

核苷类似物或含有核苷类似物的组合制剂在抗病毒中的应用

5 技术领域

本发明涉及医药领域，具体地涉及核苷类似物或含核苷类似物的组合制剂在抗病毒中的应用。

背景技术

10 在急性传染病中，绝大部分都是病毒性传染病，病毒性传染病的发病率高，死亡率也很高。病毒一类个体极其微小、缺乏独立代谢能力、以寄生方式存在的病原微生物。病毒的种类繁多，目前，已发现了许多对人类具有高传染性和高致病性的病毒，这些病毒常造成地方性甚至全球性传染病暴发，对人类社会有极大的危害，如流感病毒、呼吸道合胞病毒(RSV)、副流感病毒、非典型性肺炎(SARS)病毒、中
15 东呼吸综合征(MERS)病毒、埃博拉病毒等。一些病毒也可感染动物，引起各种轻到重度疾病，同时，动物也成为这些病毒的传染源，令人类对其防不胜防。

冠状病毒属于套式病毒目、冠状病毒科、冠状病毒属，是自然界广泛存在的一大类单股正链的RNA病毒，可引起人和动物呼吸道、消化道和神经系统疾病。根据系统发育树，冠状病毒可分为四个属： α 、 β 、 γ 、 δ ，其中 β 属冠状病毒又
20 可分为四个独立的亚群A、B、C和D群。

截止2020年4月，新型冠状病毒(SARS-CoV-2)已导致死亡人数超过10万，造成了自1918年西班牙大流感后，又一次非常严重的全球公共卫生事件。SARS-CoV-2、非典型性肺炎病毒(SARS-CoV)和中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)同属于 β 属冠状病毒，目前，这三种病毒已成为对人类致病能力最强的冠状病毒。
25 目前，针对SARS-CoV-2冠状病毒导致的严重肺炎疾病尚无特效的疫苗和抗病毒药物。这些感染性疾病严重影响了人们的生命健康，研发效果好的抗病毒药物迫在眉睫。针对SARS-CoV-2冠状病毒开发出低毒高效的抗病毒药物，以满足国内外SARS-CoV-2冠状病毒感染患者的临床需求，具有重大的社会意义。

冠状病毒也可感染多种哺乳动物，包括蝙蝠、猪、犬、猫、鼠、牛、马、骆驼等，这些病毒多为 α 、 β 属。猪流行性腹泻病毒(PEDV)是一种能引起猪急性肠道传染病的冠状病毒，各种年龄的猪都能感染发病，其中，尤以哺乳猪、新生仔猪受害最为严重，养殖业常因PEDV的爆发而蒙受重大损失。
30

呼吸道感染是临床上最常见的、影响最广的一类病毒感染性疾病，每年都会造成全球大量人口死亡。除冠状病毒外，流感病毒、呼吸道合胞病毒、副流感病毒等也可引起呼吸道感染，导致肺炎，是威胁人类生命健康的重要杀手。
35

综上所述, 本领域迫切需要开发抑制病毒复制的抑制剂以用于治疗由病毒感染引起的相关疾病。

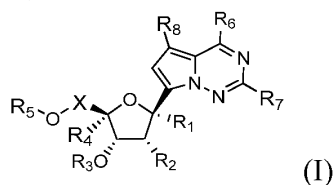
发明内容

- 5 本发明的目的是提供一种可有效抑制病毒复制的活性成分及其在病毒感染引起的相关疾病中的新用途。

具体地, 本发明提供了式 I 所示的核苷类似物及其组合物在抗病毒(如冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒和/或猪流行性腹泻病毒), 尤其是抗新型冠状病毒(SARS-CoV-2)中的用途。

10

在本发明第一方面, 提供了一种式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐或其结晶水合物或其溶剂化物或其前药:



式中,

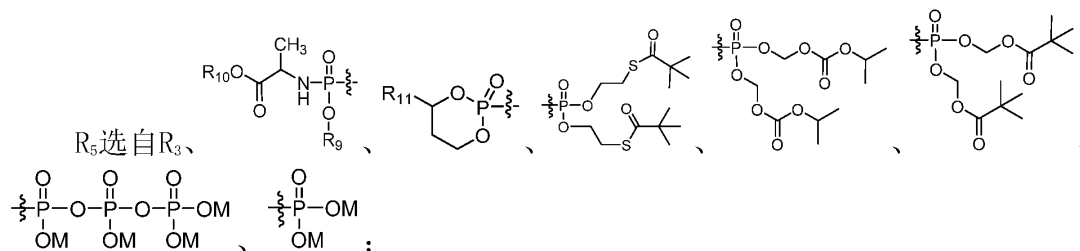
- 15 R_1 选自氢、氘、卤素、氰基、叠氮、氨基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基、 C_{1-6} 酰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基、卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 烯氧基、 C_{2-6} 炔氧基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、卤代 C_{3-6} 环烷基、氨基甲酰基、羟甲基、氰基甲基($-\text{CH}_2\text{CN}$)、脒基、胍基、脲基、氰硫基($-\text{SCN}$)、氰氧基($-\text{OCN}$);

R_2 选自氢、卤素、 OR_3 、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基;

- 20 R_3 选自氢、 C_{1-20} 烷酰基、氨基 C_{1-20} 烷酰基、 C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷酰基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 α -氨基酸, 所述 α -氨基酸的羧基与呋喃环上的羟基以酯键相连;

R_4 选自氢、氘、卤素、叠氮、氰基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、叠氮 C_{1-6} 烷基、氰基 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-6} 烷酰基、 C_{2-6} 烯氧基、 C_{2-6} 炔氧基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、氨基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷基、脒基、胍基、脲基、氰硫基、氰氧基;

25



R_6 选自氨基、羟基、卤素、氰基、氰氧基、氰硫基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氨基、 NHOH 、 NHCOR_{12} 、 NHOCOR_{12} 、 NHCOOR_{12} ;

R_7 选自氢、氘、卤素、氨基、甲基、 NHCOR_{12} 、 NHCOR_{12} ;

R_8 选自氢、氘、卤素、氰基、氨基甲酰基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基甲酰基、 C_{1-6} 烷氧基酰胺基、 C_{1-6} 烷氧羰基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基、氨基、 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基;

5 X 选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CD}_2-$ 、 $-\text{CHD}-$;

R_9 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基;

R_{10} 选自 C_{1-18} 烷基、亚甲基 C_{6-20} 芳基;

R_{11} 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基;

R_{12} 选自 C_{1-20} 烷基;

10 M 各自独立地选自氢、金属、 $-\text{NH}_4$ 、或质子化的有机胺;

在另一优选例中,表示为氘(D)的各个位置具有至少50%的氘富集度;优选地,表示为氘(D)的各个位置具有至少80%的氘富集度;更优选地,表示为氘(D)的各个位置具有至少90%的氘富集度;最优选地,表示为氘(D)的各个位置具有至少95%的氘富集度。

15

在另一优选例中,所述的5-15元杂芳基含有1、2、3或4个选自N、O和S的杂原子。

在另一优选例中,所述的金属选自下组:碱金属、碱土金属、或其组合。

在另一优选例中,所述式(I)化合物式中,

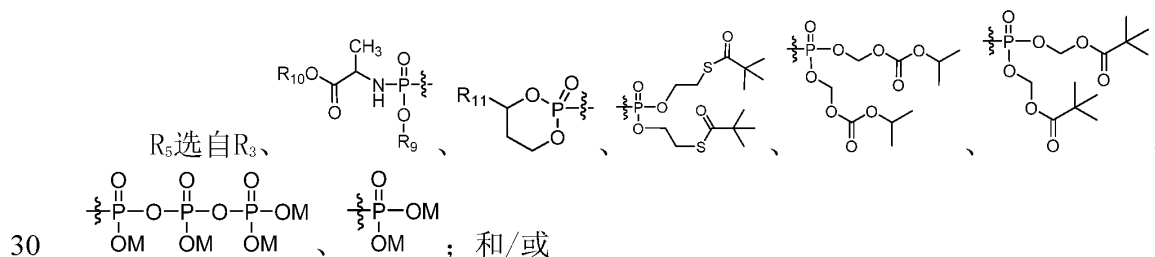
20 R_1 选自氢、氘、卤素、氰基、叠氮、甲基、氯甲基、氟甲基、乙烯基、乙炔基、环丙基、氨基甲酰基、羟甲基、甲氧基、甲酰基、脒基;和/或

R_2 选自卤素、氰基、氨基、甲酰基、 OR_3 ;和/或

R_3 选自氢、 C_{1-20} 烷基酰基、 α -氨基酸,所述 α -氨基酸的羧基与呋喃环上的羟基以酯键相连;优选地,所述 α -氨基酸选自下组:丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、苯丙氨酸;和/或

25

R_4 选自氢、氘、卤素、叠氮、氰基、甲基、氯甲基、氟甲基、二氟甲基、乙烯基、乙炔基、环丙基、羟甲基、叠氮甲基($-\text{CH}_2\text{N}_3$)、甲酰基、乙酰基、甲酰胺基、乙酰胺基;和/或



R_6 选自氨基、羟基、卤素、氰基、甲基氨基($-\text{NH}_2\text{CH}_3$)、 NHOH 、 NHCOR_{12} 、 NHOCOR_{12} 、 NHCOR_{12} ;和/或

R₇选自氢、氘、卤素、氨基；和/或

R₈选自氢、氘、卤素、氰基、氨基甲酰基、N-甲基氨基甲酰基(CH₃NHCO-)、甲基、乙基、乙炔基、甲氧羰基、乙氧羰基、羟基、羟甲基、羟乙基、甲氧基、乙氧基、甲酰基、乙酰基、甲酰氨基、乙酰氨基、甲氧羰基氨基(CH₃OCOCONH₂-)、乙氧羰基氨基(C₂H₅OCOCONH₂-)、甲氧羰基氧基(CH₃OCOO-)、乙氧羰基氧基(C₂H₅OCOO-)；和/或

5 X选自-CH₂-、-CD₂-、-CHD-；和/或

R₉选自C₆₋₂₀芳基、5-15元杂芳基；和/或

R₁₀选自C₁₋₁₈烷基、亚甲基C₆₋₂₀芳基；和/或

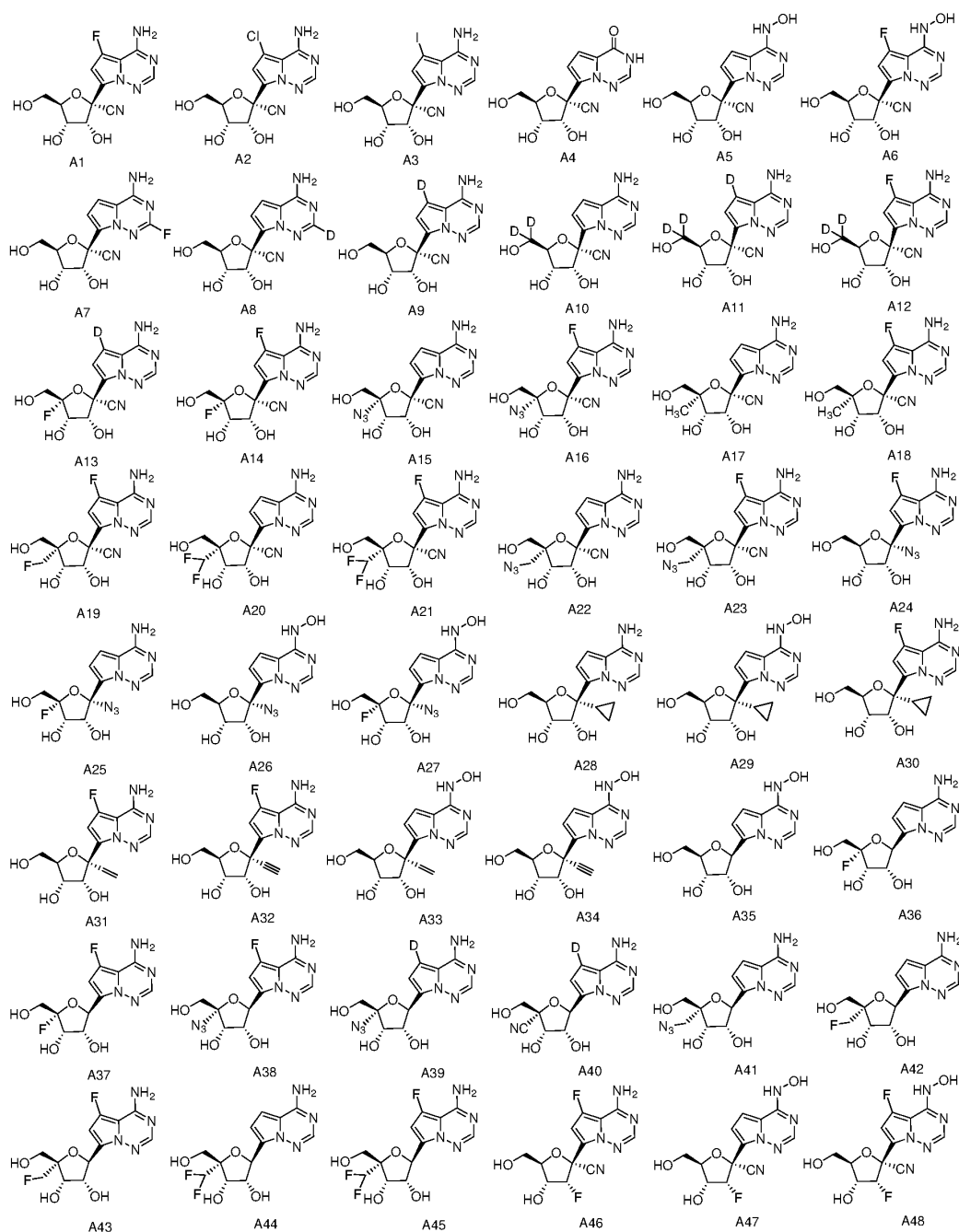
R₁₁选自C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、C₆₋₂₀芳基、5-15元杂芳基；和/或

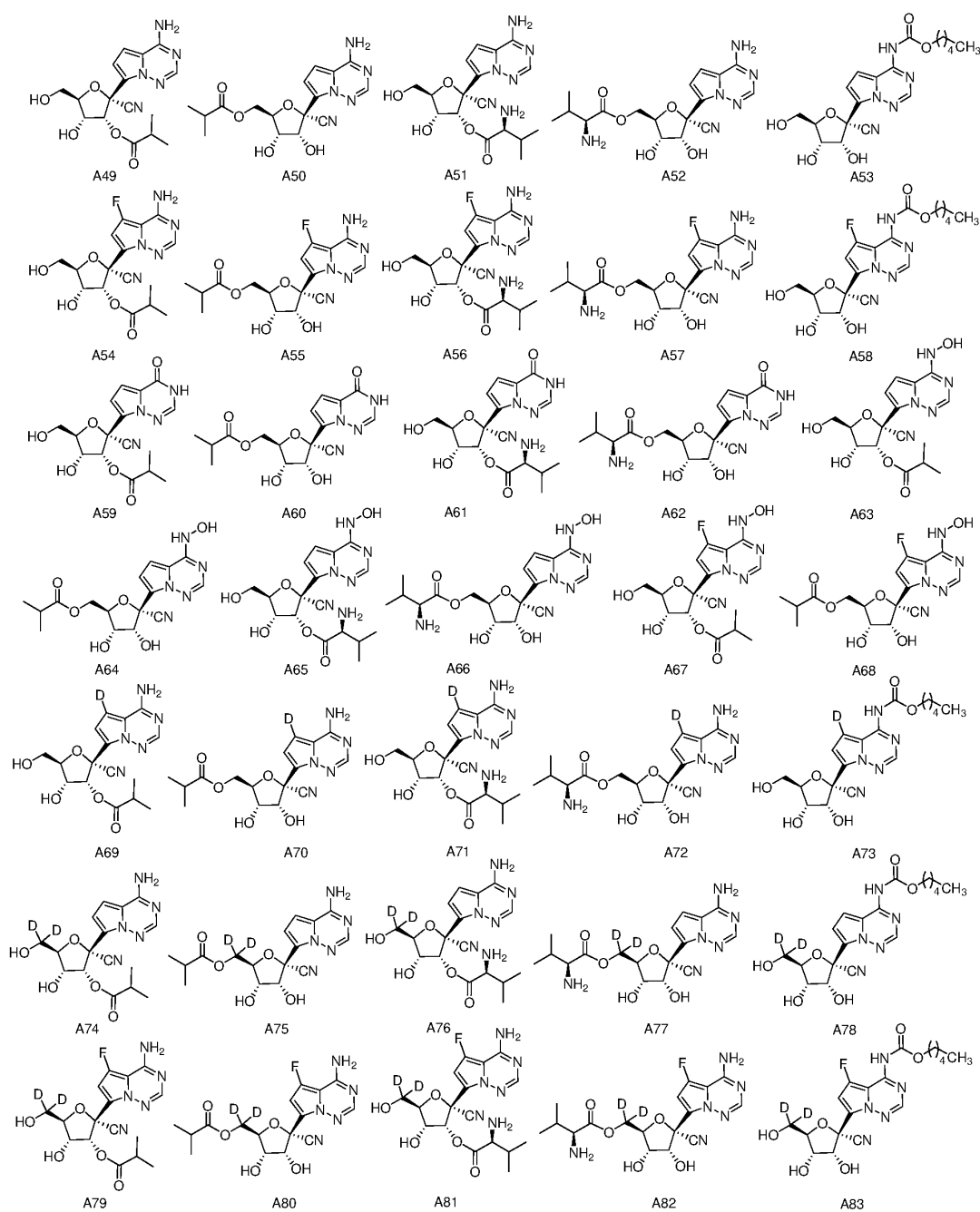
10 R₁₂选自C₁₋₂₀烷基；和/或

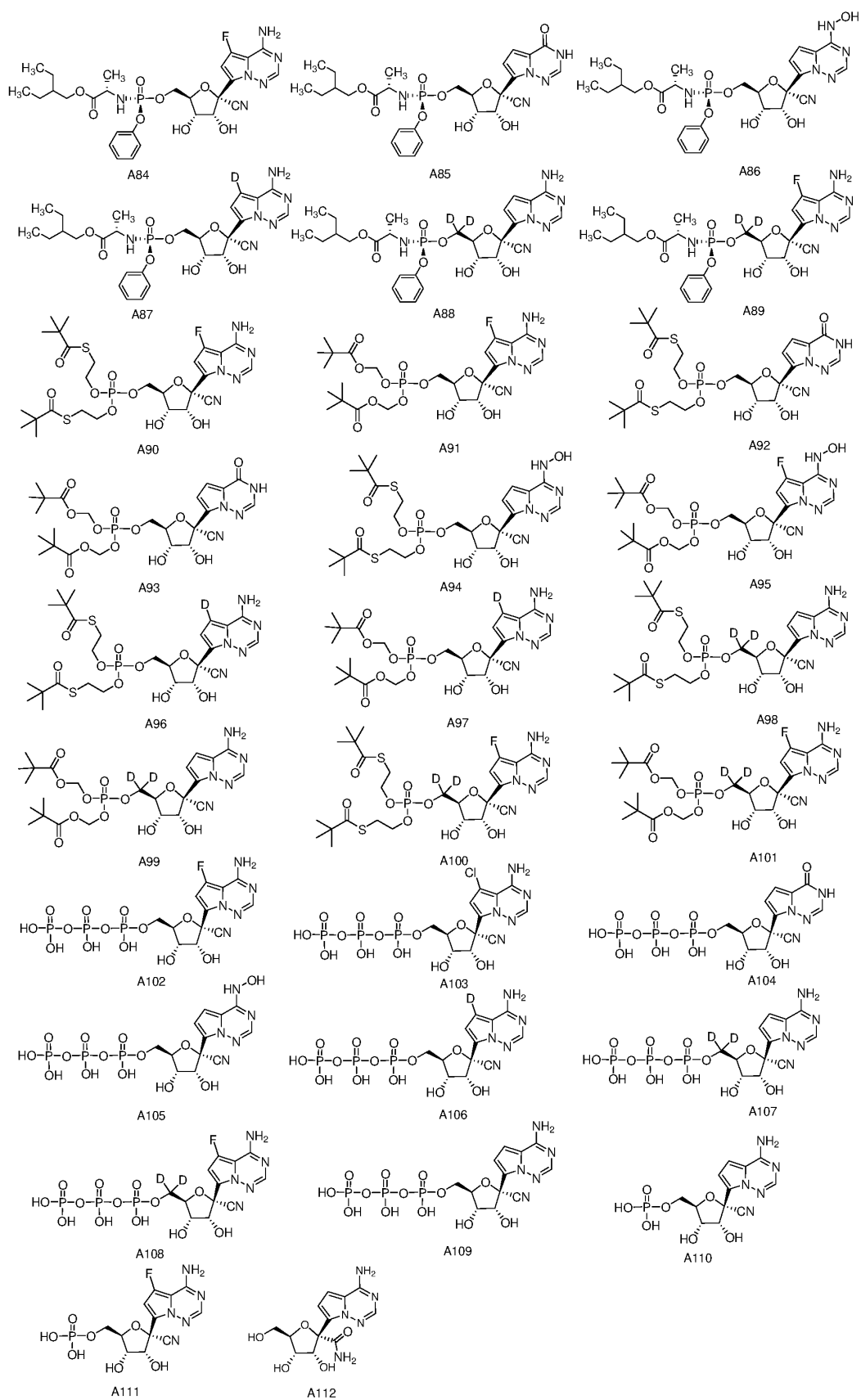
M各自独立地选自氢、锌、镁、钙、钠、钾、NH₄、质子化的三甲胺、质子化的三乙胺、质子化的三正丁胺。

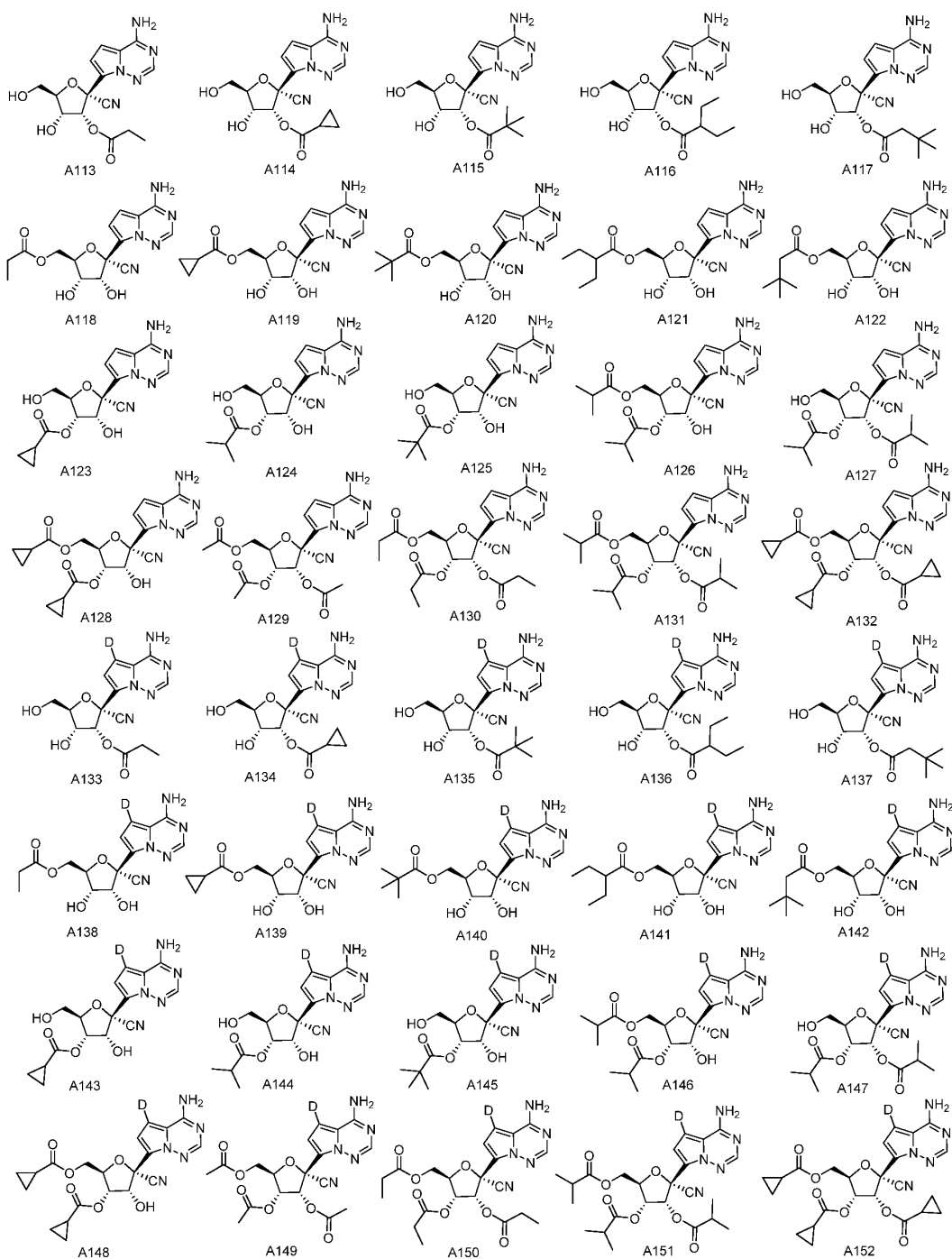
在另一优选例中，所述的R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₇、R₈和X各自独立地为实施例各化合物(如A1至A221中任一化合物)中所对应的具体基团。

