4S)-4-(苄基氧基)-4-((R)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)-3,3-二氟丁烷-1,2-二醇(3.50g, 10.5mmol)于CH_2Cl_2 (52mL)和吡啶(26mL)中的溶液中逐滴添加CH_2Cl_2(11mL)中的苯甲酰氯(1.48g, 10.5mmol)。在2小时之后,添加甲醇(150mL)。将混合物在室温下搅拌0.5小时。添加水(200ml)。分离各层,并用乙醚(4×150mL)萃取水层。将合并的有机层用HCl水溶液(1N, 2×150mL)、$NaHCO_3$饱和水溶液(2×150mL)和盐水(2×150mL)洗涤。将其干燥(Na_2SO_4),浓缩并通过硅胶柱色谱(EtOAc/石油醚=

1/10)纯化以得到产物。

[0625] ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.11-8.01 (m, 2 H), 7.61-7.55 (m, 1 H), 7.48-7.31 (m, 7H), 4.89-4.53 (m, 4H), 4.46-4.41 (m, 1H), 4.40-4.29 (m, 1H), 4.17-4.02 (m, 2 H), 3.98-3.84 (m, 0.5H), 3.74-3.66 (m, 0.5 H), 1.46 (s, 3H), 1.28 (s, 3H). ^{19}F-NMR: (376MHz, $CDCl_3$): δ -106.8 (d, J = 270.7Hz, 1F), -119.2 (d, J = 270.7Hz, 1F).

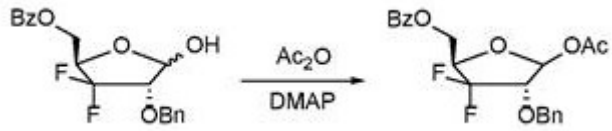
[0626] *步骤2:苯甲酸((2R,4S)-4-(苄基氧基)-3,3-二氟-5-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0627] 

[0628] 将苯甲酸(2R,4S)-4-(苄基氧基)-4-((R)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-基)-3,3-二氟-2-羟基丁酯(3.00g, 6.87mmol)溶于AcOH水溶液(75%, 66mL)中。将其在50℃下搅拌3小时。将其部分地浓缩。将残余物再溶于丙酮(33mL)中。在室温下,向溶液中添加水(33mL)中的过碘酸钠(1.20g, 5.61mmol)。在1.5小时之后,过滤掉所形成固体并用丙酮洗涤。浓缩滤液。添加水和CH_2Cl_2,并分离各层。用CH_2Cl_2(4×150mL)萃取水层。将合并的有机层干燥(Na_2SO_4),浓缩,并通过硅胶柱色谱(乙酸乙酯/石油醚=1/5)纯化以得到产物。

[0629] ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.05-8.01 (m, 2 H), 7.59-7.52 (m, 1 H), 7.46-7.35 (m, 7H), 5.49-5.42 (m, 1H), 4.99-4.72 (m, 1H), 4.67-4.47 (m, 4H), 4.11-3.80 (m, 1H). ^{19}F-NMR: (376MHz, $CDCl_3$): δ -117.1 (d, *J* = 240.6Hz, 1F), -117.9 (d, *J* = 251.9Hz, 1F).

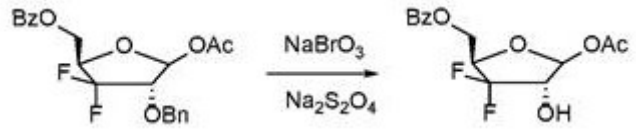
[0630] *步骤3:苯甲酸((2R,4S)-5-乙酰氧基-4-(苄基氧基)-3,3-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0631] 

[0632] 在室温下,向苯甲酸((2R,4S)-4-(苄基氧基)-3,3-二氟-5-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯(2.40g, 6.59mmol)于CH_2Cl_2(66mL)中的溶液中逐滴添加N,N-二甲基吡啶-4-胺(0.080g, 0.659mmol)和乙酸酐(4.03g, 39.5mmol)。在6小时之后,将其通过添加$NaHCO_3$饱和水溶液(30mL)来淬灭。分离各层,并用CH_2Cl_2 (3×150mL)萃取水层。将合并的有机层用水(2×150mL)和盐水(2×100mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩并通过硅胶柱色谱(乙酸乙酯/石油醚=1/7)纯化以得到产物。

[0633] ^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ 8.08-7.89 (m, 2 H), 7.61-7.48 (m, 1 H), 7.47-7.25 (m, 7H), 6.15 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 4.89-4.75 (m, 1H), 4.73-4.40 (m, 4H), 4.18-4.02 (m, 1H), 1.98 (s, 3H). ^{19}F-NMR: (282MHz, $CDCl_3$): δ -116.5 (d, *J* = 248.2Hz, 1F), -120.9 (d, *J* = 248.2Hz, 1F).

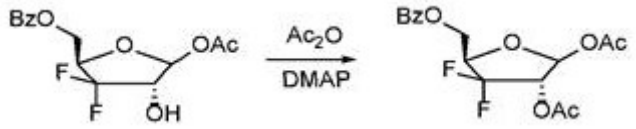
[0634] *步骤4:苯甲酸((2R,4S)-5-乙酰氧基-3,3-二氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0635] 

[0636] 向苯甲酸((2R,4S)-5-乙酰氧基-4-(苄基氧基)-3,3-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(2.50g，6.15mmol)于EtOAc(60mL)中的溶液中添加水(46mL)中的溴酸钠(5.57g，36.9mmol)。搅拌剧烈混合物，且经1小时向其中逐滴添加水(92mL)中的连二亚硫酸钠(6.43g，36.9mmol)。在5小时之后，分离各层，并用EtOAc(5×150mL)萃取水层。将合并的有机层用$Na_2S_2O_3$饱和水溶液(2×150mL)和盐水(2×150mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，浓缩，并通过硅胶柱色谱(乙酸乙酯/石油醚=1/5)纯化以得到产物。

[0637] ^{1}H-NMR (300MHz, $CDCl_3$): δ 8.10-7.89 (m, 2 H), 7.63-7.50 (m, 1 H), 7.48-7.30 (m, 2H), 6.09 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 4.71-4.42 (m, 3H), 4.36-4.26 (m, 1H), 2.04 (s, 3H). ^{19}F-NMR: (282MHz, $CDCl_3$): δ -119.5 (d, *J* = 248.2Hz, 1F), -122.0 (d, *J* = 248.2Hz, 1F).

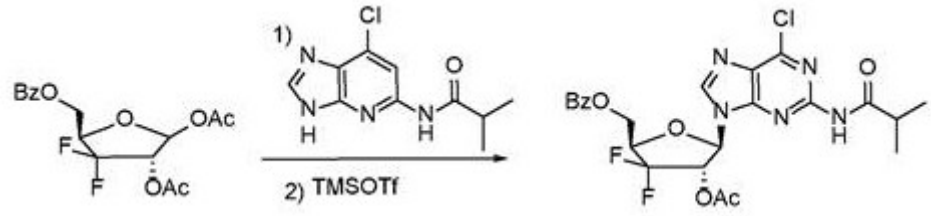
[0638] *步骤5：二乙酸(3S,5R)-5-((苯甲酰基氧基)甲基)-4,4-二氟四氢呋喃-2,3-二基酯*

[0639] 

[0640] 在室温下，向苯甲酸((2R,4S)-5-乙酰氧基-3,3-二氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯(2.00g，6.32mmol)于CH_2Cl_2(84mL)中的溶液中逐滴添加DMAP(0.08g，0.632mmol)和乙酸酐(3.87g，37.9mmol)。在6小时之后，将其通过添加$NaHCO_3$饱和水溶液(30mL)来淬灭。分离各层，并用CH_2Cl_2 (3×140mL)萃取水层。将合并的有机层用水(2×140mL)和盐水(2×140mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，浓缩并通过硅胶柱色谱(乙酸乙酯/石油醚=1/6)纯化以得到产物。

[0641] ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.11-8.01 (m, 2 H), 7.63-7.54 (m, 1 H), 7.50-7.41 (m, 2H), 6.20 (d, *J* = 4.0Hz, 1H), 5.39 (d, *J* = 8.0Hz,1H), 4.69-4.48 (m, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.08 (s, 3H). ^{19}F-NMR: (376MHz, $CDCl_3$): δ -117.6 (d, *J* = 251.9Hz, 1F), -119.5 (d, *J* = 251.9Hz, 1F).

[0642] *步骤6：苯甲酸((2R,4S,5R)-4-乙酰氧基-5-(6-氯-2-异丁酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-3,3-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

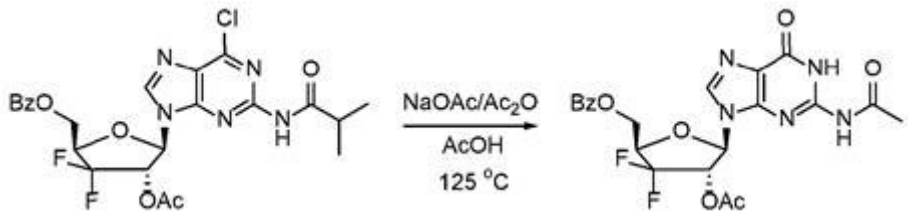
[0643] 

[0644] 在0℃下，向二乙酸(3S,5R)-5-((苯甲酰基氧基)甲基)-4,4-二氟四氢呋喃-2,3-二基酯(2.20g，6.14mmol)和*N*-(6-氯-9*H*-嘌呤-2-基)异丁酰胺(1.77g，7.37mmol)于ACN(80mL)中的溶液中添加2,3,4,6,7,8,9,10-八氢嘧啶并[1,2-*a*]氮杂䓬(2.80mL，18.4mmol)。在0.5小时之后，在0℃下，向反应物中逐滴添加三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯

(6.82mL，36.8mmol)。在0.5小时之后。将其在80℃下加热16小时。然后反应通过添加水(150mL)来淬灭。分离各层，并用EtOAc(3×150mL)萃取水层。将合并的有机层用$NaHCO_3$饱和水溶液(2×150mL)和盐水(2×150mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，浓缩，并通过硅胶柱色谱(乙酸乙酯/石油醚=1/1)纯化以得到产物。

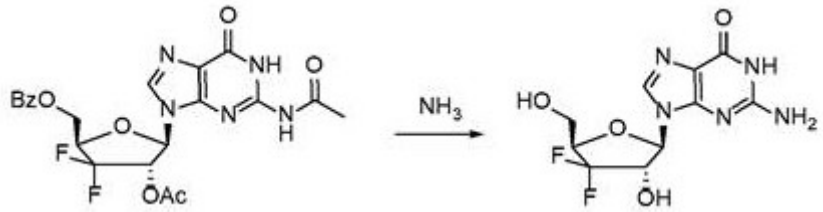
[0645] ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 8.10 (s, 1H), 8.08-7.98 (m, 2 H), 7.64-7.53 (m, 1 H), 7.51-7.40 (m, 2H), 6.25 (d, J = 4.0Hz, 1H), 5.98-5.93 (m,1H), 4.85-4.53 (m, 3H), 2.92-2.80 (m, 1H), 2.22 (s, 3H) 1.28 (d, J = 4.0Hz, 6H). ^{19}F-NMR: (376MHz, $CDCl_3$): δ -116.7 (d, J = 248.2Hz, 1F), -118.1 (d, J = 248.2Hz, 1F).

[0646] *步骤7：苯甲酸((2R,4S,5R)-5-(2-乙酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-4-乙酰氧基-3,3-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0647] 

[0648] 向苯甲酸((2*R*,4*S*,5*R*)-4-乙酰氧基-5-(6-氯-2-异丁酰胺基-9*H*-嘌呤-9-基)-3,3-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(1.80g，3.35mmol)于AcOH(29mL)中的溶液中添加乙酸钠(1.37g，16.7mmol)和乙酸酐(29mL)。将反应物在125℃下搅拌2.5小时。将其冷却至室温，并添加MeOH (50mL)。在减压下浓缩混合物，并使残余物与乙醇(2×50mL)共蒸发。添加DCM(150mL)和水(150mL)，并分离各层。将有机相用$NaHCO_3$饱和水溶液(2×150mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，并浓缩以得到产物。LCMS (ES，m/z)：492.1 $[M + H]^+$。

[0649] *步骤8：2-氨基-9-((2R,3S,5R)-4,4-二氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

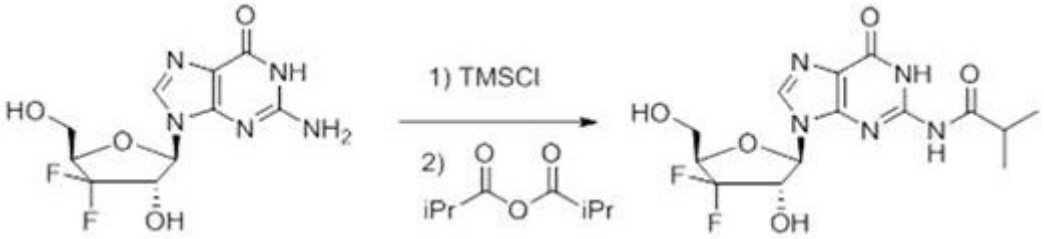
[0650] 

[0651] 向苯甲酸((2R,4S,5R)-5-(2-乙酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-4-乙酰氧基-3,3-二氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(纯净的，1.80g，3.66mmol)中添加MeOH中的NH_3(7M，90mL，MeOH)。将其在室温下搅拌60小时。将其浓缩并通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的5-20% MeCN洗脱的反相(C18)色谱纯化以得到产物。

[0652] ^{1}H-NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 10.7 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 6.56-6.44 (m, 3H), 5.62(d, J = 6.0Hz, 1H), 5.32 (t, J = 5.4Hz, 1H), 4.90-4.77 (m, 1H), 4.23-4.08 (m, 1H), 3.68-3.52 (m, 2H). ^{19}F-NMR: (282MHz, DMSO-d_6): δ -113.1 (d, J = 234.1Hz, 1F), -121.8 (d, J = 234.1Hz, 1F).

[0653] *步骤9：N-(9-((2R,3S,5R)-4,4-二氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-6-*

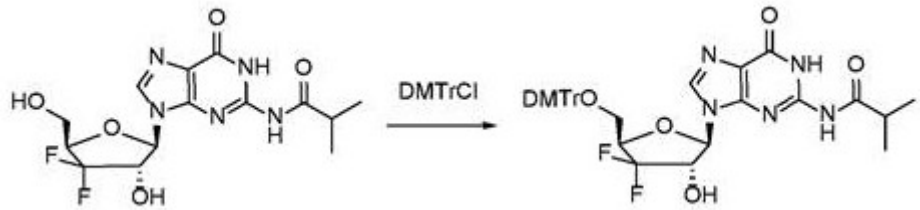
氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

[0654] 

[0655] 使2-氨基-9-((2R,3S,5R)-4,4-二氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(800mg, 2.64mmol)与吡啶(3×3mL)共蒸发。将其再悬浮于吡啶(13mL)中。在0℃下,向混合物中逐滴添加氯三甲基甲硅烷(1.686mL, 13.19mmol)。将其温热至室温并搅拌2小时。将反应物冷却至0℃,并逐滴添加异丁酸酐(0.656mL, 3.96mmol)。将其温热至室温,搅拌2小时,且然后向反应物中添加水(4mL)和NH_4OH (8mL)。在30分钟之后,将其浓缩。将残余物通过用CH_2Cl_2中的0-10% MeOH的快速柱色谱纯化以得到产物。

[0656] LCMS (ES, m/z): 374.1 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR: (300MHz, DMSO-d_6) δ 12.11 (s, 1H), 11.69 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 6.58 (d, J = 6.0Hz, 1H), 5.74 (dd, J = 9.0, 3.0Hz, 1H), 5.33 (t, J = 6.0Hz, 1H), 4.96-4.83 (m, 1H), 4.26-4.17 (m, 1H), 3.72-3.62 (m, 2H), 2.80-2.71 (m, 1H), 1.11 (d, J = 9.0Hz, 6H).

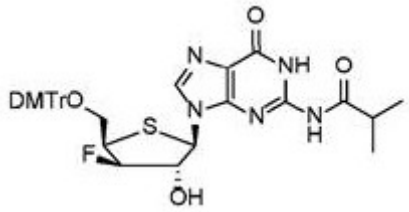
[0657] *步骤10:N-(9-((2R,3S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4,4-二氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0658] 

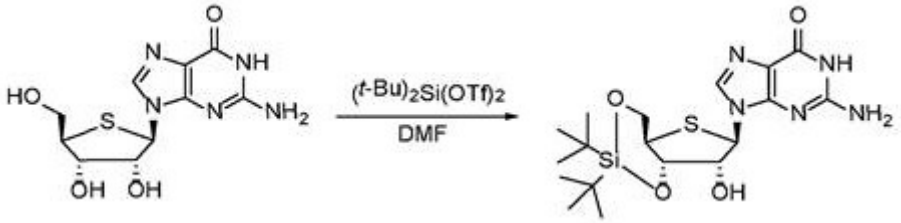
[0659] 使N-(9-((2R,3S,5R)-4,4-二氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(640mg, 1.714mmol)与吡啶(3×3mL)共蒸发且然后再悬浮于吡啶(5.7mL)中。向悬浮液中添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)双(甲氧基苯)(639mg, 1.886mmol),并将其搅拌16h。然后,将其浓缩且然后与甲苯(3×20mL)共蒸发。将粗制物通过用CH_2Cl_2(含有1% Et_3N)中的1%至30% MeOH洗脱的二氧化硅柱色谱纯化以得到产物。

[0660] LCMS (ES, m/z): 676.3 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR: (300MHz, DMSO-d_6) δ 12.11 (s, 1H), 11.61 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.34 (J = 6.0, 3.0Hz, 2H), 7.28-7.19 (m, 7H), 6.85-6.80 (m, 4H), 6.71 (d, J = 6.0Hz, 1H), 5.78 (d, J = 6.0Hz, 1H), 5.13-5.05 (m, 1H), 4.46-4.39 (m, 1H), 3.71 (s, 6H), 3.46-3.40 (m, 1H), 3.22-3.18 (m, 1H), 2.78-2.70 (m, 1H), 1.11 (d, J = 9.0Hz, 6H).

[0661] 制备17:N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

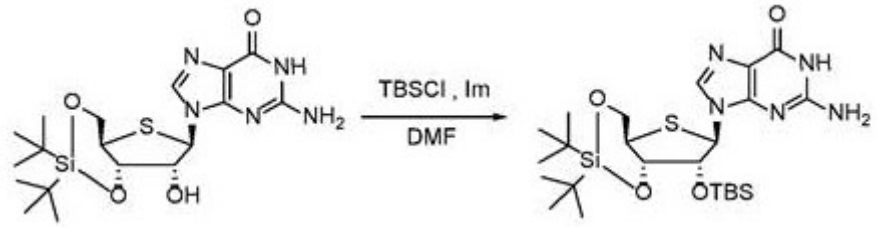
[0662] 

[0663] *步骤1:2-氨基-9-((4aR,6R,7R,7aR)-2,2-二-叔丁基-7-羟基四氢-4H-噻吩并[3,2-d][1,3,2]二氧杂硅烷啉(silin)-6-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[0664] 

[0665] 在0℃和Ar下,向2-氨基-9-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-1*H*-嘌呤-6(9*H*)-酮(15g, 50.1mmol)于DMF(150mL)中的搅拌悬浮液中注入双(三氟甲磺酸)二-叔丁基甲硅烷二基酯(26.5g, 60.1mmol)。将所得溶液在室温下搅拌1小时。其未经纯化即直接用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 440.2 $[M + H]^+$。

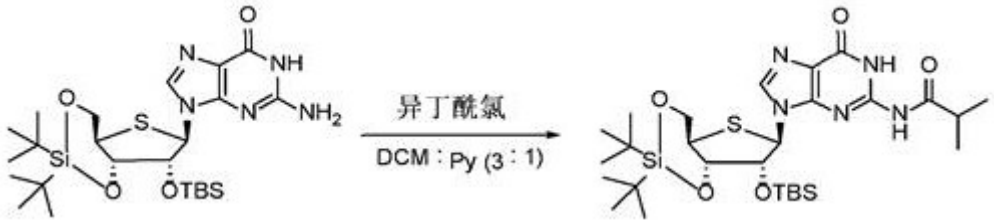
[0666] *步骤2:2-氨基-9-((4aR,6R,7R,7aR)-2,2-二-叔丁基-7-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢-4H-噻吩并[3,2-d][1,3,2]二氧杂硅烷啉基-6-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[0667] 

[0668] 在0℃下,向来自先前步骤的反应混合物中以一部分添加1*H*-咪唑(17.05g, 251mmol)。将混合物在室温下搅拌0.5小时。向混合物中添加叔丁基氯二甲基甲硅烷(15.10g, 100mmol),并将其在60℃下搅拌16小时。然后,在减压下去除挥发性组分。将固体悬浮于冷甲醇(75mL)中,过滤,并用冷甲醇(2×30mL)洗涤。将固体保持于减压下以得到产物。

[0669] LCMS (ES, m/z): 554.4 $[M + H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 10.80 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 6.49 (s, 2H), 5.53 (s, 1H), 4.46 (d, *J* = 3.2Hz, 1H), 4.42 (d, *J* = 9.9Hz, 1H), 4.34 (dd, *J* = 9.9, 4.7Hz, 1H), 4.21 (t, *J* = 10.5Hz, 1H), 3.70-3.64 (m, 1H), 1.04 (s, 9H), 1.00 (s, 9H), 0.92 (s, 9H), 0.19 (s, 3H), 0.11 (s, 3H).

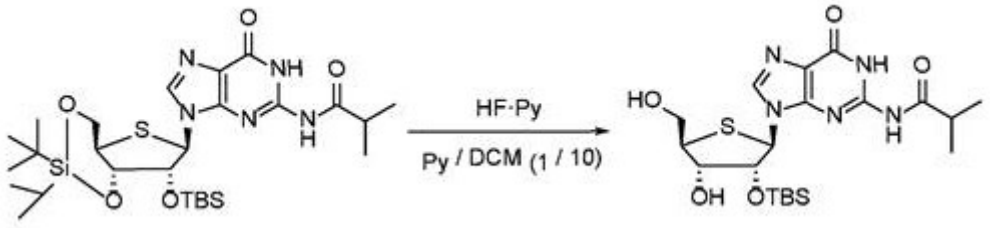
[0670] *步骤3:N-(9-((4aR,6R,7R,7aR)-2,2-二-叔丁基-7-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢-4H-噻吩并[3,2-d][1,3,2]二氧杂硅烷啉-6-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0671] 

[0672] 使2-氨基-9-((4a*R*,6*R*,7*R*,7a*S*)-2,2-二-叔丁基-7-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢-4*H*-噻吩并[3,2-d][1,3,2]二氧杂硅烷啉-6-基)-1*H*-嘌呤-6(9*H*)-酮(29.1g,52.5mmol)与干燥吡啶(3×50mL)共蒸发并再溶于吡啶(70mL)和二氯甲烷(210mL)中。向混合物中装入Ar并冷却至0℃。向混合物中添加异丁酰氯(11.20g, 105mmol)。将其在室温下搅拌4小时。将其在减压下浓缩。将固体悬浮于冷甲醇(100mL)中,过滤,并用冷甲醇(3×50mL)洗涤。将固体保持在减压下以得到产物。

[0673] LCMS (ES, m/z): 624.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.13 (s, 1H), 11.39 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 5.61 (s, 1H), 4.66 (d, *J* = 3.4Hz, 1H), 4.48 (d, *J* = 9.9Hz, 1H), 4.38-4.33 (m, 1H), 4.21 (t, *J* = 9.9Hz, 1H), 3.76-3.70 (m, 1H), 2.84-2.80 (m, 1H), 1.13 (d, *J* = 6.7Hz, 6H), 1.06 (s, 9H), 1.01 (s, 9H), 0.91 (s, 9H), 0.16 (s, 3H), 0.11 (s, 3H).

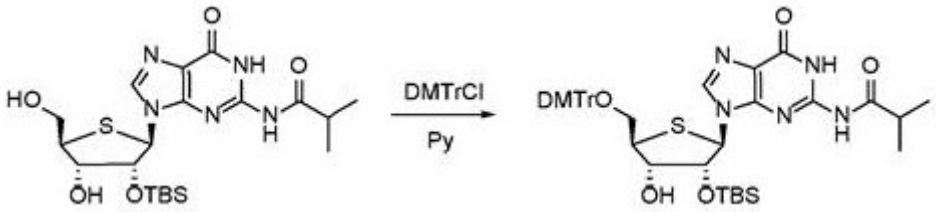
[0674] *步骤4:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0675] 

[0676] 在0℃下,用吡啶(29mL)稀释HF-吡啶(26.6g, 188mmol)。在0℃下,将所得溶液缓慢添加至*N*-(9-((4a*R*,6*R*,7*R*,7a*S*)-2,2-二-叔丁基-7-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢-4*H*-噻吩并[3,2-*d*][1,3,2]二氧杂硅烷啉-6-基)-6-氧代-6,9-二氢-1*H*-嘌呤-2-基)异丁酰胺(29.3g, 47.0mmol)于CH_2Cl_2(290mL)中的搅拌悬浮液中。将其在0℃下搅拌2小时。将反应混合物用CH_2Cl_2 (500mL)稀释。将其用水(500mL)和饱和$NaHCO_3$水溶液(500mL)洗涤。将有机层干燥(Na_2SO_4)并浓缩以得到产物。

[0677] LCMS (ES, m/z): 484.4 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.05 (s, 1H), 11.73 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 5.89 (d, *J* = 7.9Hz, 1H), 5.34 (d, *J* = 3.9Hz, 1H), 5.27 (t, *J* = 5.6Hz, 1H), 4.60 (dd, *J* = 8.1, 3.2Hz, 1H), 4.19-4.17 (m, 1H), 3.80-3.74 (m, 1H), 3.66-3.60 (m, 1H), 3.30 (t, *J* = 8.0Hz, 1H), 2.80-2.73 (m, 1H), 1.12 (d, *J* = 6.7Hz, 6H), 0.68 (s, 9H), -0.06 (s, 3H), -0.29 (s, 3H).

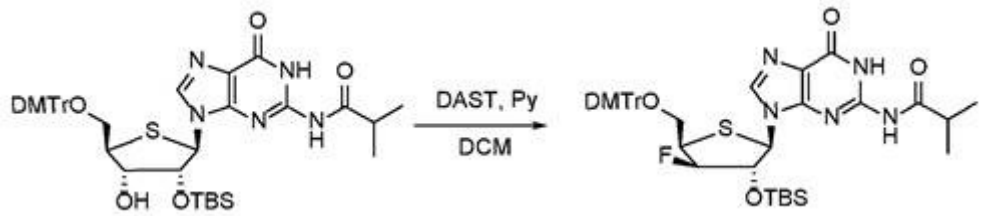
[0678] *步骤5:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0679] 

[0680] 使*N*-(9-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1*H*-嘌呤-2-基)异丁酰胺(21g, 43.4mmol)与吡啶(3×50mL)共蒸发并溶于吡啶(210mL)中。添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)双(甲氧基苯)(16.2g, 47.8mmol),并将其在室温下搅拌3小时且然后在减压下浓缩并与甲苯(3×50mL)共蒸发。将粗制物通过用CH_2Cl_2(含有0.1% Et_3N)中的0-40% EtOAc洗脱的硅胶色谱纯化以得到产物。

[0681] LCMS (ES, m/z): 786.4 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, DMSO-d_6): δ 12.06 (s, 1H), 11.71 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.44-7.42 (m, 2H), 7.37-7.22 (m, 7H), 6.92 (d, *J* = 8.5Hz, 4H), 5.87 (d, *J* = 7.2Hz, 1H), 5.44 (d, *J* = 4.4Hz, 1H), 4.40 (dd, *J* = 7.3, 3.3Hz, 1H), 4.19 (d, *J* = 5.9Hz, 1H), 3.75 (s, 6H), 3.54-3.35 (m, 2H), 3.34-3.28 (m, 1H), 2.83 – 2.71 (m, 1H), 1.11 (d, *J* = 6.7Hz, 6H), 0.70 (s, 9H), -0.08 (s, 3H), -0.29 (s, 3H).

[0682] *步骤6:N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-氟四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

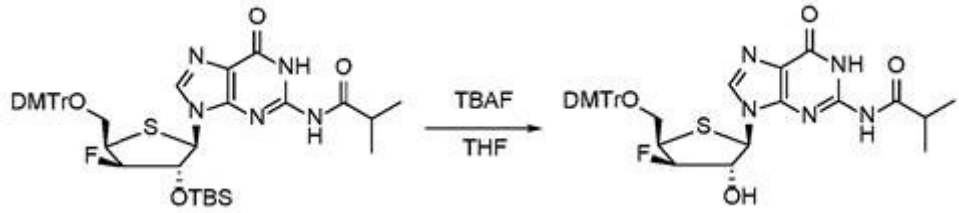
[0683] 

[0684] 在0℃下,向*N*-(9-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1*H*-嘌呤-2-基)异丁酰胺(22g, 28.0mmol)于CH_2Cl_2(220mL)中的溶液中逐滴添加吡啶(18.11mL, 224mmol)和DAST(14.79mL, 112mmol)。使反应物温热至室温并搅拌7小时。然后将其冷却至0℃并通过缓慢添加饱和$NaHCO_3$水溶液(500mL)来淬灭。添加更多的CH_2Cl_2 (500mL),并分离各相。将有机相用饱和$NaHCO_3$水溶液(3×200mL)和盐水(300mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩,并通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的45-95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化以得到产物。

[0685] LCMS (ES, m/z): 788.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.06 (s, 1H), 11.56 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.44-7.42 (m, 2H), 7.34-7.23 (m, 7H), 6.92-6.89 (m, 4H), 5.71 (d, *J* = 4.9Hz, 1H), 5.14 (dt, *J* = 51.0, 5.6Hz, 1H), 5.01-4.96 (m, 1H), 3.88-3.85 (m, 1H), 3.75 (s, 6H), 3.57 (t, *J* = 8.8Hz, 1H), 3.50 (dd, *J* = 10.0, 5.3Hz, 1H), 2.81-2.74 (m, 1H), 1.12 (d, *J* = 6.8Hz, 6H), 0.77 (s, 9H), 0.00 (s, 3H), -0.16 (s, 3H). F-NMR: (376MHz, DMSO-d_6, *ppm*) δ -193.99 (s, 1F).

[0686] *步骤7:N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-*

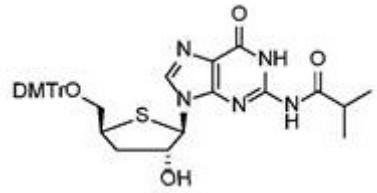
氟-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

[0687] 

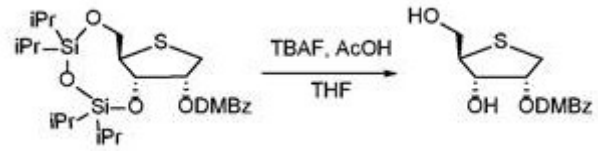
[0688] 在室温下,向*N*-(9-((2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-氟四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1*H*-嘌呤-2-基)异丁酰胺(7.2g, 6.85mmol)于THF (70mL)中的溶液中逐滴添加TBAF(1.0M,于THF中, 8.22mL, 8.22mmol)。将其在室温下搅拌30分钟,浓缩溶液,并添加CH_2Cl_2 (300mL)。将混合物用$NaHCO_3$ (3×200mL)和盐水(200mL)洗涤,并将有机相分离,干燥(Na_2SO_4),浓缩并通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的0-95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化以得到产物。

[0689] LCMS (ES, m/z): 674.3 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 12.02 (br, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.44-7.41 (m, 2H), 7.36-7.24 (m, 7H), 6.94-6.90 (m, 4H), 6.33 (bs, 1H), 5.78 (d, *J* = 2.7Hz, 1H), 5.19 (dt, *J* = 50.2, 4.0Hz, 1H), 4.80-4.75 (m, 1H), 4.10-4.02 (m, 1H), 3.76 (s, 6H), 3.55 (dd, *J* = 9.3, 5.6Hz, 1H), 3.44 (t, *J* = 8.9Hz, 1H), 2.79-2.71 (m, 1H), 1.12 (d, *J* = 6.8Hz, 6H). F-NMR: (376MHz, DMSO-d_6) δ -194.75 (s).

[0690] 制备18:N-(9-((2R,3R,5S)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

[0691] 

[0692] *步骤1:2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-3-基酯*

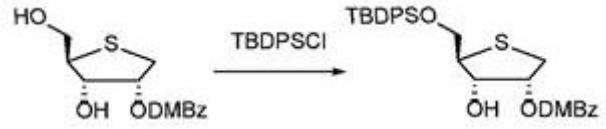
[0693] 

[0694] 向2,4-二甲氧基苯甲酸(6aR,9R,9aS)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-噻吩并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅杂辛(熳)环(ocin)-9-基酯(60g, 108mmol)于THF (500mL)中的溶液中添加AcOH(13.59g, 226mmol)和THF中的TBAF (1M, 226mL, 226mmol)。在1小时之后,将其在减压下浓缩并通过用CH_2Cl_2中的0-20% EtOAc洗脱的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

[0695] LCMS (ES, m/z): 315.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.87 (d, *J* = 8.7Hz, 1H), 6.58-6.46 (m, 2H), 5.51 (dt, *J* = 5.0, 3.7Hz, 1H), 4.31 (td, *J* = 6.9, 3.7Hz, 1H), 3.88 (d, *J* = 12.0Hz, 8H), 3.58 (dt, *J* = 7.1, 4.7Hz, 1H), 3.26 (dd, *J* = 12.2, 5.0Hz, 1H), 3.15-3.01 (m, 2H), 2.31 (s, 1H).

[0696] *步骤2:2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,4S,5R)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲*

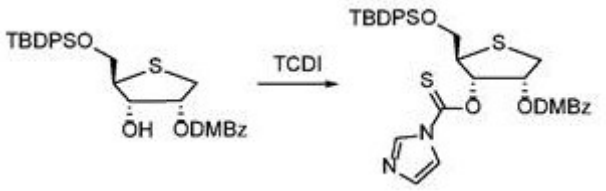
基)-4-羟基四氢噻吩-3-基酯

[0697] 

[0698] 向2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-3-基酯(33g, 105mmol)于吡啶(300mL)中的溶液中添加叔丁基氯代二苯基甲硅烷(43.3g, 157mmol)。将其在室温下搅拌4小时。然后,添加水(300mL)。分离各层,并用CH_2Cl_2 (3×300mL)萃取水层。将合并的有机层用盐水(300mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩,并通过用石油醚中的1%至10% EtOAc洗脱的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

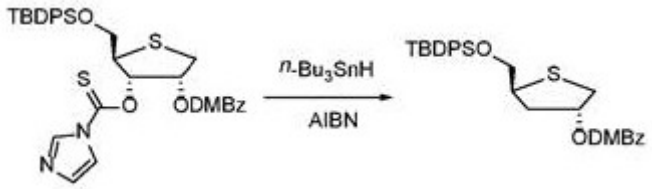
[0699] LCMS (ES, m/z): 575.3 $[M + Na]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 7.83 (d, J = 8.7Hz, 1H), 7.68 (t, J = 5.5Hz, 5H), 7.54-7.38 (m, 6H), 6.69-6.60 (m, 2H), 5.40 (d, J = 5.6Hz, 1H), 5.35-5.29 (m, 1H), 4.12 (s, 1H), 4.05 (d, J = 7.3Hz, 1H), 3.85 (d, J = 7.2Hz, 6H), 3.78-3.66 (m, 1H), 3.55 (d, J = 7.2Hz, 1H), 3.14 (dd, J = 11.0, 5.0Hz, 1H), 2.86-2.77 (m, 1H), 1.03 (s, 9H).

[0700] *步骤3:2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,4S,5R)-4-((1H-咪唑-1-硫代甲酰基(carbonothioyl))氧基)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢噻吩-3-基酯*

[0701] 

[0702] 向2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,4S,5R)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-羟基四氢噻吩-3-基酯(48g, 87mmol)于二氯乙烷(500mL)中的溶液中添加二(1*H*-咪唑-1-基)甲烷硫酮(20.12g, 113mmol)。将其于Ar下在85℃下加热1小时。然后,将其浓缩并未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 663.2 $[M + H]^+$。

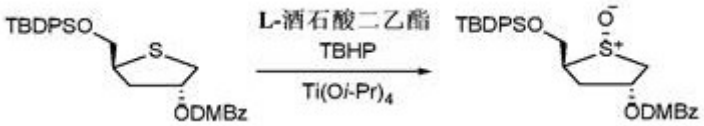
[0703] *步骤4:2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,5S)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢噻吩-3-基酯*

[0704] 

[0705] 向2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,4S,5R)-4-((1H-咪唑-1-硫代甲酰基)氧基)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢噻吩-3-基酯(粗制物,57.6g, 87mmol)于THF(40mL)和甲苯(200mL)中的溶液中添加三丁基锡烷(139g, 478mmol)。将其在95℃下加热,且经30分钟添加甲苯(200mL)中的2,2'-(二氮烯-1,2-二基)双(2-甲基丙腈)(1.427g, 8.69mmol)。在1小时之后,将所得混合物浓缩并通过用石油醚中的0至10% EtOAc洗脱的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

[0706] LCMS (ES, m/z): 537.3 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 7.88 (d, J = 8.6Hz, 1H), 7.77-7.67 (m, 4H), 7.50-7.36 (m, 6H), 6.58-6.48 (m, 2H), 5.70 (p, J = 3.8Hz, 1H), 3.95-3.74 (m, 10H), 3.28 (dd, J = 12.0, 4.6Hz, 1H), 3.10-3.02 (m, 1H), 2.49-2.39 (m, 1H), 1.92 (ddd, J = 13.3, 8.6, 4.1Hz, 1H), 1.09 (s, 9H).

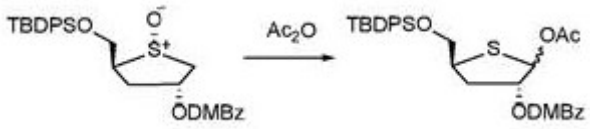
[0707] *步骤5:2,4-二甲氧基苯甲酸(1R,3R,5S)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-1-氧化四氢噻吩-3-基酯*

[0708] 

[0709] 在Ar下,向Ti(OiPr)$_4$ (23.29mL, 78mmol)于CH_2Cl_2 (130mL)中的溶液中逐滴添加(L)-酒石酸二乙酯(38.3mL, 224mmol)。在10分钟之后,将混合物冷却至-20℃,且然后逐滴添加癸烷中的TBHP (~5.5M,27.1mL, 149mmol)。在5分钟之后,在-20℃下,向反应物中添加2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,5S)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢噻吩-3-基酯(40g, 74.5mmol)于CH_2Cl_2 (130mL)中的溶液。将所得混合物在-20℃下搅拌16小时。将其通过添加冰水(300mL)来淬灭并温热至室温。过滤掉沉淀物并用EtOAc (3×300mL)洗涤。用水(3×200mL)洗涤滤液。用EtOAc (400mL)萃取水层。将合并的有机层干燥(Na_2SO_4),浓缩并通过用石油醚中的0至70% EtOAc洗脱的快速色谱纯化以得到产物(两种异构体的混合物)。

[0710] LCMS (ES, m/z): 553.2 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 7.81 (d, J = 8.7Hz, 1H), 7.75-7.61 (m, 4H), 7.54-7.39 (m, 6H), 6.67-6.56 (m, 2H), 5.66 (q, J = 3.8Hz, 1H), 4.12 (dt, J = 10.5, 4.4Hz, 1H), 3.92-3.79 (m, 8H), 3.58-3.42 (m, 1H), 3.20-3.09 (m, 1H), 2.97 (d, J = 15.0Hz, 1H), 2.05 (ddd, J = 14.5, 10.5, 4.3Hz, 1H), 1.02 (s, 9H).

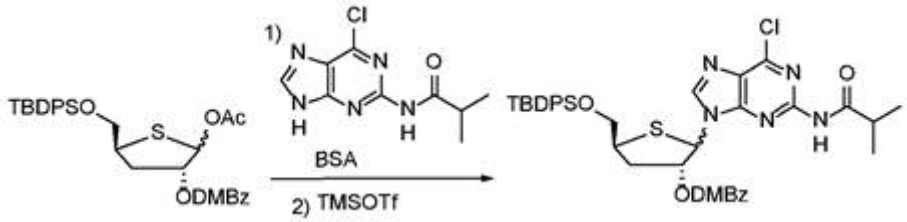
[0711] *步骤6:2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,5S)-2-乙酰氧基-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢噻吩-3-基酯*

[0712] 

[0713] 在110℃下加热2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,5S)-2-乙酰氧基-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-四氢噻吩-3-基酯(21g, 34.2mmol)于乙酸酐(210mL)中的溶液。在搅拌3.5小时之后,将反应混合物冷却至室温并浓缩。将残余物通过用石油醚中的0%至20% EtOAc洗脱的硅胶柱色谱纯化,以得到产物。

[0714] LCMS (ES, m/z): 535.3 [M - OAc]$^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 7.76-7.61 (m, 5H), 7.46 (dq, J = 7.6, 4.5, 3.7Hz, 6H), 6.68-6.58 (m, 2H), 6.22 (d, J = 4.3Hz, 0.65H), 5.94 (s, 0.28H), 5.51-5.46 (m, 0.33H), 5.38 (ddd, J = 11.1, 7.2, 4.3Hz, 0.65H), 3.96-3.61 (m, 9H), 2.40-2.21 (m, 2H), 2.03 (d, J = 1.6Hz, 3H), 1.01 (s, 9H).

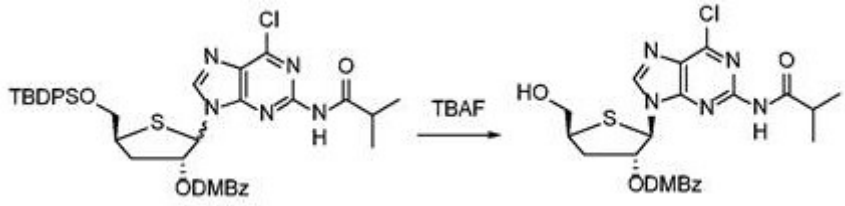
[0715] *步骤7:2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,5S)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-2-(6-氯-2-异丁酰胺基-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯*

[0716] 

[0717] 在0℃下，向*N*-(6-氯-9*H*-嘌呤-2-基)异丁酰胺(10.27g，42.9mmol)于甲苯(600mL)中的溶液中添加*N*-(三甲基甲硅烷基)乙酰亚胺酸三甲基甲硅烷基酯(23.26g，114mmol)。将其在80℃下加热1小时并再次冷却至0℃。然后向反应物中添加2,4-二甲氧基苯甲酸(3*R*,5*S*)-2-乙酰氧基-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-四氢噻吩-3-基酯(17g，28.6mmol)于甲苯(600mL)中的溶液和三氟甲磺酸三甲基甲硅烷基酯(19.06g，86mmol)。将其加热至80℃并在Ar下搅拌12小时。此时，将反应物冷却至室温，并添加饱和$NaHCO_3$水溶液(400mL)。分离各层，并用EtOAc (4×1000mL)萃取水层。将合并的有机相干燥(Na_2SO_4)，浓缩并通过用石油醚中的10%至40% EtOAc洗脱的硅胶柱色谱纯化以得到产物(α异构体和β异构体的混合物)。

[0718] LCMS (ES, m/z): 774.3 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 8.48 (s, 0.32H), 8.35 (s, 0.69H), 7.97-7.83 (m, 1.67H), 7.70 (dq, *J* = 8.4, 1.5Hz, 4H), 7.54 (d, *J* = 8.7Hz, 0.33H), 7.49-7.36 (m, 6H), 6.57-6.36 (m, 2.5H), 6.18 (d, *J* = 2.4Hz, 0.7H), 5.87-5.80 (m, 0.35H), 5.73 (q, *J* = 3.3Hz, 0.75H), 4.23-4.01 (m, 1.2H), 3.98-3.74 (m, 7.8H), 3.11 (s, 0.73H), 2.95 (s, 0.37H), 2.57-2.36 (m, 1.75H), 2.30-2.20 (m, 0.34H), 1.23 (d, *J* = 6.8Hz, 2.19H), 1.19 (dd, *J* = 6.8, 3.5Hz, 4.38H), 1.09 (d, *J* = 1.7Hz, 9H).

[0719] *步骤8:2,4-二甲氧基苯甲酸(2R,3R,5S)-2-(6-氯-2-异丁酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-5-(羟基甲基)-四氢噻吩-3-基酯*

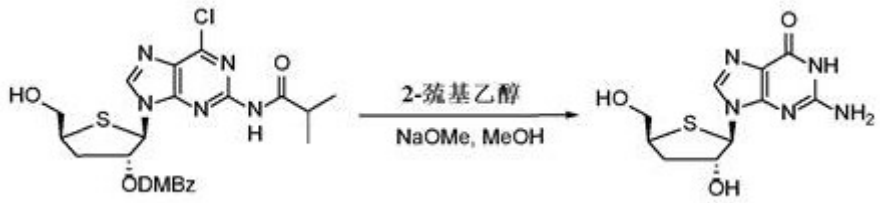
[0720] 

[0721] 向2,4-二甲氧基苯甲酸(3R,5S)-5-(((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)甲基)-2-(6-氯-2-异丁酰胺基-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯(20g，25.8mmol)于THF (135mL)中的溶液中逐滴添加TBAF的THF溶液(1M，31mL，31mmol)。在1小时之后，将反应混合物浓缩并通过使用CH_2Cl_2中的1%至10% MeOH作为洗脱剂的柱色谱纯化以得到两种异构体的混合物。将其通过用NH_4CO_3水溶液(5mM)中的10至45% ACN洗脱的反相(C18)色谱再纯化以得到产物。

[0722] LCMS (ES, m/z): 536.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 10.80 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.7Hz, 1H), 6.65-6.55 (m, 2H), 6.18 (d, *J* = 2.5Hz, 1H), 5.80 (q, *J* = 3.5Hz, 1H), 5.22 (t, *J* = 5.1Hz, 1H), 3.93-3.67 (m, 9H), 2.85 (p, *J* = 6.9Hz, 1H), 2.70 (ddd, *J* = 13.4, 8.5, 4.5Hz, 1H), 2.36 (dt, *J* = 14.1, 5.0Hz, 1H), 1.06 (dd, *J* = 6.8, 3.3Hz, 6H).

[0723] *步骤9:2-氨基-9-((2R,3R,5S)-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-1,9-二*

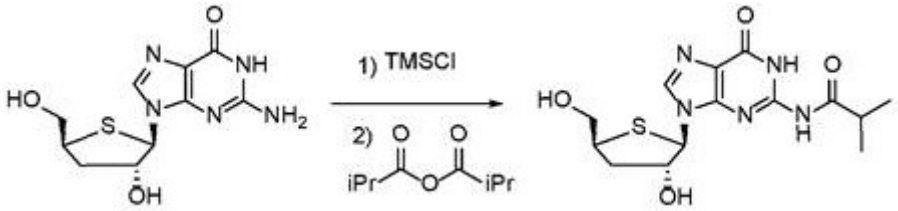
氢-6H-嘌呤-6-酮

[0724] 

[0725] 向2,4-二甲氧基苯甲酸(2R,3R,5S)-2-(6-氯-2-异丁酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-5-(羟基甲基)四氢噻吩-3-基酯(6.0g, 11.19mmol)于MeOH (300mL)中的溶液中添加2-巯基乙醇(3.50g, 44.8mmol)和NaOMe (10.08g, 56mmol, 30%,于MeOH中)。将其在60℃下加热16小时,冷却至室温,并添加浓HCl (4mL)。将所得混合物浓缩,并添加水(100mL)和EtOAc (100mL)。分离各层,并用EtOAc (3×100mL)萃取水层。将水层用$NaHCO_3$(固体)碱化至~pH 8并在室温下搅拌1小时。将沉淀物过滤并保持在减压下以得到产物。

[0726] LCMS (ES, m/z): 284.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 10.57 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 6.46 (s, 2H), 5.57 (dd, J = 10.9, 3.9Hz, 2H), 5.12 (t, J = 5.4Hz, 1H), 4.48 (p, J = 4.1Hz, 1H), 3.78-3.53 (m, 3H), 2.11-1.99 (m, 2H).

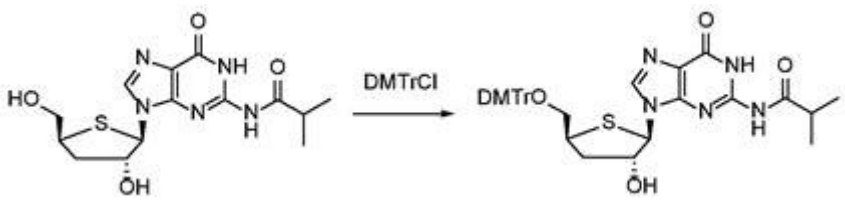
[0727] *步骤10:N-(9-((2R,3R,5S)-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0728] 

[0729] 使2-氨基-9-((2R,3R,5S)-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(580mg, 2.047mmol)与吡啶(3x20mL)共蒸发且然后再溶于吡啶(20mL)中。将混合物冷却至0℃且然后用氯代三甲基甲硅烷(1557mg, 14.33mmol)处理。将其温热至室温并搅拌2小时。然后,将反应物再次冷却至0℃,并逐滴添加异丁酸酐(486mg, 3.07mmol)。将其温热至室温并搅拌2小时。反应通过添加甲醇(5mL)来淬灭。在5分钟之后,添加NH_4OH (约29%, 10mL)。将混合物在室温下搅拌30分钟。然后,将其浓缩并通过用CH_2Cl_2中的10%至20% MeOH洗脱的硅胶上的柱色谱纯化以得到产物。

[0730] LCMS (ES, m/z): 354.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, CD_3OD) δ: 8.40 (s, 1H), 5.83-5.82 (m, 1H), 4.62-4.59 (m, 1H), 3.89-3.80 (m, 2H), 3.79-3.74 (m, 1H), 2.73-2.64 (m, 1H), 2.19-2.11(m, 2H), 1.20 (d, J = 6.8Hz, 6H).

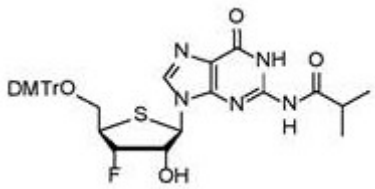
[0731] *步骤11:N-(9-((2R,3R,5S)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0732] 

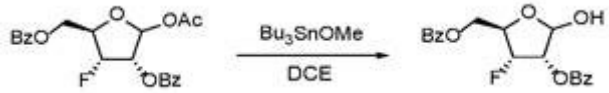
[0733] 使N-(9-((2R,3R,5S)-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(510mg, 1.443mmol)与吡啶(3×5mL)共蒸发且然后再悬浮于吡啶(7mL)中。向悬浮液中添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)双(甲氧基苯)(538mg, 1.587mmol),并将混合物在室温下搅拌2小时。此时,在减压下浓缩混合物,且残余物通过用CH_2Cl_2(含有1% Et_3N)中的1%至4% MeOH洗脱的硅胶上的柱色谱纯化,以得到产物。

[0734] LCMS (ES, m/z): 656.0 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, CD_3OD) δ: 8.02 (s, 1H), 7.51- 7.43 (m, 2H), 7.40-7.17 (m, 7H), 6.91-6.82 (m, 4H), 5.85-5.84 (d, *J* = 2.3Hz, 1H), 4.59-4.57 (m, 1H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.78(s, 6H), 3.52-3.34 (m, 3H), 2.72-2.68 (m, 1H), 1.95-191(m, 1H), 1.38 (d, *J* = 6.8Hz, 6H).

[0735] 制备19:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺

[0736] 

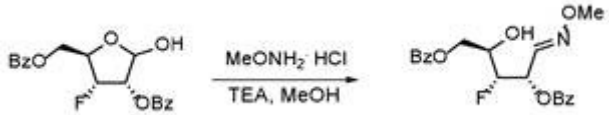
[0737] *步骤1:苯甲酸((2R,3R,4S)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0738] 

[0739] 向苯甲酸((2R,3R,4S)-5-乙酰氧基-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(20.0g, 49.7mmol)于干燥的1,2-二氯乙烷(200mL)中的搅拌溶液中添加三-正丁基甲醇锡(28.8mL, 99mmol)。将所得混合物在80℃下搅拌3小时且然后在真空中浓缩。将残余物在500mL乙酸乙酯中稀释并用饱和NH_4Cl水溶液(500mL)和盐水(500mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并在真空中浓缩。残余物通过用0-40% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱纯化。

[0740] LCMS (ES, m/z): 343.2 $[M+H-H_2O]^+$. ^{1}H NMR (500MHz, 氯仿-*d*) δ 8.18 – 8.00 (m, 7H), 7.68 – 7.57 (m, 3H), 7.61 – 7.35 (m, 7H), 5.73 (dd, *J* = 8.3, 4.6Hz, 1H), 5.65 (dt, *J* = 3.9, 2.0Hz, 1H), 5.54 (t, *J* = 4.7Hz, 0H), 5.50 – 5.40 (m, 2H), 5.36 – 5.24 (m, 1H), 4.87 (dtd, *J* = 25.5, 4.0, 1.5Hz, 1H), 4.74 – 4.46 (m, 4H), 4.15 (q, *J* = 7.2Hz, 1H), 3.39 (d, *J* = 4.1Hz, 1H), 3.30 (dd, *J* = 8.6, 3.4Hz, 1H), 2.07 (s, 2H), 1.41 – 1.23 (m, 3H).

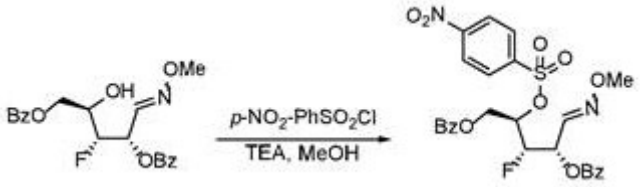
[0741] *步骤2:二苯甲酸(2R,3R,4S)-3-氟-2-羟基-5-(甲氧基亚氨基)戊烷-1,4-二基酯*

[0742] 

[0743] 向苯甲酸((2R,3R,4S)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯(17.9g, 49.7mmol)于干燥MeOH (100mL)中的搅拌溶液中添加O-甲基羟胺盐酸盐(6.23g,

74.6mmol)，随后添加三乙胺(10.39mL，74.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时且然后在真空中浓缩。在500mL乙酸乙酯中稀释残余物并使用NH_4Cl饱和水溶液(500mL)和盐水(500mL)洗涤。将有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并在真空中浓缩。残余物未经进一步纯化即直接用于下一步骤中。LCMS (ES，m/z)：390.2 $[M+H]^+$。

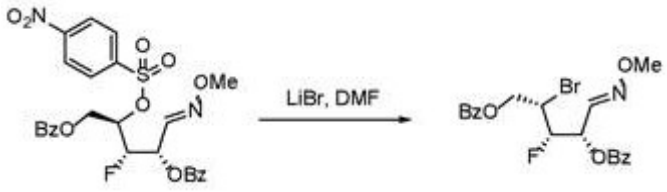
[0744] *步骤3：二苯甲酸(2R,3S,4S)-3-氟-5-(甲氧基亚氨基)-2-(((4-硝基苯基)磺酰基)氧基)戊烷-1,4-二基酯*

[0745] 

[0746] 向二苯甲酸(2R,3R,4S)-3-氟-2-羟基-5-(甲氧基亚氨基)戊烷-1,4-二基酯(19.4g，49.7mmol)于干燥EtOAc(100mL)中的搅拌溶液中添加4-硝基苯磺酰氯(16.5g，74.6mmol)，随后添加三乙胺(10.4mL，74.6mmol)。将反应混合物在室温下搅拌18小时且然后用200mL乙酸乙酯稀释，用水(300mL)和盐水(300mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并在真空中浓缩。残余物通过用0-30% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱纯化。

[0747] LCMS (ES, m/z): 575.3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (500MHz, 氯仿-*d*) δ 8.25 – 7.99 (m, 7H), 7.94 – 7.80 (m, 2H), 7.68 – 7.55 (m, 2H), 7.57 – 7.46 (m, 3H), 7.50 – 7.38 (m, 3H), 6.55 (ddd, *J* = 17.2, 5.3, 2.8Hz, 0H), 5.89 (ddd, *J* = 17.7, 6.2, 4.1Hz, 1H), 5.46 – 5.37 (m, 1H), 5.40 – 5.28 (m, 1H), 5.21 (t, *J* = 4.3Hz, 0H), 4.84 (tdd, *J* = 12.8, 2.6, 1.5Hz, 1H), 4.53 (dddd, *J* = 23.1, 13.0, 7.0, 1.8Hz, 1H), 4.14 (q, *J* = 7.2Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 36.3Hz, 4H), 2.06 (s, 2H), 1.44 – 1.23 (m, 2H).

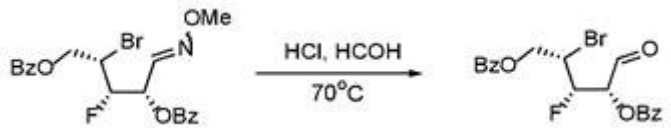
[0748] *步骤4：二苯甲酸(2S,3S,4S)-2-溴-3-氟-5-(甲氧基亚氨基)戊烷-1,4-二基酯*

[0749] 

[0750] 向二苯甲酸(2R,3S,4S)-3-氟-5-(甲氧基亚氨基)-2-(((4-硝基苯基)磺酰基)氧基)戊烷-1,4-二基酯(21.3g，37.1mmol)于干燥DMF (100mL)中的搅拌溶液中添加新开的溴化锂粉末(16.1g，185mmol)。将所得混合物在60℃下搅拌18小时。将反应混合物在300mL乙酸乙酯中稀释并用水(500mL)和盐水(500mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并在真空中浓缩。将残余物通过用0-25% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱纯化以得到产物。

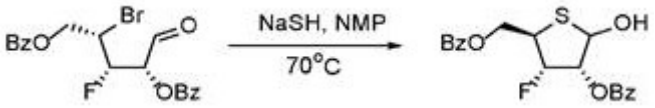
[0751] LCMS (ES, m/z): 452.1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (500MHz, 氯仿-*d*) δ 8.15 – 8.03 (m, 11H), 7.69 – 7.56 (m, 8H), 7.56 – 7.41 (m, 12H), 6.93 – 6.86 (m, 1H), 6.45 (ddd, *J* = 14.7, 5.9, 4.7Hz, 0H), 5.93 (ddd, *J* = 11.8, 6.7, 5.9Hz, 2H), 5.32 (s, 1H), 5.29 – 5.10 (m, 3H), 4.89 – 4.77 (m, 3H), 4.80 – 4.67 (m, 3H), 4.60 – 4.40 (m, 3H), 3.95 (d, *J* = 16.9Hz, 2H), 3.89 (s, 6H), 1.32 – 1.22 (m, 1H).

[0752] *步骤5：二苯甲酸(2S,3S,4S)-2-溴-3-氟-5-氧代戊烷-1,4-二基酯*

[0753] 

[0754] 向二苯甲酸(2S,3S,4S)-2-溴-3-氟-5-(甲氧基亚氨基)戊烷-1,4-二基酯(20.0g, 44.2mmol)于THF (200mL)中的搅拌溶液中添加甲醛(32.9mL, 442mmol)和1N HCl (44.2mL, 44.2mmol)的37%水溶液。将所得混合物在55℃下搅拌5小时。将反应混合物在真空中浓缩以去除大部分THF。将残余物在300mL乙酸乙酯中稀释并用水(300mL)和盐水(300mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并在真空中浓缩。残余物未经进一步纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 423.2 $[M+H]^+$。

[0755] *步骤6:苯甲酸((2R,3S,4R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-羟基四氢噻吩-2-基)甲基酯*

[0756] 

[0757] 在0℃下,向二苯甲酸(2S,3S,4S)-2-溴-3-氟-5-氧代戊烷-1,4-二基酯(18.7g, 44.2mmol)于NMP(150mL)中的搅拌溶液中添加硫氢化钠(5.0g, 89.0mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌30分钟且然后在室温下搅拌30分钟。将反应混合物在300mL乙酸乙酯中稀释并用水(300mL)和盐水(300mL)洗涤。将有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并在真空中浓缩。残余物未经进一步纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 359.2 $[M+H-H_2O]^+$。

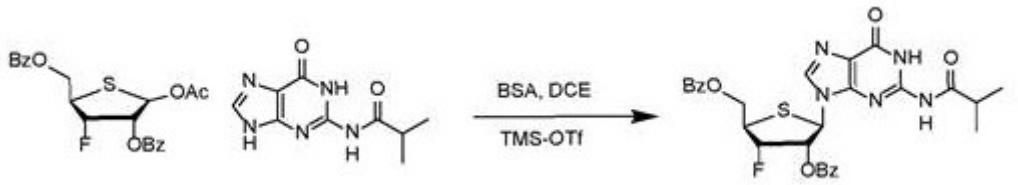
[0758] *步骤6:苯甲酸((2R,3S,4R)-5-乙酰氧基-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢噻吩-2-基)甲基酯*

[0759] 

[0760] 在0℃下,向苯甲酸((2R,3S,4R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-羟基四氢-噻吩-2-基)甲基酯(16.6g, 44.2mmol)于干燥THF (150mL)中的搅拌溶液中添加乙酸酐(8.3mL, 133mmol)和三甲胺(18.5mL, 133mmol)。将所得混合物在0℃下搅拌30分钟且然后在室温下搅拌2小时。反应通过添加MeOH来淬灭,并将反应混合物在真空中浓缩以去除大部分THF。将残余物在300mL乙酸乙酯中稀释并用水(300mL)和盐水(300mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并在真空中浓缩。残余物通过用0-25% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱纯化,以得到产物。

[0761] 氯仿-*d*) δ 8.15 – 8.02 (m, 4H), 7.68 – 7.57 (m, 2H), 7.55 – 7.42 (m, 4H), 6.02 (t, *J* = 2.4Hz, 1H), 5.88 (ddd, *J* = 6.1, 3.6, 2.4Hz, 1H), 5.50 – 5.42 (m, 0H), 5.35 (dd, *J* = 7.3, 3.6Hz, 0H), 5.32 (s, 0H), 4.80 – 4.69 (m, 1H), 4.56 (dd, *J* = 11.6, 5.9Hz, 1H), 4.26 – 4.10 (m, 2H), 2.25 – 2.11 (m, 1H), 2.08 (d, *J* = 10.0Hz, 3H), 1.29 (t, *J* = 7.1Hz, 1H). LCMS (ES, m/z): 441.2 $[M+Na]^+$. ^1H NMR (500MHz,

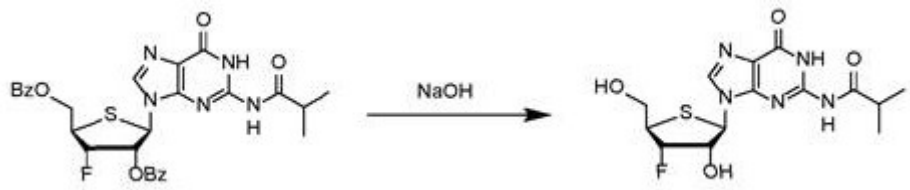
[0762] *步骤7:苯甲酸((2R,3S,4R,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-2-基)甲基酯*

[0763] 

[0764] 向N-(6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(15.86g，71.7mmol)于$ClCH_2CH_2Cl$ (300mL)中的悬浮液中添加(Z)-N-(三甲基甲硅烷基)乙酰亚胺酸三甲基甲硅烷基酯(35.1mL，143mmol)。将悬浮液在70℃下搅拌过夜且然后冷却至-15℃。向该混合物中添加苯甲酸((2R,3S,4R)-5-乙酰氧基-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢噻吩-2-基)甲基酯(10g，23.90mmol)，随后添加TMS-OTf (8.64mL，47.8mmol)。将反应混合物在-15℃下搅拌2小时，然后在室温下搅拌5小时且最后在70℃下搅拌5天。将反应混合物冷却至室温且然后过滤。将滤液用饱和$NaHCO_3$水溶液、盐水洗涤且然后经Na_2SO_4干燥并在真空中浓缩。残余物通过用0-60% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱纯化。随后从EtOAc进行重结晶，得到产物。

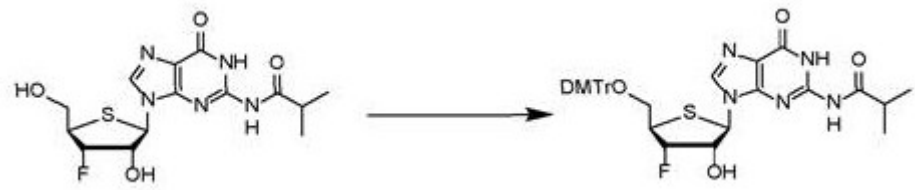
[0765] LCMS (ES, m/z): 580.5 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, 氯仿 -*d*) δ 12.19 (s, 0H), 9.56 (s, 1H), 8.12 – 8.06 (m, 1H), 8.02 – 7.96 (m, 1H), 7.66 (s, 0H), 7.71 – 7.58 (m, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 1H), 7.54 – 7.42 (m, 1H), 6.59 (ddd, *J* = 25.3, 7.4, 3.1Hz, 1H), 6.20 (d, *J* = 7.4Hz, 0H), 5.68 – 5.59 (m, 1H), 4.87 (ddd, *J* = 11.7, 7.7, 1.5Hz, 1H), 4.26 – 4.11 (m, 1H), 2.96 (hept, *J* = 6.8Hz, 1H), 1.38 (dd, *J* = 19.0, 6.9Hz, 3H).

