

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2014 年 6 月 5 日 (05.06.2014)



(10) 国际公布号  
**WO 2014/082592 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
*C07C 279/16* (2006.01) *A61P 31/16* (2006.01)  
*A61K 31/215* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2013/088113
- (22) 国际申请日: 2013 年 11 月 29 日 (29.11.2013)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
201210504780.4 2012 年 11 月 30 日 (30.11.2012) CN
- (71) 申请人: 北京普禄德医药科技有限公司 (BEIJING PRELUDE PHARM. SCI. & TECH. CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市大兴区北京经济技术开发区科创十四街 99 号 33 幢 D601 室, Beijing 101111 (CN)。
- (72) 发明人: 王志岩 (WANG, Michael Zhiyan); 中国北京市大兴区北京经济技术开发区科创十四街 99 号 33 幢 D601 室, Beijing 101111 (CN)。
- (74) 代理人: 北京瑞恒信达知识产权代理事务所 (普通合伙) (LEADING INTELLECTUAL PROPERTY FIRM); 中国北京市海淀区大柳树路 17 号富海中心 2 号楼 9 层 909 房间, Beijing 100081 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

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

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。

(54) Title: NEURAMINIDASE INHIBITOR PRODRUG AND COMPOSITION AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 神经氨酸苷酶抑制剂的前药及其组合物和用途

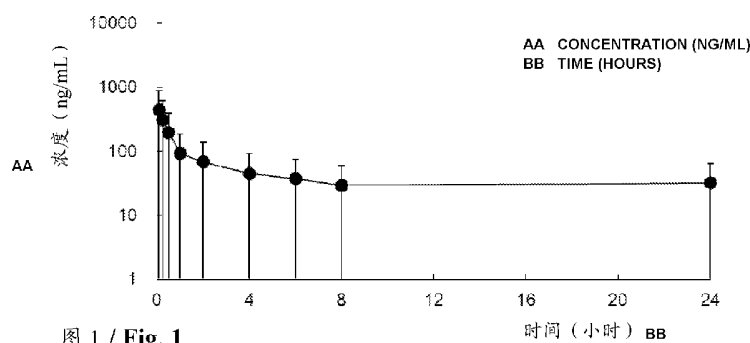


图 1 / Fig. 1

(57) Abstract: Provided are a compound as represented by formula Ia, or pharmaceutically acceptable salt, solvate, polymorph, enantiomer or racemic mixture thereof. As a neuraminidase inhibitor prodrug, the compound can improve the half-life in vivo of the neuraminidase inhibitor. Also provided are a preparation method of the compound, pharmaceutical composition containing the compound, and uses of the compound and the pharmaceutical composition in the preparation of neuraminidase inhibitor drugs for treating related diseases.

(57) 摘要: 本发明提供了一种式 Ia 所示的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物, 该化合物作为神经氨酸苷酶抑制剂的前药, 可以改善神经氨酸苷酶抑制剂的体内半衰期。本发明还提供了所述化合物的制备方法、包含所述化合物的药物组合物、以及所述化合物和药物组合物在制备神经氨酸苷酶抑制剂类药物和治疗相关疾病中的用途。

## 神经氨酸苷酶抑制剂的前药及其组合物和用途

### 技术领域

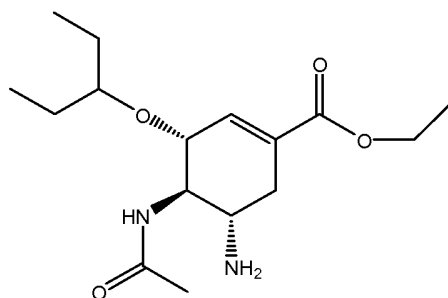
本发明属于医药领域，具体而言，本发明涉及作为神经氨酸苷酶抑制剂的前药的化合物、包含所述化合物的药物组合物、以及所述化合物和药物组合物在制备药物和治疗相关疾病中的用途。

### 背景技术

流行性感冒，简称流感，是由流行性感冒病毒引起的急性呼吸道传染病。该疾病传染性强，传播面广，常为地方性流行。2009 年全球流感病毒感染患者高达上亿人，死亡人数约为一万三千六百人。因此，流行性感冒是目前期待解决的重要公共健康问题之一。

已发现，流感病毒脂质包膜具有 2 个重要的糖蛋白，分别为血凝素和神经氨酸苷酶（neuraminidase）。其中神经氨酸苷酶是一种糖水解酶，其通过分裂唾液酸残基，使病毒从宿主细胞上释放后不能自行相互聚合，从而促进病毒在粘膜的分泌物中弥散、传播，并且通常还认为神经氨酸苷酶与流行性感冒病毒的致病性相关。

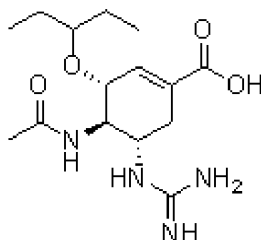
神经氨酸苷酶已经成为治疗流行性感冒的一个药物靶点。奥塞米韦（Oseltamivir，即“达菲”，见下式 A）即是一种作用于神经氨酸苷酶的特异性抑制剂，其抑制神经氨酸酶的作用，因此可以抑制成熟的流感病毒脱离宿主细胞，从而进一步抑制流感病毒在人体内的传播以起到治疗流行性感冒的作用。目前，达菲被广泛用于治疗流感。



式 A

然而，由于达菲价格昂贵，在一定程度上限制了其应用。更为不利的是，在长期应用过程中，流感病毒快速变异，已经出现了达菲耐药性突变株，例如甲型 H1N1 流感病毒 H274Y 突变株。鉴于此，已经开始研究和开发达菲的前药或衍生物，以用于抑制达菲抗药性病毒。例如以下式 I 表示的化合物

1 (公开于 WO96/026933), 其为用胍基取代氨基的奥塞米韦胍类似物, 能有效抑制流行性感冒病毒 (参见 Choung U. Kim 等人, Structure-Activity Relationship Studies of Novel Carbocyclic Influenza Neuraminidase Inhibitors. J. Med. Chem. 1998, 41, 2451-2460)。



5

式 1

然而, 研究表明, 化合物 1 的体内半衰期短, 仅有 2-5 个小时 (参见 Li, W. 等人, Identification of GS 4104 as an orally bioavailable prodrug of the influenza virus neuraminidase inhibitor GS 4071. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(3): p. 647-653), 限制了其在治疗流感方面的应用。因此, 本领域仍然需要开发能够有效抑制神经氨酸苷酶、从而能够治疗流感及抑制其传播的化合物。

### 发明内容

15 为了改善化合物 1 在动物体内的半衰期, 从而优化化合物 1 抑制神经氨酸苷酶的作用, 本发明人有针对性地设计了化合物 1 的多种前药, 并通过大量实验测定这些化合物 1 的前药的体内半衰期。发明人发现, 采用化合物 1 的前药, 可以使化合物 1 在动物体内的半衰期得到显著提高。

因此, 本发明的一个目的在于提供一种作为神经氨酸苷酶抑制剂的前药的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物, 以满足目前对于神经氨酸苷酶抑制剂类药物的需求。

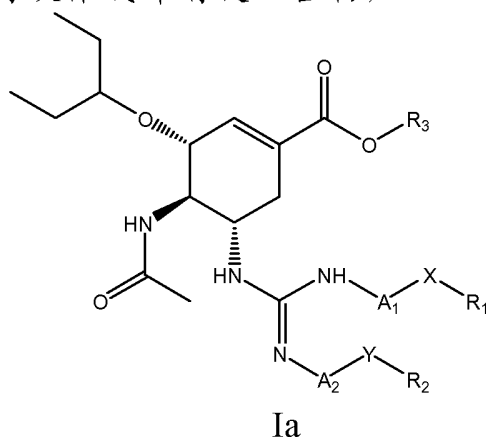
本发明的另一个目的在于提供以所述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物为活性成分的药物组合物。

25 本发明的又一个目的在于提供所述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或药物组合物在制药方面的用途。

本发明的还一个目的在于提供采用所述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或者采用所述药物组合物用于治疗相关疾病的方法。

为了实现上述目的，本发明采取的技术方案如下：

一方面，本发明提供一种式 Ia 所示的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，



其特征在于，

-A<sub>1</sub>-X-R<sub>1</sub> 和 -A<sub>2</sub>-Y-R<sub>2</sub> 不能同时为 H，并且其中：

A<sub>1</sub> 独立地为键或 O；

A<sub>2</sub> 独立地为键或 O；

10 X 独立地为键、C(O)、C(O)O、C(O)NH、S(O)<sub>2</sub>、S(O)<sub>2</sub>NH、CH<sub>2</sub>OC(O)、C(O)CH<sub>2</sub>OC(O)；

Y 独立地为键、C(O)、C(O)O、C(O)NH、S(O)<sub>2</sub>、S(O)<sub>2</sub>NH、CH<sub>2</sub>OC(O)、C(O)CH<sub>2</sub>OC(O)；

15 R<sub>1</sub> 独立地为 H、C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R<sub>1</sub> 独立地为被 1-3 个选自下述的取代基取代的 C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基：烷基、亚烷基、羟基、氧代、卤代、氰基、叠氮、硝基、氨基烷氧基、芳氧基、烷氧基烷基、芳氧基烷基、烷硫基、烷硫基烷基、烷氨基、烷氨基烷基、卤代烷氧基；

20 R<sub>2</sub> 独立地为 H、C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R<sub>2</sub> 独立地为被 1-3 个选自下述的取代基取代的 C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基：烷基、亚烷基、羟基、氧代、卤代、氰基、叠氮、硝基、氨基烷氧基、芳氧基、烷氧基烷基、芳氧基烷基、烷硫基、烷硫基烷基、烷氨基、烷氨基烷基、卤代烷氧基；以及

25 R<sub>3</sub> 独立地为 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基、或 C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> 环烷基烷基。

根据本发明的一些实施方式，本发明提供式 Ia 所示的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，其中，A<sub>1</sub>

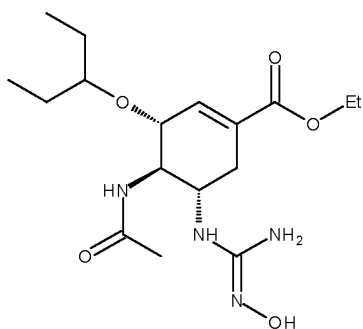
独立地为键或 O, X 独立地为键或 C(O)O, R<sub>1</sub> 独立地为 H、C(O)O、OC(O)、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基或被 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基和/或 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 亚烷基取代的 C(O)O、OC(O)、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 烷基。

优选地, -A<sub>1</sub>-X-R<sub>1</sub> 为 H;

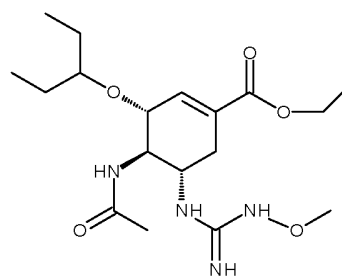
5 优选地, -A<sub>2</sub>-Y-R<sub>2</sub> 为 -OH。

进一步优选地, R<sub>3</sub> 是 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 的烷基, 优选 -CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 进一步优选 -CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 更优选 -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

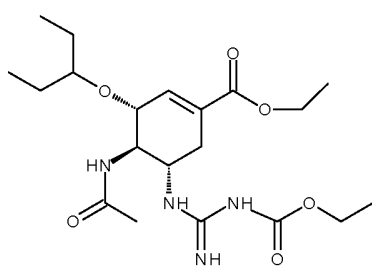
10 根据本发明的具体实施方式, 本发明提供式 Ia 所示的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物, 其中所述式 Ia 所示的化合物的结构分别如下式所示:



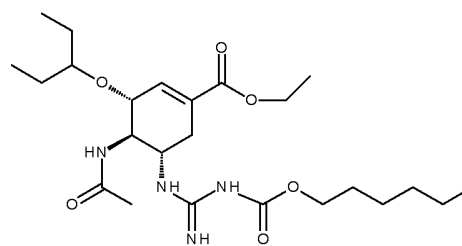
I2



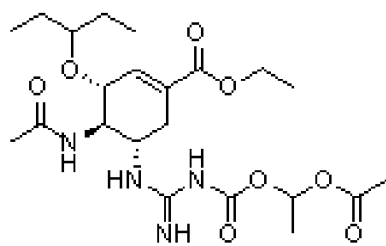
I3



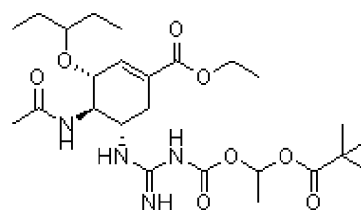
I4



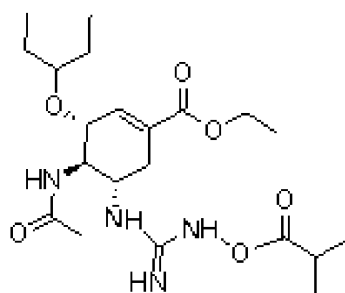
I5



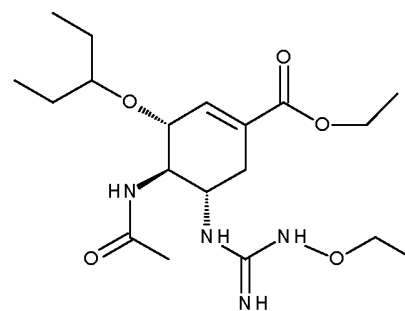
I6



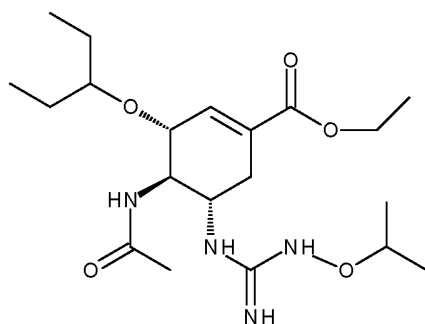
I7



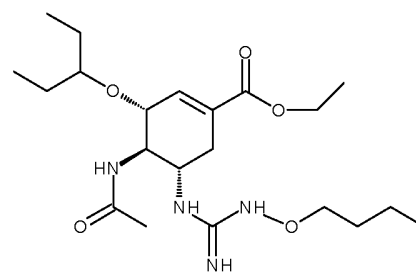
I8



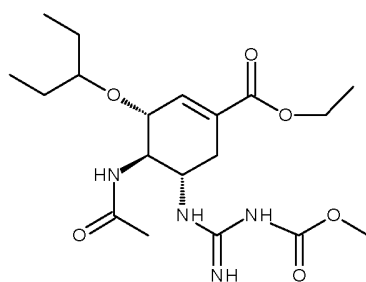
I9



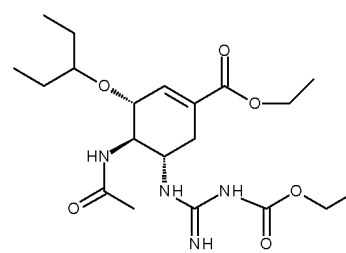
I10



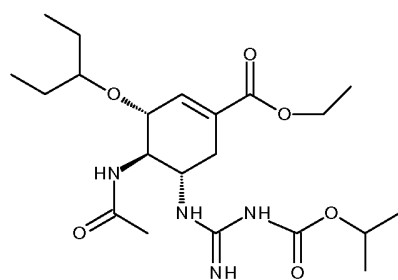
I11



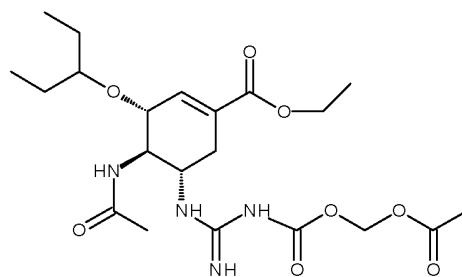
I12



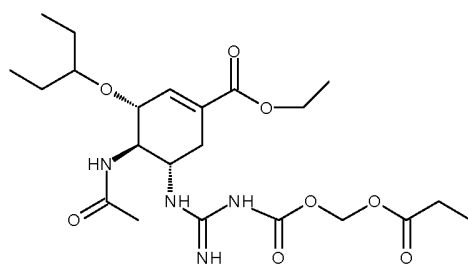
I13



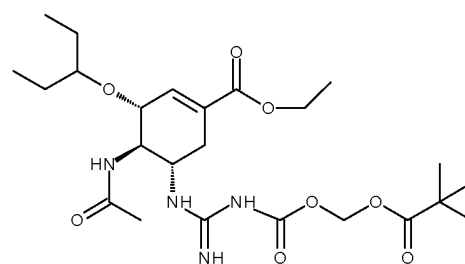
I14



I15



I16



I17.