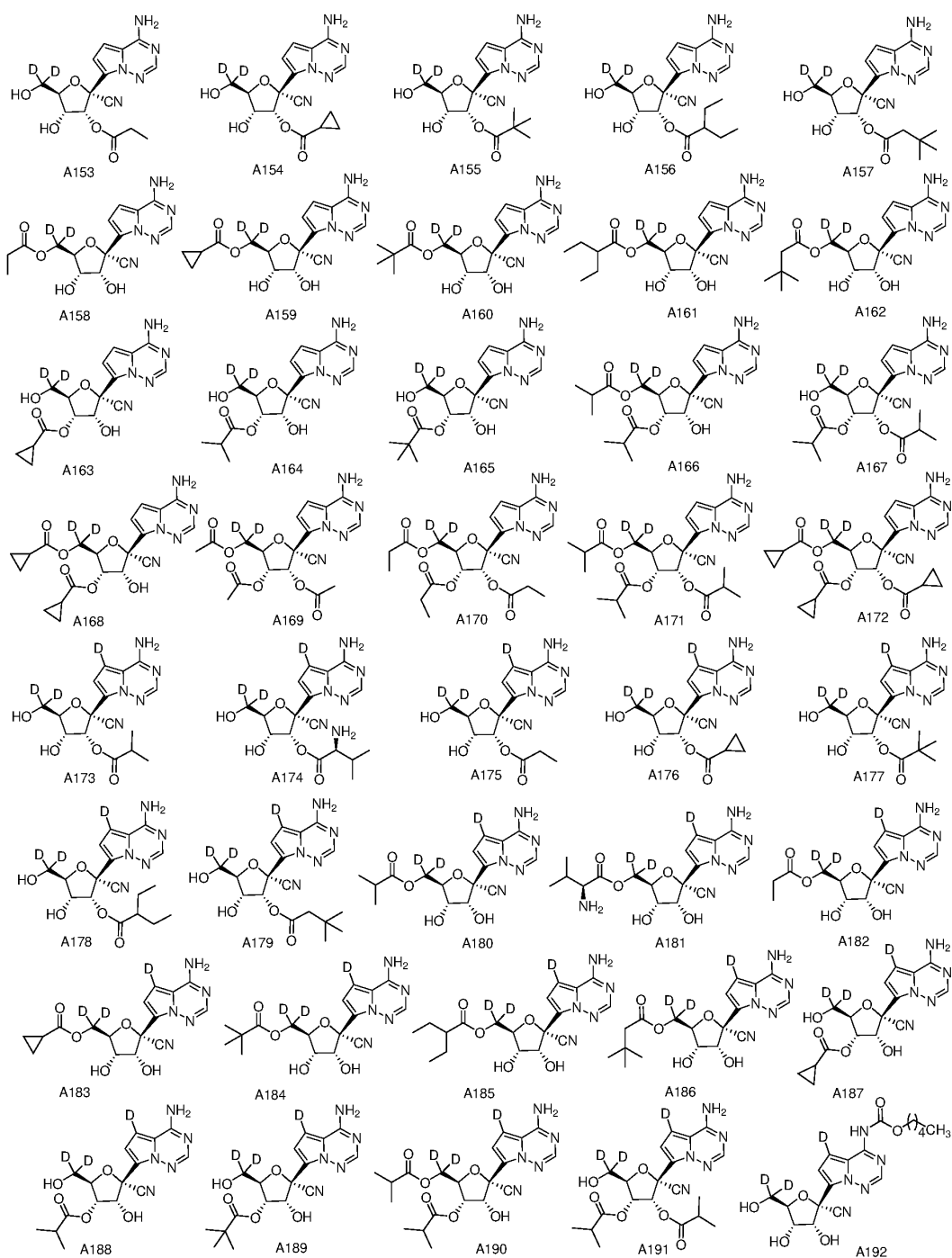
15 在另一优选例中，所述式(I)化合物为具有如下结构的化合物 A1 至 A221 中任一化合物、或其组合：

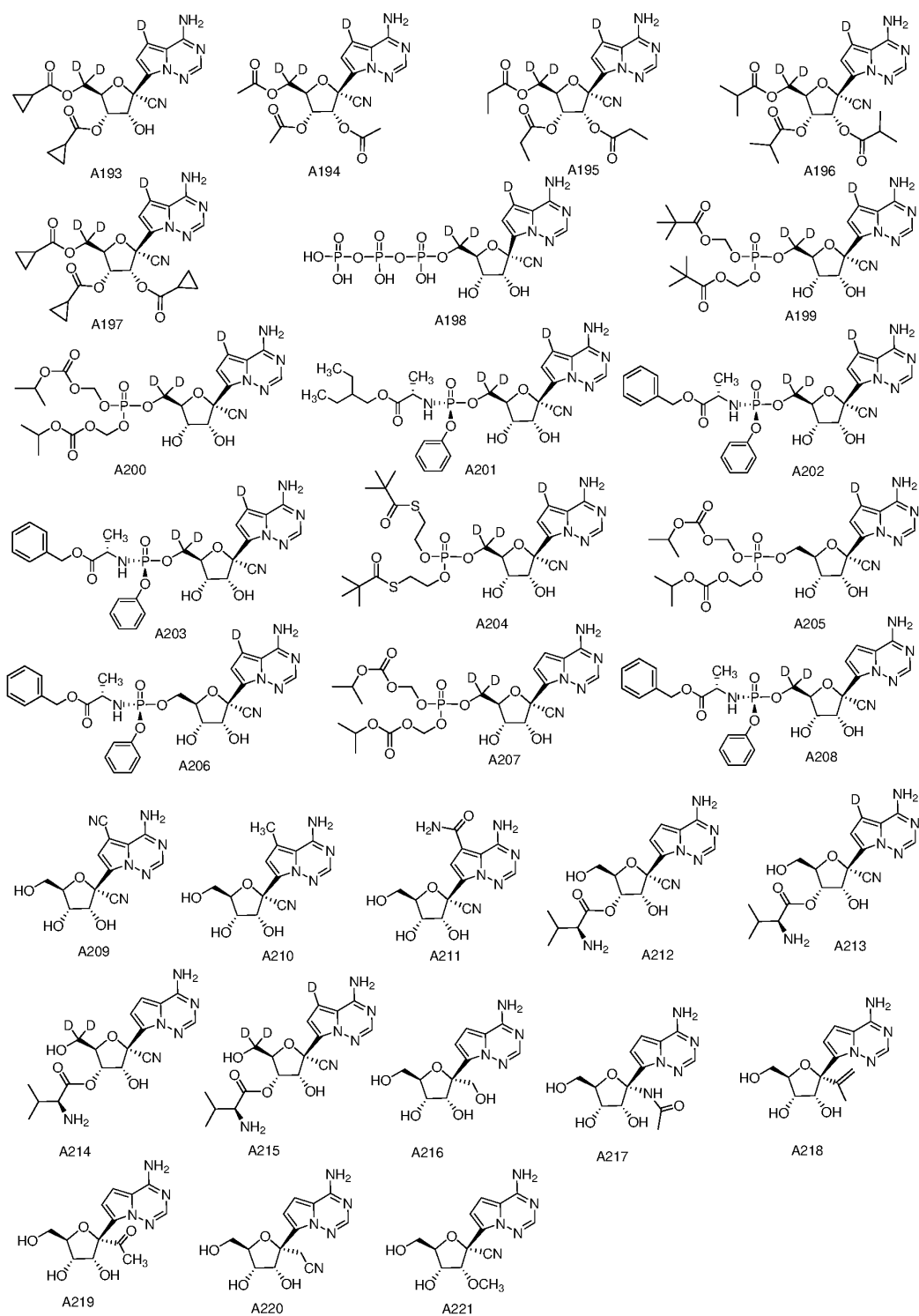




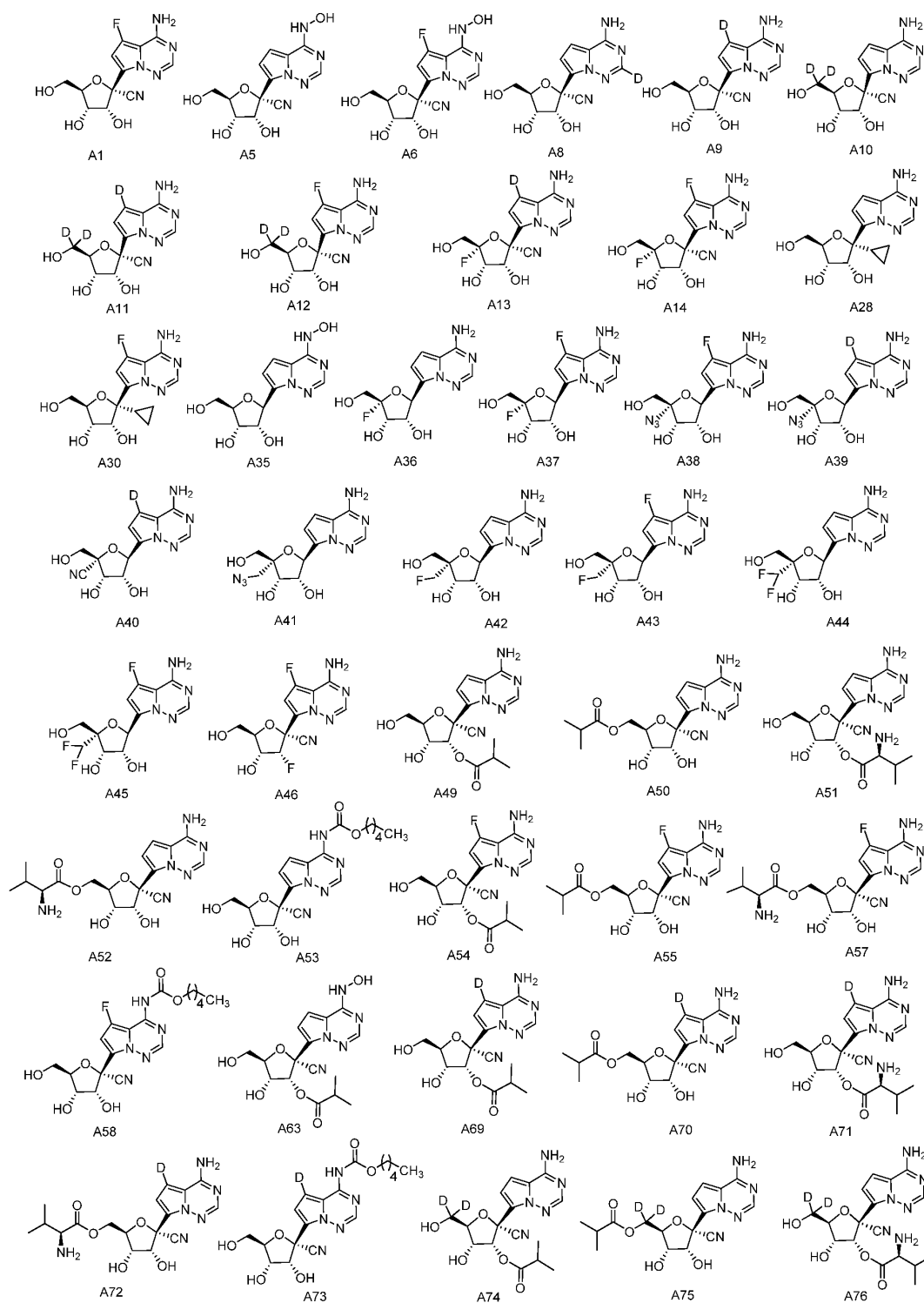




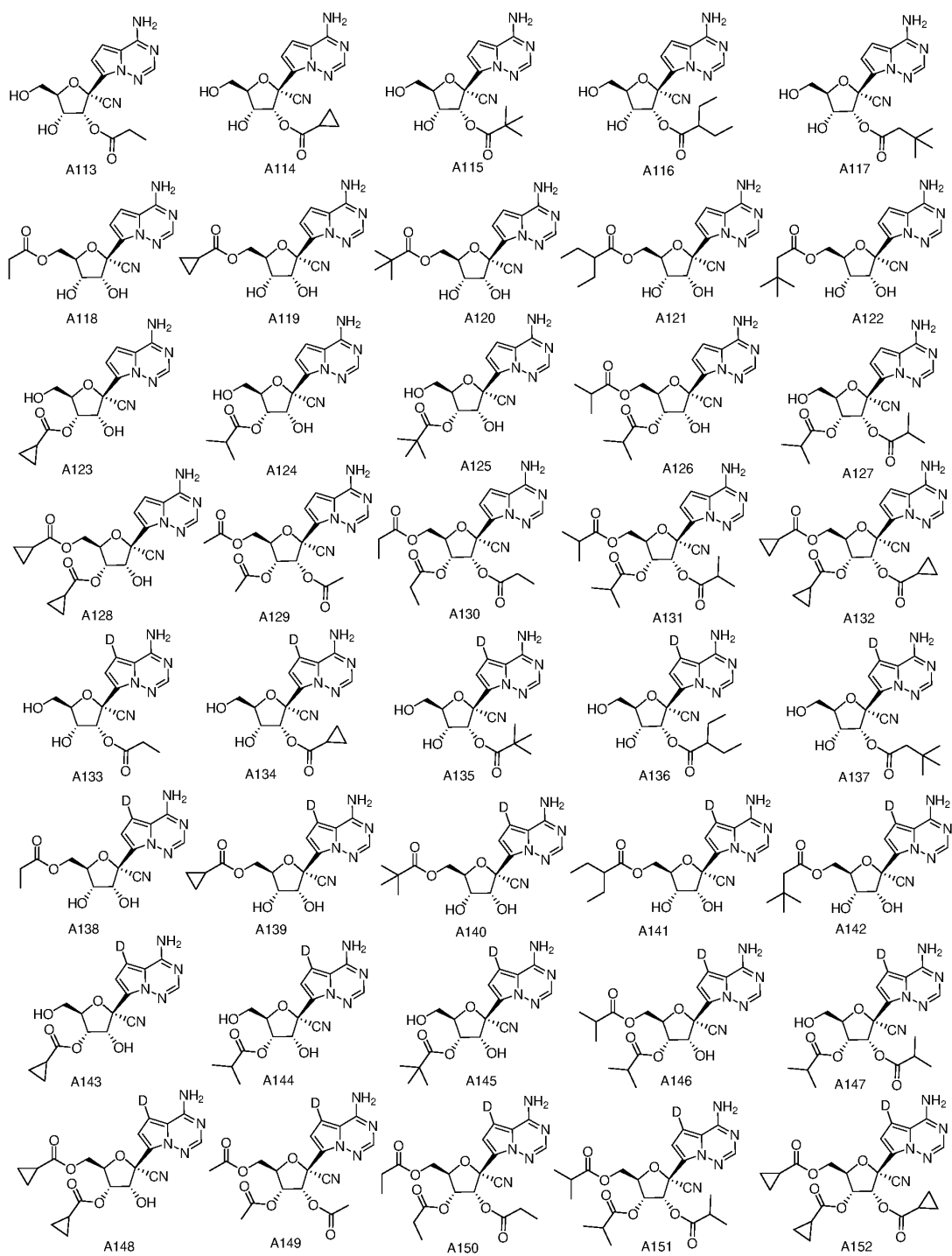


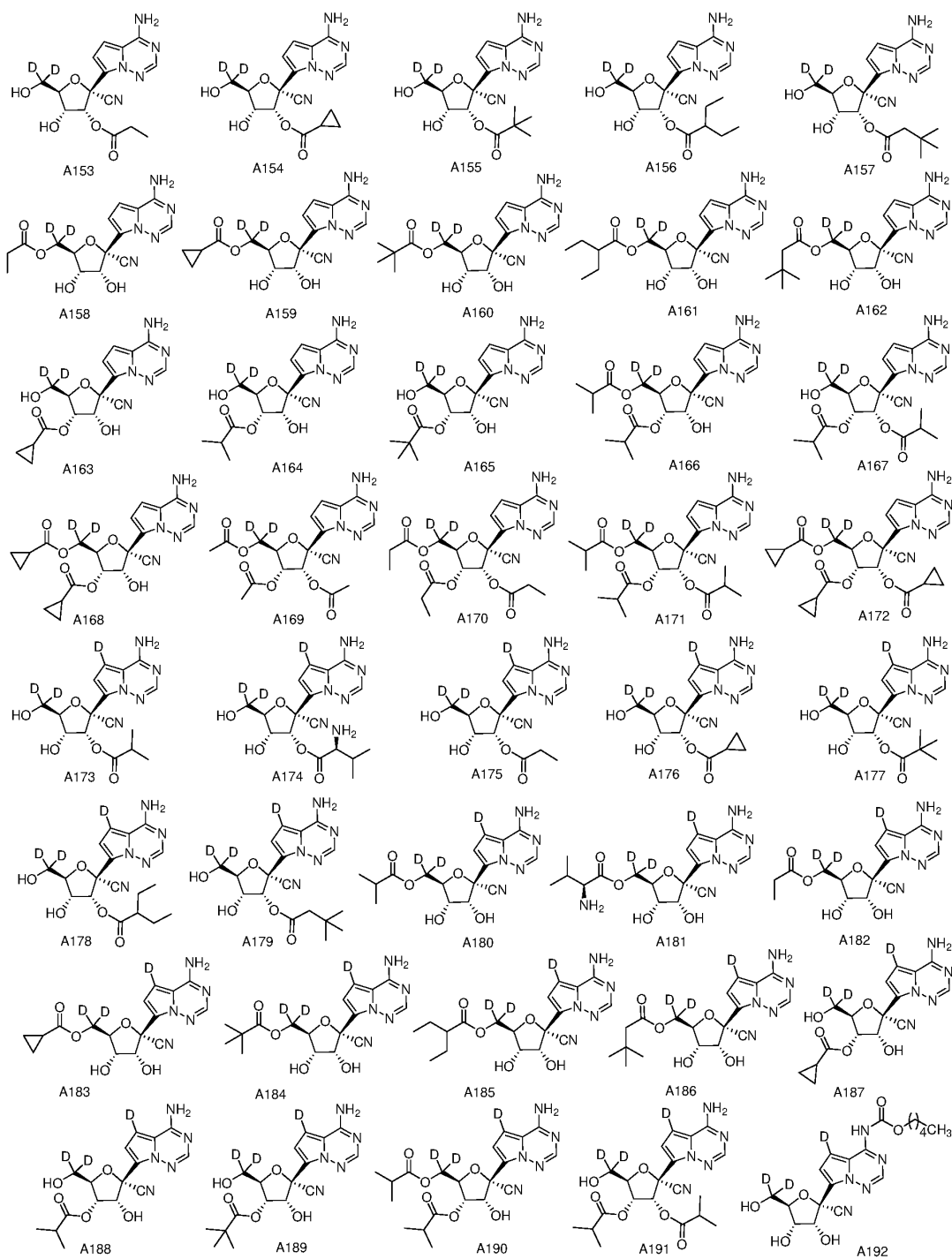


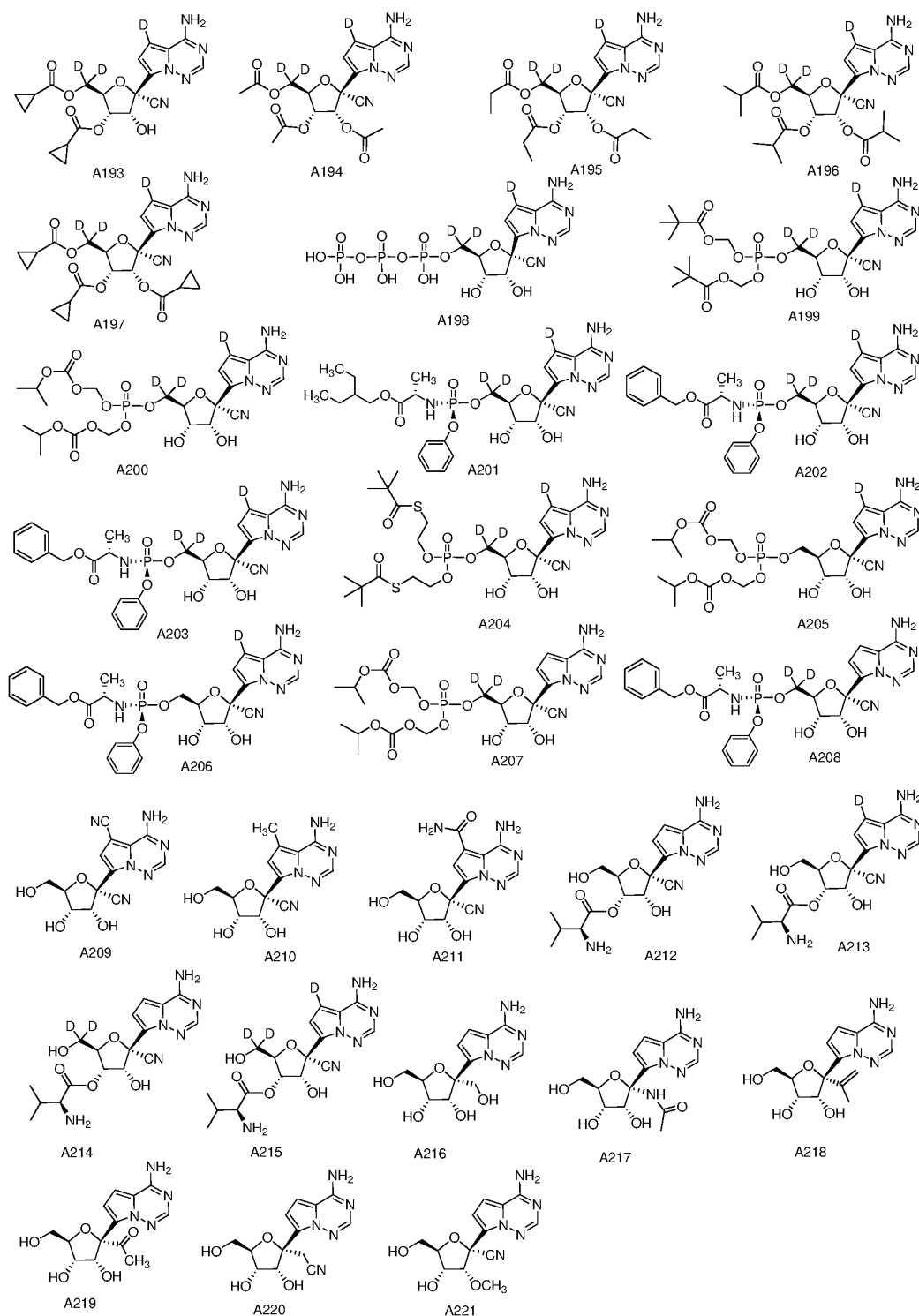
在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：







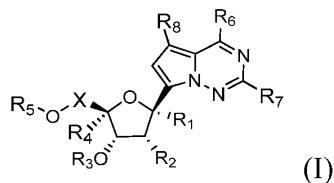




在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物A1、A9、A10、A11、A12、A49、A50、A51、A52、A53、A69、A70、A71、A72、A74、A75、A76、A77、A84、A87、A102、A106、A107、A108、A109、A124、A131、A138、A140、A144、
 5 A146、A147、A151、A164、A171、A173、A174、A180、A181、A188、A196、A198、

A209、A212、A213、A214、A215、A216、A221 或其组合。

在本发明的第二方面，提供了一种活性成分或含所述活性成分的制剂的用途，所述的活性成分为式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐或其结晶水合物或其溶剂化物或其前药：



5

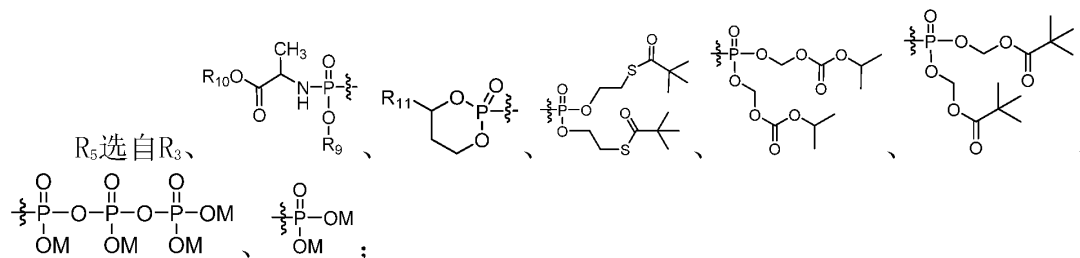
式中，

R_1 选自氢、氘、卤素、氰基、叠氮、氨基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基、 C_{1-6} 酰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基、卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 烯氧基、 C_{2-6} 炔氧基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、卤代 C_{3-6} 环烷基、氨基甲酰基、羟甲基、氰基甲基($-\text{CH}_2\text{CN}$)、
10 脒基、胍基、脲基、氰硫基($-\text{SCN}$)、氰氧基($-\text{OCN}$)；