[0766] *步骤8:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0767] 

[0768] 在0℃下，向苯甲酸((2R,3S,4R,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-2-基)甲基酯(0.96g，1.66mmol)于THF (5mL)/MeOH (4mL)/H_2O (1mL)中的溶液中添加2N氢氧化钠(1.8mL，3.6mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌30分钟且然后用乙酸(0.38mL，6.6mmol)中和。将产物通过过滤收集且未经进一步纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES，m/z)：372.3 $[M+H]^+$。

[0769] *步骤9:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

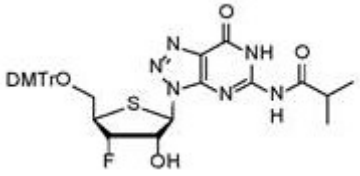
[0770] 

[0771] 在0℃下，向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)-四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(0.62g，1.66mmol)于吡啶(25mL)中的溶

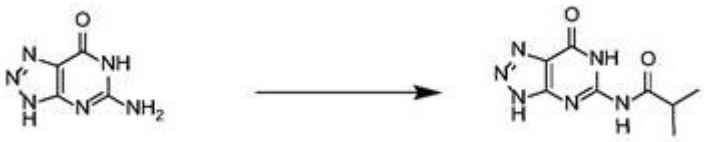
液中添加4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(0.84g, 2.48mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌3小时。反应用H_2O (1mL)淬灭,并浓缩混合物。将残余物在100mL乙酸乙酯中稀释并用饱和$NaHCO_3$水溶液(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并在真空中浓缩。残余物通过用0-100% EtOAc/己烷(含有0.1% Et_3N)洗脱的硅胶柱纯化,以得到产物。

[0772] LCMS (ES, m/z): 674.6 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, 氯仿-*d*) δ 11.96 (s, 0H), 8.35 (s, 0H), 7.70 (s, 0H), 7.63 – 7.56 (m, 1H), 7.50 – 7.43 (m, 2H), 7.38 – 7.24 (m, 1H), 6.93 – 6.85 (m, 2H), 5.92 (d, *J* = 8.3Hz, 0H), 5.35 – 5.23 (m, 1H), 4.15 (q, *J* = 7.1Hz, 1H), 3.85 – 3.69 (m, 3H), 3.46 (dd, *J* = 10.2, 5.4Hz, 0H), 3.35 (dd, *J* = 10.2, 5.2Hz, 0H), 2.09 (d, *J* = 19.4Hz, 2H), 1.34 – 1.22 (m, 2H), 1.01 (d, *J* = 6.8Hz, 1H), 0.91 (d, *J* = 6.9Hz, 1H).

[0773] 制备20:N-(3-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺

[0774] 

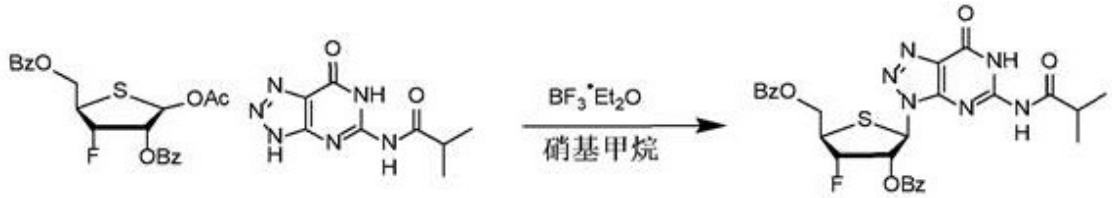
[0775] *步骤1:N-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺*

[0776] 

[0777] 向5-氨基-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮(5.0g, 32.9mmol)于无水DMF(60mL)中的悬浮液中逐滴添加异丁酸酐(12.5mL, 76.0mmol)。将反应混合物在150℃下回流1小时。反应用MeOH (6.6mL, 164mmol)淬灭并在真空中浓缩。将残余物溶于DCM(50mL)/己烷(100mL)中并在室温下剧烈搅拌15分钟。通过过滤收集产物。

[0778] LCMS (ES, m/z): 223.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 16.04 (s, 1H), 12.19 (s, 1H), 11.78 (s, 1H), 2.78 (hept, *J* = 6.7Hz, 1H), 1.13 (d, *J* = 6.8Hz, 6H).

[0779] *步骤2:苯甲酸((2R,3S,4R,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(5-异丁酰胺基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)四氢噻吩-2-基)甲基酯*

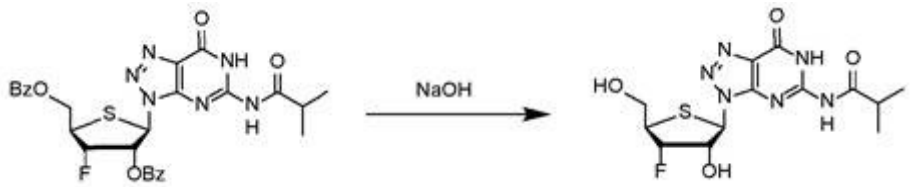
[0780] 

[0781] 向苯甲酸((2R,3S,4R)-5-乙酰氧基-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟四氢噻吩-2-基)甲基酯(1.5g, 3.6mmol)和N-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺(0.96g, 4.3mmol)于硝基甲烷(20mL)中的混合物中添加$BF_3\cdot Et_2O$ (0.54mL, 4.3mmol)

并将所得混合物在100℃和微波辐照下加热1小时。将反应混合物冷却，在100mL乙酸乙酯中稀释并用饱和$NaHCO_3$水溶液(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将有机部分经Na_2SO_4干燥并在真空中浓缩。残余物通过用0-35% EtOAc/己烷洗脱的硅胶柱纯化。

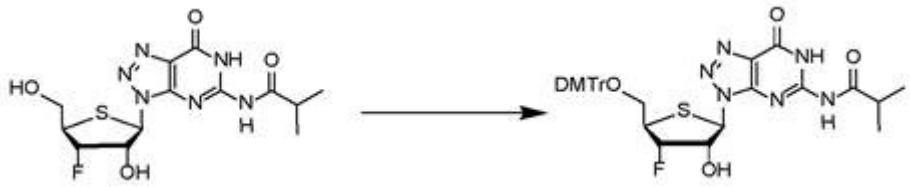
[0782] LCMS (ES, m/z): 581.4 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, 氯仿 -*d*) δ 12.27 (s, 2H), 9.73 (s, 2H), 8.19 – 7.93 (m, 8H), 7.86 – 7.80 (m, 0H), 7.71 – 7.55 (m, 4H), 7.57 – 7.39 (m, 8H), 7.40 – 7.33 (m, 0H), 6.76 (d, *J* = 6.7Hz, 2H), 6.62 – 6.48 (m, 2H), 5.79 (t, *J* = 2.9Hz, 1H), 5.69 (t, *J* = 2.9Hz, 1H), 5.62 – 5.54 (m, 2H), 4.89 (ddd, *J* = 11.6, 7.8, 1.3Hz, 2H), 4.78 – 4.65 (m, 1H), 4.31 – 4.18 (m, 2H), 4.15 (q, *J* = 7.1Hz, 3H), 2.95 (hept, *J* = 6.9Hz, 2H), 2.81 – 2.68 (m, 1H), 2.07 (s, 4H), 1.39 (dd, *J* = 17.5, 6.9Hz, 10H), 1.34 – 1.24 (m, 8H).

[0783] *步骤3:N-(3-((2R,3R,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺*

[0784] 

[0785] 在0℃下，向苯甲酸((2R,3S,4R,5R)-4-(苯甲酰基氧基)-3-氟-5-(5-异丁酰胺基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)四氢噻吩-2-基)甲基酯(4.5g, 7.8mmol)于THF (35mL)/MeOH (28mL)/H (7mL)中的溶液中添加2N氢氧化钠(8.6mL, 17.2mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时且然后用乙酸(2.3mL, 39.0mmol)中和。产物通过过滤收集且未经进一步纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 373.3 $[M+H]^+$。

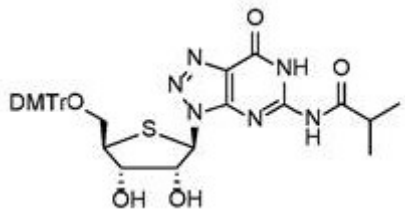
[0786] *步骤4:N-(3-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺*

[0787] 

[0788] 在0℃下，向N-(3-((2R,3R,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)-四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺(1.8g, 4.8mmol)于吡啶(30mL)中的溶液中添加4,4'-二甲氧基三苯甲基氯(1.8g, 5.3mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1小时。反应用H_2O (1mL)淬灭，并浓缩混合物。将残余物在100mL乙酸乙酯中稀释并用饱和$NaHCO_3$水溶液(100mL)和盐水(100mL)洗涤。将分离的有机层经无水Na_2SO_4干燥，过滤，并在真空中浓缩。残余物通过用0-100% EtOAc/己烷(含有0.1% Et_3N)洗脱的硅胶柱纯化，以得到产物。

LCMS (ES, m/z): 675.5 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, 氯仿 -*d*) δ 12.16 (s, 1H), 8.48 (s, 0H), 7.57 – 7.50 (m, 1H), 7.49 – 7.37 (m, 2H), 7.39 – 7.29 (m, 0H), 7.31 (s, 1H), 7.32 – 7.14 (m, 1H), 6.91 – 6.81 (m, 2H), 6.22 – 6.16 (m, 0H), 5.42 – 5.31 (m, 1H), 3.77 (d, *J* = 36.0Hz, 7H), 3.46 (dd, *J* = 10.2, 5.6Hz, 0H), 3.36 (dd, *J* = 10.2, 5.4Hz, 0H), 2.17 (p, *J* = 6.9Hz, 0H), 1.06 (dd, *J* = 26.1, 6.9Hz, 3H).

[0790] 制备21:N-(3-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺

[0791] 

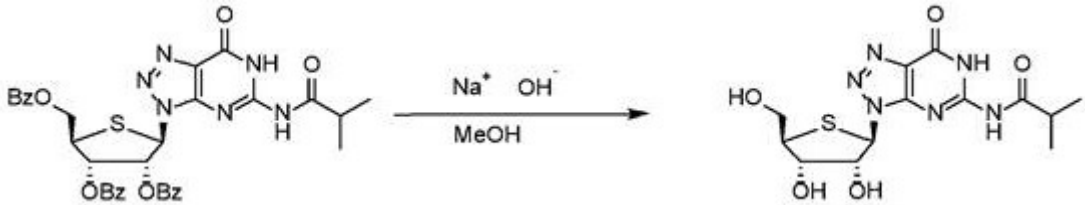
[0792] *步骤1:二苯甲酸(2R,3S,4R,5R)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-5-(5-异丁酰胺基-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)四氢噻吩-3,4-二基酯*

[0793] 

[0794] 在环境温度下,将$BF_3 \cdot OEt_2$ (3.65mL, 28.8mmol)逐滴添加至二苯甲酸(2R,3R,4S,5R)-2-乙酰氧基-5-((苯甲酰基氧基)甲基)四氢噻吩-3,4-二基酯(10.0g, 19.2mmol)和N-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺(5.98g, 26.9mmol)于$MeNO_2$ (180mL)中的混合物中。在添加完成后,将混合物在120℃下在微波反应器中加热45分钟。将样品冷却至室温并在真空中浓缩。残余物通过用EtOAc/异己烷(10-90%)洗脱的快速柱色谱纯化,以得到期望产物。

LCMS (ES, m/z): 683.5 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500MHz, 氯仿 -*d*) δ 12.24 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.08 – 7.95 (m, 4H), 7.94 – 7.87 (m, 2H), 7.70 – 7.35 (m, 9H), 6.84 (d, *J* = 5.9Hz, 1H), 6.67 (dd, *J* = 5.9, 3.9Hz, 1H), 6.49 (t, *J* = 3.7Hz, 1H), 5.52 (dd, *J* = 11.4, 7.8Hz, 1H), 5.04 (dd, *J* = 11.4, 7.8Hz, 1H), 4.28 (m, 1H), 2.97 (hept, *J* = 6.9Hz, 1H), 1.42 (dd, 6.9Hz, 6H).

[0796] *步骤2:N-(3-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺*

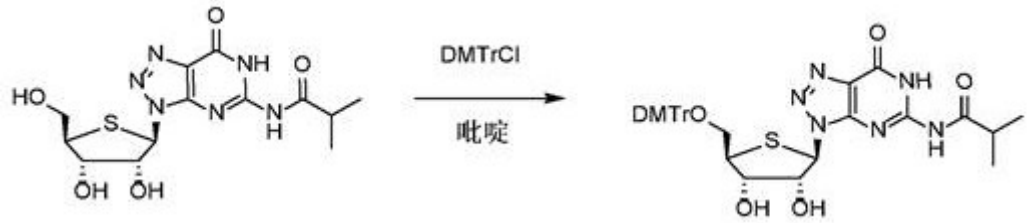
[0797] 

[0798] 在25℃下,向溶于吡啶(8mL)和MeOH (32mL)中的来自步骤1的产物(5.3g,

7.8mmol)的搅拌溶液中以一部分添加氢氧化钠(1.24g，31.1mmol)。将混合物在25℃下搅拌15分钟，然后添加乙酸(1.8mL，31.1mmol)。将混合物在真空中浓缩，且残余物通过用EtOAc/异己烷(70-100%)洗脱的快速柱色谱纯化，以得到期望产物。

[0799] LCMS (ES, m/z): 371.3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 12.24 (s, 1H), 11.96 (s, 1H), 5.91 (d, J = 5.6Hz, 1H), 5.73 (d, J = 5.5Hz, 1H), 5.43 (d, J = 5.0Hz, 1H), 5.12 (m, 1H), 4.81 (m,br, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.89 – 3.77 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.46 – 3.36 (m, 1H), 2.79 (m,1H), 1.14 (dd, J = 6.7, 1.2Hz, 6H).

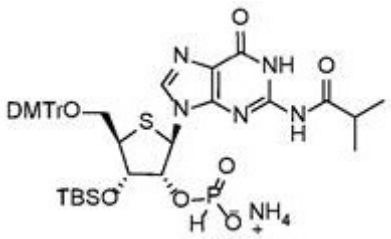
[0800] *步骤3:N-(3-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-5-基)异丁酰胺*

[0801] 

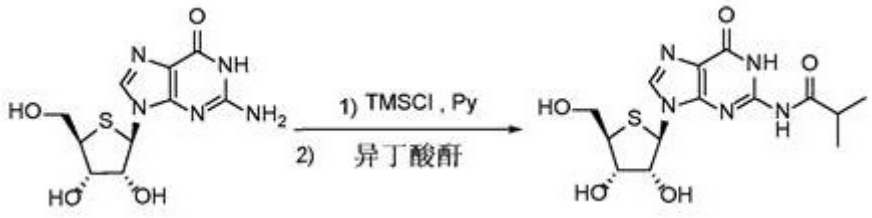
[0802] 在环境温度下，向来自步骤2的产物(2.3g，6.2mmol)中添加吡啶(62mL)。向该混合物中添加DMTrCl (2.3g，6.8mmol)。在1小时之后，添加水(2mL)，并将其在真空中浓缩。添加乙酸乙酯(15mL)、水(5mL)和盐水(1mL)。分离各层，并将水层用乙酸乙酯(20mL×2)萃取两次。将合并的有机物经$MgSO_4$干燥，在真空中浓缩并通过用己烷中的0至80% EtOAc洗脱的快速柱色谱纯化以得到期望产物。

[0803] LCMS (ES, m/z): 673.4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 12.24 (s, 1H), 11.96 (s, 1H), 7.50 – 7.36 (m, 2H), 7.35 – 7.10 (m, 9H), 6.96 – 6.82 (m, 4H), 5.88 (d, J = 4.1Hz, 1H), 5.83 (d, J = 5.1Hz, 1H), 5.42 (d, J = 5.7Hz, 1H), 4.66 (q, J = 4.1Hz, 1H), 4.45 (td, J = 5.9, 3.5Hz, 1H), 3.81 – 3.69 (6H), 3.65 (ddd, J = 8.4, 6.0, 4.3Hz, 1H), 3.46 – 3.35 (m, 1H), 3.19 (dd, J = 9.4, 7.9Hz, 1H), 2.78 (h, J = 6.8Hz, 1H), 1.22 – 1.05 (m, 6H).

[0804] 制备22:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯铵

[0805] 

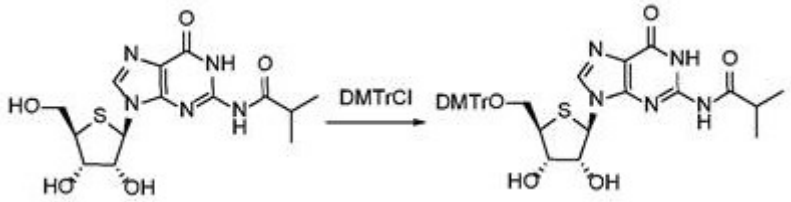
[0806] *步骤1:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0807] 

[0808] 使2-氨基-9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢噻吩-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(1.7g，5.7mmol)与吡啶(3×5mL)共蒸发且然后再溶于吡啶(34mL)中。在0℃下,向混合物中逐滴添加氯代三甲基甲硅烷(4.32g，39.8mmol)。将其在室温下搅拌1小时且然后再次冷却至0℃。逐滴添加异丁酸酐(1.348g，8.52mmol),并将其在室温下搅拌3小时。将其通过添加水(8.5mL)淬灭。在5分钟之后,添加NH_4OH (约29%，17mL),并将混合物搅拌30分钟。将其浓缩并通过用CH_2Cl_2中的1%至30% MeOH洗脱的柱色谱纯化以得到产物。

[0809] LCMS (ES, m/z): 396.9 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 9.52 (br s, 2 H), 8.39 (s, 1H), 5.79 (d, J = 7.1Hz, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.22 (s, 1H), 4.55 (d, J = 6.7Hz, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.77 (t, J = 9.3Hz, 1H), 3.61 (s, 1H), 3.30 (dt, J = 6.4, 3.3Hz, 1H), 2.78 (p, J = 6.9Hz, 1H), 1.13 (d, J = 6.8Hz, 6H).

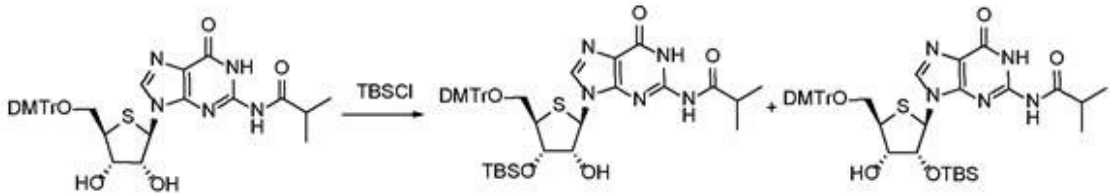
[0810] *步骤2:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0811] 

[0812] 向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)-四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(480mg，1.299mmol)于吡啶(10mL)中的混合物中添加4,4'-(氯(苯基)亚甲基)-双(甲氧基苯)(484mg，1.43mmol)。将其在室温下搅拌16小时且然后浓缩。将粗制物通过用CH_2Cl_2 (含有1% Et_3N)中的1%至30% MeOH洗脱的硅胶上的柱色谱纯化以得到产物。

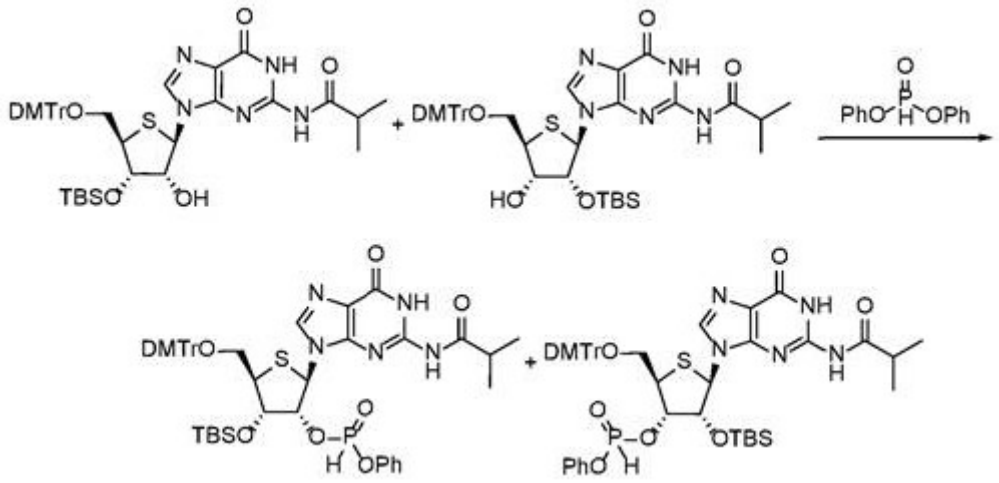
[0813] LCMS (ES, m/z): 672.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6 + D_2O): δ 8.08 (s, 1H), 7.39 (d, J = 7.2Hz, 2H), 7.32 (t, J = 7.6Hz, 2H), 7.26 (dt, J = 9.1, 3.3Hz, 5H), 6.94-6.87 (m, 4H), 5.75 (d, J = 5.9Hz, 1H), 4.39 (dd, J = 5.9, 3.5Hz, 1H), 4.14 (t, J = 3.9Hz, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.49-3.37 (m, 2H), 3.33 (dd, J = 14.5, 7.3Hz, 1H), 2.87-2.67 (m, 1H), 1.11 (dd, J = 6.8, 1.6Hz, 6H).

[0814] *步骤3:N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺和N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺*

[0815] 

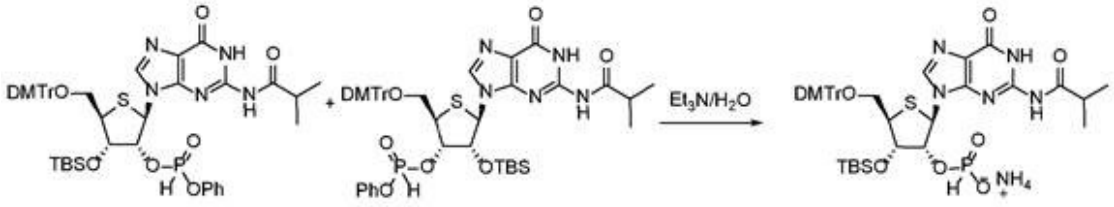
[0816] 在室温下,向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(580mg,0.863mmol)于DMF(5mL)中的溶液中添加1*H*-咪唑(147mg, 2.16mmol)和叔丁基氯代二甲基甲硅烷(156mg, 1.04mmol)。在6小时之后,将混合物用EtOAc(50mL)稀释并用饱和$NaHCO_3$水溶液(2×20mL)和盐水(20mL)洗涤。将其干燥(Na_2SO_4),浓缩,并通过用水中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化以得到产物。LCMS (ES, m/z): 786.3 $[M + H]^+$。

[0817] *步骤4:磷酸(2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯苯基酯和磷酸(2R,3S,4R,5R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯苯基酯*

[0818] 

[0819] 在0℃下,向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)-甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺和N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢噻吩-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺的混合物(220mg, 0.280mmol)于吡啶(2mL)中的溶液中添加磷酸二苯酯(98mg, 0.420mmol)。将所得混合物在室温下搅拌20分钟。其未经纯化即用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 926.2 $[M + H]^+$。

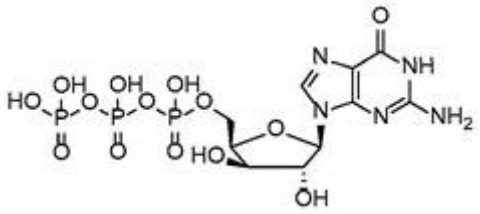
[0820] *步骤5:磷酸(2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯铵*

[0821] 

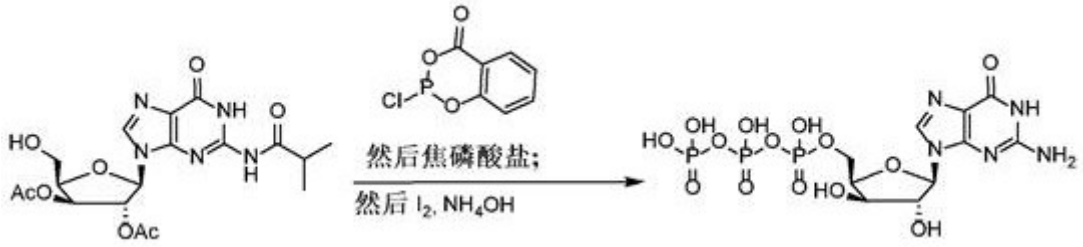
[0822] 在0℃下，向来自步骤4的反应混合物中添加Et_3N (0.28mL, 2.0mmol)和水(0.28mL)。将其在室温下搅拌30分钟。将其浓缩，并将残余物分配于CH_2Cl_2(40mL)和$NaHCO_3$水溶液(5%, 30mL)之间。将有机层用$NaHCO_3$水溶液(5%, 2x30mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，浓缩并通过使用$CHCl_3$ (含有1% Et_3N)中的0-10% MeOH的硅胶柱色谱纯化以得到混合物。将混合物通过用NH_4HCO_3水溶液(10mM)中的46%至79% ACN洗脱的制备型HPLC (XBridge Shield RP18 OBD柱，19×150mm)经7分钟进一步纯化，以得到产物。

[0823] LCMS (ES, m/z): 850.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.18 (s, 1H), 7.68 (s, 0.5H), 7.59-7.49 (m, 2H), 7.45-7.36 (m, 4H), 7.37-7.30 (m, 2H), 7.28-7.22 (m, 1H), 6.95-6.87 (m, 4H), 6.16-6.07 (m, 2H), 4.88-4.87 (m, 1H), 4.69 (dd, *J* = 7.3, 3.3Hz, 1H), 3.81 (s, 6H), 3.51 (dd, *J* = 4.9, 1.9Hz, 2H), 3.37 (s, 1H), 2.67 (p, *J* = 6.9Hz, 1H), 1.21 (dd, *J* = 6.9, 0.9Hz, 6H), 0.77 (s, 9H), 0.01 (s, 3H), -0.28 (s, 3H). ^{31}P-NMR (162MHz, DMSO-d_6): δ -0.74 (s, 1P).

[0824] 制备23:2-氨基-9-[5-*O*-(羟基{[羟基(膦酰基氧基)磷酰基]氧基}-磷酰基)-β-D-呋喃木糖基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮

[0825] 

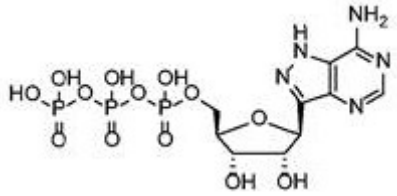
[0826] *步骤1:2-氨基-9-[5-O-(羟基{[羟基(膦酰基氧基)磷酰基]氧基}-磷酰基)-β-D-呋喃木糖基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[0827] 

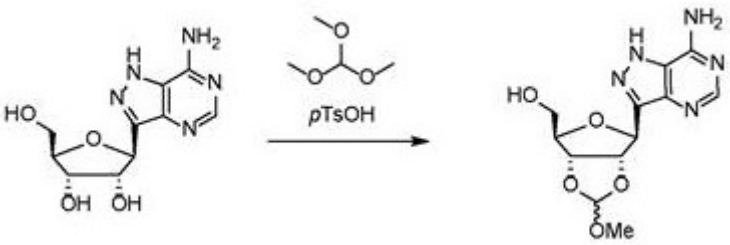
[0828] 向9-(2,3-二-O-乙酰基-β-D-呋喃木糖基)-2-[(2-甲基丙酰基)-氨基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(100mg, 0.229mmol)于吡啶(0.25mL)和1,4-二氧杂环己烷(0.75mL)中的搅拌溶液中添加2-氯-4H-1,3,2-苯并二氧杂磷杂苯(benzodioxaphosphorin)-4-酮(50mg, 0.247mmol)于1,4-二氧杂环己烷(0.25mL)中的新鲜制备的溶液。将反应混合物在环境温度下搅拌10分钟，且然后添加三丁基焦磷酸铵(189mg, 0.344mmol)于DMF(0.69mL)中的溶液，随后在环境温度下以一部分添加三丁胺(0.23mL, 0.968mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌10分钟，且然后添加碘(29.0mg, 0.114mmol)于吡啶(0.50mL)和水(0.05mL)中的溶液。将反应混合物搅拌15分钟，将过量碘用5% $NaHSO_3$水溶液(3mL)淬灭，并将反应混合物蒸

发至干燥。将残余物溶于10mL H_2O中，并在室温下静置30分钟之后，添加28%氢氧化铵水溶液(5mL)。将反应混合物在50℃下搅拌5小时。LCMS指示完全转化成期望产物，并将混合物过滤并冻干。使用质量导向的反相HPLC(具有Waters SunFire C18 OBD Prep柱，100Å，5μm，19mm×150mm，[Waters部件编号186002568]，使用含有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统)纯化产物。产物级分的冻干提供作为四-三乙胺盐的2-氨基-9-[5-*O*-(羟基{[羟基(膦酰基氧基)磷酰基]氧基}磷酰基)-β-D-呋喃木糖基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮。LCMS (ES，m/z)：522 $[M - H]^-$。

[0829] 制备24：三磷酸四氢((2R,3S,4R,5S)-5-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯

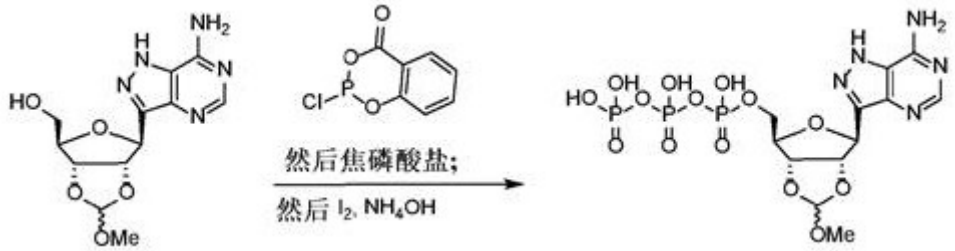
[0830] 

[0831] *步骤1：((3aR,4R,6S,6aS)-6-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2-甲氧基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲醇*

[0832] 

[0833] 在环境温度下，向(2S,3R,4S,5R)-2-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇(30mg，0.105mmol)于1,4-二氧杂环己烷(0.3mL)中的搅拌悬浮液中以一部分添加原甲酸三甲酯(0.22mL，2.011mmol)，随后添加对甲苯磺酸一水合物(22mg，0.116mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌16小时。LCMS指示显著转化成期望产物，并将粗制混合物通过在0℃下添加三乙胺(0.05mL)来小心地淬灭。在浓缩后，将残余物通过使用具有MeOH和CH_2Cl_2的梯度溶剂系统的12克硅胶上的快速柱色谱来纯化。产物级分的浓缩提供((3aR,4R,6S,6aS)-6-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2-甲氧基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲醇。LCMS (ES，m/z)：310 $[M + H]^+$。

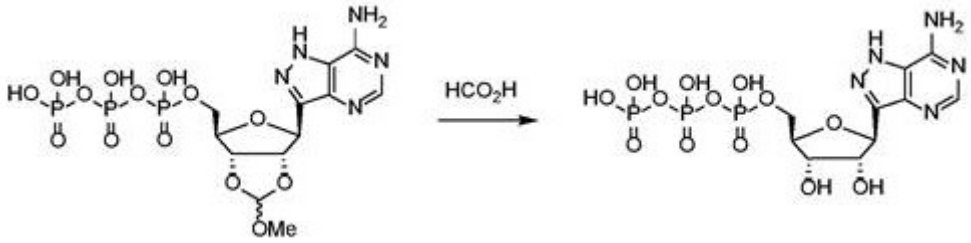
[0834] *步骤2：三磷酸四氢((3aR,4R,6S,6aS)-6-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2-甲氧基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲基酯*

[0835] 

[0836] 向((3aR,4R,6S,6aS)-6-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2-甲氧基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲醇(16mg，0.052mmol)于吡啶(0.05mL)和1,4-

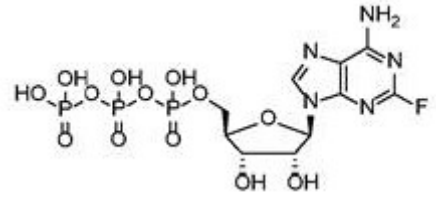
二氧杂环己烷(0.15mL)中的搅拌悬浮液中添加DMF (0.05mL)以形成均质溶液。在环境温度下,向该溶液中添加2-氯-4H-1,3,2-苯并二氧杂磷杂苯-4-酮(12mg, 0.059mmol)于1,4-二氧杂环己烷(0.05mL)中的新鲜制备的溶液。将反应混合物在环境温度下搅拌15分钟,且然后添加三丁基焦磷酸铵(43mg, 0.078mmol)于DMF(0.10mL)中的溶液,随后添加三丁胺(0.052mL, 0.219mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌15分钟,且然后添加碘(6.58mg, 0.026mmol)于吡啶(0.10mL)和水(0.01mL)中的溶液。将反应混合物在环境温度下搅拌15分钟并将过量碘用5% $NaHSO_3$水溶液(0.5mL)淬灭。LCMS指示显著转化成期望产物,且浓缩反应混合物以得到三磷酸四氢((3aR,4R,6S,6aS)-6-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2-甲氧基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲基酯,其未经额外纯化即直接用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 548 [M - H]⁻。

[0837] *步骤3:三磷酸四氢((2R,3S,4R,5S)-5-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯*

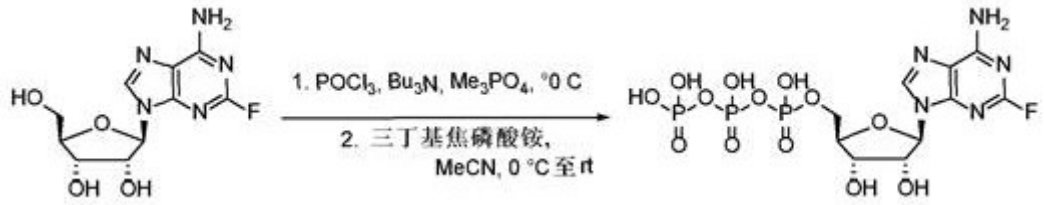
[0838] 

[0839] 向粗制的三磷酸四氢((3aR,4R,6S,6aS)-6-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2-甲氧基四氢呋喃并[3,4-d][1,3]二氧杂环戊烯-4-基)甲基酯(49.4mg, 0.090mmol)于水(0.15mL)和DMF(0.15mL)中的搅拌溶液中以一部分添加甲酸(0.4mL, 10.60mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌18小时。LCMS指示显著转化成期望产物,并将混合物过滤并冻干。使用质量导向的反相HPLC(具有Waters SunFire C18 OBD Prep柱,100Å, 5μm, 19mm×150mm, [Waters部件编号186002568],使用具有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统)纯化产物。产物级分的冻干提供三磷酸四氢((2R,3S,4R,5S)-5-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯。LCMS (ES, m/z): 506 [M - H]⁻。

[0840] 制备25:三磷酸四氢((2R,3S,4R,5R)-5-(6-氨基-2-氟-9H-嘌呤-9-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯

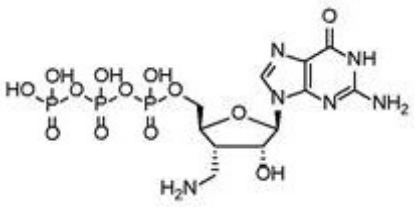
[0841] 

[0842] *步骤1:三磷酸四氢((2R,3S,4R,5R)-5-(6-氨基-2-氟-9H-嘌呤-9-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯*

[0843] 

[0844] 向2-氟腺苷(200mg, 0.701mmol)于磷酸三甲酯(1.948mL, 16.83mmol)中的混合物中添加三丁胺(0.500mL, 2.104mmol),并将混合物在室温下搅拌15分钟且然后在冰/盐水浴中冷却。然后逐滴添加$POCl_3$ (0.137mL, 1.472mmol),且浴温维持在-5℃至0℃。在1.25小时之后,添加三丁基焦磷酸铵(327mg, 0.596mmol)、MeCN(2.8mL)和三丁胺(1.000mL, 4.21mmol)的0℃混合物,并使混合物温热至室温,随后在室温下搅拌16小时。将混合物通过使用含有100mM三乙基乙酸铵水溶液的1-20% MeCN的梯度的反相HPLC直接纯化以提供三磷酸四氢((2R,3S,4R,5R)-5-(6-氨基-2-氟-9H-嘌呤-9-基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯。LCMS (ES, m/z): 524 $[M - H]^-$。

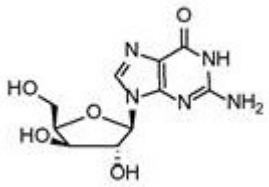
[0845] 制备26:3'-(氨基甲基)-3'-脱氧鸟苷5'-(三磷酸四氢酯)

[0846] 

[0847] 根据所公开的程序(WO2015161137)来制备标题化合物。

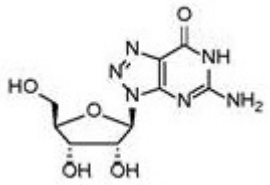
[0848] 使用所示的下述制备或通过类似于制备1-26中所述的那些的额外合成操作来进一步修改。

[0849] 制备27:2-氨基-9-(β-D-呋喃木糖基)-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮

[0850] 

[0851] 根据所公开的程序(*Journal of Medicinal Chemistry* 1987, *30*(6), 982-991)来制备标题化合物。

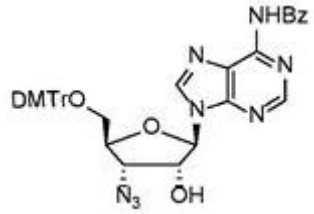
[0852] 制备28:5-氨基-3-(β-D-呋喃核糖基)-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮

[0853] 

[0854] 根据所公开的程序(*Journal of Organic Chemistry* 2007, *72*(1), 173-179)来制备标题化合物。

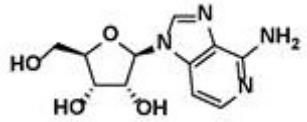
[0855] 制备29:9-{3-叠氮基-5-*O*-[双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲基]-3-脱氧-β-D-呋喃核

糖基}-N-(苯基羰基)-9*H*-嘌呤-6-胺

[0856] 

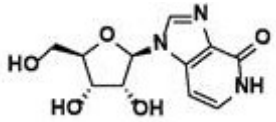
[0857] 根据所公开的程序(*Bulletin of the Korean Chemical Society* 2004, *25*(2), 243-248和*Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* 2005 *24*(10-12), 1707-1727)来制备标题化合物。

[0858] 制备30:1-(β-D-呋喃核糖基)-1*H*-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-胺

[0859] 

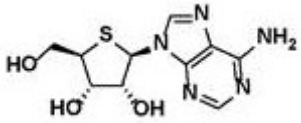
[0860] 根据所公开的程序(*Tetrahedron* 1993, *49*(3), 557-570)来制备标题化合物。

[0861] 制备31:1-(β-D-呋喃核糖基)-1,5-二氢-4*H*-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮

[0862] 

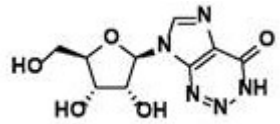
[0863] 根据所公开的程序(*Tetrahedron* 1993, *49*(3), 557-570)来制备标题化合物。

[0864] 制备32:4'-硫代腺苷

[0865] 

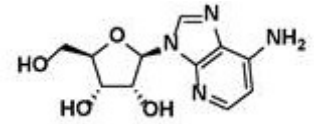
[0866] 根据所公开的程序(*Journal of Medicinal Chemistry* 2006, *49*(5), 1624-1634)来制备标题化合物。

[0867] 制备33:7-(β-D-呋喃核糖基)-3,7-二氢-4*H*-咪唑并[4,5-d][1,2,3]三嗪-4-酮

[0868] 

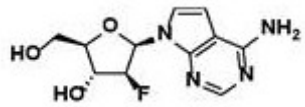
[0869] 根据所公开的程序(*Organic & Biomolecular Chemistry* 2014, *12*(23), 3813-3815)来制备标题化合物。

[0870] 制备34:3-(β-D-呋喃核糖基)-3*H*-咪唑并[4,5-b]吡啶-7-胺

[0871] 

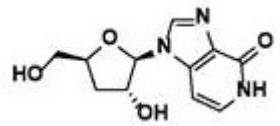
[0872] 根据所公开的程序(*Biochemistry* 2005, *44*(37), 12445-12453)来制备标题化合物。

[0873] 制备35:7-(2-脱氧-2-氟-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-7*H*-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

[0874] 

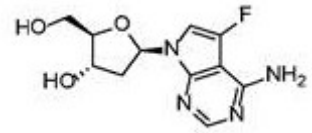
[0875] 根据所公开的程序(*Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* 1995 (12), 1543-50)来制备标题化合物。

[0876] 制备36:1-(3-脱氧-β-D-赤-戊呋喃糖基)-1,5-二氢-4*H*-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮

[0877] 

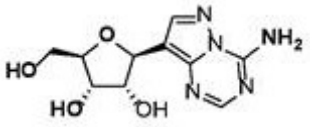
[0878] 根据所公开的程序(*Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1996, *44*(2), 288-295)来制备标题化合物。

[0879] 制备37:7-(2-脱氧-β-D-赤-戊呋喃糖基)-5-氟-7*H*-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

[0880] 

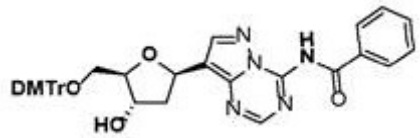
[0881] 根据所公开的程序(*Synthesis* 2006 (12), 2005-2012)来制备标题化合物。

[0882] 制备38:(2S,3R,4S,5R)-2-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇

[0883] 

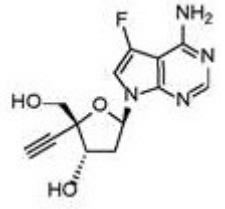
[0884] 根据所公开的程序(WO2015148746)来制备标题化合物。

[0885] 制备39:N-(8-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-4-基)苯甲酰胺

[0886] 

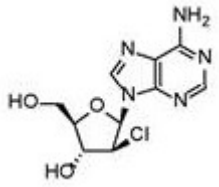
[0887] 根据所公开的程序(WO2015148746)来制备标题化合物。

[0888] 制备40:7-(2-脱氧-4-乙炔基-β-D-赤-戊呋喃糖基)-5-氟-7*H*-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

[0889] 

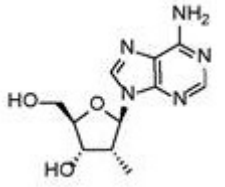
[0890] 根据所公开的程序(WO2015148746)来制备标题化合物。

[0891] 制备41:9-(2-氯-2-脱氧-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-9H-嘌呤-6-胺

[0892] 

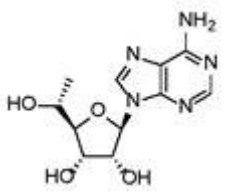
[0893] 根据所公开的程序(*Journal of the American Chemical Society* 1996, *118* (46), 11341-11348)来制备标题化合物。

[0894] 制备42:2'-脱氧-2'-甲基腺苷

[0895] 

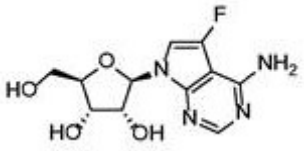
[0896] 根据所公开的程序(*Synthesis* 2005 (17), 2865-2870)来制备标题化合物。

[0897] 制备43:(2R,3R,4S,5R)-2-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-5-((R)-1-羟基乙基)四氢呋喃-3,4-二醇

[0898] 

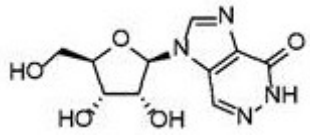
[0899] 根据所公开的程序(*Bioorganicheskaya Khimiya* 1989, *15*(7), 969-975)来制备标题化合物。

[0900] 制备44:5-氟-7-(β-D-呋喃核糖基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-胺

[0901] 

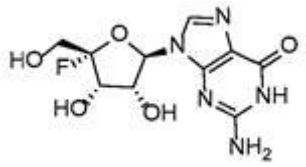
[0902] 根据所公开的程序(*Nucleosides, Nucleotides, & Nucleic Acids* 2004, *23* (1-2), 161-170)来制备标题化合物。

[0903] 制备45:1-(β-D-呋喃核糖基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-4-酮

[0904] 

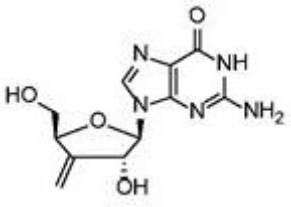
[0905] 根据所公开的程序(*Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry (1972-1999)*, 1989 (10), 1769-1774)来制备标题化合物。

[0906] 制备46:2-氨基-9-[(2R,3R,4S,5S)-5-氟-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

[0907] 

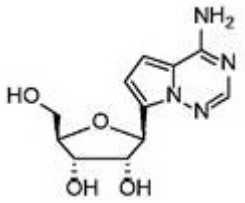
[0908] 根据所公开的程序(WO2014099941)来制备标题化合物

[0909] 制备47:2-氨基-9-((2R,3R,5S)-3-羟基-5-(羟基甲基)-4-亚甲基四氢呋喃-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

[0910] 

[0911] 根据所公开的程序(*Journal of Medicinal Chemistry* 1992, *35*, 2283-2293)来制备标题化合物

[0912] 制备48:(2S,3R,4S,5R)-2-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇

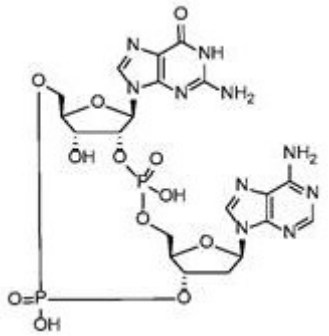
[0913] 

[0914] 根据所公开的程序(*Tetrahedron Letters* 1994, *35*(30), 5339)来制备标题化合物。

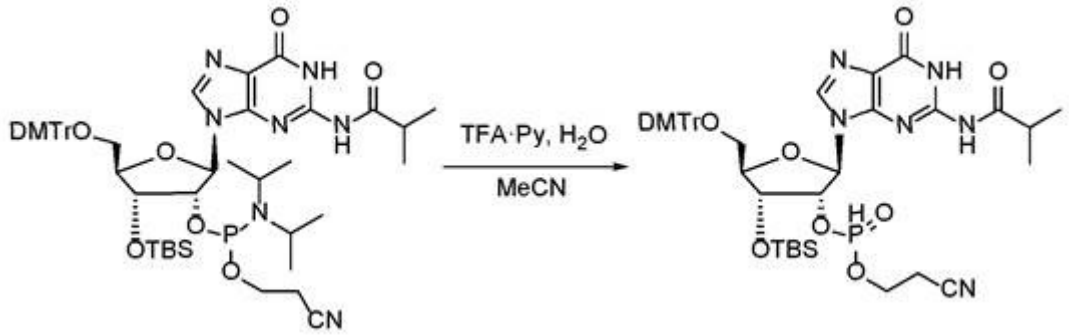
[0915] 下列实验程序详述本公开的具体实施例的制备。所述诸实施例的化合物以其中性形式绘制于下文的程序和表格中。在一些情况下,根据用于其最终纯化的方法和/或固有分子性质,化合物作为盐分离。所述诸实施例仅用于说明性目的且并不意欲以任何方式限制本公开的范围。

实施例

[0916] 实施例1:(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二氧化物

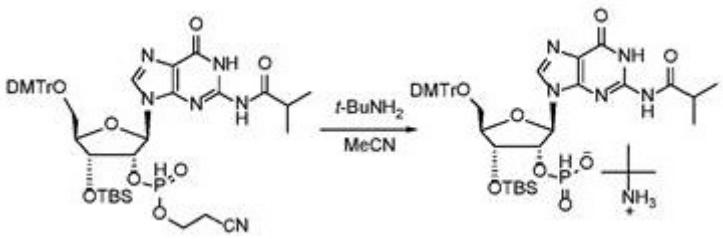
[0917] 

[0918] *步骤1:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯*

[0919] 

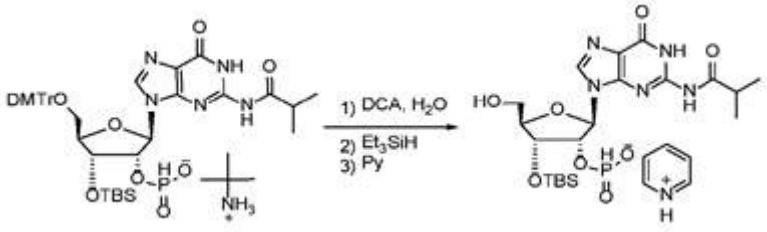
[0920] 向二异丙基亚磷酰胺(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(3g, 3.09mmol)于ACN (15mL)中的溶液中添加水(0.111mL, 6.18mmol)和2,2,2-三氟乙酸吡啶-1-鎓(0.717, 3.71mmol)。在室温下搅拌所得混合物,并通过LCMS/TLC监测反应进展。在亚磷酰胺消耗之后,含有产物的反应混合物未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 887.4 $[M + H]^+$。

[0921] *步骤2:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯2-甲基丙-2-胺鎓(aminium)*

[0922] 

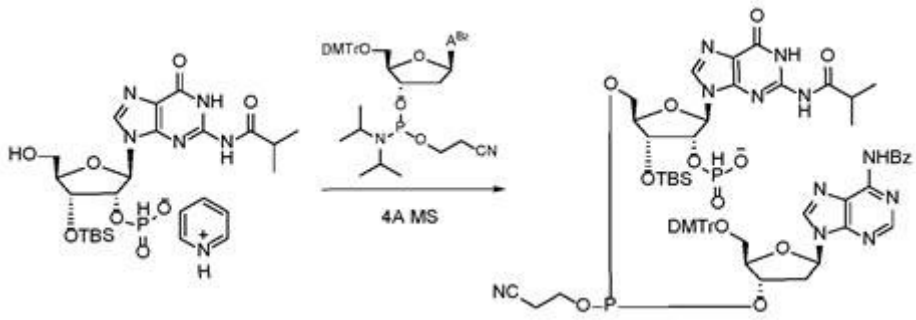
[0923] 向来自步骤1的反应混合物(假设含有3.09mmol膦酸(2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢嘌呤-9-基)-四氢呋喃-3-基酯2-氰基乙基酯)中以一部分添加叔丁胺(15.0mL, 142mmol),并将所得溶液在室温下搅拌40分钟。将其浓缩,并使残余物与ACN (2×15mL)共蒸发以得到产物,其未经进一步纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 832.3 $[M - H]^-$。

[0924] *步骤3:膦酸(2R,3R,4R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯吡啶-1-鎓*

[0925] 

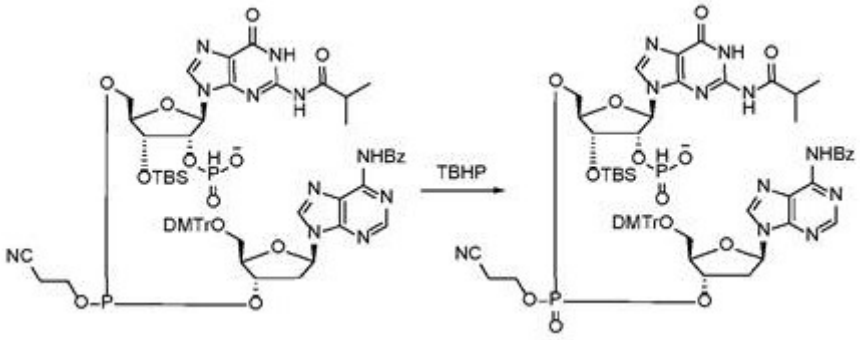
[0926] 向粗制的膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯2-甲基丙-2-胺鎓(~4.2g，~3.09mmol，来自步骤2)于CH_2Cl_2 (37mL)中的搅拌溶液中添加水(0.558mL，31.0mmol)和CH_2Cl_2中的二氯乙酸(6%，37mL，31.5mmol)。将其搅拌40分钟。然后，添加三乙基甲硅烷(60mL)，并将溶液搅拌1.5小时。向反应物中添加吡啶(4.5mL)。将其浓缩。用MTBE(50ml)和己烷(50mL)研磨残余物，并倾析上清液。将该过程重复两次。将粗制混合物在减压下经P_2O_5保持20小时以得到含有产物的粗制混合物。LCMS (ES，m/z)：532.2 $[M + H]^+$。

[0927] *步骤4:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基(phosphanyl))氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0928] 

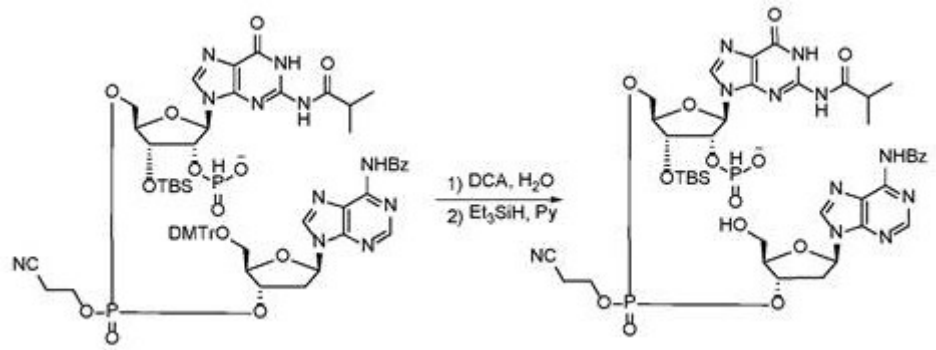
[0929] 在Ar下，向膦酸(2R,3R,4R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯吡啶-1-鎓(680mg，粗制物，~0.722mmol)于ACN (5mL)中的搅拌溶液中添加活化的4Å分子筛(100mg)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟。使二异丙基亚磷酰胺(2*R*,3*S*,5*R*)-5-(6-苯甲酰胺基-9*H*-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(0.805g，0.939mmol)与ACN (3×1mL)共蒸发，再溶于ACN (5mL)中，并通过添加活化的4Å分子筛(100mg)干燥。在30分钟之后，将其添加至先前制备的含有膦酸(2R,3R,4R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯吡啶-1-鎓的混合物中。将混合物在室温下搅拌1小时。含有产物的反应混合物未经纯化即立即用于下一反应步骤中。LCMS (ES，m/z)：1288.4 $[M + H]^+$。

[0930] *步骤5:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0931] 

[0932] 向含有粗制的膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(~1mmol，含有过量的2,2-二氯乙酸吡啶鎓)的反应混合物中逐滴添加癸烷中的叔丁基氢过氧化物(5.5M，0.64mL，3.5mmol)。将其在室温下搅拌1小时。然后，将溶液冷却至0℃，并缓慢添加水(5mL)中的$NaHSO_3$ (250mg)。在5分钟之后，浓缩混合物，且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的5%至45% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化，以得到产物。LCMS (ES，m/z)：1305.6 $[M + H]^+$。

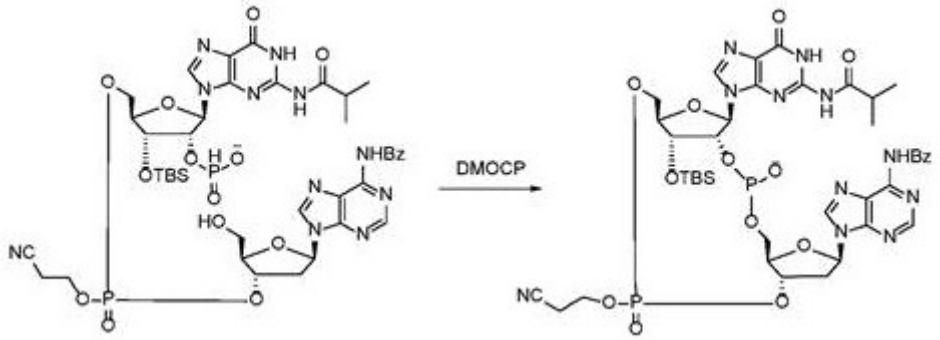
[0933] *步骤6：膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0934] 

[0935] 向膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(340mg，0.239mmol)于CH_2Cl_2 (4mL)中的搅拌溶液中添加水(44.5mg，2.468mmol)和CH_2Cl (5ml)中的二氯乙酸(0.280g，2.17mmol)。将其在室温下搅拌30分钟。然后添加Et_3SiH (4mL)，并将混合物搅拌1.5小时。向反应物中添加吡啶(3mL)，并将其浓缩以得到粗产物，其未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES，m/z)：1002.4 $[M + H]^+$。

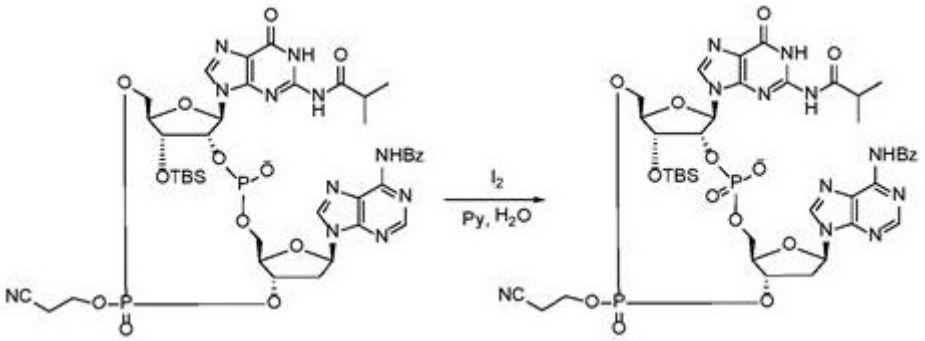
[0936] *步骤7：(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,*

2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-氧化物

[0937] 

[0938] 使粗制的膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(1.5g, ~0.24mmol)与吡啶(3×5mL)共蒸发且然后再溶于吡啶(4mL)中。向反应物中以一部分添加2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷2-氧化物(160mg, 0.865mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。其未经纯化即直接用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 984.3 $[M + H]^+$。

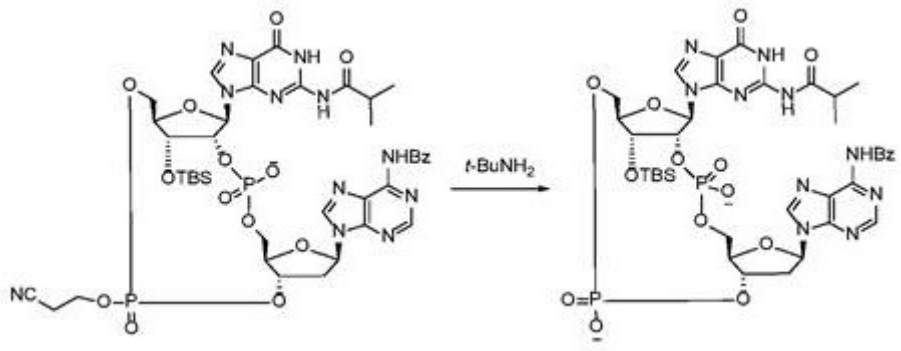
[0939] *步骤8:(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2,10-二氧化物*

[0940] 

[0941] 向含有(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-氧化物的搅拌混合物中添加水(156mg, 8.65mmol)和碘(81mg, 0.321mmol)。在10分钟之后,将混合物倒入$NaHSO_3$ (52mg)于水(36ml)中的溶液中,并将其搅拌5分钟。将其冷却至0℃,并缓慢添加$NaHCO_3$(1.04g)。在5分钟之后,添加EtOAc(50mL)和Et_2O (50ml)。分离各层,并用EtOAc (1×30ml)萃取水层。合并有机层,浓缩,并通过用CH_2Cl_2中的0-20% MeOH洗脱的硅胶柱色谱纯化以得到产物。LCMS (ES, m/z): 998.3 $[M + H]^+$。

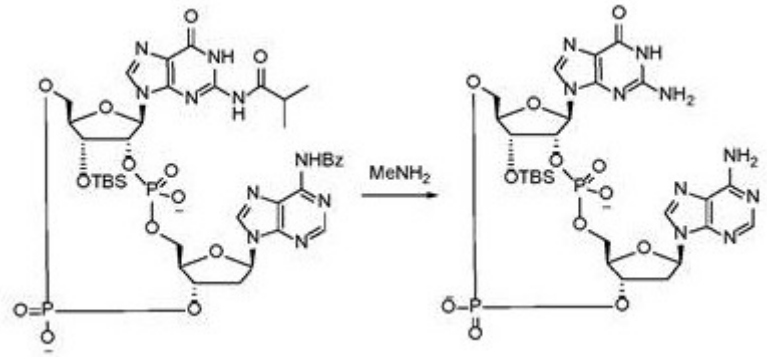
[0942] *步骤9:(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷*

杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二氧化物

[0943] 

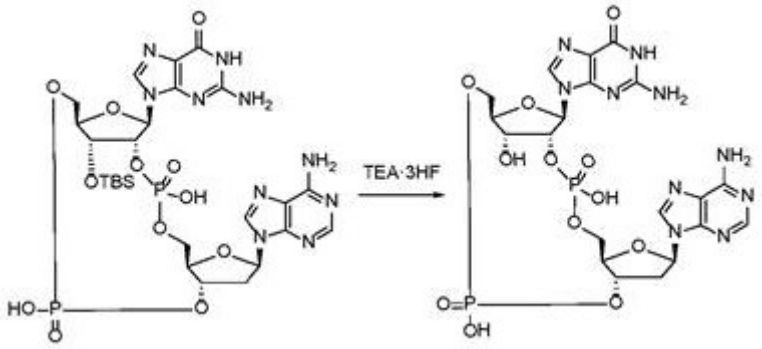
[0944] 在室温下,向(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2,10-二氧化物(160mg)于ACN (2mL)中的搅拌溶液中添加叔丁胺(2mL)。在30分钟之后,将其浓缩以得到粗产物,其未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 945.2 $[M+H]^+$。

[0945] *步骤10:(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二氧化物*

[0946] 

[0947] 将粗制的(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二氧化物(220mg)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 4mL)中,并将其在室温下搅拌5小时。然后,在减压下去除挥发性组分以得到粗产物,其未经纯化即用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 773.2 $[M + H]^+$ and 771.3 $[M - H]^-$。

[0948] *步骤11:(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二氧化物*

[0949] 

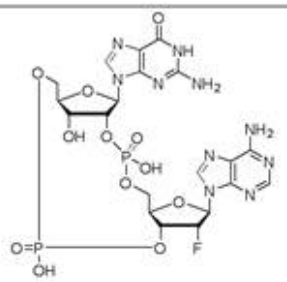
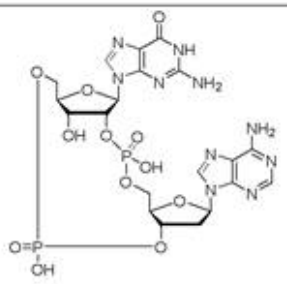
[0950] 使来自步骤10的粗制物与吡啶(2.5ml)和Et_3N (2.5mL)共蒸发三次。将其溶于吡啶(2mL)中。向溶液中逐滴添加Et_3N (1.51g, 14.9mmol)和三乙胺三氢氟化物(1.2g, 7.45mmol)。将混合物在50℃下加热5小时。然后,将其浓缩并通过用NH_4HCO_3水溶液(50mM)中的0至10% ACN洗脱的制备型HPLC(T3 Prep柱,100Å, 5μm, 19mm×250mm)纯化以得到产物。

[0951] LCMS (ES, m/z): 657.1 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR: (300MHz, DMSO-d_6 + D_2O): δ 8.35 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 6.34 (dd, J = 8.8, 5.9Hz, 1H), 5.85 (d, J = 8.3Hz, 1H), 5.12-4.98 (m, 2H), 4.36 (d, J = 3.9Hz, 1H), 4.22 (t, J = 7.2Hz, 1H), 4.09 (s, 1H), 3.96-3.79 (m, 4H), 3.09-2.99 (m, 1H), 2.64-2.51 (m, 1H). ^{31}P-NMR: (121MHz, DMSO-d_6 + D_2O): δ -1.65 (s), -2.36 (s).