或

优选地，本发明提供的式 Ia 所示化合物的结构分别如式 I2、I3、I4、

15 I5、I6、I7 或 I8 所示；进一步优选如式 I2 所示。

再一方面，本发明提供一种药物组合物，该药物组合物包含式 Ia 所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，以及药学上可接受的辅料。

20 所述药物可接受的盐是指本发明的化合物可以与无机酸或有机酸形成可药用盐，其中无机酸诸如盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、高氯酸、硫酸或磷酸；所述有机酸诸如甲磺酸、三氟甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、富马酸、草酸、马来酸、柠檬酸。

所述溶剂化物例如水合物、醇合物等。

选择和制备药物可接受的盐和溶剂化物等是本领域公知技术。

25 根据具体剂型和施用方式，所述药物组合物中的药学上可接受的辅料可以包括下述的一种或多种：稀释剂、增溶剂、崩解剂、悬浮剂、润滑剂、粘合剂、填充剂、矫味剂、甜味剂、抗氧化剂、表面活性剂、防腐剂、包裹剂、和色素等。

30 所述药物组合物可以为临床施用的任何剂型，例如片剂、栓剂、分散片、肠溶片、咀嚼片、口崩片、胶囊、糖衣剂、颗粒剂、干粉剂、口服溶液剂、注射用小针、注射用冻干粉针或大输液。

优选地，本发明提供的药物组合物经胃肠外输注、局部施用或口服施

用。进一步优选经胃肠外输注施用，例如采用静脉点滴、静脉注射和肌肉注射施用。

又一方面，本发明提供上述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或上述药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗由病毒引起的感染；优选地，所述病毒为流行性感冒病毒。

并且，本发明还提供上述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或所述药物组合物在制备神经氨酸苷酶抑制剂类药物中的用途。

还一方面，本发明提供一种用于治疗、预防或延缓由病毒引起的感染的方法，所述方法包括给予有治疗需要的患者治疗有效量的上述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或上述药物组合物。其中所述病毒为流行性感冒病毒。并且，本发明提供的上述化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或者本发明提供的药物组合物可以与其它疗法或治疗剂共同施用。施用方式可以为同时、顺序或以一定时间间隔进行。

实施治疗、预防或延缓等作用所需的化合物或药物组合物的剂量通常取决于施用的具体化合物、患者、具体疾病或病症及其严重程度、给药途径和频率等，并且需要由主治医师根据具体情况判定。例如，在通过经静脉途径施用本发明提供的化合物或药物组合物时，可以每周一次甚至以更长时间间隔进行施用。

综上所述，本发明提供了一种新型化合物，所述化合物可作为具有神经氨酸苷酶抑制剂活性的化合物（具体为化合物 1）的前药。实验证明，本发明的化合物通过酶促和/或非酶促机制，可以产生具有活性的神经氨酸苷酶抑制剂。并且可以将该抑制剂即化合物 1 在动物体内的半衰期提高到大于 20 小时。因此本发明的化合物适合制成多种剂型的药物，以广泛用于治疗季节性流感、禽流感、猪流感以及对达菲有耐药性的流感病毒突变株。

## 附图说明

以下，结合附图来详细说明本发明的实施例：

图 1 为实施例 10 中化合物 I2 的药代动力学实验结果。



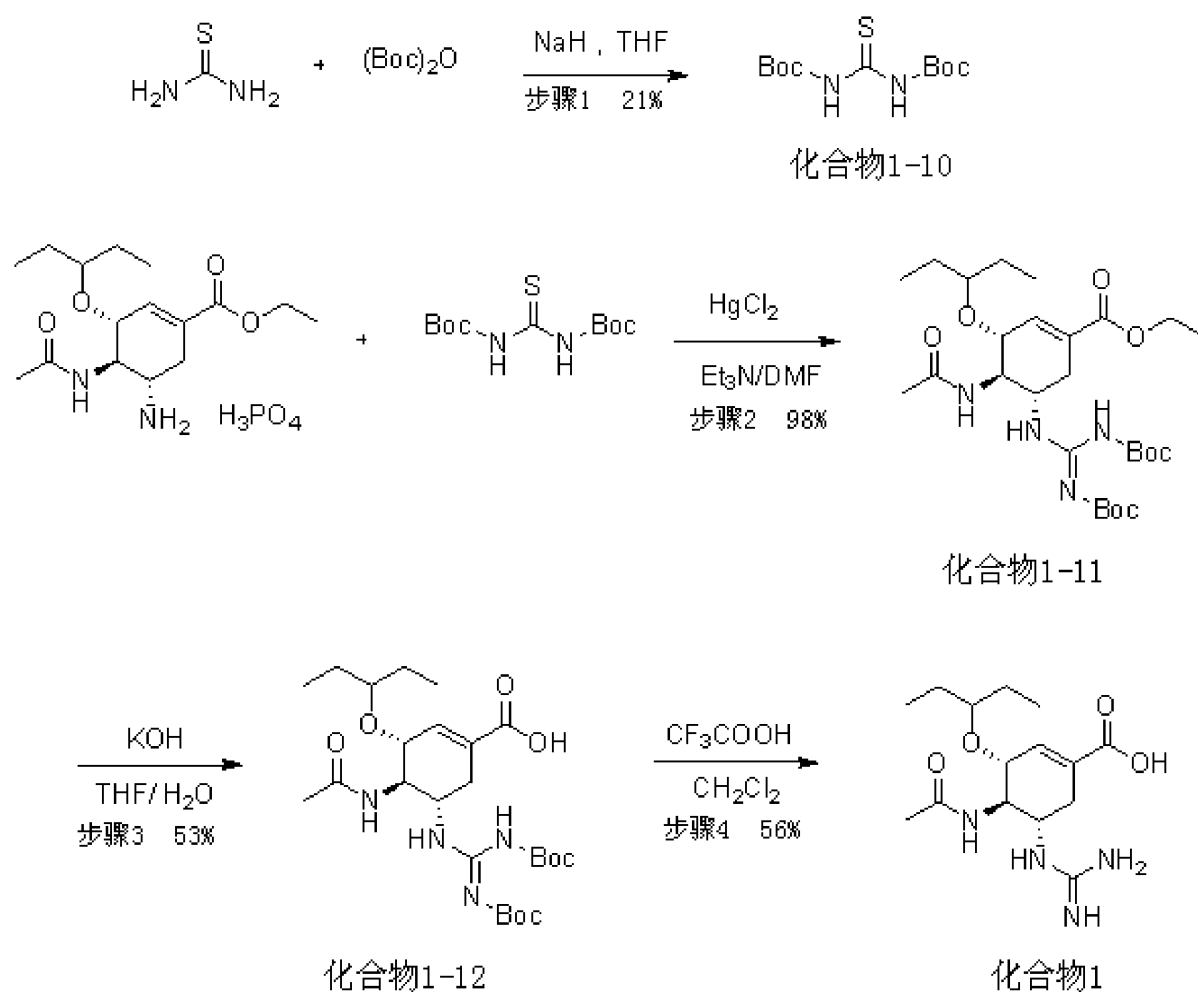
## 实施发明的最佳方式

下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述，给出的实施例仅为了阐明本发明，而不是为了限制本发明的范围。

下述实施例中的实验方法，如无特殊说明，均为常规方法。下述实施例中5 所用的药材原料、试剂材料等，如无特殊说明，均可自常规生化试剂商店或药品经营企业购买得到。

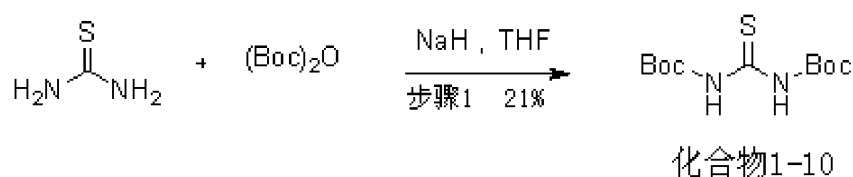
## 实施例 1: 化合物 1 的制备

### 合成方案



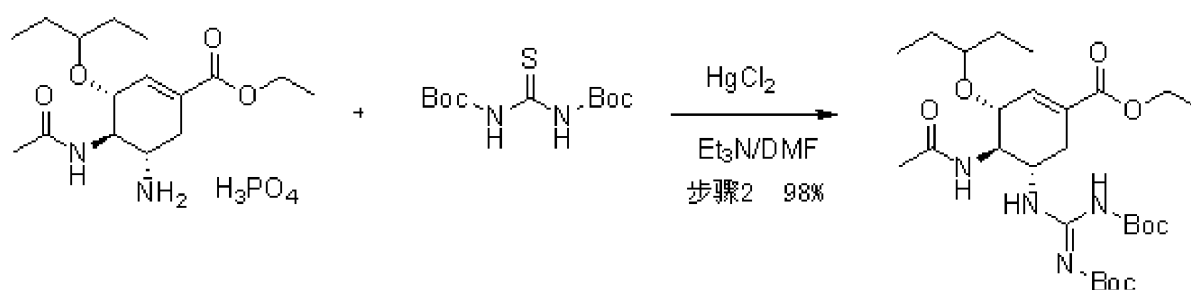
10

### 1. 化合物 1-10 的合成



向 250-mL 3 颈圆底烧瓶中加入硫脲(2 g, 26.27 mmol, 1.00 当量)在四氢呋喃(50 mL)中的溶液, 然后在-10-0°C 和搅拌下分若干批加入 NaH (60%) (2.3 g)。在-10-0°C 下搅拌所得溶液 1 小时。在 0°C 和搅拌下向其中逐滴加入二碳酸二叔丁酯(12.6 g, 57.73 mmol, 2.20 当量)在四氢呋喃(50 mL)中的溶液。在  
 5 室温下搅拌所得溶液过夜, 通过加入 100 mL 水淬灭反应, 然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥合并的有机层, 然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物, 用乙酸乙酯: 石油醚(1:5-1:2)洗脱, 得到 1.5 g (21%)叔丁基 N-([[(叔丁氧基)羰基]氨基]硫代亚甲基)氨基甲酸酯 (tert-butyl N-([[(tert-butoxy)carbonyl]amino]methanethioyl)carbamate), 为白色固体。

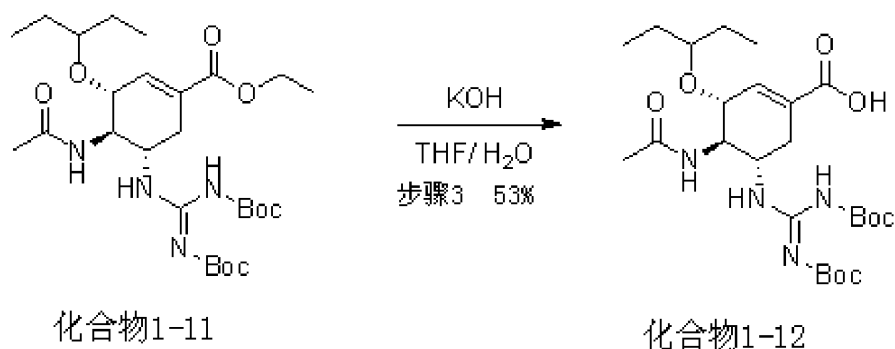
## 10 2. 化合物 1-11 的合成



化合物1-11

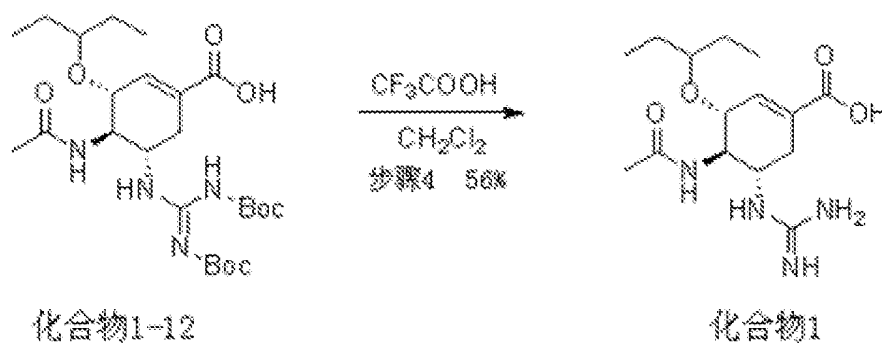
向 50-mL 3 颈圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-氨基-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯磷酸(680 mg, 1.66 mmol, 1.00 当量)在 N,N-二甲基甲酰胺(20 mL)中的溶液、叔丁基 N-([[(叔丁氧基)羰基]氨基]硫代亚甲基)氨基  
 15 甲酸酯(500 mg, 1.81 mmol, 1.10 当量)、三乙胺(700 mg, 6.92 mmol, 4.16 当量), 然后在室温下分若干批加入 HgCl<sub>2</sub> (0.54 g, 1.20 当量)。在室温下搅拌所得溶液过夜。滤出固体。用 50 mL H<sub>2</sub>O 稀释滤液, 然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥合并的有机层, 然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物, 用乙酸乙酯: 石油醚(1:3)洗脱, 得到 0.9 g (98%)  
 20 (3R,4R,5S)-5-[(1Z)-[[(叔丁氧基)羰基]氨基]([[(叔丁氧基)羰基]亚氨基))甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯, 为白色固体。