R_2 选自氢、卤素、 OR_3 、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基；

R_3 选自氢、 C_{1-20} 烷酰基、氨基 C_{1-20} 烷酰基、 C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷酰基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 α -氨基酸，所述 α -氨基酸的羧基与呋喃环上的羟基以酯键相连；

R_4 选自氢、氘、卤素、叠氮、氰基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、叠氮 C_{1-6} 烷基、氰
15 基 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-6} 烷酰基、 C_{2-6} 烯氧基、 C_{2-6} 炔氧基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、氨基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷基、脒基、胍基、脲基、氰硫基、氰氧基；



20 R_5 选自氨基、羟基、卤素、氰基、氰氧基、氰硫基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氨基、 NHOH 、 NHCOR_{12} 、 NHOCOR_{12} 、 NHCOOR_{12} ；

R_7 选自氢、氘、卤素、氨基、甲基、 NHCOR_{12} 、 NHCOOR_{12} ；

R_8 选自氢、氘、卤素、氰基、氨基甲酰基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基甲酰基、 C_{1-6} 烷氧基酰胺基、 C_{1-6} 烷氧羰基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基、氨基、 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基；
25

X 选自 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CD}_2-$ 、 $-\text{CHD}-$ ；

R_9 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基；

R_{10} 选自 C_{1-18} 烷基、亚甲基 C_{6-20} 芳基；

R_{11} 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基；

R₁₂选自C₁₋₂₀烷基；

M各自独立地选自氢、金属、-NH₄或质子化的有机胺；

并且，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制病毒复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由病毒感染引起的相关疾病的药物。

- 5 在另一优选例中，表示为氘 (D) 的各个位置具有至少50%的氘富集度；优选地，表示为氘 (D) 的各个位置具有至少80%的氘富集度；更优选地，表示为氘 (D) 的各个位置具有至少90%的氘富集度；最优选地，表示为氘 (D) 的各个位置具有至少95%的氘富集度。

- 10 在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制冠状病毒复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由冠状病毒感染引起的相关疾病的药物。

在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制呼吸道合胞病毒 (RSV) 复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染引起的相关疾病的药物。

- 15 在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制流感病毒复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由流感病毒感染引起的相关疾病的药物。

- 20 在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制黄病毒科病毒复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由黄病毒科病毒感染引起的相关疾病的药物。

在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制丝状病毒科病毒复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由丝状病毒科病毒感染引起的相关疾病的药物。

- 25 在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 感染引起的相关疾病的药物。

在另一优选例中，所述的活性成分或含所述活性成分的制剂被用于制备 (a) 抑制 2019 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 毒复制的抑制剂；和/或 (b) 治疗和/或预防、缓解由 2019 新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 感染引起的相关疾病的药物。

- 30 在另一优选例中，所述的病毒选自：

(1) 感染人的冠状病毒：重症急性呼吸综合征冠状病毒 SARS-CoV (Severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)、2019 新型冠状病毒 (2019-nCoV 或 SARS-CoV-2)、中东呼吸综合征冠状病毒 MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)

- 35 (2) 致普通感冒的冠状病毒：所述的致普通感冒的冠状病毒优选选自下组：人冠状病毒 OC43 (Human coronavirus OC43)、人冠状病毒 229 E (Human coronavirus

229E)、人冠状病毒 NL63 (Human coronavirus NL63)、人冠状病毒 HKU1 (Human coronavirus HKU1);

(3) 人呼吸道合胞病毒 (RSV);

(4) 人流感病毒: 甲型流感病毒、乙型流感病毒、丙型流感病毒;

5 (5) 黄病毒科病毒: 丙型肝炎病毒 (HCV)、登革热病毒 (DENV)、寨卡病毒 (Zika);

(6) 丝状病毒科病毒: 马尔堡病毒 (MBV)、埃博拉病毒 (EBV);

(7) 感染其他哺乳动物的冠状病毒: 猪流行性腹泻病毒 (PEDV)。

在另一优选例中, 所述病毒引起的相关疾病选自下组:

10 (D1) 人冠状病毒感染引起的普通感冒、高危症状感染、呼吸道感染、肺炎及其并发症;

(D2) 人呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染引起的普通感冒、高危症状感染、呼吸道感染、肺炎及其并发症;

15 (D3) 人流感病毒感染引起的普通感冒、高危症状感染、呼吸道感染、肺炎及其并发症;

(D4) 丙型肝炎病毒 (HCV) 引起的慢性丙型肝炎及其并发症;

(D5) 登革热病毒 (DENV) 引起的登革热及其并发症;

(D6) 寨卡病毒 (Zika) 引起的感染及其并发症;

(D7) 马尔堡病毒 (MBV)、埃博拉病毒 (EBV) 引起的出血热及其并发症;

20 (D8) SARS-CoV-2 引起的新型冠状病毒肺炎 (Corona Virus Disease 2019, COVID-19);

(D9) 猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 引起的猪流行性腹泻;

(D10) 上述疾病的任意组合。

25 在另一优选例中, 所述由 2019 新型冠状病毒感染引起的相关疾病选自下组: 呼吸道感染、肺炎及其并发症、或其组合。

在另一优选例中, 所述式 (I) 化合物为化合物 A1 至 A221 中任一化合物、或其组合。

在另一优选例中, 所述的活性成分为选自下组的核苷类似物或其药学上可接受的盐或其结晶水合物或其溶剂化物或其前药:

30 化合物 A1、A5、A6、A8、A9、A10、A11、A12、A13、A14、A28、A30、A35、A36、A37、A38、A39、A40、A41、A42、A43、A44、A45、A46、A49、A50、A51、A52、A53、A54、A55、A57、A58、A63、A69、A70、A71、A72、A73、A74、A75、A76、A77、A78、A79、A80、A81、A84、A86、A87、A88、A89、A91、A95、A97、A99、A101、A102、A105、A106、A107、A108、A109、A110、A111、A113、A114、A115、
35 A116、A117、A118、A119、A120、A121、A122、A123、A124、A125、A126、A127、A128、A129、A130、A131、A132、A133、A134、A135、A136、A137、A138、A139、

A140、A141、A142、A143、A144、A145、A146、A147、A148、A149、A150、A151、A152、A153、A154、A155、A156、A157、A158、A159、A160、A161、A162、A163、A164、A165、A166、A167、A168、A169、A170、A171、A172、A173、A174、A175、A176、A177、A178、A179、A180、A181、A182、A183、A184、A185、A186、A187、
5 A188、A189、A190、A191、A192、A193、A194、A195、A196、A197、A198、A199、A200、A201、A202、A203、A204、A205、A206、A207、A208、A209、A210、A211、A212、A213、A214、A215、A216、A217、A218、A219、A220、A221 或其组合。

在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物A1、A9、A10、A11、A12、A49、A50、A51、A52、A53、A69、A70、A71、A72、A74、A75、A76、A77、
10 A84、A87、A102、A106、A107、A108、A109、A124、A131、A138、A140、A144、A146、A147、A151、A164、A171、A173、A174、A180、A181、A188、A196、A198、A209、A212、A213、A214、A215、A216、A221 或其组合。

在另一优选例中，所述的制剂(或含所述化合物的药物组合物)还可以含有其他抗病毒药。

15 在另一优选例中，所述的其他抗病毒药物还包括选自下组的额外组分：

Remdesivir(瑞德西韦或GS-5734)、法匹拉韦(favipiravir)、Galidesivir、GS-441524、NHC(EIDD-1931)、EIDD-2801、GC-376、洛匹那韦(Lopinavir)、利托那韦(Ritonavir)、奈非那韦(Nelfinavir)；氯喹(Chloroquine)、羟氯喹(hydroxychloroquine)、环孢菌素(cyclosporine)、可利霉素(Carrimycin)、黄芩
20 苷(baicalin)、黄芩素(baicalein)、连翘脂苷(forsythoside)、绿原酸(chlorogenic acid)、大黄素(emodin)、霉酚酸(mycophenolic acid)、霉酚酸酯(Mycophenolate mofetil)、萘酚喹(Naphthoquine)、环索奈德(Ciclesonide)、利巴韦林(Ribavirin)、喷昔洛韦(Penciclovir)、来氟米特(Leflunomide)、特立氟胺(Teriflunomide)、萘莫司他(nafamostat)、硝唑尼特(nitazoxanide)、达芦那韦(Darunavir)、阿比多尔(Arbidol)、卡莫司他(Camostat)、氯硝柳胺(Niclosamide)、巴瑞替尼(baricitinib)、芦可替尼(Ruxolitinib)、达沙替尼(Dasatinib)、沙奎那韦(Saquinavir)、Beclabuvir、司美匹韦(Simeprevir)、帕利珠单抗、莫维珠单抗(Motavizumab)、RSV-IGIV(RespiGam®)、MEDI-557、A-60444(RSV-604)、MDT-637、BMS-433771、或其药学上可接受的盐、或其组合。

30 在另一优选例中，含所述化合物的药物组合物还包括施用治疗有效量的选自下组的至少一种其它治疗剂：皮质类固醇、抗炎信号转导调节剂、 β 2-肾上腺素受体激动剂支气管扩张药、抗胆碱能药、黏液溶解药、高渗盐水和用于治疗病毒感染的其它药物；或其组合。

在另一优选例中，所述的制剂为药物组合物。

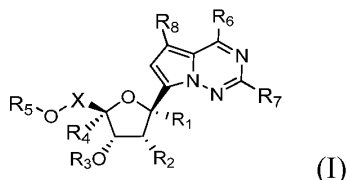
35 在另一优选例中，所述的制剂(或药物组合物)包括：口服制剂和非口服制剂。

在另一优选例中，所述的制剂包括：粉剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂、吸入剂、

酞剂、口服液、片剂、含片、或滴丸。

在本发明的第三方面。提供了一种药物组合物，所述的药物组合物含有：

- (a1) 第一活性成分，所述的第一活性成分为式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐或其结晶水合物或其溶剂化物或其前药：



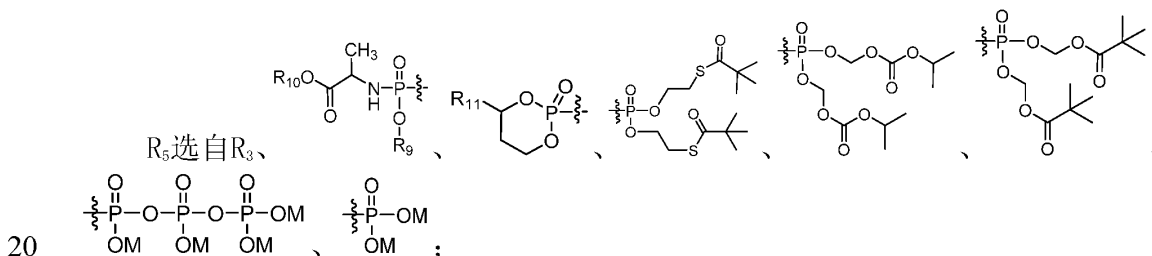
式中，

- R₁选自氢、氘、卤素、氰基、叠氮、氨基、C₁₋₆烷基取代的氨基、C₁₋₆酰基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷酰基取代的氨基、卤代C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆烯氧基、C₂₋₆炔氧基、C₂₋₆炔基、C₃₋₆环烷基、卤代C₃₋₆环烷基、氨基甲酰基、羟甲基、氰基甲基(-CH₂CN)、脒基、胍基、脲基、氰硫基(-SCN)、氰氧基(-OCN)；

R₂选自氢、卤素、OR₃、氰基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基；

R₃选自氢、C₁₋₂₀烷酰基、氨基C₁₋₂₀烷酰基、C₁₋₆烷氨基C₁₋₆烷酰基、C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基、α-氨基酸，所述α-氨基酸的羧基与呋喃环上的羟基以酯键相连；

- R₄选自氢、氘、卤素、叠氮、氰基、C₁₋₆烷基、卤代C₁₋₆烷基、叠氮C₁₋₆烷基、氰基C₁₋₆烷基、羟基C₁₋₆烷基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基、C₃₋₆环烷基、C₁₋₆烷酰基、C₂₋₆烯氧基、C₂₋₆炔氧基、C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基、氨基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氨基C₁₋₆烷基、脒基、胍基、脲基、氰硫基、氰氧基；



R₆选自氨基、羟基、卤素、氰基、氰氧基、氰硫基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷氨基、NHOH、NHCOR₁₂、NHOCOR₁₂、NHCOOR₁₂；

R₇选自氢、氘、卤素、氨基、甲基、NHCOR₁₂、NHCOOR₁₂；

- R₈选自氢、氘、卤素、氰基、氨基甲酰基、C₁₋₆烷基取代的氨基甲酰基、C₁₋₆烷氧基酰胺基、C₁₋₆烷氧羰基、羟基、羟基C₁₋₆烷基、氨基、C₁₋₆烷酰基取代的氨基、C₁₋₆烷基取代的氨基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₂₋₆烯基、C₂₋₆炔基；

X选自CH₂、CD₂、-CHD-；

R₉选自C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、C₆₋₂₀芳基、5-15元杂芳基；

R₁₀选自C₁₋₁₈烷基、亚甲基C₆₋₂₀芳基；

R₁₁选自C₁₋₆烷基、C₃₋₆环烷基、C₆₋₂₀芳基、5-15元杂芳基；

R₁₂选自C₁₋₂₀烷基；

M各自独立地选自氢、金属、-NH₄或质子化的有机胺；

以及(b)药学上可接受的载体。

5 在另一优选例中，所述的组合物还含有(a2)第二活性成分；

其中，所述的第二活性成分为抗病毒药物，其选自下组：干扰素、RNA 依赖的 RNA 聚合酶抑制剂(如 Remdesivir(瑞德西韦或 GS-5734)、法匹拉韦(favipiravir)、Galidesivir、GS-441524、NHC(EIDD-1931)、EIDD-2801)、3CL 蛋白酶抑制剂(如 GC-376)、洛匹那韦(Lopinavir)、利托那韦(Ritonavir)、奈非那韦(Nelfinavir)；
10 氯喹(Chloroquine)、羟氯喹(hydroxychloroquine)、环孢菌素(cyclosporine)、可利霉素(Carrimycin)、黄芩苷(baicalin)、黄芩素(baicalein)、连翘脂苷(forsythoside)、绿原酸(chlorogenic acid)、大黄素(emodin)、霉酚酸(mycophenolic acid)、霉酚酸酯(Mycophenolate mofetil)、萘酚喹(Naphthoquine)、环索奈德(Ciclesonide)、利巴韦林(Ribavirin)、喷昔洛韦(Penciclovir)、来氟米特(Leflunomide)、特立氟胺(Teriflunomide)、萘莫司他(nafamostat)、硝唑尼特(nitazoxanide)、达芦那韦(Darunavir)、阿比多尔(Arbidol)、卡莫司他(Camostat)、氯硝柳胺(Niclosamide)、巴瑞替尼(baricitinib)、芦可替尼(Ruxolitinib)、达沙替尼(Dasatinib)、沙奎那韦(Saquinavir)、Beclabuvir、司美匹韦(Simeprevir)、帕利珠单抗、莫维珠单抗
15 (Motavizumab)、RSV-IGIV(RespiGam®)、MEDI-557、A-60444(RSV-604)、MDT-637、BMS-433771、或其药学上可接受的盐、或其组合；

和/或所述的第二活性成分选自下组：用于治疗呼吸道感染的支气管扩张药和皮质类固醇，其中所述皮质类固醇包括地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟米龙、醋酸氟米龙、氯替泼诺、依碳酸氯替泼诺、氢化可的松、泼尼松龙、氟氢可的松、曲安
25 西龙、曲安奈德、倍他米松、双丙酸倍氯美松、甲泼尼龙、氟轻松、氟西奈德、氟尼缩松、氟可丁-21-丁酯(fluocortin-21-butylate)、氟米松、新戊酸氟米松、布地奈德、丙酸卤贝他索、糠酸莫米他松、丙酸氟替卡松、环索奈德；或其药学上可接受的盐。

和/或所述的第二活性成分选自下组：锌(Zinc)、芬戈莫德(Fingolimod)、维
30 生素 C(Vitamin C)、奥美沙坦酯(Olmesartan Medoxomil)、缬沙坦(valsartan)、氯沙坦(Losartan)、沙利度胺(Thalidomide)、甘草酸(glycyrrhizic acid)、青蒿素(Artemisinin)、双氢青蒿素(dihydroartemisinin)、青蒿琥酯(Artesunate)、青蒿酮(Artemisone)、阿奇霉素(Azithromycin)、七叶皂苷(Escin)、萘普生(Naproxen)、或其组合。

35 在另一优选例中，所述式(I)化合物式中，

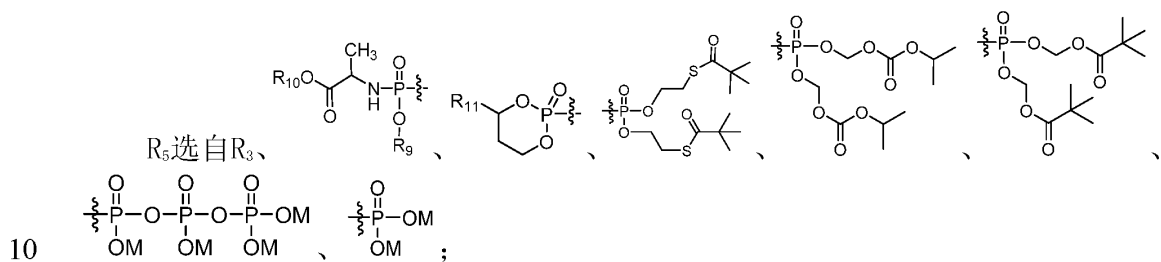
R_i选自氢、氘、卤素、氰基、叠氮、甲基、氯甲基、氟甲基、乙烯基、乙炔基、

环丙基、氨甲酰基、羟甲基、甲氧基、甲酰基、脒基；

R_2 选自卤素、氰基、氨基、甲酰基、 OR_3 ；

R_3 选自氢、 C_{1-20} 烷基酰基、 α -氨基酸，所述 α -氨基酸的羧基与呋喃环上的羟基以酯键相连；优选地，所述 α -氨基酸选自丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、苯丙氨酸；

R_4 选自氢、氘、卤素、叠氮、氰基、甲基、氯甲基、氟甲基、二氟甲基、乙烯基、乙炔基、环丙基、羟甲基、叠氮甲基($-CH_2N_3$)、甲酰基、乙酰基、甲酰胺基、乙酰胺基；



R_6 选自氨基、羟基、卤素、氰基、甲基氨基($-\text{NH}_2\text{CH}_3$)、 NHOH 、 NHCOR_{12} 、 NHOCOR_{12} 、 NHCOR_{12} ；

R_7 选自氢、氘、卤素、氨基；

R_8 选自氢、氘、卤素、氰基、氨甲酰基、N-甲基氨基甲酰基($\text{CH}_3\text{NHCO}-$)、甲基、乙基、乙炔基、甲氧羰基、乙氧羰基、羟基、羟甲基、羟乙基、甲氧基、乙氧基、甲酰基、乙酰基、甲酰氨基、乙酰氨基、甲氧羰基氨基($\text{CH}_3\text{OC(=O)NH}_2-$)、乙氧羰基氨基($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC(=O)NH}_2-$)、甲氧羰基氧基($\text{CH}_3\text{OC(=O)O}-$)、乙氧羰基氧基($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC(=O)O}-$)；

X 选自 CH_2 、 CD_2 、 $-\text{CHD}-$ ；

R_9 选自 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基；

R_{10} 选自 C_{1-18} 烷基、亚甲基 C_{6-20} 芳基；

R_{11} 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基；

R_{12} 选自 C_{1-20} 烷基；和/或

M 各自独立地选择氢、锌、镁、钙、钠、钾、 NH_4 、质子化的三甲胺、质子化的三乙胺、质子化的三正丁胺。

25 在另一优选例中，所述式(I)化合物为化合物A1至A221中任一化合物、或其组合。

在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物A1、A5、A6、A8、A9、A10、A11、A12、A13、A14、A28、A30、A35、A36、A37、A38、A39、A40、A41、A42、A43、A44、A45、A46、A49、A50、A51、A52、A53、A54、A55、A57、A58、A63、A69、A70、A71、A72、A73、A74、A75、A76、A77、A78、A79、A80、A81、A84、A86、A87、A88、A89、A91、A95、A97、A99、A101、A102、A105、A106、A107、A108、A109、A110、A111、A113、A114、A115、A116、A117、A118、A119、A120、

A121、A122、A123、A124、A125、A126、A127、A128、A129、A130、A131、A132、A133、A134、A135、A136、A137、A138、A139、A140、A141、A142、A143、A144、A145、A146、A147、A148、A149、A150、A151、A152、A153、A154、A155、A156、A157、A158、A159、A160、A161、A162、A163、A164、A165、A166、A167、A168、
5 A169、A170、A171、A172、A173、A174、A175、A176、A177、A178、A179、A180、A181、A182、A183、A184、A185、A186、A187、A188、A189、A190、A191、A192、A193、A194、A195、A196、A197、A198、A199、A200、A201、A202、A203、A204、A205、A206、A207、A208、A209、A210、A211、A212、A213、A214、A215、A216、A217、A218、A219、A220、A221或其组合。

10 在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物A1、A9、A10、A11、A12、A49、A50、A51、A52、A53、A69、A70、A71、A72、A74、A75、A76、A77、A84、A87、A102、A106、A107、A108、A109、A124、A131、A138、A140、A144、A146、A147、A151、A164、A171、A173、A174、A180、A181、A188、A196、A198、A209、A212、A213、A214、A215、A216、A221 或其组合。

15 在另一优选例中，所述的第二活性成分选自下组：(Y1) RNA 复制酶抑制剂(如Remdesivir(瑞德西韦或 GS-5734)、法匹拉韦(favipiravir)、Galidesivir、GS-441524、NHC、EIDD-2801)；(Y2) 洛匹那韦(Lopinavir)；(Y3) 利托那韦(Ritonavir)；(Y4) 法匹拉韦；(Y5) 氯喹(Chloroquine)、羟氯喹(hydroxychloroquine)、或其药学上可接受的盐(如磷酸氯喹)、(Y6) 奈非那韦(Nelfinavir)；(Y7) 上述 Y1~Y6 的任意组合。

20 在另一优选例中，所述的药物组合物用于抑制冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒和/或猪流行性腹泻病毒(PEDV)复制。

在另一优选例中，所述药物用于抑制 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)复制。

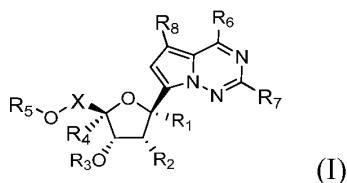
25 在本发明的第四方面，提供了本发明第三方面所述的药物组合物的用途，它被用于制备(a)抑制冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒和/或猪流行性腹泻病毒(PEDV)；和/或(b)治疗和/或预防、缓解由冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒和/或猪流行性腹泻病毒(PEDV)感染引起的相关疾病的药物。

30 在另一优选例中，用于制备(a)抑制 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)复制的抑制剂；和/或(b)治疗和/或预防、缓解由 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)感染引起的相关疾病的药物。

在本发明第五方面，提供了一种抑制病毒复制的方法，包括步骤：

35 将第一活性成分或含所述第一活性成分的制剂与病毒接触，从而抑制所述病毒的复制；

其中,所述的第一活性成分为式 I 化合物或其药学上可接受的盐或其结晶水合物或其溶剂化物或其前药:



式中,

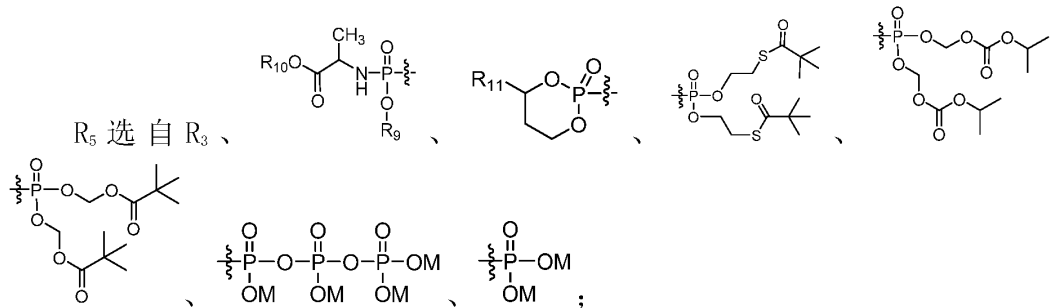
- 5 R_1 选自氢、氘、卤素、氰基、叠氮、氨基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基、 C_{1-6} 酰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基、卤代 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 烯氧基、 C_{2-6} 炔氧基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、卤代 C_{3-6} 环烷基、氨基甲酰基、羟甲基、氰基甲基($-\text{CH}_2\text{CN}$)、脒基、胍基、脲基、氰硫基($-\text{SCN}$)、氰氧基($-\text{OCN}$);