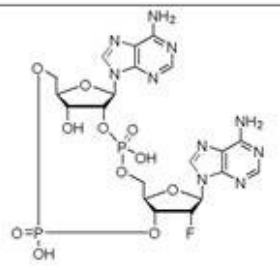
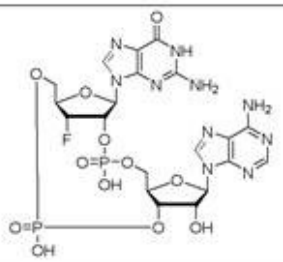
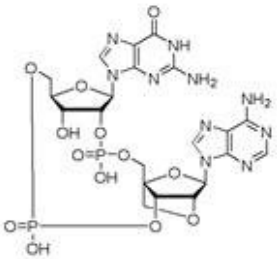
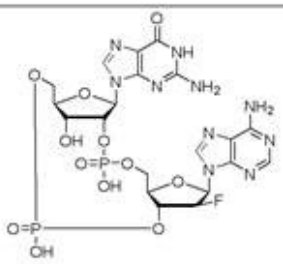
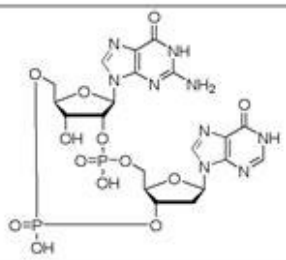
[0952] 根据类似于上文实施例1中所概述的程序的程序使用适当的核苷单体(如诸制备中所述或如从商业来源中所获得)来制备下表1中所示的实施例2至19。

[0953] 表1

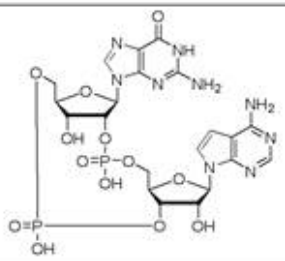
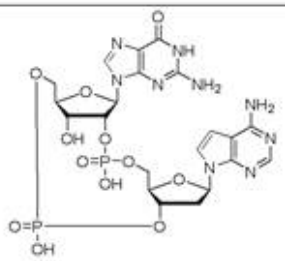
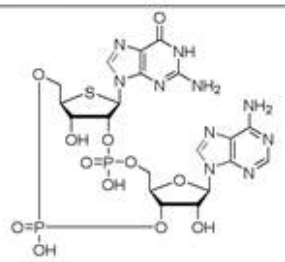
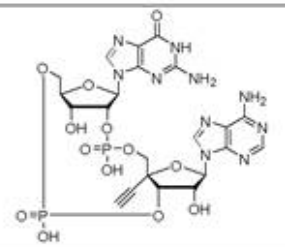
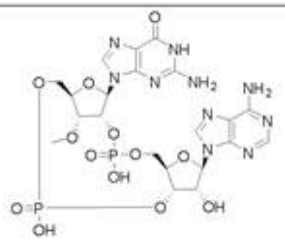
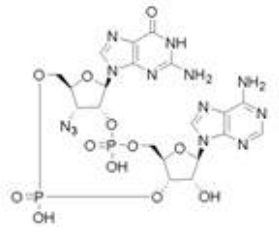
[0954]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]$^-$
2		(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	675
3		(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-7,14-双(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	657

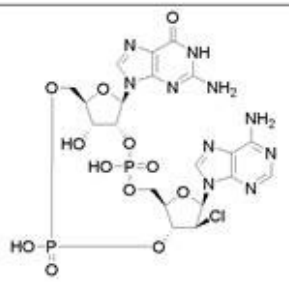
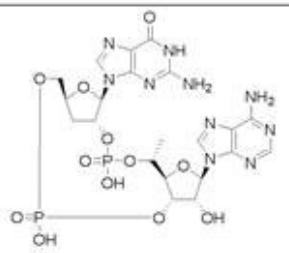
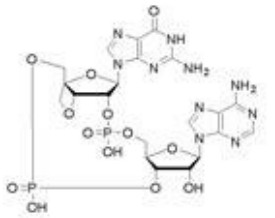
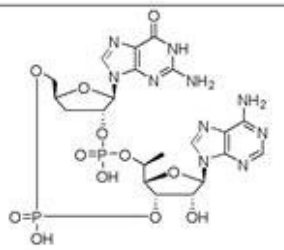
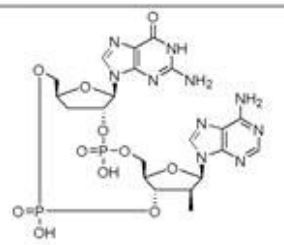
[0955]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
4		(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7,14-双(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	659
5		(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-15-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	675
6		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,18*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-18-羟基六氢-14*H*-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10(12*H*)-二醇盐 2,10-二氧化物	685
7		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	675
8		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15a*S*,16*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-16-羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	660 $[M+H]^+$

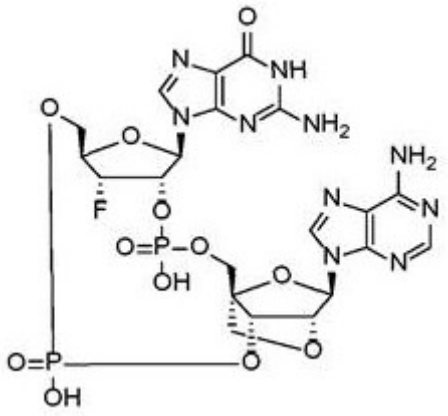
[0956]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
9		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(4-氨基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-7-基)-15,16-二羟基八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	672
10		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15a*S*,16*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(4-氨基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-7-基)-16-羟基八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	656
11		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*S*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二羟基八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	689
12		(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-15,16-二羟基八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐 2,10-二氧化物	699 $[M+H]^+$
13		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-16-甲氧基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	687
14		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-叠氮基-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	698

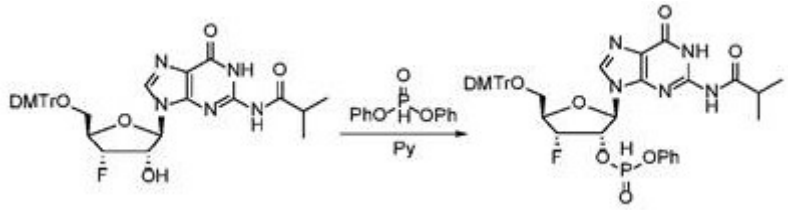
[0957]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
15		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氯-2,10,16-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	691
16		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-12-甲基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	671
17		2-氨基-9-[(2aR,5S,6aS,7R,8R,9aR,12S,14R,14aS,15R)-8-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-5,7,12-三羟基-5,12-二氧化六氢-6aH-2a,14-(环氧基桥亚甲基)呋喃并[3,2-d]氧杂环丁并[2,3-k][1,3,7,9,2,8]四氧杂二磷杂十三熳环-15(2H,3H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	685
18		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12S,12aS,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-12-甲基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	671
19		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-15-甲基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	655

[0958] 实施例20：(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,18*R*)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-18-氟六氢-14*H*-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10(12*H*)-二醇盐2,10-二氧化物

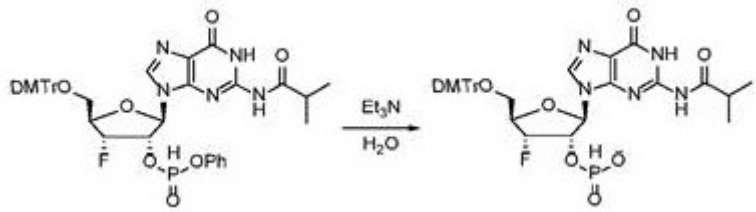
[0959] 

[0960] *步骤1:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯苯基酯*

[0961] 

[0962] 在Ar下,向N-(9-((2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(1g,1.520mmol)于吡啶(7.6mL)中的搅拌溶液中添加膦酸二苯酯(1.068g, 4.56mmol),并将其在室温下搅拌20分钟。含有产物的反应混合物未经纯化即用于下一反应步骤中。

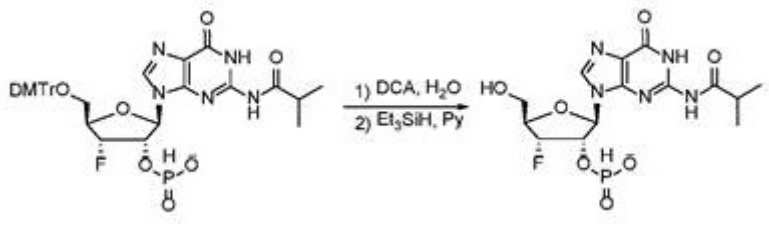
[0963] *步骤2:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0964] 

[0965] 向来自步骤1的反应混合物中添加水(1.5ml)和Et_3N (1.5mL)。将混合物在室温下搅拌20分钟。然后,将其浓缩,并将残余物分配于CH_2Cl_2 (50mL)和$NaHCO_3$水溶液(5%, 20mL)之间。分离各层。将有机层用$NaHCO_3$水溶液(5%, 2×20mL)洗涤,干燥(Na_2SO_4),浓缩并通过使用CH_2Cl_2 (1% Et_3N)中的0至7% MeOH的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

[0966] LCMS (ES, m/z): 722 $[M+H]^+$. ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 2.73 (s, 1P).

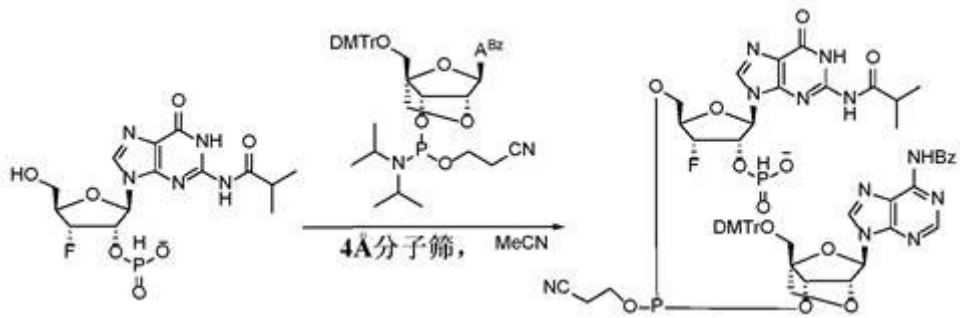
[0967] *步骤3:膦酸(2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0968] 

[0969] 向步骤2的产物(0.9g，0.999mmol)于CH_2Cl_2 (6mL)中的搅拌溶液中添加水(0.180g，9.99mmol)和CH_2Cl_2 (10ml)中的2,2-二氯乙酸(1.16g，8.99mmol)。将混合物在室温下搅拌15分钟。添加Et_3SiH (10mL)，并将其搅拌1小时。然后，添加吡啶(2mL)，并将其浓缩。残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的0至30% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化，以得到产物。

[0970] LCMS (ES, m/z): 722 [M - H]$^-$. 417.9. ^{1}H-NMR: (400MHz, CD_3OD): δ 8.31 (s, 1H), 7.49 (d, J = 1.6Hz, 0.5H), 6.15 (d, J = 6.8Hz, 1H), 5.91 (d, J = 1.6Hz, 0.5H), 5.42-5.32 (m, 1.5H), 5.21 (dd, J = 4.5, 1.9Hz, 0.5H), 4.45-4.32 (m, 1H), 3.81 (d, J = 3.5Hz, 2H), 3.20 (q, J = 7.4Hz, 1H), 2.73 (p, J = 6.9Hz, 1H), 1.30 (t, J = 7.3Hz, 1.5H), 1.23 (d, J = 6.9Hz, 6H). ^{19}F-NMR: (376MHz, CD_3OD): δ -200.96 (s, 1F). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 2.41 (s, 1P).

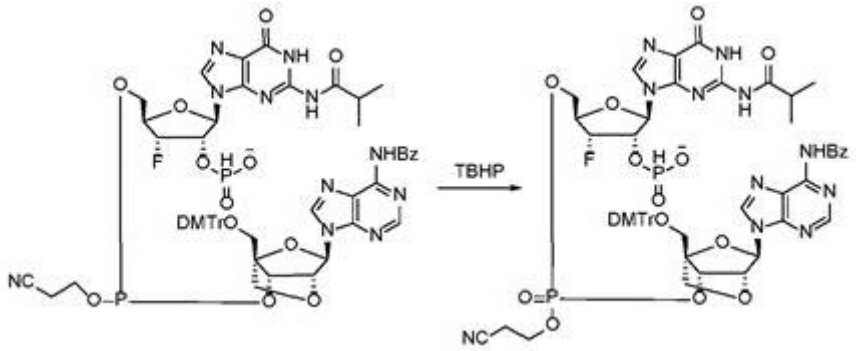
[0971] *步骤4:磷酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0972] 

[0973] 使磷酸(2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(600mg，0.676mmol)与ACN (3×5mL)共蒸发，再溶于ACN (3mL)中，通过添加活化的4Å分子筛(150mg)进行干燥并保持于Ar下。使二异丙基亚磷酰胺(1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基酯(2-氰基乙基)酯(可得自Exiqon (EQ-0063-1000)，235.5mg，0.56mmol)和2,2,2-三氟乙酸吡啶鎓(162mg，0.84mmol)与ACN (3×5mL)共蒸发，再溶于ACN (5mL)中，并通过添加活化的4Å分子筛(150mg)进行干燥。在30分钟之后，将其添加至先前制备的含有磷酸(2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯的混合物中。将混合物在室温下搅拌1小时。含有产物的反应混合物未经纯化即立即用于下一反应步骤中。LCMS (ES，m/z)：1202.3 [M - H]$^-$。

[0974] *步骤5:磷酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-*

9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯

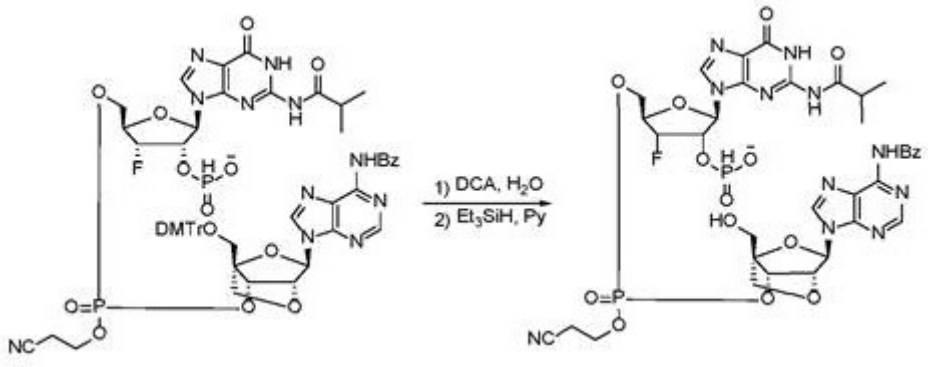
[0975] 

[0976] 向来自步骤4的搅拌的反应混合物中逐滴添加癸烷中的叔丁基氢过氧化物(5.5M, 0.31mL, 1.71mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时。在30分钟之后,将溶液冷却至0℃,并缓慢添加水(5mL)中的$NaHSO_3$ (150mg)。在5分钟之后,浓缩混合物,且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的0至75% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

LCMS

[0977] (ES, m/z): 1220.1 $[M+H]^+$. ^{19}F-NMR (376MHz, CD_3OD): δ -200.38, -202.45 (2s, 1F). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 2.57, 2.49 (2s, 1P); -3.52, -4.21 (2s, 1P).

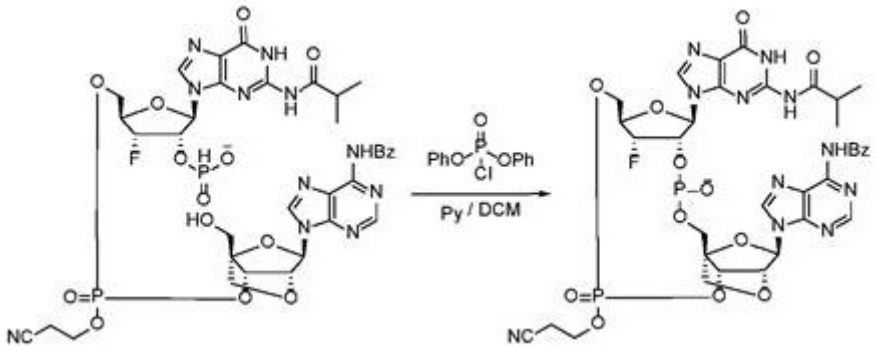
[0978] *步骤6:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((1S,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-(羟基甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[0979] 

[0980] 向膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(190mg, 0.16mmol)于CH_2Cl_2(2.5mL)中的溶液中添加水(28.8mg, 1.6mmol)和CH_2Cl_2中的二氯乙酸(0.6M, 2.5mL)。将混合物在室温下搅拌10分钟,且然后添加Et_3SiH (4.5mL)。在1小时之后,添加吡啶(0.5mL)。在10分钟之后,浓缩所得混合物以得到产物,其未经纯化即用于下一反应步骤中。

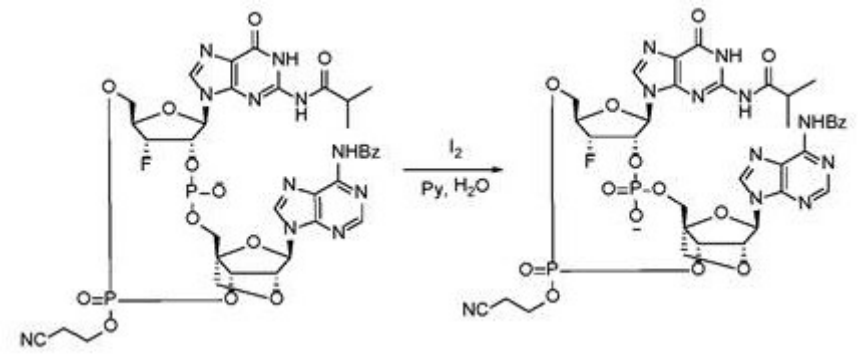
[0981] LCMS (ES, m/z): 917.9 $[M+H]^+$. ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 2.51, 2.34 (2s, 1P); -3.46, -3.82 (2s, 1P).

[0982] *步骤7：(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-2-(2-氰基乙氧基)-18-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2,10-二氧化物*

[0983] 

[0984] 在Ar下，向吡啶(16mL)中添加氯代磷酸二苯酯(0.66mL，3.2mmol)。将其在-40℃下冷却且然后经20分钟逐滴添加来自步骤6的粗制物于CH_2Cl_2中的溶液(16mL)。将所得混合物在-40℃下搅拌40分钟。反应混合物未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES，m/z)：898.2 $[M-H]^-$。

[0985] *步骤8：(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-2-(2-氰基乙氧基)-18-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2,10-二氧化物[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10(12H)-二醇盐2,10-二氧化物*

[0986] 

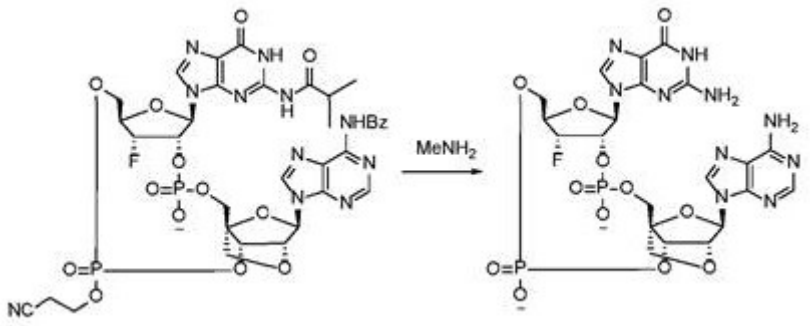
[0987] 在0℃下，经5分钟向来自步骤7的溶液中添加吡啶/水(9/1)中的I_2 (3%，1.76mL)。将混合物在室温下搅拌40分钟。然后，将其用$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (150mg)于水(2mL)中的溶液处理。在5分钟之后，在减压下浓缩混合物。将残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的0至45% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化，以得到产物。

LCMS (ES, m/z): 915.8 $[M+H]^+$.

[0988] ^{19}F-NMR (376MHz, CD_3OD): δ -198.70, -203.36 (2s, 1F). ^{31}P-NMR (162MHz, CD_3OD): δ -0.96, -1.75 (2s, 1P); -3.64, -4.71 (2s, 1P).

[0989] *步骤9：(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10(12H)-二醇盐2,*

10-二氧化物

[0990] 

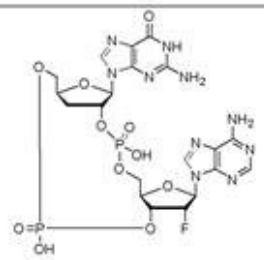
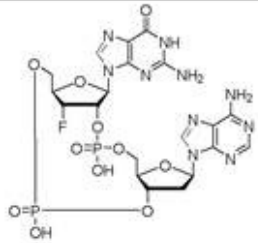
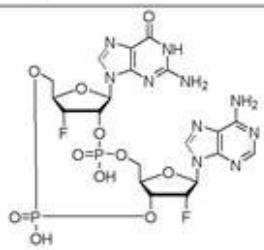
[0991] 将(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-2-(2-氰基乙氧基)-18-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2,10-二氧化物(110mg, 0.12mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 15mL)中,并将所得溶液在室温下搅拌3小时。然后,将其浓缩,并将残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(50mM)中的0至9% ACN洗脱的制备型HPLC(Atlantis Prep T3柱,19×250mm)纯化,以得到产物。

[0992] LCMS (ES, m/z): 686.9 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR (400MHz, D_2O): δ 8.14 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.99 (d, J = 8.5Hz, 1H), 5.84-5.66 (m, 1H), 5.44 (d, J = 3.6Hz, 0.5H), 5.31 (d, J = 3.6Hz, 0.5H), 4.96 (d, J = 3.9Hz, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.65-4.53 (m, 1H), 4.33-4.15 (m, 4H), 4.10 (d, J = 8.2Hz, 1H), 3.96 (d, J = 8.2Hz, 1H). ^{19}F-NMR (376MHz, D_2O): δ -199.02 (s, 1F). ^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ -1.89 (s, 1P), -2.49 (s, 1P).

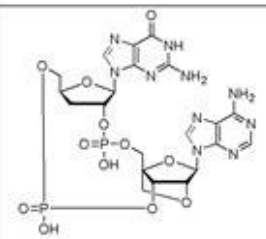
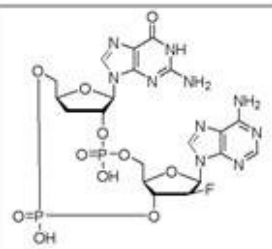
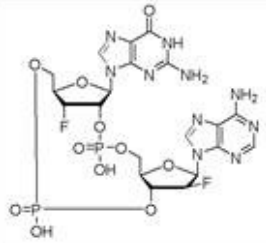
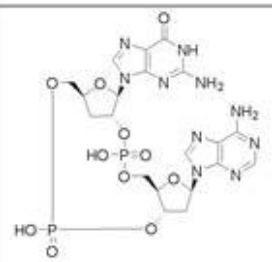
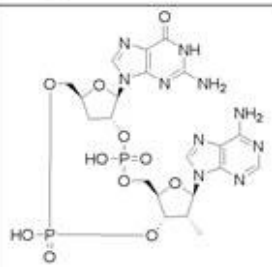
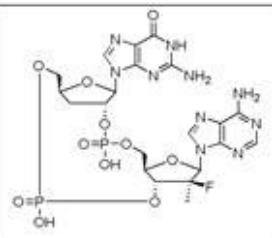
[0993] 根据类似于上文实施例20中所概述的程序的程序使用适当的单体(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)在偶联步骤中制备下表2中所示的实施例21至29。

[0994] 表2

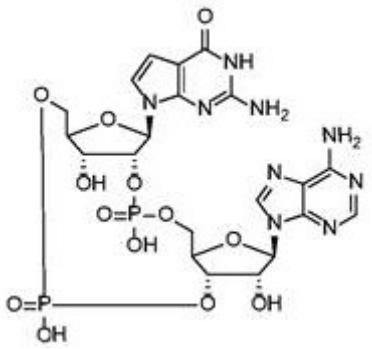
[0995]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
21		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	659
22		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	659
23		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	677

[0996]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
24		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-2,10-二氧化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	669
25		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	659
26		2-氨基-9-[(2S,5R,7R,8S,10S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	677
27		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	641
28		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-15-甲基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	655
29		2-氨基-9-[(5S,8R,12aR,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-15-甲基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673

[0997] 实施例30:2-氨基-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,7-二氢-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮

[0998] 

[0999] cGAS缓冲液由40mM pH 7.5的Tris-HCL、100uM NaCl、10mM $MgCl_2$组成。cGAS酶购自Novoprotein (Novoprotein代码:SGCAS),其表达于大肠杆菌中并使用HIS标签纯化。计算的分子量为55.3kDa,且序列为:

[1000] MAHHHHHHGSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHINLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAF
AKRQGKEMDSLTFLYDGIEIQADQTPEDLDMEDNDIIEAHREQIGGENLYFQGGASKLR
AVLEKLKLSRDDISTAAGMVKGVVDHLLLRLKCDSAFRGVGLLNTGSYYEHVKISAPN
EFDVMFKLEVPRIQLEEYSNTRAYYFVKFKRNPKENPLSQFLEGEILSASKMLSKFRKIIK
EEINDIKDTDVIMKRKRGGSPAVTLLISEKISVDITLALESKSSWPASTQEGLRIQNWLSA
KVRKQLRLKPFYLVPKHAKEGNGFQEETWRLSFSHIEKEILNNHGKSKTCCENKEEKCC
RKDCLKLMKYLLEQLKERFKDKKHLDKFSSYHVKTAFFHVCTQNPQDSQWDRKDLGL
CFDNCVTYFLQCLRTEKLENYFIPEFNLFSSNLIDKRSKEFLTKQIEYERNNEFPVFDEF

[1001] (SEQ. ID. NO. 1)。

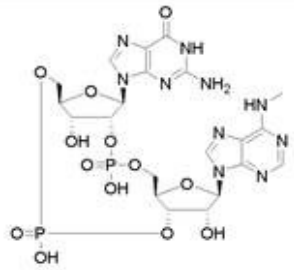
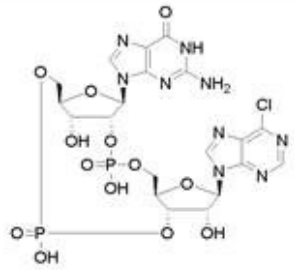
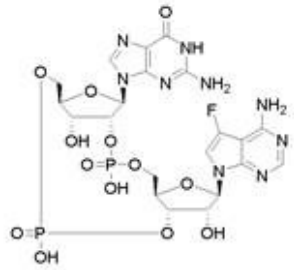
[1002] 向小瓶中添加Herring DNA (CAS编号9007-49-2, 0.3mg/mL,于cGAS缓冲液中;14.8mL)和cGAS酶(3.1mg/mL,于cGAS缓冲液中;0.78mL),并将混合物在室温下孵育15分钟。添加7-脱氮-GTP (TriLink目录编号N-1044;5mM,于cGAS缓冲液中,1.95mL, 9.75μmol)和ATP (5mM,于cGAS缓冲液中,1.95mL, 9.75μmol),并将混合物在设定以维持37℃的Radleys Metz加热振荡器上孵育,同时以250rpm振荡16小时,然后将混合物过滤并冻干。将产物使用质量导向的反相HPLC(具有Waters SunFire C18 OBD Prep柱,100Å, 5μm, 19mm×150mm, [Waters部件编号186002568],使用具有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统)纯化。产物级分的冻干提供标题化合物。

[1003] LCMS (ES, m/z): 672 [M – H]$^-$. ^{1}H NMR (600MHz, DMSO-d_6) δ 10.33 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.24 (s, 2H), 6.94 (d, J = 3.4Hz, 1H), 6.28 – 6.24 (m, 3H), 6.01 (d, J = 8.1Hz, 1H), 5.86 (d, J = 7.9Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 5.01 – 4.97 (m, 1H), 4.86 – 4.83 (m, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 4.21 (dd, J = 10.4, 4.8Hz, 1H), 4.03-3.92 (4, 3H), 3.80 – 3.75 (m, 1H), 3.69 (d, J = 12.1Hz, 1H), 2.76 (s, 12H), 1.02 (S, 18H).

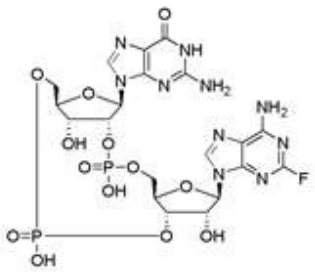
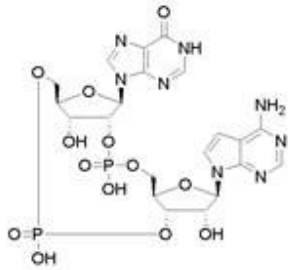
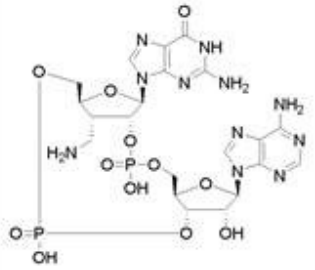
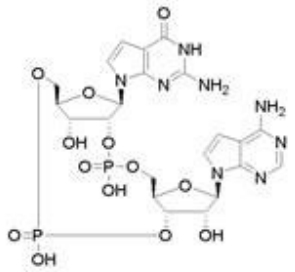
[1004] 使用类似于上文针对实施例30所述的程序的程序使用适当的核苷三磷酸单体来制备下表3中的实施例31至65。根据需要,根据类似于针对制备23至26所述的方法的方法或通过将必需5'-OH核苷单体送至NuBlocks LLC (Oceanside, CA)来形成三磷酸酯。使用ATP和α-硫代-GTP (BIOLOG Life Science Institute,目录编号G014/G015)来制备实施例38。

[1005] 表3

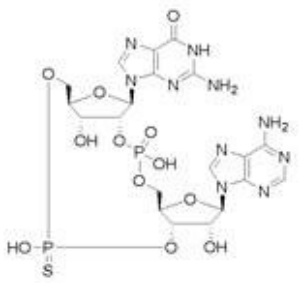
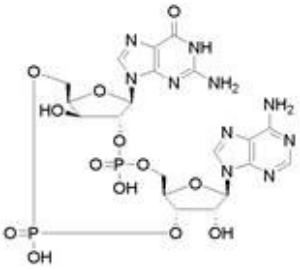
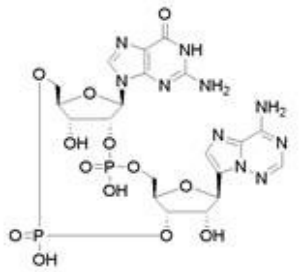
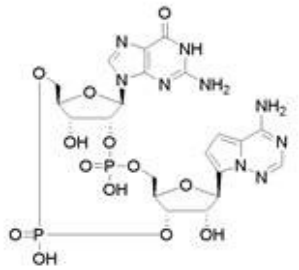
[1006]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
31		2-氨基-9-{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-2,10,15,16-四羟基-14-[6-(甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基}-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	687
32		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氯-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	692
33		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	690

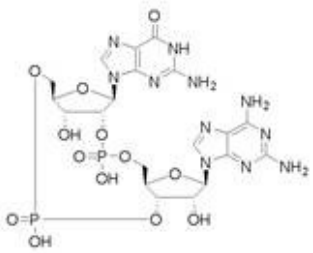
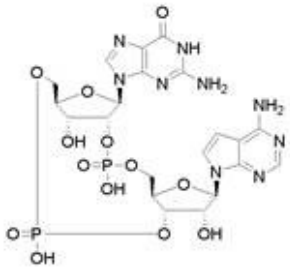
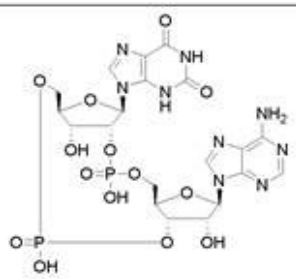
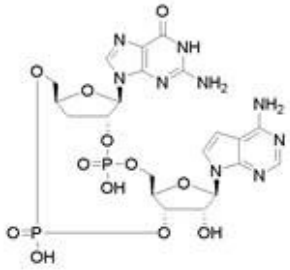
[1007]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
34		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-2-氟-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	691
35		9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	657
36		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-(氨基甲基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	686
37		2-氨基-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,7-二氢-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮	671

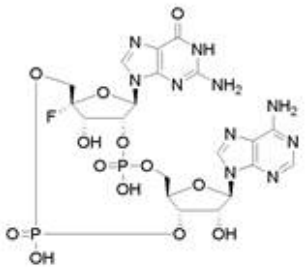
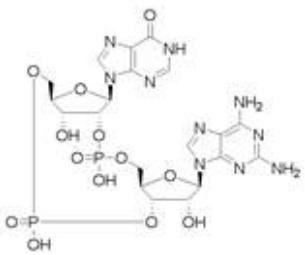
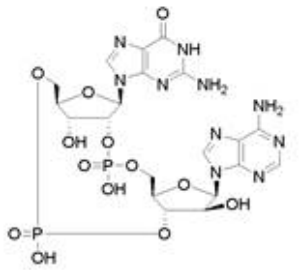
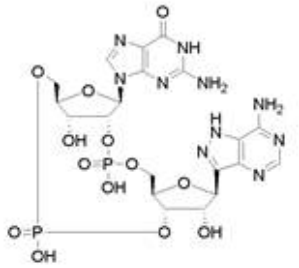
[1008]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
38		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-10-氧化-2-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	689
39		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
40		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
41		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-14-(4-氨基吡咯并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	672

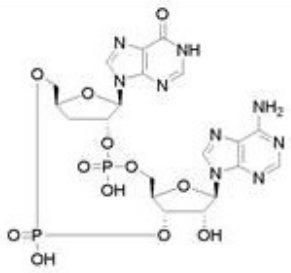
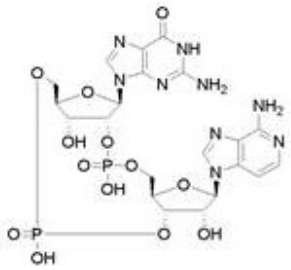
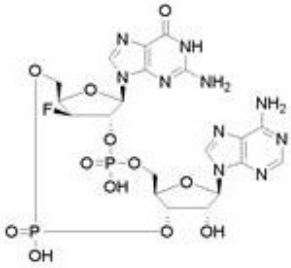
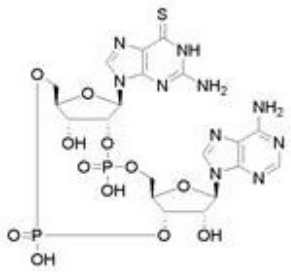
[1009]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
42		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(2,6-二氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	688
43		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-10,15,16-三羟基-2,10-二氧化-2-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	688
44		9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,9-二氢-1H-嘌呤-2,6-二酮	674
45		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	656

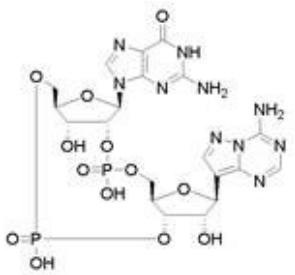
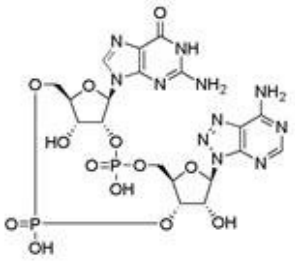
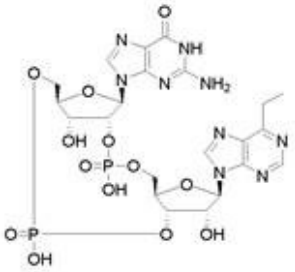
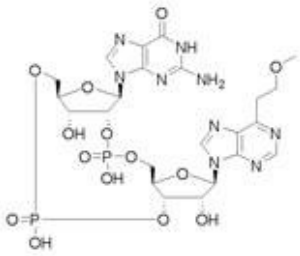
[1010]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
46		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-5-氟-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	691
47		9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(2,6-二氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
48		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
49		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-14-(7-氨基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-3-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673

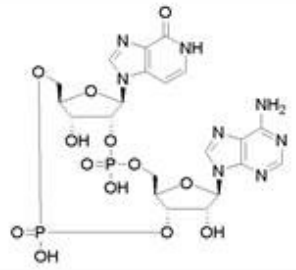
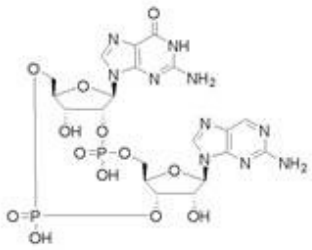
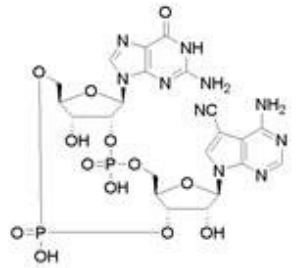
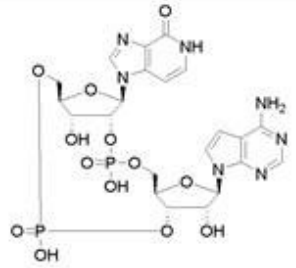
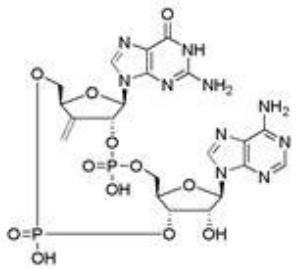
[1011]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
50		9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	642
51		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-1H-咪唑并[4,5-c]吡啶-1-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	672
52		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	675
53		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-硫酮	689

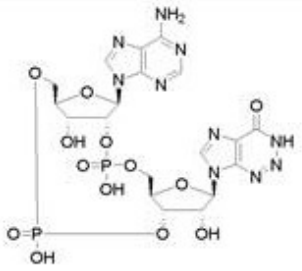
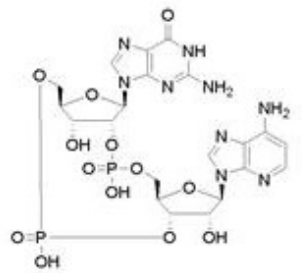
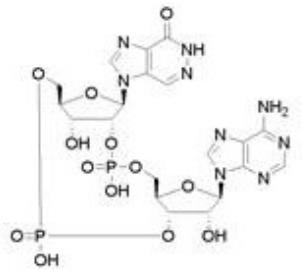
[1012]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
54		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
55		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	674
56		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-乙基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	686
57		2-氨基-9-{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-2,10,15,16-四羟基-14-[6-(2-甲氧基乙基)-9H-嘌呤-9-基]-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基}-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	716

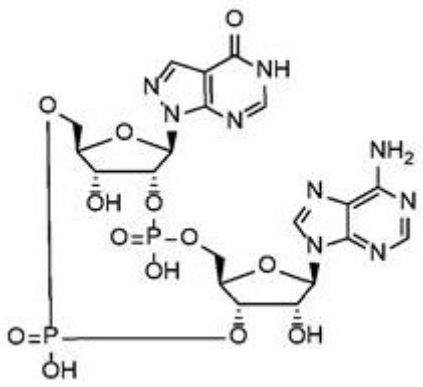
[1013]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
58		1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮	657
59		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(2-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
60		4-氨基-7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-甲腈	697
61		1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮	656
62		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-16-亚甲基(methylidene)-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]/五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	669

[1014]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
63		7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,7-二氢-4H-咪唑并[4,5-d][1,2,3]三嗪-4-酮	659
64		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(7-氨基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	672
65		1-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-4-酮	658

[1015] 实施例66:1-[(5*R*,7*R*,8*R*,12*aR*,14*R*,15*R*,15*aS*,16*R*)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-酮

[1016] 

[1017] cGAS缓冲液由40mM pH 7.5 Tris-HCL、100uM NaCl、10mM $MgCl_2$组成。cGAS酶购自Novoprotein (Novoprotein代码:SGCAS),其表达于大肠杆菌中并使用HIS标签纯化。计算的分子量为55.3kDa,且序列为:

[1018] MAHHHHHHGSDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHINLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAF
AKRQGKEMDSLTFLYDGIEIQADQTPEDLDMEDNDIIEAHREQIGGENLYFQGGASKLR
AVLEKLKLSRDDISTAAGMVKGVVDHLLLRLKCDSAFRGVGLLNTGSYYEHVKISAPN
EFDVMFKLEVPRIQLEEYSNTRAYYFVKFKRNPKENPLSQFLEGEILSASKMLSKFRKIIK
EEINDIKDTDVIMKRKRGGSPAVTLLISEKISVDITLALESKSSWPASTQEGLRIQNWLSA
KVRKQLRLKPFYLVPKHAKEGNGFQEETWRLSFSHIEKEILNNHGKSKTCCENKEEKCC
RKDCLKLMKYLLEQLKERFKDKKHLDKFSSYHVKTAFFHVCTQNPQDSQWDRKDLGL
CFDNCVTYFLQCLRTEKLENYFIPEFNLFSSNLIDKRSKEFLTKQIEYERNNEFPVFDEF

[1019] (SEQ. ID. NO. 1)。

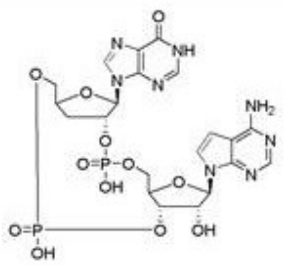
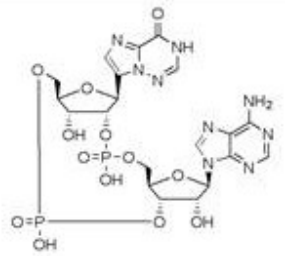
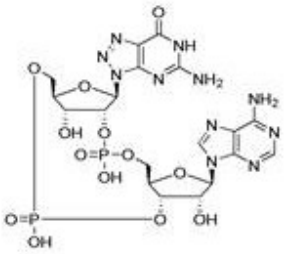
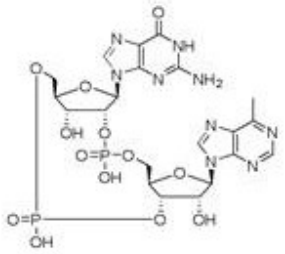
[1020] 向小瓶中添加Herring DNA(CAS编号9007-49-2, 0.3mg/mL,于cGAS缓冲液中;15.2mL)和cGAS酶(3.1mg/mL,于cGAS缓冲液中;0.8mL),并将混合物在室温下孵育15分钟。添加ATP(5mM,于cGAS缓冲液中,2.0mL, 10μmol)、7-脱氮-8-氮杂-ITP (5mM,于cGAS缓冲液中,2.0mL, 10μmol)和DMSO (5mL),并在设定以维持37℃的Radleys Metz加热振荡器上孵育混合物,同时以250rpm振荡3天。将混合物过滤,冻干,并通过反相HPLC(用含有100mM TEAA修饰剂的乙腈/水梯度洗脱,线性梯度)纯化以提供作为TEA盐的标题化合物。

[1021] LCMS (ES, m/z): 658 [M - H]$^-$. ^{1}H NMR (600MHz, D_2O): δ 8.36 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 6.41 (d, J = 8.2Hz, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.69 (m, 1H), 5.42 (m, 1H), 4.88 (d, J = 4.4Hz, 1H), 4.66 (d, J = 4.1Hz, 1H), 4.51 (m, 1H), 4.43 (m, 2H), 4.23 (m, 2H), 4.01 (m, 1H).

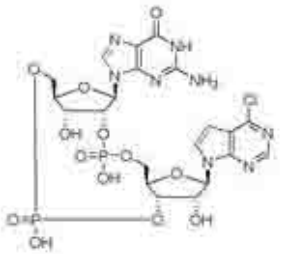
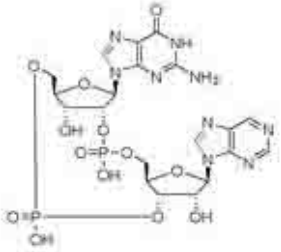
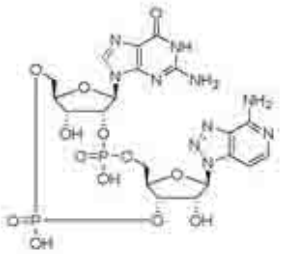
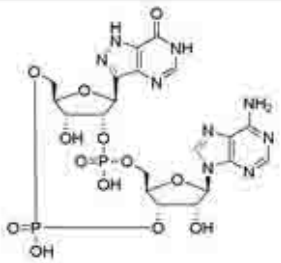
[1022] 使用类似于上文针对实施例66所述的程序的程序使用适当的核苷三磷酸单体来制备下表4中的实施例67至74。根据需要,根据类似于针对制备23至26所述的方法的方法或通过将必需5'-OH核苷单体送至NuBlocks LLC (Oceanside, CA)来形成三磷酸酯。

[1023] 表4

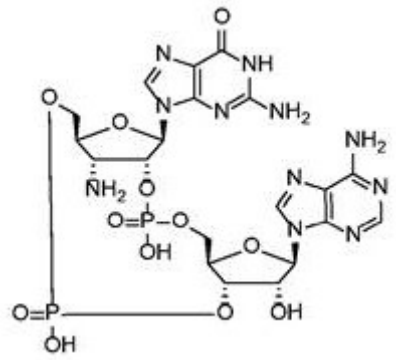
[1024]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
67		9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	641
68		7-[(5*R*,7*S*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*f*][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]咪唑并[2,1-*f*][1,2,4]三嗪-4(3*H*)-酮	658
69		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	674
70		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-2,10,15,16-四羟基-14-(6-甲基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	672

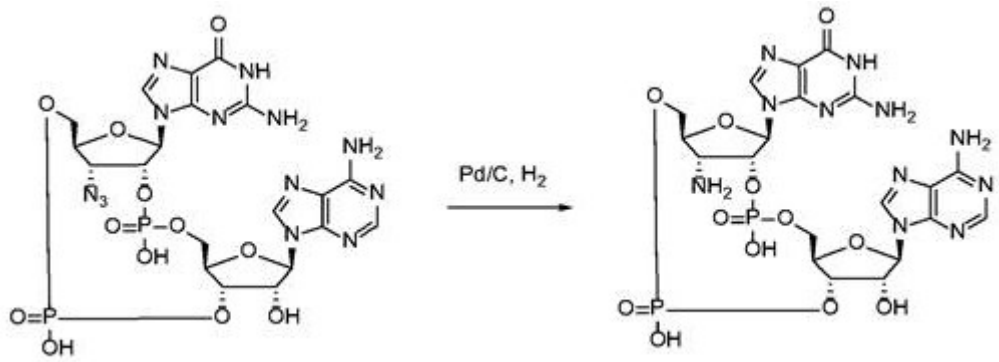
[1025]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
71		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氯-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	691
72		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化-14-(9H-嘌呤-9-基)八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	658
73		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-氨基-1H-[1,2,3]三唑并[4,5-c]吡啶-1-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	673
74		3-[(5R,7S,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,6-二氢-7H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-酮	658

[1026] 实施例75:2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氨基-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

[1027] 

[1028] 步骤1:2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-16-氨基-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

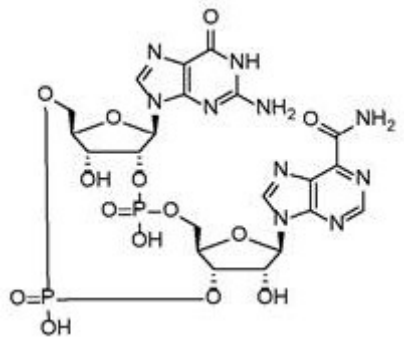
[1029] 

[1030] 在Ar和室温下,向2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-叠氮基-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(实施例14,4.0mg, 0.0055mmol)于无水EtOH (1.0mL)和去离子水(1.0mL)中的搅拌溶液中以一部分添加碳载钯(1.0mg, 10wt.%载量)。然后将反应容器用氢气冲洗并附接至氢气气囊。使反应混合物搅拌48小时,过滤,并浓缩以提供标题化合物。

[1031] LCMS (ES, m/z): 672 [M - H]⁻. (600MHz, DMSO-d_6) δ 10.70 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.29 (br, 2H), 6.56 (br, 2H), 6.00 (d, J = 8.3Hz, 1H), 5.89 (d, J = 8.5Hz, 1H), 5.21 (s, 1H), 5.04 (t, J = 6.0Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.05 (dd, J = 10.5, 5.0Hz, 1H), 4.00 (s, 1H), 3.77 (d, J = 4.1Hz, 1H), 3.67 (m, 2H). ^{31}P NMR: (202MHz, DMSO-d_6): δ -0.4 (s), 2.0 (s).

[1032] 或者,可根据类似于上文针对实施例30所述的方法的方法从必需单体制备实施例75。

[1033] 实施例76:9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9*H*-嘌呤-6-甲酰胺

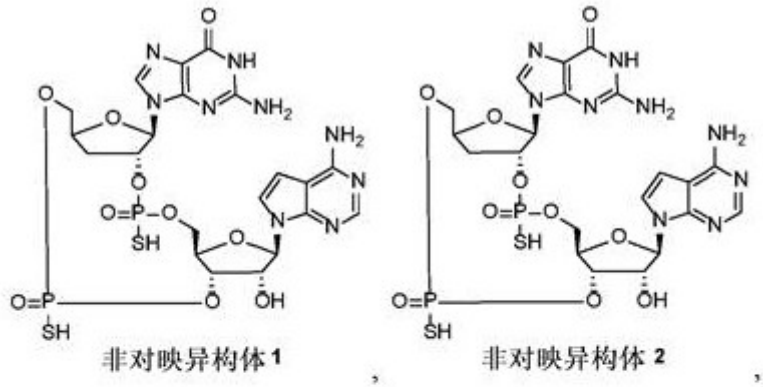
[1034] 

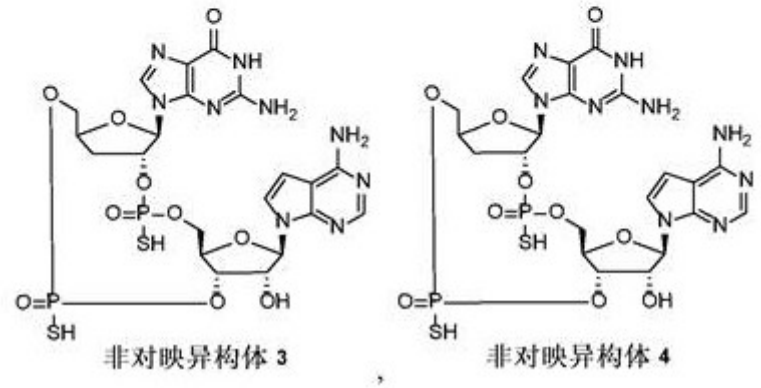
[1035] 在Ar和室温下,向2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氯-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(实施例32,16mg, 0.018mmol)于DMSO(1.7mL)中的搅拌溶液中以一部分添加氰化钠(8.0mg,0.16mmol)。将反应混合物加热至80℃并在同一温度下搅拌3小时,冷却至环境温度,然后用冷乙酸(15uL)淬灭。将混合物过滤并冻干。将产物使用质量导向的反相HPLC(具有Waters SunFire C18 OBD Prep柱,100Å, 5μm, 19mm×150mm, [Waters部件编号186002568],使用具有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统)纯化。产物级分的冻干提供9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9*H*-嘌呤-6-甲腈。LCMS (ES, m/z): 683 [M - H]$^-$。

[1036] 向9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9*H*-嘌呤-6-甲腈(3.0mg, 0.003mmol)于去离子水(338uL)中的搅拌悬浮液中添加氢化(二甲基膦酸(phosphinous acid)-kP)[氢双(二甲基磷基(phosphinito)-kP)]铂(II)(1.0mg, 0.002mmol)。将反应混合物加热至85℃并在同一温度下搅拌6小时,冷却至环境温度,过滤并冻干。将产物使用质量导向的反相HPLC(具有Waters SunFire C18 OBD Prep柱,100Å, 5μm, 19mm×150mm, [Waters部件编号186002568],使用具有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统)纯化。产物级分的冻干提供9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9*H*-嘌呤-6-甲酰胺。

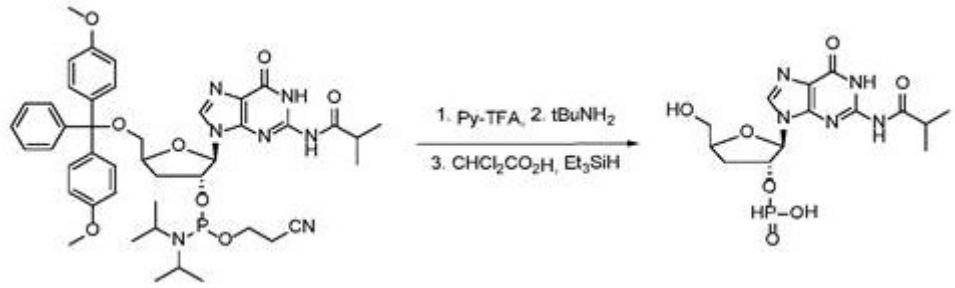
[1037] LCMS (ES, m/z): 701 [M - H]$^-$. ^{1}H NMR (500MHz, DMSO): δ 10.58 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 6.55 (br, 4 H), 6.07 (d, *J* = 7.7Hz, 1H), 5.81 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 5.77 (m, 1H), 5.04 (m, 1H), 4.96 (d, *J* = 4.5Hz, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 4.07-4.04 (m, 2H), 3.99-3.75 (m, 2H). ^{31}P NMR: (202MHz, DMSO): δ 1.9 (s), -0.8 (s).

[1038] 实施例77、78、79、80:2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1-4)

[1039] 

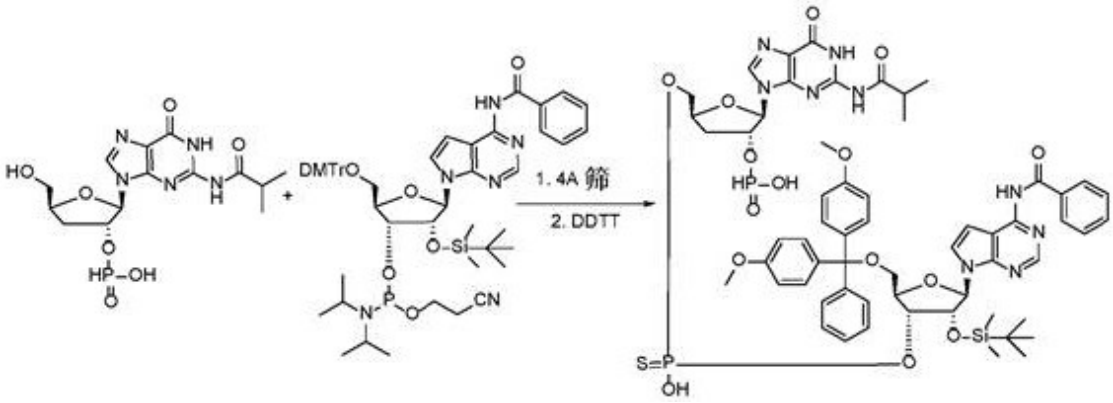


[1040] *步骤1:膦酸氢(2R,3R)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1041] 

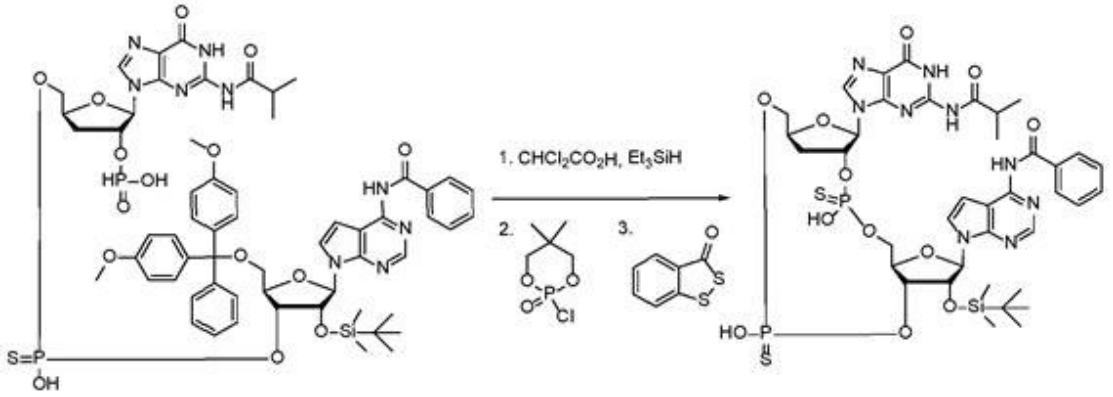
[1042] 向烧瓶中添加二异丙基亚磷酰胺(2R,3R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(4.00g, 4.76mmol)、MeCN(23.65ml)和水(0.158ml)。添加吡啶三氟乙酸盐(1.104g, 5.71mmol),并将反应物在室温下搅拌1小时。然后添加叔丁胺(20.02ml, 190mmol),并在室温下继续搅拌1小时,该时间之后将反应物分配于己烷和乙腈之间。收集乙腈层并在真空下浓缩。添加DCM(39.9ml)和水(0.798ml),随后添加二氯乙酸(55.1ml, 33.3mmol),并将溶液在室温下搅拌20分钟,该时间之后添加三乙基甲硅烷(133ml, 833mmol),并将反应物在室温下进一步搅拌2小时。将反应物冷却至0℃,并添加吡啶(5.39mL 66.6mmol)。然后将混合物在减压下浓缩以得到标题化合物,其并不进一步纯化。LCMS (ES, m/z): 400 [M - H]⁻。

[1043] *步骤2:硫代磷酸O-氢O-((2R,3R,4R,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基)酯O-(((2S,4R,5R)-4-(羟基氢磷酰基)氧基)-5-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-2-基)甲基)酯*

[1044] 

[1045] 向烧瓶中添加膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(335mg, 0.836mmol)和MeCN(20mL),且然后将溶液在减压下浓缩。将该过程重复2次,且然后添加MeCN(8mL),随后添加活化的4Å筛。将混合物在室温下搅拌20分钟。将二异丙基亚磷酰胺(2R,3R,4R,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(825mg, 0.836mmol)溶于MeCN(5mL)中。添加分子筛(4Å),并将混合物在室温下搅拌30分钟,该时间之后将该溶液转移至膦酸氢酯溶液中并使用2×1.5mLMeCN部分来完成转移。在室温下搅拌30分钟之后,添加((二甲基氨基-次甲基)氨基)-3H-1,2,4-二噻唑啉-3-硫酮(189mg, 0.919mmol)。在室温下搅拌5分钟之后,将混合物在减压下浓缩并使用反相HPLC用MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的10-100%梯度纯化。收集含产物级分并冻干,在该时间期间裂解氰基乙基保护基团以提供硫代磷酸O-氢O-((2R,3R,4R,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基)酯O-(((2S,4R,5R)-4-((羟基氢磷酰基)氧基)-5-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-2-基)甲基)酯。LCMS (ES, m/z): 1264 [M - H]⁻。

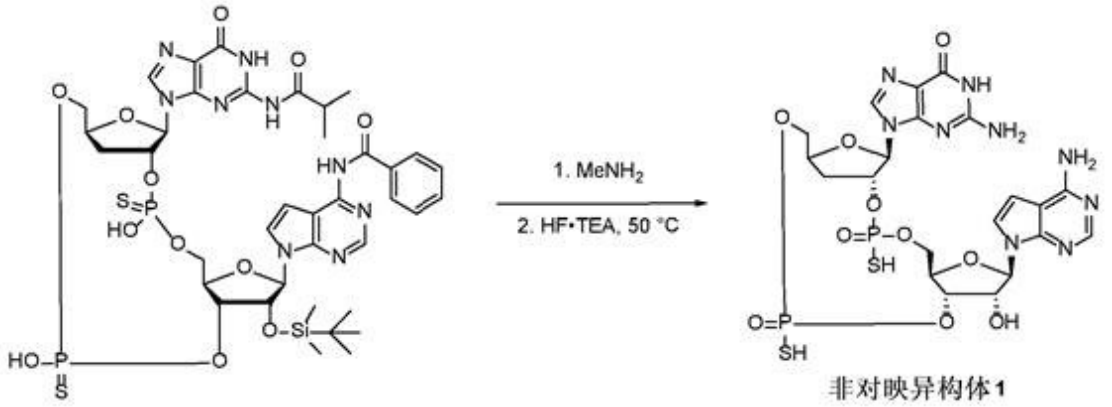
[1046] *步骤3:N-{7-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-15-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺(非对映异构体1-4)*

[1047] 

[1048] 向含有硫代磷酸O-氢O-((2R,3R,4R,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基)酯O-(((2S,4R,5R)-4-((羟基氢磷酰基)氧基)-5-(2-异丁酰胺基-6-氧

代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-2-基)甲基)酯(581mg, 0.440mmol)的烧瓶中添加DCM (8.81mL)、水(0.079ml, 4.40mmol)且然后添加二氯乙酸(8.74ml, 5.28mmol)。将混合物在室温下搅拌15分钟,且然后添加三乙基甲硅烷(10.97ml, 68.7mmol)。将混合物在室温下搅拌1.5小时且然后在减压下浓缩。将混合物溶于吡啶(10mL)中且然后在减压下浓缩。重复该过程2次,且然后将所得样品溶于吡啶(17ml)中并在室温下以一部分添加2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷-2-酮(81mg, 0.440mmol)。在室温下搅拌30分钟之后,添加额外的2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷-2-酮(81mg, 0.440mmol)。重复该顺序两次,且然后添加水(238μl, 13.19mmol)和3H-1,2-苯并二硫杂环戊烯-3-酮(111mg, 0.660mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时且然后分配于水(10mL)和1:1 EtOAc/乙醚(10mL)之间。分离各层,并用1:1 EtOAc/乙醚(3×10mL)萃取水相。将合并的有机相干燥($MgSO_4$),过滤,并在减压下浓缩。反相HPLC纯化(30-100% MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度)提供N-{7-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-15-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺的4种非对映异构体,其全部都显示LCMS (ES, m/z): 976 [M - H]⁻。

[1049] *步骤4:2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1-4)*

[1050] 

非对映异构体1

[1051] 向含有N-{7-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR)-15-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺(最快洗脱峰,7.4mg, 7.57μmol)的烧瓶中添加甲胺(33%,于EtOH中)(1ml, 8.03mmol),并将混合物在室温下搅拌4小时,该时间之后在减压下浓缩混合物。添加吡啶(1mL),并在减压下浓缩混合物。然后,添加吡啶(0.5ml)、三乙胺(0.104ml, 0.746mmol)和三乙胺三氢氟化物(0.030ml, 0.187mmol),并将混合物在50℃下搅拌16小时,该时间之后将混合物冷却至室温并在减压下浓缩。通过反相HPLC (乙腈和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度)纯化提供实施例77,2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-羟基-2,10-二氧

化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)。

[1052] LCMS (ES, m/z): 688 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, 氧化氘) δ 8.06 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 3.8Hz, 1H), 6.25 (d, *J* = 3.7Hz, 1H), 6.17 (d, *J* = 2.6Hz, 1H), 5.68 (d, *J* = 7.5Hz, 1H), 5.42 – 5.36 (m, 2H), 5.10-5.06 (m, 1H), 4.83 – 4.81 (m, 1H), 4.51 – 4.48

[1053] (m, 1H), 4.36 – 4.33 (m, 1H), 4.28 (dt, *J* = 10.1, 4.9Hz, 1H), 4.06 – 3.94 (m, 2H), 3.03 (q, *J* = 7.3Hz, 12H), 2.44 – 2.40 (m, 2H), 1.11 (t, *J* = 7.3Hz, 18H).

[1054] 以类似方式个别地处理来自步骤3的其它非对映异构体以提供三种额外非对映异构体产物：

[1055] 实施例78：2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)。

[1056] LCMS (ES, m/z): 688 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, 氧化氘) δ 8.04 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.50 (d, *J* = 3.6Hz, 1H), 6.19 – 6.17 (m, 1H), 6.16 (d, *J* = 3.7Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 7.4Hz, 1H), 5.63 – 5.57 (m, 1H), 5.14 (td, *J* = 7.8, 4.4Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 4.2Hz, 1H), 4.52 – 4.46 (m, 1H), 4.33 (d, *J* = 8.9Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 11.9, 3.1Hz, 1H), 4.18 – 4.15 (m, 1H), 3.96 (dd, *J* = 11.4, 3.6Hz, 2H), 3.04 (q, *J* = 7.3Hz, 12H), 2.44 – 2.36 (m, 2H), 1.11 (t, *J* = 7.3Hz, 18H).

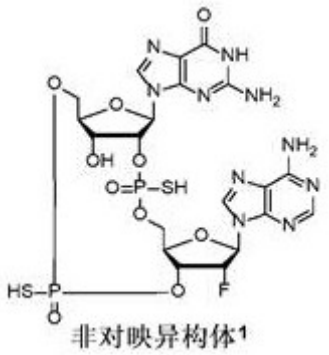
[1057] 实施例79：2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体3)。

[1058] LCMS (ES, m/z): 688 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, 氧化氘) δ 8.00 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.19 (d, *J* = 3.8Hz, 1H), 6.15 (d, *J* = 3.8Hz, 2H), 5.66 (d, *J* = 7.3Hz, 1H), 5.32 (dq, *J* = 9.9, 7.2Hz, 1H), 4.95 (td, *J* = 8.6, 4.6Hz, 1H), 4.81 (d, *J* = 4.4Hz, 1H), 4.50 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 4.32 (d, *J* = 7.8Hz, 1H), 4.25 (dt, *J* = 12.0, 3.6Hz, 1H), 4.05 – 3.97 (m, 3H), 3.03 (q, *J* = 7.3Hz, 12H), 2.51 – 2.41 (m, 2H), 1.11 (t, *J* = 7.3Hz, 18H).

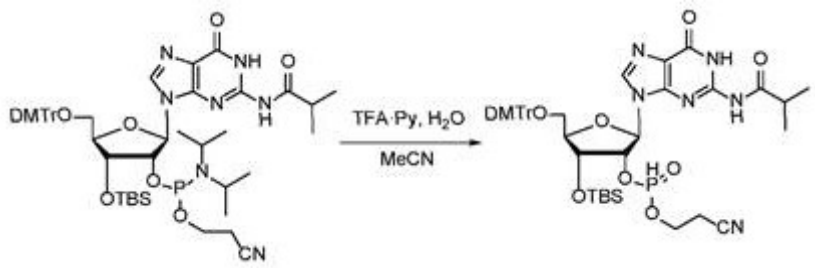
[1059] 实施例80：2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体4)。

[1060] LCMS (ES, m/z): 688 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, 氧化氘) δ 8.00 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 3.8Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 6.12 (d, *J* = 3.7Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 6.9Hz, 1H), 5.47 (dq, *J* = 14.2, 7.0Hz, 1H), 5.05 (td, *J* = 8.0, 4.5Hz, 1H), 4.52 (d, *J* = 4.4Hz, 1H), 4.49 (dt, *J* = 7.4, 2.7Hz, 1H), 4.33 – 4.27 (m, 2H), 4.19 (ddd, *J* = 11.5, 8.5, 3.0Hz, 1H), 4.00 (dd, *J* = 11.5, 3.9Hz, 1H), 3.94 (ddd, *J* = 11.6, 5.6, 2.2Hz, 1H), 3.01 (q, *J* = 7.3Hz, 12H), 2.49-2.40 (m, 2H), 1.10 (t, *J* = 7.3Hz, 18H).

