(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 106905193 B
(45)授权公告日 2018.11.27

(21)申请号 201710085240.X

(22)申请日 2017.02.15

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106905193 A

(43)申请公布日 2017.06.30

(73)专利权人 中国药科大学
地址 211198 江苏省南京市江宁区龙眠大道639号

(72)发明人 徐进宜 李兆亮 蒙彦春 徐盛涛 孟兆青 丁岗 王振中 萧伟

(51)Int.Cl.
*C07C 279/22*(2006.01)
*C07C 277/08*(2006.01)
*A61P 31/16*(2006.01)

(56)对比文件
CN 103845316 A,2014.06.11,
Caitlin A. Mooney et al.Oseltamivir Analogues Bearing N-Substituted Guanidines as Potent Neuraminidase Inhibitors.《Journal of Medicinal Chemistry》.2014,第57卷(第7期),

审查员 陆悠玲

权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

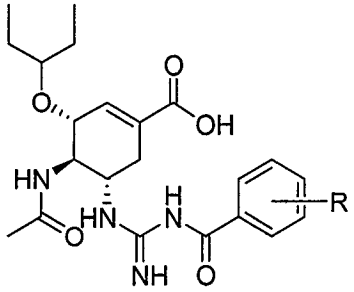
芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了通式I所示的奥司他韦胍基羧酸衍生物芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物及其制备方法和应用。本发明的化合物对野生型和突变型流感病毒的神经氨酸酶显示了良好的抑制活性,可以用于制备预防和/或治疗流感病毒引起的疾病的药物。

CN 106905193 B

1.式I所示芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐



I

其中,R为三氟甲基、溴、硝基。

2.根据权利要求1所述的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物为下述化合物中的任意一种:

化合物A8:(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-三氟甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

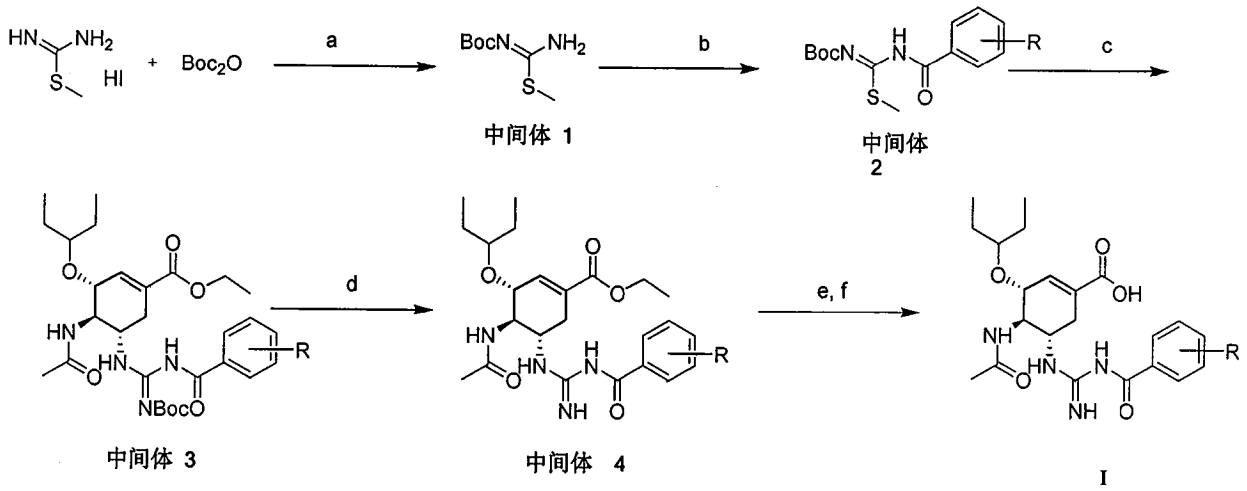
化合物A9:(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(3-三氟甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

化合物A10:(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-溴苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

化合物A12:(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(4-硝基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸。

3.如权利要求2所述的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述药学上可接受的盐为三氟乙酸盐,对甲苯磺酸盐,甲磺酸盐,盐酸盐。

4.权利要求1至3任一项所述的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:



中间体 1　　中间体 2　　中间体 3　　中间体 4　　I

其中,R分别为三氟甲基、溴、硝基,

以上合成路线中,a-e表示反应条件:

a:将原料甲基硫脲氢碘酸盐,二碳酸二叔丁酯(Boc2O),氢氧化钠和溶剂叔丁醇/水,0-30℃下搅拌反应12小时,制得中间体1;

b:将中间体1,相对应的羧酸,六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷(Pybop),甲

基吗啉(NMM),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),室温搅拌反应,12小时,制得中间体2;

c:将中间体2,磷酸奥司他韦,氯化汞(II)($HgCl_2$),三乙胺($Et_3N$),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),室温搅拌反应,12小时,制得中间体3;

d:将中间体3,三氟乙酸(TFA),二氯甲烷($CH_2Cl_2$),室温搅拌反应,5小时,制得中间体4;

e:将中间体4,乙醇,碳酸钾($K_2CO_3$),水,室温搅拌反应,5小时,制得化合物I;

f:将目标化合物I与药用酸成盐,得到目标化合物I的药用盐。

5.根据权利要求4所述的通式I所示的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法,其特征在于,所述步骤a中溶剂叔丁醇/水=10/1V:V,反应结束后,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析制到中间体1;

所述步骤b中,中间体1与相对应的羧酸投料的摩尔比为1:1-1:3,反应结束后,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析制到中间体2;

所述步骤c中,中间体2与磷酸奥司他韦投料的摩尔比为1:1-1:3,反应结束后,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析制到中间体3;

所述步骤d中,三氟乙酸(TFA)与二氯甲烷($CH_2Cl_2$)的体积比为1:1-1:10,反应结束后,二氯甲烷重结晶,制到中间体4;

所述步骤e中,中间体4与碳酸钾(K2CO3)投料的摩尔比为1:1-1:10,反应结束后,高效液相色谱法(HPLC),制到化合物I;

所述步骤f中,将目标化合物I与三氟乙酸或对甲苯磺酸盐或甲磺酸或盐酸于二氯甲烷中,室温搅拌反应12小时,反应结束,加入乙醚,过滤得到目标化合物I的药用盐。

6.权利要求1至3任一项所述的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐在制备治疗病毒性疾病药物或在制备神经氨酸酶抑制剂中的应用。

7.根据权利要求6所述的应用,其特征在于,所述病毒性疾病为流感病毒引起的疾病。

# 芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物及其制备方法和应用

## 技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域，更具体的说是涉及芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物及其制备方法和应用。

## 背景技术

[0002] 流感是流行性感冒(influenza)的简称，是一种流感病毒引发的急性上呼吸道传染病，一般秋冬季节是高发期。流感传染性强、传播速度快，主要通过空气中的飞沫、人与人之间的接触或与被污染物品的接触传播。典型的临床症状是：急起高热、全身疼痛、显著乏力和轻度呼吸道症状。目前流感依旧是威胁人类生命健康的主要疾病之一。据不完全统计，全世界每年平均大约有25～50万人死于流感。

[0003] 流感病毒还根据其表面的血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)的抗原性不同而分为很多亚型。其中NA有9种不同亚型(N1～N9)，HA有16种亚型(H1～H16)，二者可以相互组合而形成一百多种亚型。神经氨酸酶(NA)，由节段6编码(基因长度为1407个核苷酸残基)，为四聚体，由4条相同的糖基化多肽组成。NA可水解细胞表面糖蛋白受体的末端唾液酸残基，促进病毒的释放与迁移，防止病毒聚集。

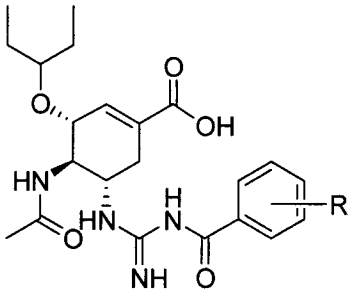
[0004] 目前为止，已经被FDA批准上市的神经氨酸酶抑制剂(NAIs)有扎那米韦、奥司他韦和帕拉米韦。奥司他韦为唯一口服药物。然而，奥司他韦耐药菌株不断出现，例如H274Y，I117V，E119A，R292K等神经氨酸酶突变株，使NA抑制剂的有效性下降。因此，耐药菌株的出现，迫切需要研究新一代神经氨酸酶抑制剂。

## 发明内容

[0005] 有鉴于此，本发明的目的在于设计并合成一类结构新颖的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物，从中筛选出具有较好活性的化合物，并提供这些化合物的制备方法及其在制药领域中的应用。

[0006] 经过大量研究，本发明如下技术方案：

[0007] 1、式I所示芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐。

[0008] 

I

[0009] 其中，R为取代或未取代的烷烃、卤素、硝基、羟基。

[0010] 优选的，R为氢、甲基、甲氧基、三氟甲基、羟基、溴、硝基；

[0011] 优选的，所述芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物为下述化合物中的任意一种：