R_2 选自氢、卤素、 OR_3 、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基;

- 10 R_3 选自氢、 C_{1-20} 烷酰基、氨基 C_{1-20} 烷酰基、 C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷酰基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 α -氨基酸,所述 α -氨基酸的羧基与呋喃环上的羟基以酯键相连,优选地,所述 α -氨基酸选自丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、苯丙氨酸;

R_4 选自氢、氘、卤素、叠氮、氰基、 C_{1-6} 烷基、卤代 C_{1-6} 烷基、叠氮 C_{1-6} 烷基、氰基 C_{1-6} 烷基、羟基 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{1-6} 烷酰基、 C_{2-6} 烯氧基、 C_{2-6} 炔氧基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、氨基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷基、脒基、胍基、脲基、氰硫基、氰氧基;

- 15 R_5 选自 R_3 、



- 20 R_6 选自氨基、羟基、卤素、氰基、氰氧基、氰硫基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 烷氨基、 NHOH 、 NHCOR_{12} 、 NHOCOR_{12} 、 NHCOOR_{12} ;

R_7 选自氢、氘、卤素、氨基、甲基、 NHCOR_{12} 、 NHCOOR_{12} ;

R_8 选自氢、氘、卤素、氰基、氨基甲酰基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基甲酰基、 C_{1-6} 烷氧基酰胺基、 C_{1-6} 烷氧羰基、羟基、羟基 C_{1-6} 烷基、氨基、 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基、 C_{1-6} 烷基取代的氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} C_{1-6} 烷氧基、烯基、 C_{2-6} 炔基;

- 25 X 选自 CH_2 、 CD_2 、 $-\text{CHD}-$;

R_9 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基;

R_{10} 选自 C_{1-18} 烷基、亚甲基 C_{6-20} 芳基;

R_{11} 选自 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 C_{6-20} 芳基、5-15元杂芳基;

R₁₂选自C₁₋₂₀烷基；

M各自独立地选自氢、金属、NH₄或质子化的有机胺；

在另一优选例中，所述的病毒选自下组：冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒、猪流行性腹泻病毒、或其组合。

5 在另一优选例中，所述的病毒为 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)。

在另一优选例中，所述式(I)化合物为化合物 A1 至 A221 中任一化合物、或其组合。

在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物 A1、A5、A6、A8、A9、A10、A11、A12、A13、A14、A28、A30、A35、A36、A37、A38、A39、A40、A41、
10 A42、A43、A44、A45、A46、A49、A50、A51、A52、A53、A54、A55、A57、A58、A63、A69、A70、A71、A72、A73、A74、A75、A76、A77、A78、A79、A80、A81、A84、A86、A87、A88、A89、A91、A95、A97、A99、A101、A102、A105、A106、A107、A108、A109、A110、A111、A113、A114、A115、A116、A117、A118、A119、A120、A121、A122、A123、A124、A125、A126、A127、A128、A129、A130、A131、A132、
15 A133、A134、A135、A136、A137、A138、A139、A140、A141、A142、A143、A144、A145、A146、A147、A148、A149、A150、A151、A152、A153、A154、A155、A156、A157、A158、A159、A160、A161、A162、A163、A164、A165、A166、A167、A168、A169、A170、A171、A172、A173、A174、A175、A176、A177、A178、A179、A180、A181、A182、A183、A184、A185、A186、A187、A188、A189、A190、A191、A192、
20 A193、A194、A195、A196、A197、A198、A199、A200、A201、A202、A203、A204、A205、A206、A207、A208、A209、A210、A211、A212、A213、A214、A215、A216、A217、A218、A219、A220、A221 或其组合。

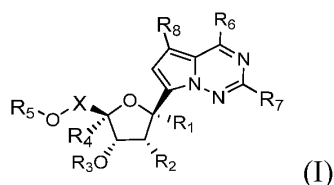
在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物 A1、A9、A10、A11、A12、A49、A50、A51、A52、A53、A69、A70、A71、A72、A74、A75、A76、A77、
25 A84、A87、A102、A106、A107、A108、A109、A124、A131、A138、A140、A144、A146、A147、A151、A164、A171、A173、A174、A180、A181、A188、A196、A198、A209、A212、A213、A214、A215、A216、A221 或其组合。

在另一优选例中，所述方法是体外方法。

在另一优选例中，所述方法是非治疗性和非诊断性的。

30

在本发明第六方面，提供了一种(a)抑制病毒复制和/或(b)治疗和/或预防、缓解由病毒感染引起的相关疾病的方法，包括步骤：给需要的对象施用安全有效量的式 I 所示的化合物或其药学上可接受的盐或其结晶水合物或其溶剂化物或其前药：



式中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 和X如本发明第一方面中所定义。

在另一优选例中，所述的对象为哺乳动物，如人。

- 5 应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

- 10 图1显示了本发明实施例中，设置病毒对照组、A151-S口服50 mg/kg组、A151-S口服100 mg/kg、瑞德西韦口服50 mg/kg组、瑞德西韦腹腔注射50 mg/kg组，给药2天后的病毒RNA拷贝情况。图2显示了本发明实施例中，设置病毒对照组、A151-S口服50 mg/kg组、A151-S口服100 mg/kg、瑞德西韦口服50 mg/kg组、瑞德西韦腹腔注射50 mg/kg组，给药5天后的病毒RNA拷贝情况。
- 15 图3显示了本发明实施例中，设置病毒对照组、A151-S腹腔注射100mg/kg组给药5天后的病毒RNA拷贝情况。

具体实施方式

- 20 本发明人经过广泛而深入的研究，通过大量筛选，首次意外地开发了一类可有效抑制病毒复制的活性成分。实验表明，本发明的活性成分可高效地抑制2019新型冠状病毒(SARS-CoV-2)等多种病毒的复制和活力，因此可用于抑制冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒和/或猪流行性腹泻病毒的复制。在此基础上完成了本发明。

- 25 具体地，本发明揭示了具有式(I)所示的核苷类似物及其组合物在抗病毒中的用途，例如在抗冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒、黄病毒科病毒、丝状病毒科病毒和/或猪流行性腹泻病毒(PEDV)中的用途。式(I)所示的核苷类似物对SARS-CoV-2等病毒的复制具有优良的抑制作用，具有良好的临床应用前景。

术语

- 30 如本文所用，“本发明的活性化合物”、“本发明的活性成分”、“本发明的核苷类似物”“本发明的抑制冠状病毒复制的活性化合物”可互换使用，指具有优异的抑制冠状病毒复制的活性的核苷类似物，包括式I所示的化合物，或其药学上可接受的盐、或其溶剂合物、或其前药、或其组合。

如本文所用,“本发明的制剂”指含有本发明活性化合物的制剂。

如本文所用,术语“包括”或其变换形式如“包含”或“包括有”等等,被理解为包括所述的元件或组成部分,而并未排除其它元件或其它组成部分。

如本文所用,术语“新型冠状病毒”、“2019-nCoV”或“SARS-CoV-2”可互
5 换使用,该 2019 新型冠状病毒是已知感染人的第 7 种冠状病毒,并且造成新冠肺炎(COVID-19),是威胁全球人类健康的严重传染性疾病之一。

如本文所用,“卤素”通常是指氟、氯、溴及碘;优选为氟、氯或溴;更优选为氟或氯。

如本文所用,术语“ C_n-C_m ”与 C_{n-m} 可互换使用,指具有 n 至 m 个碳原子。

10 如本文所用,术语“ C_1-C_6 烷基”指含有 1-6 个碳原子的直链或支链的饱和烃基,例如,甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1-乙基丙基、异戊基、新戊基、异己基、3-甲基戊基或正己基等,优选为甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、异丁基或叔丁基。

15 卤代 C_1-C_6 烷基是指含有 1-6 个碳原子的直链或支链的饱和烃基的氢原子被 1 个或多个相同或不同的卤原子取代,例如三氟甲基、氟甲基、二氟甲基、氯甲基、溴甲基、二氯氟甲基、氯乙基、溴丙基、2-氯丁基或五氟乙基等;

20 C_1-C_6 烷氧基指含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷氧基,例如,甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基、仲丁氧基、正戊氧基、异戊氧基、新戊氧基、异己氧基、3-甲基戊氧基或正己氧基等,优选为甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基或叔丁氧基; C_1-C_6 烷酰基指含有 1-6 个碳原子的直连或支链烷酰基,如甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基、叔丁酰基或己酰基等。

C_{1-6} 烷基取代的氨基是指氨基氢原子被一个或多个 C_1-C_6 烷基取代,例如 $-NHCH_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 等。

25 C_{1-6} 烷酰基取代的氨基是指氨基氢原子被一个或多个 C_1-C_6 烷基取代,例如 $-NHCOCH_3$ 、 $-NHCOCH_2CH_3$ 等。

30 C_2-C_6 烯基指含有 1-3 个双键和 2-6 个碳原子的直链或支链的不饱和烃基,既包括顺式构型也包括反式构型,例如,乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-甲基-1-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、2-甲基-2-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-戊烯基、4-戊烯基、1,3-丁二烯基、1,3-戊二烯基、1-己烯基、2-己烯基、3-己烯基、4-己烯基、5-己烯基、3,3-二甲基-1-丙烯基或 2-乙基-1-丙烯基等。

C_2-C_6 炔基指含有 2-6 个碳原子的直链或支链炔基,例如,乙炔基、2-丙炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、1-甲基-2-丙炔基、2-戊炔基、2-戊炔基或 2-己炔基等。

35 C_2-C_6 烯氧基是指含有 1-3 个双键和 2-6 个碳原子的直链或支链的链烯氧基,如乙烯氧基、1-丙烯氧基、1-甲基-1-丙烯氧基、2-甲基-1-丙烯氧基、1-戊烯氧基、

1, 3-戊二烯氧基或 2-戊烯氧基等。

C_2-C_6 炔氧基指含有 2-6 个碳原子的直链或支链炔氧基, 例如, 乙炔氧基、2-丙炔氧基、2-丁炔氧基、3-丁炔氧基、1-甲基-2-丙炔氧基、2-戊炔氧基或 2-己炔氧基等。

- 5 氨基 C_{1-20} 烷酰基指与含有 1-20 个碳原子的直链或支链烷酰基的一个碳原子与氨基连接, 如 $-COCH_2NH_2$ 、 $-COCH_2CH_2NH_2$ 等。

C_{1-6} 烷氨基 C_{1-6} 烷酰基指 C_{1-6} 烷基取代的氨基的氮原子与含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷酰基的非羰基碳原子连接, 如 $-COCH_2NHCH_3$ 、 $-COCH_2CH_2NHCH_2CH_3$ 等。

- 10 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基指与含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷氧基的氧原子与 C_{1-6} 烷基的碳原子连接, 如 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2OCH_2CH_3$ 等。

氨基 C_{1-6} 烷基指与含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷基的一个碳原子与氨基连接, 如 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2CH_2NH_2$ 、 $-CH(NH_2)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2NH_2$ 或 $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ 等。

C_{1-6} 烷基取代的氨基甲酰基是指氨基甲酰基上的氢原子被 1 个或 2 个相同或不同的 C_1-C_6 烷基取代, 例如 $-CONHMe$ 、 $-CONHEt$ 、 $-CON(Me)Et$ 、 $-CONEt_2$ 或 $-CONMe_2$ 等。

- 15 羟基 C_1-C_6 烷基指含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷基的一个碳原子与羟基连接, 如 $-CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2OH$ 、 $-CH(OH)CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2OH$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2OH$ 或 $-CH_2CH(CH_3)CH_2OH$ 等。

C_{1-6} 烷氧基酰胺基指含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷氧基的氧原子与酰胺基的羰基连接, 例如 $-NHC(=O)OCH_3$ 、 $-NHC(=O)OCH_2CH_3$ 等。

- 20 C_{1-6} 烷氧羰基含有 1-6 个碳原子的直链或支链烷氧基的氧原子与羰基连接, 例如 $-COOCH_3$ 、 $-COOCH_2CH_3$ 等。

冠状病毒

- 25 冠状病毒 (Coronavirus, CoV) 属于套式病毒目 (Nidovirales) 冠状病毒科 (Coronaviridae), 是一种有包膜的正链 RNA 病毒, 其亚科包含 α 、 β 、 δ 及 γ 四属。

目前已知的感染人的冠状病毒中, HCoV-229E 和 HCoV-NL63 属于 α 属冠状病毒, HCoV-OC43、SARS-CoV、HCoV-HKU1、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2 均为 β 属冠状病毒。SARS-CoV-2 也被称为 2019-nCoV。

- 30 2003 年和 2012 年分别爆发的高致病性冠状病毒“非典”SARS-CoV 和“中东呼吸综合征”MERS-CoV 均属于 β 属冠状病毒。2019 年年底爆发的新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 与 SARS-CoV 有约 80% 相似性、与 MERS-CoV 有 40% 的相似性, 也属于 β 属冠状病毒。

- 35 该类病毒的基因组是一条单股正链 RNA, 是基因组最大的 RNA 病毒之一, 编码包括复制酶、刺突蛋白、囊膜蛋白、包膜蛋白和核壳蛋白等。在病毒复制的初始阶段, 基因组被翻译成两条长达几千个氨基酸的肽链即前体多聚蛋白 (Polyprotein), 随后前体蛋白被蛋白酶切割生成非结构蛋白 (如 RNA 聚合酶和解旋酶) 和结构蛋白

(如刺突蛋白)及辅助蛋白。

流感病毒

流行性感冒病毒简称流感病毒, 常见的流感病毒分为甲(A)、乙(B)、丙(C)和丁(D)型。流感病毒可引起人、禽、猪、马、蝙蝠等多种动物感染和发病, 是人流感、禽流感、猪流感、马流感等人与动物疫病的病原。

流感病毒引起的临床症状包括急性高热、全身疼痛、显著乏力和呼吸道症状。人流感主要是甲型流感病毒和乙型流感病毒引起的。甲型流感病毒经常发生抗原变异, 可以进一步分为H1N1、H3N2、H5N1、H7N9等亚型。

呼吸道合胞病毒

呼吸道合胞病毒(RSV, 简称合胞病毒, 也属副粘病毒科)是引起小儿病毒性肺炎最常见的病原, 可引起间质性肺炎。

RSV与副流感病毒类似, 病毒颗粒大小约为150nm, 较副流感病毒稍小, 为RNA病毒。

黄病毒科病毒

黄病毒科病毒是一类主要感染哺乳类动物的RNA病毒, 包括3个病毒属, 黄病毒属(flavivirus)、瘟病毒属(pestivirus)和丙型肝炎病毒属(hepacivirus)。登革热病毒(DENV)和寨卡病毒(Zika)属于黄病毒属, 由蚊媒传播。登革病毒感染可引起明显的发热和疼痛症状, 重度的登革热症状还表现为头痛, 恶心, 呕吐, 意识不清, 甚至休克等。寨卡病毒(Zika)感染后症状与登革热相似, 一般较轻。丙肝病毒(HCV)属于丙型肝炎病毒属, 是慢性丙型肝炎的病原体, 可导致肝硬化、肝癌。

丝状病毒科病毒

丝状病毒科目前包含三个属, 分别为埃博拉病毒属、马尔堡病毒属、奎瓦病毒属。马尔堡病毒和埃博拉病毒都可以引起严重的出血热, 人感染后会出现高烧和出血症状, 进一步会导致患者休克、器官衰竭, 直至死亡。

猪流行性腹泻病毒(PEDV)

猪流行腹泻病毒(PEDV), 属于冠状病毒科冠状病毒属。猪流行性腹泻是由PEDV病毒引起的仔猪和育肥猪的一种急性肠道传染病。

PEDV病毒经口和鼻感染后, 直接进入小肠。PEDV病毒的复制可在小肠和结肠绒毛上皮细胞浆中进行。PEDV可导致腹泻, 属于渗透性腹泻。严重腹泻引起脱水, 是导致病猪死亡的主要原因。

本发明的活性化合物和活性成分

在本发明中，提供了一种可有效抑制冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒和/或猪流行性腹泻病毒(PEDV)尤其是 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)复制的活性成分。

在本发明中，活性成分选自本发明第一方面中所述的式(I)所示的核苷类似物、或其药学上可接受的盐、或其前药、或其组合、或其晶体、或其溶剂化物。

优选的核苷类似物的结构式为实施例中所制备的化合物或其药学上可接受的盐、或其前药、或其组合、或其晶体、或其溶剂化物，尤其是化合物A1至A221中任一化合物、或其组合。

在另一优选例中，所述的式(I)化合物选自下组：化合物A1、A5、A6、A8、A9、A10、A11、A12、A13、A14、A28、A30、A35、A36、A37、A38、A39、A40、A41、A42、A43、A44、A45、A46、A49、A50、A51、A52、A53、A54、A55、A57、A58、A63、A69、A70、A71、A72、A73、A74、A75、A76、A77、A78、A79、A80、A81、A84、A86、A87、A88、A89、A91、A95、A97、A99、A101、A102、A105、A106、A107、A108、A109、A110、A111、A113、A114、A115、A116、A117、A118、A119、A120、A121、A122、A123、A124、A125、A126、A127、A128、A129、A130、A131、A132、A133、A134、A135、A136、A137、A138、A139、A140、A141、A142、A143、A144、A145、A146、A147、A148、A149、A150、A151、A152、A153、A154、A155、A156、A157、A158、A159、A160、A161、A162、A163、A164、A165、A166、A167、A168、A169、A170、A171、A172、A173、A174、A175、A176、A177、A178、A179、A180、A181、A182、A183、A184、A185、A186、A187、A188、A189、A190、A191、A192、A193、A194、A195、A196、A197、A198、A199、A200、A201、A202、A203、A204、A205、A206、A207、A208、A209、A210、A211、A212、A213、A214、A215、A216、A217、A218、A219、A220、A221或其组合。

试验表明，本发明的活性成分可有效地抑制 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的复制，从而预防、治疗和/或缓解 SARS-CoV-2 相关疾病。

如本文所用，“本发明的活性化合物”、“本发明的抑制病毒复制的活性化合物”可互换使用，指具有优异的抑制病毒复制的活性的化合物，包括式 I 核苷类似物或其药学上可接受的盐、或其晶体、或其溶剂化物。

应理解，本发明的活性成分包括式 I 化合物、或其药学上可接受的盐、对映异构体、非对映异构体或外消旋体、或其前药。应理解，本发明的活性成分还包括本发明的活性化合物的晶型、无定形化合物、以及氘代化合物等形式。

所述“药学上可接受的盐”为本发明的活性化合物与无机酸或有机酸反应形成常规的无毒盐。例如，常规的无毒盐可通过本发明的活性化合物与无机酸或有机酸反应制得，所述无机酸包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、氨基磺酸和磷酸等，所述有机酸包括柠檬酸、酒石酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、萘磺酸、乙磺酸、萘二磺酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、富马酸、琥珀酸、丙

酸、草酸、三氟乙酸、硬脂酸、扑酸、羟基马来酸、苯乙酸、苯甲酸、水杨酸、谷氨酸、抗坏血酸、对氨基苯磺酸、2-乙酰氧基苯甲酸和羟乙磺酸等；或者本发明的活性化合物与丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸或谷氨酸形成酯后再与无机碱形成的钠盐、锌盐、钾盐、钙盐、铝盐或铵盐；或者本发明的活性化合物与赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸形成酯后再与盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸或磷酸形成的对应的无机酸盐或与甲酸、乙酸、苦味酸、甲磺酸或乙磺酸形成的对应的有机酸盐；或者本发明的活性化合物分子中的 1-4 个磷酸基与 1-4 分子有机胺形成盐，包括但不限于单磷酸三甲胺盐、单磷酸三乙胺盐、单磷酸三正丁胺盐、三磷酸三甲胺盐、三磷酸三乙胺盐、三磷酸三正丁胺盐。

此外，本发明的活性成分还特别适合与其他抗病毒药物或抗冠状病毒药物联用。代表性的其他的抗病毒药物或抗冠状病毒药物包括(但不限于)：干扰素、RNA 依赖的 RNA 聚合酶抑制剂(如 Remdesivir(瑞德西韦或 GS-5734)、法匹拉韦(favipiravir)、Galidesivir、GS-441524、NHC、EIDD-2801)；3CL 蛋白酶抑制剂(如 GC-376)、洛匹那韦(Lopinavir)、利托那韦(Ritonavir)、奈非那韦(Nelfinavir)；氯喹(Chloroquine, Sigma-C6628)、羟氯喹、环孢菌素(cyclosporine)、可利霉素(Carrimycin)、黄芩苷(baicalin)、黄芩素(baicalein)、连翘脂苷(forsythoside)、绿原酸(chlorogenic acid)、大黄素(emodin)、霉酚酸(mycophenolic acid)、霉酚酸酯(Mycophenolate mofetil)、萘酚喹(Naphthoquine)、环索奈德(Ciclesonide)、利巴韦林(Ribavirin)、喷昔洛韦(Penciclovir)、来氟米特(Leflunomide)、特立氟胺(Teriflunomide)、萘莫司他(nafamostat)、硝唑尼特(nitazoxanide)、达芦那韦(Darunavir)、阿比多尔(Arbidol)、卡莫司他(Camostat)、氯硝柳胺(Niclosamide)、巴瑞替尼(baricitinib)、芦可替尼(Ruxolitinib)、达沙替尼(Dasatinib)、沙奎那韦(Saquinavir)、Beclabuvir、司美匹韦(Simeprevir)、帕利珠单抗、莫维珠单抗(Motavizumab)、RSV-IGIV(RespiGam®)、MDI-557、A-60444(RSV-604)、MDT-637、BMS-433771 或其药学上可接受的盐、或其组合。所述干扰素包括干扰素 α -2a、干扰素 α -2b、干扰素 α -n1、干扰素 α -n3、干扰素 β -1a、干扰素 β -1b 中的一种或多种。

用于治疗呼吸症状和感染后遗症的另外活性治疗剂也可以与式I化合物组合使用。其它药剂优选地口服或通过直接吸入来施用。例如，与式I化合物组合用于治疗呼吸道感染的其它优选的另外治疗剂包括但不限于支气管扩张药和皮质类固醇。

糖皮质激素类，最初在1950年作为哮喘疗法被介绍(Carryer, Journal of Allergy, 21, 282-287, 1950)，对该疾病保持是最有效的且一贯有效的疗法，但还未完全理解它们的作用机制(Morris, J. Allergy Clin. Immunol., 75(1Pt) 1-13, 1985)。不幸地，口服糖皮质激素疗法与深远的期望副作用

用相关联，副作用例如向心性肥胖症、高血压、青光眼、葡萄糖耐受不良、白内障形成加速、骨密度损失(bone mineral loss)和心理影响，所有这些限制它们用作长期治疗剂(Goodman和Gilman, 第10版, 2001)。对全身副作用的解决方案是将类固醇药物直接递送至炎症部位。已经开发被吸入的皮质类固醇(ICS)来减轻口服类固醇的严重副作用。可以与式I化合物组合使用的皮质类固醇的非限制性实例是地塞米松、地塞米松磷酸钠、氟米龙、醋酸氟米龙、氯替泼诺、依碳酸氯替泼诺、氢化可的松、泼尼松龙、氟氢可的松、曲安西龙、曲安奈德、倍他米松、双丙酸倍氯美松、甲泼尼龙、氟轻松、氟西奈德、氟尼缩松、氟可丁-21-丁酯(fluocortin-21-butylate)、氟米松、新戊酸氟米松、布地奈德、丙酸卤贝他索、糠酸莫米他松、丙酸氟替卡松、环索奈德；或其药学上可接受的盐。