[1061] 实施例81:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化(sulfido)八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)

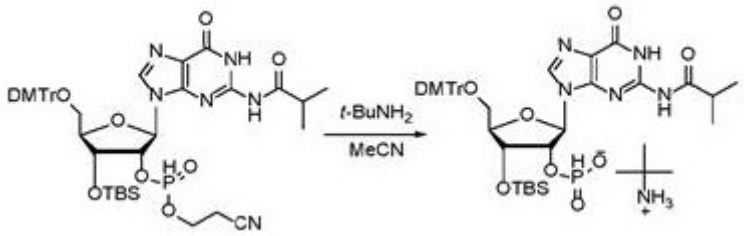
[1062] 

[1063] *步骤1:膦酸(2R,3R,4R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1064] 

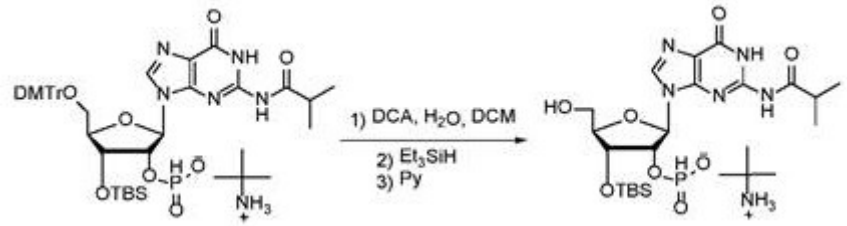
[1065] 在25℃下,向二异丙基亚磷酰胺(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(3g, 3.09mmol)于MeCN (15mL)中的搅拌溶液中添加H_2O (0.111mL, 6.18mmol)和2,2,2-三氟乙酸吡啶-1-鎓(0.717g, 3.71mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌20分钟。通过LCMS/TLC监测反应进展。在亚磷酰胺起始原料消耗之后,含有期望产物(主要的)的反应混合物未经任何后处理即用于下一步骤中。LCMS (ES, *m/z*): 887.4 $[M + H]^+$。

[1066] *步骤2:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1067] 

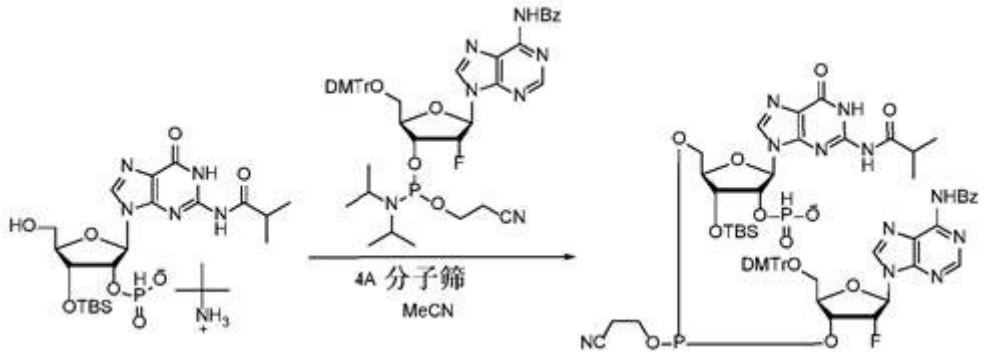
[1068] 向来自先前反应的步骤1的产物(15.0ml，142mmol)的搅拌溶液中以一部分添加叔丁胺，并将其在25℃下搅拌40分钟。在真空中浓缩所得溶液。使残余物与干燥MeCN(两次，各15mL)共蒸发，其未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES，*m/z*)：832.3 $[M - H]^-$。

[1069] *步骤3:膦酸(2R,3R,4R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1070] 

[1071] 向步骤2的产物于CH_2Cl_2 (37mL)中的搅拌溶液中逐滴添加H_2O (0.558mL，31.0mmol)和6% DCA/CH_2Cl_2 (37mL，31.5mmol)。将所得混合物在25℃下搅拌40分钟，然后添加Et_3SiH (60mL)，并将反应混合物搅拌1.5小时。将吡啶(4.5ml，2当量，相对于DCA)添加至反应物中。将所得溶液在25℃下搅拌5分钟且然后在真空中浓缩。用MTBE/己烷(100ml，v/v，1/1)研磨残余物，且倾析上清液。将该过程再重复两次。将最终残余物在减压下浓缩且未经纯化即用于下一步骤中。LCMS (ES，*m/z*)：532.18 $[M + H]^+$。

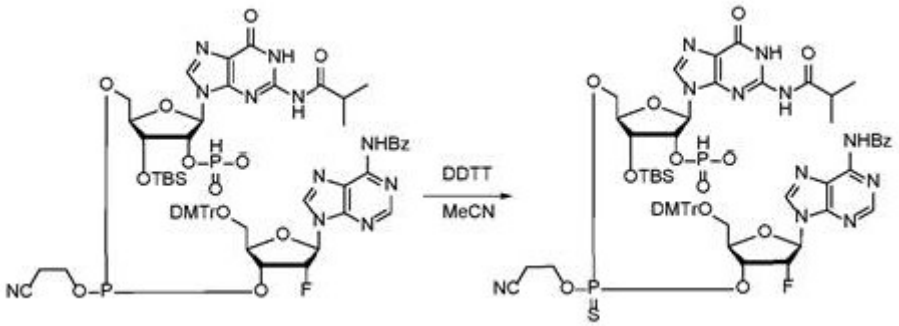
[1072] *步骤4:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1073] 

[1074] 在Ar下，向步骤3的产物(0.704g，0.722mmol)于MeCN (5mL)中的搅拌溶液中添加活化的4Å分子筛(200mg)，并将混合物在室温下搅拌30分钟。使二异丙基-亚磷酰胺(2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(0.822g，0.939mmol)与干燥的MeCN (3mL)共蒸发两次。添加活化的4Å分子筛(200mg)。在30分钟之后，通过注射器将亚磷酰胺溶液转移至步

骤3的产物的溶液中。将所得混合物在室温下搅拌20分钟。通过TLC/LCMS检测期望产物，且反应溶液未经纯化即用于下一反应中。LCMS (ES, *m/z*): 1306.7 $[M + H]^+$。

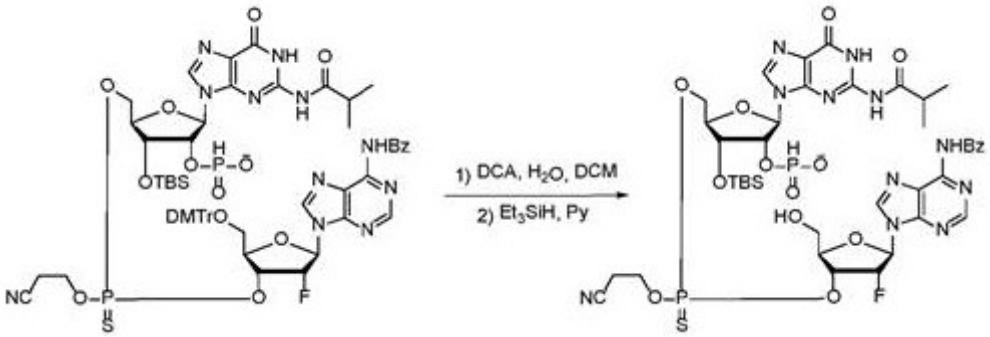
[1075] *步骤5:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1076] 

[1077] 在Ar下，向含有步骤4的产物(~0.722mmol)的反应混合物中以一部分添加(E)-*N*,*N*-二甲基-*N*'-(3-硫代-3H-12,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺(formimidamide)(163mg, 0.794mmol)，并将混合物在室温下搅拌30分钟。通过TLC/LCMS监测反应进展。在起始亚磷酸酯消耗之后，在真空中浓缩反应混合物，且残余物通过用5%至95% MeCN/H_2O (0.04% NH_4HCO_3)洗脱的反相色谱(X-Bridge BEH130 Prep C18)纯化。将含产物的级分合并并在减压下浓缩至2/3体积。添加NaCl (10g)，并用EtOAc/Et_2O (v/v, 1/1, 3×80mL)萃取水性混合物。将合并的有机层干燥(Na_2SO_4)并浓缩。

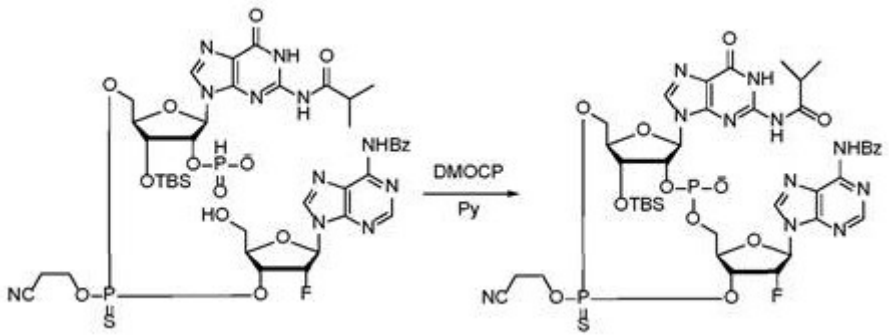
[1078] LCMS (ES, *m/z*): 1339.5 $[M + H]^+$. ^{31}P-NMR (162MHz, CD_3OD): δ 67.83 (d, J = 43.9Hz), 2.81 (d, J = 15.7Hz).

[1079] *步骤6:膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1080] 

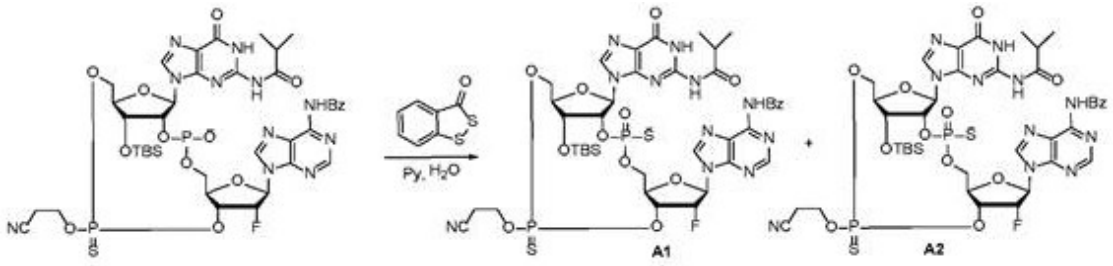
[1081] 向步骤5的产物(180mg, 0.128mmol)于CH_2Cl_2 (7mL)中的搅拌溶液中添加2,2-二氯乙酸/CH_2Cl_2 (2.47mg, 1.15mmol)和H_2O (22.97mg, 1.28mmol)。在室温下搅拌20分钟之后，添加Et_3SiH (4.5mL)。在2小时之后，添加吡啶(1mL)，并将混合物搅拌10分钟。在去除挥发物之后，产物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, *m/z*): 1036.4 $[M + H]^+$。

[1082] *步骤7:(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-硫化物*

[1083] 

[1084] 使步骤6的产物(570mg)与干燥的吡啶(每次1ml，三次)共蒸发。在室温和Ar下，向干燥的吡啶(4mL)中的混合物中以一部分添加2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷2-氧化物(71mg，0.384mmol)。将所得混合物搅拌40分钟。通过TLC/LCMS监测反应进展。观察到作为非对映异构体的混合物的期望产物，且并将产物直接用于下一反应步骤。LCMS(ES，*m/z*)：1018.5 $[M + H]^+$。

[1085] *步骤8:非对映异构体混合物(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-硫醇盐10-氧化物2-硫化物(A1)和(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-硫醇盐10-氧化物2-硫化物(A2)*

[1086] 

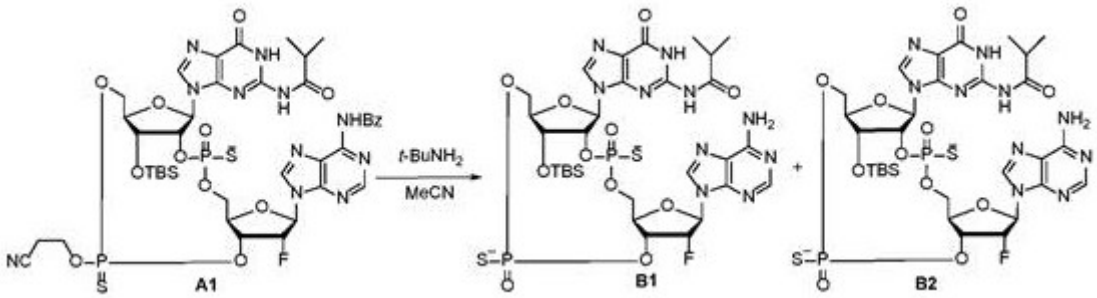
[1087] 向步骤7的产物的搅拌混合物中添加H_2O (69.2mg，3.84mmol)和3H-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(32.3mg，0.192mmol)。将混合物在室温下搅拌40分钟。通过TLC/LCMS监测反应进展。在反应完成之后，将反应混合物倒入$NaHCO_3$水溶液(0.14g $NaHCO_3$/5mL H_2O)中并搅拌5分钟。用EtOAc/乙醚(v/v，1/1，3×15mL)萃取所得混合物。将合并的有机层干燥(Na_2SO_4)，并通过用0至15% MeOH/CH_2Cl_2洗脱的硅胶色谱纯化以得到产物：非对映异构体A1的混合物(在5.5% MeOH/CH_2Cl_2下洗脱)；非对映异构体A2的混合物(在9.8% MeOH/CH_2Cl_2下洗脱)；膦酸(2R,3R,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲

基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(在12.6% MeOH/CH_2Cl_2下洗脱)。

混合物**A1**: LCMS (ES, *m/z*): 1050.30 $[M + H]^+$. ^{31}P-NMR

[1088] (162MHz, CD_3OD): δ 66.34 (s), 64.63 (s). 混合物 **A2**: LCMS (ES, *m/z*): 1050.30 $[M + H]^+$. ^{31}P-NMR (162MHz, CD_3OD): δ 65.94, 64.17, 62.55, 61.28.

[1089] *步骤9:非对映异构体(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物(B1)和(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物(B2)*

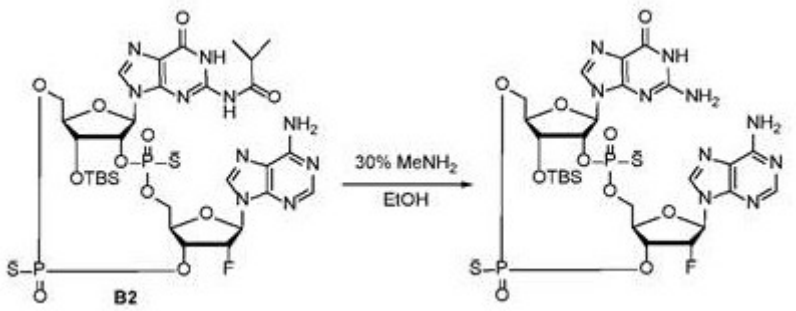
[1090] 

[1091] 在室温和Ar下,向来自先前步骤的粗A1 (95mg, ~0.09mmol)于MeCN (1mL)中的搅拌悬浮液中添加叔丁胺(1.5mL)。在30分钟之后,在真空中去除挥发性组分。残余物通过用25%至45% MeCN/NH_4HCO_3 水溶液(10mM)洗脱的反相制备型HPLC (X-Bridge BEH130 Prep C18)经8分钟纯化,以得到作为单一非对映异构体的化合物B2 (T_R = 5.97min)。

LCMS (ES, *m/z*): 891.4 $[M - H]^-$. H-NMR (300MHz, CD_3OD): δ 8.44 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.37 (d, *J* = 14.0Hz, 1H), 5.95 (d, *J* = 8.0Hz, 1H), 5.65-5.54 (m, 1H), 5.26-5.10 (m, 2H), 4.57-4.41 (m, 4H), 4.24 (s, 1H), 4.01 (d, *J* = 11.5Hz, 1H), 3.89 (d, *J* = 11.8Hz, 1H), 2.75-2.63 (m, 1H), 1.04-0.91 (m, 15H), 0.28-0.24 (m, 6H). ^{31}P-NMR (121MHz, CD_3OD): δ 57.10 (s), 53.1 (s).

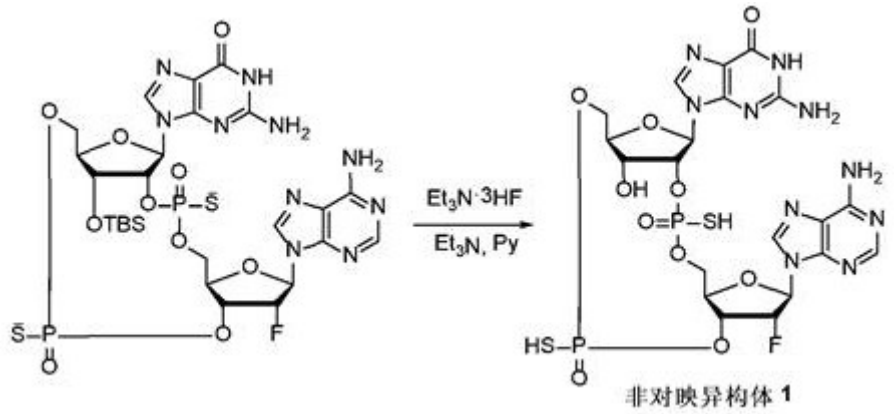
[1092]

[1093] 步骤10:(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物

[1094] 

[1095] 向来自先前步骤的化合物B2 (13mg，0.013mmol)的搅拌溶液中添加$MeNH_2$于EtOH中的溶液(0.6ml，30重量%)。将混合物在室温下搅拌12小时。在减压下去除挥发性组分，且含有产物化合物的残余物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES，*m/z*)：823.15 [M + H]$^+$。

[1096] *步骤11:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)*

[1097] 

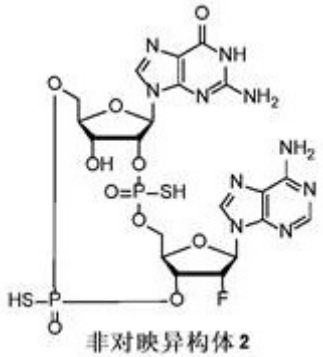
[1098] 使来自步骤10的粗产物(25mg)与吡啶/Et_3N(v/v，3/1，每次1ml，三次)共蒸发且然后溶于吡啶(0.15mL)中。向混合物中装入Ar和Et_3N (0.20mL)并添加三乙胺三氢氟化物(56.4mg，0.350mmol)。将所得溶液在50℃下温热6小时。通过TLC/LCMS监测反应进展。在反应完成之后，在真空中浓缩混合物且然后与MeCN(三次，每次1mL)共蒸发。残余物通过用0至22% MeCN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的反相制备型HPLC (X-Bridge BEH130 Prep C18)经15分钟纯化，以得到产物化合物(T_R = 8.3min)。

[1099] LCMS (ES, *m/z*): 708.95 $[M+H]^+$.

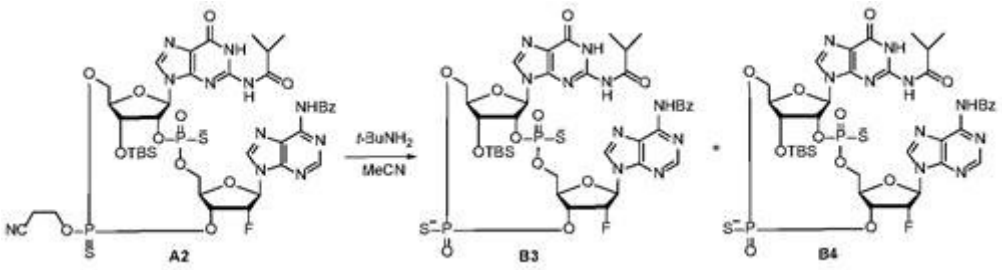
^{1}H-NMR (400MHz, D_2O): δ 8.18 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.37 (d, *J* = 14.3Hz, 1H), 5.86 (d, *J* = 8.4Hz, 1H), 5.61-5.54 (m, 1.5H), 5.43 (s, 0.5H), 5.27-5.12 (m, 2H), 4.59 (d, J = 3.6Hz, 1H), 4.47 (t, *J* = 12.9Hz, 2H), 4.36 (d, *J* = 4.8Hz, 1H), 4.04 (dd, *J* = 23.2, 12.0Hz, 2H).

^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ 55.63 (s), 51.55 (s).

[1100] 实施例82:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)

[1101] 

[1102] *步骤1:非对映异构体(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物(B3)和(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物(B4)*

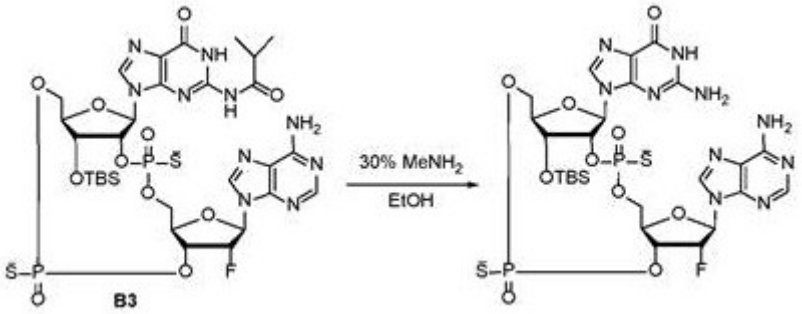
[1103] 

[1104] 在Ar下,向来自实施例81步骤8的粗A2 (105mg, ~0.1mmol)于MeCN(1mL)中的搅拌悬浮液中添加叔丁胺(1.5mL),并将混合物在室温下搅拌30分钟。在真空中去除挥发性组分。残余物通过用25%至40% MeCN/NH_4HCO_3水溶液(10mM)洗脱的反相制备型HPLC (X-Bridge BEH130 Prep C18)经10分钟纯化,以得到两种非对映异构体化合物,B3 (T_R = 6.12min, 0.025mmol)和B4 (T_R = 7.45min, 0.021mmol)。

[1105] 化合物 **B3**: LCMS (ES, *m/z*): 995.3 [M - H]$^-$. H-NMR (300MHz, CD_3OD): δ 8.82 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.20-8.13 (m, 2H), 7.66-7.54 (m, 3H), 6.47 (d, *J* = 14.0Hz, 1H), 6.09 (d, *J* = 8.4Hz, 1H), 5.96-5.95 (m, 0.5H), 5.81-5.78 (m, 0.5H), 5.52-5.36 (m, 2H), 4.64-4.56 (m, 2H), 4.48-4.43 (m, 1H), 4.37-4.30 (m, 1H), 4.25-4.22 (m, 1H), 4.17-4.10 (m, 1H), 3.98 (d, *J* = 11.7Hz, 1H), 2.65 (p, *J* = 6.8Hz, 1H), 1.12 (d, *J* = 6.8Hz, 3H), 0.98-0.95 (m, 12H), 0.22 (d, *J* = 8.0Hz, 6H). ^{31}P-NMR (121MHz, CD_3OD): δ 56.96 (s), 55.90 (s).

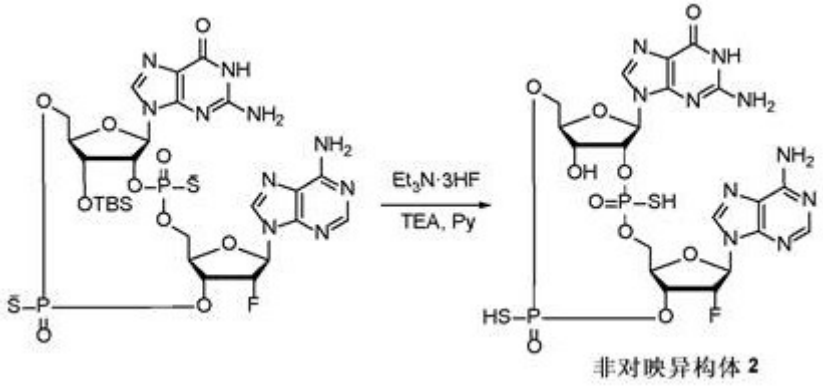
[1106] 化合物 **B4**: LCMS (ES, *m/z*): 995.4 [M - H]⁻. H-NMR (300MHz, CD_3OD): δ 8.97 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.24-8.22 (m, 3H), 7.59 (ddd, *J* = 14.5, 7.9, 6.2Hz, 3H), 6.46 (d, *J* = 13.0Hz, 1H), 5.99 (d, *J* = 8.3Hz, 1H), 5.67-5.57 (m, 1H), 5.45-5.33 (m, 2H), 4.56 (dd, *J* = 13.5, 4.9Hz, 2H), 4.47-4.38 (m, 2H), 4.25 (t, *J* = 3.5Hz, 1H), 4.07 (d, *J* = 11.3Hz, 1H), 3.94 (d, *J* = 11.0Hz, 1H), 2.75 (p, *J* = 6.8Hz, 1H), 1.04 (d, *J* = 6.8Hz, 3H), 0.95 (s, 12H), 0.23 (d, *J* = 5.2Hz, 6H). ^{31}P-NMR (121MHz, CD_3OD): δ 56.81 (s), 54.76 (s).

[1107] *步骤2：(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2.10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物*

[1108] 

[1109] 将来自步骤1的化合物B3 (25mg, 0.025mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(1ml, 30重量%)中，并将混合物在室温下搅拌12小时。通过TLC/LCMS监测反应进展。在反应完成之后，在真空中去除挥发性组分，且含有粗产物的残余物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, *m/z*): 823.25 $[M + H]^+$。

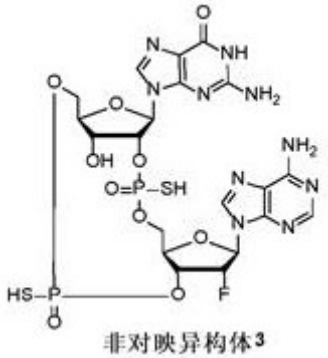
[1110] *步骤3：2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)*

[1111] 

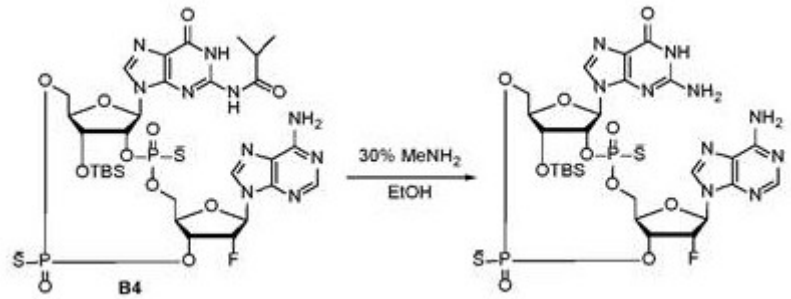
[1112] 使步骤2的粗产物(35mg)与吡啶/Et_3N (v/v, 3/1, 每次1ml, 三次)共蒸发且然后再溶于吡啶(0.4mL)中。向混合物中装入Ar和Et_3N (0.34mL, 2.4mmol)，并添加三乙胺三氢氟化物(97mg, 0.6mmol)。将所得溶液在50℃下温热6小时。然后，将混合物在减压下浓缩且然后与MeCN (3×1mL)共蒸发。残余物通过用0至10% MeCN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的反相制备型HPLC (X-Bridge BEH130 Prep C18)经14分钟纯化，以得到产物化合物(T_R = 9.2min)。

[1113] LCMS (ES, *m/z*): 709.00 $[M+H]^+$. H-NMR (400MHz, DMF-d_7 + D_2O): δ 8.68 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 6.57 (d, *J* = 14.8Hz, 1H), 6.27-6.25 (m, 1.5H), 6.15-6.13 (m, 0.5H), 5.72-5.68 (m, 1H), 5.56-5.54 (m, 1H), 4.85-4.83 (m, 1H), 4.71-4.69 (m, 1H), 4.52-4.43 (m, 4H), 4.27-4.24 (m, 1H). ^{31}P-NMR (162MHz, DMF-d_7 + D_2O): δ 56.03 (s), 53.37 (s). ^{19}F-NMR (376MHz, DMF-d_7 + D_2O): δ -205.44 (s).

[1114] 实施例83:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体3)

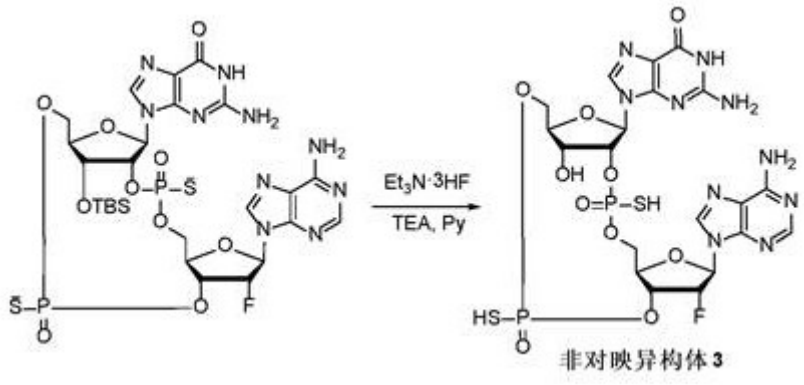
[1115] 

[1116] *步骤1:(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物*

[1117] 

[1118] 将来自实施例82步骤1的化合物B4 ((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-15-氟八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物,21mg, 0.021mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(1ml, 30重量%)中,并将混合物在室温下搅拌12小时。通过TLC/LCMS监测反应进展。在反应完成之后,在真空中去除挥发性组分,且产物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, *m/z*): 823.25 $[M+H]^+$。

[1119] *步骤2:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体3)*

[1120] 

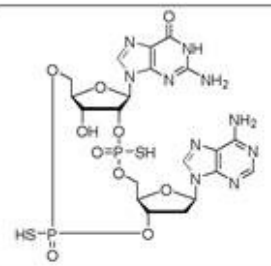
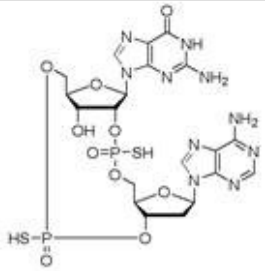
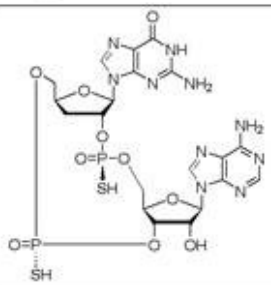
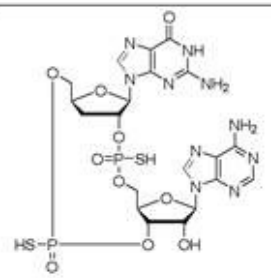
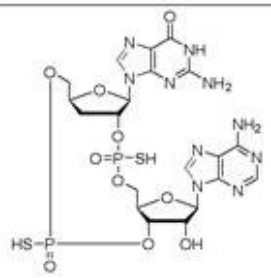
[1121] 使步骤1的粗产物(31mg)与吡啶/Et_3N (v/v, 3/1, 3×1mL)共蒸发且然后再溶于吡啶(0.4mL)中。向混合物中装入Ar和Et_3N (0.28mL, 2.0mmol)并添加三乙胺三氢氟化物(81mg, 0.5mmol)。将所得溶液在50℃下温热6小时。将混合物在减压下浓缩且然后与MeCN(3×1mL)共蒸发。残余物通过用0至10% MeCN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的反相制备型HPLC(X-Bridge BEH130 Prep C18)经14分钟纯化,以得到产物化合物(T_R = 10.1min)。

[1122] LCMS (ES, *m/z*): 709.00 [M + H]$^+$. H-NMR (400MHz, DMF-d_7 + D_2O): δ 8.73 (s, 1H), 8.28-8.20 (m, 2H), 6.55 (d, *J* = 14.8Hz, 1H), 6.25-5.85 (m, 3H), 5.62-5.56 (m, 1H), 4.76 (s, 1H), 4.62-4.60 (m, 2H), 4.49-4.41 (m, 3H), 4.18-4.15 (m, 1H). ^{31}P-NMR (162MHz, DMF-d_7 + D_2O): δ 56.09 (s), 54.75 (s). ^{19}F-NMR (376MHz, DMF-d_7 + D_2O): δ -203.33 (s).

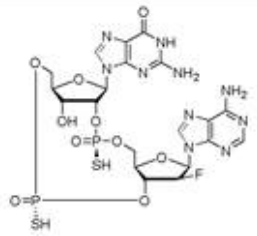
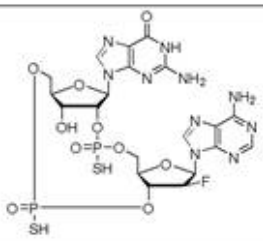
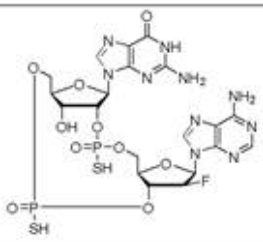
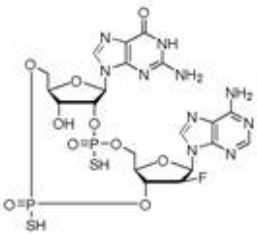
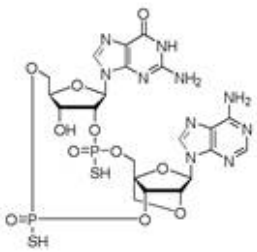
[1123] 根据类似于上文实施例77至83中所概述的程序的程序使用适当的单体(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)在偶联步骤中制备下表5中所示的实施例84至116。

[1124] 表5

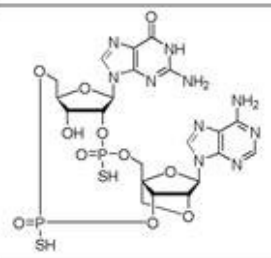
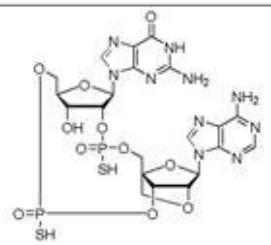
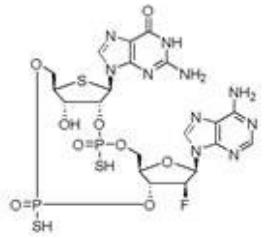
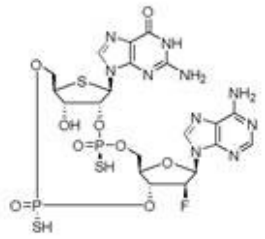
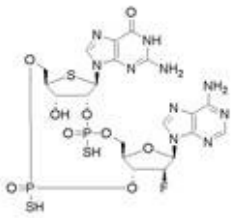
[1125]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
84		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体 1)	691 [M+H]⁺
85		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	691 [M+H]⁺
86		2-氨基-9-[(2R, 5S,7R,8R,10R, 12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	689
87		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	689
88		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	689

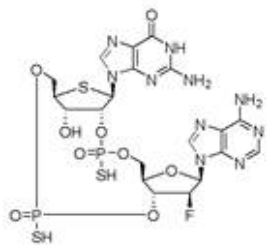
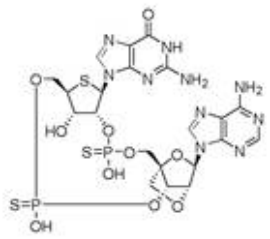
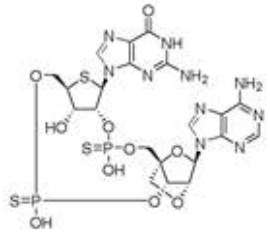
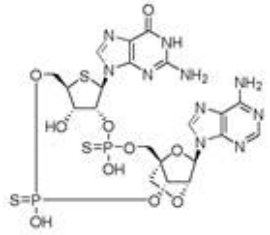
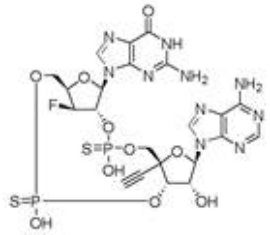
[1126]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
89		2-氨基-9-[(2R, 5R,7R,8R,10,R, 12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体 1)	707
90		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	707
91		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	707
92		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	707
93		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	717

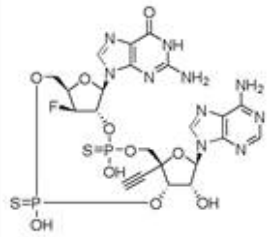
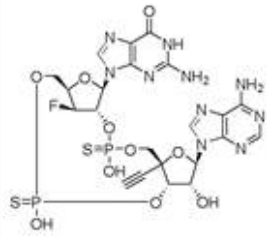
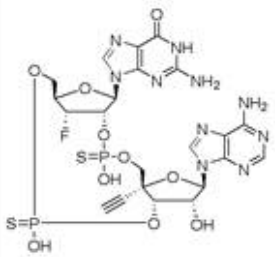
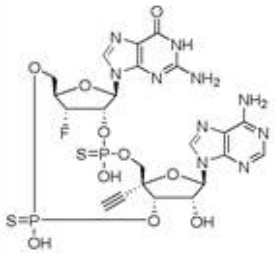
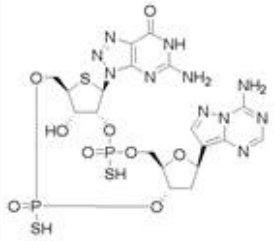
[1127]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
94		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	717
95		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	719 $[M+H]^+$
96		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	723
97		2-氨基-9-[(2R, 5R,7R,8R,10R, 12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	723
98		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	723

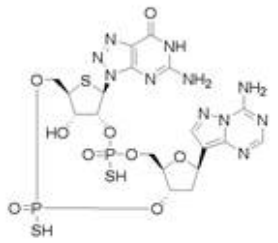
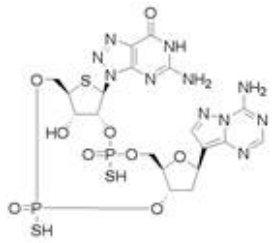
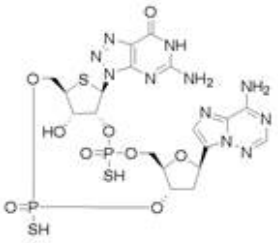
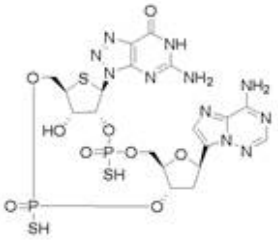
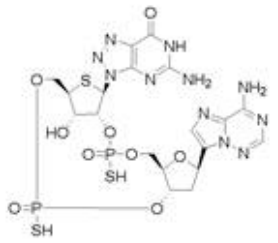
[1128]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
99		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	723
100		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	733
101		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	733
102		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	733
103		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	731

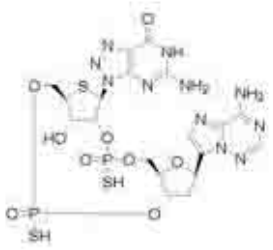
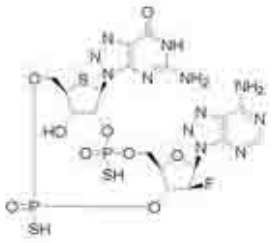
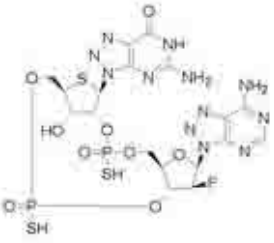
[1129]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
104		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	731
105		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	731
106		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	731
107		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10,15-三羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	731
108		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	706

[1130]

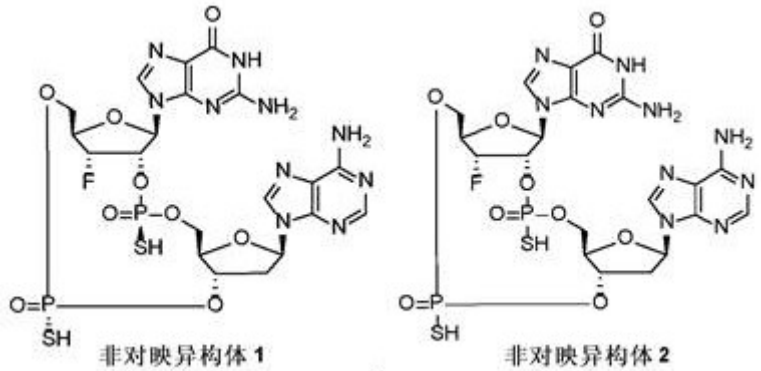
实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
109		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四嗳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	706
110		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四嗳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	706
111		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四嗳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	706
112		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四嗳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	706
113		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四嗳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	706

[1131]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
114		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮(非对映异构体4)	706
115		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮(非对映异构体1)	725
116		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮(非对映异构体2)	725

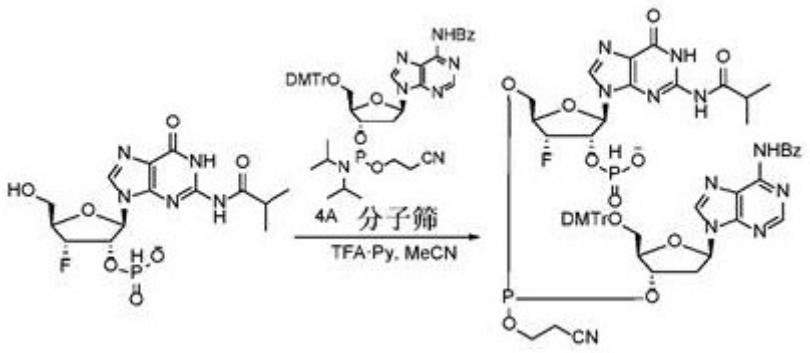
[1132] 实施例117和118:2-氨基-9-[(2R,5R,7R,8S,10R,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)和2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)

[1133]



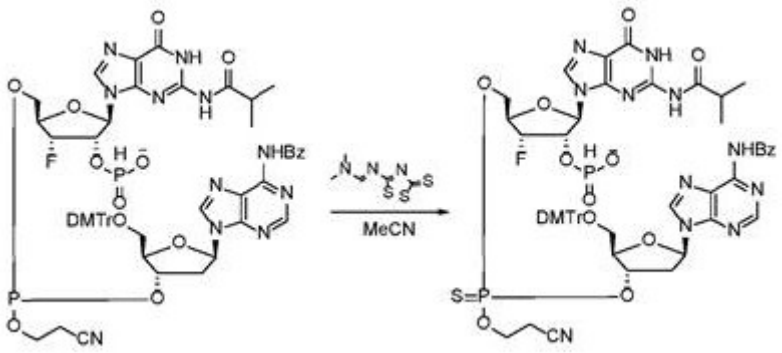
[1134] *步骤1:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基*

酯

[1135] 

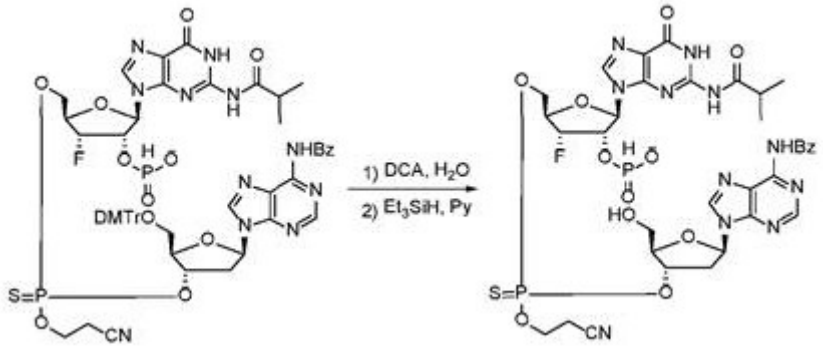
[1136] 使二异丙基亚磷酰胺((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(1058mg, 1.234mmol)与干燥的ACN (3×5mL)共蒸发,在Ar下再溶于ACN (10mL)中,并通过添加活化的4Å分子筛(200mg)进行干燥。使膦酸(2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(430mg, 1.03mmol)和2,2,2-三氟乙酸吡啶鎓(298mg, 1.54mmol)与ACN (3×5mL)共蒸发且然后再溶于ACN (10mL)中,并通过添加活化的4A分子筛(200mg)进行干燥。在30分钟之后,将其添加至先前制备的含有二异丙基亚磷酰胺((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯的混合物中。将其在室温下搅拌30分钟。反应混合物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 1173.8 [M - H]⁻。

[1137] *步骤2:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1138] 

[1139] 向来自步骤1的反应混合物中以一部分添加(*E*)-*N*,*N*-二甲基-*N*'-(3-硫代-3*H*-1,2,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺(DDTT, 0.232g, 1.13mmol)。将混合物在室温下搅拌1小时。将其浓缩以得到含有产物的粗样品,其未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 1205.8 [M - H]⁻。

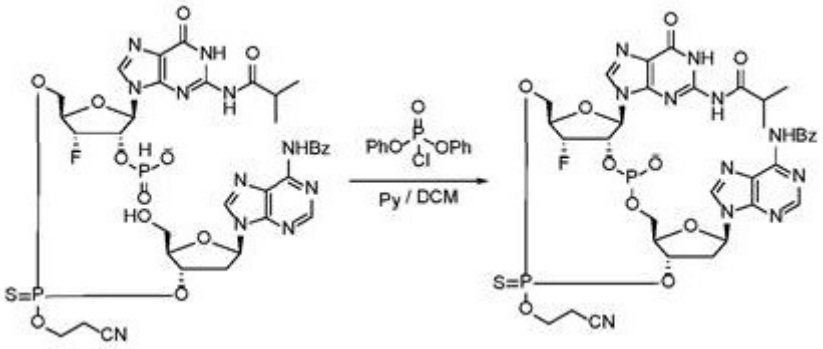
[1140] *步骤3:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1141] 

[1142] 向来自步骤2的粗制物于CH_2Cl_2 (15mL)中的溶液中添加水(0.2ml, 10mmol)和2,2-二氯乙酸/CH_2Cl_2 (0.6M,15ml, 9mmol)。在30分钟之后,添加三乙基甲硅烷(28mL),并将其搅拌1.5小时。然后,添加吡啶(1.4mL)。将其浓缩,且残余物通过用0至43% ACN/NH_4HCO_3水溶液(5mM)洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

[1143] LCMS (ES, m/z): 905.8 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (300MHz, CD_3OD): δ 8.71-8.44 (m, 2H), 8.21-8.03 (m, 3H), 7.80 (d, *J* = 10.4Hz, 0.5H), 7.66-7.61 (m, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.6Hz, 2H), 6.61-6.42 (m, 1H), 6.14 (dd, *J* = 13.2, 6.0Hz, 1H), 5.68 (d, *J* = 9.9Hz, 0.5H), 5.60-5.19 (m, 3H), 4.69-4.36 (m, 3H), 4.36-4.17 (m, 3H), 3.92-3.64 (m, 2H), 3.13-2.55 (m, 5H), 1.19 (dd, *J* = 6.9, 2.1Hz, 6H). ^{19}F-NMR (282MHz, CD_3OD): δ -202.55, -202.75 (d, 1F). ^{31}P-NMR (121MHz, CD_3OD): δ 66.91, 66.69 (2s, 1P); 2.66, 2.60 (2s, 1P).

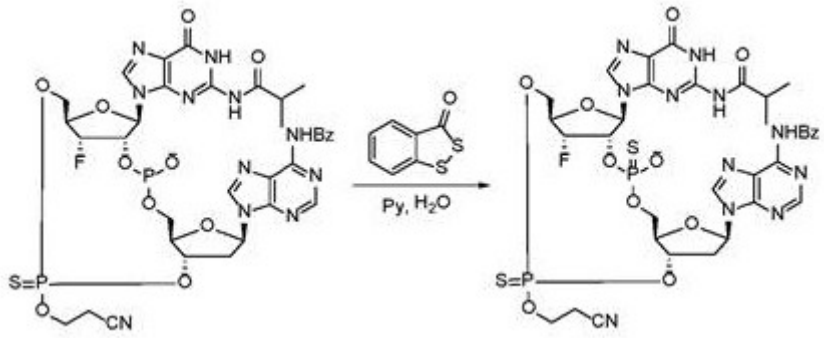
[1144] *步骤4:(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-硫化物*

[1145] 

[1146] 在-30℃下,将氯磷酸二苯酯(2375mg, 8.84mmol)添加至吡啶(45ml)中。经20分钟向-30℃的该溶液中逐滴添加膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(400mg, 0.44mmol)/CH_2Cl_2 (45mL)。将所得混合物在-30℃下搅拌40分钟。反应混合物未经纯化即立即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 887.8 [M + H]$^+$。

[1147] *步骤5:(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-16-氟-7-{2-[(2-甲*

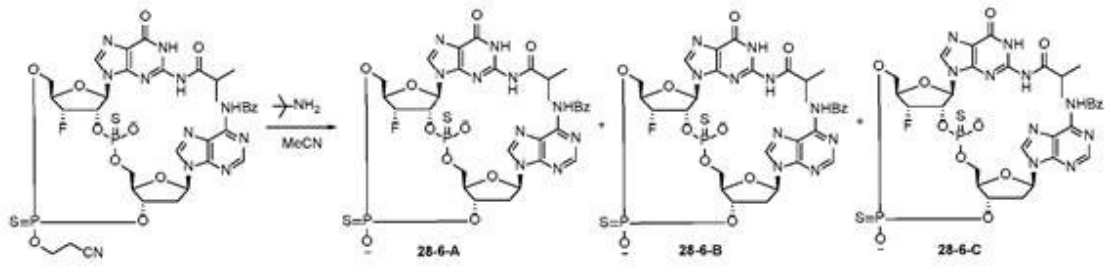
基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2,10-二硫化物

[1148] 

[1149] 向-30℃的来自步骤4的混合物中添加3*H*-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(112mg, 0.663mmol)和水(279μL, 15.5mmol)。在室温下搅拌1小时之后,将混合物倒入0℃下的$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ (280mg)于水(10mL)中的溶液中。将其在室温下搅拌5分钟,并在减压下浓缩混合物。残余物通过用0至28% ACN/NH_4HCO_3水溶液(5mM)洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

[1150] LCMS (ES, m/z): 919.8 $[M+H]^+$. ^{19}F-NMR (376MHz, CD_3OD): δ -198.51, -198.98, -200.16 (3s, 1F). $]^+$. ^{31}P-NMR (162MHz, CD_3OD): δ 65.90, 65.09, 63.64, 62.95, 57.26, 56.50 (6s, 2P).

[1151] 步骤6:非对映异构体(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-A)、(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-B)和(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-C)

[1152] 

[1153] 在室温下,向(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2,10-二硫化物(265mg, 0.288mmol)于ACN (5mL)中的溶液中添加叔丁胺(5ml,

0.29mmol)。将反应混合物搅拌10分钟。然后,在减压下去除挥发性组分。残余物通过用5至20% ACN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的制备型HPLC(T3 Prep柱,19mm×250mm)经21分钟纯化。

[1154] 第一级分(T_R: 8.95 min)得到(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-A)。

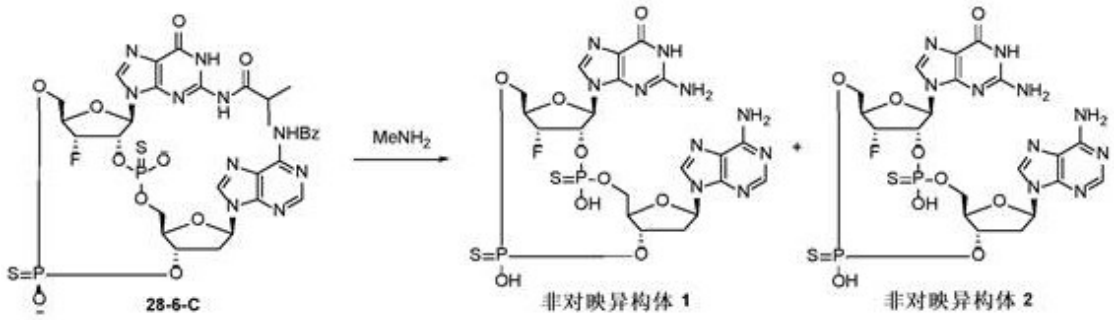
[1155] LCMS (ES, m/z): 866.7 $[M + H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.74 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.07 (d, J = 7.5Hz, 1H), 7.65 (d, J = 7.7Hz, 1H), 7.57 (t, J = 7.5Hz, 2H), 6.60-6.34 (m, 1H), 5.94 (d, J = 8.6Hz, 1H), 5.91-5.66 (m, 1H), 5.46-5.16 (m, 2H), 4.50 (d, J = 27.0Hz, 1H), 4.27 (d, J = 9.8Hz, 1H), 4.16 (t, J = 10.1Hz, 1H), 3.98 (q, J = 11.0Hz, 1H), 3.86 (d, J = 11.9Hz, 1H), 3.72-3.69 (m, 1H), 3.10-3.06 (m, 1H), 3.00-2.82 (m, 1H), 2.74-2.70 (m, 1H), 1.06 (dd, J = 27.2, 6.8Hz, 6H). ^{31}P-NMR (162MHz, DMSO-d_6): δ 53.92 (s, 1P), 52.99 (s, 1P).

[1156] 第二级分(T_R: 10.00min)得到(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-B)。LCMS (ES, m/z): 866.7 $[M + H]^+$。

[1157] 第三级分(T_R: 11.27-12.16min)得到(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-C,两种非对映异构体的混合物),其用于下一步骤中。

[1158] LCMS (ES, m/z): 866.7 $[M + H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ 8.77 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.12-8.02 (m, 2H), 7.66-7.64 (m, 1H), 7.56 (t, J = 7.5Hz, 2H), 6.47-6.44 (m, 1H), 5.99 (d, J = 8.6Hz, 1H), 5.55-5.33 (m, 2H), 5.22 (d, J = 11.6Hz, 1H), 4.47 (d, J = 25.7Hz, 1H), 4.43-4.40 (m, 1H), 4.03-3.98 (m, 2H), 3.84 (d, J = 11.8Hz, 1H), 3.75-3.72 (m, 1H), 3.18-3.15 (m, 1H), 2.82-2.73 (m, 2H), 1.13 (dd, J = 6.9, 2.5Hz, 6H). ^{31}P-NMR (162MHz, DMSO): δ 53.42 (s, 1P), 52.16 (s, 1P).

[1159] *步骤7:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1和2)*

[1160] 

[1161] 将(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-C)(180mg, 0.208mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 5.0ml, 42mmol)中,并将所得溶液在室温下搅拌1小时。在减压下去除挥发性组分以得到粗样品,其通过用5%至19.5% ACN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的制备型HPLC(Atlantis Prep T3 OBD柱,19mm×250mm)经19分钟纯化以在浓缩之后得到:

[1162] 实施例117 (T_R: 14.82min):2-氨基-9-[(2R,5R,7R,8S,10R,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)。

[1163] LCMS (ES, m/z): 690.8 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR (400MHz, D_2O): δ 8.14 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 6.37 (t, *J* = 5.5Hz, 1H), 5.99 (d, *J* = 8.7Hz, 1H), 5.54 (d, *J* = 3.3Hz, 0.5H), 5.48-5.30 (m, 1.5H), 5.12 (dd, *J* = 10.2, 5.5Hz, 1H), 4.66 (d, *J* = 34.1Hz, 1H), 4.36 (s, 1H), 4.24-4.01 (m, 4H), 3.04 (dt, *J* = 14.1, 5.6Hz, 1H), 2.79 (dt, *J* = 13.5, 6.4Hz, 1H). ^{19}F-NMR (376MHz, D_2O): δ -198.66 (s, 1F). ^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ 53.97 (s, 1P), 53.46 (s, 1P).

[1164] 实施例118 (T_R: 15.93min):2-氨基-9-[5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-甲烷基呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)。

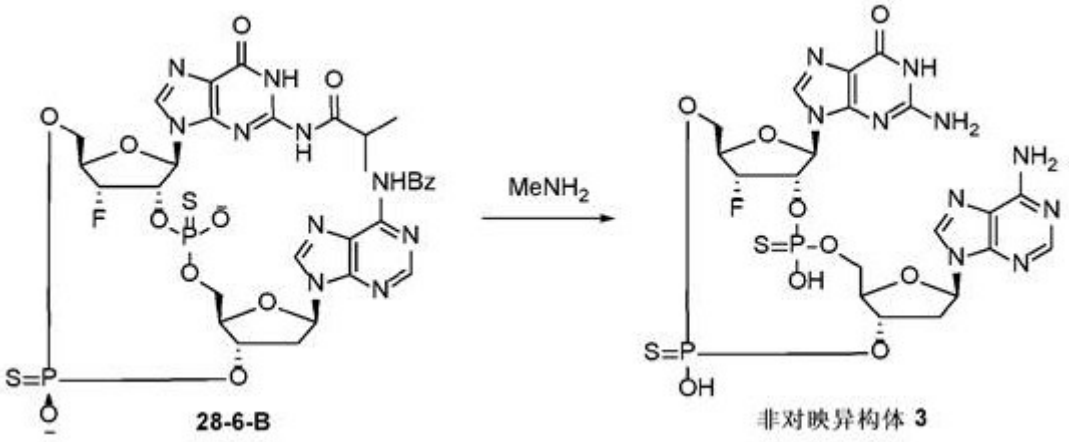
[1165] LCMS (ES, m/z): 690.8 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR (400MHz, D_2O): δ 8.16 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 6.34 (dd, *J* = 6.5, 3.0Hz, 1H), 5.95 (d, *J* = 8.6Hz, 1H), 5.69-5.53 (m, 1H), 5.47 (d, *J* = 3.4Hz, 0.5H), 5.33 (d, *J* = 3.4Hz, 0.5H), 5.23 (p, *J* = 7.3Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 26.7Hz, 1H), 4.35 (ddd, *J* = 10.6, 6.9, 3.2Hz, 1H), 4.31-4.17 (m, 2H), 4.05-3.95 (m, 2H), 2.94-2.85 (m, 1H), 2.74 (dt, *J* = 14.0, 7.2Hz, 1H).

[1166] ^{19}F-NMR (376MHz, D_2O): δ -198.74 (s, 1F). ^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ 55.05 (s, 1P), 52.87 (s, 1P).

[1167] 实施例119:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体3)

[1168] 

[1169] *步骤1:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[1170] 

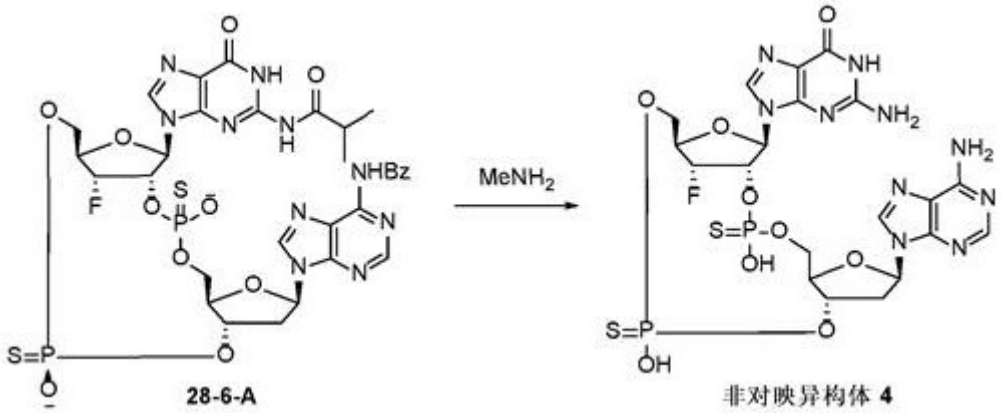
[1171] 将(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-B)(45mg, 0.053mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 1.5ml, 11mmol)中,并将所得溶液在室温下搅拌1小时。在减压下去除挥发性组分,且残余物通过用18%至19.5% ACN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的制备型HPLC(Atlantis Prep T3 OBD柱,19mm×250mm)经16分钟纯化,以得到产物(T_R: 11.22min)。

[1172] LCMS (ES, m/z): 690.8 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR (400MHz, D_2O): δ 8.32 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 6.41 (t, *J* = 5.7Hz, 1H), 6.00 (d, *J* = 8.6Hz, 1H), 5.56 (dt, *J* = 22.9, 10.4Hz, 1H), 5.40-5.30 (m, 1.5H), 5.19 (d, *J* = 3.6Hz, 0.5H), 4.64 (d, *J* = 28.3Hz,1H), 4.40-4.27 (m, 2H), 4.27-4.17 (m, 1H), 4.02 (d, *J* = 11.9Hz, 1H), 3.95-3.85 (m, 1H), 2.92 (dt, *J* = 14.1, 5.6Hz, 1H), 2.79 (td, *J* = 13.8, 13.1, 6.1Hz, 1H). ^{19}F-NMR (376MHz, D_2O): δ -198.02 (s, 1F). ^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ 57.89 (s, 1P), 55.05 (s, 1P).

[1173] 实施例120:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体4)

[1174] 

[1175] *步骤1:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9.11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

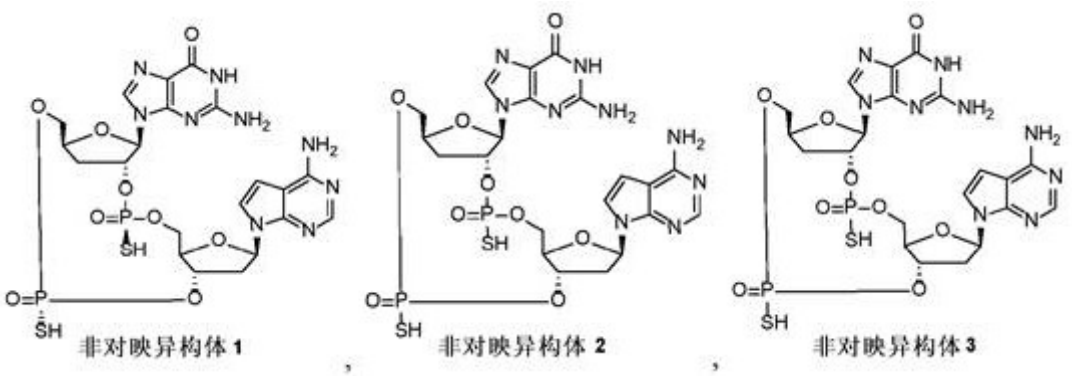
[1176] 

[1177] 将(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-二醇盐2,10-二硫化物(28-6-A)(45mg, 0.053mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 1.5ml, 11mmol)中,并将所得溶液在室温下搅拌1小时。在减压下去除挥发性组分,且残余物通过用4%至11% ACN/NH_4HCO_3水溶液(50mM)洗脱的制备型HPLC (Atlantis Prep T3 OBD柱,19mm×250mm)经17分钟纯化,以得到产物(T_R: 11.72min)。

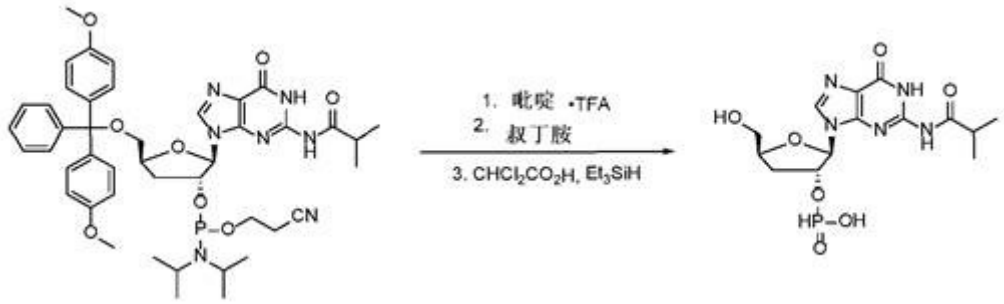
[1178] LCMS (ES, m/z): 690.8 [M - H]⁻. ^{1}H-NMR (400MHz, D_2O): δ 8.33 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 6.41 (t, *J* = 6.5Hz, 1H), 6.05 (d, *J* = 8.6Hz, 1H), 5.49-5.32 (m, 1.5H), 5.23 (d, *J* = 3.5Hz, 0.5H), 4.79-4.73 (m, 1H), 4.69-4.59 (m, 1H), 4.40-4.32 (m, 1H), 4.23 (q, *J* = 8.9, 7.5Hz, 2H), 4.07 (d, *J* = 11.8Hz, 1H), 3.94-3.84 (m, 1H), 3.00 (dt, *J* = 12.7, 6.2Hz, 1H), 2.94-2.84 (m, 1H). ^{19}F-NMR (376MHz, D_2O): δ -197.92 (s, 1F). ^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ 59.46 (s, 1P), 54.42 (s, 1P).

[1179] 实施例121、122、123:2-氨基-9-[(2R,5S,7R,8R,10R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)和2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-

d]嘧啶-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2和3)

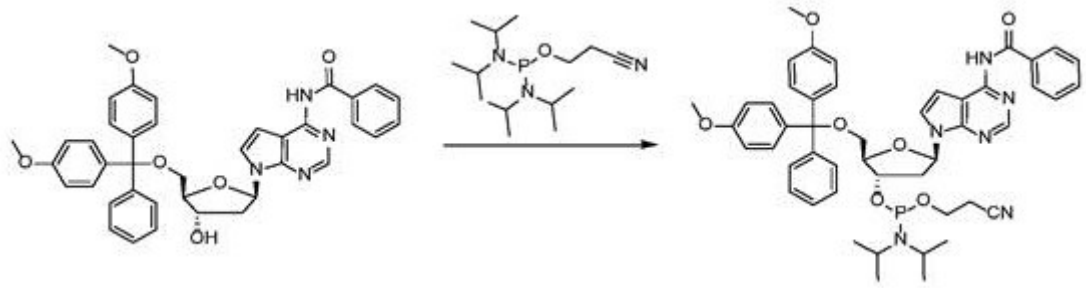
[1180] 

[1181] *步骤1:膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1182] 

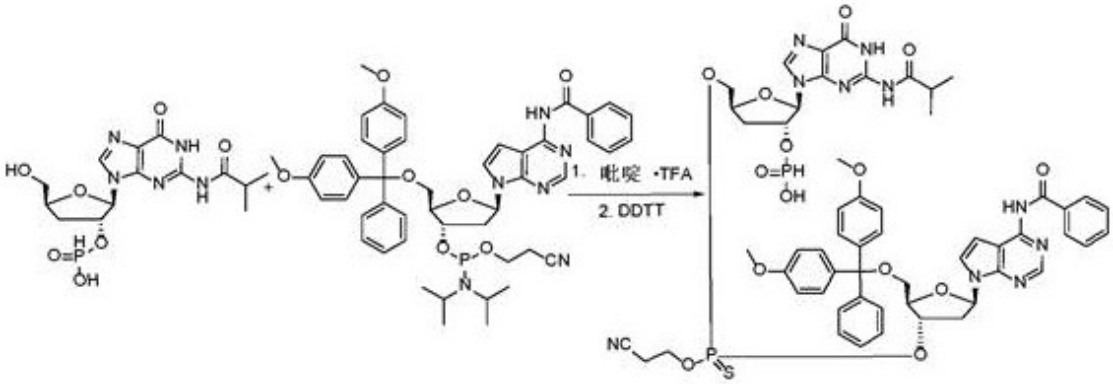
[1183] 向烧瓶中添加二异丙基亚磷酰胺(2R,3R,5S)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(4g, 4.76mmol)、MeCN(23.65ml)和水(0.158ml)。然后添加吡啶三氟乙酸盐(1.104g, 5.71mmol),并将混合物在室温下搅拌1小时,其后添加叔丁胺(20.02ml,190mmol)。在室温下搅拌1小时之后,在减压下浓缩混合物。将所得混合物溶于DCM(39.9ml)中,且然后添加水(0.798ml),随后添加二氯乙酸(2.75ml, 33.3mmol)。将溶液在室温下搅拌20分钟,且然后添加三乙基甲硅烷(133ml, 833mmol),并将反应物在室温下进一步搅拌2小时。在冷却至0℃之后,添加吡啶,并在减压下浓缩混合物。将所得样品分配于己烷(100mL)和水(20mL)之间。分离各层,并通过反相HPLC使用0.04%碳酸氢铵水溶液中的0-35%MeCN的梯度溶剂系统纯化水相。收集含产物级分并冻干以得到膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯。LCMS (ES, m/z): 400 $[M-H]^-$。

[1184] *步骤2:二异丙基亚磷酰胺(2R,3S,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯*

[1185] 

[1186] 向烧瓶中添加N-(7-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)苯甲酰胺(4g, 6.09mmol)、DCM(71.7ml)和4,5-二氰基咪唑(2.158g, 18.27mmol),并将溶液冷却至0℃。添加N,N,N',N'-四异丙基亚磷二酰胺(phosphorodiamidite)2-氰基乙基酯(6.77ml, 21.32mmol),并将混合物在0℃下搅拌15分钟,该时间之后将混合物在减压下浓缩并通过使用已烷中的30-100% EtOAc的梯度的硅胶色谱纯化以得到二异丙基亚磷酰胺(2R,3S,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯。LCMS (ES, m/z): 857 $[M+H]^+$。

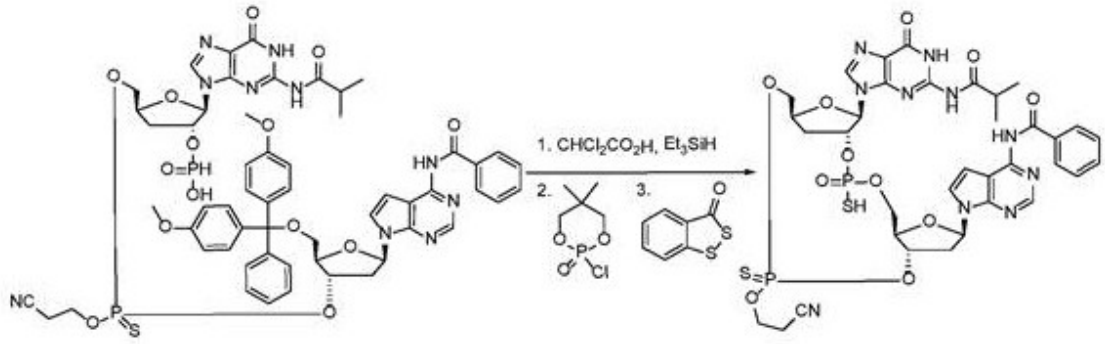
[1187] *步骤3:膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1188] 

[1189] 向含有膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(1.62g, 2.81mmol)的烧瓶中添加吡啶三氟乙酸盐(0.543g, 2.81mmol)、活化的4Å筛和MeCN(10mL),并将混合物在室温下搅拌20分钟。向含有二异丙基亚磷酰胺(2R,3S,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(2.408g, 2.81mmol)的单独烧瓶中添加MeCN (10mL)和活化的4Å筛,并将混合物在室温下搅拌20分钟,该时间之后添加膦酸氢酯溶液,并使用MeCN(2×4mL)完成转移。将混合物在室温下搅拌1小时,且然后添加((二甲基氨基-亚甲基(methylidene))氨基)-3H-1,2,4-二噻唑啉-3-硫酮(0.634g, 3.09mmol)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟且然后在减压下浓缩。使用0.04%碳酸氢铵水溶液中的5-100% MeCN的梯度溶剂系统的反相HPLC纯化得到膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧

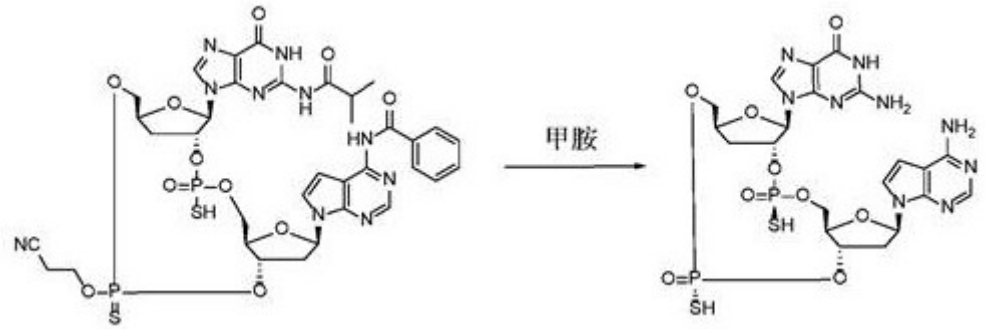
基)甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯。LCMS (ES, m/z): 1187 [M - H]⁻。

[1190] *步骤4:N-{7-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-10-氧化-10-硫烷基-2-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺*

[1191] 

[1192] 向含有膦酸氢(2R,3R,5S)-5-(((((2R,3S,5R)-5-(4-苯甲酰胺基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1H-嘌呤-9(6H)-基)四氢呋喃-3-基酯(1.34g, 1.127mmol)的烧瓶中添加DCM (22.54ml)和水(0.203ml, 11.27mmol),且然后添加二氯乙酸(1.116ml, 13.52mmol)。将溶液在室温下搅拌20分钟,且然后添加三乙基甲硅烷(28.1ml, 176mmol)。在室温下搅拌3小时之后,在减压下浓缩混合物。添加吡啶(50mL),且然后在减压下浓缩混合物。重复该过程2次,且然后添加吡啶(37.6ml),随后添加2-氯-5,5-二甲基-1,3,2-二氧杂磷杂环己烷2-氧化物(0.624g, 3.38mmol)。将所得混合物在室温下搅拌1小时,该时间之后添加水(610μl, 33.8mmol),随后添加3H-1,2-苯并二硫杂环戊烯-3-酮(285mg, 1.692mmol)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟且然后在减压下浓缩。使用100mM三乙基乙酸铵水溶液中的MeCN的梯度溶剂系统的HPLC纯化在冻干之后得到N-{7-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-10-氧化-10-硫烷基-2-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺的3种单独的非对映异构体,其都显示LCMS (ES, m/z): 899 [M - H]⁻。

[1193] *步骤5:2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[1194] 

[1195] 向含有N-{7-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-10-氧化-10-硫烷基-2-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺(122mg, 0.135mmol)的一种非对映异构体(最慢洗脱的)的小瓶中添加甲胺(33%,于EtOH中)(2ml, 16.07mmol)并将所得溶液在室温下搅拌4小时,该时间之后将其在减压下浓缩。通过使用100mM三乙基乙酸铵水溶液中的MeCN的梯度溶剂系统的反相HPLC的纯化得到实施例121,2-氨基-9-[(2R,5S,7R,8R,10R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)。

[1196] LCMS (ES, m/z): 672 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, DMSO-d_6) δ 10.54 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.29 (d, J = 2.7Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 6.60 – 6.53 (m, 3H), 6.44 (t, J = 6.9Hz, 1H), 5.73 (d, J = 2.7Hz, 1H), 4.95 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.38 – 4.27 (m, 2H), 3.97-3.91 (m, 2H), 3.90 – 3.82 (m, 1H), 3.64 (dt, J = 16.1, 9.3Hz, 1H), 2.69-2.63 (m, 1H), 2.63 (s, 12H), 2.60-2.54 (m, 3H), 2.22 – 2.13 (m, 1H), 1.01 – 0.94 (m, 18H).