## 3. 化合物 1-12 的合成



向 100-mL 3 颈圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[叔丁氧基]羰基]氨基][[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(500 mg, 0.90 mmol, 1.00 当量)、四氢呋喃(25 mL)、水(25 mL)、和氢氧化钾(500 mg, 8.91 mmol, 9.89 当量)。在 40℃ 下搅拌所得溶液过夜，然后冷却。用乙酸将溶液的 pH 值调节为 6，然后在真空下浓缩所得混合物以去除 THF。通过过滤收集固体，得到 250 mg (53%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[叔丁氧基]羰基]氨基][[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸，为白色固体。

#### 4. 化合物 1 的合成



向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[叔丁氧基]羰基]氨基][[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸(200 mg, 0.38 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液和 CF<sub>3</sub>COOH (0.5 mL)。在 40℃ 下搅拌所得溶液过夜，冷却，用 100 mL 碳酸氢钠/H<sub>2</sub>O 洗涤，经无水硫酸钠干燥，然后在真空下浓缩，得到 70 mg (56%) (3R,4R,5S)-5-甲脒-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸，为白色固体。

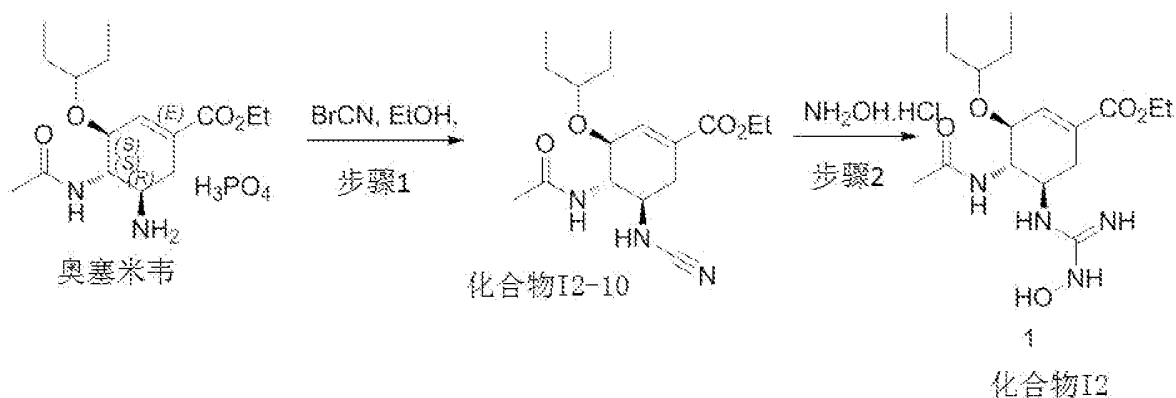
LC-MS-PH-GRM-1101-1-0 (ES, m/z): 327 [M+1]<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR-PH-GRM-1101-1-0 (300MHz, DMSO, ppm): 8.22 (s, 1H), 7.83 (m,

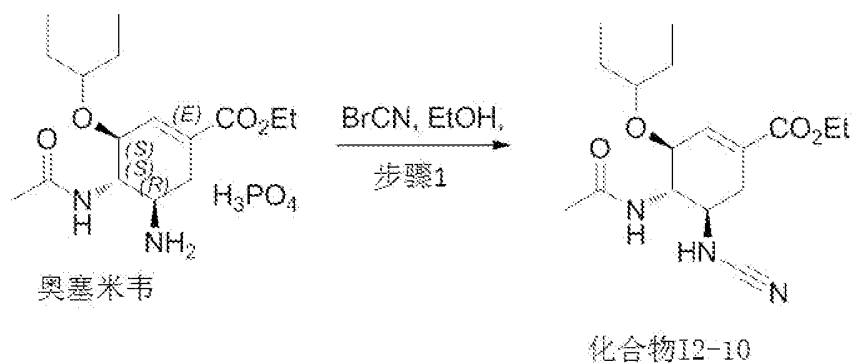
4H), 6.35 (1H, s), 4.05 (s, 1H), 3.66 (2H, s), 2.66 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.39 (m, 4H), 0.76 (m, 6H).

## 实施例 2: 化合物 I2 的制备

### 5 合成方案

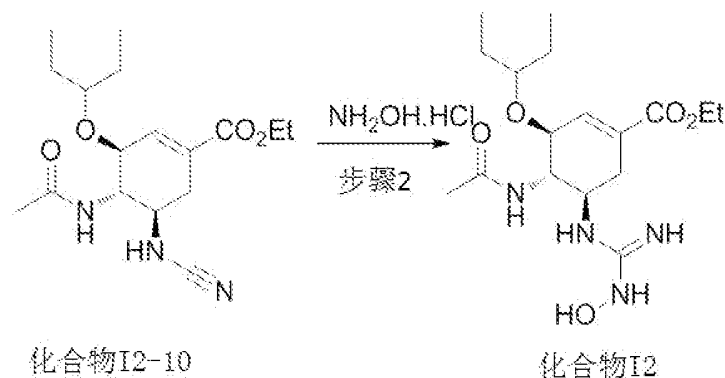


### 1. 化合物 I2-10 的合成



向奥塞米韦(4.1 g, 10 mmol, 1.0 eq)和  $\text{Et}_3\text{N}$  (6.1 g, 60 mmol, 6.0 eq)在  
 10 EtOH (10 mL)中的混合物中加入 BrCN (1.1 g, 10 mmol)。然后在室温下搅拌混合物过夜。TLC 和 LCMS 显示反应完全。向所得混合物中加入盐水(50 mL)。在真空下浓缩该混合物,以去除 EtOH,然后用 DCM (50 mL x3)提取残余物。用盐水(50 mL)洗涤提取物,经  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥,然后浓缩得到粗产物(3.9 g),为黄色的油。无需纯化,将该残余物用于下一步骤。

### 15 2. 化合物 I2 的合成



向化合物 I2-10 (9 g)和 Et<sub>3</sub>N (8.1 g, 80.02mmol, 3.0 eq)在 EtOH (300 mL)中的溶液中加入 NH<sub>2</sub>OH·HCl (11 g, 80.02mmol, 3.0 eq)。在室温下搅拌混合物 24 小时。在真空下浓缩该反应混合物，以去除 EtOH。用 EtOAc (250 mL)稀  
 5 释残余物。用水和盐水（各 40 mL）洗涤该混合物，然后经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。蒸发溶液，以去除大多数 EtOAc 溶剂。使剩余过饱和溶液静置 10-20 分钟。沉淀出大量白色固体，然后过滤所得固体。干燥滤饼，然后从丙酮中重结晶，得到化合物 I2（6.0 g，2 步产率：66%），为白色固体。

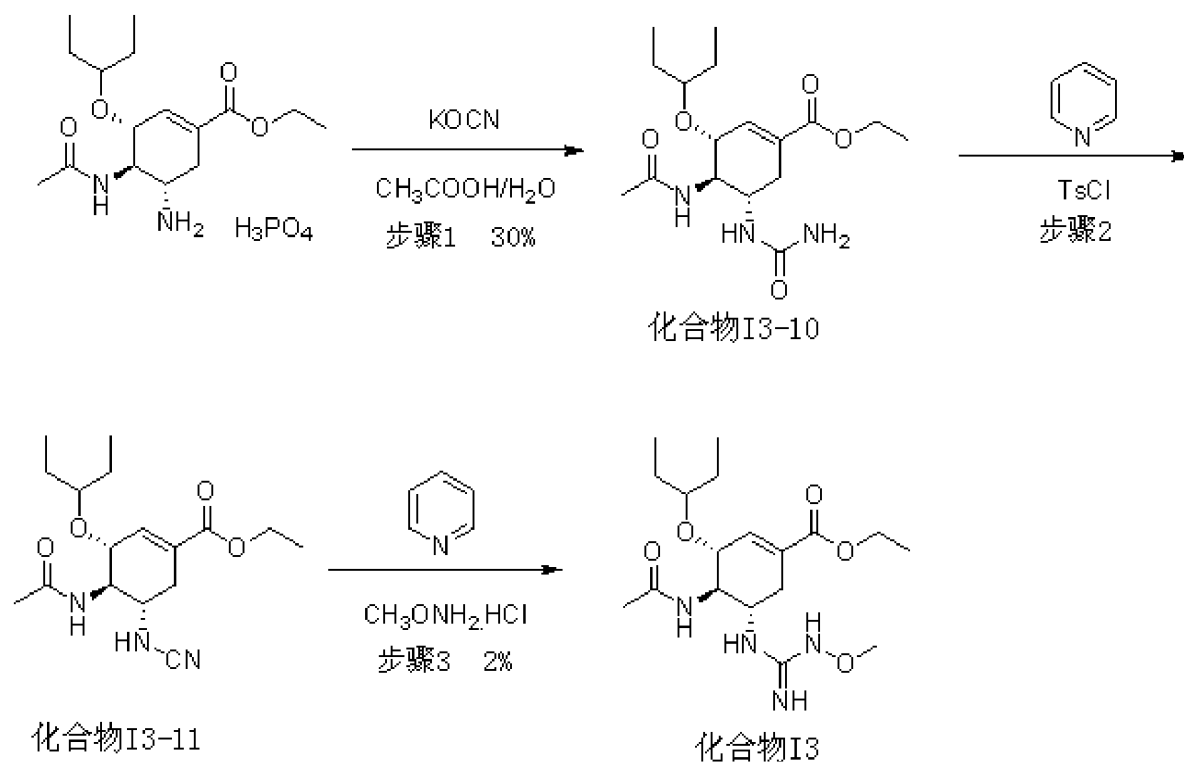
<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ 6.87 (brs, 1H), 4.22-4.31 (m, 3H), 3.94-4.03 (m,  
 10 2H), 3.44-3.51 (m, 1H), 2.84 (dd, J = 17.6, 4.4 Hz, 1H), 2.43-2.49 (m, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.50-1.63 (m, 4H), 1.32 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.90-0.98 (m, 6H)

（全部“NH”、“OH”和“NH<sub>2</sub>”均未检测到）

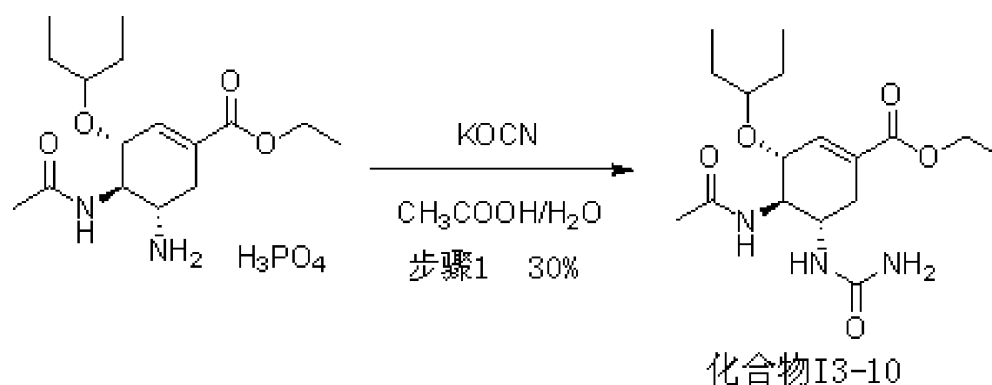
LC-MS: m/z 371.2 [M+1]<sup>+</sup>.

### 15 实施例 3: 化合物 I3 的制备

#### 合成方案

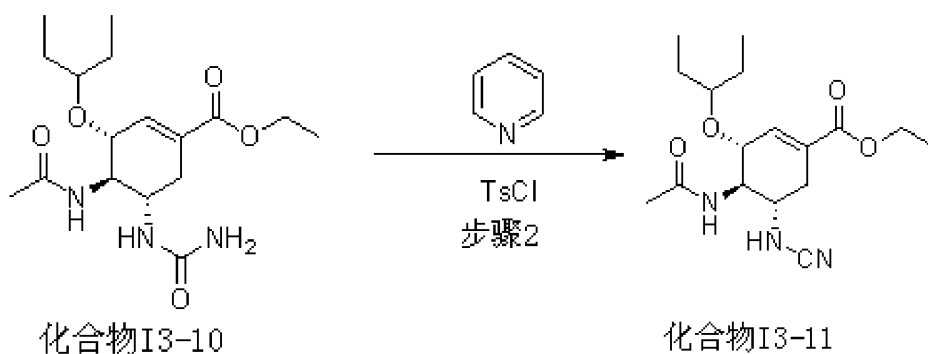


### 1. 化合物 I3-10 的合成



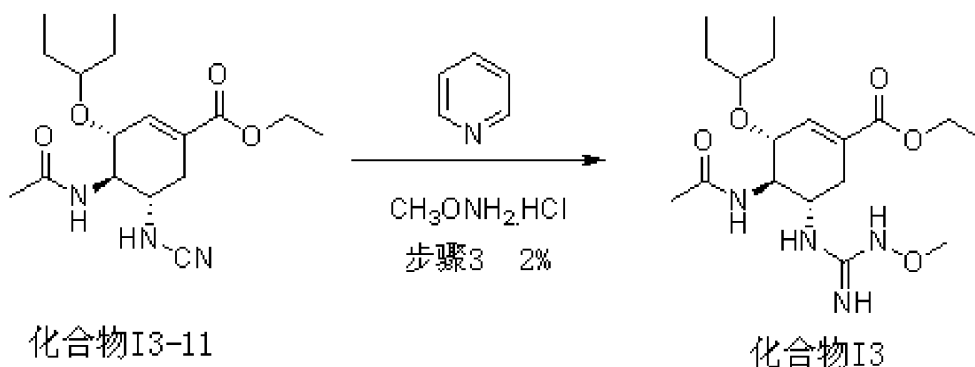
向 250-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-氨基-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(5 g, 16.00 mmol, 1.00 当量)、KOCN (4 g)、乙酸(50 mL)、和水(50 mL)。在 50℃ 搅拌所得溶液过夜，在真空下浓缩，然后用 100 mL H<sub>2</sub>O 稀释。通过过滤收集固体，得到 1.7 g (30%) (3R,4R,5S)-5-(氨基甲基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为白色固体。