通过抗炎级联机制起作用的其它抗炎剂还可用作与式I化合物组合用于治疗病毒性呼吸道感染的另外的治疗剂。应用“抗炎信号转导调节剂”(在本文中被称为AISTM)比如磷酸二酯酶抑制剂(例如PDE-4、PDE-5或PDE-7特异的)、转录因子抑制剂(例如通过IKK抑制阻断NF κ B)或激酶抑制剂(例如阻断P38MAP、JNK、PI3K、EGFR或Syk)，是切断炎症的合乎逻辑的方法，因为这些小分子的目标是有限数量的常见细胞内路径-是抗炎治疗干预的关键点的那些信号转导路径(参见，由P. J. Barnes, 2006综述的)。这些非限制性的另外的治疗剂包括：5-(2, 4-二氟-苯氧基)-1-异丁基-1H-吡唑-6-甲酸(2-二甲基氨基-乙基)-酰胺(P38Map激酶抑制剂ARRY-797)；3-环丙基甲氧基-N-(3, 5-二氯-吡啶-4-基)-4-二氟甲氧基-苯甲酰胺(PDE-4抑制剂罗氟司特)；4-[2-(3-环戊氧基-4-甲氧基苯基)-2-苯基-乙基]-吡啶(PDE-4抑制剂CDP-840)；N-(3, 5-二氯-4-吡啶基)-4-(二氟甲氧基)-8-[(甲基磺酰基)氨基]-1-二苯并呋喃甲酰胺(PDE-4抑制剂奥米斯特)；N-(3, 5-二氯-吡啶-4-基)-2-[1-(4-氟苄基)-5-羟基-1H-吡唑-3-基]-2-氧代-乙酰胺(PDE-4抑制剂AWD12-281)；8-甲氧基-2-三氟甲基-喹啉-5-甲酸(3, 5-二氯-1-氧基-吡啶-4-基)-酰胺(PDE-4抑制剂Sch351591)；4-[5-(4-氟苯基)-2-(4-甲亚磺酰基-苯基)-1H-咪唑-4-基]-吡啶(P38抑制剂SB-203850)；4-[4-(4-氟-苯基)-1-(3-苯基-丙基)-5-吡啶-4-基-1H-咪唑-2-基]-丁-3-炔-1-醇(P38抑制剂RWJ-67657)；4-氰基-4-(3-环戊氧基-4-甲氧基-苯基)-环己烷甲酸2-二乙基氨基-乙酯(西洛司特的2-二乙基-乙酯前药、PDE-4抑制剂)；(3-氯-4-氟苯基)-[7-甲氧基-6-(3-吗啉-4-基-丙氧基)-喹啉-4-基]-胺(吉非替尼, EGFR抑制剂)；和4-(4-甲基-哌嗪-1-基甲基)-N-[4-甲基-3-(4-吡啶-3-基-噻啶-2-基氨基)-苯基]-苯甲酰胺(伊马替尼, EGFR抑制剂)。

包括吸入的 β 2-肾上腺素受体激动剂支气管扩张药例如福莫特罗、沙丁胺醇或沙美特罗和式I化合物的组合还是可用于治疗呼吸道病毒性感染的合适的但非限制性的组合。

吸入的 β 2-肾上腺素受体激动剂支气管扩张药例如福莫特罗或沙美特罗与ICS的组合还用于治疗支气管狭窄和炎症两者。包括这些ICS和 β 2-肾上腺素受体激

动剂组合连同式I化合物的组合还是可用于治疗呼吸道病毒性感染的合适的但非限制性的组合。

对于治疗或预防肺支气管狭窄，抗胆碱能药具有潜在的用途且因此可用作与式I化合物组合用于治疗病毒性呼吸道感染的另外的治疗剂。这些抗胆碱能药包括但不仅限于，已经在人对于 COPD 中的胆碱能特性的控制显示出治疗功效的毒蕈碱性受体(特别是 M3 亚型)拮抗剂(Witek, 1999)；1-{4-羟基-1-[3, 3, 3-三-(4-氟-苯基)-丙酰基]-吡咯烷-2-羰基}-吡咯烷-2-甲酸(1-甲基-哌啶-4-基甲基)-酰胺；3-[3-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2-苯基-丙酰氧基]-8-异丙基-8-甲基-8-氮阳离子(azonia)-双环[3. 2. 1]辛烷(异丙托品-N,N-二乙基甘氨酸酯或盐)；1-环己基-3, 4-二氢-1H-异喹啉-2-甲酸 1-氮杂-双环[2. 2. 2]辛-3-基酯(索利那新)；2-羟基甲基-4-甲亚磺酰基-2-苯基-丁酸 1-氮杂-双环[2. 2. 2]辛-3-基酯(瑞伐托酯)；2-{1-[2-(2, 3-二氢-苯并呋喃-5-基)-乙基]-吡咯烷-3-基}-2, 2-二苯基-乙酰胺(达非那新)；4-氮杂环庚烷-1-基-2, 2-二苯基-丁酰胺(甲碘布卓(Buzepide))；7-[3-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2-苯基-丙酰氧基]-9-乙基-9-甲基-3-氧杂-9-氮阳离子-三环[3. 3. 1. 0^{2, 4}]壬烷(氧托品-N,N-二乙基甘氨酸酯或盐)；7-[2-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2, 2-二-噻吩-2-基-乙酰氧基]-9, 9-二甲基-3-氧杂-9-氮阳离子-三环[3. 3. 1. 0^{2, 4}]壬烷(噻托溴铵-N,N-二乙基甘氨酸酯或盐)；二甲基氨基-乙酸 2-(3-二异丙基氨基-1-苯基-丙基)-4-甲基-苯基酯(托特罗定-N,N-二甲基甘氨酸酯或盐)；3-[4, 4-双-(4-氟-苯基)-2-氧代-咪唑啉-1-基]-1-甲基-1-(2-氧代-2-吡啶-2-基-乙基)-吡咯烷鎓；1-[1-(3-氟-苄基)-哌啶-4-基]-4, 4-双-(4-氟-苯基)-咪唑烷-2-酮；1-环辛基-3-(3-甲氧基-1-氮杂-双环[2. 2. 2]辛-3-基)-1-苯基-丙-2-炔-1-醇；3-[2-(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-2, 2-二-噻吩-2-基-乙酰氧基]-1-(3-苯氧基-丙基)-1-氮阳离子-双环[2. 2. 2]辛烷(阿地溴铵-N,N-二乙基甘氨酸酯或盐)；或(2-二乙基氨基-乙酰氧基)-二-噻吩-2-基-乙酸 1-甲基-1-(2-苯氧基-乙基)-哌啶-4-基酯。

此外，由于 SARS-CoV-2 感染可引起急性肺损伤，本发明的活性成分还特别适合与具有改善急性肺损伤作用的药物联用。代表性的药物包括但不限于锌(Zinc)、芬戈莫德(Fingolimod)、维生素 C(Vitamin C)、奥美沙坦酯(Olmesartan Medoxomil)、缬沙坦(valsartan)、氯沙坦(Losartan)、沙利度胺(Thalidomide)、甘草酸(glycyrrhizic acid)、青蒿素(Artemisinin)、双氢青蒿素(dihydroartemisinin)、青蒿琥酯(Artesunate)、青蒿酮(Artemisone)、阿奇霉素(Azithromycin)、七叶皂苷(Escin)、萘普生(Naproxen)。所述锌(Zinc)包括但不限于硫酸锌、甘草酸锌、葡萄糖酸锌。

本发明的活性成分可抑制 SARS-CoV-2 等新型冠状病毒的感染活性。因此，当在治疗上施用或给予本发明的活性成分时，可抑制 2019 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的感染，进而达到抗病毒作用。

式 I 化合物还可以与黏液溶解药组合治疗感染和呼吸道感染症状两者。黏液溶解药的非限制性实例是氨溴索。同样地，式 I 化合物可以与祛痰药组合治疗感染和呼吸道感染症状两者。祛痰药的非限制性实例是愈创甘油醚。

雾化高渗盐水用于改进肺病患者中的小气道的即时和长期清除
5 (Kuzik, J. Pediatrics 2007, 266)。式 I 化合物还可以与雾化高渗盐水组合，特别是当副黏病毒科病毒感染并发细支气管炎时。式 I 化合物与高渗盐水的组合还可以包括上面所讨论的任意另外的药剂。在优选的方面，使用约 3% 雾化高渗盐水。

还可能使本发明的任意化合物与一种或多种另外活性治疗剂相组合在单位剂型中，用于同时或依次施用给患者。组合治疗可以作为同时或依次方案来施用。当
10 依次施用时，可以在两次或更多次施用中施用该组合。

本发明化合物与一种或多种另外活性治疗剂的共同施用一般是指，同时或依次施用本发明的化合物与一种或多种另外活性治疗剂，使得治疗有效量的本发明化合物和一种或多种另外活性治疗剂均存在于患者体内。

共同施用包括在施用单位剂量的一种或多种另外活性治疗剂之前或之后施用
15 单位剂量的本发明的化合物，例如，在施用一种或多种另外活性治疗剂的数秒、数分钟或数小时内，施用本发明的化合物。例如，可以首先施用单位剂量的本发明的化合物，随后在数秒或数分钟内，施用单位剂量的一种或多种另外活性治疗剂。或者，可以首先施用单位剂量的一种或多种其它治疗剂，随后在数秒或数分钟内，施用单位剂量的本发明的化合物。在有些情况下，可能需要首先施用单位剂量的本发
20 明的化合物，在数小时时期(例如 1-12 小时)后，施用单位剂量的一种或多种另外活性治疗剂。在其它情况下，可能需要首先施用单位剂量的一种或多种另外活性治疗剂，在数小时时期(例如 1-12 小时)后，施用单位剂量的本发明的化合物。

组合治疗可提供“增效作用”和“协同作用”，即，当活性成分一起使用时获得的效果大于分开使用化合物所得效果之和。当活性成分：(1) 被共同配制并以
25 组合制剂形式同时施用或递送；(2) 作为单独的制剂交替施用或平行递送；或(3) 通过一些其它施用方案递送时，可获得协同作用。当以交替治疗递送时，当化合物依次施用或递送时，例如以单独的片剂、丸剂或胶囊剂，或通过单独注射器的不同注射，可获得协同作用。通常，在交替治疗期间，有效剂量的每种活性成分被依次施用，即连续地施用，而在组合治疗中，有效剂量的两种或多种活性成分被一起施
30 用。协同的抗病毒作用表示，大于所述组合中的单个化合物的预测的纯累加效应的抗病毒作用。

在又一个实施方案中，提供了抑制细胞中的病毒 RNA 聚合酶的方法，其包括使受到病毒感染的细胞接触有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或前药(例如，酯)，由此抑制病毒 RNA 聚合酶。

35 在又一个实施方案中，提供了抑制细胞中的病毒 RNA 聚合酶的方法，其包括使受到病毒感染的细胞接触有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或前药(例如，酯)，由此抑制病毒 RNA 聚合酶。

和/或前药(例如, 酯), 和至少一种另外活性治疗剂, 由此抑制病毒 RNA 聚合酶。

在又一个实施方案中, 提供了抑制细胞中的病毒 RNA 聚合酶的方法, 其包括使受到病毒感染的细胞接触有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或前药(例如, 酯), 和选择的至少一种另外活性治疗剂。

5 在又一个实施方案中, 提供了治疗人或其他哺乳动物中的呼吸道病毒感染的方法, 其包括对所述人或其他哺乳动物施用治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或前药(例如, 酯)。

在又一个实施方案中, 提供了治疗人或其他哺乳动物中的呼吸道病毒感染的方法, 其包括对所述人或其他哺乳动物施用治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或前药(例如, 酯), 和至少一种另外活性治疗剂, 由此抑制呼吸道病毒 RNA 聚合酶。

在又一个实施方案中, 提供了治疗人或其他哺乳动物中的呼吸道病毒感染的方法, 其包括对所述人或其他哺乳动物施用治疗有效量的式 I 化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物和/或前药(例如, 酯), 和至少一种另外活性治疗剂。

15

药物组合物和应用

本发明还提供了以本发明的抑制病毒复制的活性化合物、或其药学上可接受的盐、或其前药的一种或多种的混合物为有效成分, 在制备治疗和/或预防、缓解由冠状病毒、流感病毒、呼吸道合胞病毒和/或猪流行性腹泻病毒(PEDV)等病毒(尤其是 2019 新型冠状病毒)感染引起的呼吸道感染、肺炎等相关疾病的药物中的用途。

本发明所提供的药物组合物优选含有重量比为 0.001-99wt%的活性成份, 优选的比例是本发明的活性化合物作为活性成分占总重量的 0.1wt%~90wt%或 1wt%~50wt%, 其余部分为药学可接受的载体、稀释液或溶液或盐溶液。

25 需要的时候, 在本发明药物中还可以加入一种或多种药学上可接受的载体。所述载体包括药学领域常规的稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、吸收促进剂、表面活性剂、吸附载体、润滑剂等。

本发明所提供的化合物和药物组合物可以是多种形式, 如片剂、胶囊、粉剂、糖浆、溶液状、悬浮液和气雾剂等, 并可以存在于适宜的固体或液体的载体或稀释液中和适宜的用于注射或滴注的消毒器具中。

30 本发明的药物组合物的各种剂型可按照药学领域的常规制备方法制备。其制剂配方的单位计量中通常包含 0.05-1000mg 本发明的活性化合物, 优选地, 制剂配方的单位计量中包含 1mg-500mg 本发明的活性化合物。

35 本发明的化合物和药物组合物可对哺乳动物临床使用, 包括人和动物, 可以通过口、鼻、皮肤、肺或者胃肠道等的给药途径。最优选为口服。最优选日剂量为 0.01-400 mg/kg 体重, 一次性服用, 或 0.01-200 mg/kg 体重分次服用。不管用何

种服用方法,个人的最佳剂量应依据具体的治疗而定。通常情况下是从小剂量开始,逐渐增加剂量一直到找到最适合的剂量。

- 5 本发明的药物或抑制剂可通过各种不同方式施用,例如可通过注射、喷射、滴鼻、滴眼、渗透、吸收、物理或化学介导的方法导入机体如肌肉、皮内、皮下、静脉、粘膜组织;或是被其他物质混合或包裹导入机体。

典型地,本发明活性成分或含有它的药物组合物可以单位剂量形式给药,给药途径可为肠道或非肠道,如口服、静脉注射、肌肉注射、皮下注射、鼻腔、口腔粘膜、眼、肺和呼吸道、皮肤、阴道、直肠等。

- 10 给药剂型可以是液体剂型、固体剂型或半固体剂型。液体剂型可以是溶液剂(包括真溶液和胶体溶液)、乳剂(包括 O/W 型、W/O 型和复乳)、混悬剂、注射剂(包括水针剂、粉针剂和输液)、滴眼剂、滴鼻剂、洗剂和搽剂等;固体剂型可以是片剂(包括普通片、肠溶片、含片、分散片、咀嚼片、泡腾片、口腔崩解片)、胶囊剂(包括硬胶囊、软胶囊、肠溶胶囊)、颗粒剂、散剂、微丸、滴丸、栓剂、膜剂、贴片、气(粉)雾剂、喷雾剂等;半固体剂型可以是软膏剂、凝胶剂、糊剂等。

- 15 本发明活性成分可以被制成普通制剂、也可以制成缓释制剂、控释制剂、靶向制剂及各种微粒给药系统。

- 为了将本发明活性成分被制成片剂,可以广泛使用本领域公知的各种赋形剂,包括稀释剂、黏合剂、润湿剂、崩解剂、润滑剂、助流剂。稀释剂可以是淀粉、糊精、蔗糖、葡萄糖、乳糖、甘露醇、山梨醇、木糖醇、微晶纤维素、硫酸钙、磷酸氢钙、碳酸钙等;润湿剂可以是水、乙醇、异丙醇等;黏合剂可以是淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、微晶纤维素、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、丙烯酸树脂、卡波姆、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇等;崩解剂可以是干淀粉、微晶纤维素、低取代羟丙基纤维素、交联聚乙烯吡咯烷酮、交联羧甲基纤维素钠、羧甲基淀粉钠、碳酸氢钠与枸橼酸、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠等;润滑剂和助流剂可以是滑石粉、二氧化硅、硬脂酸盐、酒石酸、液体石蜡、聚乙二醇等。
- 20
- 25

还可以将片剂进一步制成包衣片,例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片,或双层片和多层片。

- 30 为了将给药单元制成胶囊剂,可以将有效成分本发明活性成分与稀释剂、助流剂混合,将混合物直接置于硬胶囊或软胶囊中。也可将有效成分先与稀释剂、黏合剂、崩解剂制成颗粒或微丸,再置于硬胶囊或软胶囊中。用于制备本发明片剂的各种稀释剂、黏合剂、润湿剂、崩解剂、助流剂品种也可用于制备本发明的胶囊剂。

- 为将本发明活性成分制成注射剂,可以用水、乙醇、异丙醇、丙二醇或它们的混合物作溶剂并加入适量本领域常用的增溶剂、助溶剂、PH 调剂剂、渗透压调节剂。增溶剂或助溶剂可以是泊洛沙姆、卵磷脂、羟丙基- β -环糊精等;PH 调剂剂可以是磷酸盐、醋酸盐、盐酸、氢氧化钠等;渗透压调节剂可以是氯化钠、甘露醇、
- 35

葡萄糖、磷酸盐、醋酸盐等。如制备冻干粉针剂，还可加入甘露醇、葡萄糖等作为支撑剂。

此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂或其他添加剂。

- 5 本发明的活性成分或组合物可单独服用，或与其他治疗药物或对症药物合并使用。

当本发明的活性成分与其他治疗药物存在协同作用时，应根据实际情况调整它的剂量。

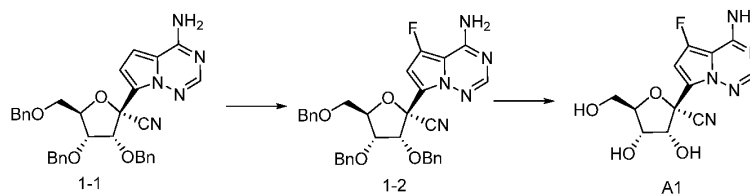
10 本发明的主要优点包括：

(a) 本发明活性化合物可高效地抑制SARS-CoV-2、人呼吸道合胞病毒(RSV)、人冠状病毒OC43 (HCoV OC43)、猪流行性腹泻病毒(PEDV)、寨卡病毒(Zika)、登革热病毒(DENV)等病毒的复制， EC_{50} 值小，并且具有广谱抗病毒特点。

- 15 (b) 本发明活性化合物的毒副作用低(细胞毒性 $CC_{50} > 10 \mu M$)，成药性好。这提示着本发明的核苷类似物在治疗病毒感染性疾病，尤其是抗新冠肺炎领域有很好的药用前景。

- 20 下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照试剂制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。

制备实施例 1：化合物 A1 的合成

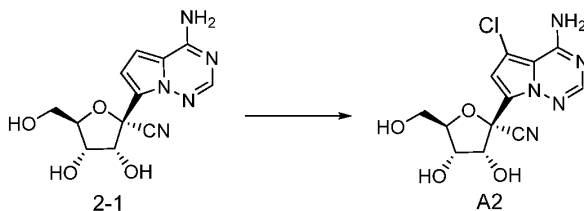


- 25 化合物 1-1 参考文献报道方法合成(Nature. 2016, 531, 381-385)。将化合物 1-1 (1.5 g, 2.67 mmol) 加入到乙腈(30 mL)中，随后加入 1-氯甲基-4-氟-1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷二(四氟硼酸)盐(Selectfluor, 1.13 g, 3.2 mmol, 1.2 eq)，碳酸氢钠(0.67 g, 8.0 mmol, 3 eq)，加毕，室温反应 3-4 小时，TLC 显示反应完全。将反应液加入到水(120 mL)中，乙酸乙酯萃取，分出有机层，干燥，浓缩，硅胶柱层析分离，得化合物 1-2，类白色固体 0.43 g，收率 28%。 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.12 (brs, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.50 - 7.20 (m, 16H), 6.59 (s, 1H), 4.92 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 4.85 - 4.78
- 30

(m, 2H), 4.57 - 4.46 (m, 4H), 4.42 - 4.35 (m, 1H), 4.12 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 3.73 (dd, $J = 11.2, 3.2$ Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 11.2, 4.3$ Hz, 1H)。

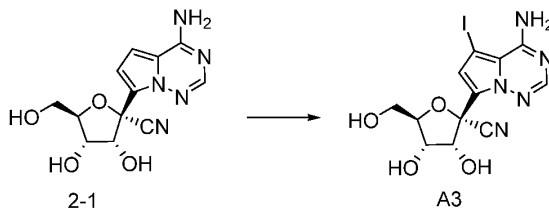
化合物 1-2 (0.25 g, 0.43 mmol) 加入到二氯甲烷 (10 mL) 中, 降温至 -60°C , 滴加 1M 三溴化硼二氯甲烷溶液 (1.72 mL, 1.72 mmol, 4.0 eq), 加毕, 自然升温至 -40°C , 在该温度下继续搅拌 2 小时后, TLC 监测反应完全。降温至 -60°C , 依次滴加甲醇 (0.2 mL) 和三乙胺 (0.52 g, 5.16 mmol, 12 eq), 加毕, 蒸除溶剂, 得到黄色固体。固体加入到甲醇 (2 mL) 和乙酸乙酯 (10 mL) 中, 搅拌后过滤, 除去白色不溶物, 滤液浓缩, 制备板分离, 得化合物 A1, 类白色固体 49 mg, 收率 37%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.11 (brs, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.41 (brs, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.23 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 5.20 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.93 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.54 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.08 - 4.01 (m, 1H), 3.96 - 3.90 (m, 1H), 3.71 - 3.64 (m, 1H), 3.55 - 3.48 (m, 1H)。MS $m/z = 310.1$ $[\text{M} + 1]^+$ 。

15 制备实施例 2: 化合物 A2 的合成



化合物 2-1 参照文献报道方法合成 (Nature. 2016, 531, 381-385)。化合物 2-1 (291 mg, 1.0 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 加入 N-氯代丁二酰亚胺 (245 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq) 和三氟乙酸 (24 mg, 0.2 mmol, 0.2 eq), 50°C 下反应 1 小时, TLC 显示反应完全。将反应液加入亚硫酸钠和碳酸钠的混合溶液中, 过滤得化合物 A2, 白色固体 185 mg, 收率 57%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.26 (brs, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.09 (brs, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.23 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.92 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.52 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.06 - 4.00 (m, 1H), 3.96 - 3.88 (m, 1H), 3.69 - 3.61 (m, 1H), 3.54 - 3.45 (m, 1H)。MS $m/z = 326.0$ $[\text{M} + 1]^+$ 。

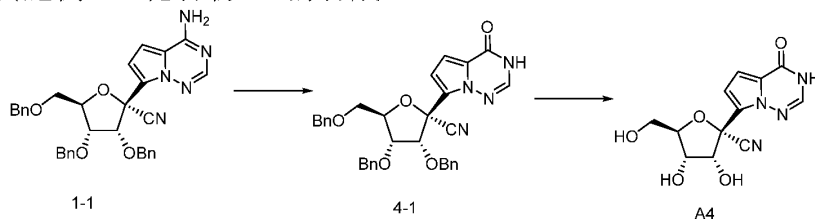
制备实施例 3: 化合物 A3 的合成



化合物 2-1 (291 mg, 1.0 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 加入

N-碘代丁二酰亚胺(245 mg, 1.1 mmol, 1.1 eq)和三氟乙酸(24 mg, 0.2 mmol), 50 °C 下反应 1 小时, TLC 显示反应完全。将反应液加入亚硫酸钠和碳酸钠的混合溶液中, 过滤得化合物 A3, 白色固体 200 mg, 收率 48%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.98 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.21 (brs, 1H), 5.20 (brs, 1H), 4.91 (s, 1H), 4.52 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 4.11 - 3.99 (m, 1H), 3.97 - 3.85 (m, 1H), 3.64 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 3.49 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H)。MS *m/z* = 418.0 [*M* + 1]⁺。

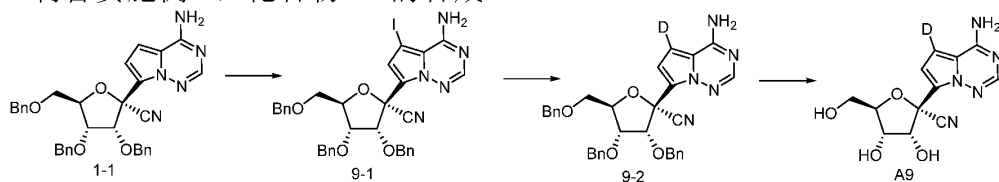
制备实施例 4: 化合物 A4 的合成



化合物 1-1 (350 mg, 0.62 mmol) 加入到 80% 乙酸水溶液 (10 mL) 中, 降温至 0 °C, 分批多次加入亚硝酸钠 (856 mg, 12.4 mmol, 20 eq), 加毕, 保温 5 分钟, 室温下搅拌 30 分钟后, 逐渐升温至 90 °C, 保温搅拌 4 小时, TLC 显示原料转化完毕。加入 (5 mL) 水和 (15 mL) 甲苯, 分出有机层, 水层用甲苯再萃取一次, 合并有机相, 有机相依次用水、碳酸氢钠水溶液和食盐水洗涤, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离得化合物 4-1, 淡黄色泡沫状固体 345 mg。