[1197] 以类似方式处理来自步骤4的其它非对映异构体以产生2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮的两种额外非对映异构体:

[1198] 实施例122

[1199] (非对映异构体 2): LCMS (ES, m/z): 672 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, DMSO-d_6) δ 10.57 (s, 1H), 9.55 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.42 (d, J = 3.2Hz, 1H), 6.66 (d, J = 3.4Hz, 1H), 6.51 (s, 2H), 6.49 – 6.44 (m, 1H), 5.73 (d, J = 4.0Hz, 1H), 5.08 – 5.00 (m, 2H), 4.31 – 4.27 (m, 1H), 4.22 (t, J = 11.3Hz, 1H), 4.07 (q, J = 10.6Hz, 1H), 4.00 – 3.95 (m, 1H), 3.76 – 3.71 (m, 1H), 3.65 (td, J = 11.6, 6.1Hz, 1H), 3.02 (d, J = 4.2Hz, 12H), 2.67 – 2.61 (m, 1H), 2.61 – 2.53 (m, 2H), 2.18 (dt, J = 11.7, 5.3Hz, 1H), 1.12 (t, J = 7.3Hz,

[1200] 18H)。

[1201] 实施例123

[1202] (非对映异构体 3): LCMS (ES, m/z): 672 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (600MHz, DMSO-d_6) δ 10.53 (s, 1H), 8.01 (s, 3H), 7.28 (d, J = 3.4Hz, 1H), 6.97 (s, 2H), 6.56 (d, J = 3.5Hz, 1H), 6.49 (s, 2H), 6.44 (dd, J = 8.6, 5.8Hz, 1H), 5.70 (d, J = 3.9Hz, 1H), 5.00 – 4.92 (m, 1H), 4.90 – 4.83 (m, 1H), 4.33 – 4.27 (m, 1H), 4.12-3.96 (m, 4H), 3.81 (q, J = 12.8, 11.6Hz, 1H), 3.69 (dd, J = 12.0, 6.0Hz, 2H), 2.83 – 2.77 (m, 1H), 2.65 (d, J = 37.6Hz, 12H), 2.23 (dt, J = 12.8,

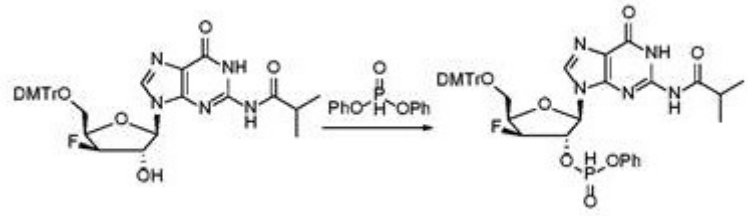
[1203] 6.7Hz, 1H), 1.03 – 0.92 (m, 18H)。

[1204] 实施例124、125和126:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲

基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1-3)

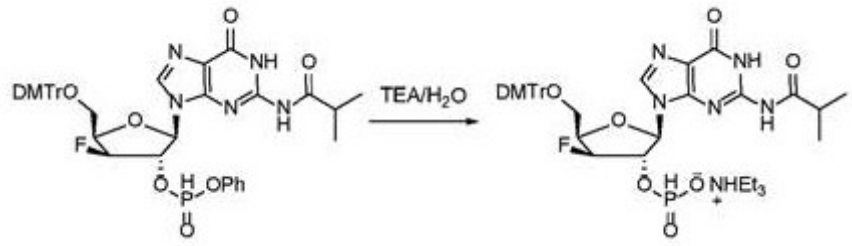
[1205] 

[1206] *步骤1:膦酸(2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯苯基酯*

[1207] 

[1208] 在Ar下,向N-(9-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(630mg,0.96mmol)于吡啶(5mL)中的溶液中添加膦酸二苯酯(1.07g, 4.56mmol),并将混合物在室温下搅拌20分钟。其未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 798.3 $[M + H]^+$。

[1209] *步骤2:膦酸(2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

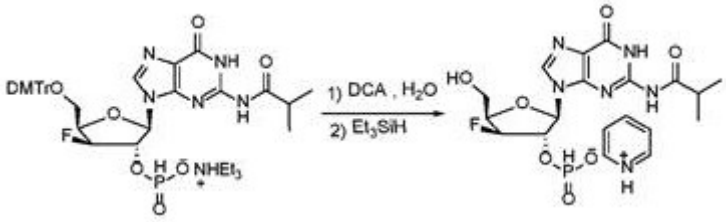
[1210] 

[1211] 在0℃下,向来自步骤1的反应混合物中添加水(1mL)、三乙胺(1mL)。将所得混合物在室温下搅拌20分钟。然后,将其浓缩,并将残余物分配于CH_2Cl_2 (50mL)和$NaHCO_3$水溶液(5%, 20mL)之间。将有机层用$NaHCO_3$水溶液(5%, 20mL)洗涤,干燥($Na_2S_2O_4$),浓缩并通过使用CH_2Cl_2 (1% Et_3N)中的0-7% MeOH的硅胶柱色谱纯化以得到产物。

LCMS

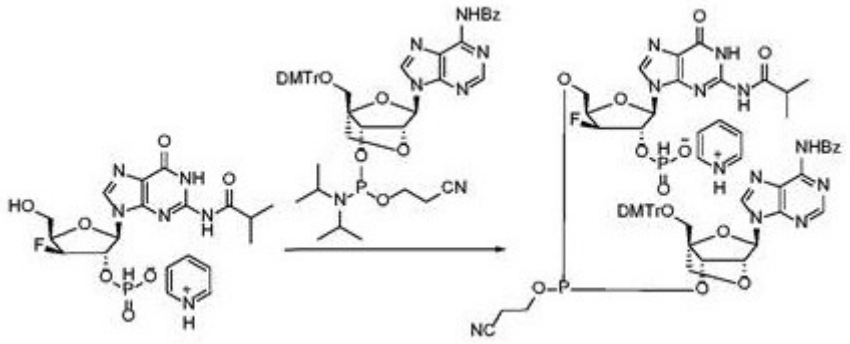
[1212] (ES, m/z): 722.2 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, CD_3OD): δ 7.76 (s, 1H), 7.74 (s, 0.5H), 7.51 (d, J = 1.5Hz, 1H), 7.48 (q, J = 2.4, 1.9Hz, 1H), 7.41-7.34 (m, 4H), 7.34-7.27 (m, 2H), 7.26-7.21 (m, 1H), 6.92-6.85 (m, 4H), 6.22 (s, 1H), 6.15 (s, 0.5H), 5.37 (d, J = 2.7Hz, 0.5H), 5.28-5.19 (m, 1.5H), 4.73-4.69 (m, 0.5H), 4.66-4.62 (m, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.65-3.55 (m, 1H), 3.53-3.44 (m, 1H), 3.12 (q, J = 7.3Hz, 8H), 2.75 (p, J = 6.8Hz, 1H), 1.33-1.22 (m, 18H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 2.67 (s, 1P).

[1213] *步骤3:磷酸(2R,3S,4S,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1214] 

[1215] 在室温下,向磷酸(2R,3S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(540mg, 0.64mmol)于CH_2Cl_2 (7mL)中的搅拌溶液中添加水(0.115g, 6.4mmol)和2,2-二氯乙酸/CH_2Cl_2 (6%, 7ml, 5.76mmol)。将混合物在室温下搅拌15分钟,且然后添加Et_3SiH (15mL)。在40分钟之后,添加吡啶(0.90mL),并将混合物搅拌5分钟。将其浓缩,且残余物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 419.9 [M + H]$^+$。

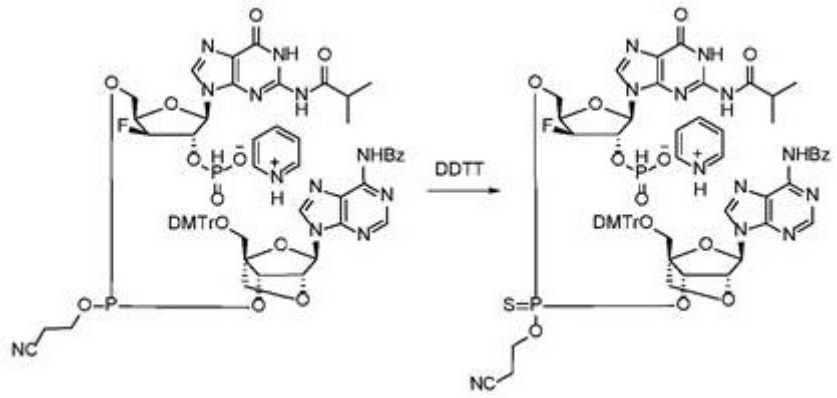
[1216] *步骤4:磷酸(2R,3S,4S,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1217] 

[1218] 使来自步骤3的粗制物与ACN (3×5mL)共蒸发,在Ar下再溶于ACN (3mL)中,并通过添加活化的4Å分子筛(100mg)进行干燥。使二异丙基亚磷酰胺(1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基酯(2-氰基乙基)酯(684.84mg, 0.774mmol)与ACN (3×5mL)共蒸发,再溶于ACN (3mL)中,并通过添加活化的4Å分子筛(100mg)进行干燥。在30分钟之后,将其添加至先前制备的含有磷酸吡啶-1-鎓(2R,3S,4S,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯的混合物中。将所得混合物在室温下搅

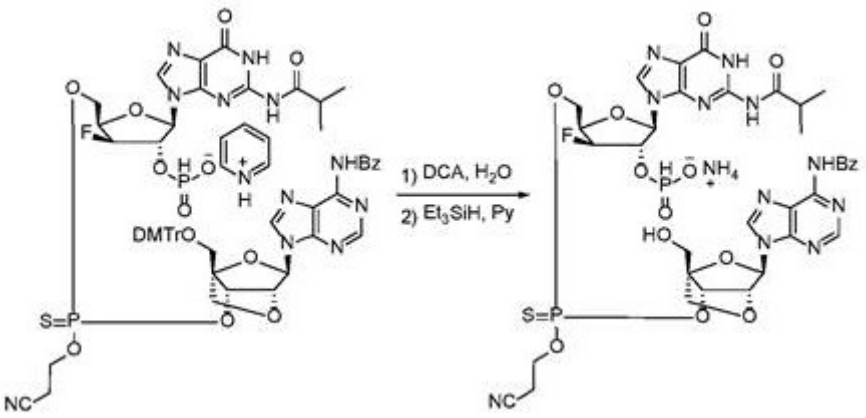
拌30分钟。然后其未经纯化即用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 1202.1 [M + H]$^+$。

[1219] *步骤5:磷酸(2R,3S,4S,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1220] 

[1221] 向来自步骤4的混合物中添加(*E*)-*N*,*N*-二甲基-*N*'-(3-硫代-3*H*-1,2,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺(144.32mg, 0.704mmol),并将混合物在室温下搅拌30分钟。然后,将其浓缩,且粗制物未经纯化即用于下一步骤。LCMS (ES, m/z): 1234.3 [M + H]$^+$。

[1222] *步骤6:磷酸(2R,3S,4S,5R)-5-(((((1S,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-(羟基甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1223] 

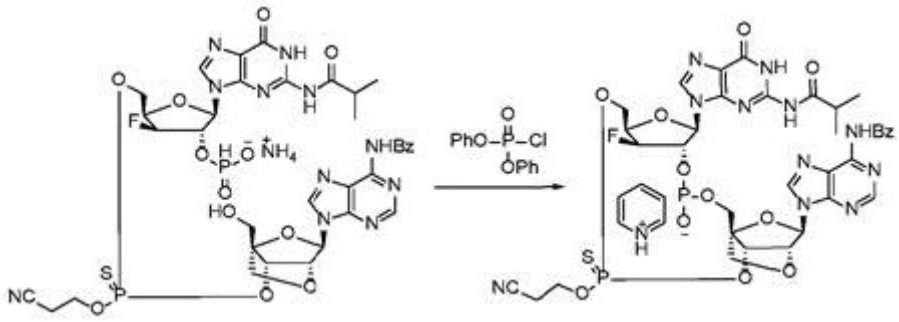
[1224] 在室温下,向来自步骤5的粗制物于CH_2Cl_2中的溶液(7mL)中添加水(120mg, 6.4mmol)和2,2-二氯乙酸/CH_2Cl_2 (6%, 7ml, 6mmol)。在5分钟之后,添加三乙基甲硅烷(15mL),并将其再搅拌2小时。然后,添加吡啶(0.9mL),并将其浓缩。残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

LCMS (ES, m/z): 933.9 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.74-8.64 (m, 1H), 8.58-8.52 (m, 1H), 8.16-8.06 (m, 2H), 7.98-7.88 (m, 1H), 7.75 (d, *J* = 4.6Hz, 0.5H), 7.67 (t, *J* = 7.3Hz, 1H), 7.60-7.56 (m, 2H), 6.25-6.22 (m, 1H), 6.19-6.10 (m, 1H), 5.91 (s, 0.5H), 5.46-5.22 (m, 3H), 5.12 (d, *J* = 12.4Hz, 1H), 4.84-4.49 (m, 3H), 4.35 (tdd, *J* = 13.2, 6.1, 3.0Hz, 2H), 4.14 (d, *J* = 8.5Hz, 1H), 4.11-3.96 (m, 3H), 2.91 (dt, *J* = 16.4, 6.0Hz, 2H), 2.81-2.68 (m, 1H), 1.29-1.21 (m, 6H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 67.84, 66.33 (2 s, 1P); 2.65, 2.52 (2 s, 1P).

[1225]

[1226] *步骤7：(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-2-(2-氰基乙氧基)-18-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2-硫化物*

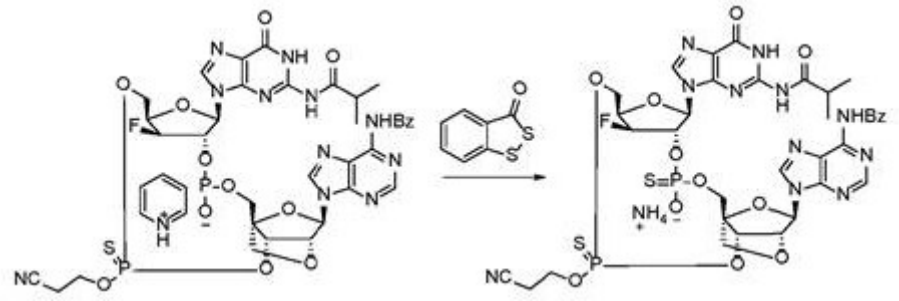
[1227]



[1228] 在-40℃和Ar下，向吡啶(30mL)中添加氯磷酸二苯酯(1783.7mg，6.64mmol)且然后经20分钟添加膦酸(2R,3S,4S,5R)-5-((((((1S,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-(羟基甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(310mg，0.33mmol，与吡啶3×5mL共蒸发)于CH_2Cl_2(30mL)中的溶液。将所得混合物在-40℃下搅拌20分钟。其未经纯化即立即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 916.1 [M + H]$^+$。

[1229] *步骤8：(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-2-(2-氰基乙氧基)-18-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2,10-二硫化物*

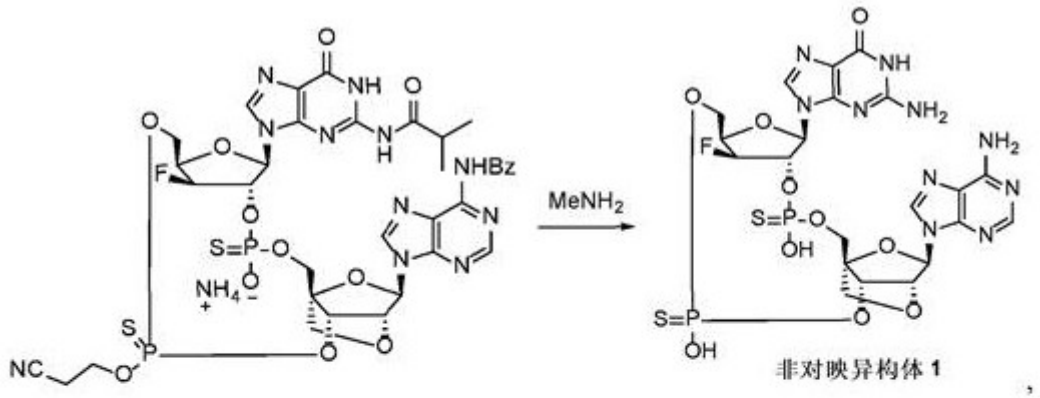
[1230]

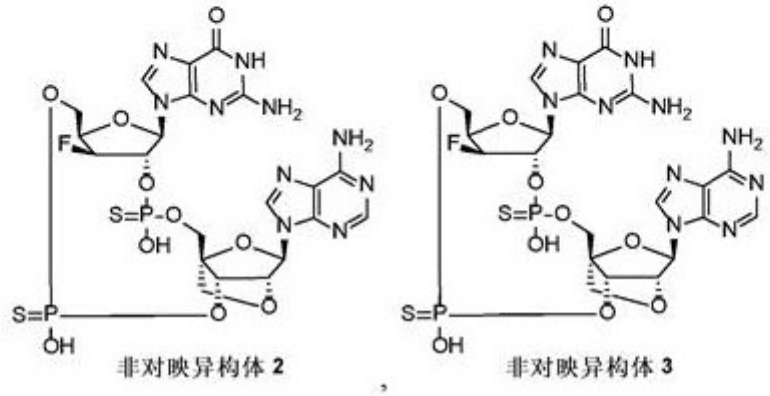


[1231] 在-40℃下，向来自步骤7的溶液中添加3*H*-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(83.6mg，0.498mmol)和水(179mg，9.92mmol)。将混合物在室温下搅拌40分钟。然后，将其浓缩，且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化，以得到产物。

[1232] LCMS (ES, m/z): 947.8 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.79-8.58 (m, 2H), 8.18-8.06 (m, 2H), 7.92 (d, *J* = 13.5Hz, 1H), 7.69-7.66 (m, 1H), 7.63-7.54 (m, 2H), 6.40- 6.14 (m, 2H), 6.03-5.56 (m, 1.5H), 5.39-5.10 (m, 2.5H), 4.93-4.85 (m, 2H), 4.84-4.43 (m, 3H), 4.43-3.98 (m, 3H), 2.95 (t, *J* = 5.9Hz, 1H), 2.84-2.66 (m, 2H), 1.30-1.19 (m, 6H). ^{31}P-NMR (162MHz, CD_3OD): δ 66.60-64.98 (m, 1P), 56.95-55.65 (m, 1P).

[1233] *步骤9:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1-3)*

[1234] 



[1235] 将(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-2-(2-氰基乙氧基)-18-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2,10-二硫化物(260mg, 0.27mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 20mL)中,并将所得溶液在室温下搅拌3小时。然后,将其浓缩,且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(50mM)中的0至14% ACN洗脱的制备型HPLC(Atlantis Prep RP C18 OBD柱,19mm×250mm)经25分钟纯化,以提供2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮的三种非对映异构体:

[1236] 实施例124 (T_R: 22.52min):

LCMS (ES, m/z): 719.0 [M - H]⁻. ^{1}H-NMR: (400MHz,

[1237] D_2O + DCl): δ 8.71 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 5.73 (s, 1H), 5.65 (s, 1H), 5.22-5.10 (m, 1H), 4.74-4.72 (m, 2H), 4.45 (d, J = 4.1Hz, 1H), 4.21-4.11 (m, 1H), 4.05-3.94 (m, 2H), 3.83-3.56

[1238] (m, 2H), 3.46 (s, 2H). ^{31}P-NMR: (162MHz, D_2O + DCl): δ 60.35 (s, 1P), 56.87 (s, 1P)。

[1239] 实施例125 (T_R: 15.75min):

LCMS (ES, m/z): 719.0 [M - H]⁻. ^{1}H-NMR: (400MHz,

[1240] D_2O): δ 8.31 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.61-5.49 (m, 1H),

[1241] 5.35 (s, 1H), 5.10 (d, J = 9.8Hz, 1H), 4.71-4.55 (m, 1H), 4.51-4.20 (m, 3H), 4.18-3.95 (m, 4H).

[1242] ^{31}P-NMR: (162MHz, D_2O): δ 54.87-51.81 (m, 2P)。

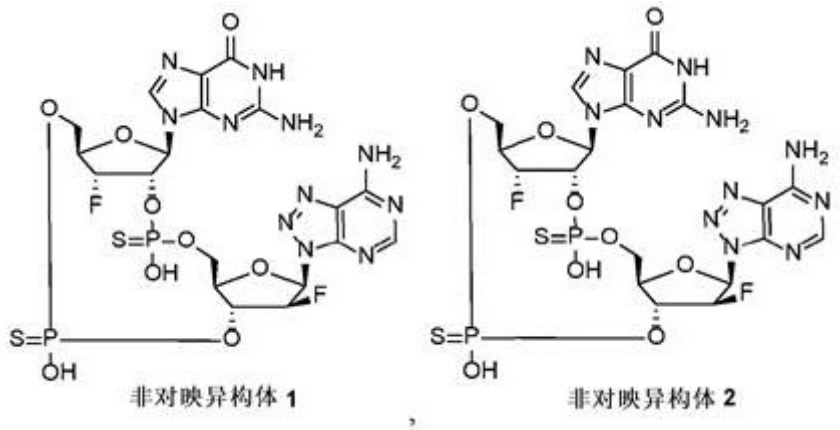
[1243] 实施例126 (T_R: 13.17min):

LCMS (ES, m/z): 718.8 [M - H]⁻. ^{1}H-NMR: (300MHz,

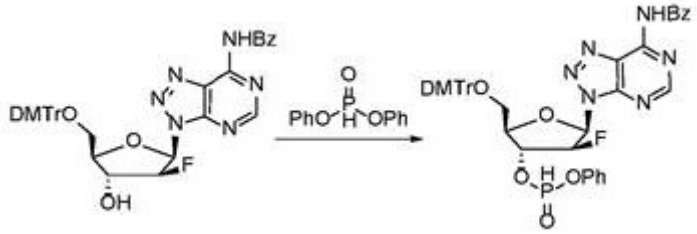
[1244] D_2O + DCl): δ 8.89 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.30-5.14 (m, 1H), 4.98 (t, J = 5.2Hz, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.60 (s, 1H), 4.35-4.14 (m, 2H), 4.07 (d, J = 11.4Hz, 1H), 4.01-3.85 (m, 2H), 3.68-3.62 (m, 2H). ^{31}P-NMR: (121MHz, D_2O + DCl): δ 60.15 (s, 1P),

[1245] 56.60 (s, 1P)。

[1246] 实施例127和128:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)和2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)

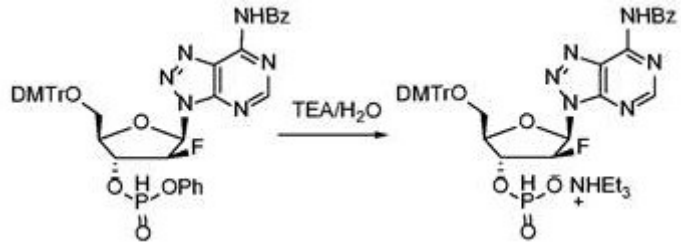
[1247] 

[1248] *步骤1:*磷酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯苯基酯

[1249] 

[1250] 在0℃和Ar下，经2分钟向N-(3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-基)苯甲酰胺(770mg，1.138mmol)于吡啶(5ml)中的搅拌溶液中添加膦酸二苯酯(1.33g，5.69mmol)。将所得混合物在室温下搅拌20分钟。其未经纯化即直接用于下一反应步骤。

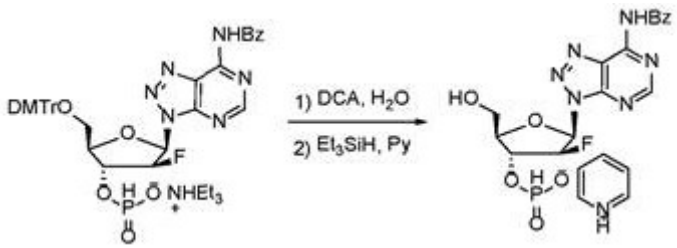
[1251] *步骤2:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯*

[1252] 

[1253] 在0℃下，经5分钟向来自步骤1的反应混合物中添加Et_3N (0.56mL)/水(0.56mL)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟。将其浓缩，并将残余物分配于CH_2Cl_2 (60mL)和$NaHCO_3$水溶液(5%，24mL)之间。将有机层用$NaHCO_3$水溶液(5%，2x24mL)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，浓缩，并通过使用CH_2Cl_2 (0.5% Et_3N)中的0-10% MeOH的硅胶上的色谱纯化以得到产物。

[1254] LCMS (ES, m/z): 741.2 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (400MHz, CD_3OD): δ 8.79 (s, 1H), 8.21-8.11 (m, 2H), 7.71 (t, *J* = 7.4Hz, 1H), 7.67-7.58 (m, 2.5H), 7.46-7.37 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 4H), 7.18-7.13 (m, 2H), 7.03 (dd, *J* = 6.4, 2.8Hz, 1H), 6.76-6.73 (m, 2H), 6.69-6.65 (m, 2H), 6.04 (s, 0.5H), 5.85 (t, *J* = 6.4Hz, 0.5H), 5.72 (t, *J* = 6.4Hz, 0.5H), 5.60 (td, *J* = 16.9, 6.9Hz, 1H), 4.44-4.40 (m, 1H), 3.77-3.68 (m, 8H), 3.57 (dd, *J* = 10.6, 2.9Hz, 1H), 2.91 (q, *J* = 7.3Hz, 18H), 1.20 (t, *J* = 7.3Hz, 27H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 2.48 (s, 1P).

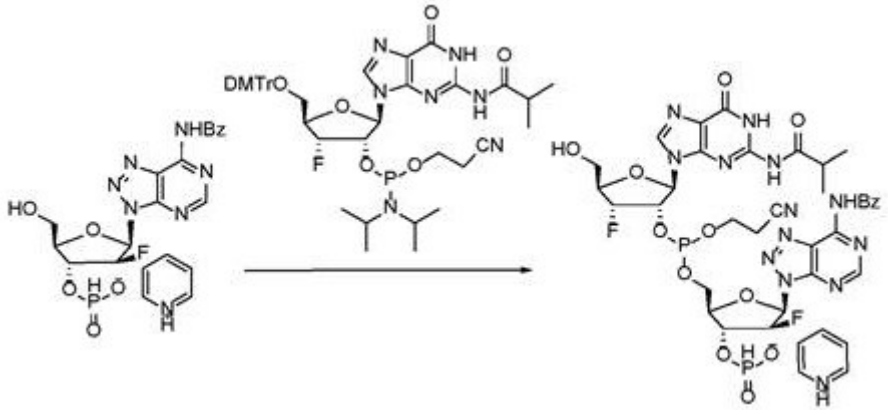
[1255] *步骤3:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基酯*

[1256] 

[1257] 向膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(610mg，0.65mmol)于CH_2Cl_2 (9.8mL)中的溶液中添加水(0.12g，6.5mmol)和二氯乙酸/CH_2Cl_2

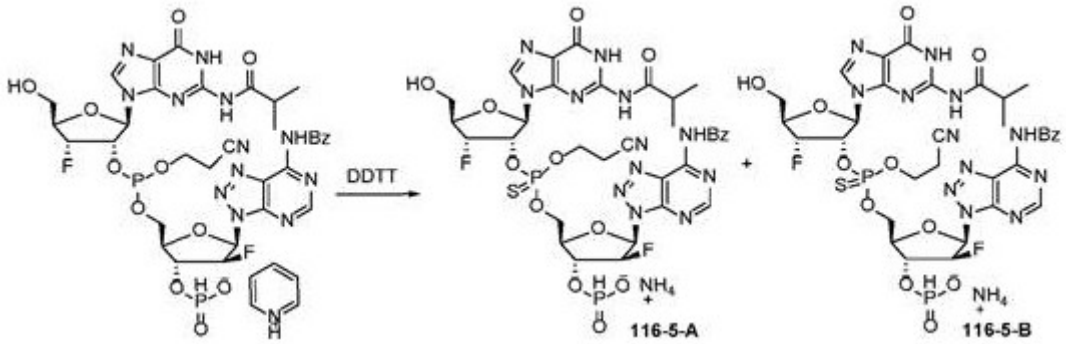
(0.6M, 9.8mL, 5.9mmol)。在30分钟之后,添加三乙基甲硅烷(20mL)且再继续搅拌2小时。然后,添加吡啶(5mL),并将其浓缩。粗制物未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 439.1 [M + H]$^+$。

[1258] *步骤4:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((((2-氰基乙氧基)(((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)磷基)氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯*

[1259] 

[1260] 使步骤3的粗产物与干燥的ACN (3×3mL)共蒸发,再溶于ACN (3mL)中,并通过添加活化的4Å分子筛(200mg)进行干燥。使二异丙基亚磷酰胺(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(0.824g, 0.960mmol)与干燥的ACN (3×3mL)共蒸发,再溶于ACN (5mL)中,并通过添加活化的4Å分子筛(200mg)进行干燥。在30分钟之后,将其添加至先前制备的含有膦酸吡啶-1-鎓(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基酯的混合物中。将其在室温下搅拌30分钟,且反应混合物未经纯化即直接用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 893.2 [M + H]$^+$。

[1261] *步骤5:非对映异构体膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((((2-氰基乙氧基)(((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(116-5-A)和膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((((2-氰基乙氧基)(((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(116-5-B)*

[1262] 

[1263] 在室温下,向来自步骤4的反应混合物中添加(E)-N,N-二甲基-*N*'-(3-硫代-3*H*-1,2,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺(181mg, 0.880mmol),并将混合物搅拌1小时。然后,将其浓缩,且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的0至28% ACN洗脱的反相(AQ-C18)色谱经88分钟纯化。

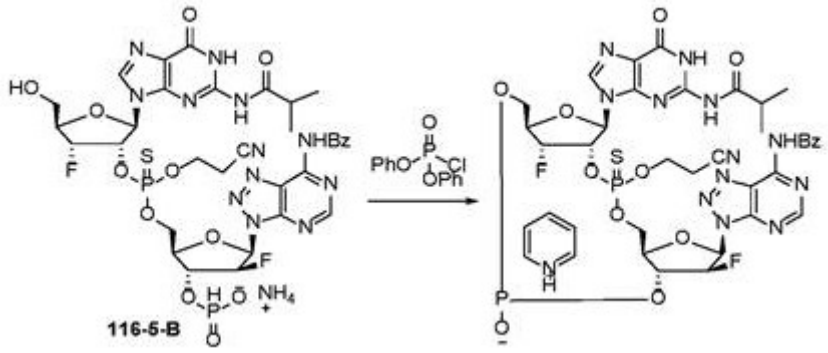
[1264] 具有期望质量的第一级分(T_R = 50min)得到膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((((2-氰基乙氧基)(((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(116-5-A)。

[1265] LCMS (ES, m/z): 924.9 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, CD_3OD): δ 8.90 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.8Hz, 2H), 7.75 (s, 0.5H), 7.69 (t, *J* = 7.4Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.7Hz, 2H), 7.02 (dd, *J* = 6.5, 2.6Hz, 1H), 6.27-6.13 (m, 1.5H), 5.79-5.51 (m, 3H), 5.47-5.21 (m, 12H), 4.58 (dd, *J* = 15.4, 7.6Hz, 2H), 4.50-4.25 (m, 3H), 4.05 (ddd, *J* = 24.7, 13.2, 6.1Hz, 2H), 3.90-3.76 (m, 4H), 2.85-2.56 (m, 3H), 1.34 (d, *J* = 6.5Hz, 3H), 1.25-1.19 (m, 3H). ^{31}P-NMR (162MHz, CD_3OD): δ 67.56 (s, 1P), 3.09 (s, 1P).

[1266] 具有期望质量的第二级分(T_R = 55min)得到膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((((2-氰基乙氧基)(((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(116-5-B)。

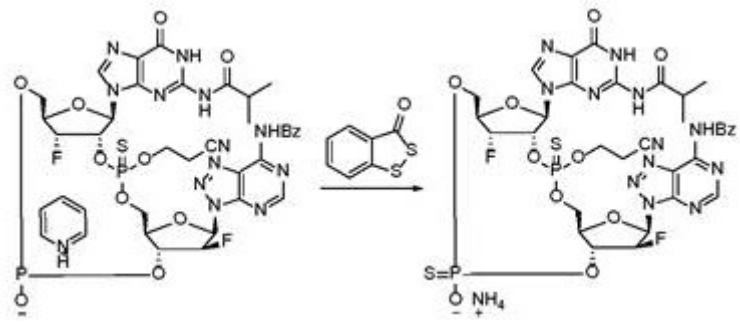
[1267] LCMS (ES, m/z): 925.1 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, CD_3OD): δ 8.87 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 7.8Hz, 2H), 7.75 (s, 0.5H), 7.70 (t, *J* = 7.4Hz, 1H), 7.61 (t, *J* = 7.7Hz, 2H), 6.91 (dd, *J* = 6.2, 3.4Hz, 1H), 6.23 (d, *J* = 7.1Hz, 1H), 6.17 (s, 0.5H), 5.74-5.54 (m, 3H), 5.46 (d, *J* = 4.6Hz, 0.5H), 5.33 (d, *J* = 4.6Hz, 0.5H), 4.65-4.24 (m, 4H), 4.15 (dt, *J* = 13.0, 5.8Hz, 2H), 3.95-3.75 (m, 2H), 2.90-2.67 (m, 3H), 1.36-1.31 (m, 3H), 1.19 (d, *J* = 6.8Hz, 3H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 67.29 (s, 1P), 3.07 (s, 1P).

[1268] *步骤6:(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-10-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{7-[(苯基羰基)氨基]-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2-醇盐10-硫化物*

[1269] 

[1270] 在-40℃和Ar下，向吡啶(10mL)中添加氯磷酸二苯酯(628mg，2.34mmol)，且然后经20分钟添加膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(7-苯甲酰胺基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2-((((2-氰基乙氧基)((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)硫代磷酰基)-氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(116-5-B)(110mg，0.105mmol，与吡啶(3×5mL)共蒸发)于CH_2Cl_2(10mL)中的溶液。将其在-40℃下搅拌20分钟。反应混合物未经纯化即立即用于下一步骤中。

[1271] *步骤7：(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-10-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{7-[(苯基羰基)氨基]-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2-醇盐2,10-二硫化物*

[1272] 

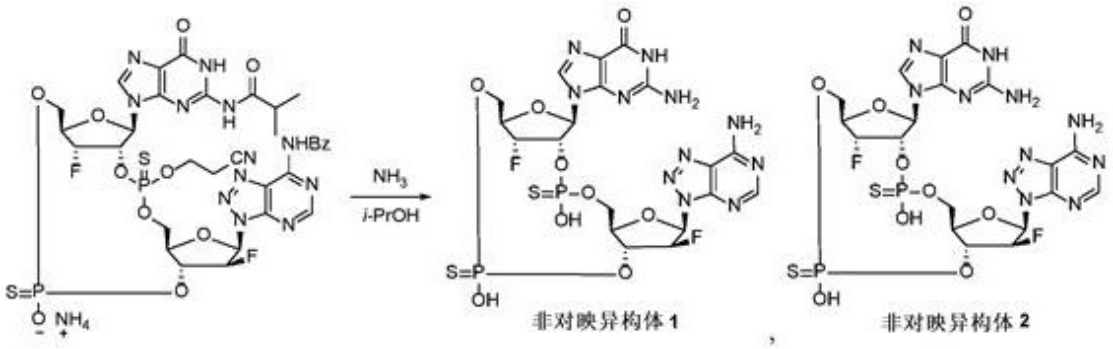
[1273] 在-20℃下，向来自步骤6的混合物中添加3*H*-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(27.8mg，0.165mmol)和水(42mg，2.3mmol)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟。将其浓缩，且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的0至28% ACN洗脱的反相(AQ-C18)色谱纯化，以得到产物。

[1274] LCMS (ES, m/z): 938.9
$[M+H]^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, CD_3OD): δ 8.94-8.71 (m, 2H), 8.23-8.06 (m, 2H), 7.75-7.67 (m, 1H), 7.64 (t, *J* = 7.5Hz, 2H), 7.11-6.97 (m, 1H), 6.32-6.17 (m, 2H), 6.02-5.73 (m, 2H), 5.68-5.38 (m, 1H), 4.73 (d, *J* = 24.3Hz, 1H), 4.68-4.42 (m, 4H), 4.39-4.19 (m, 2H), 4.06-3.66 (m, 2H),

[1275] 2.99-2.62 (m, 2H), 2.61-2.37 (m, 1H), 1.20 (d, *J* = 6.8Hz, 3H), 1.12 (d, *J* = 6.7Hz, 3H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD): δ 64.05, 63.79 (2 s, 1P); 56.67, 56.27 (2 s, 1P).

[1276] *步骤8：2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-*

6-酮(非对映异构体1和2)

[1277] 

[1278] 在-60℃下,向钢罐(150mL)中的(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-10-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{7-[(苯基羰基)氨基]-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2-醇盐2,10-二硫化物吡啶鎓中添加在-60℃的氨/异丙醇(50mL)。将反应器紧密密封且然后在50℃下加热16小时。然后,在减压下去除挥发性组分,且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(50mM)中的0至5% ACN洗脱的制备型HPLC (Atlantis Prep T3 OBD柱,19×250mm)经25分钟纯化。

[1279] 实施例127 (T_R = 17.32min):2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂-十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)。

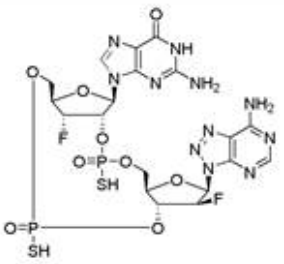
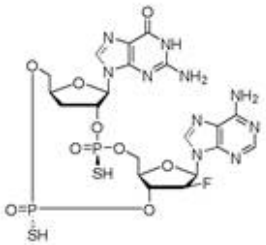
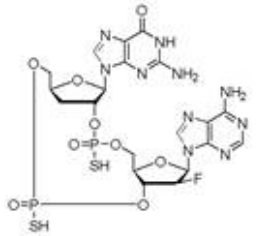
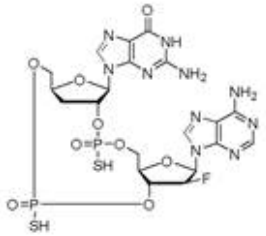
[1280] LCMS (ES, m/z): 709.8 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR: (400MHz, D_2O): δ 8.32 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 6.78 (dd, *J* = 11.1, 4.9Hz, 1H), 6.07 (d, *J* = 8.6Hz, 1H), 5.81 (t, *J* = 4.6Hz, 0.5H), 5.68 (t, *J* = 4.7Hz, 0.5H), 5.63 (dq, *J* = 9.8, 5.0Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 3.5Hz, 0.5H), 5.45 (d, *J* = 3.4Hz, 0.5H), 5.43-5.26 (m, 1H), 4.65-4.63 (m, 1H), 4.56 (q, *J* = 5.6Hz, 1H), 4.31-4.23 (m, 3H), 4.12-4.05 (m, 1H). ^{31}P-NMR: (162MHz, D_2O): δ 55.76 (s, 1P), 54.26 (s, 1P).

[1281] 实施例128 (T_R = 21.10min):2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂-十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)。

[1282] LCMS (ES, m/z): 709.8 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR: (400MHz, D_2O): δ 8.26 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 6.79 (dd, *J* = 9.4, 5.3Hz, 1H), 6.05 (d, *J* = 8.6Hz, 1H), 5.85 (t, *J* = 5.0Hz, 0.5H), 5.72 (t, *J* = 5.0Hz, 0.5H), 5.65-5.35 (m, 3H), 4.69-4.62 (m, 1H), 4.48 (d, *J* = 5.5Hz, 1H), 4.42 (t, *J* = 11.1Hz, 1H), 4.18 (t, *J* = 6.2Hz, 2H), 4.09-4.06 (m, 1H). ^{31}P-NMR (162MHz, D_2O): δ 54.74 (s, 1P), 53.84 (s, 1P).

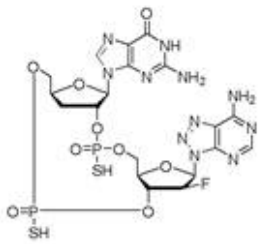
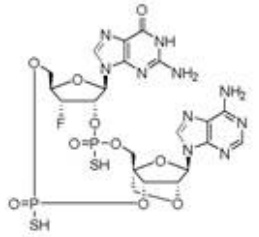
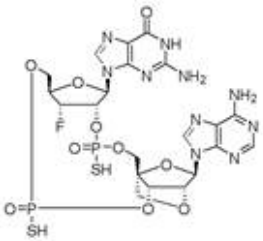
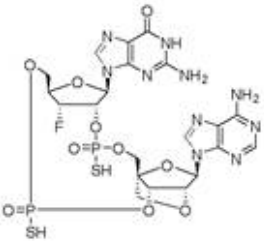
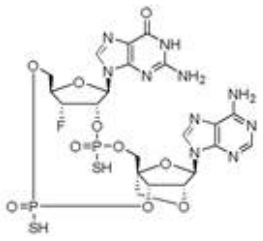
[1283] 根据类似于上文实施例116至128中所概述的程序的程序使用适当的单体(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)在偶联步骤中制备或可制备如下表6中所示的实施例129至243。

[1284] 表6

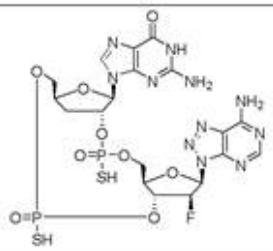
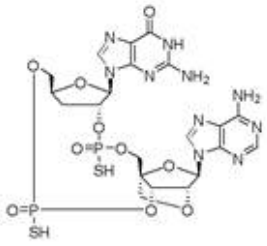
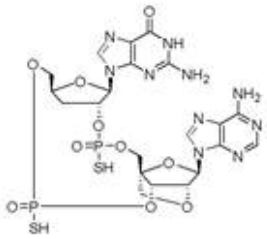
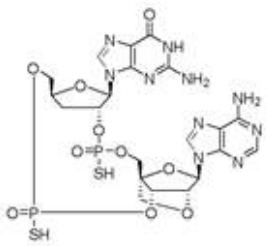
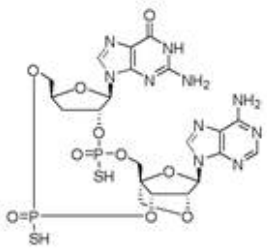
实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
129		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	710
130		2-氨基-9-[(2R,5S,7R,8R,10R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	691
131		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	691
132		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	691

[1285]

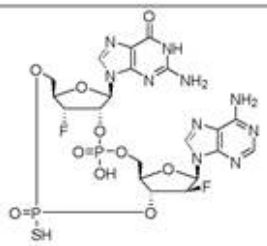
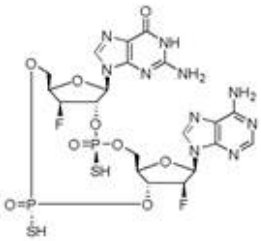
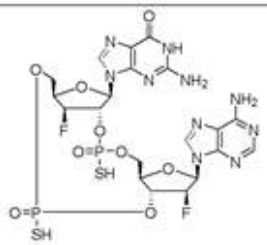
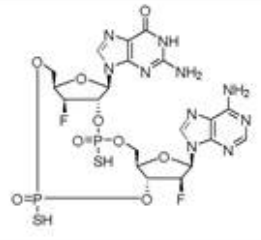
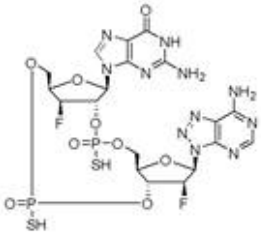
[1286]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
133		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	694
134		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	719
135		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	719
136		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	719
137		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	719

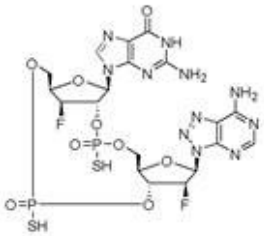
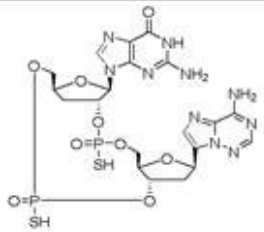
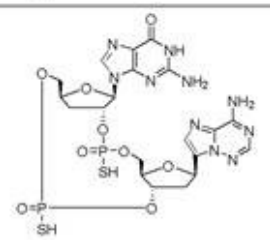
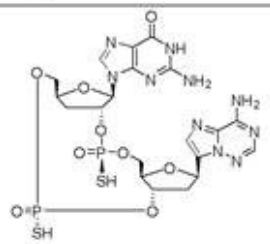
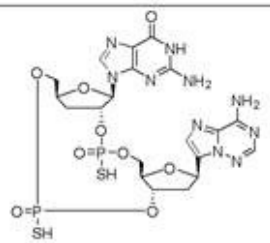
[1287]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
138		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	692
139		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	701
140		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	701
141		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	701
142		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	701

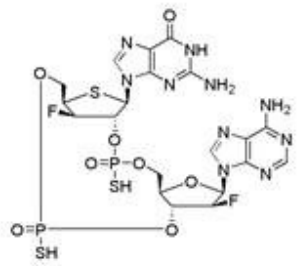
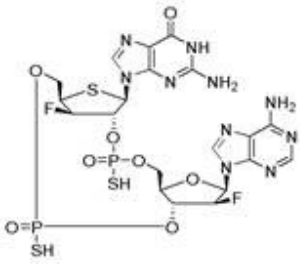
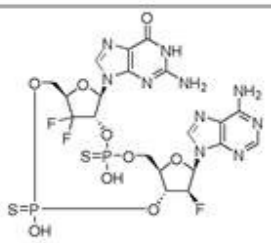
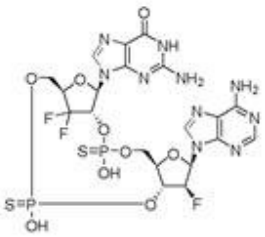
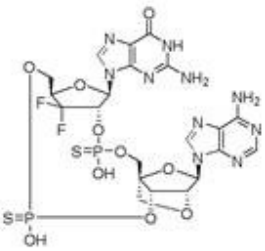
[1288]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
143		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-10-氧化-2-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	694
144		2-氨基-9-[(2R,5R,7R,8S,10R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	709
145		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	709
146		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	709
147		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	710

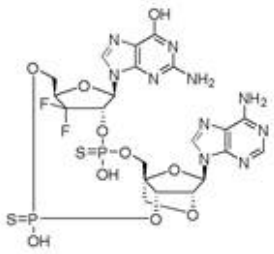
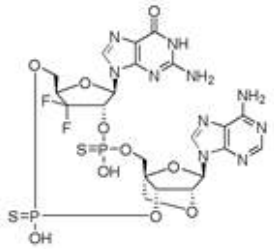
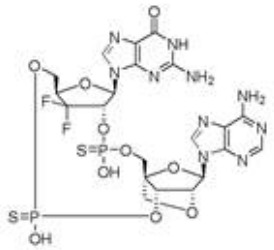
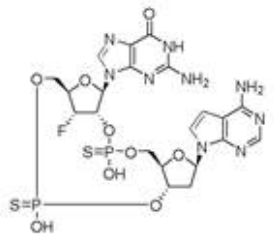
[1289]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
148		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	710
149		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	673
150		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	673
151		2-氨基-9-[(2R, 5S,7R,8R,10R, 12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	673
152		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	673

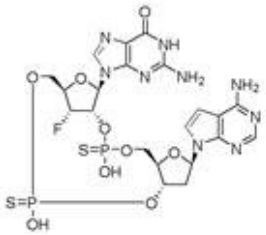
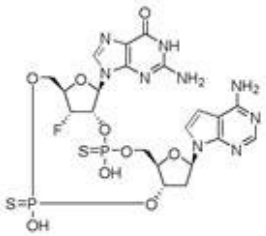
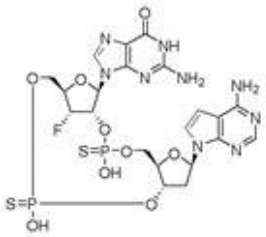
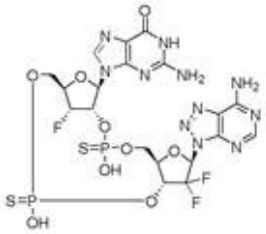
[1290]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
153		(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐) 2,10-二氧化物 (非对映异构体 1)	725
154		(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐) 2,10-二氧化物 (非对映异构体 2)	725
155		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16,16-三氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	727
156		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16,16-三氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	727
157		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18,18-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	737

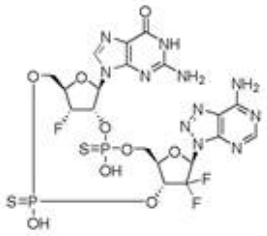
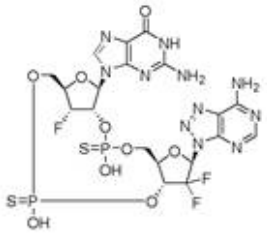
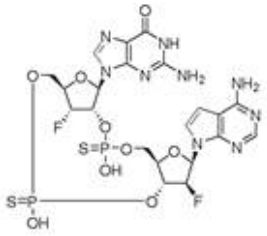
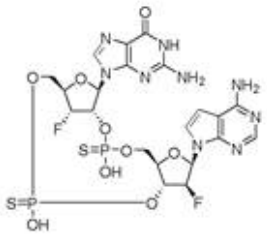
[1291]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
158		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18,18-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	737
159		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18,18-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	737
160		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18,18-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	737
161		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	690

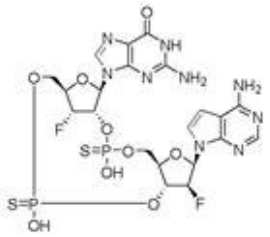
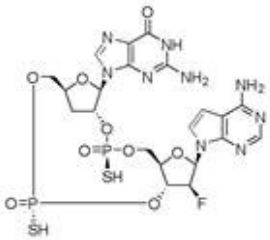
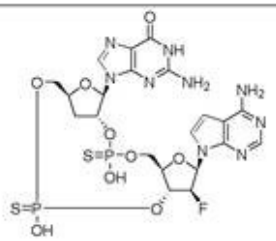
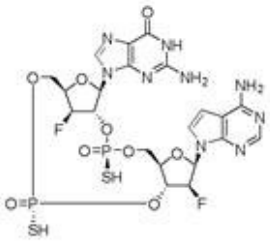
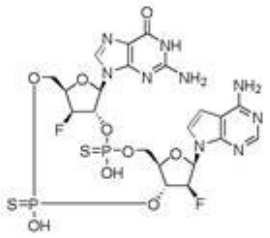
[1292]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
162		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	690
163		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	690
164		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	690
165		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	728

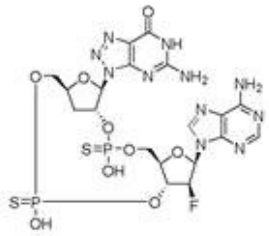
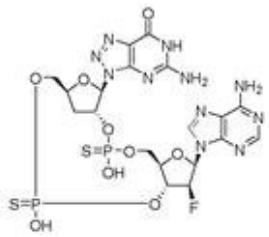
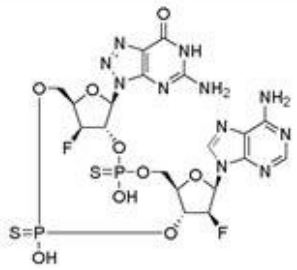
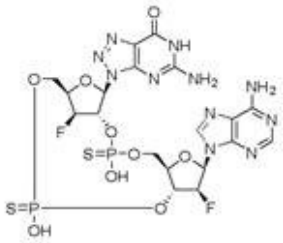
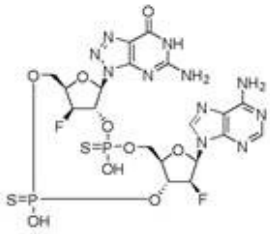
[1293]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
166		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	728
167		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	728
168		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	708
169		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	708

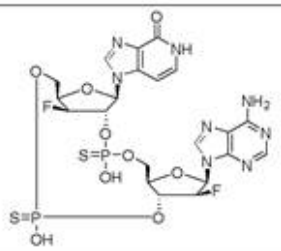
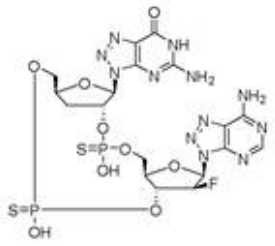
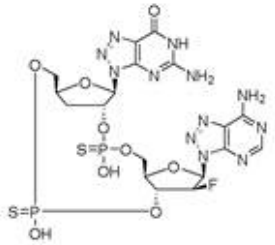
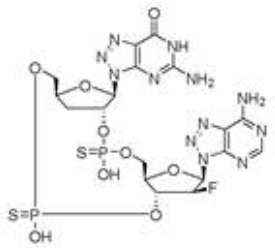
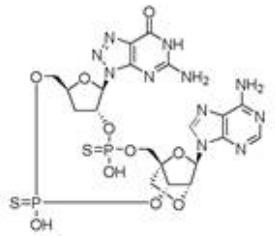
[1294]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
170		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	708
171		2-氨基-9-[(2R, 5S,7R,8R,10R, 12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	690
172		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	690
173		2-氨基-9-[(2R, 5R,7R,8S,10R, 12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	708
174		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	708

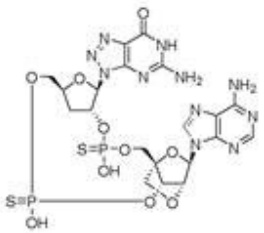
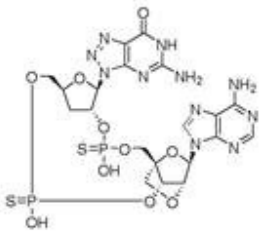
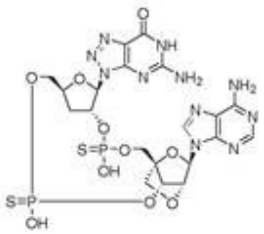
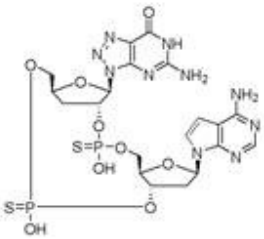
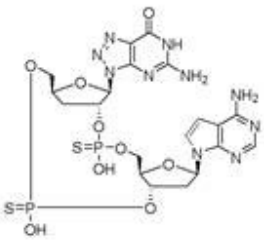
[1295]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
175		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	692
176		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	692
177		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	710
178		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	710
179		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	710

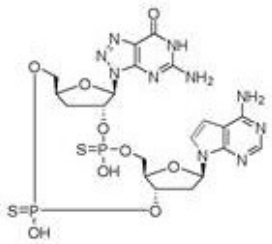
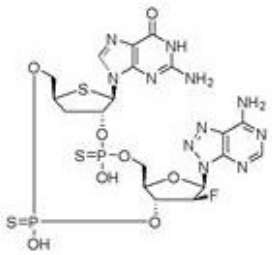
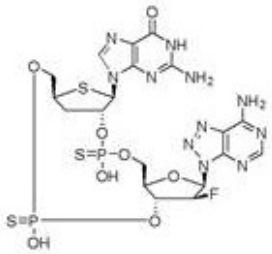
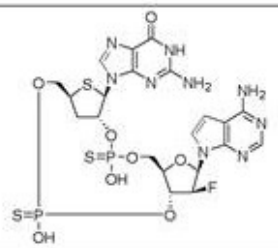
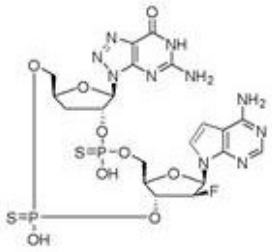
[1296]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
180		1-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮	693
181		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	693
182		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	693
183		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	693
184		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	702

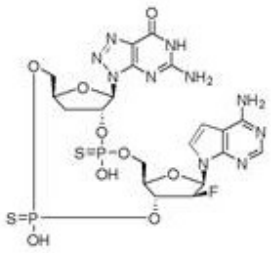
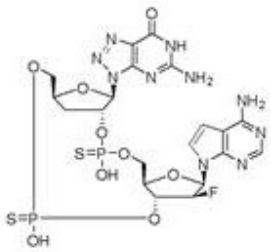
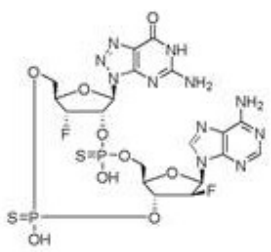
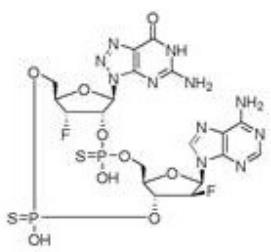
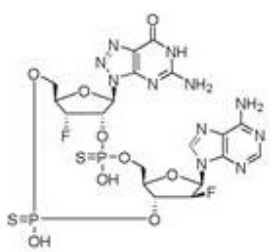
[1297]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
185		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	702
186		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	702
187		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 4)	702
188		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	673
189		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	673

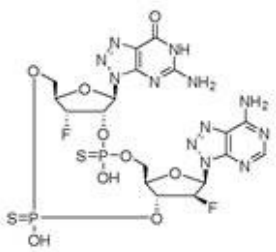
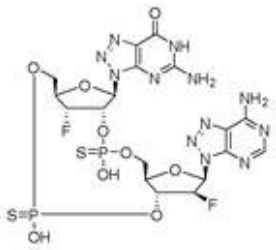
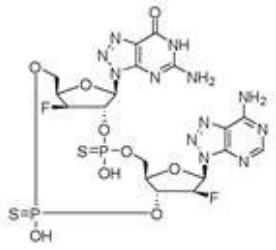
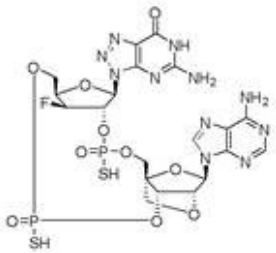
[1298]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
190		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	673
191		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	708
192		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	708
193		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	706
194		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	691

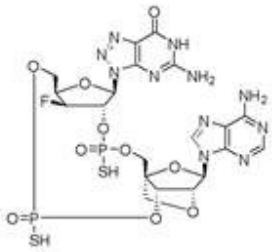
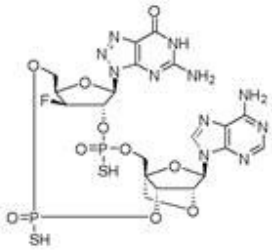
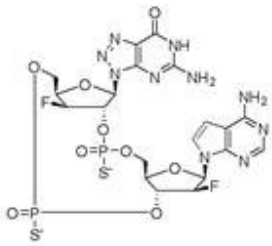
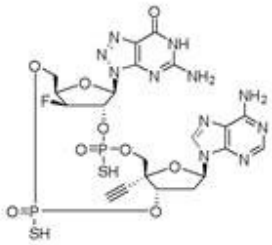
[1299]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
195		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	691
196		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	691
197		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	710
198		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	710
199		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	710

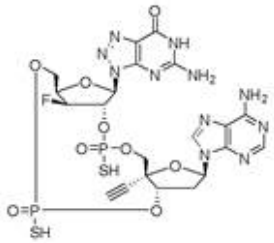
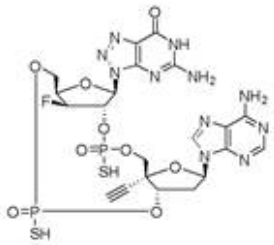
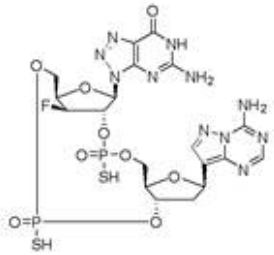
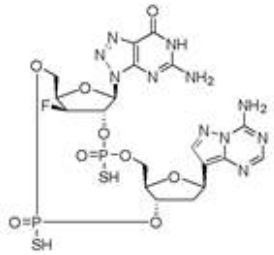
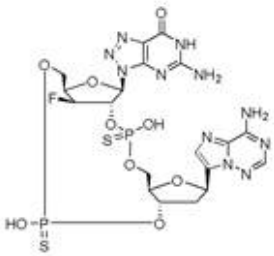
[1300]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
200		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	711
201		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	711
202		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	711
203		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	720

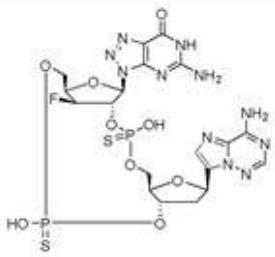
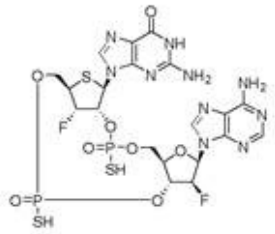
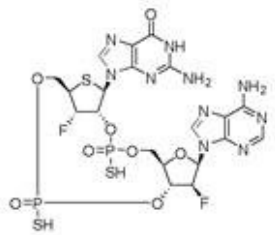
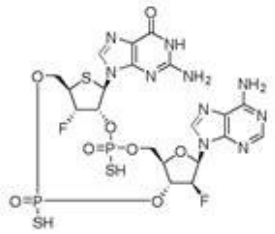
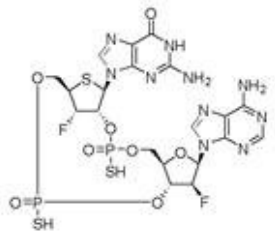
[1301]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
204		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	720
205		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	720
206		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	709
207		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,112aR,14R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	716