### 2. 化合物 I3-11 的合成



向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-(氨基甲酰基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(500 mg, 1.41 mmol, 1.00 当量)在吡啶(10 mL)中的溶液和 TsCl (1 g, 5.25 mmol, 3.73 当量)。在室温下搅拌所得溶液过夜，  
5 然后直接用于下一步骤。

### 3. 化合物 I3 的合成



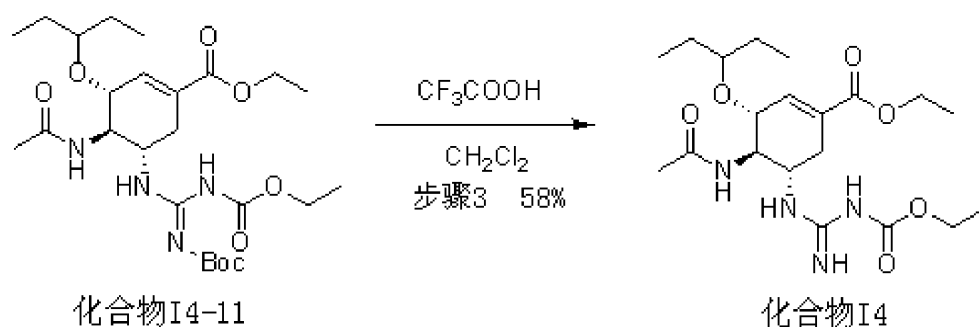
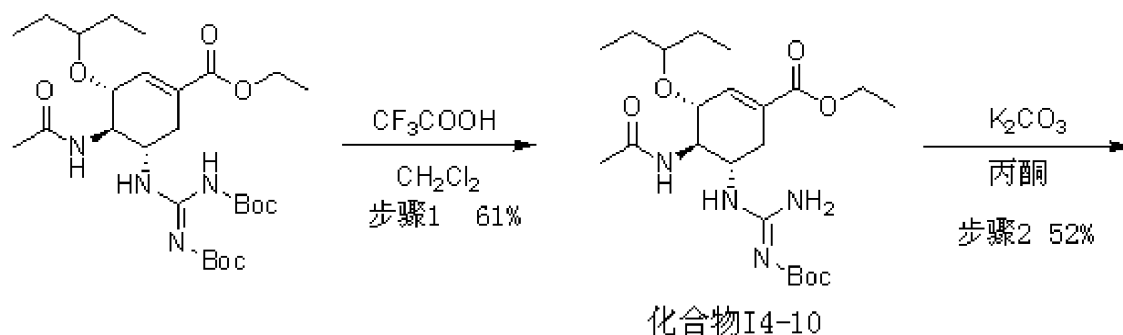
将 CH<sub>3</sub>ONH<sub>2</sub>.HCl (250 mg)加入到(3R,4R,5S)-5-(氨基甲酰基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯在吡啶(10 mL)中的溶液中。在室温下  
10 搅拌所得溶液过夜，然后在真空下浓缩。用 100 mL 乙酸乙酯稀释残余物，  
用 100mlx2 水洗涤，经无水硫酸钠干燥，然后在真空下浓缩。通过 Prep-HPLC  
纯化粗产物，得到 22 mg (2%) (3R,4R,5S)-4-乙酰氨基-5-(1-甲氧基甲脒)-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为白色固体。

LC-MS-PH-GRM-1101-3-0 (ES, m/z): 385 [M+1]<sup>+</sup>

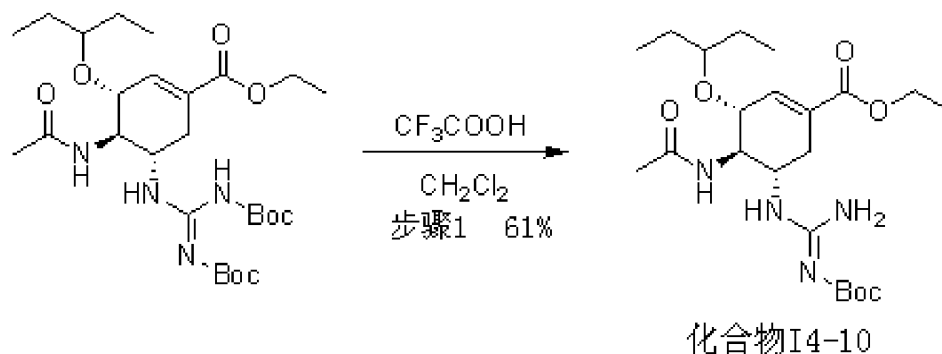
15 H-NMR-PH-GRM-1101-3-0 (300MHz, DMSO, ppm): 7.78 (d, 1H), 6.63 (s, 1H), 5.05 (s, 1H), 4.13 (m, 2H), 4.01 (m, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.43 (m, 4H), 2.80 (m, 1H), 2.03 (1H, s), 1.82 (3H, s), 1.42 (m, 4H), 1.24(m, 3H), 0.80 (m, 6H).

### 实施例 4: 化合物 I4 的制备

20 合成方案



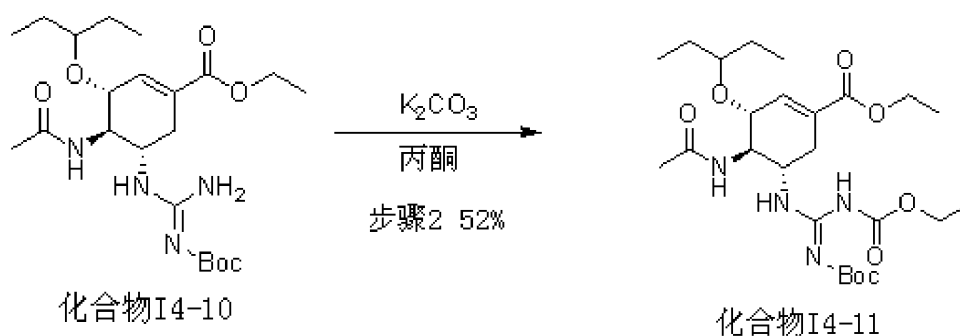
### 1. 化合物 I4-10 的合成



- 5 向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-[(叔丁氧基)羰基]氨基]([[(叔丁氧基)羰基]亚氨基))甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(200 mg, 0.36 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液和  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (0.2 mL)。在室温下搅拌所得溶液过夜，然后用 50 mL 碳酸氢钠/ $\text{H}_2\text{O}$  洗涤。经无水硫酸钠干燥有机层，然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物，用乙酸乙酯：石油醚(1:5-2:1)洗脱，得到 100 mg (61%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-氨基([[(叔丁氧基)羰基]亚氨基))甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为白色固体。

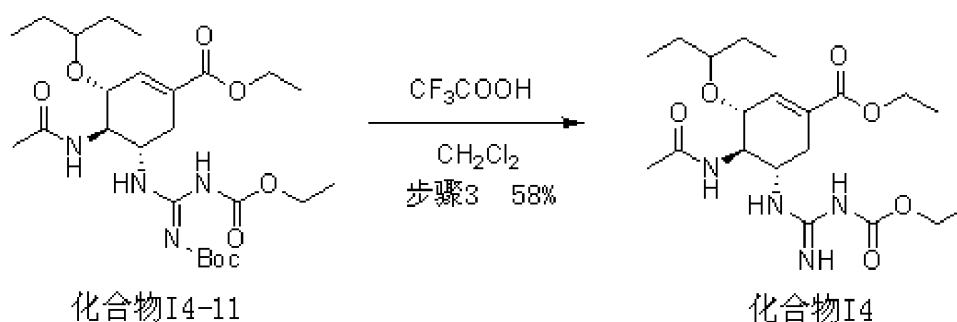
### 2. 化合物 I4-11 的合成





向 100-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-氨基[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(500 mg, 1.10 mmol, 1.00 当量)在丙酮(50 mL)中的溶液、碳酸钾(400 mg, 2.89 mmol, 2.63 当量)、和氯代(乙氧基)甲酮(170 mg, 1.57 mmol, 1.42 当量)。在室温下搅拌所得溶液 3 小时，用 100 mL H<sub>2</sub>O 稀释，然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥合并的有机层，然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物，用乙酸乙酯：石油醚(1:5-1:1)洗脱，得到 300 mg (52%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]](乙氧基羰基)氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为白色固体。

### 3. 化合物 I4 的合成



向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]](乙氧基羰基)氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(300 mg, 0.57 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液和 CF<sub>3</sub>COOH (0.5 mL)。在 40℃ 下搅拌所得溶液 24 小时，冷却，然后用 50 mL 碳酸氢钠/H<sub>2</sub>O 洗涤。经无水硫酸钠干燥有机层，然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物，用乙酸乙酯：石油醚(1:5-1:3)洗脱，得到 140 mg (58%) (3R,4R,5S)-4-乙酰氨基-5-[[[(乙氧基羰基)氨基]甲亚胺酰基]氨基]-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为无色固体。

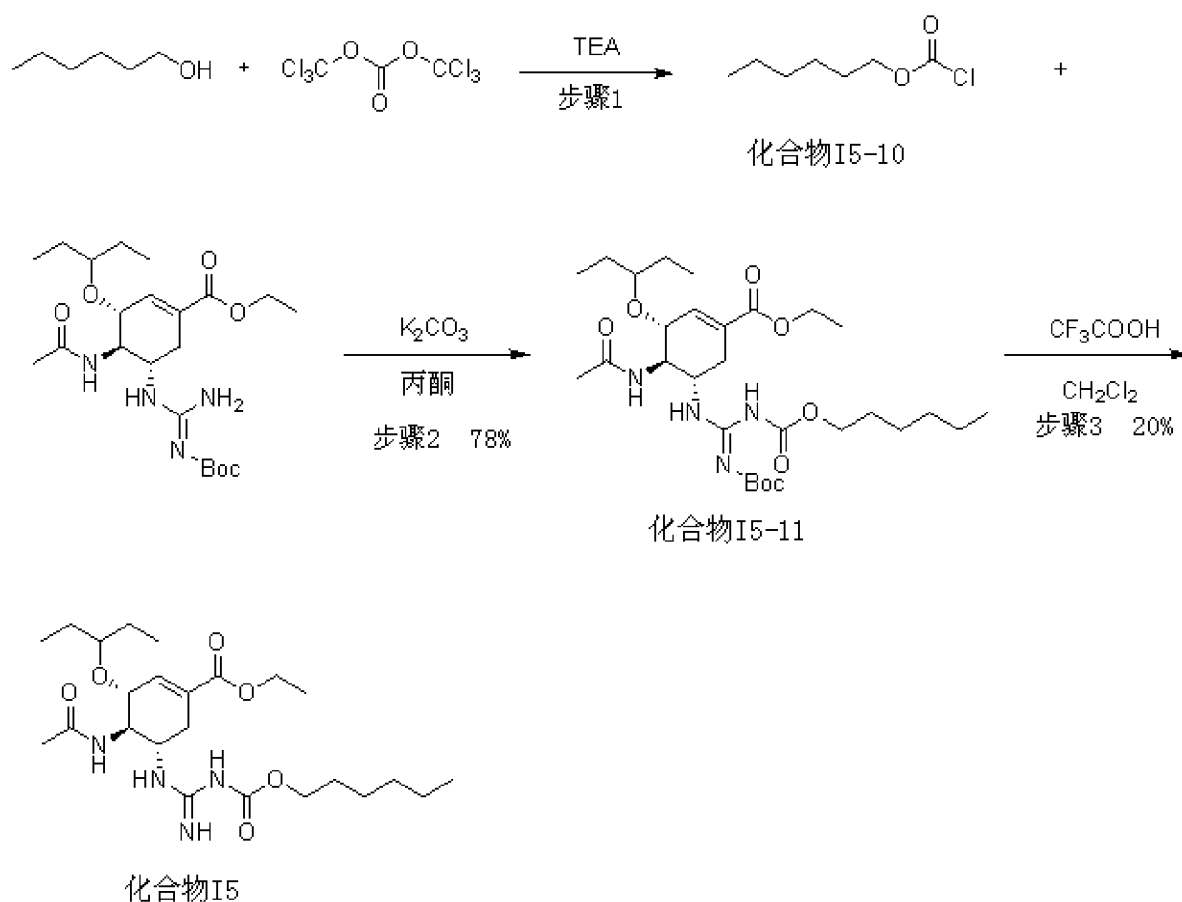
LC-MS-PH-GRM-1101-5-0 (ES, m/z): 427[M+1]<sup>+</sup>

H-NMR-PH-GRM-1101-5-0 (300MHz, DMSO, ppm): 7.88 (d, 1H), 7.41 (s, 2H), 6.68 (s, 1H), 6.25 (s, 1H), 4.20 (m, 4H), 3.94 (m, 3H), 3.42 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 2.10 (s, 1H), 1.82 (s, 3H), 1.50 (m, 4H), 1.10 (m, 6H), 0.70 (m, 6H).