[0012] 化合物A1：((3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(2-苯甲酰基胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0013] 化合物A2：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0014] 化合物A3：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(3-甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0015] 化合物A4：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(4-甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0016] 化合物A5：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-甲氧基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0017] 化合物A6：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(3-甲氧基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0018] 化合物A7：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(4-甲氧基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0019] 化合物A8：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-三氟甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0020] 化合物A9：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(3-三氟甲基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0021] 化合物A10：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-溴苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

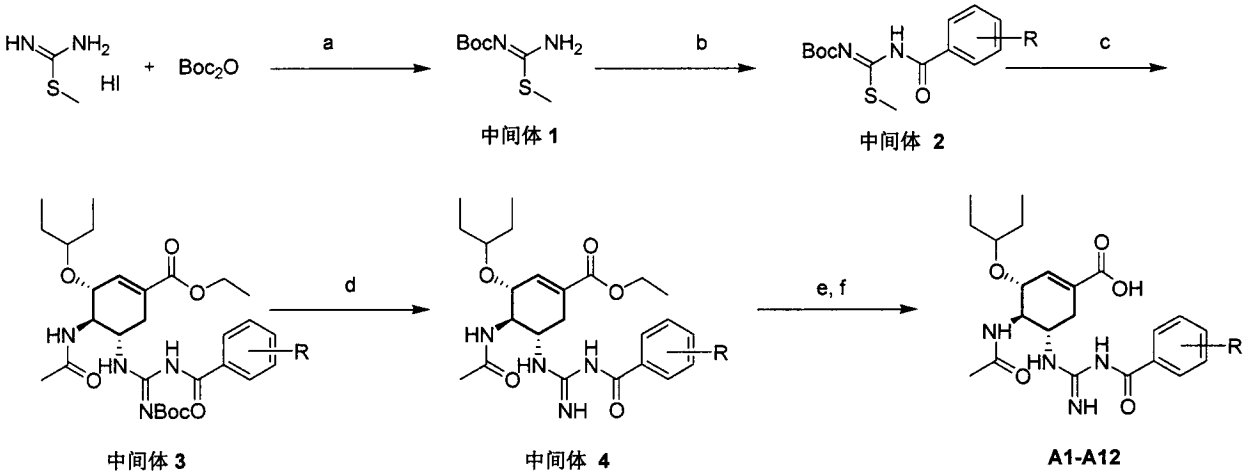
[0022] 化合物A11：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(2-羟基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

[0023] 化合物A12：(3R,4R,5S)-3-(1-乙基丙氧基)-4-乙酰氨基-5-(3-(4-硝基苯甲酰基)胍基)-1-环己稀-1-羧酸、

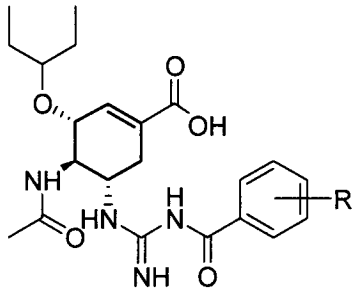
[0024] 优选的，所述药学上可接受的盐为三氟乙酸盐，对甲苯磺酸盐，甲磺酸盐，盐酸盐；

[0025] 2、芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐的制备方法，包括如下步骤：

[0026]

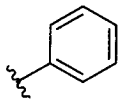
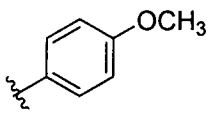
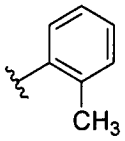
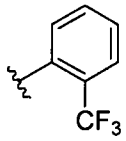
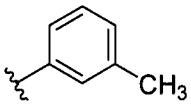
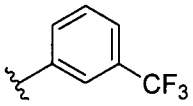
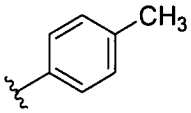
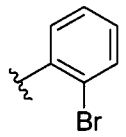



[0027] 所合成的化合物具体结构式，如下：

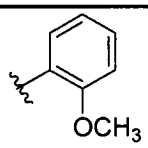
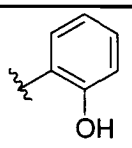
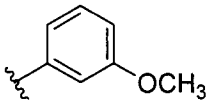
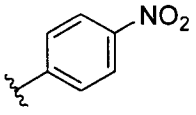
[0028] 