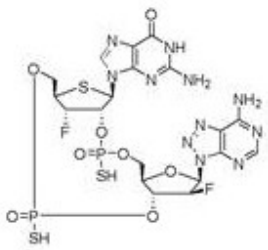
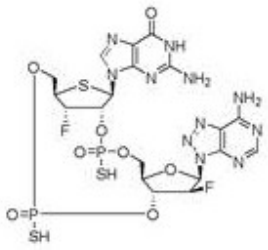
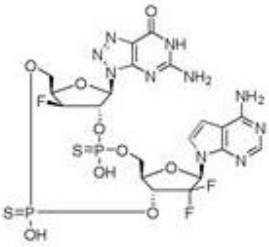
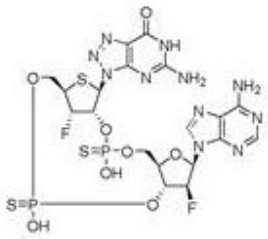
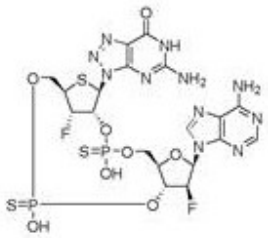
[1302]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
208		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,11aR,14R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	716
209		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,11aR,14R,15aS,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	716
210		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	692
211		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	692
212		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	692

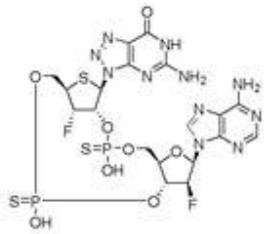
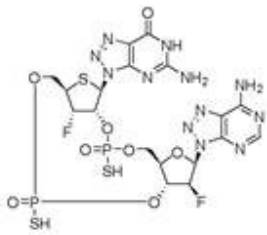
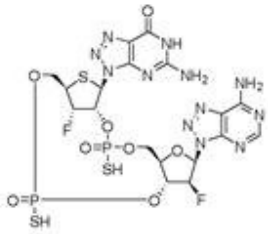
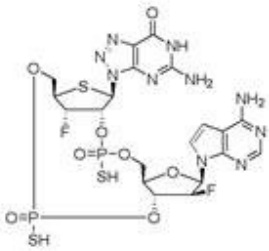
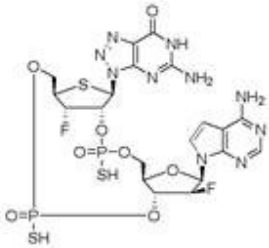
[1303]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
213		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	692
214		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	725
215		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	725
216		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	725
217		2-氨基-9-[(2R,5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	725

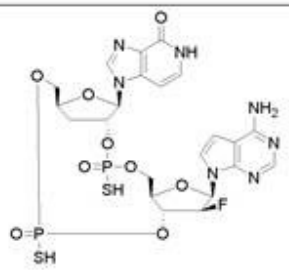
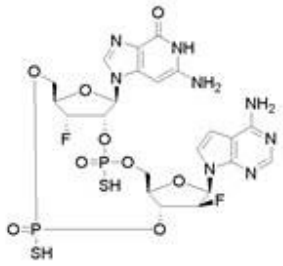
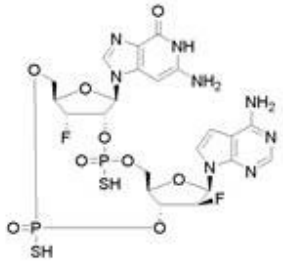
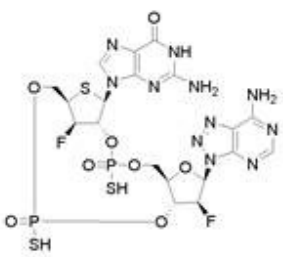
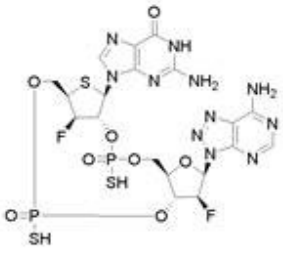
[1304]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
218		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	726
219		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	726
220		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aR,16S)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,15,16-三氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	727
221		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	726
222		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	726

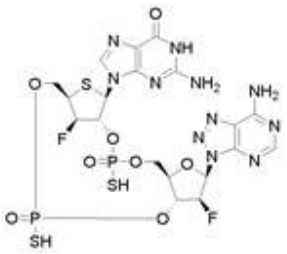
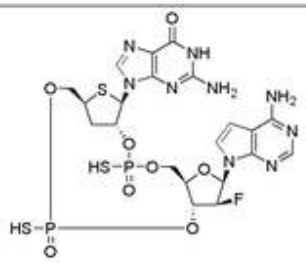
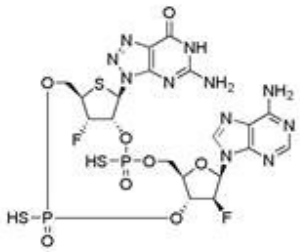
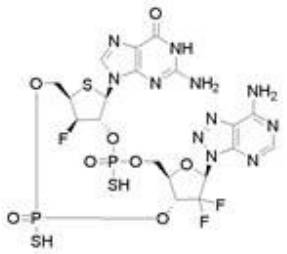
[1305]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
223		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	726
224		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	727
225		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	727
226		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	725
227		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	725

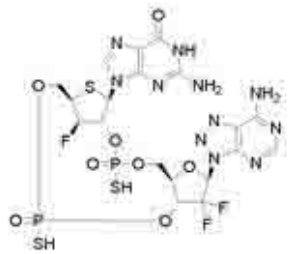
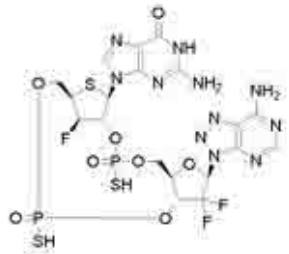
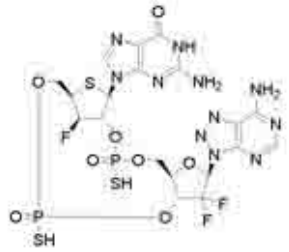
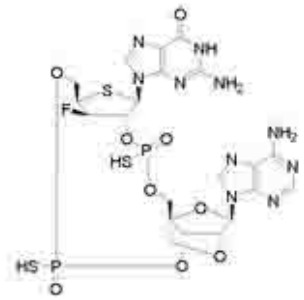
[1306]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
228		1-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮	674
229		6-氨基-1-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮 (非对映异构体 1)	707
230		6-氨基-1-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-c]吡啶-4-酮 (非对映异构体 2)	707
231		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	726
232		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	726

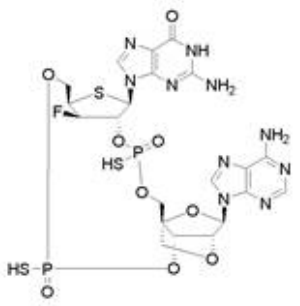
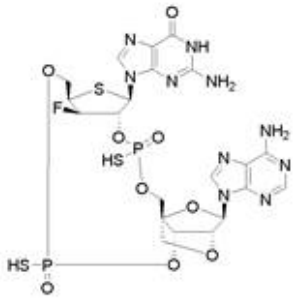
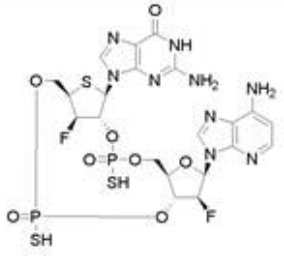
[1307]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
233		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	726
234		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	706
235		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	726
236		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	744

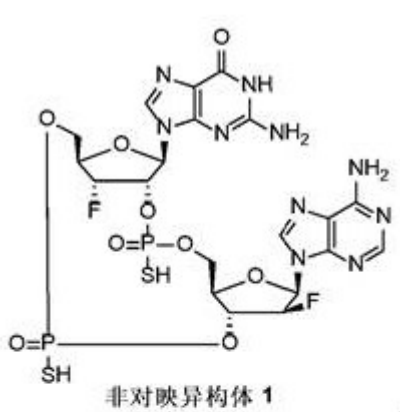
[1308]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
237		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	744
238		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	744
239		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	744
240		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	735

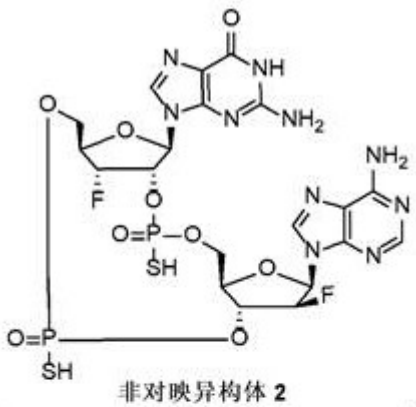
[1309]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
241		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	735
242		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	735
243		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	724

[1310] 实施例244、245、246和247:2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体1-3)和2-氨基-9-[(2R,5*R*,7*R*,8*S*,10*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体4)



非对映异构体 1



非对映异构体 2

[1311]



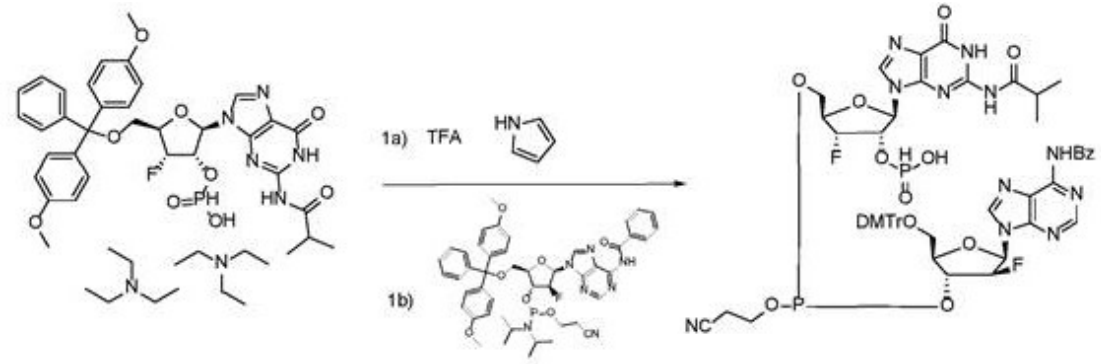
非对映异构体 3



非对映异构体 4

[1312] *步骤1:膦酸氢(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

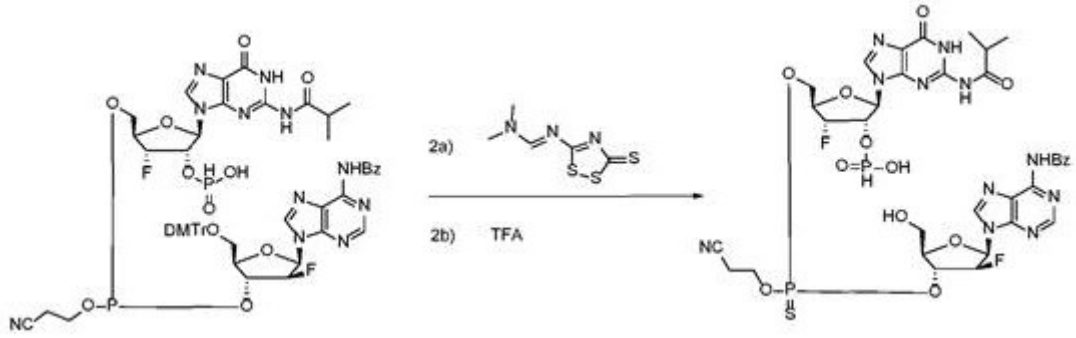
[1313]



[1314] 在氩气气氛和0℃下,将吡咯(0.087ml, 1.2mmol)添加至膦酸氢(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯三乙胺盐(1:2)(0.34g, 0.41mmol)于乙腈(3.0mL)中的溶液中。在5分钟之后,添加TFA(0.096ml, 0.14mmol),并将反应混合物在0℃下搅拌30分钟。在0℃下,逐滴添加吡啶(0.13ml, 1.7mmol)。然后将反应混合物在0℃下搅拌10分钟。此时,在氩气气氛和0℃下,经5分钟将二异丙基亚磷酰胺(2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(2-氰基乙基)酯(0.48g, 0.55mmol)于乙腈(3.0mL)中的混合物逐滴添加至反应混合物中。将反应

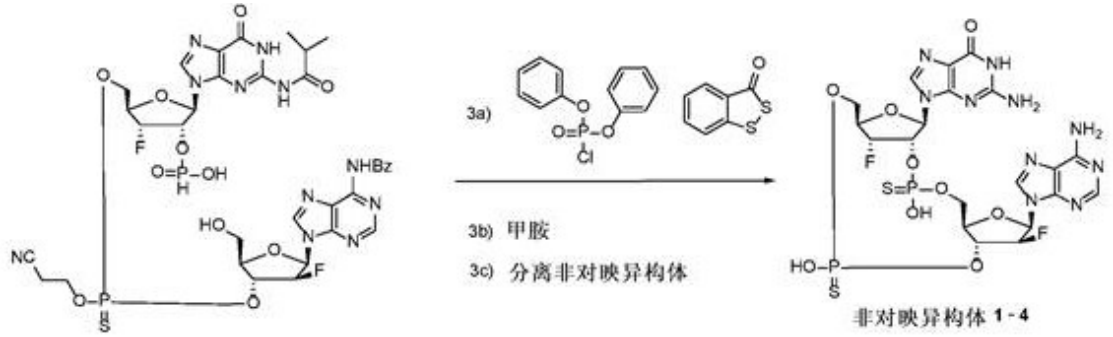
混合物在0℃下搅拌20分钟且未经进一步操作即立即用于下一步骤中。

[1315] *步骤2:膦酸氢(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1316] 

[1317] 在氩气气氛和0℃下,向来自步骤1的粗反应混合物中添加(*E*)-N,N-二甲基-N'-(3-硫代-3H-1,2,4-二噻唑-5-基)亚胺代甲酰胺(0.10g, 0.50mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌45分钟。此时,在氩气气氛和0℃下,将1-丙醇(0.31ml, 4.13mmol)添加至反应混合物中。然后使反应混合物温热至环境温度并搅拌10分钟。将TFA (0.32ml, 4.1mmol)添加至反应混合物中,并将反应混合物在环境温度下搅拌30分钟。在环境温度下添加吡啶(0.37ml, 4.6mmol),并将反应混合物搅拌10分钟。将反应混合物在减压下浓缩至大约一半体积。然后用乙酸异丙酯(20mL)稀释混合物并在环境温度下搅拌30分钟。过滤所得悬浮液。将所收集固体在高真空下干燥过夜以提供膦酸氢(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯。LCMS (ES, m/z): 922 $[M-H]^-$。

[1318] *步骤3:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[1319] 

[1320] 将膦酸氢(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(0.30g, 0.33mmol)与干燥的吡啶(2×10mL)共沸且然后在高真空下干燥1小时。在单独的烧瓶中,将氯磷酸二苯酯(0.34ml, 1.6mmol)添加至乙腈(15mL)和吡啶(1.0mL)的混合物中。然后将所得溶液冷却至-20℃。在-20℃下,向该混合物中经5分钟时段逐滴添加膦酸氢(2R,3S,4R,

5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)硫代磷酰基)氧基)-甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(0.30g, 0.33mmol)于吡啶(4.0mL)中的混合物。然后将反应混合物在-20℃下搅拌,用于15分钟后添加。在-20℃下,然后将3H-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(0.066g, 0.39mmol)和水(0.12ml, 6.5mmol)添加至反应混合物中。使反应混合物逐渐温热至环境温度。将反应混合物在环境温度下搅拌30分钟。然后将反应混合物在减压下浓缩至大约四分之一体积。将反应混合物冷却至0℃,并逐滴添加甲胺(33%,于乙醇中)(2.63ml, 24mmol)。在完成添加之后,使反应混合物温热至环境温度。将反应混合物在环境温度下搅拌18小时。将反应混合物在减压下浓缩以提供粗产物残余物。将粗产物残余物共沸(3×30mL乙醇)以提供粗产物。将该材料溶于水(5mL)和乙腈(1mL)中。将所得混合物通过质量导向的反相HPLC(Waters Sunfire 19×250mm,UV 215/254nm,通过SIM负MS监测质量709进行级分触发;流动相=100mM在水中的三乙基乙酸铵/乙腈梯度,2-30%乙腈,经40分钟)纯化以提供2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮的4种非对映异构体。

[1321] 实施例244:2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体1):T_R = 17.7 min. LCMS (ES, m/z):709 $[M - H]^-$。

[1322] 实施例245:2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体2):

[1323] T_R = 21.9 min. LCMS (ES, m/z): 709 $[M - H]^-$. 1H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 8.32 (s, 1H), 8.21 – 8.09 (m, 2H), 7.46 – 7.29 (m, 2H), 6.59 – 6.43 (m, 2H), 6.40 – 6.29 (m, 1H), 5.88 (d, J = 8.8Hz, 1H), 5.49 – 5.19 (m, 4H), 4.45 – 4.32 (m, 2H), 4.10 – 3.93 (m, 2H), 3.94

[1324] – 3.82 (m, 1H), 3.80 – 3.68 (m, 1H)。

[1325] 实施例246:2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体3):

[1326] T_R = 23.8 min. LCMS (ES, m/z): 709 $[M - H]^-$. 1H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 8.18 – 8.08 (m, 3H), 7.41 – 7.33 (m, 2H), 6.59 – 6.47 (m, 2H), 6.37 – 6.27 (m, 1H), 5.84 (d, J = 8.7Hz, 1H), 5.52 – 5.26 (m, 2H), 5.21 – 5.11 (m, 1H), 4.46 – 4.35 (m, 2H), 4.19 – 4.02 (m,

[1327] 2H), 3.83 – 3.65 (m, 2H)。

[1328] 实施例247:2-氨基-9-[(2R,5*R*,7*R*,8*S*,10R,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-14-(6-氨

基-9*H*-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体4):

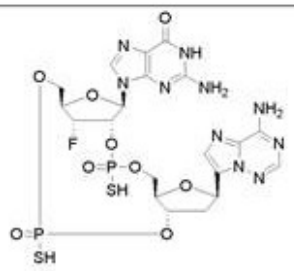
[1329] T_R = 26.4 min. LCMS (ES, m/z): 709 [M - H]$^-$. ^{1}H NMR (500MHz, DMSO-d_6) δ 8.19 – 8.07 (m, 3H), 7.41 – 7.32 (m, 2H), 6.70 – 6.50 (m, 2H), 6.40 – 6.29 (m, 1H), 5.85 (d, J = 8.7Hz, 1H), 5.33 – 5.25 (m, 2H), 5.23 – 5.12 (m, 1H), 4.48 – 4.35 (m, 1H), 4.33 – 4.24 (m, 1H), 4.09 – 3.93 (m, 2H), 3.92 – 3.81 (m, 1H), 3.83 – 3.70 (m, 1H)。

[1330]

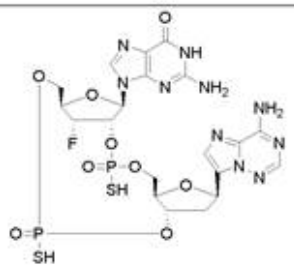
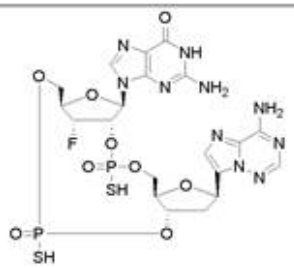
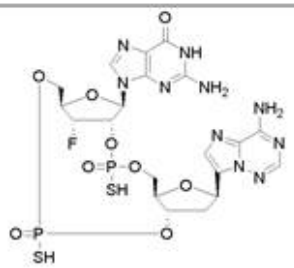
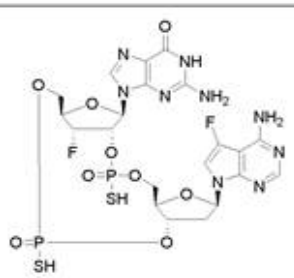
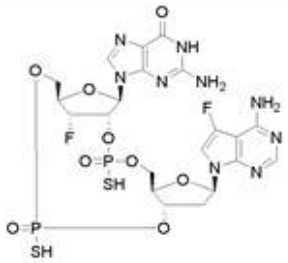
[1331] 根据类似于上文实施例244至247中所概述的程序的程序使用适当的单体(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)在偶联步骤中制备如下表7中所示的实施例248至256。

[1332] 表7

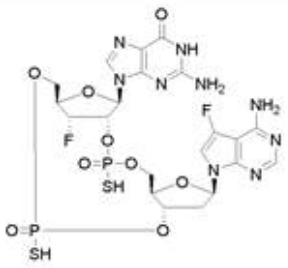
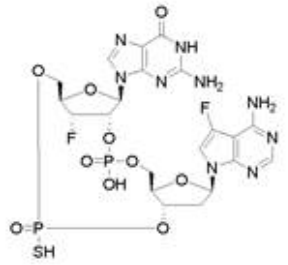
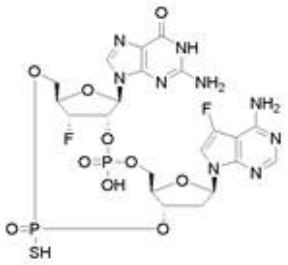
[1333]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]$^-$
248		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	691

[1334]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
249		2-氨基-9-[(5R,7R,8S, 12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	691
250		2-氨基-9-[(5R,7R,8S, 12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	691
251		2-氨基-9-[(5R,7R,8S, 12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	691
252		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	708
253		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	708

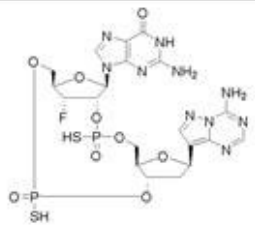
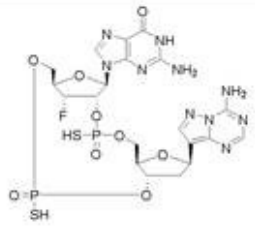
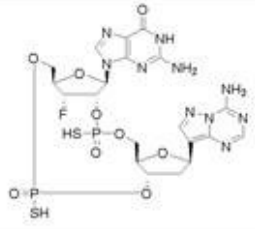
[1335]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
254		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	708
255		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-10-羟基-2,10-二氧化-2-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	692
256		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-16-氟-10-羟基-2,10-二氧化-2-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	692

[1336] 根据类似于上文针对实施例244至247所述的程序的程序使用适当的单体核苷类(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)来制备表8中的实施例257至259,其中使用下列额外代表性处理作为最终步骤:将样品(0.12mmol)溶于水(6mL)中,并将所得混合物施加至柱中的离子交换树脂(DOWEX 50WX2氢形式,100-200目,1.5g,用10mL水预洗涤,且然后充填于柱中,随后上样化合物)上。在上样混合物已完全被吸收至柱之后,然后用额外的水(10mL)洗涤柱。冻干洗脱液以提供产物。

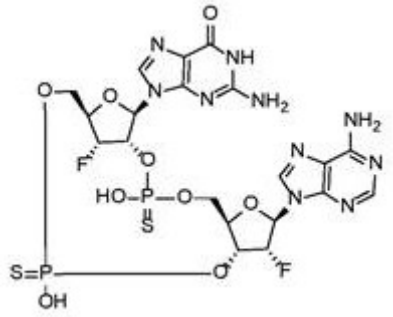
[1337] 表8

[1338]

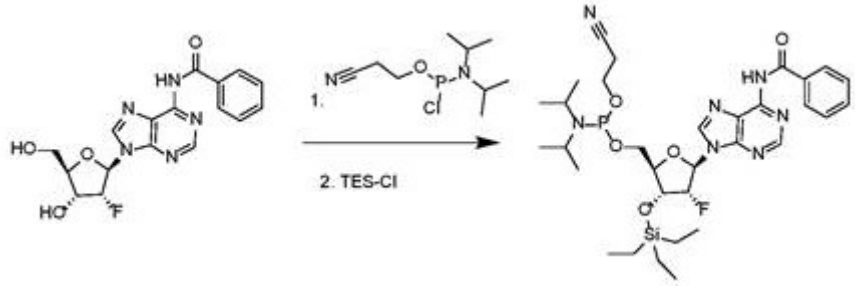
实施例	结构	名称	质量[M-H]-
257		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	691
258		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	691
259		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	691

[1339] 或者,使用类似于上文针对实施例81至83所述的程序的程序来制备的上文实施例117-142、144-152、172、174和244-247。

[1340] 实施例260:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

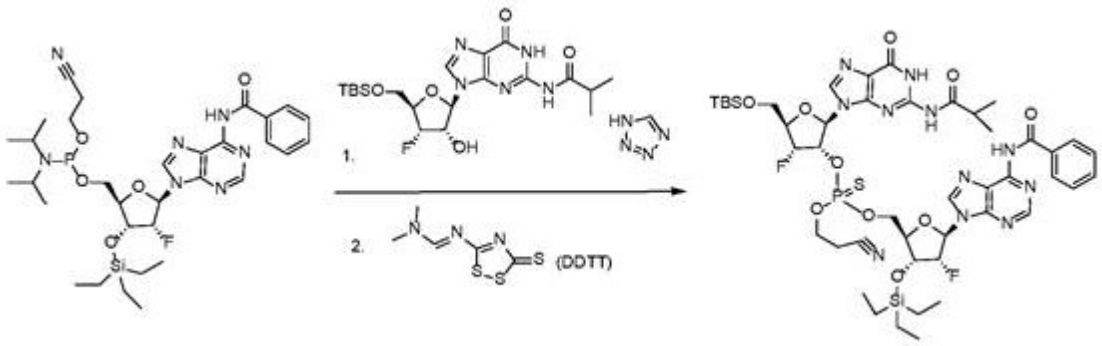
[1341] 

[1342] *步骤1:二异丙基亚磷酰胺((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(2-氰基乙基)酯*

[1343] 

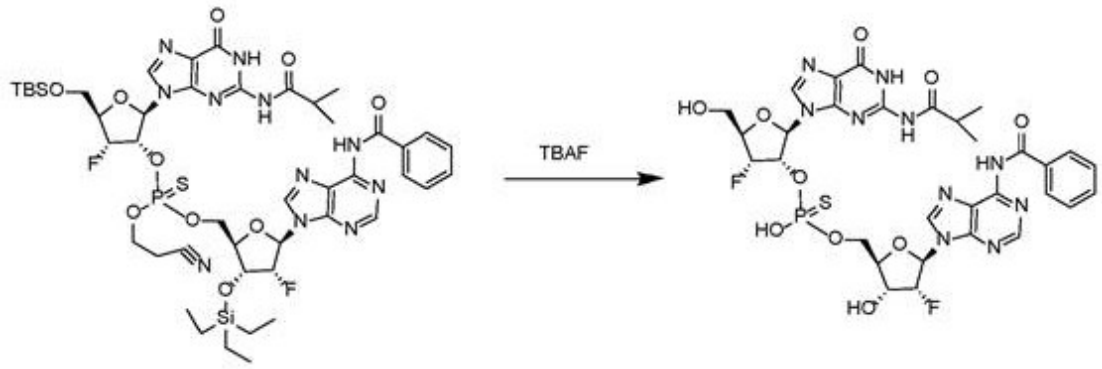
[1344] 在0℃下，向N-(9-((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(780mg，2.089mmol)于DMF (8mL)和DIPEA (1.116ml，6.39mmol)中的溶液中添加200mg活化分子筛4Å和N，N-二异丙基氯代亚磷酰胺2-氰基乙基酯(572mg，2.343mmol)/1ml干燥CH_3CN。将所得混合物在0℃下搅拌5小时；逐滴添加氯代三乙基甲硅烷(401mg，2.66mmol)。将所得混合物在室温下搅拌过夜。反应物直接用于下一步骤。LCMS (ES，m/z)：686 $[M-H]^-$。

[1345] *步骤2:硫代磷酸O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-2-基)甲基)酯O-((2R,3S,4R,5R)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)酯O-(2-氰基乙基)酯*

[1346] 

[1347] 向步骤1的产物的溶液中添加N-(9-((2R,3S,4S,5R)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(500mg，1.065mmol)和1H-四唑(895mg，12.78mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时，并添加DDTT (568g，2.77mmol)。将混合物搅拌1小时，然后分配于乙酸乙酯和H_2O之间，经Na_2SO_4干燥，过滤并在真空中浓缩。残余物通过用0-6% MeOH/DCM洗脱的硅胶上的柱色谱纯化，以得到硫代磷酸O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-((三乙基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-2-基)甲基)酯O-((2R,3S,4R,5R)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)酯O-(2-氰基乙基)酯。LCMS (ES，m/z)：1088 $[M+H]^+$。

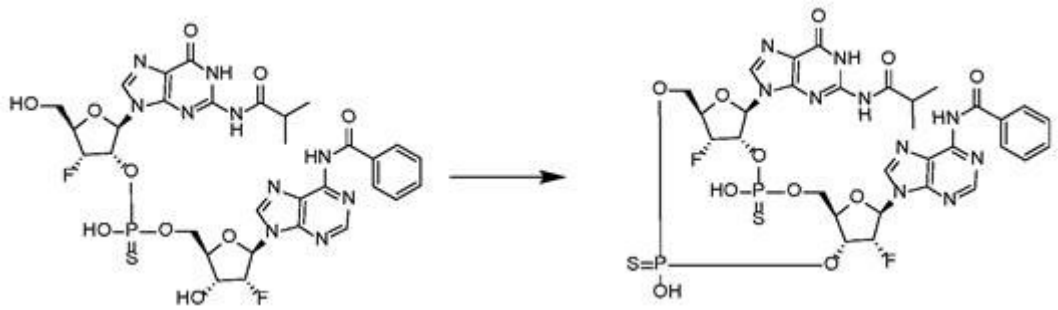
[1348] *步骤3:硫代磷酸O-氢O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)甲基酯O-((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)酯*

[1349] 

[1350] 向来自步骤3的混合物(520mg)于THF (5mL)中的溶液中添加TBAF (1.0M，于THF

中)(1.140ml, 1.140mmol)。将所得混合物在室温下搅拌2小时并在真空中浓缩。残余物通过用0-8% MeOH/DCM洗脱的硅胶上的柱色谱纯化,以得到硫代磷酸O-氢O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)甲基)酯O-((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1H-嘌呤-9(6H)-基)四氢呋喃-3-基)酯。LCMS (ES, m/z): 807 $[M + H]^+$。

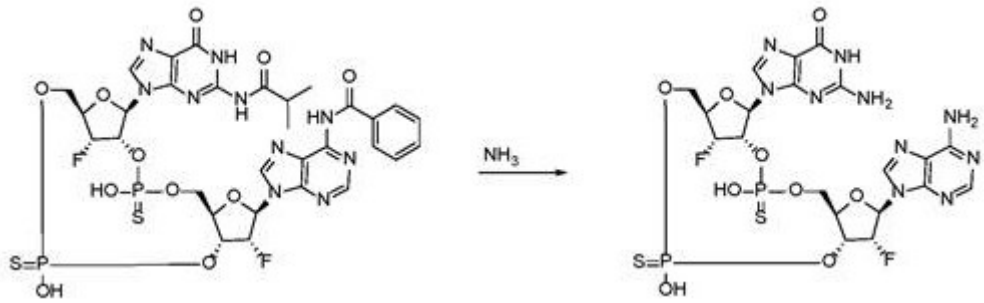
[1351] *步骤4:N-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二羟基-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲酰胺*

[1352] 

[1353] 将硫代磷酸O-氢O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)甲基)酯O-((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1H-嘌呤-9(6H)-基)四氢呋喃-3-基)酯(250mg, 0.310mmol)和二异丙基四唑铵(80mg, 0.465mmol)与干燥的CH_3CN (3x10ml)共沸并在高真空下干燥30分钟。

[1354] 将上述混合物溶于DMF (1mL)和乙腈(7mL)中并添加200mg活化分子筛4Å和N,N,N',N'-四异丙基亚磷二酰胺2-氰基乙基酯(128mg, 0.403mmol)于1ml干燥的CH_3CN中的溶液。将所得混合物在室温下搅拌30分钟,随后添加1H-四唑(109mg, 1.550mmol)。将反应物置于室温下持续1小时并添加DDTT (95mg, 0.465mmol)。继续搅拌1小时并在真空中浓缩。残余物通过用0-10% MeOH / DCM(含有1% ET3N)洗脱的硅胶上的柱色谱纯化,以得到期望产物。LCMS (ES, m/z): 883 $[M - H]^-$。

[1355] *步骤5:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

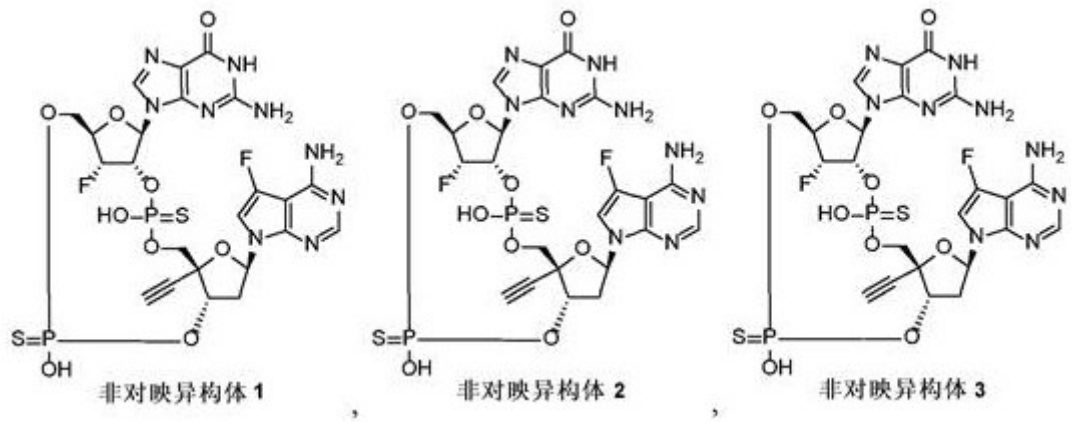
[1356] 

[1357] 将N-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二羟基-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9H-嘌呤-6-基}苯

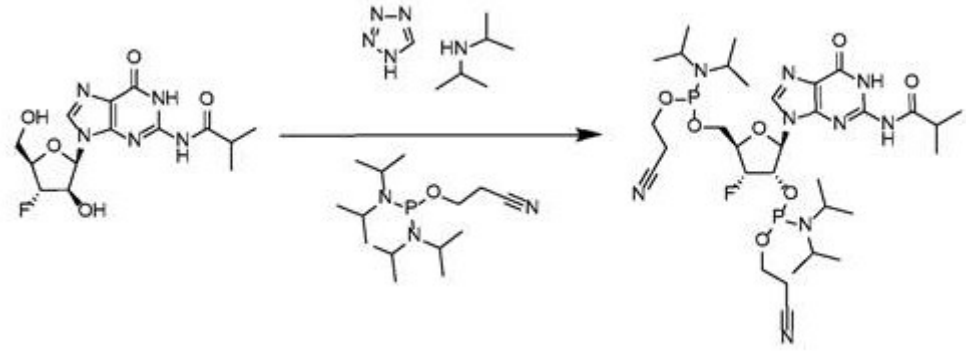
甲酰胺(120mg, 0.136mmol)和氨(7.0M,于MeOH中)(2ml, 14.00mmol)密封于微波管中。将反应混合物加热至50℃并搅拌4小时。将反应混合物浓缩,并使用质量导向的反相HPLC(X-Bridge BEH 150 Prep C18)使用含有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统纯化以得到期望产物。产物级分的冻干提供2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]-五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮。

[1358] LCMS (ES, m/z): 709 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (H_2O-d2, 500MHz): δ_H 8.23 (1H, s), 8.17 (1H, s), 7.93 (1H, s), 6.43 (1H, d, J = 15.0Hz), 6.00 (1H, d, J = 8.7Hz), 5.75 (1H, m), 5.58 (2H, m), 5.15 (1H, m), 4.65 (2H, m), 4.54 (1H, m), 4.15-4.30 (3H, m). ^{31}P NMR: (H_2O-d_2, 202MHz): δ 52.1, 52.2.

[1359] 实施例261、262、263:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1-3)

[1360] 

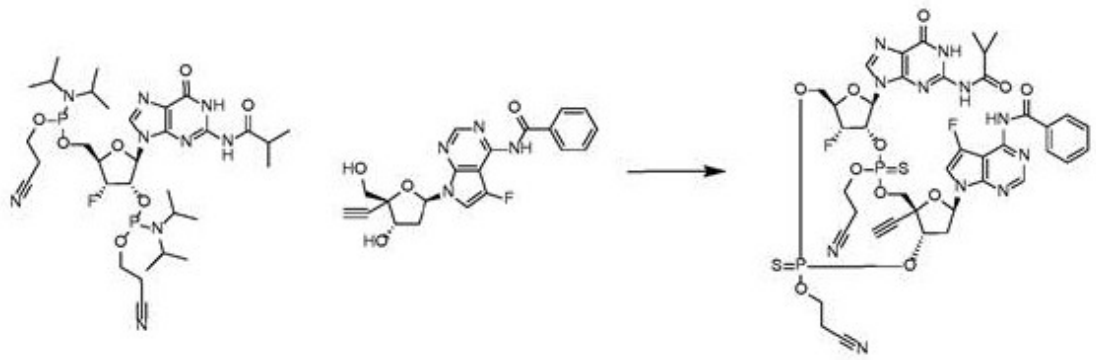
[1361] *步骤1:二异丙基亚磷酰胺((2R,3R,4S,5R)-4-(((2-氰基乙氧基)(二异丙基氨基)磷基)氧基)-3-氟-5-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(2-氰基乙基)酯*

[1362] 

[1363] 向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-4-氟-3-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(190mg, 0.535mmol)和3-((双(二异丙基氨基)膦基)氧基)丙腈(95%)(373mg, 1.176mmol)于DMF(5ml)中的溶液中添加二异丙基四唑铵(137mg,

0.802mmol)。将混合物在室温下搅拌2小时，然后添加1H-四唑(15.77mg，0.225mmol)并继续搅拌2小时。添加300mg活化分子筛4A并在室温下继续搅拌2小时。反应物直接用于下一步骤。LCMS (ES，m/z)：754 [M - H]⁻。

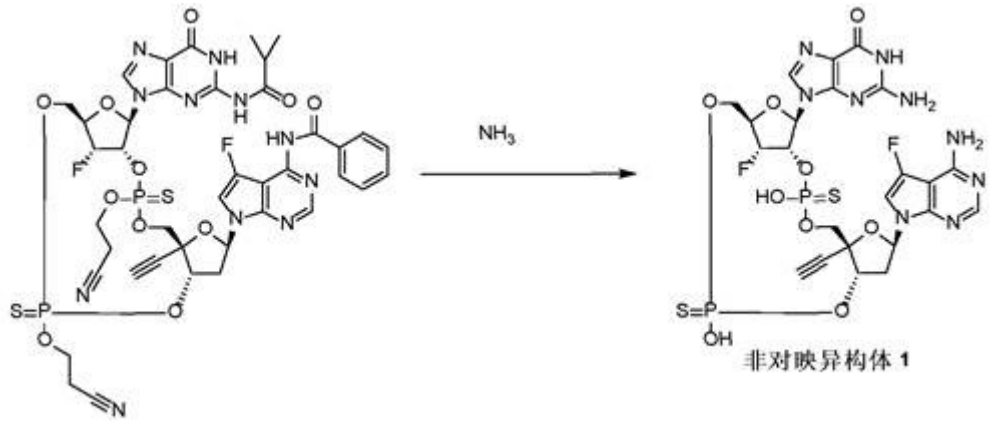
[1364] *步骤2:N-{7-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-2,10-双(2-氰基乙氧基)-12a-乙炔基-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺*

[1365] 

[1366] 在-78℃下，向N-(7-((2R,4S,5R)-5-乙炔基-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)苯甲酰胺(180mg，0.454mmol)和Et_3N (0.114ml，0.817mmol)于DMF(4mL)中的溶液中逐滴添加TMS-Cl (0.070ml，0.545mmol)于CH_2Cl_2(1mL)中的溶液。将混合物在-78℃下搅拌20分钟并在1小时内温热至0℃，然后添加200mg活化分子筛4Å并在室温下继续搅拌2小时。将混合物冷却至0℃并转移至步骤1的产物(394mg，0.454mmol)的搅拌溶液(预冷却至-0℃)中，随后添加1H-四唑(191mg，2.72mmol)。将混合物逐渐温热至室温并在室温下搅拌2小时。过滤去除固体。在用3ml DMF洗涤之后，向合并的滤液中添加额外的1H-四唑(191mg，2.72mmol)并在室温下搅拌过夜。

[1367] 在反应完成之后，将反应混合物用乙酸乙酯稀释并连续用H_2O和盐水洗涤。将有机层经无水Na_2SO_4干燥并通过用0-8% MeOH/DCM洗脱的硅胶色谱纯化以得到具有相同分子量的两种期望级分。LCMS (ES，m/z)：1014 $[M + H]^+$。

[1368] *步骤3:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

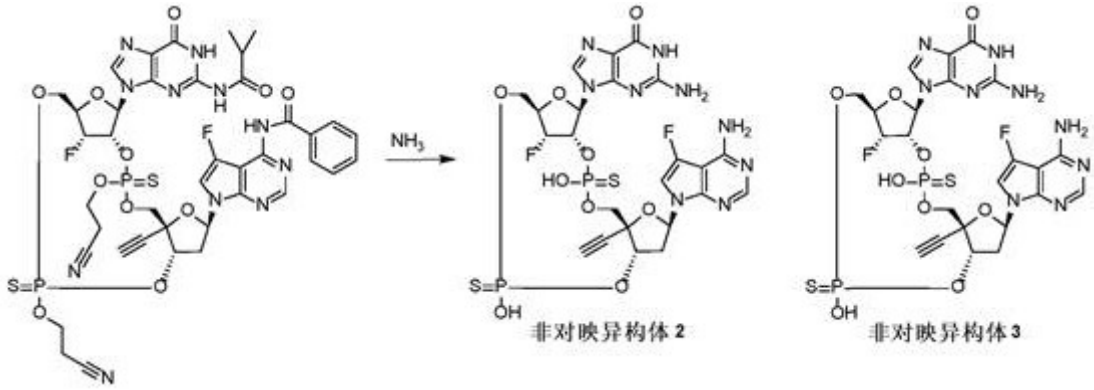
[1369] 

[1370] 将N-{7-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-2,10-双(2-氰基乙氧基)-12a-乙炔基-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺(来自步骤2的较快级分)(30mg, 0.030mmol)和7.0M氨/MeOH (2ml, 14.00mmol)密封于微波管中。将混合物加热至50℃并搅拌8小时。将反应混合物浓缩,并将产物使用质量导向的反相HPLC(X-Bridge BEH 150 Prep C18)使用含有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统纯化。产物级分的冻干提供作为双-三乙胺盐的2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮。

[1371] 实施例261(非对映异构体1):

[1372] LCMS (ES, m/z): 732 [M - H]$^-$. ^{1}H NMR (H_2O-d_2, 500MHz): δ_H 8.32 (1H, s), 8.08 (1H, s), 7.05 (1H, s), 6.70 (1H, t, J = 6.1Hz), 6.08 (1H, d, J = 8.7Hz), 5.71 (1H, d, J = 53.2Hz), 5.47-5.40 (1H, m), 5.14-5.10 (1H, m), 4.65 (2H, m), 4.28 (1H, t, J = 8.7Hz), 4.14-4.02 (3H, m), 2.85 (2H, d, *J* = 6.4Hz). ^{31}P NMR: (H_2O-d_2, 202MHz): δ 53.7, 54.0。

[1374] *步骤4:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-14-(4-氨基-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-12a-乙炔基-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[1375] 

[1376] 将N-{7-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-2,10-双(2-氰基乙氧基)-12a-乙炔基-16-氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-5-氟-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基}苯甲酰胺(来自步骤2的缓慢级分,65mg, 0.064mmol)和7.0M氨/MeOH (2ml, 14.00mmol)密封于微波管中且加热至50℃并搅拌8小时。将反应混合物浓缩并使用质量导向的反相HPLC (X-Bridge BEH 150 Prep C18)使用含有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统纯化以在冻干产物级分之后得到两种额外非对映异构体。

[1377] 实施例262(非对映异构体2):

[1378] LCMS (ES, m/z): 732 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (H_2O-d_2, 500MHz): δ_H 8.09 (2H, d, J = 3.0Hz), 7.19 (1H, s), 6.74 (1H, s), 6.08 (1H, d, J = 8.3Hz), 5.63 (1H, s), 5.53 (1H, s), 5.35-5.33 (1H, m), 4.65 (2H, m), 4.34 (1H, d, J = 8.8Hz), 4.28 (1H, t, J = 10.3Hz), 4.11 (1H, d, J = 12.1Hz), 3.89 (1H, dd, J = 10.6, 4.0Hz), 2.85 (2H, d, J = 6.4Hz). ^{31}P

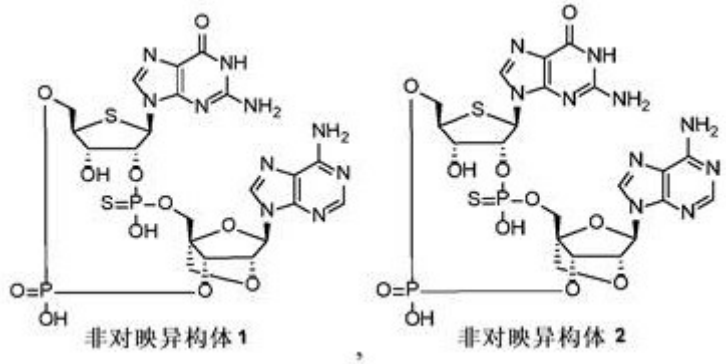
[1379] NMR: (H_2O-d_2, 202MHz): δ 54.7, 59.8。

[1380] 实施例263(非对映异构体3)：

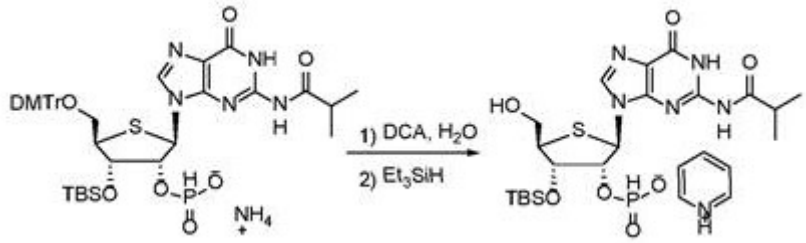
[1381] LCMS (ES, m/z): 732 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (H_2O-d_2, 500MHz): δ_H 8.08 (1H, s), 7.94 (1H, s), 7.04 (1H, s), 6.68 (1H, s), 6.04 (1H, d, J = 8.6Hz), 5.64 (1H, s), 5.54 (1H, d, J = 3.3Hz), 5.24 (1H, d, J = 7.7Hz), 4.65 (2H, m), 4.40 (1H, d, J = 8.2Hz), 4.18 (1H, dd, J = 11.0, 5.5Hz), 4.09-4.00 (2H, m), 2.93-2.89 (1H, m), 2.82 (1H, d, J = 7.1Hz). ^{31}P

[1382] NMR: (H_2O-d_2, 202MHz): δ 53.1, 54.9。

[1383] 实施例264和265:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)和2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)

[1384] 

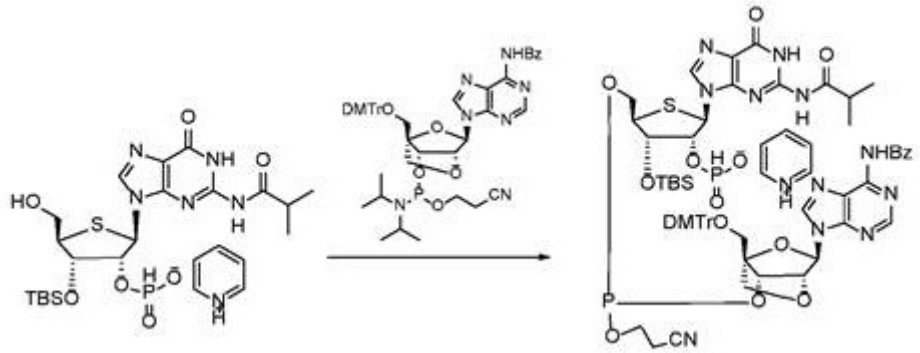
[1385] *步骤1:膦酸(2R,3R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯*

[1386] 

[1387] 向膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯(750mg, 0.865mmol)于CH_2Cl_2 (9mL)中的溶液中添加水(156mg, 8.65mmol)和2,2-二氯乙酸/CH_2Cl_2(0.6M, 11mL, 6.6mmol)。将混合物在室温下搅拌15分钟,且然后添加Et_3SiH

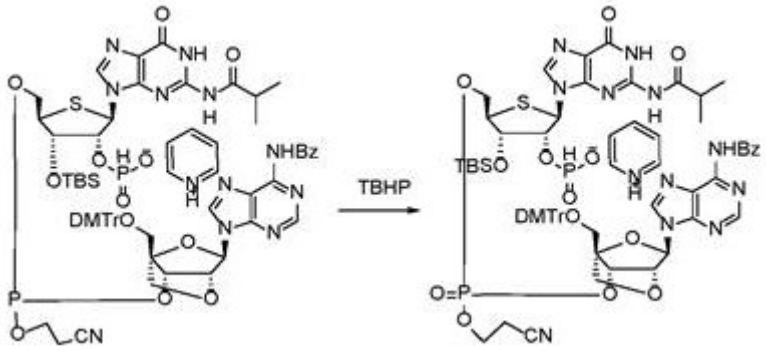
(4.00mL)。在1小时之后,添加吡啶(1232mg, 15.57mmol),并将其浓缩以得到粗样品,其未经纯化即用于下一反应步骤。LCMS (ES, m/z): 548.1 [M + H]$^+$。

[1388] *步骤2:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯*

[1389] 

[1390] 使来自步骤1的粗样品与ACN (3×2mL)共蒸发,再溶于ACN (3mL)中,并通过添加活化4Å分子筛(150mg)进行干燥。还使二异丙基亚磷酰胺(1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基酯(2-氰基乙基)酯(0.843g, 0.952mmol)与ACN (3×1mL)共蒸发,再溶于ACN (3mL)中,并通过添加活化的4Å分子筛(150mg)进行干燥。在30分钟之后,将其添加至先前制备的含有膦酸(2R,3R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯吡啶-1-鎓的混合物中。反应混合物未经纯化即用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 1332.1 [M + H]$^+$。

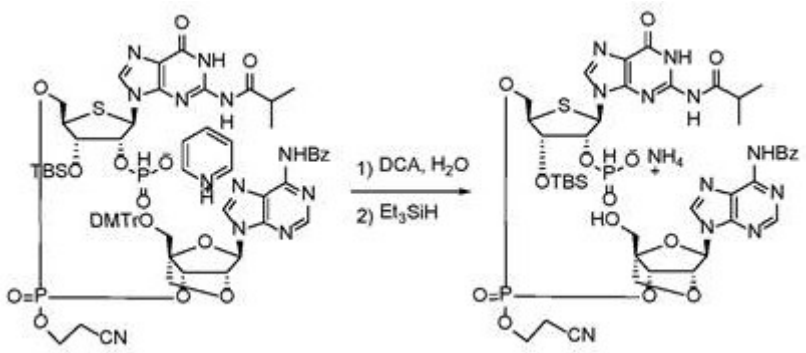
[1391] *步骤3:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(((((1R,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯*

[1392] 

[1393] 在室温下,向来自步骤2的反应混合物中添加2-氢过氧基-2-甲基丙烷(0.234g, 2.60mmol),并将其搅拌40分钟。将其浓缩以得到粗产物,其未经纯化即用于下一步骤。LCMS (ES, m/z): 1347.1 [M + H]$^+$。

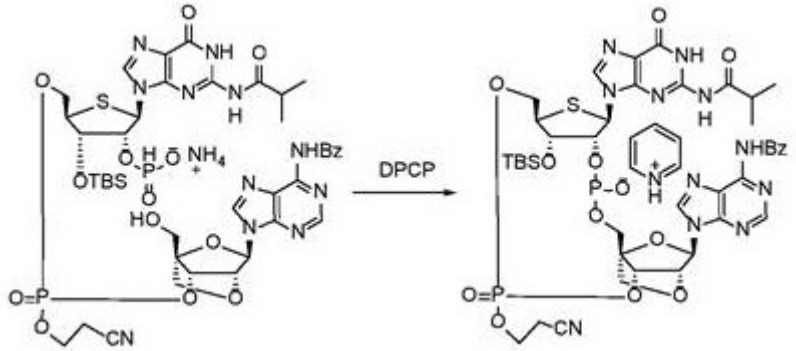
[1394] *步骤4:膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-(((((1S,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-(羟基甲基)-2,5-二氧杂双环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)*

氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯

[1395] 

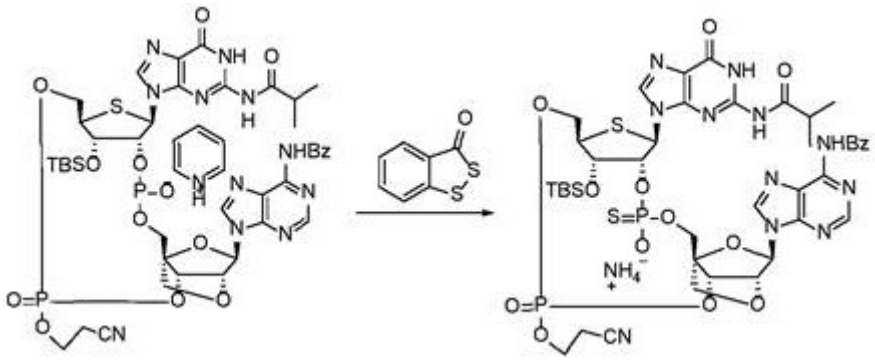
[1396] 向来自步骤3的粗制物/CH_2Cl_2 (9mL)中添加水(156mg, 8.65mmol)和2,2-二氯乙酸/CH_2Cl_2 (0.6N, 10mL, 6mmol)。将所得混合物在室温下搅拌15分钟。然后,添加三乙基甲硅烷(4ml, 0.21mmol),且继续搅拌40分钟。添加吡啶(1232mg, 15.57mmol)。将混合物浓缩,且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。LCMS (ES, m/z): 1046.3 $[M + H]^+$。

[1397] *步骤5:(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-18-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2-氧化物*

[1398] 

[1399] 在-40℃和Ar下,向吡啶(20mL)中经5分钟添加氯磷酸二苯酯(1.28g, 4.78mmol)。在-40℃下向该溶液中逐滴添加膦酸(2R,3R,4S,5R)-5-((((((1S,3R,4R,7S)-3-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-1-(羟基甲基)-2,5-二氧杂二环[2.2.1]庚烷-7-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3-基酯(250mg, 0.239mmol, 与吡啶(3×10mL)共蒸发)于CH_2Cl_2(20mL)中的溶液。将所得混合物在-40℃下搅拌30分钟。反应混合物未经纯化即立即用于下一反应步骤中。LCMS (ES, m/z): 1028.4 $[M + H]^+$。

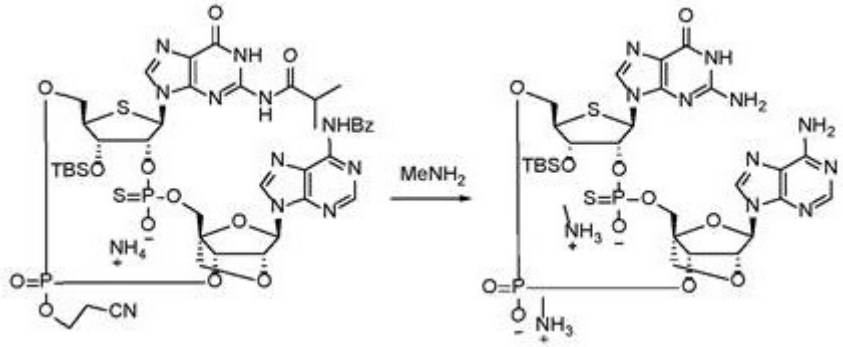
[1400] *步骤6:(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-18-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2-氧化物10-硫化物*

[1401] 

[1402] 在室温下，向来自步骤5的反应混合物中添加3*H*-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(121mg，0.717mmol)。在25℃下搅拌40分钟之后，添加水(431mg，23.9mmol)。将反应混合物在减压下浓缩，且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(5mM)中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化，以得到产物。

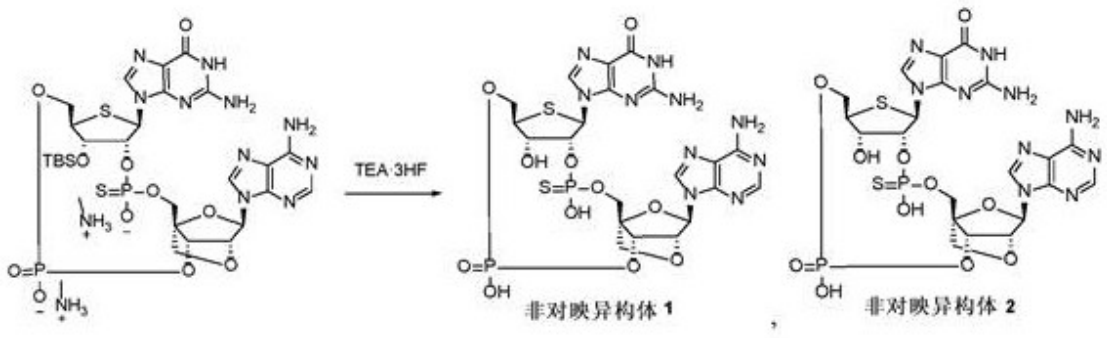
[1403] LCMS (ES, m/z): 1060.3 $[M+H]^+$. ^{31}P-NMR: (121MHz, D_2O) δ 54.91, 54.61 (m, 1P), δ-6.08, -6.48 (m, 1P).

[1404] *步骤7：(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-2,10(12H)-二醇盐2-氧化物10-硫化物*

[1405] 

[1406] 将(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-18-{[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基}-2-(2-氰基乙氧基)-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-10(12H)-醇盐2-氧化物10-硫化物(190mg，0.178mmol)溶于甲胺于EtOH中的溶液(30%，1mL)中，并将所得溶液在室温下搅拌2小时。然后，将其浓缩以得到含有产物的粗样品。LCMS (ES，m/z)：833.2 $[M+H]^+$。

[1407] *步骤8:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[1408] 

[1409] 在Ar下，将来自步骤7的粗制物悬浮于吡啶(5mL)中。向混合物中逐滴添加Et_3N(1864mg, 18.42mmol)和三乙胺三氢氟化物(742mg, 4.60mmol)。将混合物加热至50℃持续16小时。然后，将其浓缩，且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(10mM)中的0至14% ACN洗脱的制备型HPLC (XBridge Shield RP18 OBD柱，19×150mm)经16分钟纯化，以在浓缩之后得到两种产物。

[1410] 实施例264:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1):T_R: 11.00min。

[1411] LCMS (ES, m/z): 719.0 $[M+H]^+$.

^{1}H-NMR: (300MHz, D_2O) :δ 8.13 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.11 - 5.97 (m, 2H), 5.92-5.85 (m, 1H), 5.25-5.05 (m, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.30-4.21 (m, 1H), 4.12 -3.78 (m, 4H), 3.50-3.45 (m, 1H). ^{31}P-NMR: (121MHz, D_2O) δ 52.06 (s, 1P), δ-0.86 (s, 1P)

[1412] 实施例265:2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2,10,18-三羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2):T_R: 12.32min。

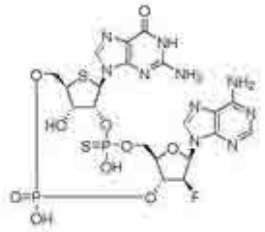
[1413] LCMS (ES, m/z): 719.0 $[M+H]^+$.

^{1}H-NMR: (300MHz, D_2O) : δ 8.13 -8.03 (m, 2H), 7.64 (s, 1H), 6.11 - 5.97 (m, 2H), 5.92-5.90 (m, 1H), 5.20-5.15 (m, 1H), 4.87- 4.75 (m,3H), 4.33-4.20 (m, 1H), 4.12-4.00 (m, 2H),3.90-3.78(m, 2H), 3.45-3.40 (m, 1H). ^{31}P-NMR: (121MHz, D_2O) δ 54.88 (s, 1P), δ-0.97 (s, 1P).

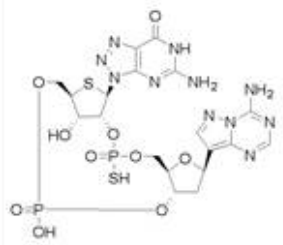
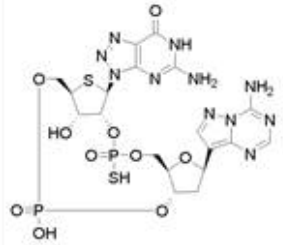
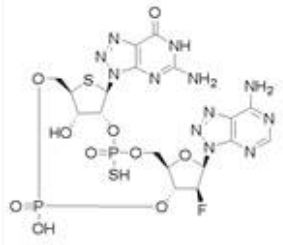
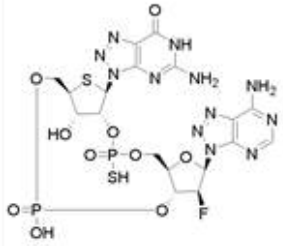
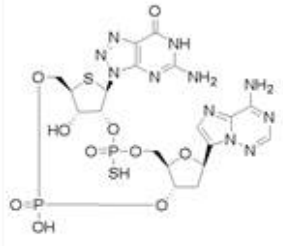
[1414] 根据类似于上文针对实施例264和265所概述的程序的程序使用适当的单体核苷类(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)来制备如下表9中所示的实施例266至272。

[1415] 表9

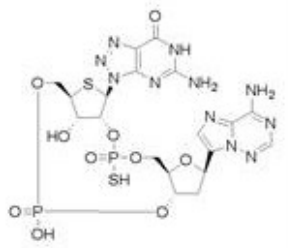
[1416]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
266		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	707

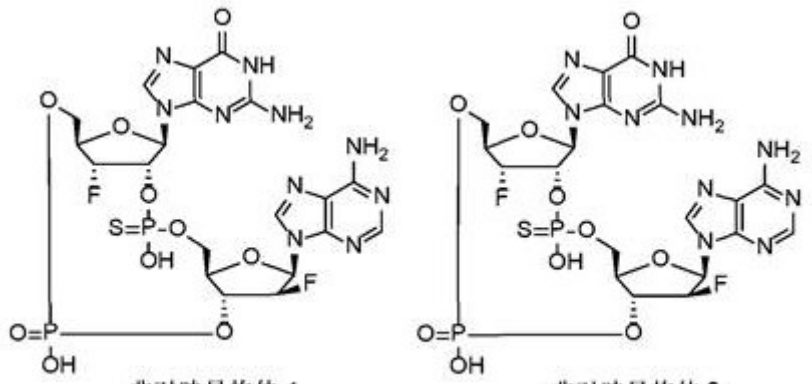
[1417]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$
267		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-2,16-二羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	690
268		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-8-基)-2,16-二羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	690
269		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,16-二羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	709
270		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15-氟-2,16-二羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	709
271		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,16-二羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	690

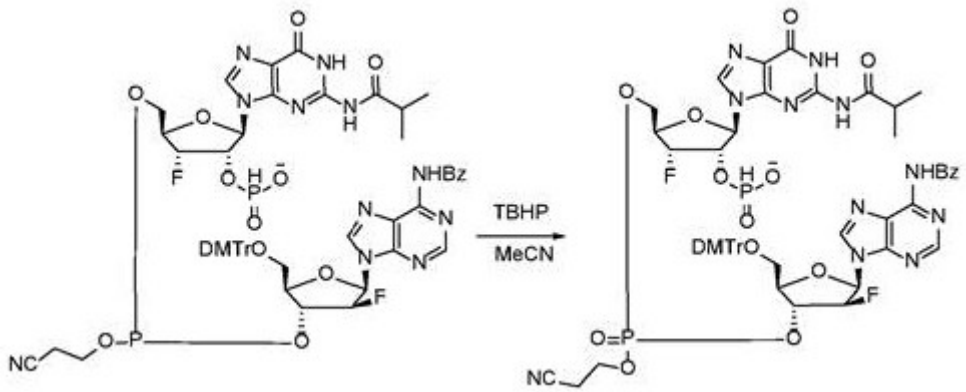
[1418]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻
272		5-氨基-3-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aS,16S)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2,16-二羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	690

[1419] 实施例273和274:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1)和2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2)

[1420] 

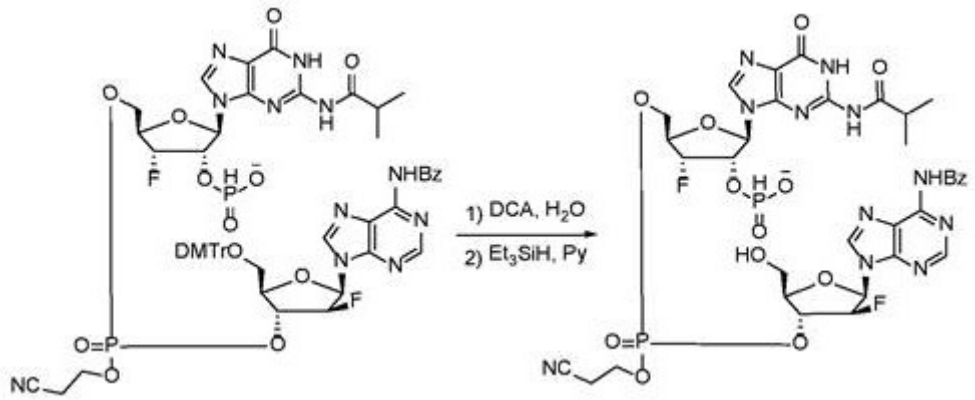
[1421] *步骤1:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1422] 

[1423] 向含有粗膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰

基乙氧基)磷基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(步骤1的产物,实施例244-247,粗制物,假设0.75mmol)的混合物中逐滴添加叔丁基氢过氧化物/癸烷(5.5M, 0.48ml, 2.6mmol),并将混合物在室温下搅拌1小时。然后,将其冷却至0℃,并缓慢添加$Na_2S_2O_3$ (553mg)于水(2mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌5分钟且然后浓缩以得到产物。LCMS (ES, m/z): 1208.5 [M - H]$^-$。

[1424] *步骤2:膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-(((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯*

[1425] 

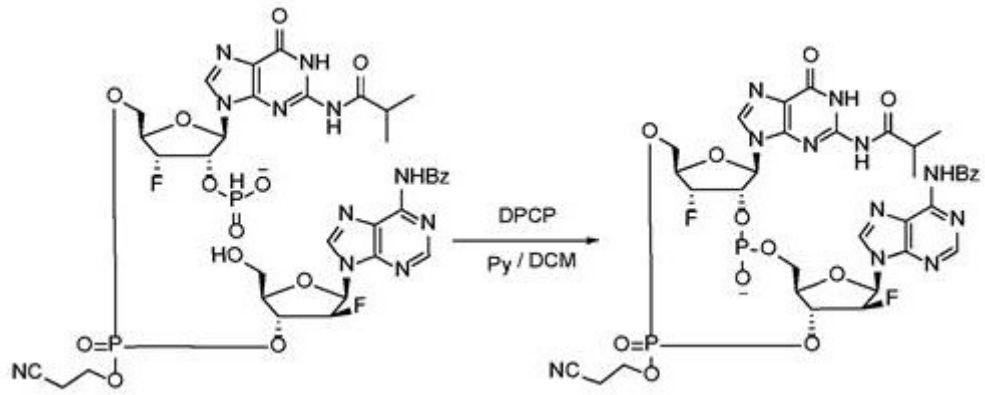
[1426] 向来自步骤1的粗制物于CH_2Cl_2中的溶液(10mL)中添加水(130mg, 7.5mmol)和2,2-二氯乙酸(0.77g, 6mmol)/CH_2Cl_2 (10mL)。在20分钟之后,添加三乙基甲硅烷(20mL),且继续搅拌2小时。添加吡啶(1mL),且浓缩反应混合物。残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

LCMS

[1427] (ES, m/z): 908.2 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, CD_3OD) δ 8.76 (d, J = 7.7Hz, 2H), 8.65 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.21 – 8.08 (m, 6H), 7.69 (t, J = 7.4Hz, 2H), 7.64 – 7.50 (m, 5H), 6.67 (ddd, J =

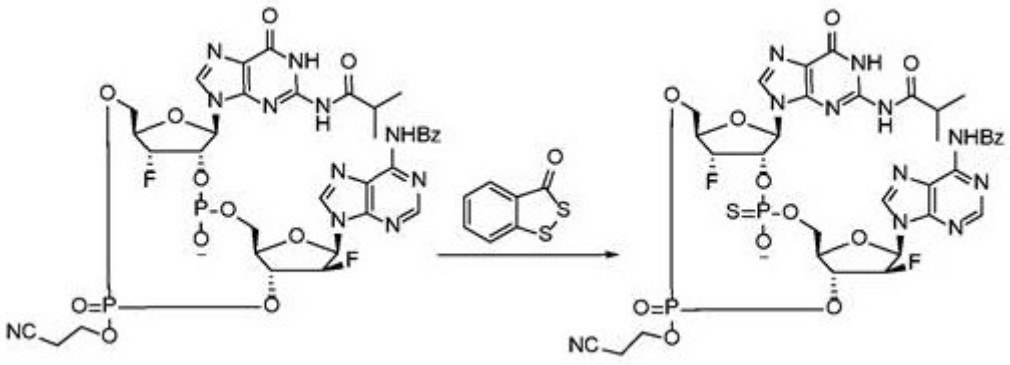
[1428] 32.7, 14.9, 4.4Hz, 2H), 6.21 – 6.10 (m, 2H), 5.99 – 5.91 (m, 1H), 5.64 – 5.57 (m, 1H), 5.56 – 5.45 (m, 3H), 5.38 (s, 3H), 4.71 – 4.54 (m, 6H), 4.47 – 4.23 (m, 5H), 3.92 (d, J = 3.8Hz, 1H), 3.89 – 3.80 (m, 2H), 2.94 (dt, J = 31.1, 5.9Hz, 4H), 2.83 – 2.74 (m, 2H), 1.36 – 1.19 (m, 13H), 1.12 (s, 2H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD) δ 2.55, -1.33, -3.09, -3.11, -155.89.