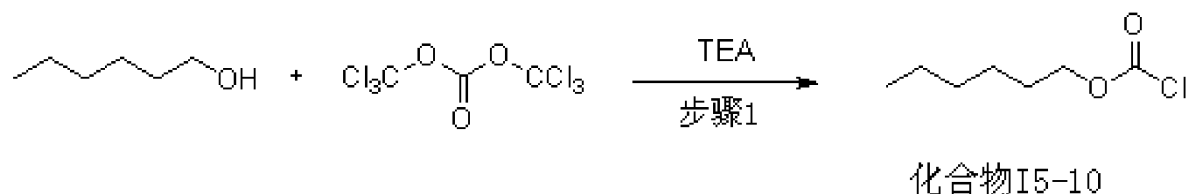
5

### 实施例 5: 化合物 I5 的制备

#### 合成方案



#### 1. 化合物 I5-10 的合成

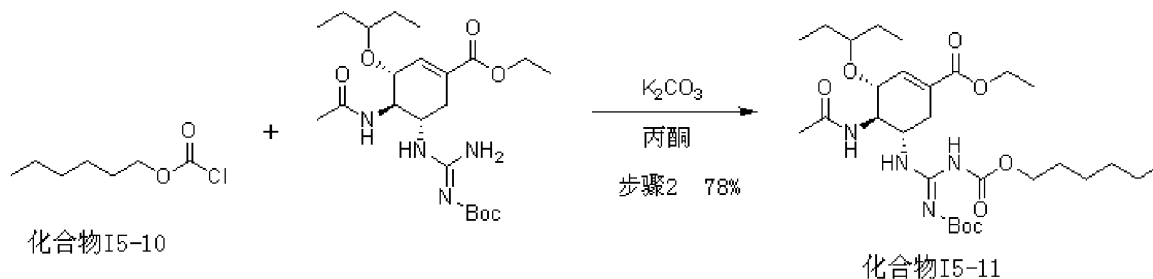


10

向 50-mL 3 颈圆底烧瓶中加入碳酸二氯三氯甲酯(2.9 g, 9.77 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液, 三乙胺(2 g, 19.76 mmol, 2.02 当量), 然后在 0-10°C 和搅拌下逐滴加入己-1-醇(1 g, 9.79 mmol, 1.00 当量)。在 0-10

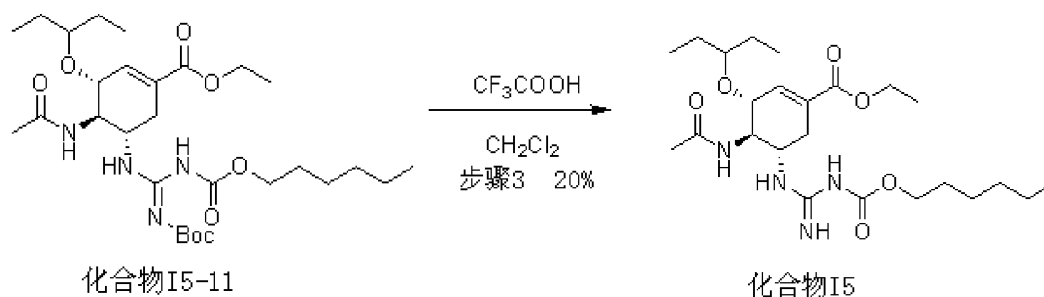
℃下搅拌所得溶液 2 小时, 然后在真空下浓缩, 得到 2 g 粗氯代(己氧基)甲酮, 为黄色固体。

## 2. 化合物 I5-11 的合成



- 5 向 100-mL 3 颈圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-氨基[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯 (300 mg, 0.66 mmol, 1.00 当量)在丙酮(50 mL)中的溶液、碳酸钾(240 mg, 1.74 mol, 2631.13 当量)、和氯甲酸己酯(163 mg, 0.99 mmol, 1.50 当量)。在室温下搅拌所得溶液 3 小时,用 100 mL H<sub>2</sub>O 洗涤,然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。
- 10 经无水硫酸钠干燥合并的有机层,然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物,用乙酸乙酯:石油醚(1:5-1:1)洗脱,得到 300 mg (78%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]][(己氧基)羰基]氨基]]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯,为白色固体。

## 3. 化合物 I5 的合成



15

- 向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]][(己氧基)羰基]氨基]]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(300 mg, 0.51 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(30 mL)中的溶液和 CF<sub>3</sub>COOH (0.5 mL)。在 40℃下搅拌所得溶液过夜,冷却,然后用 100 mL 碳酸氢钠/H<sub>2</sub>O 洗涤。经无水硫酸钠干燥有机层,然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物,用乙酸乙酯:石油醚(1:5-1:1)洗脱,得到 50 mg (20%) (3R,4R,5S)-4-乙酰氨基-5-[[[(己氧基)羰基]氨基]]甲亚胺酰基]氨基]-3-(戊-3-

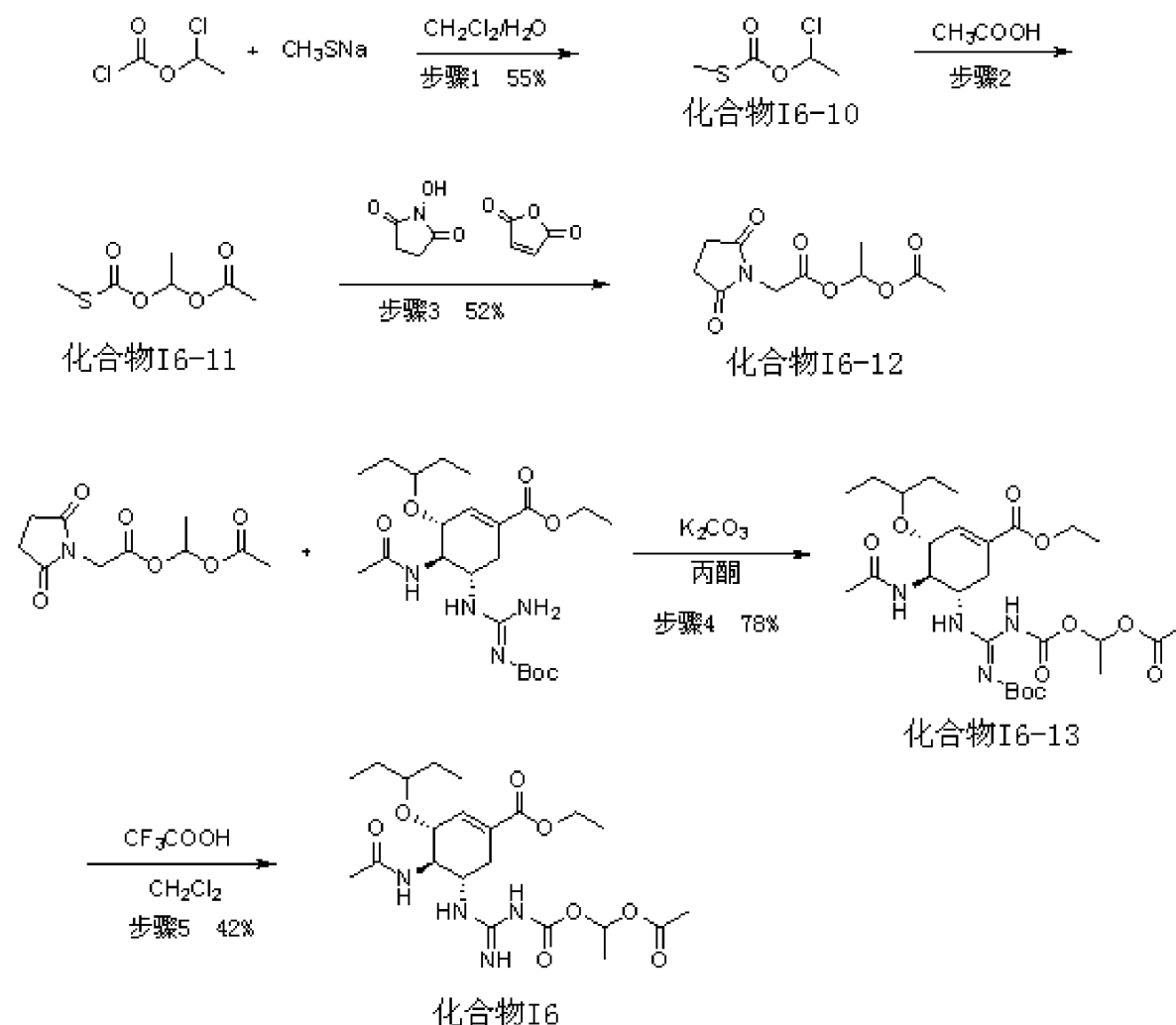
基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯, 为白色固体。

LC-MS-PH-GRM-1101-6-0 (ES, m/z): 483[M+1]<sup>+</sup>

H-NMR-PH-GRM-1101-6-0 (300MHz, DMSO, ppm): 7.86 (d, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.16 (m, 4H), 3.85 (m, 4 H), 3.40 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 2.09 (s, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.45 (m, 6H), 1.20 (m, 9H), 0.84 (m, 9H).

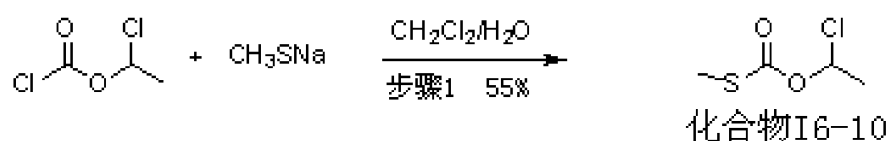
## 实施例 6: 化合物 I6 的合成

### 合成方案



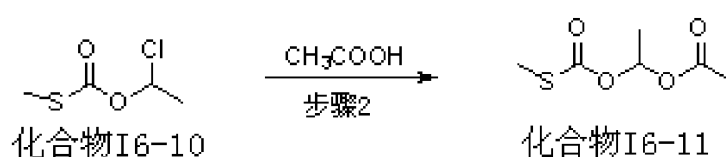
10

### 1. 化合物 I6-10 的合成



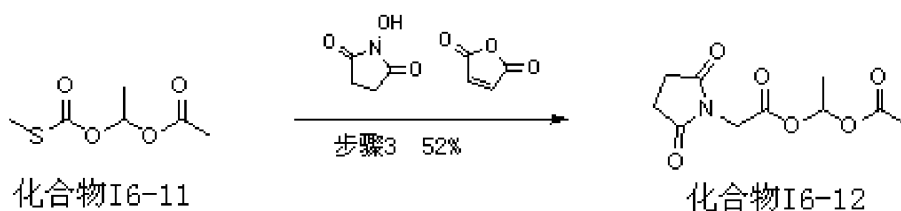
向 100-mL 圆底烧瓶中加入氯代(1-氯代乙氧基)甲酮(10 g, 69.95 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液、TBAB (500 mg, 1.55 mmol, 0.02 当量), 然后在<25℃和搅拌下逐滴加入(甲基硫烷基)钠(5.6 g, 79.90 mmol, 1.14 当量)在水(25 mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液 3 小时。经无水硫酸钠干燥有机层, 然后在真空下浓缩。通过在减压下(30 mm Hg)蒸馏纯化粗产物, 在 90℃下收集级份, 得到 6 g (55%) (1-氯代乙氧基)(甲基硫烷基)甲酮, 为无色的油。

## 2. 化合物 I6-11 的合成



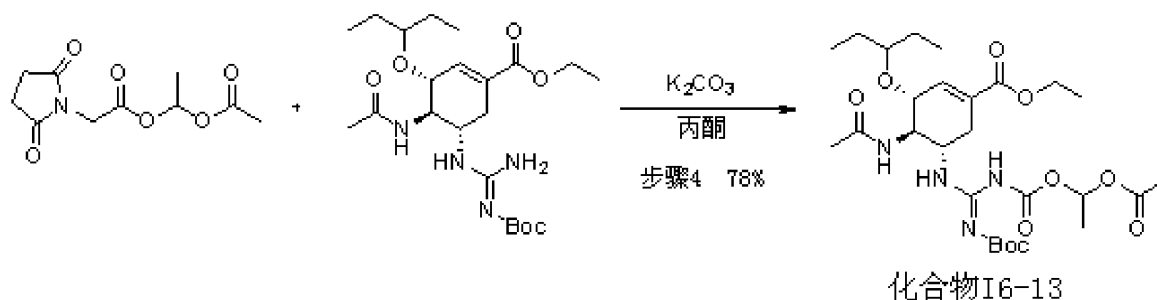
向 50-mL 圆底烧瓶中加入 DIPEA (3.7 g), 然后在 15℃和搅拌下逐滴加入乙酸(1.7 g, 28.31 mmol, 1.46 当量)。在<10℃和搅拌下向其中逐滴加入(1-氯代乙氧基)(甲基硫烷基)甲酮(3 g, 19.40 mmol, 1.00 当量)在乙酸(2 mL)中的溶液。在 50℃下搅拌所得溶液过夜, 冷却, 用 100 mL H<sub>2</sub>O 稀释, 然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥合并的有机层, 然后在真空下浓缩, 得到 3.5 g 粗 1-[(甲基硫烷基)羰基]氧基]乙酸乙酯, 为无色粗油。

## 3. 化合物 I6-12 的合成



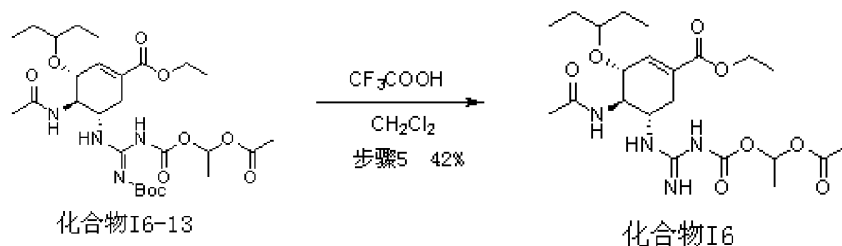
向 250-mL 3 颈圆底烧瓶中加入 1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(2.7 g, 23.46 mmol, 1.19 当量)、UHP (9.2 g)、二氯甲烷(100 mL)、和 2,5-二氢吡喃-2,5-二酮(5.8 g, 59.15 mmol, 3.01 当量)。在室温下搅拌所得溶液 30 分钟。向混合物中加入 1-[(甲基硫烷基)羰基]氧基]乙酸乙酯(3.5 g, 19.64 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(10 mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液过夜, 用 2x100 mL H<sub>2</sub>O 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 然后在真空下浓缩, 得到 2.5 g (52%) 1-[(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基]羰基]氧基)乙酸乙酯, 为浅黄色的油。

## 4. 化合物 I6-13 的合成



向 250-mL 圆底烧瓶中加入 1-([(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基]羰基]氧基)乙酸乙酯(1.2 g, 4.89 mmol, 1.11 当量)在 CH<sub>3</sub>CN (20 mL)中的溶液、  
 (3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-氨基([[(叔丁氧基)羰基]亚氨基])甲基]氨基]-4-乙酰氨基  
 5 -3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(2 g, 4.40 mmol, 1.00 当量)、和碳酸氢  
 钠(1.2 g, 14.28 mmol, 3.25 当量)在水(50 mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶  
 液过夜,用 50 mL H<sub>2</sub>O 稀释,然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸  
 钠干燥合并的有机层,然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物,用乙酸  
 乙酯:石油醚(1:2-1:1)洗脱,得到 2 g (78%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[1-(乙酰基  
 10 氧基)乙氧基]羰基]氨基)([[(叔丁氧基)羰基]亚氨基])甲基]氨基]-4-乙酰氨基  
 -3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯,为白色固体。