A1-A12

[0029]

| 编号 | R | 编号 | R |
|---|---|---|---|
| A1 |  | A7 |  |
| A2 |  | A8 |  |
| A3 |  | A9 |  |
| A4 |  | A10 |  |

[0030]

| | | | |
|---|---|---|---|
| A5 |  | A11 |  |
| A6 |  | A12 |  |

[0031] 以上合成路线中,a-e表示反应条件:

[0032] a:将原料甲基硫脲氢碘酸盐,二碳酸二叔丁酯($Boc_2O$),氢氧化钠和溶剂叔丁醇/水,0-30℃下搅拌反应12小时,制得中间体1;

[0033] b:将中间体1,相对应的羧酸,六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷(Pybop),甲基吗啉(NMM),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),室温搅拌反应,12小时,制得中间体2;

[0034] c:将中间体2,磷酸奥司他韦,氯化汞(II)($HgCl_2$),三乙胺($Et_3N$),N,N-二甲基甲酰胺(DMF),室温搅拌反应,12小时,制得中间体3;

[0035] d:将中间体3,三氟乙酸(TFA),二氯甲烷($CH_2Cl_2$),室温搅拌反应,5小时,制得中间

体4；

[0036] e:将中间体4,乙醇,碳酸钾($K_2CO_3$),水,室温搅拌反应,5小时,制得A1-A12。

[0037] f:将目标化合物A1-A12与药用酸成盐,得到目标化合物A1-A12的药用盐。

[0038] 进一步,所述步骤a中溶剂叔丁醇/水＝10/1,反应结束后,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析制到中间体1；

[0039] 所述步骤b中,中间体1与相对应的羧酸投料的摩尔比为1:1-1:3,反应结束后,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析制到中间体2；

[0040] 所述步骤c中,中间体2与磷酸奥司他韦投料的摩尔比为1:1-1:3,反应结束后,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析制到中间体3；

[0041] 所述步骤d中,三氟乙酸(TFA)与二氯甲烷($CH_2Cl_2$)的体积比为1:1-1:10,反应结束后,二氯甲烷重结晶,制到中间体4；

[0042] 所述步骤e中,中间体4与碳酸钾($K_2CO_3$)投料的摩尔比为1:1-1:10,反应结束后,高效液相色谱法(HPLC),制到化合物A1-A12；

[0043] 所述步骤f中,将目标化合物A1-A12与三氟乙酸或对甲苯磺酸盐或甲磺酸或盐酸于二氯甲烷中,室温搅拌反应12小时,反应结束,加入乙醚,过滤得到目标化合物A1-A12的药用盐。

[0044] 3、芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物的应用

[0045] 芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物或其药学上可接受的盐在制备治疗病毒性疾病药物或在制备神经氨酸酶抑制剂中的应用

[0046] 优选的,所述病毒性疾病为流感病毒引起的疾病。

[0047] 本发明的有益效果在于,本发明设计了一类结构新颖的芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物,这些化合物经过体外抗病毒活性筛选实验,发现对H1N1、H3N2型流感病毒的神经氨酸酶具有较强的抑制作用,尤其对H259Y(H1N1)型流感病毒的神经氨酸酶的抑制作用,部分化合物超过阳性药奥司他韦羧酸。本发明的化合物具有较高活性,可以用于制备治疗流感病毒性疾病药物或在制备神经氨酸酶抑制剂中的应用,且制备方法简单,原料易得,成本较低。

**具体实施方式：**

[0048] 下面结合实例对本发明做进一步的说明。

[0049] 实施例1、化合物A1的制备

[0050] 中间体1的合成:取S-甲基硫脲氢碘酸盐(11g,50.4mmol)溶于100mL叔丁醇中,加入10mL溶有氢氧化钠(2g,50.4mmol)的水溶液,室温搅拌30min。冰浴下加入50mL溶解9g $Boc_2O$的叔丁醇溶液,乳浊液,室温搅拌过夜,反应完全,停止反应加入140mL二氯甲烷,饱和碳酸钠水溶液洗涤2次,无水硫酸钠干燥,浓缩至干,快速柱层析(PE:EA＝6:1),得中间体1,7.1g,白色固体,产率74％。

[0051] 中间体2的合成:将苯甲酸(283mg,2.32mmol),Pybop(1.21g,2.32mmol),NMM(469mg,4.64mmol)溶于4mLDMF,室温搅拌30min,加入中间体1(220mg,1.16mmol),室温搅拌,过夜,反应完全。停止反应,加入水,乙酸乙酯萃取,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,浓缩至干,快速柱层析(PE:EA＝25:1),得中间体2。