[1429] *步骤3:(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-氧化物*

[1430] 

[1431] 在Ar下,向吡啶(50mL)中添加氯代磷酸二苯酯(2.66g, 9.92mmol)。将其在-40℃下冷却,且然后经20分钟逐滴添加膦酸(2R,3S,4R,5R)-5-((((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-基)氧基)(2-氰基乙氧基)磷酰基)氧基)甲基)-4-氟-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基酯(450mg, 496mmol, 与吡啶(3×5mL)共蒸发)于CH_2Cl_2 (50mL)中的溶液。将所得混合物在-40℃下搅拌20分钟。反应混合物未经纯化即立即用于下一步骤中。LCMS (ES, m/z): 891.1 $[M + H]^+$。

[1432] *步骤4:(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-氧化物10-硫化物*

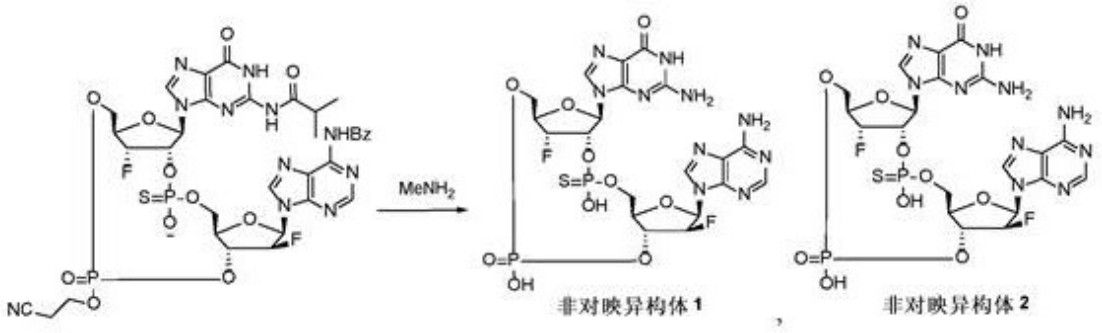
[1433] 

[1434] 在-40℃下,向步骤3的反应混合物中添加3*H*-苯并[c][1,2]二硫杂环戊烯-3-酮(32.76mg, 0.195mmol)和水(125mg, 0.744mmol)。在室温下搅拌40分钟之后,将反应混合物在减压下浓缩。残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(0.04%)中的0至95% ACN洗脱的反相(C18)色谱纯化,以得到产物。

LCMS (ES, m/z): 922.1 [M + H]$^+$. ^{1}H-NMR: (400MHz, CD_3OD) δ 8.81 – 8.73 (m, 2H), 8.63 – 8.48 (m, 2H), 8.24 (s, 1H), 8.21 – 8.10 (m, 5H), 7.73 – 7.56 (m, 7H), 6.83 – 6.72 (m, 2H), 6.28 (d, J = 8.6Hz, 1H), 6.14 (d, J = 8.5Hz, 1H), 5.83 – 5.56 (m, 4H), 5.49 (d, J = 11.1Hz, 1H), 4.76 – 4.46 (m, 11H), 4.37 (s, 1H), 4.29 (d, J = 6.8Hz, 1H), 4.18 (d, J = 10.2Hz, 1H), 3.04 (dd, J = 6.5, 5.1Hz, 4H), 2.83 – 2.68 (m, 1H), 2.06 (s, 2H), 1.23 (dd, J = 22.5, 6.9Hz, 9H), 1.14 – 1.05 (m, 3H). ^{31}P-NMR: (162MHz, CD_3OD) δ 62.41, 56.84, 56.29, -3.14, -3.35, -4.77, -5.06, -60.84.

[1435]

[1436] *步骤5:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1和2)*

[1437] 

[1438] 将(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-14-{6-[(苯基羰基)氨基]-9H-嘌呤-9-基}八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-10-醇盐2-氧化物10-硫化物(380mg, 0.377mmol)溶于$MeNH_2$于EtOH中的溶液(30%, 30mL)中,并将所得溶液在室温下搅拌2小时。然后,将其浓缩,且残余物通过用NH_4HCO_3水溶液(10mM)中的4至10% ACN洗脱的制备型HPLC (XBridge Shield RP18 OBD柱,19×150mm)经20分钟纯化。

[1439] 实施例273:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体1):T_R = 10.10min。

LCMS (ES, m/z): 693.0 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR: (400MHz, $CDCl_3$) δ 10.84 (d, J = 2.4Hz, 1H), 10.72 (s, 1H), 10.59 (d, J = 3.9Hz, 1H), 9.01 (dd, J = 19.4, 3.0Hz, 1H), 8.56 (d, J = 8.5Hz, 1H), 8.14 – 7.96 (m, 2H), 7.93 – 7.82 (m, 1H), 7.73 (dd, J = 12.0, 6.5Hz, 2H), 7.31 – 7.19 (m, 2H), 7.15 (d, J = 2.8Hz, 1H), 6.94 – 6.74 (m, 3H), 6.71 – 6.53 (m, 2H). ^{31}P-NMR: (162MHz, D_2O): δ 62.301 (s, 1P), 0.976 (s, 1P).

[1440]

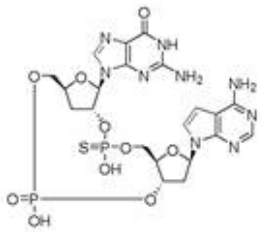
[1441] 实施例274:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体2):T_R: 14.27min。

[1442] LCMS (ES, m/z): 692.9 [M - H]$^-$. ^{1}H-NMR: (400MHz, DMSO-d6) δ 8.31 (d, J = 11.0Hz, 2H), 8.18 (s, 1H), 6.40 (dd, J = 22.6, 2.6Hz, 1H), 5.88 (d, J = 8.8Hz, 1H), 5.44 (d, J = 33.7Hz, 2H), 5.35 – 5.23 (m, 1H), 5.24 – 5.05 (m, 2H), 4.48 – 4.34 (m, 1H), 4.31 (dd, J = 10.6, 4.5Hz, 1H), 4.16 – 3.87 (m, 3H). ^{31}P-NMR: (162MHz, DMSO-d6): δ 55.096 (s, 1P), -2.731 (s, 1P).

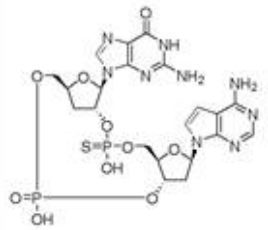
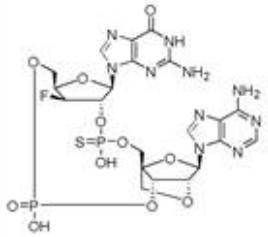
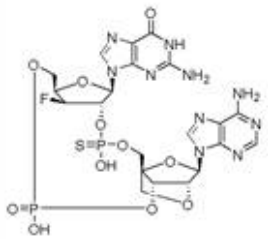
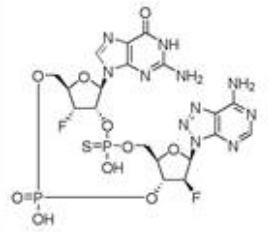
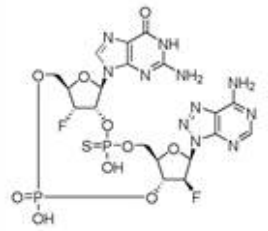
[1443] 根据类似于上文实施例274和275中所概述的程序的程序使用适当的单体核苷类(如诸制备中所述或如从商业来源所获得)来制备如下表10中所示的实施例275至288。

[1444] 表10

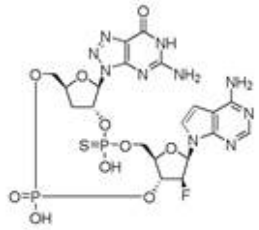
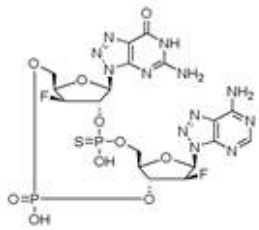
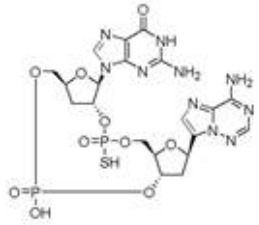
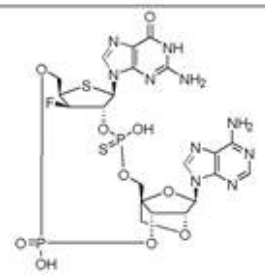
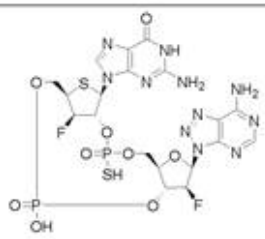
[1445]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
275		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	656

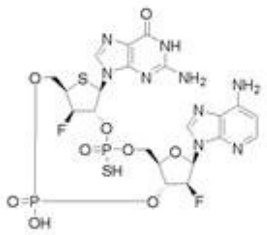
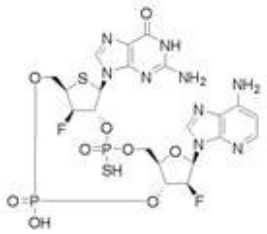
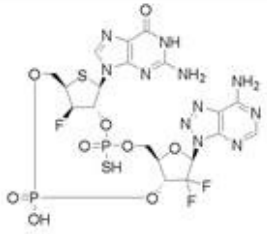
[1446]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
276		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	656
277		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	703
278		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aS,18S)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	703
279		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	694
280		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	694

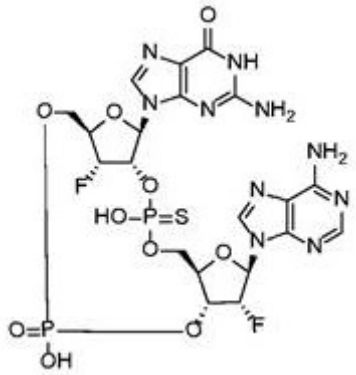
[1447]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
281		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-14-(4-氨基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-15-氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	675
282		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	695
283		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15aS)-14-(4-氨基咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-7-基)-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	657
284		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-18-氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化六氢-14H-15,12a-(环氧基桥亚甲基)-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7(12H)-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	719
285		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,16-二氟-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	710

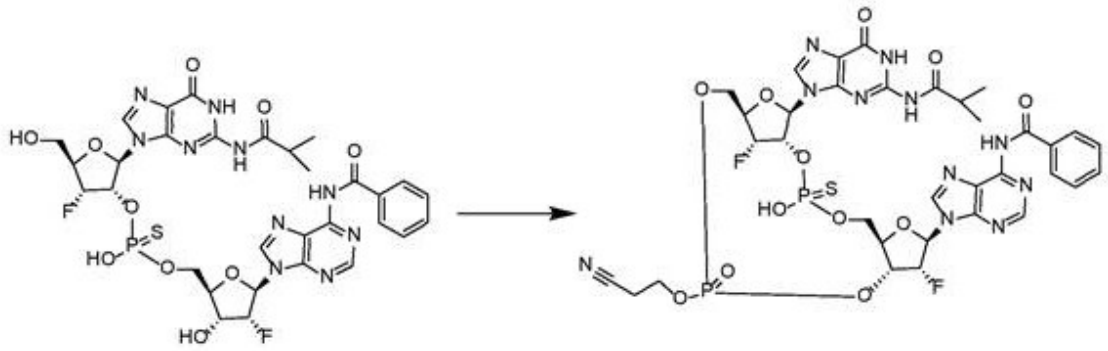
[1448]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]
286		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-15,16-二氟-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体1)	708
287		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-咪唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-15,16-二氟-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体2)	708
288		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15aR,16R)-14-(7-氨基-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-15,15,16-三氟-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	728

[1449] 实施例289:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

[1450] 

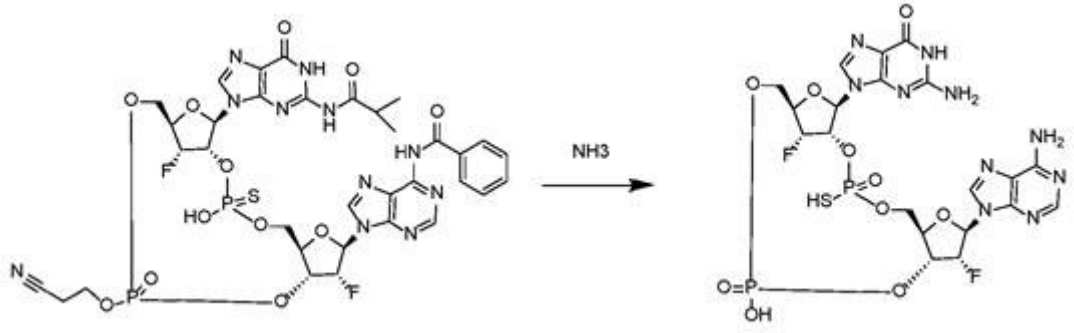
[1451] *步骤1:N-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-10-羟基-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2-氧化-10-硫化(sulfido)八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲酰胺*

[1452] 

[1453] 将硫代磷酸O-氢O-(((2R,3R,4R,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-9H-嘌呤-9-基)-4-氟-3-羟基四氢呋喃-2-基)甲基)酯O-((2R,3S,4R,5R)-4-氟-5-(羟基甲基)-2-(2-异丁酰胺基-6-氧代-1H-嘌呤-9(6H)-基)四氢呋喃-3-基)酯(步骤3的产物,实施例261,100mg,0.124mmol)和二异丙基四唑铵(31.8mg,0.186mmol)与干燥的CH_3CN (3×10ml)共沸并在高真空下干燥30分钟。

[1454] 将上述混合物溶于DMF (1mL)和乙腈(7mL)中并添加200mg活性MS 4A和N,N,N',N'-四异丙基亚磷二酰胺2-氰基乙基酯(51.1mg,0.161mmol)于1ml干燥的CH_3CN中的溶液。将所得混合物在室温下搅拌30分钟,随后添加1H-四唑(43.4mg,0.620mmol)。将反应物置于室温下持续1小时并添加叔丁基氢过氧化物(5.0M,于癸烷中)(0.074ml,0.372mmol)。继续搅拌1小时并在真空中浓缩。残余物通过用0-8% MeOH/DCM洗脱的硅胶上的柱色谱纯化,以得到期望产物。LCMS (ES,m/z):922 $[M+H]^+$。

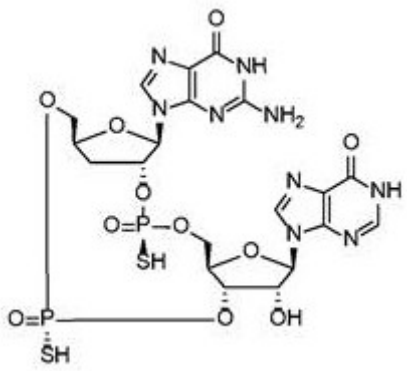
[1455] *步骤2:2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮*

[1456] 

[1457] 将N-{9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-2-(2-氰基乙氧基)-15,16-二氟-10-羟基-7-{2-[(2-甲基丙酰基)氨基]-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基}-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-9H-嘌呤-6-基}苯甲酰胺(90mg,0.098mmol)和氨(7.0M,于MeOH中)(2ml,14.00mmol)密封于微波管中。将混合物加热至50℃并搅拌4小时。将反应混合物浓缩,并使用质量导向的反相HPLC(X-Bridge BEH 150 Prep C18)使用含有MeCN和100mM三乙基乙酸铵水溶液的梯度溶剂系统纯化以得到三种期望的非对映异构体。产物级分的冻干提供2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2-氧化-10-硫化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮。

[1458] LCMS (ES, m/z): 693 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (H2O-d2, 500MHz): δ_H 8.23 (2H, d, J = 5.2Hz), 7.81 (1H, s), 6.42 (1H, d, J = 14.2Hz), 5.99 (1H, d, J = 8.6Hz), 5.70 (1H, m), 5.40 (2H, m), 5.20 (1H, m), 4.62 (2H, m), 4.54 (1H, s), 4.15-4.30 (3H, m). ^{31}P NMR: (H_2O-d_2, 202MHz): δ -1.6, 52.1.

[1459] 实施例290:2-氨基-9-[(2R,5S,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aS)-15-羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮

[1460] 

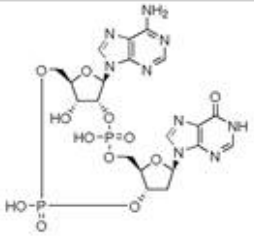
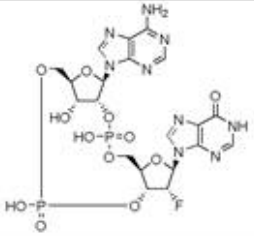
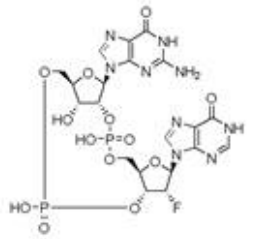
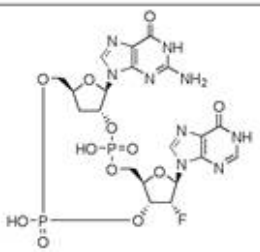
[1461] 向(2R,5S,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aS)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-14-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-15-羟基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-2,10-双(硫醇盐)2,10-二氧化物(实施例86,5.0mg, 0.0071mmol)中添加磷酸钠缓冲液(pH 6.8, 50mM, 0.5mL)和单磷酸腺苷脱氨酶(3mg)。将反应混合物搅拌过夜,过滤,并通过反相HPLC(NH_4HCO_3水溶液(100mM)中的1-10% MeCN)纯化以提供作为二铵盐的标题化合物。

[1462] LCMS (ES, m/z): 690 [M - H]⁻. ^{1}H NMR (500MHz, D_2O): δ 8.30 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 5.82 (d, *J* = 6.0Hz, 1H), 5.64 (m, 1H), 5.15 (m, 1H), 4.86 (d, J = 4.5Hz, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.48-4.53 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.11 (dd, J = 11.5, 4.0Hz, 1H), 4.05 (m, 1H), 2.63 (m, 1H), 2.52 (m, 1H). ^{31}P NMR: (202MHz, D_2O): δ 55.78 (s), 52.44 (s).

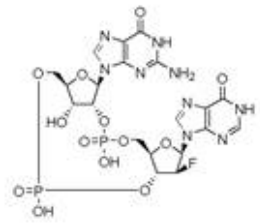
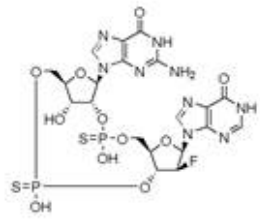
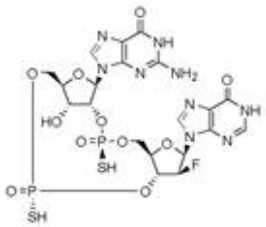
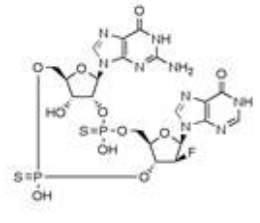
[1463] 根据类似于上文实施例290中所概述的程序的程序从所指示的起始化合物("St. Cmpd.")来制备如下表11中所示的实施例291至348。

[1464] 表11

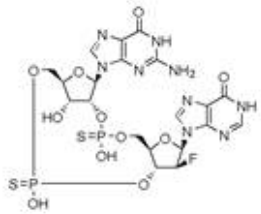
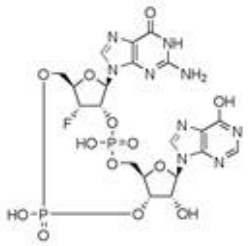
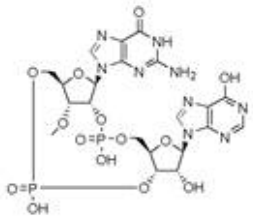
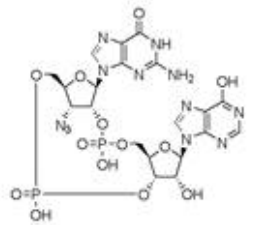
[1465]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
291		9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15a*S*,16*R*)-7-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10,16-三羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	642	3
292		9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*R*,16*R*)-7-(6-氨基-9*H*-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	660	4
293		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	676	2
294		2-氨基-9-[(5*S*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*R*)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	660	21

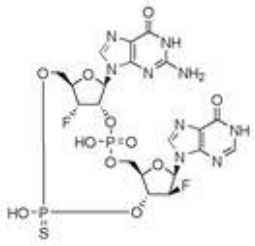
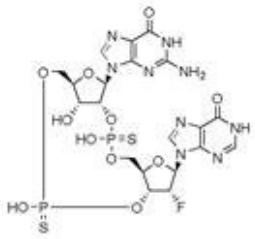
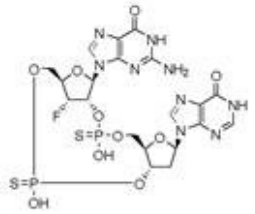
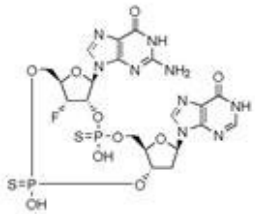
[1466]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻	起始化合物
295		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	676	7
296		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	708	90
297		2-氨基-9-[(2R,5*R*,7*R*,8*R*,10R,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	708	89
298		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	708	91

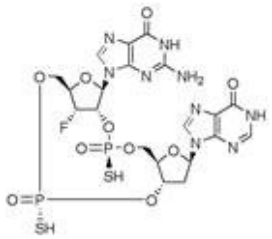
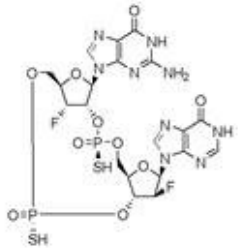
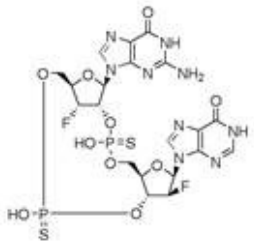
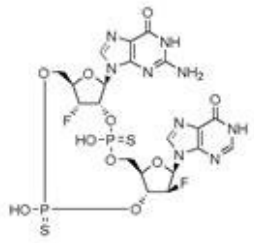
[1467]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
299		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 4)	708	92
300		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*R*)-16-氟-2,10,15-三羟基-14-(6-羟基-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	676	5
301		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*R*)-2,10,15-三羟基-14-(6-羟基-9*H*-嘌呤-9-基)-16-甲氧基-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	688	13
302		2-氨基-9-[(5*S*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*S*,16*R*)-16-叠氮基-2,10,15-三羟基-14-(6-羟基-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二氧化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	699	14

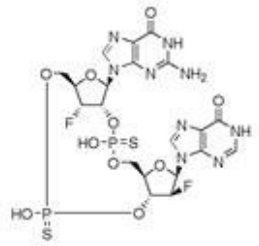
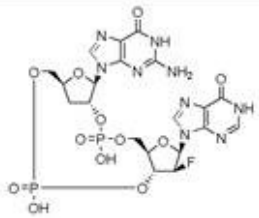
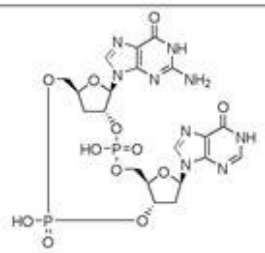
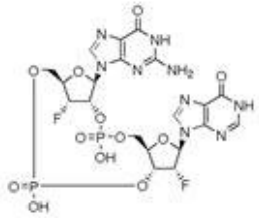
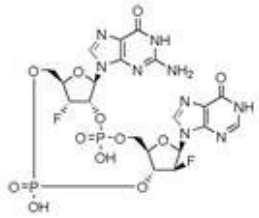
[1468]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
303		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-10-氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2-硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	694	143
304		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*R*,16*R*)-15-氟-2,10,16-三羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	708	81
305		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15a*S*,16*R*)-16-氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	692	120
306		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15a*S*,16*R*)-16-氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	692	118

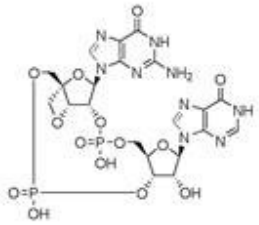
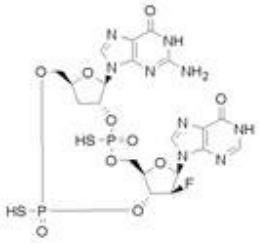
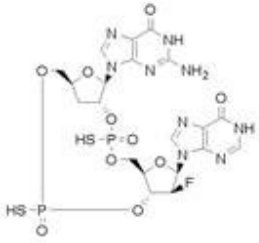
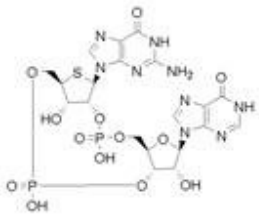
[1469]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
307		2-氨基-9-[(2R, 5*R*,7*R*,8*S*,10R, 12a*R*,14*R*,15a*S*,16*R*)-16-氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	692	117
308		2-氨基-9-[(2R, 5*R*,7*R*,8*S*,10R, 12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	710	247
309		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	710	245
310		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	710	246

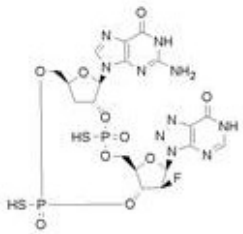
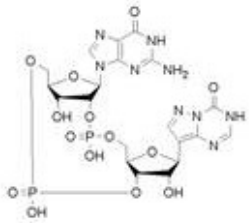
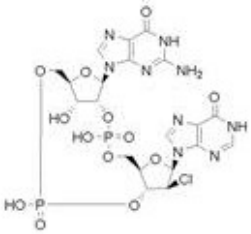
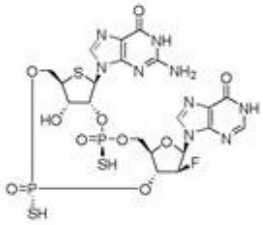
[1470]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
311		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)-2,10-二硫化八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮(非对映异构体 4)	710	244
312		2-氨基-9-[(5*S*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*)-15-氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	660	25
313		2-氨基-9-[(5*S*,7*R*,8*R*,12a*R*,14*R*,15aS)-2,10-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l] [1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	642	27
314		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*R*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	678	23
315		2-氨基-9-[(5*R*,7*R*,8*S*,12a*R*,14*R*,15*S*,15a*R*,16*R*)-15,16-二氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)八氢-12*H*-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	678	26

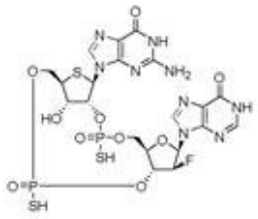
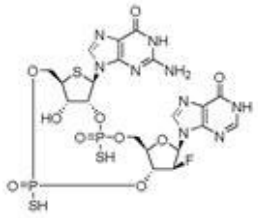
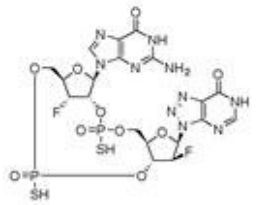
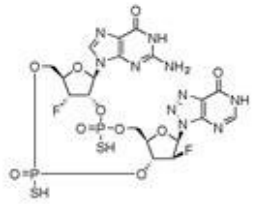
[1471]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
316		2-氨基-9-[(2a*R*,6a*S*,7*R*,8*R*,9a*R*,14*R*,14a*S*,15*R*)-5,7,12-三羟基-5,12-二氧化-8-(6-氧代-1,6-二氢-9*H*-嘌呤-9-基)六氢-6a*H*-2a,14-(环氧基桥亚甲基)呋喃并[3,2-d]氧杂环丁并[2,3-k][1,3,7,9,2,8]四氧杂二磷杂十三熳环-15(2H,3H)-基]-1,9-二氢-6*H*-嘌呤-6-酮	686	17
317		2-氨基-9-[(*2R,5S,7R,8R,10R,12aR,14R,15S,15aR*)-15-氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体 1)	692	130
318		2-氨基-9-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-15-氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(非对映异构体 2)	692	131
319		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16S)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	690	11

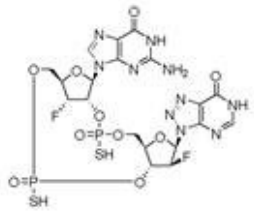
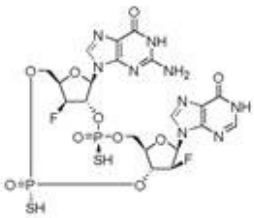
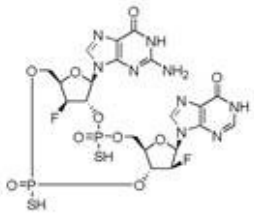
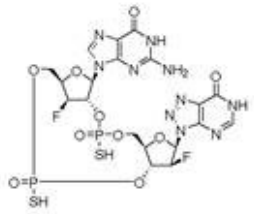
[1472]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻	起始化合物
320		3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S, 15aR)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	693	133
321		8-[(5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10,15,16-四羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]吡唑并[1,5-a][1,3,5]三嗪-4(3H)-酮	674	54
322		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15-氯-2,10,16-三羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	692	15
323		2-氨基-9-[(2R, 5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15S, 15aR,16S)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	724	97

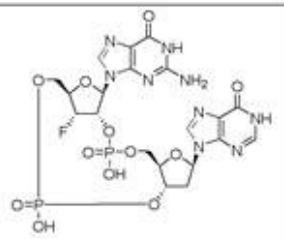
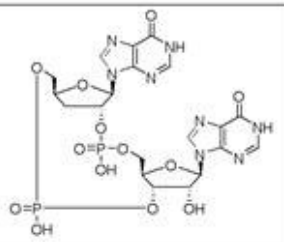
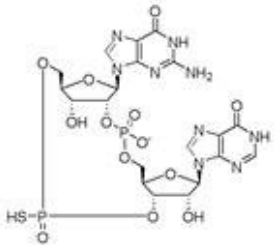
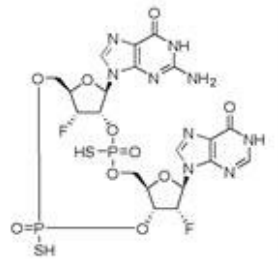
[1473]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
324		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	724	99
325		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-15-氟-16-羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10] 四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 3)	724	96
326		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	711	130
327		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	711	128

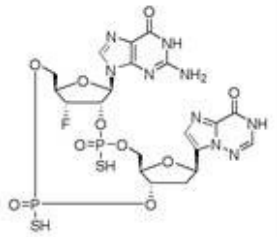
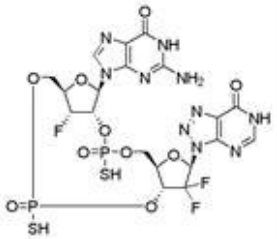
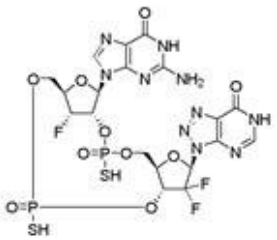
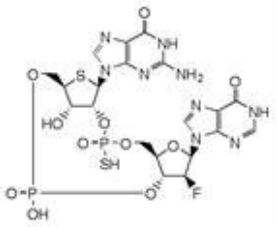
[1474]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
328		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 3)	711	127
329		2-氨基-9-[(2R, 5R,7R,8S,10R, 12aR,14R,15S, 15aR,16S)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 1)	710	144
330		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S, 15aR,16S)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮 (非对映异构体 2)	710	145
331		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10] 五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	711	147

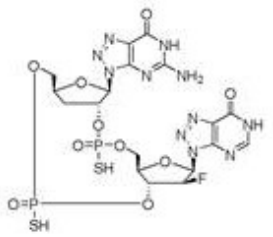
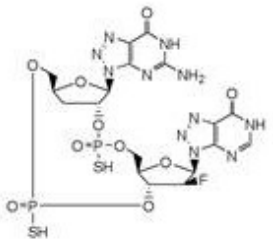
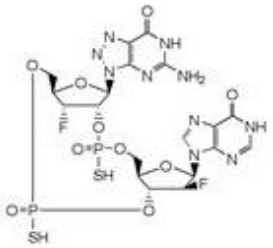
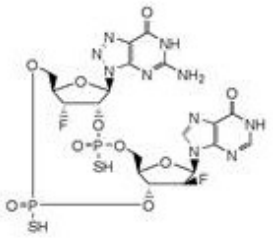
[1475]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
332		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-16-氟-2,10-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	660	22
333		9,9'-[(5S,7R,8R, 12aR,14R,15R,15aS)-2,10,15-三羟基-2,10-二氧化八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7,14-二基]双(1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮)	643	50
334		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-10,15,16-三羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	690	38
335		2-氨基-9-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	710	260

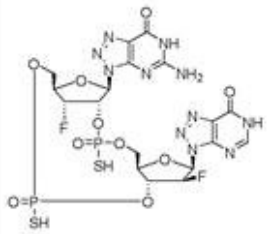
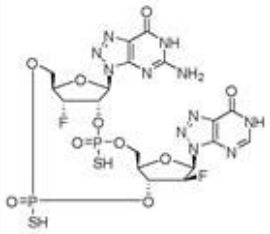
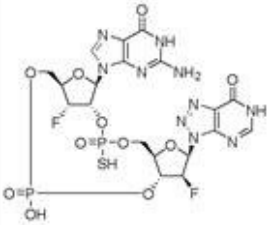
[1476]

实施例	结构	名称	质量 $[M-H]^-$	起始化合物
336		7-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aS,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-16-氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]咪唑并[2,1-f][1,2,4]三嗪-4(3H)-酮 (非对映异构体 1)	692	249
337		3-[5R,7R,8S,12aR,14R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,15,16-三氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	729	165
338		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,15,16-三氟-2,10-二氧化-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	729	167
339		2-氨基-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR,16S)-15-氟-2,16-二羟基-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,9,11,6,2,10]四氧杂硫杂二磷杂十四熳环-7-基]-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮	708	266

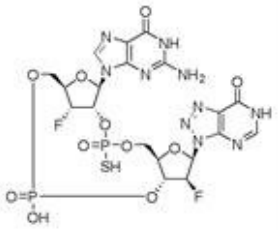
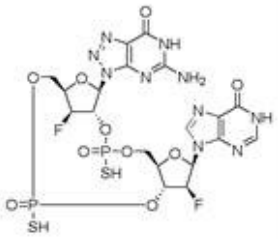
[1477]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻	起始化合物
340		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-15-氟-2,10-二氧化-14-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	694	181
341		5-氨基-3-[(5S,7R,8R,12aR,14R,15S,15aR)-15-氟-2,10-二氧化-14-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	694	182
342		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	711	199
343		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	711	197

[1478]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻	起始化合物
344		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	712	200
345		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(7-氧代-6,7-二氢-3H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-3-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	712	201
346		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 1)	695	279

[1479]

实施例	结构	名称	质量 [M-H]⁻	起始化合物
347		3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16R)-7-(2-氨基-6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-15,16-二氟-2-羟基-2,10-二氧化-10-硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-14-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮 (非对映异构体 2)	695	280
348		5-氨基-3-[(5R,7R,8S,12aR,14R,15S,15aR,16S)-15,16-二氟-2,10-二氧化-14-(6-氧代-1,6-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2,10-二硫烷基八氢-12H-5,8-亚甲桥呋喃并[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]五氧杂二磷杂十四熳环-7-基]-3,6-二氢-7H-[1,2,3]三唑并[4,5-d]嘧啶-7-酮	711	179

[1480] 生物评估

[1481] 通过在STING生物化学[^{3}H]cGAMP竞争测定(使用HAQ或野生型(WT) STING)中表明以20uM或更小的EC_{50}结合至STING蛋白并在THP1细胞测定中在30uM下以5%或更大发光诱导在INF-β分泌中表明干扰素产生,实施例中所述的个别化合物被定义为STING激动剂。下述方法描述这些测定中的每一种。

[1482] [^{3}H]-cGAMP合成

[1483] 将2.3mL含有80mM tris Cl、200mM $MgCl_2$和20mM NaCl的缓冲溶液,随后添加0.32mL 10mM GTP的水溶液添加至塑料50mL AMICON管中。然后添加[^{3}H]ATP (21Ci/mmol,45mCi)于0.5mL H_2O中的溶液,随后添加1mL 1mg/mL DNA溶液(Herring testes活化剂DNA,Sigma,编号D6898)和53uL 47mM cGAS酶的溶液。添加额外H_2O以使总体积达到10mL。

[1484] 将反应物在37℃下搅拌2小时且然后直接添加至Amicon Ultra-15 10K离心管中并以4,000g旋转1小时。然后在半制备型Mono Q柱上使用以下流动相纯化所收集的溶液:

[1485] A:0.05M TrisCl,pH 8.5,用1M NaOH调节

[1486] B:0.05M TrisCl,0.5M NaCl pH 8.5,用1M NaOH调节

[1487] 梯度:100% A,持续5分钟,随后经25分钟的至50:50 (A:B)的线性梯度,3mL/min,254nm。

[1488] 将收集的产物级分合并并用缓冲液A调节至30mL的总体积。以98.0%的放射化学纯度在21.5Ci/mmol的比活性下分离总产量为15.5mCi的[^{3}H]cGAMP。

[1489] cGAS酶

[1490] 化学合成重组DNA载体以表达截短的人类cGAS酶(残基161-522)。为了帮助表达和纯化,氨基末端含有六组氨酸标签、SUMO标签和TEV切割位点。将重组酶在ROSETTA™ 2

(DE3)单一感受态细胞(Novagen)中过表达。使用HIS-Select HF镍亲和凝胶(Sigma)实施亲和纯化,随后使用Hi-Load 26/60 SUPERDEX200制备级柱(GE Healthcare)实施大小排阻色谱。将级分合并,浓缩,在液氮中快速冷冻且储存于-80℃下,直至需要用于研究应用。

[1491] 实施例349:^{3}H-cGAMP过滤结合测定(HAQ STING)

[1492] 使用放射性过滤-结合测定通过与氚化cGAMP配体竞争人类STING受体膜的能力来定量化合物结合STING的能力。该结合测定采用获得自过表达内部制备的全长HAQ STING和也内部纯化的氚化cGAMP配体的粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)细胞膜(*T.ni*;Expression Systems,目录编号94-002F,www.expressionsystems.com)的STING受体。

[1493] 基本HAQ STING过滤测定方案如下:

[1494] 通过Hamilton STARPlus CORE在96孔板(Greiner, 编号651201)中使用1:3十点剂量反应形式连续滴定化合物。在化合物制备之后,通过将浓缩膜稀释于分析缓冲液(1×PBS;Invitrogen编号SH30028.02)中并使用手动组织均质器(Wheaton, 编号357546)均质化处理7次来制备STING膜(SEQ.ID.No.2)的2.2ug/ml工作浓度。然后将148 uL制备的膜手动添加至96孔深孔聚丙烯板(Fisher Scientific, 编号12-566-121)的每个孔中。在添加膜后,使用Biomek FX将2uL滴定的测试化合物、DMSO对照(Sigma编号276855)或冷cGAMP对照(内部制备)添加至适当孔中。然后将化合物和膜在室温下预孵育60分钟以使化合物结合达到平衡。在平衡后,通过稀释至测定缓冲液中来制备8nM [^{3}H] c-GAMP配体,且然后将50uL该工作储备液手动添加至测定板的每个孔中。然后将板在室温下孵育60分钟,且然后通过96孔GF/B过滤板(PerkinElmer, 编号6005250)使用配备有20mM HEPES缓冲液(Fisher Scientific, 编号BP299500)的TomTec MachIII细胞收获器过滤每个测定板的内容物。然后使用加压的VWR烘箱将过滤板在55℃下干燥30分钟,然后将30uL Ultima GoldF闪烁液添加至每个孔中。然后使用PerkinElmer TopCount读板仪测量每个反应孔的氚水平。

[1495] 在针对对照均一化之后,通过测量剩余放射活性的量来计算每种化合物浓度的活性百分比。用4参数剂量反应方程拟合活性百分比相比于log化合物浓度的作图以计算EC_{50}值。

[1496] 最终反应条件为:

[1497]

组分	体积(uL)	最终浓度
STING 膜	**148**	**1.5ug/ml**
^{3}H-cGAMP	**50**	**2.0nM**
低对照(冷 cGAMP)	**2**	**10uM**
测试化合物/DMSO	**2**	**10uM**

[1498] 所测试的化合物浓度为含有1.0%残余DMSO的20.000μM、637.00μM、2.200μM、0.740μM、0.247μM、0.082μM、0.027μM、0.009μM、0.003μM和0.001μM。

[1499] 全长STING (HAQ)病毒生成

[1500] 使用昆虫细胞杆状病毒系统生成STING病毒。将草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*) *Sf21*细胞(Kempbio, Inc.)在不含抗生素的Sf-900II SFM培养基(LifeTechnologies 编号10902088)中稀释至5e5个细胞/ml。将细胞悬浮液添加至处理的6

孔板的每个孔中(2mL/孔,总共1e6个细胞),并使细胞粘附至少30分钟。同时,通过合并500ng HAQ STING [STING(1-379)R71H,G230A,H232R,R293Q-GG-AviTag-GS-HRV3C-HIS8/pBAC1] DNA (Genewiz custom synthesis)与1mL含有10μL Cellfectin® II试剂(Invitrogen编号10362100)和100 ng病毒骨架BestBac 2.0, v-cath/chiA缺失的线性化杆状病毒DNA (Expression Systems 编号91-002)的Sf-900II SFM培养基来组装1mL共转染混合物。使转染混合物孵育30分钟。在孵育之后,从6孔板中的粘附细胞中轻轻地去除培养基,添加1mL转染混合物(1mL/孔),并将板置于27℃下的加湿孵育器中。第二天,将1mL Sf-900II SFM培养基(无抗生素)添加至6孔板的每个孔中。在添加培养基之后,使细胞与DNA (SEQ.ID.No.3)在27℃下孵育5-7天以生成P0病毒储备液。为了生成P1病毒储备液,将0.5mL P0病毒上清液添加至含有5μg/mL庆大霉素(Invitrogen 编号15710072)的Sf-900II SFM培养基中的50mL未感染*Sf21*细胞(在感染前一天以5x10^{5}个细胞/mL的密度接种以进行一次过夜倍增)中。然后将感染的细胞在27℃下孵育3天,同时在110rpm下振荡(ATR Biotech Multitron Infors HT 编号AJ118)。在第3天,使用ViCell XR (Beckman Coulter Life Sciences 编号383556)对P1培养物进行计数以证实感染已发生(细胞尺寸≥3μm,大于未感染细胞且活力为大约85-95%)。将培养物收获于50mL圆锥形管中并在4℃下以2000×g离心10分钟。将P1病毒上清液倒入干净的50ml离心管中,并使用剩余P1细胞沉淀以根据内部验证SOP来生成杆状病毒感染的昆虫细胞(BIIC)。内部制备含有Sf-900II SFM培养基(含有10%热灭活的FBS、10% DMSO(Sigma 编号D2650)和5μg/ml庆大霉素)的冷冻保藏培养基并在即将使用之前立即通过0.22μM过滤器灭菌。将P1细胞沉淀再悬浮至2e7个细胞/ml的密度且等分至冷冻小瓶中(1mL/小瓶)。将冷冻小瓶置于-80℃下的Mr. Frosty细胞冷冻器O/N中并在第二天转移至液氮中用于长期储存。为了生成P2病毒储备液,将0.5mL P1病毒上清液添加至含有5μg/mL庆大霉素的Sf-900II SFM培养基中的50mL未感染*Sf21*细胞(在感染前一天以5x10^{5}个细胞/mL的密度接种以进行一次过夜倍增)中。将这些细胞在27℃下孵育3天,同时在110rpm下振荡,然后收获P2储备液并在4℃下以2000×g离心10分钟。将P2病毒上清液倾倒掉并丢弃,同时使用P2细胞沉淀以遵循上述相同方案来生成P2 BIIC。验证杆状病毒生成方案以一致地以2e9 pfu/mL(2e7个细胞/mL×100pfu/细胞)的滴度产生P1/P2 BIIC。

[1501] 全长STING (HAQ)表达

[1502] 为了生成STING膜,通过将解冻的BIIC添加至以1.0x10^{6}个细胞/mL的密度接种的Sf21 细胞中来过夜扩增P1/P2 BIIC。使用2e9pfu/ml的假设BIIC滴度来计算用于感染培养物的BIIC的体积以在过夜扩增中实现10的MOI。在过夜培养之后,在ViCell XR上对细胞进行计数以证实感染已发生(细胞尺寸≥3μm,大于未感染细胞且活力为大约80-90%)。基于(100pfu/感染的 Sf21 细胞)来计算来自过夜扩增且用于感染大规模表达的粉纹夜蛾(*T.ni*; Expression Systems,目录编号94-002F, www.expressionsystems.com,以1.0x10^{6}的密度在MOI=2.0下接种于细胞培养基(ESF921 SFM,含有5μg/mL庆大霉素)中)的感染的*Sf21*细胞的体积。使细胞在27℃下表达48小时,然后通过在4℃下以3,400×g离心10分钟来收获细胞沉淀。在ViCell XR上对粉纹夜蛾细胞进行计数以证实感染已发生(细胞尺寸≥3μm,大于未感染细胞且活力为大约80-90%),然后收获。

[1503] 全长STING (HAQ)膜生成

[1504] 缓冲储备液试剂:

[1505] 1) 1 M HEPES pH 7.5, Teknova, 目录编号H1035

[1506] 2) 5 M NaCl, Sigma Aldrich, 目录编号S5150-1L

[1507] 3) KCl, Sigma Aldrich, 目录编号319309-500ML

[1508] 4)完全无EDTA的蛋白酶抑制剂片剂,Roche Diagnostics,目录编号11873580001

[1509] 5) Benzonase, Universal Nuclease, Pierce, 目录编号88702。

[1510] 将裂解缓冲液[25mM pH 7.5 HEPES、10mM $MgCl_2$、20mM KCl, (Benzonase 1:5000,完全蛋白酶抑制剂片剂/50mL)]以5mL裂解缓冲液/g细胞沉淀添加至表达上文制备的全长STING (HAQ)的细胞沉淀中。将沉淀再悬浮并使用Wheaton Dounce均质器均质化处理20次以破坏细胞膜。然后使均质化的裂解物通过压力接近于5000PSI的emulsiflex-C5微射流机。将再悬浮的沉淀在4℃下以36,000rpm (100,000×g)于超高速离心机中的45Ti转子中离心45分钟。移除上清液。然后将沉淀以50mL沉淀/离心管的体积再悬浮于洗涤缓冲液[(25mM pH7.5 HEPES、1mM $MgCl_2$、20mM KCl、1M NaCl(全蛋白酶抑制剂片剂/50mL)]中。然后在冰上使用玻璃均质器(拍击20次)将沉淀/洗涤缓冲液混合物均质化,随后在4℃下以36,000rpm离心45分钟。移除上清液。再一次重复洗涤步骤。将所得膜再悬浮于20mM pH 7.5 HEPES、500mM NaCl、10%甘油、无EDTA蛋白酶抑制剂(1片剂/50mL)中。通过Bradford测定(Bio-Rad蛋白测定,目录编号500-0006)测量蛋白浓度,并通过SDS-PAGE测定蛋白富集并通过Western印迹进行证实。将再悬浮的膜储存于-80℃下。

[1511] *全长HAQ STING [STING(1-379)R71H,G230A,H232R,R293Q-GG-AviTag-GS-HRV3C-HIS8]氨基酸序列:*

[1512]
MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLL
LNGVCSLAEELHHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFT
WMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQA
RIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTADRAGIK
DRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCQTL
EDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTST
MSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSGGGLNDIFEAQKIEWHEGSLEVLFQGPHHHHHHHH
(SEQ. ID. No. 2)

[1513] *全长HAQ [STING(1-379)R71H,G230A,H232R,R293Q-GG-AviTag-GS-HRV3C-HIS8/pBAC1]质粒DNA序列:*

[1514]
GGAACGGCTCCGCCCACTATTAATGAAATTAAAAATTCCAATTTTAAAAAACGCAG
CAAGAGAAACATTTGTATGAAAGAATGCGTAGAAGGAAAGAAAAATGTCGTCGAC
ATGCTGAACAACAAGATTAATATGCCTCCGTGTATAAAAAAAATATTGAACGATTTG

AAAGAAAACAATGTACCGCGCGGCGGTATGTACAGGAAGAGGTTTATACTAAACTG
TTACATTGCAAACGTGGTTTCGTGTGCCAAGTGTGAAAACCGATGTTTAATCAAGGC
TCTGACGCATTTCTACAACCACGACTCCAAGTGTGTGGGTGAAGTCATGCATCTTTT
AATCAAATCCCAAGATGTGTATAAACCACCAAACTGCCAAAAAATGAAAACTGTCG
ACAAGCTCTGTCCGTTTGCTGGCAACTGCAAGGGTCTCAATCCTATTTGTAATTATTG
AATAATAAAACAATTATAAATGCTAAATTTGTTTTTTATTAACGATACAAACCAAAC
GCAACAAGAACATTTGTAGTATTATCTATAATTGAAAACGCGTAGTTATAATCGCTG
AGGTAATATTTAAAATCATTTTCAAATGATTCACAGTTAATTTGCGACAATATAATT
TTATTTTCACATAAACTAGACGCCTTGTCGTCTTCTTCTTCGTATTCCTTCTCTTTTTC
ATTTTTCTCTTCATAAAAATTAACATAGTTATTATCGTATCCATATATGTATCTATCG
TATAGAGTAAATTTTTTGTTGTCATAAATATATATGTCTTTTTTAATGGGGTGTATAG
TACCGCTGCGCATAGTTTTTCTGTAATTTACAACAGTGCTATTTTCTGGTAGTTCTTC
GGAGTGTGTTGCTTTAATTATTAAATTTATATAATCAATGAATTTGGGATCGTCGGTT
TTGTACAATATGTTGCCGGCATAGTACGCAGCTTCTTCTAGTTCAATTACACCATTTT
TTAGCAGCACCGGATTAACATAACTTTCCAAAATGTTGTACGAACCGTTAAACAAAA
ACAGTTCACCTCCCTTTTCTATACTATTGTCTGCGAGCAGTTGTTTGTTGTTAAAAAT
[1515] AACAGCCATTGTAATGAGACGCACAAACTAATATCACAAACTGGAAATGTCTATCA
ATATATAGTTGCTGATCAGATCTGATCATGGAGATAATTAAAATGATAACCATCTCG
CAAATAAATAAGTATTTTACTGTTTTCGTAACAGTTTTGTAATAAAAAAACCTATAA
ATATAGGATCCATGCCCCACTCCAGCCTGCATCCATCCATCCCGTGTCCCAGGGGTC
ACGGGGCCCAGAAGGCAGCCTTGGTTCTGCTGAGTGCCTGCCTGGTGACCCTTTGGG
GGCTAGGAGAGCCACCAGAGCACACTCTCCGGTACCTGGTGCTCCACCTAGCCTCCC
TGCAGCTGGGACTGCTGTTAAACGGGGTCTGCAGCCTGGCTGAGGAGCTGCACCAC
ATCCACTCCAGGTACCGGGGCAGCTACTGGAGGACTGTGCGGGCCTGCCTGGGCTG
CCCCCTCCGCCGTGGGGCCCTGTTGCTGCTGTCCATCTATTTCTACTACTCCCTCCCA
AATGCGGTCGGCCCGCCCTTCACTTGGATGCTTGCCCTCCTGGGCCTCTCGCAGGCA
CTGAACATCCTCCTGGGCCTCAAGGGCCTGGCCCCAGCTGAGATCTCTGCAGTGTGT
GAAAAAGGGAATTTCAACGTGGCCCATGGGCTGGCATGGTCATATTACATCGGATA
TCTGCGGCTGATCCTGCCAGAGCTCCAGGCCCGGATTCGAACTTACAATCAGCATTA
CAACAACCTGCTACGGGGTGCAGTGAGCCAGCGGCTGTATATTCTCCTCCCATTGGA
CTGTGGGGTGCCTGATAACCTGAGTATGGCTGACCCCAACATTCGCTTCCTGGATAA
ACTGCCCCAGCAGACCGCTGACCGTGCTGGCATCAAGGATCGGGTTTACAGCAACA
GCATCTATGAGCTTCTGGAGAACGGGCAGCGGGCGGGCACCTGTGTCCTGGAGTAC

GCCACCCCCTTGCAGACTTTGTTTGCCATGTCACAATACAGTCAAGCTGGCTTTAGC

CGGGAGGATAGGCTTGAGCAGGCCAAACTCTTCTGCCAGACACTTGAGGACATCCT

GGCAGATGCCCCTGAGTCTCAGAACAACTGCCGCCTCATTGCCTACCAGGAACCTGC

AGATGACAGCAGCTTCTCGCTGTCCCAGGAGGTTCTCCGGCACCTGCGGCAGGAGG

AAAAGGAAGAGGTTACTGTGGGCAGCTTGAAGACCTCAGCGGTGCCCAGTACCTCC

ACGATGTCCCAAGAGCCTGAGCTCCTCATCAGTGGAATGGAAAAGCCCCTCCCTCTC

CGCACGGATTTCTCTGGCGGTGGCCTGAACGACATCTTCGAAGCCCAGAAAATCGA

ATGGCATGAAGGCAGCCTGGAAGTGCTGTTCCAGGGCCCACACCACCATCATCACC

ATCACCATTAATGAGCGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCACTAACCTAGG

TAGCTGAGCGCATGCAAGCTGATCCGGGTTATTAGTACATTTATTAAGCGCTAGATT

CTGTGCGTTGTTGATTTACAGACAATTGTTGTACGTATTTTAATAATTCATTAAATTT

ATAATCTTTAGGGTGGTATGTTAGAGCGAAAATCAAATGATTTTCAGCGTCTTTATA

TCTGAATTTAAATATTAAATCCTCAATAGATTTGTAAAATAGGTTTCGATTAGTTTCA

AACAAGGGTTGTTTTTCCGAACCGATGGCTGGACTATCTAATGGATTTTCGCTCAAC

GCCACAAAACTTGCCAAATCTTGTAGCAGCAATCTAGCTTTGTCGATATTCGTTTGT

GTTTTGTTTTGTAATAAAGGTTCGACGTCGTTCAAAATATTATGCGCTTTTGTATTTC

[1516] TTTCATCACTGTCGTTAGTGTACAATTGACTCGACGTAAACACGTTAAATAGAGCTT

GGACATATTTAACATCGGGCGTGTTAGCTTTATTAGGCCGATTATCGTCGTCGTCCC

AACCCTCGTCGTTAGAAGTTGCTTCCGAAGACGATTTTGCCATAGCCACACGACGCC

TATTAATTGTGTCGGCTAACACGTCCGCGATCAAATTTGTAGTTGAGCTTTTTGGAAT

TATTTCTGATTGCGGGCGTTTTTGGGCGGGTTTCAATCTAACTGTGCCCGATTTTAAT

TCAGACAACACGTTAGAAAGCGATGGTGCAGGCGGTGGTAACATTTCAGACGGCAA

ATCTACTAATGGCGGCGGTGGTGGAGCTGATGATAAATCTACCATCGGTGGAGGCG

CAGGCGGGGCTGGCGGCGGAGGCGGAGGCGGAGGTGGTGGCGGTGATGCAGACGG

CGGTTTAGGCTCAAATGTCTCTTTAGGCAACACAGTCGGCACCTCAACTATTGTACT

GGTTTCGGGCGCCGTTTTTGGTTTGACCGGTCTGAGACGAGTGCGATTTTTTTCGTTT

CTAATAGCTTCCAACAATTGTTGTCTGTCGTCTAAAGGTGCAGCGGGTTGAGGTTCC

GTCGGCATTGGTGGAGCGGGCGGCAATTCAGACATCGATGGTGGTGGTGGTGGTGG

AGGCGCTGGAATGTTAGGCACGGGAGAAGGTGGTGGCGGCGGTGCCGCCGGTATAA

TTTGTTCTGGTTTAGTTTGTTCGCGCACGATTGTGGGCACCGGCGCAGGCGCCGCTG

GCTGCACAACGGAAGGTCGTCTGCTTCGAGGCAGCGCTTGGGGTGGTGGCAATTCA

ATATTATAATTGGAATACAAATCGTAAAAATCTGCTATAAGCATTGTAATTTCGCTA

TCGTTTACCGTGCCGATATTTAACAACCGCTCAATGTAAGCAATTGTATTGTAAAGA

GATTGTCTCAAGCTCGGATCGATCCCGCACGCCGATAACAAGCCTTTTCATTTTTACT

ACAGCATTGTAGTGGCGAGACACTTCGCTGTCGTCGAGGTTTAAACGCTTCCTCGCT

CACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAA

GGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAG

CAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTC

CATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTG

GCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCG

TGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTC

GGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGT

CGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGC

CTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACT

GGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAG

AGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCT

GCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA

AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCA

GAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGT

[1517] GGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTC

ACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAG

TAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATC

TGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATAC

GGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCA

CCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAG

TGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAG

AGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCAT

CGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCA

AGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCT

CCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCA

CTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGT

ACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGG

CGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTG

GAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTT

CGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGT

TTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCG

[1518] ACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATC
AGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAA
TAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGCGCCCTGTAGCGGCG
CATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGC
GCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTT
TCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACG
GCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCC
CTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTC
TTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAG
GGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTA
ACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTCCCATTCGCCATTCAGGCTGC
GCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCA
(SEQ. ID. No. 3)

[1519] 在如上所述的HAQ STING体外结合测定中评估本公开的某些化合物。下表将这些化合物的生物学数据作为EC_{50}值制表。

[1520] 表 12:对于HAQ STING的^{3}H-cGAMP过滤结合测定

[1521]

化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)
实施例 1	<1	实施例 55	55.3	实施例 134	<1
实施例 2	1.3	实施例 56	89.4	实施例 135	253.4
实施例 3	257.1	实施例 57	437.9	实施例 136	3.7
实施例 4	22	实施例 58	3.1	实施例 137	11.4
实施例 5	1.1	实施例 59	11.8	实施例 138	738.8
实施例 6	<1	实施例 60	42.5	实施例 139	<1
实施例 7	1.2	实施例 61	18.2	实施例 140	12.9
实施例 8	13.6	实施例 66	117.1	实施例 141	<1
实施例 9	7.2	实施例 67	6.4	实施例 142	6.2
实施例 10	4.9	实施例 68	63.8	实施例 143	1.05
实施例 11	1.2	实施例 69	<1	实施例 144	<1
实施例 12	<1	实施例 70	2	实施例 145	<1
实施例 13	1.5	实施例 71	<1	实施例 146	5.6
实施例 14	<1	实施例 72	<1	实施例 147	1.4

[1522]

化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)
实施例 15	378.1	实施例 73	834	实施例 148	33.3
实施例 16	12.4	实施例 74	5.8	实施例 149	8.4
实施例 17	121	实施例 75	2.6	实施例 150	<1
实施例 18	53.9	实施例 76	75.4	实施例 151	<1
实施例 19	173	实施例 77	160.5	实施例 152	<1
实施例 20	<1	实施例 78	14.6	实施例 244	156.6
实施例 21	1.3	实施例 79	103.2	实施例 245	2.7
实施例 22	4822	实施例 80	1.3	实施例 246	21.3
实施例 23	<1	实施例 81	<1	实施例 247	<1
实施例 24	2.4	实施例 82	21.5	实施例 290	2.5
实施例 25	3.4	实施例 83	3.7	实施例 291	64.7
实施例 26	<1	实施例 85	<1	实施例 292	2.6
实施例 27	1.3	实施例 86	<1	实施例 293	1.9
实施例 28	18.7	实施例 87	<1	实施例 294	6.6
实施例 30	91	实施例 88	<1	实施例 295	29.6
实施例 31	94	实施例 89	8272	实施例 296	4.1
实施例 32	11.1	实施例 90	1.7	实施例 297	<1
实施例 33	11.9	实施例 91	15.8	实施例 298	52.9
实施例 34	24.6	实施例 92	114	实施例 299	1325
实施例 35	7.9	实施例 93	<1	实施例 300	5.1
实施例 36	21.5	实施例 94	24.6	实施例 301	4.8
实施例 37	619.6	实施例 95	13.9	实施例 302	2.3
实施例 38	3	实施例 96	5.3	实施例 303	<1
实施例 69	<1	实施例 97	<1	实施例 304	3.3
实施例 70	2	实施例 98	1.8	实施例 305	326.2
实施例 71	<1	实施例 99	<1	实施例 306	3.6
实施例 72	<1	实施例 100	16.7	实施例 307	<1
实施例 73	834	实施例 101	8	实施例 308	1.6
实施例 74	5.8	实施例 102	<1	实施例 309	4
实施例 39	24.4	实施例 117	1	实施例 310	27.6
实施例 40	3.2	实施例 118	1.4	实施例 311	1595

[1523]

化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)
实施例 41	11.8	实施例 119	17.8	实施例 312	122.5
实施例 42	15.2	实施例 120	45.1	实施例 313	210.6
实施例 43	162.2	实施例 121	<1	实施例 314	<1
实施例 44	17.1	实施例 123	5.1	实施例 315	49.9
实施例 45	24.8	实施例 124	<1	实施例 316	2324
实施例 46	11.7	实施例 125	21.7	实施例 317	<1
实施例 47	39.2	实施例 126	9.7	实施例 318	6.2
实施例 48	1.2	实施例 127	24.4	实施例 319	7.3
实施例 49	30	实施例 128	<1	实施例 320	6.3
实施例 50	2.7	实施例 129	88.6	实施例 321	112.2
实施例 51	287.1	实施例 130	<1	实施例 322	68.8
实施例 52	1.5	实施例 131	2.4	实施例 332	8.2
实施例 53	1.7	实施例 132	25.9	实施例 333	45.9
实施例 54	<1	实施例 133	61.4		

[1524] 实施例350:^{3}H-cGAMP过滤结合测定(WT STING)

[1525] 使用放射性过滤-结合测定通过与氚化cGAMP配体竞争人类STING受体膜的能力来定量化合物结合STING的能力。该结合测定采用获得自过表达内部制备的全长WT STING和也内部纯化的氚化cGAMP配体的粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)细胞膜(*T.ni*;Expression Systems,目录编号94-002F,www.expressionsystems.com)的STING受体。

[1526] 基本WT STING过滤测定方案如下:

[1527] 通过稀释至测定缓冲液中来制备16nM [^{3}H] c-GAMP配体,且将50uL该工作储备液手动添加至测定板的每个孔中。在添加配体之后,使用Biomek FX将2uL滴定的测试化合物、DMSO对照(Sigma编号276855)或冷cGAMP对照(内部制备)添加至适当孔中。在Hamilton STARPlus CORE上在96孔板(Greiner, 编号651201)中使用1:3十点剂量反应形式制备连续滴定的化合物。在添加化合物后,通过将浓缩膜稀释于分析缓冲液(1× PBS;Invitrogen编号SH30028.02)中并使用手动组织均质器(Wheaton, 编号357546)均质化处理7次来制备STING膜(SEQ.ID.No.4)的2.2ug/ml工作浓度。然后将148 uL该制备的膜手动添加至96孔深孔聚丙烯板(Fisher Scientific, 编号12-566-121)的每个孔中。然后将化合物、配体和膜在室温下孵育60分钟,且然后通过96孔GF/B过滤板(PerkinElmer, 编号6005250)使用配备有20mM HEPES缓冲液(Fisher Scientific, 编号BP299500)的TomTec MachIII细胞收获器过滤每个测定板的内容物。然后使用加压的VWR烘箱将过滤板在55℃下干燥30分钟,然后将30uL Ultima GoldF闪烁液添加至每个孔中。然后使用PerkinElmer TopCount读板仪测量每个反应孔的氚水平。