### 5. 化合物 I6 的合成



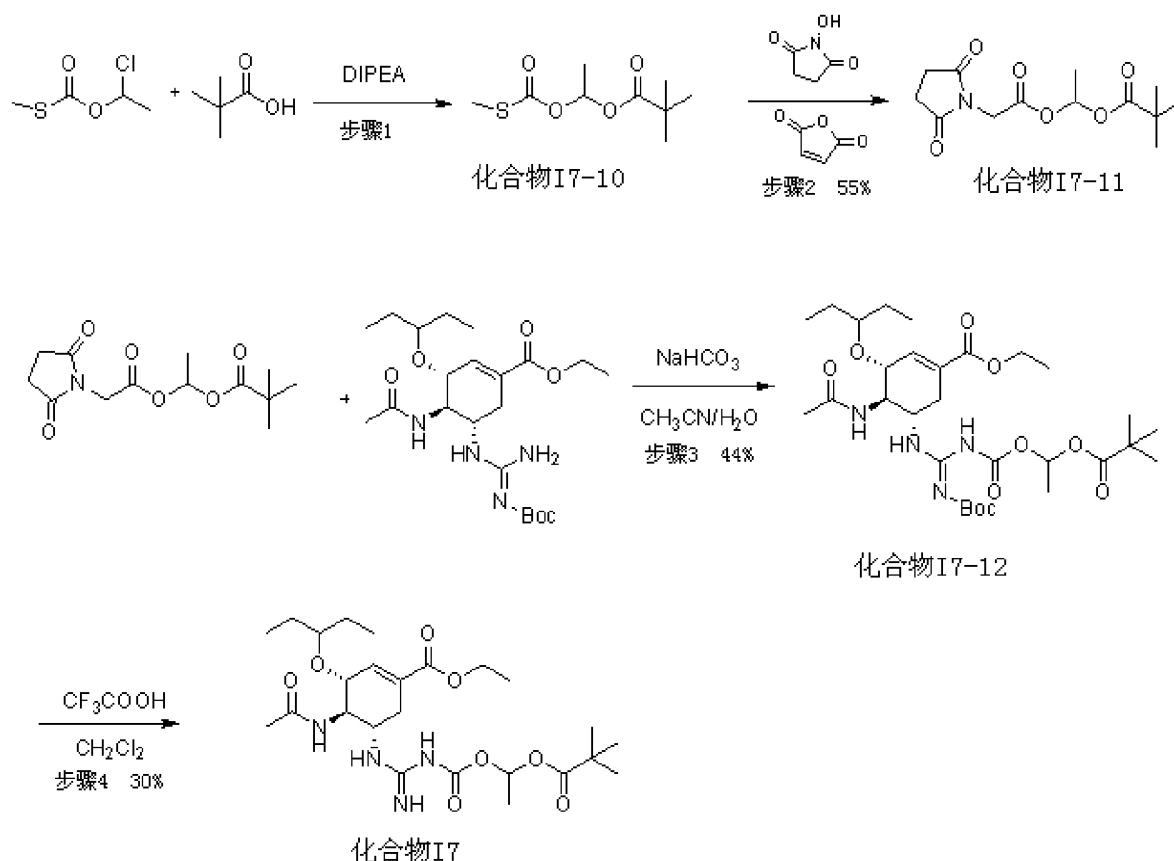
向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-[[1-(乙酰基氧基)乙氧基]  
 15 羰基]氨基)([[(叔丁氧基)羰基]亚氨基])甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧  
 基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(1 g, 1.71 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(30 mL)中的  
 溶液和 CF<sub>3</sub>COOH (1 mL)。将所得溶液加热至回流过夜,冷却,然后用 2x50  
 mL 碳酸氢钠/H<sub>2</sub>O 洗涤。经无水硫酸钠干燥有机层,然后浓缩。在硅胶柱上  
 纯化残余物,用乙酸乙酯:石油醚(1:1-2:1)洗脱,得到 350 mg (42%)  
 20 (3R,4R,5S)-5-[[[1-(乙酰基氧基)乙氧基]羰基]氨基]甲亚胺酰基]氨基]-4-乙酰  
 氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯,为白色固体。

LC-MS-PH-GRM-1101-7-0 (ES, m/z): 485[M+1]<sup>+</sup>

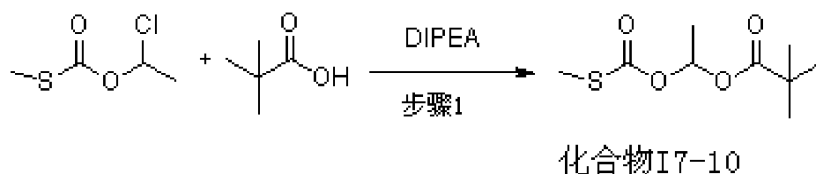
H-NMR-PH-GRM-1101-7-0 (300MHz, DMSO, ppm): 7.87 (m, 1H), 6.67 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 4.16 (m, 2H), 4.06 (m, 2H), 3.80 (m, 1H), 3.39 (m, 1H), 2.61 (m, 1H), 2.07 (d, 3H), 1.81 (3H, s), 1.41 (m, 6H), 1.23 (m, 3H), 0.85 (m, 6H).

## 5 实施例 7: 化合物 I7 的合成

### 合成方案



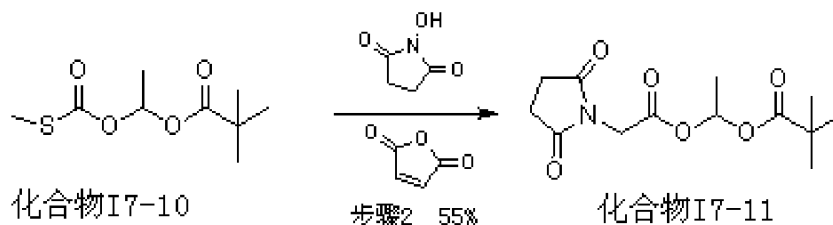
### 1. 化合物 I7-10 的合成



- 10 向 50-mL 圆底烧瓶中加入 DIPEA (3.7 g)，然后在 15℃ 和搅拌下逐滴加入 2,2-二甲基丙酸 (2.9 g, 28.39 mmol, 1.46 当量)。在室温和搅拌下向其中逐滴加入 (1-氯代乙氧基)(甲基硫烷基)甲酮 (3 g, 19.40 mmol, 1.00 当量) 在新戊酸 (2 mL) 中的溶液。在 55℃ 下搅拌所得溶液过夜，冷却，然后用 100 mL  $\text{H}_2\text{O}$  稀释。用碳酸氢钠将溶液的 pH 值调节为 7，然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取

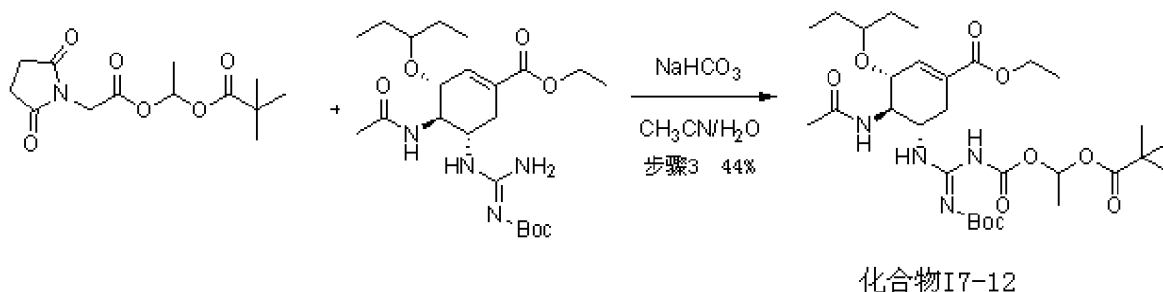
所得溶液。经无水硫酸钠干燥合并的有机层，然后在真空下浓缩，得到 5.1 g 粗 2,2-二甲基丙酸 1-[[[(甲基硫烷基)羰基]氧基]乙酯，为无色粗油。

## 2. 化合物 I7-11 的合成



- 5            向 250-mL 圆底烧瓶中加入 1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(3.1 g, 26.94 mmol, 1.19 当量)在二氯甲烷(150 mL)中的溶液、UHP (11 g)、和 2,5-二氢呋喃-2,5-二酮(7 g, 71.39 mmol, 3.15 当量)。在室温下搅拌所得溶液 30 分钟。向混合物中加入 2,2-二甲基丙酸 1-[[[(甲基硫烷基)羰基]氧基]乙酯(5 g, 22.70 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(15 mL)中的溶液。在室温下搅拌所得溶液过夜，用
- 10 2x100 mL H<sub>2</sub>O 洗涤，然后浓缩。在真空炉中干燥固体，得到 3.6 g (55%) 2,2-二甲基丙酸 1-[[[(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基]羰基]氧基)乙酯，为白色固体。

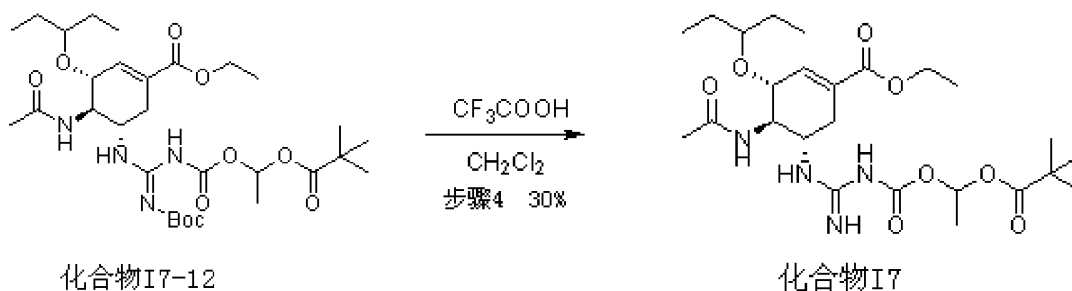
## 3. 化合物 I7-12 的合成



- 15            向 250-mL 圆底烧瓶中加入 2,2-二甲基丙酸 1-[[[(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)氧基]羰基]氧基)乙酯(1.4 g, 4.87 mmol, 1.11 当量)、(3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-氨基[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(2 g, 4.40 mmol, 1.00 当量)、碳酸氢钠(1.2 g, 14.28 mmol, 3.25 当量)、水(60 mL)、和 CH<sub>3</sub>CN (30 mL)。在室温下搅拌所得溶液 4 小时，用 100 mL H<sub>2</sub>O 稀释，然后用 2x100 mL 乙酸乙酯萃取。经无水硫酸钠干燥合并的有机层，然后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物，用乙酸乙酯: 石油醚(1:2-2:1)洗脱，得到 1.2 g (44%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1Z)-[[[(叔丁氧基)羰基]亚氨基]基]基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为白色固体。
- 20



## 4. 化合物 I7 的合成



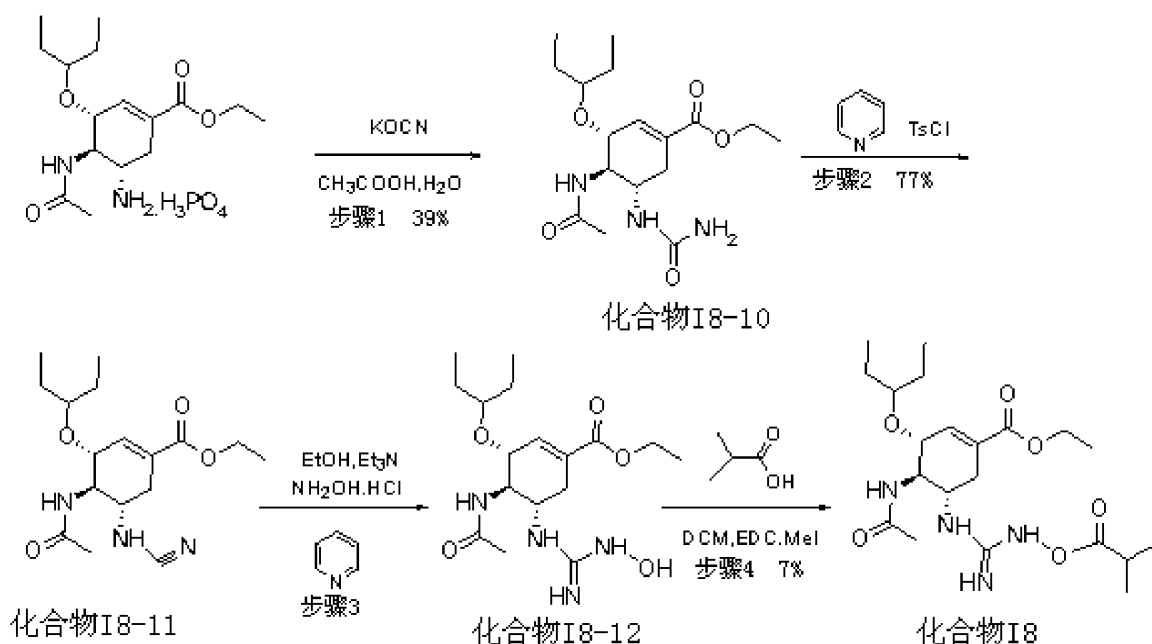
向 50-mL 圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-[[[(1E)-[[叔丁氧基]羰基]亚氨基][[(1-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]乙氧基]羰基)氨基]甲基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(600 mg, 0.96 mmol, 1.00 当量)在二氯甲烷(20 mL)中的溶液和 CF<sub>3</sub>COOH (0.6 mL)。将所得溶液加热至回流过夜，冷却，然后用 2x50 mL 碳酸氢钠/H<sub>2</sub>O 洗涤。经无水硫酸钠干燥有机层，容纳后在真空下浓缩。在硅胶柱上纯化残余物，用乙酸乙酯：石油醚(1:1-2:1)洗脱，得到 150 mg (30%) (3R,4R,5S)-5-[[[(1-[(2,2-二甲基丙酰基)氧基]乙氧基]羰基)氨基]甲亚胺酰基]氨基]-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯，为白色固体。

LC-MS-PH-GRM-1101-8-0 (ES, m/z): 527[M+1]<sup>+</sup>

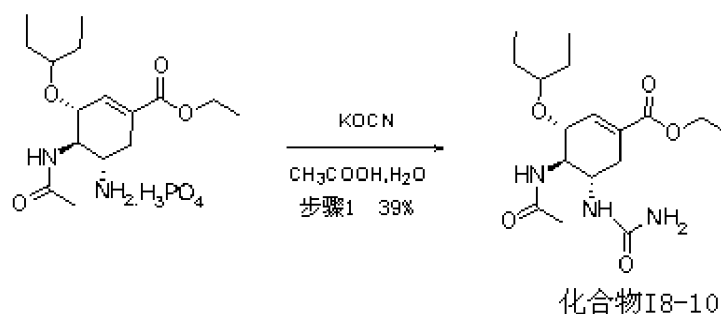
H-NMR-PH-GRM-1101-8-0 (300MHz, DMSO, ppm): 7.87 (s, 1H), 6.69 (d, 2H), 4.17 (m, 4H), 3.84 (s, 1H), 3.41 (s, 1H), 2.67 (m, 1H), 2.10 (s, 1H), 1.80 (s, 3H), 1.46 (m, 7H), 1.24 (m, 4H), 1.18 (s, 9H), 0.82 (m, 6H).