[0052] 中间体3的合成:将磷酸奥司他韦(200mg,0.82mmol),中间体2(241mg,0.82mmol)三乙胺(274mg,2.71mmol)溶于3mLDMF溶液中,室温搅拌,10min,冰浴下加入氯化汞(268mg,0.98mmol),5min后有沉淀析出,室温搅拌,过夜,待反应完全,停止反应,冷却至室温,加入水、乙酸乙酯稀释反应液,硅藻土过滤,去除固体沉淀,滤液乙酸乙酯萃取2次,饱和食盐水洗涤2次,无水硫酸钠干燥,浓缩至干,快速柱层析(PE:EA=3:2),得中间体3。

[0053] 中间体4的合成:将中间体3(218mg,0.39mmol)溶于5mL TFA/二氯甲烷=1/1溶液中,室温搅拌,5h,浓缩至干,加入乙醚,有沉淀析出,过滤得到中间体4。

[0054] 目标化合物A1的合成:将中间体4(110mg,0.24mmol)溶解于16ml乙醇,4ml溶有碳酸钾(132mg,0.96mmol)的水溶液加入其中,有少量固体析出,超声2min,室温搅拌,12小时,反应完全,停止反应,反应液减压浓缩至少量,加入10%的HCl水溶液调PH=4~5,有白色固体析出,减压浓缩至干,HPLC制备(乙腈/0.1%甲酸水),得产物A1,65mg,产率63%。

[0055] 目标化合物A1三氟乙酸盐的制备:将目标化合物A1(100mg,0.23mmol),二氯甲烷5ml,三氟乙酸5ml,室温搅拌反应,12小时,反应完毕,加入乙醚5ml,过滤,制定目标化合物A1三氟乙酸盐。

[0056] 化合物A1:$^{1}$H NMR(400MHz,DMSO)δ12.71(br,1H,-COOH),11.91(s,1H,-NH),9.45(d,J=8.6Hz,1H,9.25(s,1H),8.13(d,J=7.7Hz,2H),7.74(t,J=7.7Hz,1H),7.61(t,J=7.7Hz,2H),6.72(s,1H),4.24-4.22(1H,m),4.17-4.08(1H,m),4.02-3.90(1H,m),3.45-3.37(1H,m),2.79(1H,dd,J=17.3Hz,4.5Hz),2.44-2.37(1H,m),1.81(3H,s,1.52-1.37(4H,m),0.88-0.78(6H,m);$^{13}$C NMR($CDCl_3$,100MHz),δ(ppm):170.2,167.9,167.5,154.4,131.5,129.4,128.9,129.2,128.8,127.6,81.8,74.7,52.8,50.4,29.7,26.1,25.7,23.2,9.9,9.4;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{22}H_{30}N_4O_5$[M+H]$^+$431.2294,found 431.2317.

[0057] 化合物A2-A13的制备按照化合物A1的方法制备,将丙酸改变为相对应的羧酸,相对应的羧酸和其它原料按照化合物A1的当量比和用量投料,其它实验步骤相同,制得化合物A2-A13及其药用盐。

[0058] 化合物A2:白色固体,产率64%。$^{1}$H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ12.71(br,1H),11.87(s,1H),9.22(d,J=8.7Hz,1H),9.10(s,1H),8.29(d,J=7.7Hz,1H),7.69(t,J=7.7Hz,1H),7.52(t,J=7.7Hz,1H),7.36(t,J=7.7Hz,1H),6.70(s,1H),4.26-4.24(1H,m),4.19-4.09(1H,m),4.01-3.95(1H,m),3.46-3.37(1H,m),2.78(1H,dd,J=17.4Hz,4.8Hz),2.45(3H,s),2.42-2.37(1H,m),1.83(3H,s),1.52-1.40(4H,m),0.88-0.78(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):170.2,169.1,167.5,154.1,137.8,137.4,132.8,132.5,131.9,128.9,128.6,126.4,81.9,74.6,52.8,50.5,29.6,26.2,25.7,23.2,20.2,9.9,9.5;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_5$[M+H]$^+$445.2451,found 445.2530.