将上步得到的产物 4-1 溶于二氯甲烷中 (3 mL), 氮气保护, 降温至 -35 °C, 滴加 1M 三氯化硼的二氯甲烷溶液 (2.1 mL, 2.1 mmol), 10 分钟左右加毕, 保温 15 分钟, 缓慢滴加入甲醇 (0.3 mL), 加毕, 保温 20 分钟, 浓缩反应液, 加入正庚烷 (5 mL), 室温下搅拌 1 小时, 过滤, 滤饼用少量正庚烷洗, 得黄色固体 255 mg。该固体于甲醇 (0.75 mL) 和水 (0.1 mL) 中回流 30 分钟, 加入活性炭 (12 mg), 过滤, 滤渣用少量甲醇洗, 滤液蒸干, 加入少量乙酸乙酯, 打浆, 过滤, 得化合物 A4, 淡黄色固体 85 mg, 收率 44%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.91 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 6.14 (brs, 1H), 5.22 (brs, 1H), 4.55 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.06 - 4.03 (m, 1H), 3.95 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.62 (dd, *J* = 12.2, 3.4 Hz, 1H), 3.49 (dd, *J* = 12.2, 4.6 Hz, 1H)。MS *m/z* = 293.0 [*M* + 1]⁺, *m/z* = 291.0 [*M* - 1]⁻。

制备实施例 5: 化合物 A9 的合成

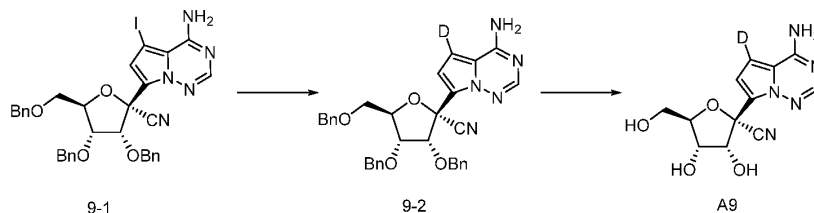


化合物 1-1 (561 mg, 1.0 mmol) 溶于 N,N-二甲基甲酰胺 (5 mL) 中, 分批加入碘 (508 mg, 2 mmol, 2 eq), 室温反应过夜, TLC 显示有原料剩余。将反应液加入到亚硫酸钠和碳酸钠的混合溶液中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 硅胶柱层析分离, 得化合物 9-1, 白色固体 400 mg, 收率 58%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.98 (s, 1H), 7.40 - 7.22 (m, 15H), 6.86 (s, 1H), 4.91 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.84 - 4.78 (m, 2H), 4.50 (q, *J* = 12.0 Hz, 4H), 4.41 - 4.35 (m, 1H), 4.12 - 4.08 (m, 1H), 3.72 (dd, *J* = 11.2, 2.8 Hz, 1H), 3.59 (dd, *J* = 11.2, 4.1 Hz, 1H)。

化合物 9-1 (69 mg, 0.1 mmol) 溶于无水四氢呋喃 (5 mL) 中, 冰浴下, 加入三甲基氯硅烷 (24 mg, 0.22 mmol, 2.2 eq), 搅拌 10 分钟后, 降温至 -10 °C, 随后滴加 3.0 M 甲基溴化镁的 2-甲基四氢呋喃溶液 (74 μL, 0.22 mmol, 2.2 eq), 加毕, 搅拌 30 分钟。降温至 -20 °C, 加入 1.3 M 异丙基氯化镁氯化锂四氢呋喃溶液 (0.1 mL, 0.13 mmol, 1.3 eq), 继续搅拌 1 小时。向反应体系中加入重水 (0.2 mL), 搅拌 15 分钟后将反应液加入到饱和氯化铵溶液中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 硅胶柱层析分离, 得化合物 9-2, 白色固体 28 mg, 收率 50%。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.65 (s, 1H), 7.34 - 7.16 (m, 15H), 6.84 (s, 1H), 4.95 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.74 (q, *J* = 11.9 Hz, 2H), 4.57 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.53 - 4.43 (m, 4H), 4.11 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.73 (dd, *J* = 10.9, 4.1 Hz, 1H), 3.62 (dd, *J* = 10.9, 4.5 Hz, 1H)。

化合物 9-2 (90 mg, 0.16 mmol) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, -60 °C 下, 滴加 1.0 M 三氯化硼二氯甲烷溶液 (0.56 mL, 0.56 mmol), 加毕, 在 -40 °C 搅拌 1 小时, TLC 显示反应完全。向反应液中加入甲醇 (0.1 mL), 随后加入三乙胺至反应液 pH 为 7-8, 将反应液浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A9, 类白色固体 15 mg, 收率 50%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.03 - 7.78 (m, 3H), 6.87 (s, 1H), 6.09 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.91 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.64 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.09 - 4.02 (m, 1H), 3.99 - 3.92 (m, 1H), 3.68 - 3.59 (m, 1H), 3.55 - 3.47 (m, 1H)。MS *m/z* = 293.0 [*M* + 1]⁺。

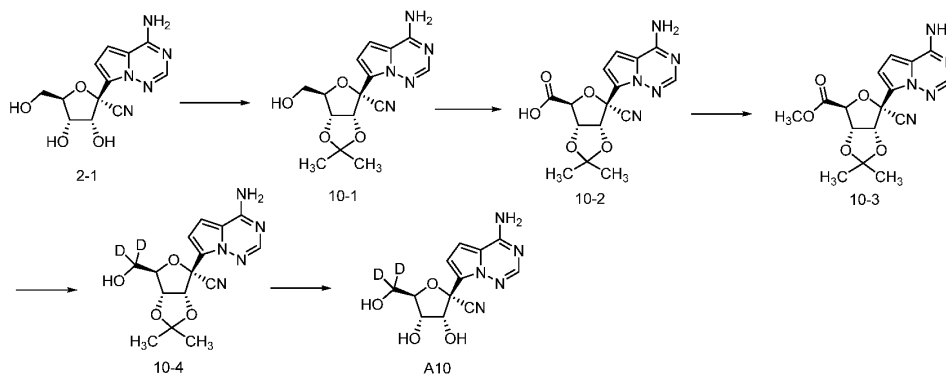
制备实施例 6: 化合物 A9 的合成



化合物 9-1 (69 mg, 0.1 mmol) 加入到干燥的四氢呋喃 (5 mL) 和重水 (1 mL) 的混合溶液中, 将溶液浓缩干后, 再加入干燥的四氢呋喃 (5 mL) 和重水 (1 mL), 然后依次加入 [1, 1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物 (8 mg, 0.01 mmol) 和四甲基乙二胺 (3 mg, 0.02 mmol), 加完后搅拌 10 分钟, 然后分批加入硼氰化钠 (21 mg, 0.5 mmol), 2 小时后 TLC 显示原料反应完全。将反应液加入水中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 硅胶柱层析分离, 得化合物 9-2, 氘代率不低于 97%, 白色固体 30 mg, 收率 53%。

参考实施例 5 中的合成方法, 化合物 9-2 (90 mg, 0.16 mmol) 脱除保护基后得化合物 A9, 类白色固体 15 mg, 收率 50%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 - 7.79 (m, 3H), 6.88 (s, 1H), 6.09 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.91 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.65 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.08 - 4.04 (m, 1H), 3.98 - 3.93 (m, 1H), 3.67 - 3.61 (m, 1H), 3.54 - 3.48 (m, 1H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.08, 148.32, 124.35, 117.82, 116.94, 111.16, 85.92, 79.04, 74.72, 70.56, 61.43。氘代率不低于 97%, MS *m/z* = 293.0 [*M* + 1]⁺。

制备实施例 7: 化合物 A10 的合成



化合物 2-1 (0.5 g, 1.72 mmol) 加入到丙酮 (10 mL) 中, 依次加入 2, 2-二甲氧基丙烷 (0.89 g, 8.6 mmol, 5 eq) 和对甲苯磺酸一水合物 (0.59 g, 3.1 mmol, 1.8 eq), 加毕, 45°C 下搅拌 2 小时, TLC 监测反应完全。将反应液加入到饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 蒸除溶剂, 得化合物 10-1, 白色固体 0.33 g, 收率 58%。

化合物 10-1 (0.25 g, 0.75 mmol) 加入到乙腈/水 (V/V=1/1, 15 mL) 中, 依次加入 TEMPO (0.047 g, 0.3 mmol, 0.4 eq)、二乙酸碘苯 (1.06 g, 3.3 mmol, 4.4 eq)、碳酸氢钠 (0.25 g, 3 mmol, 4.0 eq), 加毕, 室温搅拌 5 小时左右, TLC 显示反应完全。将反应液加入到 0.5 M 氢氧化钠溶液 (20 mL) 中, 乙酸乙酯 (20 mL × 2) 萃取两次, 舍弃有机相, 水层用稀盐酸 (2 M) 调节 pH 至 4-5, 乙酸乙酯 (50 mL × 2) 萃取, 合并有机层, 干燥, 浓缩, 得化合物 10-2, 白色固体 0.23

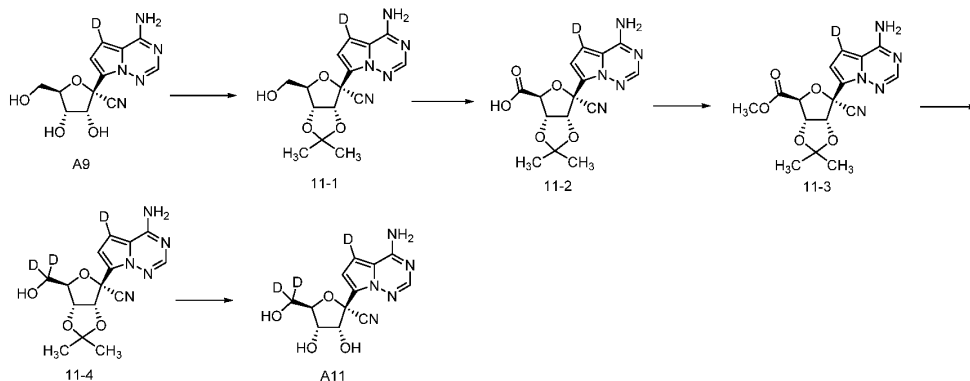
g, 收率 89%。

将上步得到的产物 10-2 (0.18 g, 0.52 mmol) 加入到四氢呋喃和甲醇 (8 mL, 1:1) 中, 室温下, 滴加 2M 三甲基硅基重氮甲烷正己烷溶液 (1.2 mL, 2.4 mmol, 4.5 eq), 加毕, 室温反应, 1 小时后反应完全。向反应液滴加醋酸直至不再产生气泡, 蒸除溶剂, 制备板分离, 得化合物 10-3, 白色固体 0.11 g, 收率 59%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 - 7.88 (m, 3H), 6.92 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.52 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 5.37 (dd, *J* = 6.1, 2.2 Hz, 1H), 4.92 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.40 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 1.42 (s, 3H)。

10 化合物 10-3 (0.10 g, 0.28 mmol) 加入到无水四氢呋喃 (4 mL) 和氘代甲醇 (1 mL) 中, 冰浴条件下, 加入硼氟化钠 (0.047 g, 1.12 mmol, 4 eq), 加毕, 室温反应, 1 小时后 TLC 显示反应完全。向反应液滴加稀盐酸直至不再产生气泡, 浓缩反应液, 制备板分离, 得化合物 10-4, 白色固体 0.06 g, 收率 64%。

15 将上步产物 10-4 (60 mg, 0.18 mmol) 加入到四氢呋喃 (2 mL) 中, 滴加浓盐酸 (0.4 mL), 40 °C 下反应, 直至反应完全。向反应液中加入碳酸氢钠溶液至 pH 为中性, 四氢呋喃萃取, 分出有机相, 有机相干燥后蒸干, 得类白色固体。所得固体加入到乙酸乙酯中, 搅拌 0.5 小时, 过滤, 烘干, 得化合物 A10, 白色固体 34 mg, 收率 64%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.03 - 7.82 (m, 3H), 6.92 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.10 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 5.20 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.66 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.06 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.00 - 3.93 (m, 1H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.10, 148.35, 124.35, 117.81, 117.01, 111.26, 101.27, 85.80, 79.04, 74.70, 70.54。氘代率为 99%, MS *m/z* = 294.0 [*M* + 1]⁺。

制备实施例 8: 化合物 A11 的合成



化合物 A9 (1.17 g, 4.0 mmol, 氘代率不低于 97%) 加入到丙酮 (20 mL) 中, 依次加入 2,2-二甲氧基丙烷 (2.08 g, 20.0 mmol, 5 eq) 和对甲苯磺酸一水合物 (1.37 g, 7.2 mmol, 1.8 eq), 加毕, 45 °C 下搅拌 2 小时, 出现大

量固体，TLC 监测反应完全。将反应液加入到饱和碳酸氢钠水溶液中，乙酸乙酯萃取，分出有机层，干燥，蒸除溶剂，得化合物 11-1，白色固体 0.86 g，收率 65%。

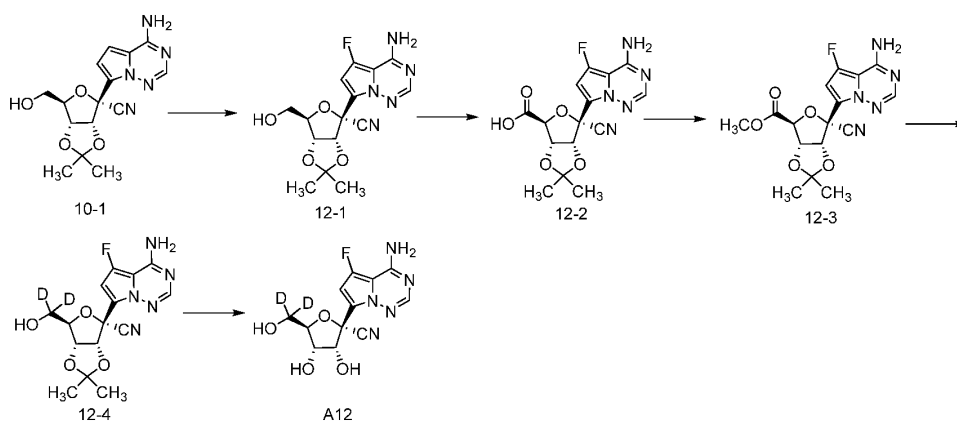
化合物 11-1 (0.225 g, 0.68 mmol) 加入到乙腈/水 (V/V=1/1, 10 mL) 中，依次加入 TEMPO (0.02 g, 0.14 mmol, 0.2 eq)、二乙酸碘苯 (0.66 g, 2.04 mmol, 3.0 eq)、碳酸氢钠 (0.17 g, 2.04 mmol, 3.0 eq)，加毕，室温搅拌 4-5 小时，TLC 监测反应完全。将反应液加入到 KOH 水溶液 (0.5 M, 20 mL) 中，乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取水层，分出水层。水层用稀盐酸 (2 M) 调节 pH 至 4-5，乙酸乙酯 (20 mL×3) 萃取，合并有机层，干燥，浓缩得 11-2 粗品，直接投下步反应。

化合物 11-2 粗品 (0.68 mmol, 按 100%产率) 加入到四氢呋喃/甲醇 (V/V=1/1, 8 mL) 中，室温滴加三甲基硅基重氮甲烷正己烷溶液 (2 M, 1.36 mL, 4.0 eq)，加毕，室温反应，30 分钟后反应完全。向反应液滴加醋酸直至不再产生气泡。蒸干反应液，加入乙酸乙酯 (20 mL)，饱和碳酸氢钠水溶液 (10 mL×2) 洗涤，分出有机层，干燥，浓缩，硅胶柱层析分离，得化合物 11-3，白色固体 0.06 g，两步反应收率 24%。

化合物 11-3 (0.06 g, 0.17 mmol) 加入到氘代甲醇/四氢呋喃 (V/V=1/5, 6 mL) 中，冰浴条件下加入 NaBD₄ (0.028 g, 0.68 mmol, 4 eq)，加毕，室温反应，1-2 小时后反应完全。将反应液加入到乙酸乙酯/水 (20 mL/20 mL) 混合液中，分出有机层，水层再用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取一次。合并乙酸乙酯层，并蒸干。将得到的产物加入到甲醇 (10 mL) 中，滴加稀盐酸 (1 M)，使溶液 pH 为 2-3，室温搅拌 1-2 小时后，饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 至中性。加入乙酸乙酯/水 (20 mL/20 mL) 混合液，分出有机相，水层再用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取一次。合并有机层，干燥，浓缩，硅胶制备板分离，得到化合物 11-4，白色固体 0.05 g，收率 89%。

11-4 (0.05 g, 0.15 mmol) 加入到四氢呋喃 (1.5 mL) 中，冰浴下滴加浓盐酸 (0.3 mL)，加毕，室温搅拌反应 2-3 小时，TLC 监测反应完全。冰浴下，反应液用 1M 的 NaOH 水溶液调节 pH 至中性，蒸除四氢呋喃后，过滤，滤饼依次使用蒸馏水 (10 mL)、乙酸乙酯 (10 mL) 打浆，过滤，烘干，得化合物 A11，白色固体 0.03 g，收率 68%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.04 - 7.76 (m, 3H), 6.89 (s, 1H), 6.07 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 5.18 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.67 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.07 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.01 - 3.93 (m, 1H)。m/z = 295.0 [M + 1]⁺。两个位点的氘代率分别不低于 97%。

制备实施例 9：化合物 A12 的合成



化合物 10-1 (662 mg, 2.0 mmol) 加入到乙腈 (15 mL) 中, 加入碳酸氢钠 (336 mg, 4 mmol, 2 eq) 和 1-氯甲基-4-氟-1,4-二氮杂双环 [2.2.2] 辛烷二(四氟硼酸) 盐 (850 mg, 2.4 mmol, 1.2 eq), 室温下搅拌 24 小时, TLC 显示有部分原料剩余。向反应液中加入乙酸乙酯 (50 mL) 和水 (20 mL), 分出有机相, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 12-1, 类白色固体 140 mg, 收率 20%。

化合物 12-1 (140 mg, 0.4 mmol) 加入到乙腈和水的混合溶液中 (6 mL, 1:1), 室温下, 依次加入二乙酸碘苯 (515 mg, 1.6 mmol, 4 eq)、碳酸氢钠 (135 mg, 1.6 mmol, 4 eq) 和 TEMPO (25 mg, 0.16 mmol, 0.4 eq), 3 小时左右, 反应完全。向反应液中加入氢氧化钠水溶液 (10 mL, 224 mg, 10 eq), 乙酸乙酯萃取 2 次, 舍弃有机相。向水相中加入 2M 稀盐酸, 使其 pH 至 4-5, 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并有机相, 干燥, 蒸除溶剂, 得化合物 12-2, 类白色固体 116 mg, 收率 80%。

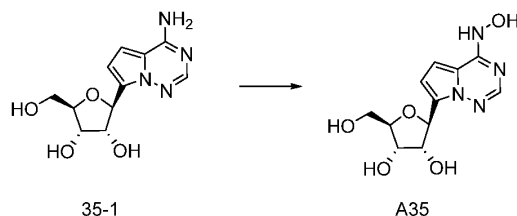
将化合物 12-2 (116 mg, 0.32 mmol) 加入到四氢呋喃和甲醇 (4 mL, 1:1) 混合溶液中, 缓慢加入 2M 三甲基硅烷化重氮甲烷正己烷溶液 (0.48 mL, 0.96 mmol, 3 eq), TLC 监测, 若原料仍剩余, 可再补加适量三甲基硅烷化重氮甲烷, 直至反应完全。向反应液滴加醋酸至不再产生气泡, 蒸除溶剂, 硅胶柱层析分离, 得化合物 12-3, 白色固体 105 mg, 收率 87%。

将上步产物 12-3 (105 mg, 0.28 mmol) 加入到无水四氢呋喃 (2 mL) 中, 加入氘代甲醇 (0.5 mL), 室温下, 分批次加入硼氘化钠 (35 mg, 0.84 mmol, 3 eq), 1 小时内加完, 继续搅拌 5 小时, TLC 显示原料反应完全。向反应液中加入乙酸乙酯 (0.5 mL), 浓缩反应液, 制备板分离, 得化合物 12-4, 白色泡沫状固体 80 mg, 收率 82%。

将上步产物 12-4 (80 mg, 0.23 mmol) 加入到四氢呋喃 (3 mL) 中, 滴加浓盐酸 (0.5 mL), 40°C 反应, 直至反应完全。反应液中析出不溶物, 过滤, 得白色固体 55 mg, 将固体加入到水 (1.5 mL) 中, 加入碳酸钠 (16 mg), 搅拌 0.5 小时, 过滤, 烘干, 得化合物 A12, 白色固体 44 mg, 收率 62%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.10 (brs, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.41 (brs, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.23 (brs,

1H), 5.20 (brs, 1H), 4.89 (s, 1H), 4.54 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.04 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.94 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H)。氘代率为 98%, MS $m/z = 312.0$ $[M + 1]^+$ 。

制备实施例 10: 化合物 A35 的合成

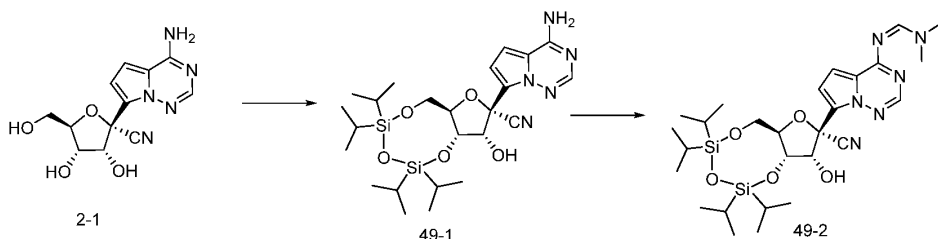


5

化合物 35-1 参照文献 (W02015069939) 报道方法合成。盐酸羟胺 (547 mg, 7.87 mmol, 30 eq) 加入到水 (3.2 mL) 中, 缓慢滴加 10% 氢氧化钠溶液, 使体系 pH 值为 6.0, 然后加入化合物 35-1 (69 mg, 0.26 mmol, 1 eq), 氮气保护, 40°C 下搅拌过夜, TLC 显示反应完全。反应液用反相柱分离, 得类白色固体 A35, 52 mg, 收率 71%。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.61 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 10.06 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 6.38 - 6.33 (m, 2H), 4.96 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 4.93 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 4.86 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.74 - 4.68 (m, 1H), 4.15 (q, $J = 6.1$ Hz, 1H), 3.91 (q, $J = 4.9$ Hz, 1H), 3.74 (q, $J = 4.5$ Hz, 1H), 3.55 - 3.49 (m, 1H), 3.47 - 3.43 (m, 1H)。MS $m/z = 283.0$ $[M + 1]^+$ 。

15

制备实施例 11: 化合物 A49、A124 的合成

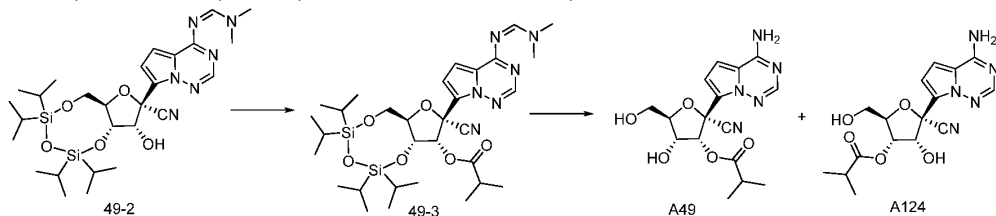


化合物 2-1 (2.2 g, 7.6 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (20 mL) 中, 加入咪唑 (3.1 g, 45.6 mmol, 6 eq), 冰浴下, 滴加 1,3-二氯-1,1,3,3-四异丙基二硅氧烷 (2.9 g, 9.5 mmol, 1.2 eq), 加毕, 室温反应, 4 小时后反应完全。将反应液加入到水 (120 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 49-1, 白色固体 3.2 g, 收率 80%。¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.99 - 7.82 (m, 3H), 6.88 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.45 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.56 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.22 - 4.09 (m, 3H), 3.95 - 3.86 (m, 1H), 1.09 - 0.76 (m, 28H)。

25

化合物 49-1 (1.2 g, 2.2 mmol) 加入到甲苯 (20 mL) 中, 加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (0.52 g, 4.4 mmol, 2 eq), 50°C 反应。3h 左右反应完全。减压蒸除溶剂, 加入乙酸乙酯 (60 mL) 和水 (20 mL), 分出有机相, 饱和氯化钠