**实施例 8: 化合物 I8 的合成**

## 合成方案

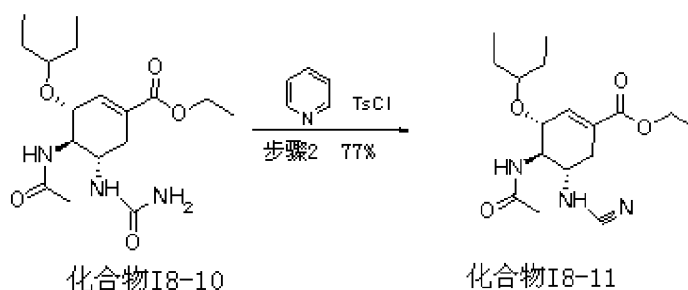


## 1. 化合物 I8-10 的合成



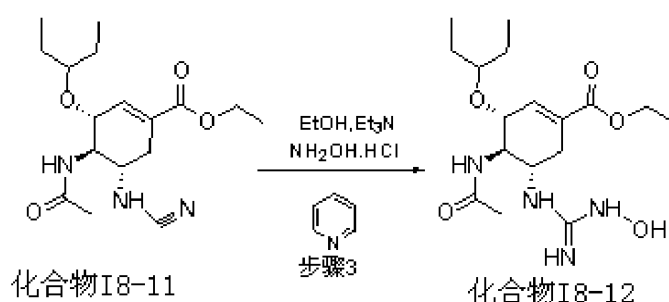
向 500-mL 3 颈圆底烧瓶中加入(3R,4R,5S)-5-氨基-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯磷酸(10 g, 24.37 mmol, 1.00 当量)在乙酸/水(200 mL, 1:1)中的溶液和氰酸钾(8 g, 98.81 mmol, 3.94 当量)。在 50℃下搅拌所得溶液过夜, 在真空下浓缩, 然后用 200 mL 水洗涤。通过过滤收集固体, 然后干燥, 得到 3.4 g (39%) (3R,4R,5S)-5-(氨基甲酰基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯, 为白色固体。

## 2. 化合物 I8-11 的合成



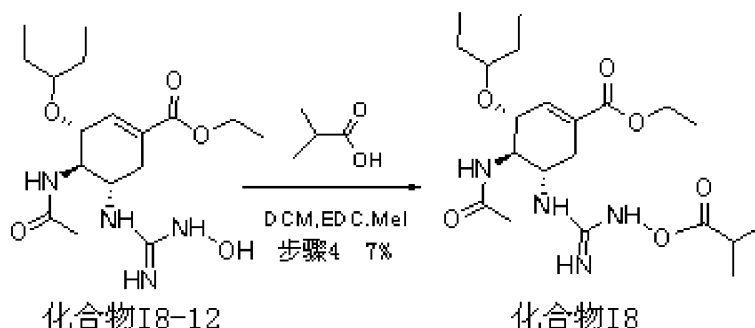
向经吹扫且保持在氮惰性气氛下的 250-mL 3 颈圆底烧瓶中加入 (3R,4R,5S)-5-(氨基甲酰基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯 (3 g, 8.44 mmol, 1.00 当量) 在吡啶 (60 mL) 中的溶液和 4-甲苯磺酰氯 (6 g, 3.73 当量)。在室温下搅拌所得溶液过夜。通过 LCMS 监测反应过程。在真  
5 空下浓缩所得混合物。通过 Flash-Prep-HPLC 纯化粗产物, 条件如下 (IntelFlash-1): 柱子, 硅胶; 流动相, 在 15 分钟内从水/乙腈=98/2 增加至水/乙腈=20/80; 检测器, UV 254 nm, 得到 2.2 g (77%) (3R,4R,5S)-5-(氰基氨基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯, 为黄色固体。

### 3. 化合物 I8-12 的合成



向经吹扫且保持在氮惰性气氛下的 50-mL 3 颈圆底烧瓶中加入 (3R,4R,5S)-5-(氰基氨基)-4-乙酰氨基-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯 (200 mg, 0.59 mmol, 1.00 当量) 在乙醇 (4 mL) 中的溶液、盐酸羟胺 (61.7 mg, 0.89 mmol, 1.50 当量)、和三乙胺 (95.6 mg, 0.94 mmol, 1.60 当量)。在室温下搅拌  
15 所得溶液 1 小时。通过 LCMS 监测反应过程。在真空下浓缩所得混合物, 得到 200 mg 粗 (3R,4R,5S)-4-乙酰氨基-5-(1-羟基甲脒)-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯, 为浅黄色固体。

### 4. 化合物 I8 的合成



向经吹扫且保持在氮惰性气氛下的 10mL 圆底烧瓶中加入 2-甲基丙酸 (86 mg, 0.98 mmol, 1.20 当量) 在二氯甲烷 (6 mL) 中的溶液和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺甲基碘 (481 mg, 2.00 当量)。在室温下搅拌所得溶液 1 小

时。然后向混合物中加入(3R,4R,5S)-4-乙酰氨基-5-(1-羟基甲脒)-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯(300 mg, 0.81 mmol, 1.00 当量)。在室温下搅拌所得溶液 2 小时, 然后在真空下浓缩。通过 Prep-HPLC 纯化粗产物, 条件如下 (1#-Pre-HPLC-001(SHIMADZU)): 柱子, XBridge shield RP18 OBD 柱, 5 $\mu$ m, 19\*150 mm; 流动相, 水和乙腈 (在 8 分钟内从 36.0% 乙腈增至 55.0%, 在 2 分钟内增至 100.0%, 在 1 分钟内降至 36.0%); 检测器, 254&220 nm, 得到 25 mg (7%) (3R,4R,5S)-4-乙酰氨基-5-[1-[(2-甲基丙酰基)氧基]甲脒]-3-(戊-3-基氧基)环己-1-烯-1-甲酸乙酯, 为白色固体。

LC-MS-PH-GRM-1111-0 (ES, m/z): 441[M+H]<sup>+</sup>

10 H-NMR-PH-GRM-1111-0 (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz, ppm): 0.84-0.94 (m, 6H), 1.20-1.28 (m, 9H), 1.50-1.57 (m, 4H), 1.98 (s, 3H), 2.23-2.30 (t, J = 14.4Hz, 1H), 2.64-2.69 (m, 1H), 2.77-2.83 (m, 1H), 3.34-3.37 (t, J = 5.6Hz, 1H), 3.80 (m, 1H), 4.09-4.07 (m, 1H), 4.25-4.17 (m, 3H), 4.85 (s, 2H), 5.50 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.92 (s, 1H).

15

### 实施例 9: 本发明化合物的体外稳定性试验

本实施例检测了本发明的化合物 I2 至化合物 I8 的体外代谢稳定性。

测试化合物: 化合物 I2、I3、I4、I5、I6、I7 和 I8;

对照化合物: 维拉帕米 (verapamil)。

20 微粒体: 人肝微粒体 (HMMC; PL050B) 和雄性小鼠肝微粒体 (RTMC; RT046), 购自 CellzDirect (Invitrogen); 使用前储存于 -80°C。

方法:

1) 根据表 1 所示制备母液, 然后加入测试化合物或对照化合物, 使这些化合物在反应体系中的最终浓度为 2 $\mu$ M。然后在 37°C 下预热混合溶液 2 分钟。

25

表 1. 母液的制备

成分	储液浓度	体积	最终浓度
微粒体 (HMMC 或 RTMC)	5mg/mL	50 $\mu$ L	0.5mg/mL
MgCl <sub>2</sub> 溶液	50mM	50 $\mu$ L	5mM
磷酸盐缓冲液	200mM	250 $\mu$ L	100mM
超纯水	-	95 $\mu$ L	

2) 向混合溶液中加入 NADPH, 使其最终浓度为 1mM, 然后将反应体系置于 37℃ 下。空白对照中加入同样体积的超纯水代替 NADPH。

3) 在 0、15、30、45 和 60 分钟时从反应体系中取出 50μL 的等分试样, 并加入 3 倍体积的冷甲醇终止反应。以 16000g 离心该等份试样 10 分钟以沉淀蛋白。将 100μL 的上清液用于 LC/MS/MS 分析, 从而测定剩余的测试化合物和对照化合物的量。检测一式两份地进行。

LC 分析采用的仪器和条件为:

Shimadzu (Degasser DGU - 20A3, Solvent Delivery Unit LC - 20ADXR, System Controller CBM - 20A, Column Oven CTO - 10ASVP), CTC Analytics

10 HTC PAL - XT System

柱子: Phenomenex 5μ C 18(2) (2.0×50mm)

流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (B) 和 0.1% 甲酸-乙腈 (A); 洗脱程序为 0~2min, 流动相 A 为 5~100%, 流动相 B 为 95%~0%; 2~2.2min, 流动相 A 为 100%, 流动相 B 为 0%; 2.2~2.4min, 流动相 A 为 100%~5%, 流动相 B 为 0%~95%; 2.4~3min, 流动相 A 为 5%, 流动相 B 为 95%。

流速: 0.5mL/min;

柱温: 25℃;

上样体积: 10μL。

MS/MS 分析采用的仪器和条件为:

20 AB API4000 LC/MS/MS instrument

源: Turbo spray

电离模式: ESI

扫描类型: MRM

碰撞气: 6 L/min; 帘气: 30 L/min; 雾化气: 50 L/min; 辅助气: 50 L/min; 温度: 500℃; 喷射电压: 4500 v

检测结果:

在存在 NADPH 的人肝或小鼠肝微粒体体系中, 测试化合物 I2 至化合物 I8 以及对照化合物维拉帕米的体外稳定性结果见表 2 和表 3。

表 2. 在人肝微粒体中化合物在不同时间的残余百分比 (%)

取样时间 (分钟) 化合物	0	15	30	45	60
维拉帕米	100.00	66.60	42.03	29.4	22.73

化合物I2	100.00	90.15	80.31	69.95	61.59
化合物I3	100.00	99.02	97.22	97.22	95.26
化合物I4	100.00	97.66	95.78	96.24	96.72
化合物I5	100.00	19.74	6.74	6.58	6.83
化合物I6	100.00	16.86	1.53	0.19	0.06
化合物I7	100.00	45.72	25.82	13.78	7.96
化合物I8	100.00	98.1	89.6	58.4	31.3

表 3. 在小鼠肝微粒体中化合物在不同时间的残余百分比 (%)

取样时间(分钟) 化合物	0	15	30	45	60
维拉帕米	100.00	37.84	20.70	14.06	11.19
化合物I2	100.00	49.47	33.68	25.68	19.14
化合物I3	100.00	97.85	95.54	95.37	92.40
化合物I4	100.00	68.66	42.02	28.13	17.05
化合物I5	100.00	2.75	2.61	2.50	2.50
化合物I6	100.00	2.61	0.19	0.08	0.03
化合物I7	100.00	1.55	0.51	0.26	0.18
化合物I8	100.00	71.8	52.3	37.9	15.4

从表2和表3的数据可以看到，在存在NADPH的人肝微粒体和小鼠肝微粒体体系中，对照化合物维拉帕米迅速分解。

5

**实施例 10: 本发明化合物的体内药代动力学试验**

本实施例检测了本发明的化合物 I2、I3、I4、I5、I6、I7 和 I8 的体内药代动力学。

方法:

10 将化合物 I2 至化合物 I8 分别以 10g/L 的浓度溶于空白溶液（30% PEG-400）中。

实验动物为雄性小鼠，6 至 8 周龄，体重 190-215 克，购自北京维利通华实验动物技术有限公司。基于小鼠体重随机分成 7 组，每组 3 只动物。各组小鼠的给药剂量和途径见表 4。

15

表 4. 药代动力学试验分组及给药情况

组	药物	药物剂量 (mg/kg)	途径	数量
组 1	化合物 I2	1	经静脉	3
组 2	化合物 I3	1	经静脉	3
组 3	化合物 I4	1	经静脉	3
组 4	化合物 I5	1	经静脉	3
组 5	化合物 I6	1	经静脉	3
组 6	化合物 I7	1	经静脉	3
组 7	化合物 I8	1	经静脉	3

在药代动力学试验前，将小鼠禁食 16 小时。然后按照表 4 中所示经静脉（1 mL/kg; 1mg/kg）给药单个剂量的化合物。采取颈静脉穿刺的方式在给药后定时收集血液 200 $\mu$ L，其中对于经静脉给药的动物组，在给药后 0、15 分钟、30 分钟、1 小时、2 小时、4 小时、8 小时和 24 小时收集血液。将血样收集于具有 EDTA 的样品管中，立即在 4℃ 下以 4000rpm 离心血样 5 分钟，然后将血浆转移到另一个样品管中，储存于 -20 摄氏度下。

检测各时间点取得的血样中由测试化合物转化形成的化合物 1 的浓度，由此对样品进行药代动力学检验，采用的方法和仪器如下：

10 HPLC: Shimadzu (DGV-20A3, Serial NO: SSI-3-0536; LC-20AD Serial NO: L20104551674 USB and L20104551673 USB;), CTC Analytics HTC PAL System (Serial NO: 4353);

MS: AB API4000 Q Trap LC/MS/MS instrument (Serial NO. AR19020706)

柱子: Phenomenex Luna 5 $\mu$  C18 (2.0 $\times$ 50 mm)

15 流动相: 100%乙腈(2mM 乙酸铵)和 100%水(2mM 乙酸铵)

定量方法: 内标法

化合物I2至化合物I8的药代动力学结果见表5。

表5. 化合物I2至化合物I8的药代动力学数据比较

药物	药物剂量 (毫克/公斤)	途径	半衰期 (小时)
化合物 I2	1	经静脉	23.8
化合物 I3	1	经静脉	NA
化合物 I4	1	经静脉	NA

化合物 I5	1	经静脉	NA
化合物 I6	1	经静脉	15.1
化合物 I7	1	经静脉	11.6
化合物 I8	1	经静脉	3.4

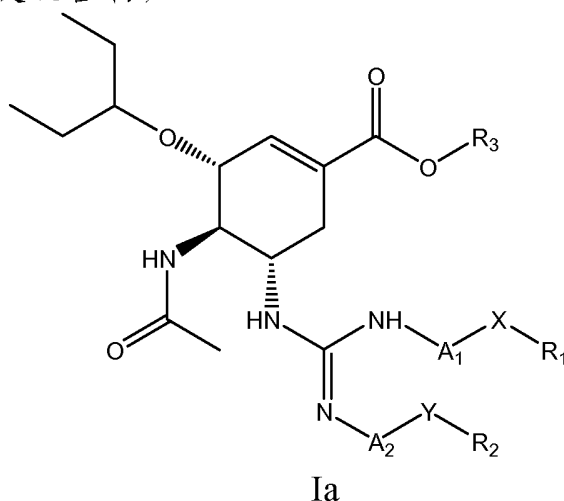
NA: 数据未得。

由表中数据可知, 相比化合物1本身经静脉注射的半衰期, 化合物I2、I5和I6的半衰期显著延长。其中, 化合物I2的半衰期长达近24小时, 其药代动力学图谱见图1。