[0059] 化合物A3:白色固体,产率90%。$^{1}$H NMR(DMSO-d6,,400MHz),δ(ppm):7.93(1H,s),7.73(1H,d,J=7.3Hz),7.42(1H,t,J=7.3Hz),7.38(1H,d,J=7.9Hz),6.72(1H,s),4.12-4.08(1H,m),4.06-4.01(1H,m),4.00-3.93(1H,m),3.43-3.38(1H,m),2.80(1H,dd,J=17.9Hz,4.9Hz),2.36(3H,s),2.30-2.25(1H,m),1.81(3H,s),1.55-1.44(4H,m),1.30(3H,t,J=7.1Hz),0.87-0.77(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,,100MHz),δ(ppm):170.0,168.4,166.1,154.0,138.3,138.1,133.8,132.9,129.5,129.1,128.8,125.7,81.8,61.1,52.5,54.9,48.1,,30.8,26.1,25.8,21.3,14.5,9.9,9.6;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_5$[M+H]$^+$

445.2451,found 445.2534

[0060] 化合物A4:白色固体,产率73%。$^{1}$H NMR(400MHz,MeOD)δ7.87(d,J=8.0Hz,2H),7.36(d,J=8.0Hz,2H),6.80(s,1H),4.28-4.20(1H,m),4.19-4.09(1H,m),4.02-3.95(1H,m),3.48-3.47(1H,m),2.94(1H,dd,J=17.4Hz,4.8Hz),2.45(3H,s),2.43-2.36(1H,m),1.97(3H,s),1.59-1.53(4H,m),0.98-0.90(6H,m);$^{13}$C NMR(MeOD,100MHz),δ(ppm):172.5,169.0,166.8,154.9,144.3,138.4,130.7,129.8,129.5,128.7,83.0,75.9,61.4,54.0,31.2,26.7,26.3,22.5,14.2,9.6,9.4;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_5$[M+H]$^+$ 445.2451,found 445.2528.

[0061] 化合物A5:白色固体,产率78%。$^{1}$H NMR(MeOD,400MHz)δ7.99(d,J=7.8Hz,1H),7.64(t,J=7.8Hz,1H),7.24(d,J=7.8Hz,1H),7.15(d,J=7.8Hz,1H),6.80(s,1H),4.24-4.18(1H,m),4.16-4.04(1H,m),4.06(3H,s),3.89-3.81(1H,m),3.49-3.41(1H,m),2.74(1H,dd,J=17.4Hz,4.8Hz),2.96-2.88(1H,m),1.97(3H,s),1.58-1.50(4H,m),0.97-0.89(6H,m);$^{13}$C NMR(MeOD,100MHz),δ(ppm):172.6,166.7,158.5,154.6,138.6,138.3,135.4,133.7,132.1,130.1,121.8,112.9,82.9,75.9,56.4,55.4,54.1,32.1,26.7,26.3,14.1,9.5,9.3;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_6$[M+H]$^+$461.2400,found 461.2578.

[0062] 化合物A6:白色固体,产率75%。$^{1}$H NMR(DMSO-d6,400MHz)δ12.61(s,1H),10.70(s,1H),8.78(s,1H),8.09(s,1H),7.54(s,1H),7.52(d,J=7.9Hz,1H),7.41(t,J=7.9Hz,1H),7.17(d,J=7.9Hz,1H),6.69(s,1H),4.14-4.10(1H,m),4.10-3.90(1H,m),3.82(3H,s),3.45-3.40(1H,m),3.40-3.36(1H,m),2.80(1H,dd,J=17.4Hz,4.8Hz),2.25-2.19(1H,m),1.82(3H,s,1.49-1.39(4H,m),0.87-0.78(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):170.0,167.7,159.6,153.9,137.6,134.3,130.1,129.4,120.9,119.5,113.2,112.9,81.6,75.0,55.8,52.6,48.4,30.6,26.1,25.8,23.1,9.9,9.5;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_6$[M+H]$^+$461.2400,found461.2426.

[0063] 化合物A7:白色固体,产率70%。$^{1}$H NMR(DMSO-d6,400MHz)δ12.62(s,1H,N-H),10.60(s,1H),8.75(s,1H),8.07(s,1H),7.74(d,J=7.3Hz,2H),7.04(d,J=7.3Hz,2H),6.69(s,1H),4.19-4.13(1H,m),4.13-3.95(1H,m),3.87-3.80(1H,m,),3.38(3H,s),3.44-3.40(1H,m),2.82-2.78(1H,m),2.31-2.21(1H,m),1.82(3H,s),1.47-1.39(4H,m),0.87-0.78(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):170.0,168.4,167.7,153.9,138.3,132.9,130.7,129.1,125.7,114.2,81.6,75.0,56.0,52.6,48.4,30.6,26.2,25.8,23.1,9.9,9.5;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_{32}N_4O_6$[M+H]$^+$461.2400,found 461.2422.