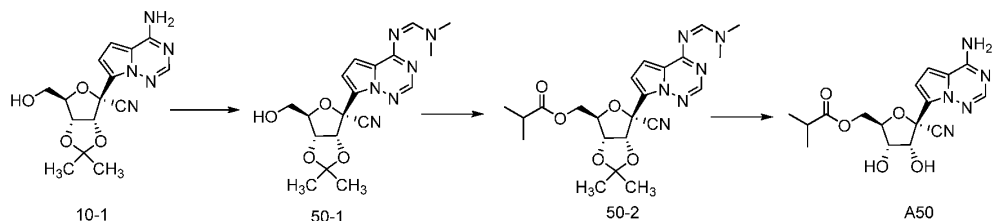
洗涤, 干燥后, 蒸干, 得化合物 49-2, 白色固体 1.2 g, 收率 92%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.96 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 6.91 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.59 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.26 - 4.11 (m, 3H), 3.93 (dd, *J* = 13.3, 2.4 Hz, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 1.09 - 0.87 (m, 28H)。



化合物 49-2 (294 mg, 0.5 mmol) 加入到二氯甲烷 (6 mL) 中, 室温下, 依次加入三乙胺 (101 mg, 1 mmol, 2 eq)、DMAP (12 mg, 0.1 mmol, 0.2 eq) 和异丁酰氯 (85 mg, 0.8 mmol, 1.6 eq), 反应过夜, TLC 显示反应完全。向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷, 分出有机层, 有机相干燥, 浓缩, 硅胶柱层析纯化, 得化合物 49-3, 白色泡沫状固体 240 mg, 收率 72%。

将上步得到的产物 49-3 (240 mg, 0.36 mmol) 加入到四氢呋喃 (5 mL) 中, 加入 1M 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (0.72 mL, 0.72 mmol), 1 小时后, 反应完全。向反应液中加入水 (10 mL), 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 有机相干燥后蒸干, 得油状物。该油状物加入到四氢呋喃 (6 mL) 中, 加入水 (0.5 mL) 和三氟乙酸 (205 mg, 1.8 mmol), 室温搅拌过夜。向反应液中加入碳酸氢钠水溶液, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A49 和 A124, A124 占比大于 95%, 醋酸异丙酯重结晶得 A124, 白色固体 80 mg, 两步收率 61%。所得化合物 A124 的 ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.09 - 7.84 (m, 3H), 6.94 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 5.22 (dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, 1H), 5.07 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 5.01 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.31 - 4.25 (m, 1H), 3.66 - 3.52 (m, 2H), 2.68 - 2.58 (m, 1H), 1.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.17 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H)。MS *m/z* = 362.0 [*M* + 1]⁺。

25 制备实施例 12: 化合物 A50 的合成



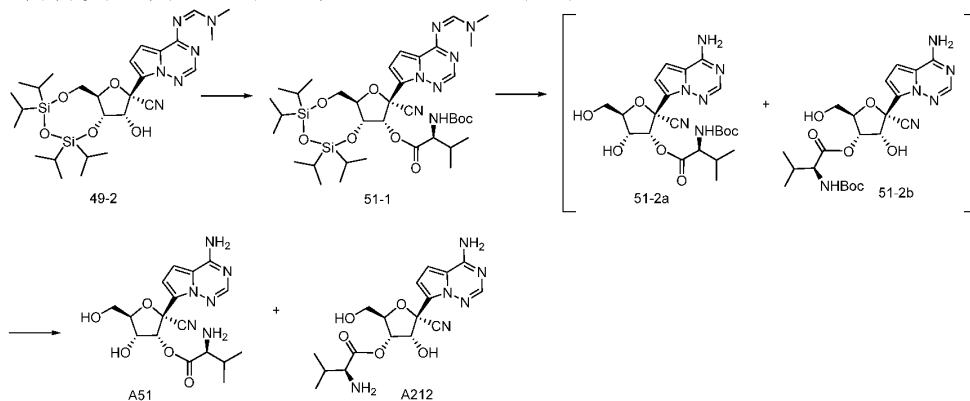
化合物 10-1 (0.664 g, 2.0 mmol) 加入到甲苯 (10 mL) 中, 加入 *N,N*-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (0.47 g, 4.0 mmol, 2.0 eq), 加毕, 60 °C 下反应 2-3

小时, TLC 监测反应完全。蒸除溶剂, 得化合物 50-1, 黄色固体 0.65 g, 收率 84%。

将上步产物 50-1 (0.2 g, 0.52 mmol) 加入到二氯甲烷 (10 mL) 中, 依次加入三乙胺 (0.1 g, 1.0 mmol, 2 eq)、DMAP (0.012 g, 0.10 mmol, 0.2 eq), 5 异丁酰氯 (0.083 g, 0.78 mmol, 1.5 eq), 加毕, 室温搅拌 1-2 小时, TLC 监测反应完全。将反应液加入到 1M 稀盐酸 (10 mL) 中, 二氯甲烷萃取, 分出有机相, 有机相用饱和碳酸氢钠 (20 mL) 洗涤, 干燥后浓缩, 得化合物 50-2, 类白色固体 0.2 g, 收率 84%。

化合物 50-2 (0.1 g, 0.22 mmol) 加入到四氢呋喃 (3 mL) 中, 冰浴下滴加浓 10 盐酸 (0.6 mL), 加毕, 室温搅拌反应 3 小时, TLC 显示原料有小量剩余。将反应液加入到饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相干燥, 浓缩, 制备板分离得化合物 A50, 白色固体 13 mg, 收率 16%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.00 - 7.80 (m, 3H), 6.92 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.33 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.39 (d, *J* = 5.8 15 Hz, 1H), 4.70 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.32 (dd, *J* = 12.0, 2.9 Hz, 1H), 4.27 - 4.21 (m, 1H), 4.18 (dd, *J* = 12.0, 5.3 Hz, 1H), 3.99 - 3.94 (m, 1H), 2.57 - 2.52 (m, 1H), 1.07 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H), 1.06 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H)。MS *m/z* = 362.0 [*M* + 1]⁺。

制备实施例 13: 化合物 A51、A212 的合成



20

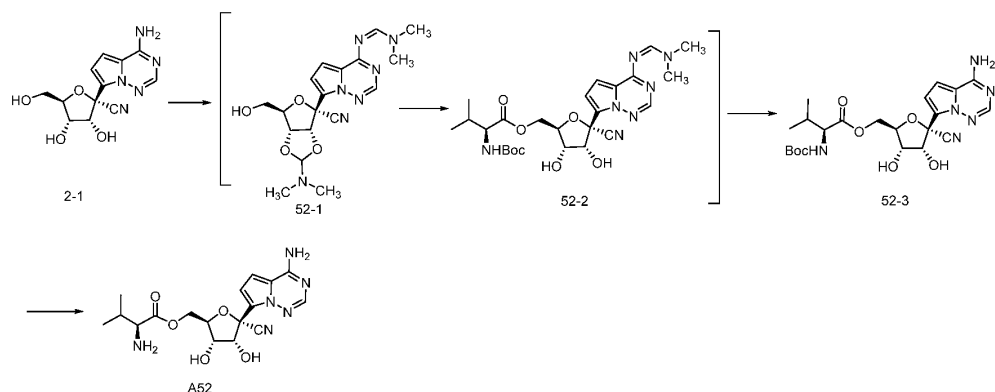
化合物 49-2 (260 mg, 0.44 mmol) 和 Boc-L-缬氨酸 (115 mg, 0.53 mmol, 1.2 eq) 加入到二氯甲烷 (10 mL) 中, 依次加入 HOBt (89 mg, 0.66 mmol, 1.5 eq)、EDCI (169 mg, 0.88 mmol, 2 eq) 和 DMAP (214 mg, 1.76 mmol, 4 eq), 室温搅拌过夜。向反应液中加入二氯甲烷 (20 mL) 和水 (20 mL), 搅拌 5 分钟, 分出有 25 机相, 饱和氯化钠洗涤, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 51-1, 白色固体 260 mg, 收率 75%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.98 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.90 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.57 (dd, *J* = 9.2, 4.9 Hz,

1H), 4.27 - 4.17 (m, 3H), 3.95 (dd, $J = 13.8, 2.8$ Hz, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.21 (s, 3H), 2.30 - 2.19 (m, 1H), 1.45 - 1.34 (m, 9H), 1.10 - 0.86 (m, 34H)。

化合物 51-1 (180 mg, 0.23 mmol) 加入到四氢呋喃 (4 mL) 中, 室温下, 加入 1M 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (0.46 mL, 0.46 mmol), 1 小时后, 反应完全。向反应液中加入水 (10 mL), 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相干燥后蒸干, 得到油状物。该油状物溶于四氢呋喃 (6 mL) 中, 加入水 (0.5 mL) 和三氟乙酸 (131 mg, 1.15 mmol, 5 eq), 室温搅拌过夜。向反应液中加入碳酸氢钠水溶液, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 51-2a 和 51-2b, 51-2b 占比大于 90%, 进一步重结晶得到 51-2b 纯品, 白色固体 70 mg, 两步收率 62%。所得化合物 51-2b 的 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.08 - 7.87 (m, 3H), 7.06 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.19 - 5.14 (m, 1H), 5.10 - 5.05 (m, 1H), 5.03 - 4.98 (m, 1H), 4.26 - 4.20 (m, 1H), 4.10 (dd, $J = 8.7, 5.5$ Hz, 1H), 3.66 - 3.53 (m, 2H), 2.31 - 2.22 (m, 1H), 1.45 - 1.35 (m, 9H), 0.93 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.90 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H)。

化合物 51-2b (42 mg, 0.086 mmol) 加入到饱和氯化氢/甲醇溶液 (4 mL) 中, 35°C 下搅拌, 2 小时后 TLC 显示反应完全。将反应液浓缩, 加入甲基叔丁基醚, 搅拌后过滤, 得化合物 A212, 为二盐酸盐, 白色固体 45 mg, 收率 81%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{Methanol}-d_4$) δ 8.17 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 5.52 (dd, $J = 5.8, 3.2$ Hz, 1H), 5.19 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.54 - 4.48 (m, 1H), 4.16 - 4.10 (m, 1H), 3.83 (d, $J = 3.7$ Hz, 2H), 2.58 - 2.48 (m, 1H), 1.18 (d, $J = 4.2$ Hz, 3H), 1.17 (d, $J = 4.2$ Hz, 3H)。MS $m/z = 391.1$ $[\text{M} + 1]^+$ 。若将上步得到的混合物 51-2a 和 51-2b (51-2a 占比 5-10%) 直接进行脱保护, 可得到 A51 和 A212 混合物, A51 含量约为 10%。

制备实施例 14: 化合物 A52 的合成



化合物 2-1 (291 mg, 1.0 mmol) 加入到吡啶 (8 mL) 中, 减压蒸除吡啶, 重复操作一次, 然后再加入吡啶 (8 mL), 室温下, 加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛 (477 mg, 4.0 mmol), 氮气保护, 室温反应过夜, 将反应液浓缩得化合物 52-1, 油状物, 不经分离直接用于下步反应。

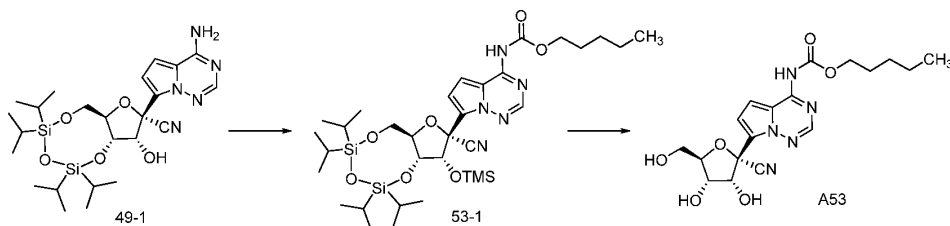
将 Boc-L-缬氨酸 (304 mg, 1.4 mmol)、1-羟基苯并三唑 (203 mg, 1.5 mmol) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (422 mg, 2.2 mmol) 加入到二氯甲烷 (10 mL) 中, 室温搅拌 15 分钟后, 加入上步得到的 52-1 的二氯甲烷溶液 (1 mL) 和 4-二甲氨基吡啶 (684 mg, 5.4 mmol), 室温搅拌过夜。将反应液浓缩后加入甲醇, 再次浓缩, 得油状物, 加入水, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得化合物 52-2 粗品, 油状物, 直接用于下步反应。

化合物 52-2 溶于乙腈 (10 mL) 中, 加入 85% 水合肼 (236 mg, 4.0 mmol), 室温反应 3 小时后, 将反应液加入到水中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 52-3, 白色固体 104 mg, 三步总收率 21%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.98 - 7.83 (m, 3H), 7.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.33 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.69 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.33 - 4.28 (m, 1H), 4.27 - 4.20 (m, 2H), 3.94 - 3.90 (m, 1H), 3.89 - 3.85 (m, 1H), 1.98 - 1.91 (m, 1H), 1.37 (s, 9H), 0.82 (t, *J* = 6.5 Hz, 6H)。

化合物 52-3 (104 mg, 0.21 mmol) 加入到饱和氯化氢的甲醇溶液 (5 mL) 中, 36°C 下搅拌, 1 小时后反应完全。将反应液浓缩, 然后加入异丙醚, 析出固体, 过滤, 得化合物 A52, 为二盐酸盐, 白色固体 80 mg, 收率 82%。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.15 (s, 1H), 7.49 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.74 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.62 (dd, *J* = 12.1, 7.4 Hz, 1H), 4.54 (dd, *J* = 12.1, 2.8 Hz, 1H), 4.45 (td, *J* = 7.5, 2.7 Hz, 1H), 4.05 - 4.00 (m, 2H), 2.35 - 2.27 (m, 1H), 1.08 (d, *J* = 1.9 Hz,

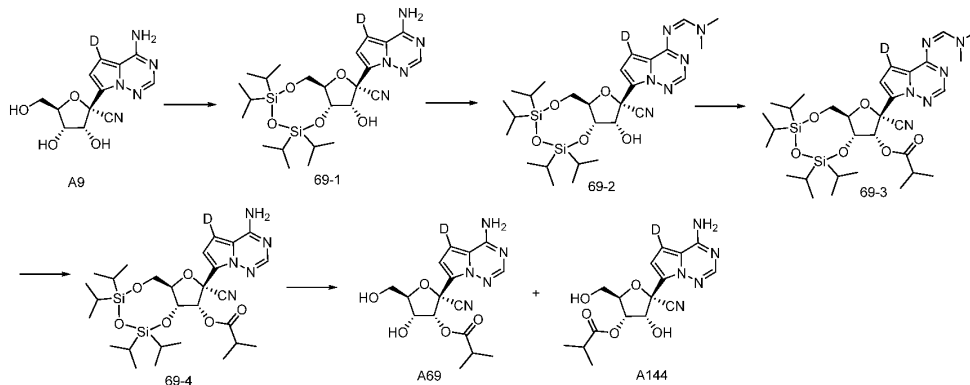
3H), 1.07 (d, $J = 1.8$ Hz, 3H)。MS $m/z = 391.1$ $[M + 1]^+$ 。

制备实施例 15: 化合物 A53 的合成



化合物 49-1 (150 mg, 0.28 mmol), 溶于二氯甲烷 (2 mL) 中, 加入吡啶 (265 mg, 3.35 mmol, 12 eq), 冰浴下, 加入三甲基氯硅烷 (93 mg, 0.86 mmol), 搅拌 30 分钟后, TLC 显示原料转化完毕。向反应液中再加入氯甲酸正戊酯 (120 mg, 0.8 mmol), 保持冰浴, 继续搅拌 2 小时, TLC 检测反应完全。向反应液中加入二氯甲烷和水, 分出有机层, 有机层依次用稀盐酸洗和食盐水洗涤, 干燥后浓缩, 得 53-1 粗品, 无色油状物 200 mg。该油状物加入到四氢呋喃 (2 mL) 中, 室温下滴加入 1 M 四丁基氟化铵四氢呋喃溶液 (0.2 mL, 0.2 mmol), 加毕, 室温下搅拌 50 分钟, TLC 显示反应完全。反应液浓缩, 硅胶柱层析纯化, 得化合物 A53, 白色固体 55 mg, 两步收率 48%。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.88 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.21 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 5.23 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.90 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.61 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.18 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.10 - 4.04 (m, 1H), 3.95 (q, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.68 - 3.61 (m, 1H), 3.54 - 3.47 (m, 1H), 1.71 - 1.61 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.39 - 1.29 (m, 4H), 0.89 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。MS $m/z = 406.0$ $[M + 1]^+$ 。

制备实施例 16: 化合物 A69、A144 的合成



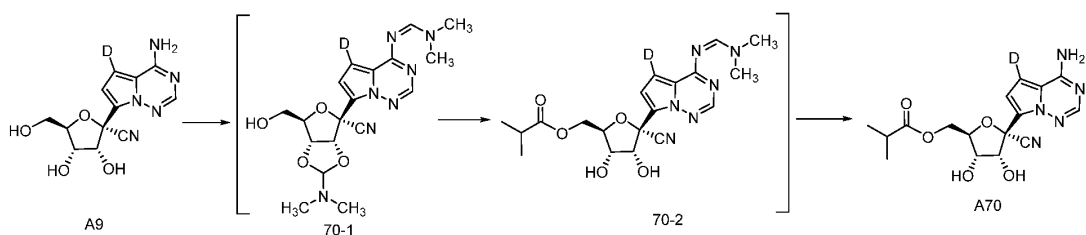
20

化合物 A9 (879 mg, 3.01 mmol, 氘代率不低于 97%) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 加入咪唑 (819 mg, 12.03 mmol, 4 eq), 冰浴下, 滴加 1,3-二氯-1,1,3,3-四异丙基二硅氧烷 (1.32 g, 4.21 mmol, 1.4 eq), 加毕, 室温反应, 1 小时后反应完全。将反应液加入到水中, 乙酸乙酯萃取, 分

出有机层，干燥，浓缩，用石油醚打浆，得化合物 69-1，白色固体 1.29 g，收率 80%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.04 - 7.78 (m, 3H), 6.79 (s, 1H), 6.46 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.56 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.24 - 4.08 (m, 3H), 3.91 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 1.08 - 0.86 (m, 28H)。

- 5 化合物 69-1 (1.10 g, 2.07 mmol) 加入到甲苯 (20 mL) 中，加入 *N,N*-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (370 mg, 3.11 mmol, 1.5 eq)，45℃反应，30 分钟左右反应完全。减压蒸除溶剂，加入乙酸乙酯 (60 mL) 和水 (20 mL)，分出有机相，饱和氯化钠洗涤，干燥后，蒸干，得化合物 69-2，白色固体 1.12 g，收率 92%。
- 10 化合物 69-2 (614 mg, 1.04 mmol) 加入到二氯甲烷 (10 mL) 中，室温下，依次加入三乙胺 (210 mg, 2.08 mmol, 2 eq)、异丁酰氯 (166 mg, 1.56 mmol, 1.5 eq) 和 DMAP (127 mg, 1.04 mmol, 1 eq)，室温搅拌，1 小时左右反应完全。向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液和二氯甲烷，分出有机层，干燥，浓缩，硅胶柱层析纯化，得化合物 69-3，白色泡沫状固体 494 mg，收率 72%。
- 15 化合物 69-3 (350 mg, 0.53 mmol) 加入到乙腈 (8 mL) 中，加入 85%水合肼 (125 mg, 2.12 mmol, 4 eq)，室温搅拌，30 分钟左右反应完全。将反应液加入到水中，乙酸乙酯萃取，分出有机层，有机相分别用稀盐酸、饱和碳酸氢钠和饱和氯化钠洗涤，干燥后，蒸干，得化合物 69-4，白色固体 289 mg，收率 90%。
- 20 化合物 69-4 (289 mg, 0.48 mmol) 加入到四氢呋喃 (10 mL) 中，加入 1M 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (0.48 mL, 0.48 mmol, 1 eq)，室温搅拌，30 分钟左右反应完全。将反应液加入到水中，乙酸异丙酯萃取，分出有机层，有机相分别用饱和碳酸氢钠和饱和氯化钠洗涤，干燥后，蒸干，得到化合物 A69 和 A144，A144 占比大于 95%，用正庚烷/异丙醇 (1:1) 混合溶液打浆，过滤、
- 25 干燥，得化合物 A144 纯品，白色固体 121 mg，收率 70%。所得化合物 A144 的 ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 - 7.85 (m, 3H), 6.88 (s, 1H), 6.41 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 5.21 (dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, 1H), 5.08 - 5.04 (m, 1H), 4.99 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.26 (q, *J* = 3.7 Hz, 1H), 3.64 - 3.52 (m, 2H), 2.67 - 2.58 (m, 1H), 1.17 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.15 (d, *J* =
- 30 7.0 Hz, 3H)。 ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 175.92, 156.13, 148.45, 123.24, 117.50, 117.27, 111.60, 84.59, 78.30, 73.14, 72.69, 61.25, 33.81, 19.18, 19.08。 MS *m/z* = 363.0 [*M* + 1]⁺。

制备实施例 17：化合物 A70 的合成



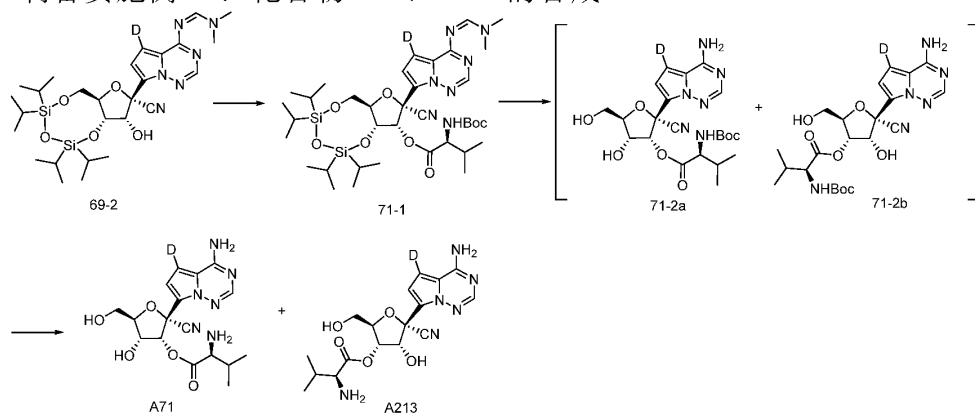
化合物 A9 (145 mg, 0.5 mmol, 氘代率不低于 97%) 加入到吡啶 (5 mL) 中, 减压蒸除吡啶, 重复操作一次, 然后再加入吡啶 (5 mL), 室温下, 加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛 (240 mg, 2.0 mmol), 氮气保护, 室温反应过夜。

5 将反应液浓缩得中间体 70-1, 油状物, 该中间体不经分离直接用于下步反应。

将上步得到的中间体 70-1 溶于吡啶 (5 mL) 中, 依次加入 4-二甲氨基吡啶 (6 mg, 0.05 mmol) 和异丁酰氯 (80 mg, 0.75 mmol), 3 小时后, 加入甲醇, 蒸除溶剂, 得中间体 70-2, 油状物, 该中间体不经分离直接用于下步反应。

将上步得到的中间体 70-2 加入到乙腈 (5 mL) 中, 加入水合肼 (176 mg, 3.0 mmol), 室温搅拌过夜。向反应液中加入水, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机层依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A70, 白色固体 80 mg, 收率 44%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 - 7.79 (m, 3H), 6.80 (s, 1H), 6.32 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.69 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.30 (dd, *J* = 12.1, 2.9 Hz, 1H), 4.25 - 4.21 (m, 1H), 4.17 (dd, *J* = 12.1, 5.3 Hz, 1H), 3.95 (q, *J* = 5.9 Hz, 1H), 2.54 - 2.51 (m, 1H), 1.06 (d, *J* = 2.9 Hz, 3H), 1.05 (d, *J* = 2.9 Hz, 3H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 176.36, 156.06, 148.40, 123.99, 117.40, 117.00, 110.61, 81.78, 79.50, 74.49, 70.65, 63.40, 33.63, 19.19, 19.11。MS *m/z* = 363.0 [*M* + 1]⁺。

20 制备实施例 18: 化合物 A71、A213 的合成



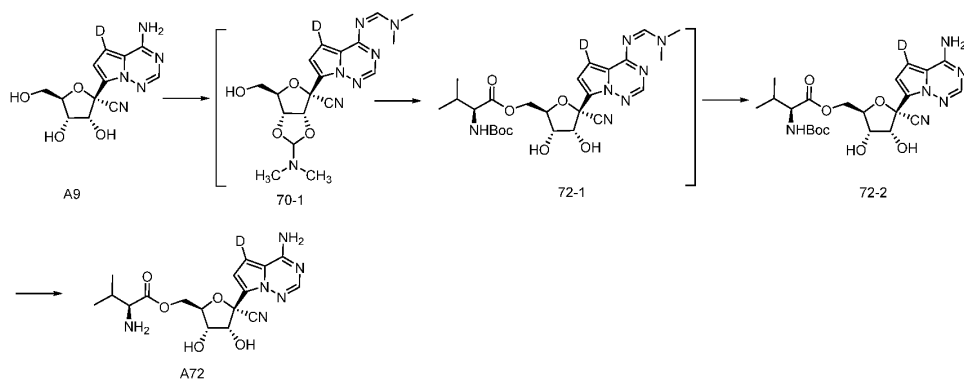
化合物 69-2 (160 mg, 0.27 mmol) 溶于二氯甲烷 (10 mL) 中, 冰浴, 依次加入 Boc-L-Val (82 mg, 0.38 mmol)、1-羟基苯并三唑 (55 mg, 0.41 mmol)、