# 权 利 要 求

1、一种式 Ia 所示的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，



其特征在于，

-A<sub>1</sub>-X-R<sub>1</sub> 和 -A<sub>2</sub>-Y-R<sub>2</sub> 不能同时为 H，并且其中：

A<sub>1</sub> 独立地为键或 O；

A<sub>2</sub> 独立地为键或 O；

X 独立地为键、C(O)、C(O)O、C(O)NH、S(O)<sub>2</sub>、S(O)<sub>2</sub>NH、CH<sub>2</sub>OC(O)、C(O)CH<sub>2</sub>OC(O)；

Y 独立地为键、C(O)、C(O)O、C(O)NH、S(O)<sub>2</sub>、S(O)<sub>2</sub>NH、CH<sub>2</sub>OC(O)、C(O)CH<sub>2</sub>OC(O)；

R<sub>1</sub> 独立地为 H、C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R<sub>1</sub> 独立地为被 1-3 个选自下述的取代基取代的 C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基：烷基、亚烷基、羧基、氧代、卤代、氰基、叠氮、硝基、氨基烷氧基、芳氧基、烷氧基烷基、芳氧基烷基、烷硫基、烷硫基烷基、烷氨基、烷氨基烷基、卤代烷氧基；

R<sub>2</sub> 独立地为 H、C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基，或 R<sub>2</sub> 独立地为被 1-3 个选自下述的取代基取代的 C(O)O、OC(O)、烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或芳烷基：烷基、亚烷基、羧基、氧代、卤代、氰基、叠氮、硝基、氨基烷氧基、芳氧基、烷氧基烷基、芳氧基烷基、烷硫基、烷硫基烷基、烷氨基、烷氨基烷基、卤代烷氧基；

以及

R<sub>3</sub> 独立地为 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> 环烷基、或 C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> 环烷基烷基。

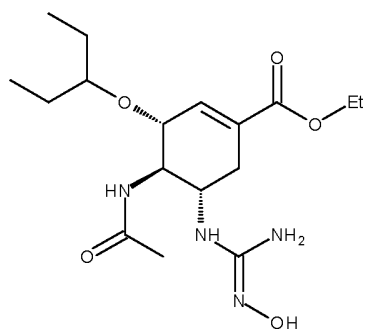
2、根据权利要求1所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，其特征在于， $A_1$ 独立地为键或O，X独立地为键或C(O)O， $R_1$ 独立地为H、C(O)O、OC(O)、 $C_1$ - $C_6$ 烷基或被 $C_1$ - $C_6$ 烷基和/或 $C_1$ - $C_6$ 亚烷基取代的C(O)O、OC(O)、 $C_1$ - $C_6$ 烷基。

5 3、根据权利要求1或2所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，其特征在于， $-A_1-X-R_1$ 为H。

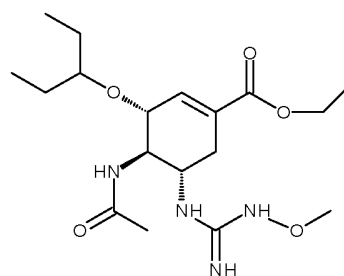
4、根据权利要求1至3中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，其特征在于， $-A_2-Y-R_2$ 为-OH。

10 5、根据权利要求1至4中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，其特征在于， $R_3$ 是 $C_1$ - $C_6$ 的烷基，优选-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>，进一步优选-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>，  
15 更优选-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

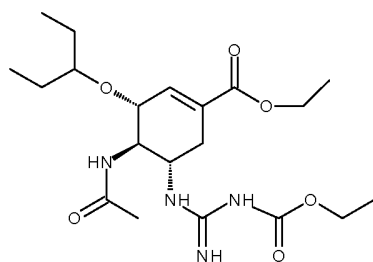
6、根据权利要求1至5中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，其特征在于，所示化合物如下式所示：



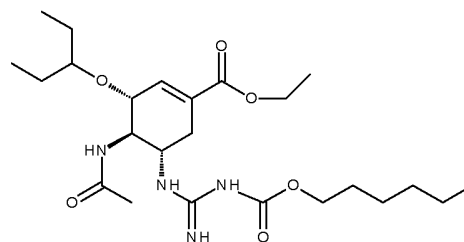
I2



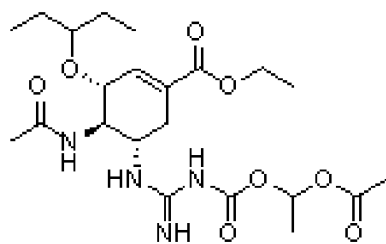
I3



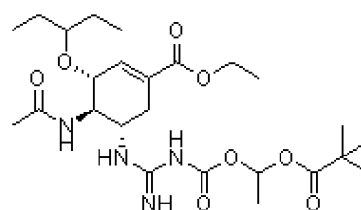
I4



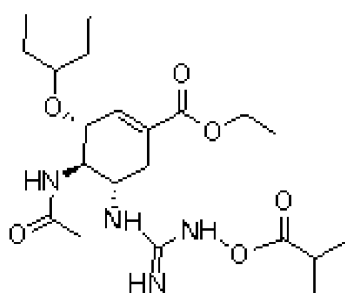
I5



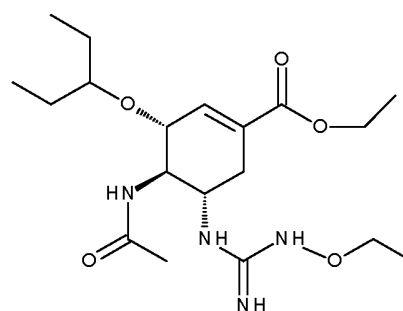
I6



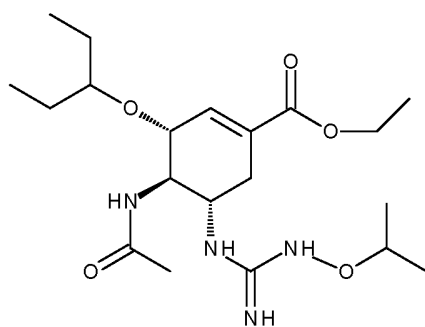
I7



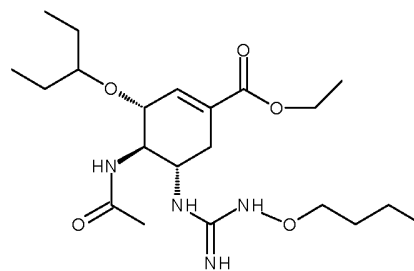
I8



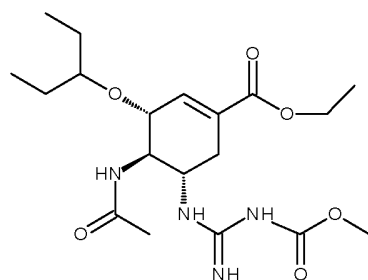
I9



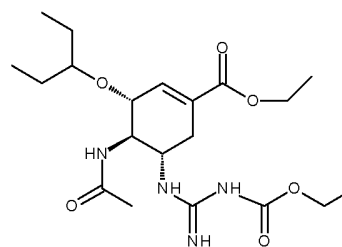
I10



I11

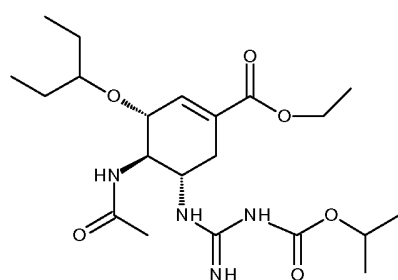


I12

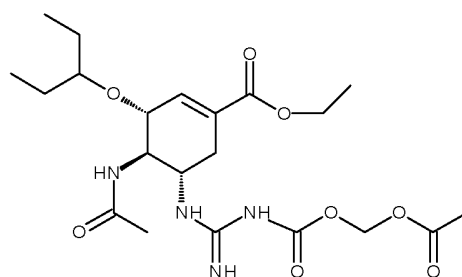


I13

5

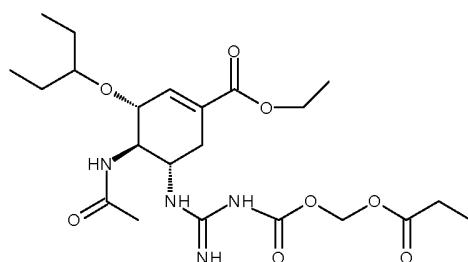


I14

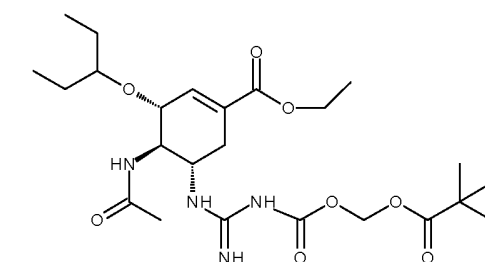


I15

10



I16



或

I17;

15 优选地，所示化合物的结构分别如式 I2、I3、I4、I5、I6、I7 或 I8 所示；进一步优选如式 I2 所示。

7、一种药物组合物，该药物组合物包含根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物，以及药学上可接受的辅料；

20 优选地，所述药物组合物经胃肠外输注、局部或口服施用；

进一步优选地，所述药物组合物经胃肠外输注施用，例如采用静脉点滴、静脉注射和肌肉注射施用。

8、根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或根据权利要求 7 所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗由病毒引起的感染；

25 优选地，所述病毒为流行性感冒病毒。

9、根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐、溶剂化物、多晶型体、对映体或外消旋混合物或根据权利要求 7 所述的药物组合物在制备神经氨酸苷酶抑制剂类药物中的用途。

30

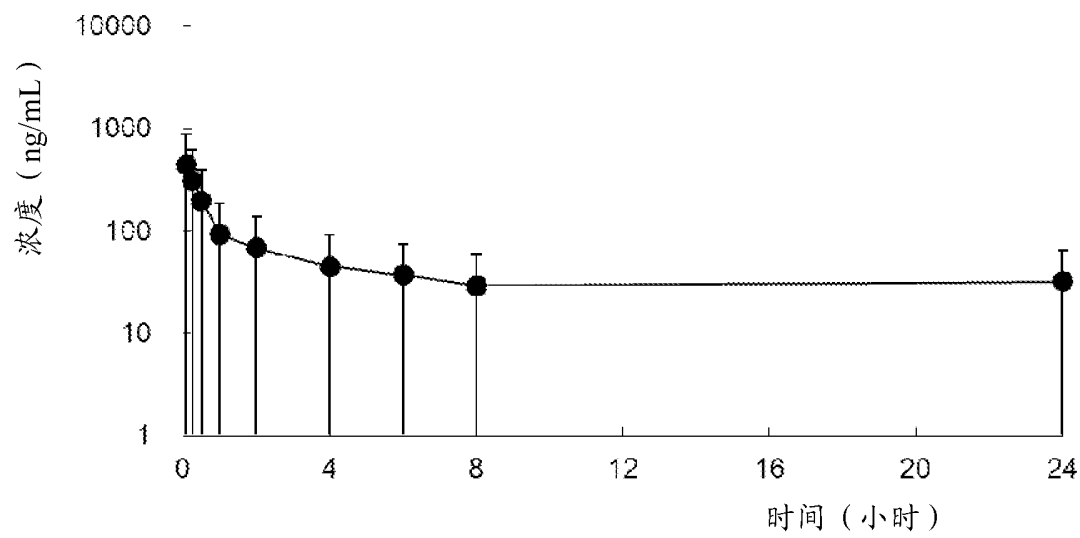


图 1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2013/088113****A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07D, A61K, A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Database: WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CA, EMBASE

Search terms: neuraminidase, oseltamivir, prodrug, tamiflu, flu, influenza

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	DE 102011117128 A1 (UNIV KIEL CHRISTIAN-ALBRECHTS), 02 May 2013 (05.02.2013), see claims 1-10	1-9
X	WO 2009129305 A2 (TSRL INC.), 22 October 2009 (22.10.2009), see embodiments 15-17, and claim 4	1-9
A	WO 2011123856 A1 (TSRL INC.), 06 October 2011 (06.10.2011), see the whole document	1-9

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

\* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&amp;” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
25 March 2014 (25.03.2014)Date of mailing of the international search report  
**13 March 2014 (13.03.2014)**Name and mailing address of the ISA/CN:  
State Intellectual Property Office of the P. R. China  
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao  
Haidian District, Beijing 100088, China  
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer

**ZHANG, Zhicong**Telephone No.: (86-10) **62411129**

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

**PCT/CN2013/088113**

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
DE 10201117128 A1	20130502	WO 2013060889 A1	20130502
WO 2009129305 A2	20091022	WO 2009129305 A3	20100318
		EP 2276479 A2	20110126
		US 2011160127 A1	20110630
		US 2012058937 A9	20120308
WO 2011123856 A1	20111006	AU 2011235832 A1	20121122
		US 2013023585 A1	20130124
		EP 2552885 A1	20130206
		CN 103108861 A	20130515
		JP 2013523777 A	20130617

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2013/088113**

## COUNTINUATION OF CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER:

C07C 279/16 (2006.01) i

A61K 31/215 (2006.01) i

A61P 31/16 (2006.01) i



# 国际检索报告

国际申请号  
**PCT/CN2013/088113**

## A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07D, A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

数据库: WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CA, EMBASE

检索词: 神经氨酸苷酶, 达菲, 奥塞米韦, 前药, 流感, neuraminidase, oseltamivir, prodrug, tamiflu, flu, influenza

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	DE 102011117128A1(UNIV KIEL CHRISTIAN-ALBRECHTS), 02.5 月 2013(05.02.2013), 参见权利要求 1-10	1-9
X	WO 2009129305A2(TSRL INC), 22.10 月 2009(22.10.2009), 参见实施例 15-17, 权利要求 4	1-9
A	WO 2011123856A1(TSRL INC), 06.10 月 2011(06.10.2011), 参见全文	1-9

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

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

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

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

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

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

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期  
25.3 月 2014 (25.03.2014)

国际检索报告邮寄日期  
**13.3 月 2014 (13.03.2014)**

ISA/CN 的名称和邮寄地址:  
中华人民共和国国家知识产权局  
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088  
传真号: (86-10)62019451

授权官员  
  
**张志聪**  
电话号码: (86-10) **62411129**

**国际检索报告**  
关于同族专利的信息

国际申请号  
**PCT/CN2013/088113**

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
DE 102011117128A1	20130502	WO 2013060889A1	20130502
WO 2009129305A2	20091022	WO 2009129305A3	20100318
		EP 2276479A2	20110126
		US 2011160127A1	20110630
		US 2012058937A9	20120308
WO 2011123856A1	20111006	AU 2011235832A1	20121122
		US 2013023585A1	20130124
		EP 2552885A1	20130206
		CN 103108861A	20130515
		JP 2013523777A	20130617

续主题的分类:

C07C 279/16(2006.01)i

A61K 31/215(2006.01)i

A61P 31/16(2006.01)i