[0064] 化合物A8:白色固体,产率68%。$^{1}$H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.22(d,J=8.4Hz,1H),8.24(d,J=8.7Hz,1H),7.93(d,J=7.4Hz,1H),7.87-7.81(m,2H),6.71(s,1H),4.26-4.22(1H,m),4.18-4.08(1H,m),4.02-3.95(1H,m),3.43-3.36(1H,m),2.76(1H,dd,J=17.4Hz,4.3Hz),2.44-2.38(1H,m),1.85(3H,s),1.53-1.35(4H,m),0.88-0.78(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):170.2,168.3,167.5,153.5,138.3,137.4,133.3,132.5,129.4,128.9,127.4,126.7,82.0,74.5,52.7,50.6,29.5,26.2,25.7,23.1,15.72,9.9,9.5;HR-MS(ESI)m/z:calcdfor $C_{23}H_9F_3N_4O_5$[M+H]$^+$499.2168,found 499.2237.

[0065] 化合物A9:白色固体,产率70%。$^{1}$H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ9.21(s,1H),8.4(s,1H),8.18(d,J=8.7Hz,1H),8.09(d,J=8.7Hz,1H),7.86(t,J=8.7Hz,1H),6.72(s,1H),

4.23-4.20(1H,m),4.14-4.10(1H,m),4.00-3.94(1H,m),3.48-3.38(1H,m),2.79(1H,dd,J=17.2Hz,4.3Hz),2.43-2.37(1H,m),1.85(3H,s),1.50-1.33(4H,m),0.88-0.79(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):170.2,167.3,166.3,154.0,137.6,137.4,132.9,130.8,128.9,125.5,125.3,122.8,81.8,74.5,52.7,50.4,29.7,26.2,25.7,23.1,15.6,9.9,9.5;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{23}H_9F_3N_4O_5$[M+H]$^+$499.2168,found 499.2241.

[0066] 化合物A10:白色固体,产率58%。$^1$H NMR(DMSO-d6,400MHz)δ8.15(s,J=8.7Hz,1H),7.97(d,J=7.6Hz,1H),7.89(d,J=7.6Hz,1H),7.70(t,J=7.6Hz,1H),7.35(t,J=7.5Hz,1H),6.74(1H,s),4.41-4.38(1H,m),4.26-4.22(1H,m),4.15-4.09(1H,m),3.38-3.32(1H,m),2.80-2.74(1H,m),2.34-2.28(1H,m),1.84(3H,s),1.50-1.35(4H,m),0.84-0.74(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):175.7,172.6,172.2,158.5,142.8,139.4,138.6,138.1,137.9,134.2,132.6,124.4,79.0,65.7,58.3,55.3,34.6,,30.9,30.5,27.9,14.4,14.1;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{22}H_{29}BrN_4O_5$[M+H]$^+$509.1400,found 509.1393.

[0067] 化合物A11:白色固体,产率70%。$^1$H NMR(DMSO-d6,400MHz)δ8.51(s,J=8.7Hz,1H),7.97(d,J=7.5Hz,1H),7.89(d,J=7.5Hz,1H),7.70(t,J=7.5Hz,1H),7.35(t,J=7.5Hz,1H),6.66(1H,s),4.21-4.18(1H,m),4.14-4.05(1H,m),3.95-3.88(1H,m),3.46-3.39(1H,m),2.70-2.64(1H,m),2.42-2.35(1H,m),1.69(3H,s),1.49-1.36(4H,m),0.87-0.75(6H,m);$^{13}$C NMR(DMSO-d6,100MHz),δ(ppm):170.1,167.6,166.1,158.6,153.9,138.1,134.7,129.2,127.3,125.7,117.5,116.2,81.5,75.2,53.9,50.4,29.9,26.2,25.7,23.1,9.9,9.4;HR--MS(ESI)m/z:calcd for $C_{22}H_{30}N_4O_5$[M+H]$^+$447.2244,found 447.2334.