[1528] 在针对对照均一化之后,通过测量剩余放射活性的量来计算每种化合物浓度的活性百分比。用4参数剂量反应方程拟合活性百分比相比于log化合物浓度的作图以计算EC_{50}

值。

[1529] 最终反应条件为：

组分	体积(uL)	最终浓度
STING 膜	148	1.5ug/ml
^{3}H-cGAMP	50	4.0nM
低对照(冷 cGAMP)	2	10uM
测试化合物/DMSO	2	10uM

[1530]

[1531] 所测试的化合物浓度为含有1.0%残余DMSO的20.000μM、637.00μM、2.200μM、0.740μM、0.247μM、0.082μM、0.027μM、0.009μM、0.003μM和0.001μM。

[1532] 全长STING (WT)病毒生成

[1533] 使用昆虫细胞杆状病毒系统生成STING病毒。将草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*) *Sf21*细胞(Kempbio, Inc.)在不含抗生素的Sf-900II SFM培养基(LifeTechnologies 编号10902088)中稀释至5e5个细胞/ml。将细胞悬浮液添加至处理的6孔板的每个孔中(2mL/孔，总共1e6个细胞)，并使细胞粘附至少30分钟。同时，通过合并500ng WT STING[STING(1-379)H232R-gg-AviTag-gs-HRV3C-HIS8/pBAC1] (Genewiz custom synthesis)与1mL含有10μL Cellfectin® II试剂(Invitrogen编号10362100)和100 ng病毒骨架BestBac 2.0, v-cath/chiA缺失的线性化杆状病毒DNA (Expression Systems 编号91-002)的Sf-900II SFM培养基来组装1mL共转染混合物。使转染混合物孵育30分钟。在孵育之后，从6孔板中的粘附细胞中轻轻地去除培养基，添加1mL转染混合物(1mL/孔)，并将板置于27℃下的加湿孵育器中。第二天，将1mL Sf-900II SFM培养基(无抗生素)添加至6孔板的每个孔中。在添加培养基之后，使细胞与DNA [(SEQ. ID. No. 5)和线性化的病毒骨架BestBac 2.0]在27℃下孵育5-7天以生成P0病毒储备液。为了生成P1病毒储备液，将0.5mL P0病毒上清液添加至含有5μg/mL庆大霉素(Invitrogen 编号15710072)的Sf-900II SFM培养基中的50mL未感染*Sf21*细胞(在感染前一天以5x10^{5}个细胞/mL的密度接种以进行一次过夜倍增)中。然后将感染的细胞在27℃下孵育3天，同时在110rpm下振荡(ATR Biotech Multitron Infors HT 编号AJ118)。在第3天，使用ViCell XR (Beckman Coulter Life Sciences 编号383556)对P1培养物进行计数以证实感染已发生(细胞尺寸≥3μm，大于未感染细胞且活力为大约85-95%)。将培养物收获于50mL圆锥形管中并在4℃下以2000×g离心10分钟。将P1病毒上清液倒入干净的50ml离心管中，并使用剩余P1细胞沉淀以根据内部验证SOP来生成杆状病毒感染的昆虫细胞(BIIC)。内部制备含有Sf-900II SFM培养基(含有10%热灭活的FBS、10% DMSO(Sigma 编号D2650)和5μg/ml庆大霉素)的冷冻保藏培养基并在即将使用之前立即通过0.22μM过滤器灭菌。将P1细胞沉淀再悬浮至2e7个细胞/ml的密度且等分至冷冻小瓶中(1mL/小瓶)。将冷冻小瓶置于-80℃下的Mr. Frosty细胞冷冻器O/N中并在第二天转移至液氮中用于长期储存。为了生成P2病毒储备液，将0.5mL P1病毒上清液添加至含有5μg/mL庆大霉素的Sf-900II SFM培养基中的50mL未感染*Sf21*细胞(在感染前一天以5x10^{5}个细胞/mL的密度接种以进行一次过夜倍增)中。将这些细胞在27℃下孵育3天，同时在110rpm下振荡，然后收获P2储备液并在4℃下以2000×g离心10分钟。将

P2病毒上清液倾倒掉并丢弃,同时使用P2细胞沉淀以遵循上述相同方案来生成P2 BIIC。验证杆状病毒生成方案以一致地以2e9 pfu/mL(2e7个细胞/mL×100pfu/细胞)的滴度产生P1/P2 BIIC。

[1534] 全长STING (WT)表达

[1535] 为了生成STING膜,通过将解冻的BIIC添加至以1.0x10^{6}个细胞/mL的密度接种的Sf21 细胞中来过夜扩增P1/P2 BIIC。使用2e9pfu/ml的假设BIIC滴度来计算用于感染培养物的BIIC的体积以在过夜扩增中实现10的MOI。在过夜培养之后,在ViCell XR上对细胞进行计数以证实感染已发生(细胞尺寸≥3μm,大于未感染细胞且活力为大约80-90%)。基于(100pfu/感染的 Sf21 细胞)来计算来自过夜扩增且用于感染大规模表达的粉纹夜蛾(*T.ni*; Expression Systems,目录编号94-002F, www.expressionsystems.com,以1.0x10^{6}的密度在MOI=2.0下接种于细胞培养基(ESF921 SFM,含有5μg/mL庆大霉素)中)的感染的*Sf21*细胞的体积。使细胞在27℃下表达48小时,然后通过在4℃下以3,400×g离心10分钟来收获细胞沉淀。在ViCell XR上对粉纹夜蛾细胞进行计数以证实感染已发生(细胞尺寸≥3μm,大于未感染细胞且活力为大约80-90%),然后收获。

[1536] 全长STING (WT)膜生成

[1537] 缓冲储备液试剂:

[1538] 1) 1 M HEPES pH 7.5, Teknova, 目录编号H1035

[1539] 2) 5 M NaCl, Sigma Aldrich, 目录编号S5150-1L

[1540] 3) KCl, Sigma Aldrich, 目录编号319309-500ML

[1541] 4)完全无EDTA的蛋白酶抑制剂片剂,Roche Diagnostics,目录编号11873580001

[1542] 5) Benzonase, Universal Nuclease, Pierce, 目录编号88702。

[1543] 将裂解缓冲液[25mM pH 7.5 HEPES、10mM $MgCl_2$、20mM KCl, (Benzonase 1:5000,完全蛋白酶抑制剂片剂/50mL)]以5mL裂解缓冲液/g细胞沉淀添加至表达上文制备的全长STING (WT)的细胞沉淀中。将沉淀再悬浮并使用Wheaton Dounce均质器均质化处理20次以破坏细胞膜。然后使均质化的裂解物通过压力接近于5000PSI的emulsiflex-C5微射流机。将再悬浮的沉淀在4℃下以36,000rpm (100,000×g)于超高速离心机中的45Ti转子中离心45分钟。移除上清液。然后将沉淀以50mL/沉淀/离心管的体积再悬浮于洗涤缓冲液[(25mM pH 7.5 HEPES、1mM $MgCl_2$、20mM KCl、1M NaCl(全蛋白酶抑制剂片剂/50mL)]中。然后在冰上使用玻璃均质器(拍击20次)将沉淀/洗涤缓冲液混合物均质化,随后在4℃下以36,000rpm离心45分钟。移除上清液。再一次重复洗涤步骤。将所得膜再悬浮于20mM pH 7.5 HEPES、500mM NaCl、10%甘油、无EDTA蛋白酶抑制剂(1片剂/50mL)中。通过Bradford测定(Bio-Rad蛋白测定,目录编号500-0006)测量蛋白浓度,并通过SDS-PAGE测定蛋白富集并通过Western印迹进行证实。将再悬浮的膜储存于-80℃下。

[1544] *全长STING WT [STING(1-379)H232R-gg-AviTag-gs-HRV3C-HIS8]氨基酸序列:*

[1545] MPHSSLHPSIPCPRGHGAQKAALVLLSACLVTLWGLGEPPEHTLRYLVLHLASLQLGLL
LNGVCSLAEELRHIHSRYRGSYWRTVRACLGCPLRRGALLLLSIYFYYSLPNAVGPPFT
WMLALLGLSQALNILLGLKGLAPAEISAVCEKGNFNVAHGLAWSYYIGYLRLILPELQA
RIRTYNQHYNNLLRGAVSQRLYILLPLDCGVPDNLSMADPNIRFLDKLPQQTGDRAGIK
DRVYSNSIYELLENGQRAGTCVLEYATPLQTLFAMSQYSQAGFSREDRLEQAKLFCRTL
EDILADAPESQNNCRLIAYQEPADDSSFSLSQEVLRHLRQEEKEEVTVGSLKTSAVPSTST
MSQEPELLISGMEKPLPLRTDFSGGGLNDIFEAQKIEWHEGSLEVLFQGPHHHHHHHH
(SEQ. ID. No. 4)

[1546] *全长WT STING [STING(1-379)H232R-gg-AviTag-gs-HRV3C-HIS8/pBAC1]质粒序列：*

[1547] GGAACGGCTCCGCCCACTATTAATGAAATTAAAAATTCCAATTTTAAAAAACGCAG
CAAGAGAAACATTTGTATGAAAGAATGCGTAGAAGGAAAGAAAAATGTCGTCGAC
ATGCTGAACAACAAGATTAATATGCCTCCGTGTATAAAAAAAATATTGAACGATTTG
AAAGAAAACAATGTACCGCGCGGCGGTATGTACAGGAAGAGGTTTATACTAAACTG
TTACATTGCAAACGTGGTTTCGTGTGCCAAGTGTGAAAACCGATGTTTAATCAAGGC
TCTGACGCATTTCTACAACCACGACTCCAAGTGTGTGGGTGAAGTCATGCATCTTTT
AATCAAATCCCAAGATGTGTATAAACCACCAAACTGCCAAAAAATGAAAACTGTCG
ACAAGCTCTGTCCGTTTGCTGGCAACTGCAAGGGTCTCAATCCTATTTGTAATTATTG
AATAATAAAACAATTATAAATGTCAAATTTGTTTTTTATTAACGATACAAACCAAAC
GCAACAAGAACATTTGTAGTATTATCTATAATTGAAAACGCGTAGTTATAATCGCTG
AGGTAATATTTAAAATCATTTTCAAATGATTCACAGTTAATTTGCGACAATATAATT
TTATTTTCACATAAACTAGACGCCTTGTCGTCTTCTTCTTCGTATTCCTTCTCTTTTTC
ATTTTTCTCTTCATAAAAATTAACATAGTTATTATCGTATCCATATATGTATCTATCG
TATAGAGTAAATTTTTTGTTGTCATAAATATATATGTCTTTTTTAATGGGGTGTATAG
TACCGCTGCGCATAGTTTTTCTGTAATTTACAACAGTGCTATTTTCTGGTAGTTCTTC
GGAGTGTGTTGCTTTAATTATTAAATTTATATAATCAATGAATTTGGGATCGTCGGTT

TTGTACAATATGTTGCCGGCATAGTACGCAGCTTCTTCTAGTTCAATTACACCATTTT
TTAGCAGCACCGGATTAACATAACTTTCCAAAATGTTGTACGAACCGTTAAACAAAA
ACAGTTCACCTCCCTTTTCTATACTATTGTCTGCGAGCAGTTGTTTGTTGTTAAAAAT
AACAGCCATTGTAATGAGACGCACAAACTAATATCACAAACTGGAAATGTCTATCA
ATATATAGTTGCTGATCAGATCTGATCATGGAGATAATTAAAATGATAACCATCTCG
CAAATAAATAAGTATTTTACTGTTTTCGTAACAGTTTTGTAATAAAAAAACCTATAA
ATATAGGATCCATGCCCCACTCCAGCCTGCATCCATCCATCCCGTGTCCCAGGGGTC
ACGGGGCCCAGAAGGCAGCCTTGGTTCTGCTGAGTGCCTGCCTGGTGACCCTTTGGG
GGCTAGGAGAGCCACCAGAGCACACTCTCCGGTACCTGGTGCTCCACCTAGCCTCCC
TGCAGCTGGGACTGCTGTTAAACGGGGTCTGCAGCCTGGCTGAGGAGCTGCGCCAC
ATCCACTCCAGGTACCGGGGCAGCTACTGGAGGACTGTGCGGGCCTGCCTGGGCTG
CCCCCTCCGCCGTGGGGCCCTGTTGCTGCTGTCCATCTATTTCTACTACTCCCTCCCA
AATGCGGTCGGCCCGCCCTTCACTTGGATGCTTGCCCTCCTGGGCCTCTCGCAGGCA
CTGAACATCCTCCTGGGCCTCAAGGGCCTGGCCCCAGCTGAGATCTCTGCAGTGTGT
GAAAAAGGGAATTTCAACGTGGCCCATGGGCTGGCATGGTCATATTACATCGGATA
TCTGCGGCTGATCCTGCCAGAGCTCCAGGCCCGGATTCGAACTTACAATCAGCATTA
[1548] CAACAACCTGCTACGGGGTGCAGTGAGCCAGCGGCTGTATATTCTCCTCCCATTGGA
CTGTGGGGTGCCTGATAACCTGAGTATGGCTGACCCCAACATTCGCTTCCTGGATAA
ACTGCCCCAGCAGACCGGTGACCGTGCTGGCATCAAGGATCGGGTTTACAGCAACA
GCATCTATGAGCTTCTGGAGAACGGGCAGCGGGCGGGCACCTGTGTCCTGGAGTAC
GCCACCCCCTTGCAGACTTTGTTTGCCATGTCACAATACAGTCAAGCTGGCTTTAGC
CGGGAGGATAGGCTTGAGCAGGCCAAACTCTTCTGCCGGACACTTGAGGACATCCT
GGCAGATGCCCCTGAGTCTCAGAACAACTGCCGCCTCATTGCCTACCAGGAACCTGC
AGATGACAGCAGCTTCTCGCTGTCCCAGGAGGTTCTCCGGCACCTGCGGCAGGAGG
AAAAGGAAGAGGTTACTGTGGGCAGCTTGAAGACCTCAGCGGTGCCCAGTACCTCC
ACGATGTCCCAAGAGCCTGAGCTCCTCATCAGTGGAATGGAAAAGCCCCTCCCTCTC
CGCACGGATTTCTCTGGCGGTGGCCTGAACGACATCTTCGAAGCCCAGAAAATCGA
ATGGCATGAAGGCAGCCTGGAAGTGCTGTTCCAGGGCCCACACCACCATCATCACC
ATCACCATTAATGAGCGGCCGCACTCGAGCACCACCACCACCACCACTAACCTAGG
TAGCTGAGCGCATGCAAGCTGATCCGGGTTATTAGTACATTTATTAAGCGCTAGATT
CTGTGCGTTGTTGATTTACAGACAATTGTTGTACGTATTTTAATAATTCATTAAATTT
ATAATCTTTAGGGTGGTATGTTAGAGCGAAAATCAAATGATTTTCAGCGTCTTTATA
TCTGAATTTAAATATTAAATCCTCAATAGATTTGTAAAATAGGTTTCGATTAGTTTCA

AACAAGGGTTGTTTTTCCGAACCGATGGCTGGACTATCTAATGGATTTTCGCTCAAC
GCCACAAAACTTGCCAAATCTTGTAGCAGCAATCTAGCTTTGTCGATATTCGTTTGT
GTTTTGTTTTGTAATAAAGGTTCGACGTCGTTCAAAATATTATGCGCTTTTGTATTTC
TTTCATCACTGTCGTTAGTGTACAATTGACTCGACGTAAACACGTTAAATAGAGCTT
GGACATATTTAACATCGGGCGTGTTAGCTTTATTAGGCCGATTATCGTCGTCGTCCC
AACCCTCGTCGTTAGAAGTTGCTTCCGAAGACGATTTTGCCATAGCCACACGACGCC
TATTAATTGTGTCGGCTAACACGTCCGCGATCAAATTTGTAGTTGAGCTTTTTGGAAT
TATTTCTGATTGCGGGCGTTTTTGGGCGGGTTTCAATCTAACTGTGCCCGATTTTAAT
TCAGACAACACGTTAGAAAGCGATGGTGCAGGCGGTGGTAACATTTCAGACGGCAA
ATCTACTAATGGCGGCGGTGGTGGAGCTGATGATAAATCTACCATCGGTGGAGGCG
CAGGCGGGGCTGGCGGCGGAGGCGGAGGCGGAGGTGGTGGCGGTGATGCAGACGG
CGGTTTAGGCTCAAATGTCTCTTTAGGCAACACAGTCGGCACCTCAACTATTGTACT
GGTTTCGGGCGCCGTTTTTGGTTTGACCGGTCTGAGACGAGTGCGATTTTTTTCGTTT
CTAATAGCTTCCAACAATTGTTGTCTGTCGTCTAAAGGTGCAGCGGGTTGAGGTTCC
GTCGGCATTGGTGGAGCGGGCGGCAATTCAGACATCGATGGTGGTGGTGGTGGTGG
AGGCGCTGGAATGTTAGGCACGGGAGAAGGTGGTGGCGGCGGTGCCGCCGGTATAA
[1549] TTTGTTCTGGTTTAGTTTGTTCGCGCACGATTGTGGGCACCGGCGCAGGCGCCGCTG
GCTGCACAACGGAAGGTCGTCTGCTTCGAGGCAGCGCTTGGGGTGGTGGCAATTCA
ATATTATAATTGGAATACAAATCGTAAAAATCTGCTATAAGCATTGTAATTTCGCTA
TCGTTTACCGTGCCGATATTTAACAACCGCTCAATGTAAGCAATTGTATTGTAAAGA
GATTGTCTCAAGCTCGGATCGATCCCGCACGCCGATAACAAGCCTTTTCATTTTTACT
ACAGCATTGTAGTGGCGAGACACTTCGCTGTCGTCGAGGTTTAAACGCTTCCTCGCT
CACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAA
GGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGAG
CAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTC
CATAGGCTCCGCCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTG
GCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCG
TGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTC
GGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGT
CGTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTCAGCCCGACCGCTGCGC
CTTATCCGGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACT
GGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAG
AGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCT

[1550]

GCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCA
AACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTGTTTGCAAGCAGCAGATTACGCGCA
GAAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGT
GGAACGAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTC
ACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAG
TAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATC
TGTCTATTTCGTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATAC
GGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCA
CCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAG
TGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAG
AGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCAT
CGTGGTGTCACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGGTTCCCAACGATCA
AGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCCT
CCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTGTTATCACTCATGGTTATGGCAGCA
CTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGT
ACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGG
CGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTG
GAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTT
CGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGT
TTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCG
ACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATC
AGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAA
TAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGCGCCCTGTAGCGGCG
CATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGC
GCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTT
TCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACG
GCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCC
CTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTC
TTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAG
GGATTTTGCCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTA
ACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGTTTACAATTTCCCATTCGCCATTCAGGCTGC
GCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTTCGCTATTACGCCA

[1551] (SEQ. ID. No. 5)。

[1552] 在如上所述的WT STING体外结合测定中评估本公开的某些化合物。下表将这些化合物的生物学数据作为EC_{50}值制表。

[1553] 表 13:对于WT STING的^{3}H-cGAMP过滤结合测定

[1554]

化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)
实施例 1	3.5	实施例 139	1.2	实施例 226	27.8
实施例 2	0.7	实施例 141	<1	实施例 227	260.6
实施例 3	574.3	实施例 142	174.8	实施例 228	1005
实施例 4	43.5	实施例 144	4.6	实施例 229	在 20 uM 下，31%抑制
实施例 5	1.5	实施例 145	14	实施例 230	382.4
实施例 6	2.9	实施例 148	1932	实施例 231	540.4
实施例 7	<1	实施例 149	110.8	实施例 232	3283
实施例 8	81.4	实施例 152	5.7	实施例 233	33.8
实施例 9	12.4	实施例 153	6.5	实施例 234	275.2
实施例 10	23.2	实施例 154	60	实施例 235	14.9
实施例 13	0.7	实施例 155	<1	实施例 236	6963
实施例 14	1.4	实施例 156	<1	实施例 237	307.2
实施例 20	1.4	实施例 157	<1	实施例 238	66.3
实施例 21	1.4	实施例 158	40	实施例 239	3.2
实施例 25	16.1	实施例 159	7.1	实施例 240	73.6
实施例 26	3.7	实施例 160	10.3	实施例 241	471.8
实施例 27	10	实施例 161	6.2	实施例 242	1.1
实施例 28	264.9	实施例 162	100.7	实施例 243	26.3
实施例 29	5835	实施例 163	14.3	实施例 247	1.1
实施例 32	25	实施例 164	312.4	实施例 248	31.7
实施例 38	24.9	实施例 165	2.9	实施例 249	<1
实施例 41	505.9	实施例 166	463.2	实施例 250	17.3
实施例 42	219	实施例 167	87.7	实施例 251	<1
实施例 43	1015	实施例 168	8.6	实施例 252	768.4
实施例 44	1363	实施例 169	186.6	实施例 253	54.5
实施例 45	104.8	实施例 170	25.5	实施例 254	39.7
实施例 46	337	实施例 171	18.7	实施例 255	301.9
实施例 47	444.1	实施例 172	105.9	实施例 256	93.5
实施例 51	995.8	实施例 176	16.2	实施例 257	135.9
实施例 61	378.7	实施例 177	7.9	实施例 258	5

[1555]

化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)
实施例 62	2.6	实施例 178	37.4	实施例 259	1.5
实施例 63	68.8	实施例 179	111.7	实施例 260	7.2
实施例 64	61.6	实施例 180	832.1	实施例 261	21.8
实施例 65	249.6	实施例 181	459.2	实施例 262	57.3
实施例 70	19.4	实施例 182	3276	实施例 263	4.8
实施例 71	4.4	实施例 183	3180	实施例 264	177.5
实施例 72	<1	实施例 184	<1	实施例 265	5473
实施例 81	3.1	实施例 185	201.1	实施例 266	1.9
实施例 82	14.6	实施例 186	30.2	实施例 267	6267
实施例 84	6.3	实施例 187	6.5	实施例 268	77
实施例 86	2	实施例 188	47.6	实施例 269	4837
实施例 89	<1	实施例 189	423.9	实施例 270	4383
实施例 90	4.4	实施例 190	408.7	实施例 271	12.8
实施例 93	1.9	实施例 191	281.2	实施例 272	749.6
实施例 94	523.8	实施例 192	3867	实施例 273	216.4
实施例 95	64	实施例 193	190.5	实施例 274	2.3
实施例 96	57.8	实施例 194	159.2	实施例 275	21.8
实施例 97	0.4	实施例 195	1855	实施例 276	321.5
实施例 98	151.7	实施例 196	1033	实施例 277	28.7
实施例 99	1.8	实施例 197	1.2	实施例 278	477.9
实施例 100	552	实施例 198	19.1	实施例 279	1235
实施例 101	74.4	实施例 199	72	实施例 280	1186
实施例 84	6.3	实施例 200	15	实施例 281	2485
实施例 86	2	实施例 201	649.5	实施例 282	12190
实施例 102	1	实施例 202	813.5	实施例 283	17.2
实施例 103	<1	实施例 203	7.3	实施例 284	128.3
实施例 104	11.6	实施例 204	1233	实施例 285	277.1
实施例 105	3.9	实施例 205	42.7	实施例 286	4010
实施例 106	<1	实施例 206	259.7	实施例 287	80.2
实施例 107	17.9	实施例 207	1.4	实施例 288	24.9
实施例 108	1784	实施例 208	23.3	实施例 289	5.3

[1556]

化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)	化合物	EC_{50} (nM)
实施例 109	1393	实施例 209	9.5	实施例 308	3.3
实施例 110	141.4	实施例 210	28.5	实施例 323	3.7
实施例 111	155.1	实施例 211	1045	实施例 324	10.7
实施例 112	1279	实施例 212	11.8	实施例 325	866.1
实施例 113	44.2	实施例 213	135	实施例 326	89.7
实施例 114	3.3	实施例 214	2.1	实施例 327	14
实施例 115	67.9	实施例 215	33.1	实施例 328	74.4
实施例 116	1624	实施例 216	3.4	实施例 329	31.7
实施例 117	1.7	实施例 217	66.2	实施例 330	204
实施例 118	1.6	实施例 218	13.8	实施例 331	182.9
实施例 119	40	实施例 219	530.5	实施例 334	110.5
实施例 120	393.7	实施例 220	在 20 uM 下，29% 抑制	实施例 335	5.2
实施例 122	179.2	实施例 221	<1	实施例 336	422.2
实施例 124	4	实施例 222	60	实施例 337	29.2
实施例 126	447.4	实施例 223	302.5	实施例 338	441.7
实施例 128	19.5	实施例 224	37.4		
实施例 129	973.3	实施例 225	779.3		

[1557] 实施例351:THP1细胞培养中的IFN-β分泌(5小时)

[1558] 使用人类IFN-β AlphaLISA试剂盒(Perkin Elmer,目录编号AL265F)测量化合物刺激干扰素-β从THP1细胞的分泌的能力。基本方案如下：

[1559] 使用Labcyte Echo 550声学分配器将溶于DMSO中的120nL化合物转移至空的、无菌384孔微量板(Corning, 目录编号3712)的诸孔中。将先前冷冻于恢复培养基(Life Technologies,目录编号12648-010)中的THP1细胞(美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection),目录编号TIB202)解冻且立即10倍稀释于37℃测定培养基(RPMI 1640+L-谷氨酰胺和酚红,Life Technologies,目录编号11875-085;0.5%热灭活的胎牛血清,Sigma Aldrich,目录编号F4135;1mM丙酮酸钠,Life Technologies,目录编号11360-070;1×非必需氨基酸;Life Technologies,目录编号11140-050)中。使用Beckman Coulter V-Cell XR细胞计数器来确定细胞活力和计数。将细胞悬浮液在室温下以200×g离心5分钟。将细胞以$0.8x10^6$/mL的密度再悬浮于37℃测定培养基中。使用Matrix电子多通道移液管或Agilent Bravo自动化液体处理平台进行随后的液体转移。

[1560] 通过将40μL先前制备的细胞悬浮液分配于含有化合物的板的诸孔中来开始测定。在37℃、5% CO_2下在加湿气氛中孵育5小时之后,将细胞和化合物的板在室温下以200×g离心5分钟。从每个孔,将5μL上清液转移至白色384孔板(Perkin Elmer,目录编号6005620)的

相应诸孔中。向这些含上清液的孔中添加10μL 5×抗分析物受体珠粒(50μg/mL AlphaLISA HiBlock缓冲液)并在室温下孵育30分钟,同时在定轨板式振荡器上振荡。向每个孔中添加10μL 5×生物素化抗分析物抗体(5nM,于AlphaLISA HiBlock缓冲液中)并在定轨板式振荡器上在室温下孵育60分钟或在4℃下孵育过夜。向每个孔中添加25μL 2× SA-供体珠粒(80μg/mL,于AlphaLISA HiBlock缓冲液中)并在室温下在暗处孵育30-45分钟,同时在定轨板式振荡器上振荡。然后在Perkin Elmer Envision (λ_{ex} = 680nm,λ_{em} = 570nm)上读取板。基于30uM cGAMP阳性对照和0.3% DMSO阴性对照来计算在每种化合物浓度下AlphaLISA信号的效应百分比。用4参数浓度反应方程拟合效应百分比相比于log化合物浓度的作图以计算EC_{50}值。在含有0.3%残余DMSO的浓度30000nM、10000nM、3333nM、1111nM、370.4nM、123.4nM、41.2nM、13.7nM、4.6nM和1.5nM下测试测试化合物。在含有0.3%残余DMSO的浓度100000nM、33333nM、11111nM、3704nM、1235nM、412nM、137nM、46nM、和15nM下测试对照化合物cGAMP。

[1561] 如上所述评估本公开的化合物在THP1细胞培养中的IFN-β分泌。下表将这些化合物的生物学数据作为在30μM浓度下相对于2'3'-cGAMP的活化百分比制表。

[1562] 表 14:THP1细胞培养中的IFN-β分泌(5小时)

[1563]

化合物	在30μM下相对于2'3'-cGAMP的%效应	化合物	在30μM下相对于2'3'-cGAMP的%效应	化合物	在30μM下相对于2'3'-cGAMP的%效应
实施例1	154	实施例117	211	实施例233	254
实施例2	148	实施例118	174	实施例234	75
实施例3	149	实施例119	151	实施例235	262
实施例4	171	实施例120	72	实施例236	5
实施例5	152	实施例121	108	实施例237	222
实施例6	114	实施例122	75	实施例238	183
实施例7	112	实施例123	128	实施例239	164
实施例8	98	实施例124	128	实施例240	141
实施例9	143	实施例125	138	实施例241	300
实施例10	126	实施例126	167	实施例242	156
实施例11	169	实施例127	145	实施例243	165
实施例12	89	实施例128	146	实施例244	96
实施例13	39	实施例129	33	实施例245	234
实施例14	139	实施例130	215	实施例246	217
实施例15	39	实施例131	238	实施例247	166
实施例16	57	实施例132	150	实施例248	42
实施例17	81	实施例133	117	实施例249	106
实施例18	74	实施例134	138	实施例250	6
实施例19	49	实施例135	43	实施例251	175
实施例20	159	实施例136	131	实施例252	23
实施例21	142	实施例137	124	实施例253	73
实施例22	109	实施例138	51	实施例254	131
实施例23	125	实施例139	110	实施例255	49
实施例24	90	实施例140	96	实施例256	149
实施例25	145	实施例141	111	实施例257	8
实施例26	150	实施例142	111	实施例258	120
实施例27	164	实施例143	157	实施例259	91
实施例28	60	实施例144	114	实施例260	113
实施例29	25	实施例145	141	实施例261	90
实施例30	131	实施例146	59	实施例262	108
实施例31	100	实施例147	146	实施例263	114
实施例32	125	实施例148	13	实施例264	123
实施例33	200	实施例149	8	实施例265	25
实施例34	125	实施例150	89	实施例266	168
实施例35	51	实施例151	57	实施例267	5

实施例36	120	实施例152	16	实施例268	181
实施例37	57	实施例153	234	实施例269	109
实施例38	123	实施例154	198	实施例270	235
实施例39	74	实施例155	139	实施例271	229
实施例40	77	实施例156	119	实施例272	44
实施例41	8	实施例157	151	实施例273	85
实施例42	101	实施例158	123	实施例274	124
实施例43	130	实施例159	140	实施例275	157
实施例44	135	实施例160	12	实施例276	45
实施例45	161	实施例161	130	实施例277	174
实施例46	143	实施例162	116	实施例278	68
实施例47	141	实施例163	127	实施例279	160
实施例48	104	实施例164	41	实施例280	191
实施例49	74	实施例165	245	实施例281	8
实施例50	85	实施例166	143	实施例282	39
实施例51	36	实施例167	278	实施例283	288
实施例52	143	实施例168	164	实施例284	260
实施例53	127	实施例169	117	实施例285	195
实施例54	83	实施例170	134	实施例286	16
实施例55	83	实施例171	142	实施例287	202
实施例56	64	实施例172	26	实施例288	153
实施例57	7	实施例173	142	实施例289	58
实施例58	92	实施例174	5	实施例290	90
实施例59	76	实施例175	120	实施例291	98
实施例60	12	实施例176	114	实施例292	114
实施例61	34	实施例177	180	实施例293	86
实施例62	68	实施例178	111	实施例294	84
实施例63	83	实施例179	66	实施例295	70
实施例64	93	实施例180	143	实施例296	92
实施例65	87	实施例181	178	实施例297	176
实施例66	54	实施例182	47	实施例298	121
实施例67	111	实施例183	23	实施例299	5
实施例68	72	实施例184	108	实施例300	86
实施例69	31	实施例185	61	实施例301	107
实施例70	100	实施例186	179	实施例302	103
实施例71	113	实施例187	134	实施例303	106
实施例72	102	实施例188	251	实施例304	104
实施例73	5	实施例189	93	实施例305	50
实施例74	57	实施例190	200	实施例306	153
实施例75	96	实施例191	516	实施例307	174
实施例76	39	实施例192	50	实施例308	132
实施例77	39	实施例193	399	实施例309	232
实施例78	162	实施例194	258	实施例310	117
实施例79	145	实施例195	61	实施例311	9
实施例80	234	实施例196	14	实施例312	90
实施例81	138	实施例197	237	实施例313	117
实施例82	111	实施例198	205	实施例314	143
实施例83	133	实施例199	139	实施例315	92
实施例84	128	实施例200	219	实施例316	12
实施例85	154	实施例201	222	实施例317	107
实施例86	137	实施例202	171	实施例318	150
实施例87	99	实施例203	194	实施例319	143
实施例88	54	实施例204	101	实施例320	115
实施例89	119	实施例205	132	实施例321	36
实施例90	117	实施例206	166	实施例322	41
实施例91	106	实施例207	189	实施例323	92
实施例92	62	实施例208	163	实施例324	99
实施例93	155	实施例209	170	实施例325	10
实施例94	138	实施例210	178	实施例326	34

实施例95	118	实施例211	114	实施例327	126
实施例96	67	实施例212	285	实施例328	99
实施例97	113	实施例213	255	实施例329	105
实施例98	54	实施例214	224	实施例330	67
实施例99	135	实施例215	277	实施例331	116
实施例100	35	实施例216	170	实施例332	113
实施例101	129	实施例217	70	实施例333	10
实施例102	132	实施例218	152	实施例334	66
实施例103	114	实施例219	142	实施例335	60
实施例104	154	实施例220	6	实施例336	85
实施例105	137	实施例221	405	实施例337	204
实施例106	208	实施例222	171	实施例338	219
实施例107	171	实施例223	11	实施例339	175
实施例108	15	实施例224	288	实施例340	306
实施例109	151	实施例225	467	实施例341	7
实施例110	181	实施例226	439	实施例342	23
实施例111	200	实施例227	290	实施例343	255
实施例112	33	实施例228	6	实施例344	337
实施例113	154	实施例229	6	实施例345	144
实施例114	163	实施例230	116	实施例346	182
实施例115	177	实施例231	189	实施例347	225
实施例116	149	实施例232	21	实施例348	8

[1564] 应理解，各种上文所讨论的和其它特征和功能、或其替代物可被可期望地组合至许多其它不同的系统或应用中。同样，本领域技术人员可随后作出也意欲由以下权利要求书所涵盖的其中各种目前无法预测或未预料到的替代、修改、变化或改进。

[0001] 序列表

[0002] <110> MERCK SHARP & DOHME CORP.

[0003] <120> 作为STING激动剂的环状双核苷酸化合物

[0004] <130> 24164

[0005] <150> 62/204,677

[0006] <151> 2015-08-13

[0007] <150> 62/268,723

[0008] <151> 2015-12-17

[0009] <150> 62/356,125

[0010] <151> 2016-06-29

[0011] <160> 5

[0012] <170> 专利版本 3.5

[0013] <210> 1

[0014] <211> 475

[0015] <212> PRT

[0016] <213> 未知

[0017] <220>

[0018] <223> cGAS酶

[0019] <400> 1

[0020] Met Ala His His His His His His Gly Ser Asp Ser Glu Val Asn Gln

[0021] 1 5 10 15

[0022] Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr His Ile

[0023] 20 25 30

[0024] Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys Ile Lys

[0025] 35 40 45

[0026] Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys Arg Gln

[0027] 50 55 60

[0028] Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Asp Gly Ile Glu Ile

[0029] 65 70 75 80

[0030] Gln Ala Asp Gln Thr Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn Asp Ile

[0031] 85 90 95

[0032] Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

[0033] 100 105 110

[0034] Gly Gly Ala Ser Lys Leu Arg Ala Val Leu Glu Lys Leu Lys Leu Ser

[0035] 115 120 125

[0036] Arg Asp Asp Ile Ser Thr Ala Ala Gly Met Val Lys Gly Val Val Asp

[0037] 130 135 140

[0038] His Leu Leu Leu Arg Leu Lys Cys Asp Ser Ala Phe Arg Gly Val Gly

[0039] 145 150 155 160

[0040] Leu Leu Asn Thr Gly Ser Tyr Tyr Glu His Val Lys Ile Ser Ala Pro

[0041] 165 170 175

[0042] Asn Glu Phe Asp Val Met Phe Lys Leu Glu Val Pro Arg Ile Gln Leu
[0043] 180 185 190
[0044] Glu Glu Tyr Ser Asn Thr Arg Ala Tyr Tyr Phe Val Lys Phe Lys Arg
[0045] 195 200 205
[0046] Asn Pro Lys Glu Asn Pro Leu Ser Gln Phe Leu Glu Gly Glu Ile Leu
[0047] 210 215 220
[0048] Ser Ala Ser Lys Met Leu Ser Lys Phe Arg Lys Ile Ile Lys Glu Glu
[0049] 225 230 235 240
[0050] Ile Asn Asp Ile Lys Asp Thr Asp Val Ile Met Lys Arg Lys Arg Gly
[0051] 245 250 255
[0052] Gly Ser Pro Ala Val Thr Leu Leu Ile Ser Glu Lys Ile Ser Val Asp
[0053] 260 265 270
[0054] Ile Thr Leu Ala Leu Glu Ser Lys Ser Ser Trp Pro Ala Ser Thr Gln
[0055] 275 280 285
[0056] Glu Gly Leu Arg Ile Gln Asn Trp Leu Ser Ala Lys Val Arg Lys Gln
[0057] 290 295 300
[0058] Leu Arg Leu Lys Pro Phe Tyr Leu Val Pro Lys His Ala Lys Glu Gly
[0059] 305 310 315 320
[0060] Asn Gly Phe Gln Glu Glu Thr Trp Arg Leu Ser Phe Ser His Ile Glu
[0061] 325 330 335
[0062] Lys Glu Ile Leu Asn Asn His Gly Lys Ser Lys Thr Cys Cys Glu Asn
[0063] 340 345 350
[0064] Lys Glu Glu Lys Cys Cys Arg Lys Asp Cys Leu Lys Leu Met Lys Tyr
[0065] 355 360 365
[0066] Leu Leu Glu Gln Leu Lys Glu Arg Phe Lys Asp Lys Lys His Leu Asp
[0067] 370 375 380
[0068] Lys Phe Ser Ser Tyr His Val Lys Thr Ala Phe Phe His Val Cys Thr
[0069] 385 390 395 400
[0070] Gln Asn Pro Gln Asp Ser Gln Trp Asp Arg Lys Asp Leu Gly Leu Cys
[0071] 405 410 415
[0072] Phe Asp Asn Cys Val Thr Tyr Phe Leu Gln Cys Leu Arg Thr Glu Lys
[0073] 420 425 430
[0074] Leu Glu Asn Tyr Phe Ile Pro Glu Phe Asn Leu Phe Ser Ser Asn Leu
[0075] 435 440 445
[0076] Ile Asp Lys Arg Ser Lys Glu Phe Leu Thr Lys Gln Ile Glu Tyr Glu
[0077] 450 455 460
[0078] Arg Asn Asn Glu Phe Pro Val Phe Asp Glu Phe
[0079] 465 470 475
[0080] <210> 2
[0081] <211> 414
[0082] <212> PRT
[0083] <213> 智人

[0084] <400> 2

[0085] Met Pro His Ser Ser Leu His Pro Ser Ile Pro Cys Pro Arg Gly His
[0086] 1 5 10 15
[0087] Gly Ala Gln Lys Ala Ala Leu Val Leu Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr
[0088] 20 25 30
[0089] Leu Trp Gly Leu Gly Glu Pro Pro Glu His Thr Leu Arg Tyr Leu Val
[0090] 35 40 45
[0091] Leu His Leu Ala Ser Leu Gln Leu Gly Leu Leu Leu Asn Gly Val Cys
[0092] 50 55 60
[0093] Ser Leu Ala Glu Glu Leu His His Ile His Ser Arg Tyr Arg Gly Ser
[0094] 65 70 75 80
[0095] Tyr Trp Arg Thr Val Arg Ala Cys Leu Gly Cys Pro Leu Arg Arg Gly
[0096] 85 90 95
[0097] Ala Leu Leu Leu Leu Ser Ile Tyr Phe Tyr Tyr Ser Leu Pro Asn Ala
[0098] 100 105 110
[0099] Val Gly Pro Pro Phe Thr Trp Met Leu Ala Leu Leu Gly Leu Ser Gln
[0100] 115 120 125
[0101] Ala Leu Asn Ile Leu Leu Gly Leu Lys Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile
[0102] 130 135 140
[0103] Ser Ala Val Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala
[0104] 145 150 155 160
[0105] Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln
[0106] 165 170 175
[0107] Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly
[0108] 180 185 190
[0109] Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val
[0110] 195 200 205
[0111] Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys
[0112] 210 215 220
[0113] Leu Pro Gln Gln Thr Ala Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr
[0114] 225 230 235 240
[0115] Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr
[0116] 245 250 255
[0117] Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser
[0118] 260 265 270
[0119] Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala
[0120] 275 280 285
[0121] Lys Leu Phe Cys Gln Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu
[0122] 290 295 300
[0123] Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp
[0124] 305 310 315 320
[0125] Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu

[0126] 325 330 335

[0127] Glu Lys Glu Glu Val Thr Val Gly Ser Leu Lys Thr Ser Ala Val Pro

[0128] 340 345 350

[0129] Ser Thr Ser Thr Met Ser Gln Glu Pro Glu Leu Leu Ile Ser Gly Met

[0130] 355 360 365

[0131] Glu Lys Pro Leu Pro Leu Arg Thr Asp Phe Ser Gly Gly Gly Leu Asn

[0132] 370 375 380

[0133] Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Ser Leu Glu

[0134] 385 390 395 400

[0135] Val Leu Phe Gln Gly Pro His His His His His His His His

[0136] 405 410

[0137] <210> 3

[0138] <211> 6482

[0139] <212> DNA

[0140] <213> 智人

[0141] <400> 3

[0142] ggaacggctc cgcccactat taatgaaatt aaaaattcca attttaaaaa acgcagcaag 60

[0143] agaaacattt gtatgaaaga atgcgtagaa ggaaagaaaa atgtcgtcga catgctgaac 120

[0144] aacaagatta atatgcctcc gtgtataaaa aaaatattga acgatttgaa agaaaacaat 180

[0145] gtaccgcgcg gcggtatgta caggaagagg tttatactaa actgttacat tgcaaacgtg 240

[0146] gtttcgtgtg ccaagtgtga aaaccgatgt ttaatcaagg ctctgacgca tttctacaac 300

[0147] cacgactcca agtgtgtggg tgaagtcatg catcttttaa tcaaatccca agatgtgtat 360

[0148] aaaccaccaa actgccaaaa aatgaaaact gtcgacaagc tctgtccgtt tgctggcaac 420

[0149] tgcaagggtc tcaatcctat ttgtaattat tgaataataa aacaattata aatgctaaat 480

[0150] ttgtttttta ttaacgatac aaaccaaacg caacaagaac atttgtagta ttatctataa 540

[0151] ttgaaaacgc gtagttataa tcgctgaggt aatatttaaa atcattttca aatgattcac 600

[0152] agttaatttg cgacaatata attttatttt cacataaact agacgccttg tcgtcttctt 660

[0153] cttcgtattc cttctctttt tcatttttct cttcataaaa attaacatag ttattatcgt 720

[0154] atccatatat gtatctatcg tatagagtaa atttttttgtt gtcataaata tatatgtctt 780

[0155] ttttaatggg gtgtatagta ccgctgcgca tagtttttct gtaatttaca acagtgctat 840

[0156] tttctggtag ttcttcggag tgtgttgctt taattattaa atttatataa tcaatgaatt 900

[0157] tgggatcgtc ggttttgtac aatatgttgc cggcatagta cgcagcttct tctagttcaa 960

[0158] ttacaccatt ttttagcagc accggattaa cataactttc caaaatgttg tacgaaccgt 1020

[0159] taaacaaaaa cagttcacct ccctttttcta tactattgtc tgcgagcagt tgtttgttgt 1080

[0160] taaaaataac agccattgta atgagacgca caaactaata tcacaaactg gaaatgtcta 1140

[0161] tcaatatata gttgctgatc agatctgatc atggagataa ttaaaatgat aaccatctcg 1200

[0162] caaataaata agtattttac tgttttcgta acagttttgt aataaaaaaa cctataaata 1260

[0163] taggatccat gccccactcc agcctgcatc catccatccc gtgtcccagg ggtcacgggg 1320

[0164] cccagaaggc agccttggtt ctgctgagtg cctgcctggt gacccttttgg gggctaggag 1380

[0165] agccaccaga gcacactctc cggtacctgg tgctccacct agcctccctg cagctgggac 1440

[0166] tgctgttaaa cggggtctgc agcctggctg aggagctgca ccacatccac tccaggtacc 1500

[0167] ggggcagcta ctggaggact gtgcgggcct gcctgggctg ccccctccgc cgtggggccc 1560

[0168] tgttgctgct gtccatctat ttctactact ccctcccaaa tgcggtcggc ccgcccttca 1620

[0169] cttggatgct tgccctcctg ggcctctcgc aggcactgaa catcctcctg ggcctcaagg 1680

[0170] gcctggcccc agctgagatc tctgcagtgt gtgaaaaagg gaatttcaac gtggcccatg 1740

[0171] ggctggcatg gtcatattac atcggatatc tgcggctgat cctgccagag ctccaggccc 1800

[0172] ggattcgaac ttacaatcag cattacaaca acctgctacg gggtgcagtg agccagcggc 1860

[0173] tgtatattct cctcccattg gactgtgggg tgcctgataa cctgagtatg gctgacccca 1920

[0174] acattcgctt cctggataaa ctgccccagc agaccgctga ccgtgctggc atcaaggatc 1980

[0175] gggtttacag caacagcatc tatgagcttc tggagaacgg gcagcgggcg ggcacctgtg 2040

[0176] tcctggagta cgccaccccc ttgcagactt tgtttgccat gtcacaatac agtcaagctg 2100

[0177] gctttagccg ggaggatagg cttgagcagg ccaaactctt ctgccagaca cttgaggaca 2160

[0178] tcctggcaga tgcccctgag tctcagaaca actgccgcct cattgcctac caggaacctg 2220

[0179] cagatgacag cagcttctcg ctgtcccagg aggttctccg gcacctgcgg caggaggaaa 2280

[0180] aggaagaggt tactgtgggc agcttgaaga cctcagcggt gcccagtacc tccacgatgt 2340

[0181] cccaagagcc tgagctcctc atcagtggaa tggaaaagcc cctccctctc cgcacggatt 2400

[0182] tctctggcgg tggcctgaac gacatcttcg aagcccagaa aatcgaatgg catgaaggca 2460

[0183] gcctggaagt gctgttccag ggcccacacc accatcatca ccatcaccat taatgagcgg 2520

[0184] ccgcactcga gcaccaccac caccaccact aacctaggta gctgagcgca tgcaagctga 2580

[0185] tccgggttat tagtacattt attaagcgct agattctgtg cgttgttgat ttacagacaa 2640

[0186] ttgttgtacg tattttaata attcattaaa tttataatct ttagggtggt atgttagagc 2700

[0187] gaaaatcaaa tgattttcag cgtctttata tctgaattta aatattaaat cctcaataga 2760

[0188] tttgtaaaat aggtttcgat tagtttcaaa caagggttgt ttttccgaac cgatggctgg 2820

[0189] actatctaat ggattttcgc tcaacgccac aaaacttgcc aaatcttgta gcagcaatct 2880

[0190] agctttgtcg atattcgttt gtgttttgtt ttgtaataaa ggttcgacgt cgttcaaaat 2940

[0191] attatgcgct tttgtatttc tttcatcact gtcgttagtg tacaattgac tcgacgtaaa 3000

[0192] cacgttaaat agagcttgga catatttaac atcgggcgtg ttagctttat taggccgatt 3060

[0193] atcgtcgtcg tcccaaccct cgtcgttaga agttgcttcc gaagacgatt ttgccatagc 3120

[0194] cacacgacgc ctattaattg tgtcggctaa cacgtccgcg atcaaatttg tagttgagct 3180

[0195] ttttggaatt atttctgatt gcgggcgttt ttgggcgggt ttcaatctaa ctgtgcccga 3240

[0196] ttttaattca gacaacacgt tagaaagcga tggtgcaggc ggtggtaaca tttcagacgg 3300

[0197] caaatctact aatggcggcg gtggtggagc tgatgataaa tctaccatcg gtggaggcgc 3360

[0198] aggcggggct ggcggcggag gcggaggcgg aggtggtggc ggtgatgcag acggcggttt 3420

[0199] aggctcaaat gtctctttag gcaacacagt cggcacctca actattgtac tggtttcggg 3480

[0200] cgccgttttt ggtttgaccg gtctgagacg agtgcgattt ttttcgtttc taatagcttc 3540

[0201] caacaattgt tgtctgtcgt ctaaaggtgc agcgggttga ggttccgtcg gcattggtgg 3600

[0202] agcgggcggc aattcagaca tcgatggtgg tggtggtggt ggaggcgctg gaatgttagg 3660

[0203] cacgggagaa ggtggtggcg gcggtgccgc cggtataatt tgttctggtt tagtttgttc 3720

[0204] gcgcacgatt gtgggcaccg gcgcaggcgc cgctggctgc acaacggaag gtcgtctgct 3780

[0205] tcgaggcagc gcttggggtg gtggcaattc aatattataa ttggaataca aatcgtaaaa 3840

[0206] atctgctata agcattgtaa tttcgctatc gtttaccgtg ccgatattta acaaccgctc 3900

[0207] aatgtaagca attgtattgt aaagagattg tctcaagctc ggatcgatcc cgcacgccga 3960

[0208] taacaagcct tttcattttt actacagcat tgtagtggcg agacacttcg ctgtcgtcga 4020

[0209] ggtttaaacg cttcctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg 4080

[0210] gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga 4140

[0211] aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg 4200

[0212] gcgtttttcc ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag 4260

[0213] aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttccccctgg aagctccctc 4320

[0214] gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg 4380

[0215] ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcgtt 4440

[0216] cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc 4500

[0217] ggtaactatc gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc 4560

[0218] actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg 4620

[0219] tggcctaact acggctacac tagaaggaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca 4680

[0220] gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc 4740

[0221] ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat 4800

[0222] cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt 4860

[0223] ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt 4920

[0224] tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg acagttacca atgcttaatc 4980

[0225] agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc 5040

[0226] gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata 5100

[0227] ccgcgagacc cacgctcacc ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg 5160

[0228] gccgagcgca gaagtggtcc tgcaacttta tccgcctcca tccagtctat taattgttgc 5220

[0229] cgggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct 5280

[0230] acaggcatcg tggtgtcacg ctcgtcgttt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa 5340

[0231] cgatcaaggc gagttacatg atcccccatg ttgtgcaaaa aagcggttag ctccttcggt 5400

[0232] cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc gcagtgttat cactcatggt tatggcagca 5460

[0233] ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tggtgagtac 5520

[0234] tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgtca 5580

[0235] atacgggata ataccgcgcc acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt 5640

[0236] tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc 5700

[0237] actcgtgcac ccaactgatc ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca 5760

[0238] aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata 5820

[0239] ctcatactct tccttttttca atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc 5880

[0240] ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc 5940

[0241] cgaaaagtgc cacctgacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt 6000

[0242] acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt cgctttcttc 6060

[0243] ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct 6120

[0244] ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat 6180

[0245] ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gccctttgac gttggagtcc 6240

[0246] acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc 6300

[0247] tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa aaatgagctg 6360

[0248] atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac aaaatattaa cgtttacaat ttcccattcg 6420

[0249] ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaaggg cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc 6480

[0250] ca 6482

[0251] <210> 4

[0252] <211> 414

[0253] <212> PRT

[0254] <213> 智人

[0255] <400> 4

[0256] Met Pro His Ser Ser Leu His Pro Ser Ile Pro Cys Pro Arg Gly His

[0257] 1 5 10 15

[0258] Gly Ala Gln Lys Ala Ala Leu Val Leu Leu Ser Ala Cys Leu Val Thr

[0259] 20 25 30

[0260] Leu Trp Gly Leu Gly Glu Pro Pro Glu His Thr Leu Arg Tyr Leu Val

[0261] 35 40 45

[0262] Leu His Leu Ala Ser Leu Gln Leu Gly Leu Leu Leu Asn Gly Val Cys

[0263] 50 55 60

[0264] Ser Leu Ala Glu Glu Leu Arg His Ile His Ser Arg Tyr Arg Gly Ser

[0265] 65 70 75 80

[0266] Tyr Trp Arg Thr Val Arg Ala Cys Leu Gly Cys Pro Leu Arg Arg Gly

[0267] 85 90 95

[0268] Ala Leu Leu Leu Leu Ser Ile Tyr Phe Tyr Tyr Ser Leu Pro Asn Ala

[0269] 100 105 110

[0270] Val Gly Pro Pro Phe Thr Trp Met Leu Ala Leu Leu Gly Leu Ser Gln

[0271] 115 120 125

[0272] Ala Leu Asn Ile Leu Leu Gly Leu Lys Gly Leu Ala Pro Ala Glu Ile

[0273] 130 135 140

[0274] Ser Ala Val Cys Glu Lys Gly Asn Phe Asn Val Ala His Gly Leu Ala

[0275] 145 150 155 160

[0276] Trp Ser Tyr Tyr Ile Gly Tyr Leu Arg Leu Ile Leu Pro Glu Leu Gln

[0277] 165 170 175

[0278] Ala Arg Ile Arg Thr Tyr Asn Gln His Tyr Asn Asn Leu Leu Arg Gly

[0279] 180 185 190

[0280] Ala Val Ser Gln Arg Leu Tyr Ile Leu Leu Pro Leu Asp Cys Gly Val

[0281] 195 200 205

[0282] Pro Asp Asn Leu Ser Met Ala Asp Pro Asn Ile Arg Phe Leu Asp Lys

[0283] 210 215 220

[0284] Leu Pro Gln Gln Thr Gly Asp Arg Ala Gly Ile Lys Asp Arg Val Tyr

[0285] 225 230 235 240

[0286] Ser Asn Ser Ile Tyr Glu Leu Leu Glu Asn Gly Gln Arg Ala Gly Thr

[0287] 245 250 255

[0288] Cys Val Leu Glu Tyr Ala Thr Pro Leu Gln Thr Leu Phe Ala Met Ser

[0289] 260 265 270

[0290] Gln Tyr Ser Gln Ala Gly Phe Ser Arg Glu Asp Arg Leu Glu Gln Ala

[0291] 275 280 285

[0292] Lys Leu Phe Cys Arg Thr Leu Glu Asp Ile Leu Ala Asp Ala Pro Glu

[0293] 290 295 300

[0294] Ser Gln Asn Asn Cys Arg Leu Ile Ala Tyr Gln Glu Pro Ala Asp Asp
[0295] 305 310 315 320
[0296] Ser Ser Phe Ser Leu Ser Gln Glu Val Leu Arg His Leu Arg Gln Glu
[0297] 325 330 335
[0298] Glu Lys Glu Glu Val Thr Val Gly Ser Leu Lys Thr Ser Ala Val Pro
[0299] 340 345 350
[0300] Ser Thr Ser Thr Met Ser Gln Glu Pro Glu Leu Leu Ile Ser Gly Met
[0301] 355 360 365
[0302] Glu Lys Pro Leu Pro Leu Arg Thr Asp Phe Ser Gly Gly Gly Leu Asn
[0303] 370 375 380
[0304] Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly Ser Leu Glu
[0305] 385 390 395 400
[0306] Val Leu Phe Gln Gly Pro His His His His His His His His
[0307] 405 410
[0308] <210> 5
[0309] <211> 6482
[0310] <212> DNA
[0311] <213> 智人
[0312] <400> 5
[0313] ggaacggctc cgcccactat taatgaaatt aaaaattcca attttaaaaa acgcagcaag 60
[0314] agaaacattt gtatgaaaga atgcgtagaa ggaaagaaaa atgtcgtcga catgctgaac 120
[0315] aacaagatta atatgcctcc gtgtataaaa aaaatattga acgatttgaa agaaaacaat 180
[0316] gtaccgcgcg gcggtatgta caggaagagg tttatactaa actgttacat tgcaaacgtg 240
[0317] gtttcgtgtg ccaagtgtga aaaccgatgt ttaatcaagg ctctgacgca tttctacaac 300
[0318] cacgactcca agtgtgtggg tgaagtcatg catcttttaa tcaaatccca agatgtgtat 360
[0319] aaaccaccaa actgccaaaa aatgaaaact gtcgacaagc tctgtccgtt tgctggcaac 420
[0320] tgcaagggtc tcaatcctat ttgtaattat tgaataataa aacaattata aatgtcaaat 480
[0321] ttgtttttta ttaacgatac aaaccaaacg caacaagaac atttgtagta ttatctataa 540
[0322] ttgaaaacgc gtagttataa tcgctgaggt aatatttaaa atcattttca aatgattcac 600
[0323] agttaatttg cgacaatata attttatttt cacataaact agacgccttg tcgtcttctt 660
[0324] cttcgtattc cttctctttt tcatttttct cttcataaaa attaacatag ttattatcgt 720
[0325] atccatatat gtatctatcg tatagagtaa atttttgtt gtcataaata tatatgtctt 780
[0326] ttttaatggg gtgtatagta ccgctgcgca tagtttttct gtaatttaca acagtgctat 840
[0327] tttctggtag ttcttcggag tgtgttgctt taattattaa atttatataa tcaatgaatt 900
[0328] tgggatcgtc ggttttgtac aatatgttgc cggcatagta cgcagcttct tctagttcaa 960
[0329] ttacaccatt ttttagcagc accggattaa cataactttc caaaatgttg tacgaaccgt 1020
[0330] taaacaaaaa cagttcacct ccctttttcta tactattgtc tgcgagcagt tgtttgttgt 1080
[0331] taaaaataac agccattgta atgagacgca caaactaata tcacaaactg gaaatgtcta 1140
[0332] tcaatatata gttgctgatc agatctgatc atggagataa ttaaaatgat aaccatctcg 1200
[0333] caaataaata agtattttac tgttttcgta acagttttgt aataaaaaaa cctataaata 1260
[0334] taggatccat gccccactcc agcctgcatc catccatccc gtgtcccagg ggtcacgggg 1320
[0335] cccagaaggc agccttggtt ctgctgagtg cctgcctggt gacccttttgg gggctaggag 1380

[0336] agccaccaga gcacactctc cggtacctgg tgctccacct agcctccctg cagctgggac 1440

[0337] tgctgttaaa cggggtctgc agcctggctg aggagctgcg ccacatccac tccaggtacc 1500

[0338] ggggcagcta ctggaggact gtgcgggcct gcctgggctg ccccctccgc cgtggggccc 1560

[0339] tgttgctgct gtccatctat ttctactact ccctcccaaa tgcggtcggc ccgcccttca 1620

[0340] cttggatgct tgccctcctg ggcctctcgc aggcactgaa catcctcctg ggcctcaagg 1680

[0341] gcctggcccc agctgagatc tctgcagtgt gtgaaaaagg gaatttcaac gtggcccatg 1740

[0342] ggctggcatg gtcatattac atcggatatc tgcggctgat cctgccagag ctccaggccc 1800

[0343] ggattcgaac ttacaatcag cattacaaca acctgctacg gggtgcagtg agccagcggc 1860

[0344] tgtatattct cctcccattg gactgtgggg tgcctgataa cctgagtatg gctgacccca 1920

[0345] acattcgctt cctggataaa ctgccccagc agaccggtga ccgtgctggc atcaaggatc 1980

[0346] gggtttacag caacagcatc tatgagcttc tggagaacgg gcagcgggcg ggcacctgtg 2040

[0347] tcctggagta cgccaccccc ttgcagactt tgtttgccat gtcacaatac agtcaagctg 2100

[0348] gctttagccg ggaggatagg cttgagcagg ccaaactctt ctgccggaca cttgaggaca 2160

[0349] tcctggcaga tgcccctgag tctcagaaca actgccgcct cattgcctac caggaacctg 2220

[0350] cagatgacag cagcttctcg ctgtcccagg aggttctccg gcacctgcgg caggaggaaa 2280

[0351] aggaagaggt tactgtgggc agcttgaaga cctcagcggt gcccagtacc tccacgatgt 2340

[0352] cccaagagcc tgagctcctc atcagtggaa tggaaaagcc cctccctctc cgcacggatt 2400

[0353] tctctggcgg tggcctgaac gacatcttcg aagcccagaa aatcgaatgg catgaaggca 2460

[0354] gcctggaagt gctgttccag ggcccacacc accatcatca ccatcaccat taatgagcgg 2520

[0355] ccgcactcga gcaccaccac caccaccact aacctaggta gctgagcgca tgcaagctga 2580

[0356] tccgggttat tagtacattt attaagcgct agattctgtg cgttgttgat ttacagacaa 2640

[0357] ttgttgtacg tattttaata attcattaaa tttataatct ttagggtggt atgttagagc 2700

[0358] gaaaatcaaa tgattttcag cgtctttata tctgaattta aatattaaat cctcaataga 2760

[0359] tttgtaaaat aggtttcgat tagtttcaaa caagggttgt ttttccgaac cgatggctgg 2820

[0360] actatctaat ggattttcgc tcaacgccac aaaacttgcc aaatcttgta gcagcaatct 2880

[0361] agctttgtcg atattcgttt gtgttttgtt ttgtaataaa ggttcgacgt cgttcaaaat 2940

[0362] attatgcgct tttgtatttc tttcatcact gtcgttagtg tacaattgac tcgacgtaaa 3000

[0363] cacgttaaat agagcttgga catatttaac atcgggcgtg ttagctttat taggccgatt 3060

[0364] atcgtcgtcg tcccaaccct cgtcgttaga agttgcttcc gaagacgatt ttgccatagc 3120

[0365] cacacgacgc ctattaattg tgtcggctaa cacgtccgcg atcaaatttg tagttgagct 3180

[0366] ttttggaatt atttctgatt gcgggcgttt ttgggcgggt ttcaatctaa ctgtgcccga 3240

[0367] ttttaattca gacaacacgt tagaaagcga tggtgcaggc ggtggtaaca tttcagacgg 3300

[0368] caaatctact aatggcggcg gtggtggagc tgatgataaa tctaccatcg gtggaggcgc 3360

[0369] aggcggggct ggcggcggag gcggaggcgg aggtggtggc ggtgatgcag acggcggttt 3420

[0370] aggctcaaat gtctctttag gcaacacagt cggcacctca actattgtac tggtttcggg 3480

[0371] cgccgttttt ggtttgaccg gtctgagacg agtgcgattt ttttcgtttc taatagcttc 3540

[0372] caacaattgt tgtctgtcgt ctaaaggtgc agcgggttga ggttccgtcg gcattggtgg 3600

[0373] agcgggcggc aattcagaca tcgatggtgg tggtggtggt ggaggcgctg gaatgttagg 3660

[0374] cacgggagaa ggtggtggcg gcggtgccgc cggtataatt tgttctggtt tagtttgttc 3720

[0375] gcgcacgatt gtgggcaccg gcgcaggcgc cgctggctgc acaacggaag gtcgtctgct 3780

[0376] tcgaggcagc gcttggggtg gtggcaattc aatattataa ttggaataca aatcgtaaaa 3840

[0377] atctgctata agcattgtaa tttcgctatc gtttaccgtg ccgatattta acaaccgctc 3900

[0378] aatgtaagca attgtattgt aaagagattg tctcaagctc ggatcgatcc cgcacgccga 3960

[0379] taacaagcct tttcattttt actacagcat tgtagtggcg agacacttcg ctgtcgtcga 4020

[0380] ggtttaaacg cttcctcgct cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg 4080

[0381] gtatcagctc actcaaaggc ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga 4140

[0382] aagaacatgt gagcaaaagg ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg 4200

[0383] gcgtttttcc ataggctccg ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag 4260

[0384] aggtggcgaa acccgacagg actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg aagctccctc 4320

[0385] gtgcgctctc ctgttccgac cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg 4380

[0386] ggaagcgtgg cgctttctca tagctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcgtt 4440

[0387] cgctccaagc tgggctgtgt gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc 4500

[0388] ggtaactatc gtcttgagtc caacccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc 4560

[0389] actggtaaca ggattagcag agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg 4620

[0390] tggcctaact acggctacac tagaaggaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca 4680

[0391] gttaccttcg gaaaaagagt tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc 4740

[0392] ggtggttttt ttgtttgcaa gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat 4800

[0393] cctttgatct tttctacggg gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt 4860

[0394] ttggtcatga gattatcaaa aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt 4920

[0395] tttaaatcaa tctaaagtat atatgagtaa acttggtctg acagttacca atgcttaatc 4980

[0396] agtgaggcac ctatctcagc gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc 5040

[0397] gtcgtgtaga taactacgat acgggagggc ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata 5100

[0398] ccgcgagacc cacgctcacc ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg 5160

[0399] gccgagcgca gaagtggtcc tgcaacttta tccgcctcca tccagtctat taattgttgc 5220

[0400] cgggaagcta gagtaagtag ttcgccagtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct 5280

[0401] acaggcatcg tggtgtcacg ctcgtcgttt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa 5340

[0402] cgatcaaggc gagttacatg atcccccatg ttgtgcaaaa aagcggttag ctccttcggt 5400

[0403] cctccgatcg ttgtcagaag taagttggcc gcagtgttat cactcatggt tatggcagca 5460

[0404] ctgcataatt ctcttactgt catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tggtgagtac 5520

[0405] tcaaccaagt cattctgaga atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgtca 5580

[0406] atacgggata ataccgcgcc acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt 5640

[0407] tcttcggggc gaaaactctc aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc 5700

[0408] actcgtgcac ccaactgatc ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca 5760

[0409] aaaacaggaa ggcaaaatgc cgcaaaaaag ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata 5820

[0410] ctcatactct tccttttca atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc 5880

[0411] ggatacatat ttgaatgtat ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc 5940

[0412] cgaaaagtgc cacctgacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt 6000

[0413] acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt cgctttcttc 6060

[0414] ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct 6120

[0415] ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat 6180

[0416] ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gccctttgac gttggagtcc 6240

[0417] acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc 6300

[0418] tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa aaatgagctg 6360

[0419] atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac aaaatattaa cgtttacaat ttcccattcg 6420

[0420] ccattcaggc tgcgcaactg ttgggaaggg cgatcggtgc gggcctcttc gctattacgc 6480

[0421] ca 6482