[0068] 化合物A12:白色固体,产率20%。$^1$H NMR(DMSO-d6,400MHz),δ(ppm):8.29(2H,d,J=8.0Hz),8.24(2H,d,J=8.0Hz),7.89(1H,d,J=8.6Hz),6.66(1H,s),4.39-4.29(1H,m),4.16-4.12(1H,m),3.95-3.89(1H,m),3.83-3.80(1H,m),2.82-2.68(1H,m),2.34-2.13(1H,m),1.81(3H,s),1.49-1.38(4H,m),0.88-0.77(6H,m);$^{13}$C NMR($CDCl_3$,100MHz),δ(ppm):170.4,168.0,161.4,157.4,149.3,144.9,130.0,129.9,123.5,120.1,81.6,75.8,52.5,49.4,36.3,26.2,25.7,23.3,9.8,9.5;HR-MS(ESI)m/z:calcd for $C_{22}H_{29}N_5O_7$[M+H]$^+$476.2145,found 476.2130.

[0069] 实施例2、芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物体外抗病毒活性实验

[0070] 1、实验材料:A/PuertoRico/8/1934(H1N1);A/hong kong/498/97($H_3N_2$);A/PuertoRico/8/1934(H259Y,NA resisitant strain);奥司他韦酸盐(对照药);酶底物MUNANA(2′-4-methylumbelliferyl-a-N-acetylneurainate,2′-4-甲基伞形酮-α-N-乙酰神经氨酸,Sigma);PBS缓冲液或者生理盐水;恒温培养箱;酶标仪。

[0071] 2、实验原理:流感病毒神经氨酸酶是一种具有酶活性的表面糖蛋白,对流感病毒的复制有重要作用。本实验室采用MUNANA作为底物检测流感病毒NA活性。MUNANA是流感病毒NA的特异性底物,在NA作用下产生的催化产物在激发光照射下,可以产生荧光;荧光强度的变化,可以灵敏反映神经氨酸酶的活性。

[0072] 3、方法步骤:

[0073] 1)药物稀释:在药物稀释板中,将待测化合物和奥司他韦羧酸盐用DMSO 3倍梯度稀释8个浓度梯度;

[0074] 2)药物与流感病毒NA作用:将梯度稀释后的待测化合物转移至测试板中,其中测

试板中的每孔中含有PBS，然后在孔中加入流感病毒NA与化合物混匀；

[0075] 3)底物与NA及药物作用：将底物加入到含有NB与化合物的孔中混匀并孵育；其中测试的最高浓度为1μM；

[0076] 4)实验设置NA活性对照，空白对照，以及神经氨酸酶(NA)阳性抑制剂奥司他韦羧酸盐对照。

[0077] 5)37℃下反应40分钟后，多标记分析仪上荧光检测。

[0078] 抑制率(%)＝100-(样品孔-空白对照)/(NA对照-空白对照)*100％

[0079] 本发明化合物对流感病毒神经氨酸酶活性，如表1

[0080] 表1芳酰基胍基奥司他韦羧酸衍生物体外NA(H1N1，H3N2和H259Y(H1N1))的抑制活性

[0081]

| 目标化合物 | H1N1 $IC_{50}$ (nM) | H3N2 $IC_{50}$ (nM) | H1N1-H259Y $IC_{50}$ (nM) |
|---|---|---|---|
| **奥司他韦羧酸** | 0.76±0.06 | 0.80±0.08 | 169.3±9.1 |
| **A1** | 10.8±9.3 | 14.2±5.8 | 119.3±10.6 |
| **A2** | 24.7±0.9 | 22.5±4.0 | >200 |
| **A3** | 11.6±1.4 | 19.5±3.5 | >200 |
| **A4** | 31.2±2.1 | 28.1±2.7 | >200 |
| **A5** | 53.5±4.6 | 25.2±3.9 | >200 |
| **A6** | 75.3±5.2 | 33.2±7.6 | >200 |
| **A7** | 68.6±9.4 | 24.6±5.1 | >200 |
| **A8** | 4.7±0.3 | 3.2±0.4 | 68.2±5.2 |
| **A9** | 6.5±0.5 | 6.1±0.7 | 84.5±6.9 |
| **A10** | 9.1±0.2 | 8.5±0.9 | 75.5±9.3 |
| **A11** | 49.8±4.9 | 84.7±2.5 | >200 |
| **A12** | 2.0±0.1 | 1.4±0.2 | 37.8±4.8 |

[0082] ND:not detected.

[0083] 由表1可知，本发明的部分化合物对野生型流感病毒的神经氨酸酶显示了良好的抑制活性。其中化合物A8、A9、A10、A12与阳性药羧酸奥司他韦相比，对野生型流感病毒的神经氨酸酶抑制活性稍弱，但对突变型流感病毒的神经氨酸酶抑制活性更高。本发明的化合物可以用于制备预防与治疗流感病毒引起的疾病的药物。

[0084] 以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。