1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (113 mg, 0.59 mmol) 和 4-二甲氨基吡啶 (132 mg, 1.08 mmol), 加完后室温反应过夜。将反应液浓缩, 加入水, 乙酸乙酯萃取, 有机层依次用稀盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 71-1, 白色固体
5 158 mg, 收率 74%。

化合物 71-1 (158 mg, 0.20 mmol) 溶于乙腈 (10 mL) 中, 室温下加入 85%水合肼 (71 mg, 1.20 mmol), 搅拌 1 小时后, 向反应液中加入水, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相依次用稀盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得白色固体。将得到的白色固体加入到四
10 氢呋喃 (8 mL) 中, 冰浴下, 加入醋酸 (14 mg, 0.24 mmol) 和 1M 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (0.24 mL, 0.24 mmol), 加完后, 室温搅拌。2 小时后, TLC 显示反应完全。将反应液浓缩, 加入水, 醋酸异丙酯萃取, 分出有机相, 有机相用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥后浓缩, 所得产物用石油醚打浆, 过滤、干燥, 得化合物 71-2a 和 71-2b, 71-2b 占比大于 90%, 进一步重结晶得
15 71-2b 纯品, 白色固体 60 mg, 两步收率 61%。所得化合物 71-2b 的 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.07 - 7.86 (m, 3H), 7.06 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.50 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 5.17 (dd, J = 5.8, 3.6 Hz, 1H), 5.07 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.01 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 4.27 - 4.21 (m, 1H), 4.10 (dd, J = 8.6, 5.4 Hz, 1H), 3.66 - 3.53 (m, 2H), 2.31 - 2.23 (m,
20 1H), 1.45 - 1.36 (m, 9H), 0.93 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 0.90 (d, J = 6.9 Hz, 3H)。

化合物 71-2b (60 mg, 0.12 mmol) 加入饱和氯化氢/甲醇溶液 (5 mL) 中, 35°C 下搅拌, 2 小时后 TLC 显示反应完全。将反应液浓缩, 甲基叔丁基醚打浆, 得化合物 A213, 为二盐酸盐, 白色固体 45 mg, 收率 81%。 ^1H NMR (500 MHz,
25 $\text{Methanol}-d_4$) δ 8.17 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.55 - 5.50 (m, 1H), 5.19 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.53 - 4.48 (m, 1H), 4.12 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.83 (d, J = 3.7 Hz, 2H), 2.58 - 2.49 (m, 1H), 1.18 (d, J = 4.3 Hz, 3H), 1.17 (d, J = 4.3 Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{Methanol}-d_4$) δ 167.48, 148.78, 135.20, 128.58, 115.31, 113.58, 113.19, 84.12, 77.64, 74.29,
30 73.56, 60.15, 57.64, 28.91, 16.63, 16.32。MS m/z = 392.1 $[\text{M} + 1]^+$ 。若将上步得到的混合物 71-2a 和 71-2b 直接脱保护, 可得到 A71 和 A213 混合物, A71 含量约为 10%。

制备实施例 19: 化合物 A72 的合成



化合物 A9 (350 mg, 1.2 mmol) 加入到吡啶 (10 mL) 中, 减压蒸除吡啶, 重复操作一次, 然后再加入吡啶 (10 mL), 室温下, 加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛 (596 mg, 5.0 mmol), 氮气保护, 室温反应过夜, 将反应液浓缩得
5 中间体 70-1, 油状物, 该中间体不经分离直接用于下步反应。

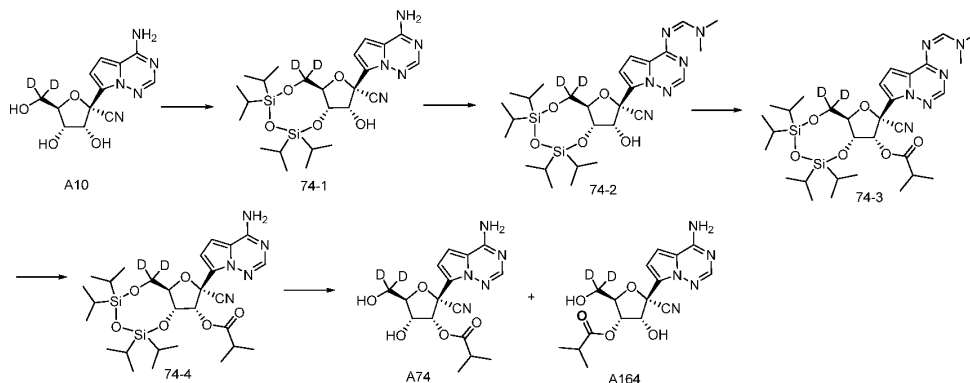
将 Boc-L-缬氨酸 (369 mg, 1.7 mmol)、1-羟基苯并三唑 (243 mg, 1.8 mmol) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (498 mg, 2.6 mmol) 加入到二氯甲烷 (15 mL) 中, 室温搅拌 15 分钟后, 加入上步得到的 70-1 的二氯甲烷溶液 (2 mL) 和 4-二甲氨基吡啶 (733 mg, 6.0 mmol), 室温搅拌过夜。将
10 反应液浓缩后加入甲醇, 再次浓缩, 得油状物, 加入水, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相依次用水和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得中间体 72-1 粗品, 油状物, 该中间体不经分离直接用于下步反应。

中间体 72-1 溶于乙腈 (10 mL) 中, 加入 85% 水合肼 (283 mg, 4.8 mmol), 室温反应 3 小时后, 将反应液加入水中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机相, 有机相
15 用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 72-2, 白色固体 195 mg, 三步总收率 33%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 - 7.80 (m, 3H), 7.14 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.33 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.69 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.34 - 4.28 (m, 1H), 4.26 - 4.21 (m, 2H), 3.95 - 3.90 (m, 1H), 3.89 - 3.85 (m,
20 1H), 1.99 - 1.92 (m, 1H), 1.40 - 1.28 (m, 9H), 0.81 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H)。

化合物 72-2 (100 mg, 0.2 mmol) 加入到饱和氯化氢的甲醇溶液 (5 mL) 中, 36°C 下搅拌, 1 小时后反应完全。将反应液浓缩, 然后加入异丙醚, 析出固体, 过滤, 得化合物 A72, 为盐酸盐, 白色固体 74 mg, 收率 80%。¹H NMR (600
25 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.15 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 4.75 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.62 (dd, *J* = 12.1, 7.4 Hz, 1H), 4.54 (dd, *J* = 12.1, 2.8 Hz, 1H), 4.45 (td, *J* = 7.5, 2.8 Hz, 1H), 4.05 - 4.01 (m, 2H), 2.34 - 2.28 (m, 1H), 1.08 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H), 1.07 (d, *J* = 2.3 Hz, 3H)。¹³C NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄) δ 168.15, 148.61, 135.04, 129.77, 114.70, 113.28,

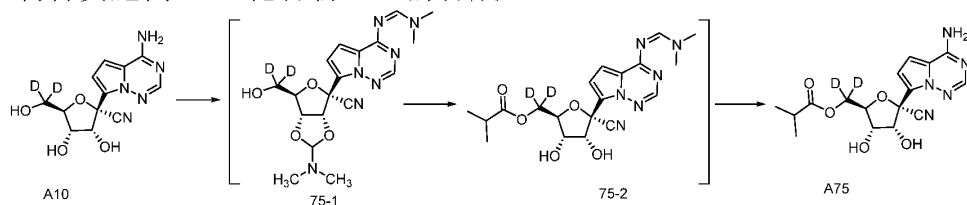
112.57, 80.77, 79.53, 74.42, 70.17, 64.81, 57.56, 29.19, 16.48, 16.32。
MS $m/z = 392.0 [M + 1]^+$ 。

制备实施例 20: 化合物 A74、A164 的合成



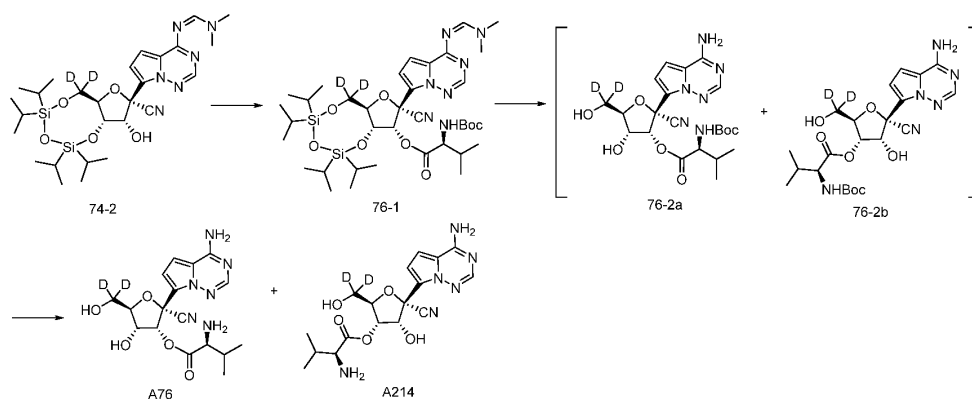
- 5 参考化合物 A144 的合成方法, 以 A10 (176 mg, 0.6 mmol, 氘代率 99%) 为原料, 经五步反应得到化合物 A74 和 A164, 进一步重结晶得到 A164 纯品, 白色固体 139 mg, 总收率 64%。所得化合物 A164 的 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.07 - 7.83 (m, 3H), 6.92 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.41 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.01 - 4.97 (m, 1H), 4.25 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 1.17 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.15 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H)。MS $m/z = 364.0 [M + 1]^+$ 。
- 10

制备实施例 21: 化合物 A75 的合成



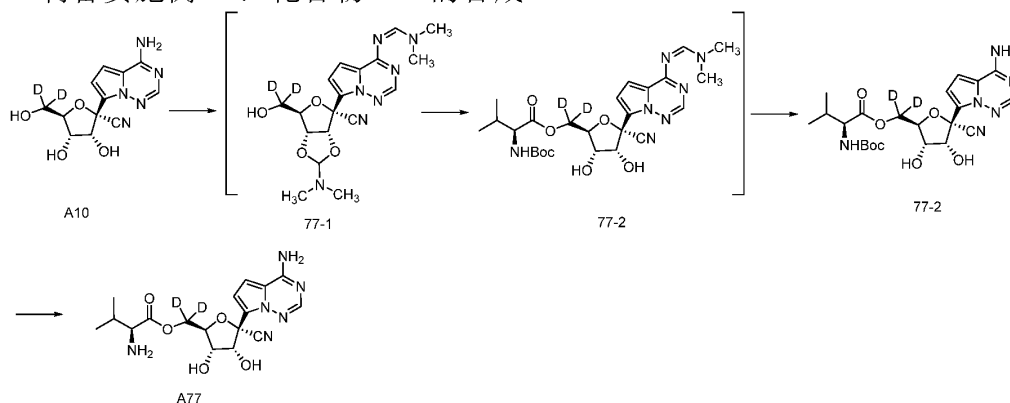
- 15 参考化合物 A70 的合成方法, 以 A10 (176 mg, 0.6 mmol) 为原料, 经三步反应得到化合物 A75, 白色固体 109 mg, 总收率 50%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.03 - 7.82 (m, 3H), 6.92 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.39 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.71 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.24 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.97 (q, $J = 5.8$ Hz, 1H), 2.57 - 2.53 (m, 1H), 1.07 (d, $J = 2.5$ Hz, 3H), 1.06 (d, $J = 2.5$ Hz, 3H)。MS $m/z = 364.0 [M + 1]^+$ 。
- 20

制备实施例 22: 化合物 A76、A214 的合成



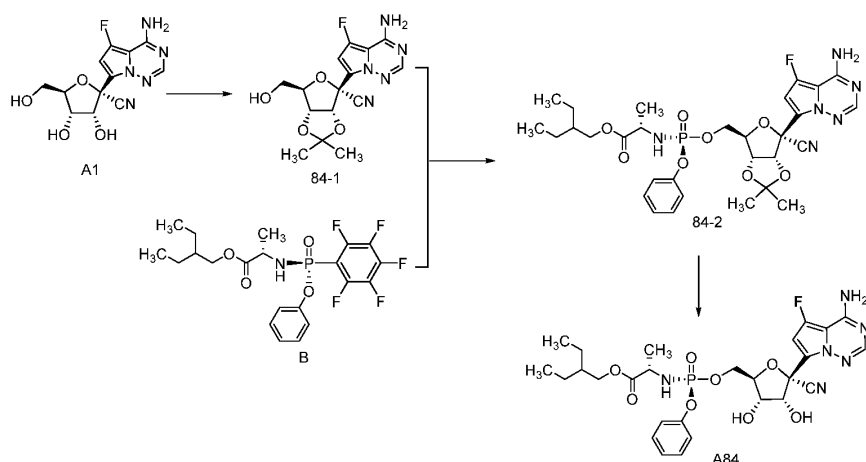
参考化合物 A213 的合成方法，以 74-2 (295 mg, 0.5 mmol) 为原料，经三步反应得到化合物 A214，为二盐酸盐，白色固体 97 mg，总收率 42%。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.17 (s, 1H), 7.49 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 5.53 (dd, *J* = 5.8, 3.1 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.50 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 4.13 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 2.58 - 2.50 (m, 1H), 1.18 (d, *J* = 4.6 Hz, 3H), 1.17 (d, *J* = 4.6 Hz, 3H)。MS *m/z* = 393.0 [*M* + 1]⁺。若第二步得到的产物 76-2a 和 76-2b 直接脱保护，可得到 A76 和 A214 混合物，A76 含量约为 10%。

10 制备实施例 23：化合物 A77 的合成



参考化合物 A72 的合成方法，以 A10 (1.0 mmol, 293 mg) 为原料，经四步反应得到化合物 A77，为二盐酸盐，白色固体 107 mg，总收率 23%。MS *m/z* = 393.0 [*M* + 1]⁺。

15 制备实施例 24：化合物 A84 的合成



将化合物 A1 (49 mg, 0.16 mmol) 加入到丙酮 (3 mL) 中, 依次加入 2, 2-二甲氧基丙烷 (83 mg, 0.8 mmol, 5 eq) 和对甲苯磺酸一水合物 (30 mg, 0.16 mmol, 1 eq), 加毕, 升温至 40 °C, 搅拌反应 2 小时, TLC 监测反应完全。将反应液

5 加入到饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 制备板分离, 得化合物 84-1, 白色固体 27 mg, 收率 48%。

化合物 84-1 (27 mg, 0.077 mmol) 加入到无水四氢呋喃 (3 mL) 中, 冰浴下, 滴加 3 M 甲基溴化镁的甲基四氢呋喃溶液 (0.05 mL, 0.15 mmol, 2 eq), 加毕, 搅拌 5 分钟后, 滴加化合物 B (57 mg, 0.12 mmol, 1.5 eq) 的无水四氢呋喃溶

10 液 (1 mL), 滴毕, 室温反应 2 小时, TLC 监测反应完全。将反应液加入到饱和氯化铵溶液 (20 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 得化合物 84-2, 油状物, 直接进行下一步反应。

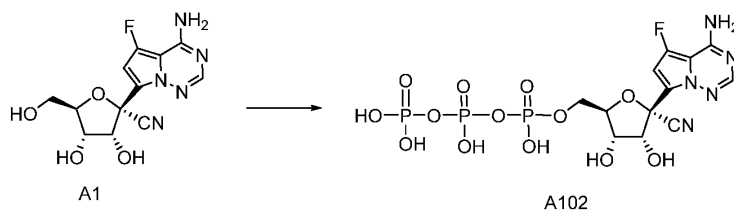
将上一步产物加入到四氢呋喃 (2 mL) 中, 冰浴下滴加浓盐酸 (0.4 mL), 加毕, 室温搅拌反应直至反应完全。将反应液加入到饱和碳酸氢钠水溶液 (20 mL)

15 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 制备板分离, 得化合物 A84, 白色固体 10 mg, 两步收率 21%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.12 (brs, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.42 (brs, 1H), 7.36 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.24 - 7.14 (m, 3H), 6.73 (s, 1H), 6.45 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 6.12 - 6.02 (m, 1H), 5.39 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.56 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.31 - 4.19 (m,

20 2H), 4.16 - 4.06 (m, 1H), 4.01 - 3.77 (m, 4H), 1.45 - 1.38 (m, 1H), 1.28 - 1.20 (m, 7H), 0.80 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H)。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.82 (s, 1H), 7.34 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.27 - 7.16 (m, 3H), 6.72 (s, 1H), 4.73 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.46 - 4.35 (m, 2H), 4.33 - 4.27 (m, 1H), 4.15 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.06 (dd, *J* = 11.0, 5.8 Hz, 1H), 4.01

25 - 3.90 (m, 2H), 1.53 - 1.45 (m, 1H), 1.38 - 1.30 (m, 7H), 0.89 (t, *J* = 7.5 Hz, 6H)。

制备实施例 25: 化合物 A102 的合成

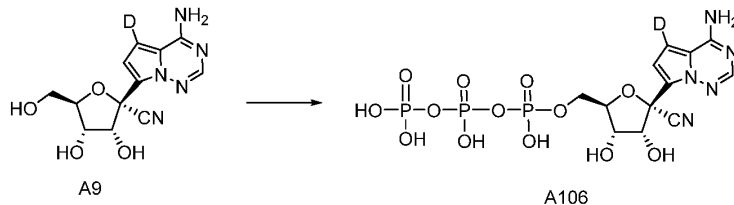


化合物 A1 (62 mg, 0.2 mmol) 和 1,8-双(二甲基氨基)萘 (56 mg, 0.26 mmol, 1.3 eq) 加入到磷酸三甲酯 (3 mL) 中, 冰浴下搅拌, 缓慢加入三氯氧磷 (153 mg, 1.0 mmol, 5 eq), 3 小时左右, TLC 显示原料基本反应完全。将三丁基

5 焦磷酸铵 (549 mg, 1.0 mmol, 5 eq) 的 DMF (3 mL) 溶液加入到上述体系, 随后加入三正丁胺 (222 mg, 1.2 mmol, 6 eq), 冰浴下搅拌 10 分钟后, 反应液自然升温。TLC 监测, 直至产物不再增多。向反应液中加入 0.5M 三乙基碳酸氢铵水溶液, 使 pH 为 7.5, 加入去离子水 (5 mL), 分别用二氯甲烷和乙酸乙酯萃取, 舍弃有机相, 水相用凝胶柱分离得到 A102 粗品, 该粗品进一步用

10 反相柱纯化, 得到 A102, 为二三乙胺盐, 泡沫状固体, 44 mg, 收率 29%。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7.88 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 4.76 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.45 - 4.41 (m, 1H), 4.38 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.17 - 4.10 (m, 2H), 3.12 (q, *J* = 7.3 Hz, 12H), 1.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 18H)。³¹P NMR (202 MHz, D₂O) δ -10.89 (d), -11.46 (d), -23.19 (t)。MS *m/z* = 548.0 [*M* - 1]⁻。

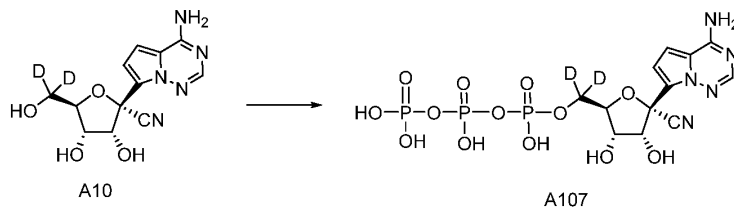
15 制备实施例 26: 化合物 A106 的合成



参考化合物 A102 的合成方法, 以 A9 (58 mg, 0.2 mmol, 氘代率不低于 97%) 为原料, 得产物 A106, 为三三乙胺盐, 泡沫状固体 55 mg, 收率 33%。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7.92 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 4.92 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.50 - 4.42 (m, 2H), 4.16 - 4.10 (m, 1H), 4.09 - 4.01 (m, 1H), 3.11 (q, *J* = 7.3 Hz, 18H), 1.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 27H)。³¹P NMR (202 MHz, D₂O) δ -10.90 (d), -11.52 (d), -23.29 (t)。MS *m/z* = 531.0 [*M* - 1]⁻。

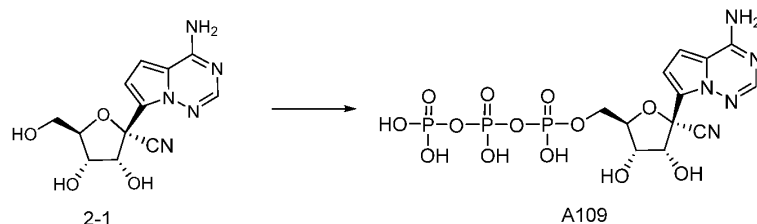
20

制备实施例 27: 化合物 A107 的合成



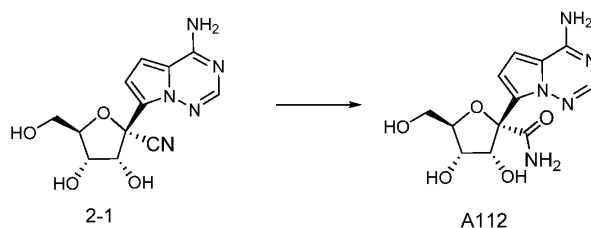
参考化合物 A102 的合成方法, 以 A10 (59 mg, 0.2 mmol, 氘代率 99%) 为原料, 得产物 A107, 为四三乙胺盐, 泡沫状固体 54 mg, 收率 29%。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7.97 (s, 1H), 7.17 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.48 - 4.40 (m, 2H), 3.12 (q, J = 7.3 Hz, 24H), 1.20 (t, J = 7.3 Hz, 36H)。³¹P NMR (202 MHz, D₂O) δ -10.92 (d), -11.45 (d), -23.29 (t)。MS m/z = 532.0 $[M - 1]^-$ 。

制备实施例 28: 化合物 A109 的合成



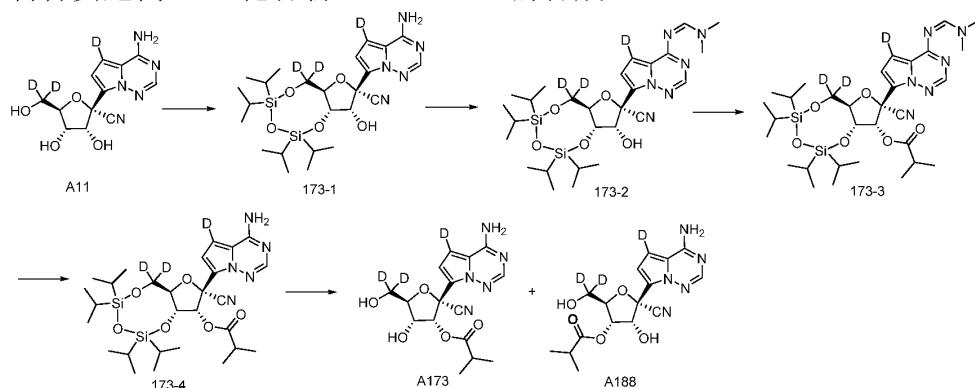
化合物 2-1 (145 mg, 0.5 mmol) 加入到磷酸三甲酯 (2 mL) 中, 冰浴下, 加入三氯氧磷 (153 mg, 1 mmol, 2 eq), 搅拌 3-4 小时, TLC 监测, 仍有较多原料剩余, 补加三氯氧磷 (80 mg) 后, 继续在冰浴下搅拌 2 小时。向反应液中加入三正丁焦磷酸铵 (1.1 g, 2 mmol, 4 eq) 的乙腈悬浮液 (2 mL) 和三正丁胺 (741 mg, 4 mmol, 8 eq), 继续搅拌 2 小时。向反应液中加入 1M 三乙基碳酸氢铵水溶液 (8 mL), 再加入蒸馏水 (8 mL), 搅拌。乙酸乙酯萃取, 舍弃有机相, 水相冻干, 制备液相分离, 得化合物 A109, 为三三正丁胺盐, 白色固体 55 mg, 收率 10%。¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7.85 (s, 1H), 7.00 - 6.91 (m, 2H), 4.89 - 4.83 (m, 1H), 4.43 - 4.36 (m, 2H), 4.13 - 4.04 (m, 1H), 4.03 - 3.94 (m, 1H), 3.04 - 2.93 (m, 18H), 1.60 - 1.47 (m, 18H), 1.29 - 1.17 (m, 18H), 0.79 (t, J = 7.4 Hz, 27H)。MS m/z = 530.0 $[M - 1]^-$ 。

制备实施例 29: 化合物 A112 的合成



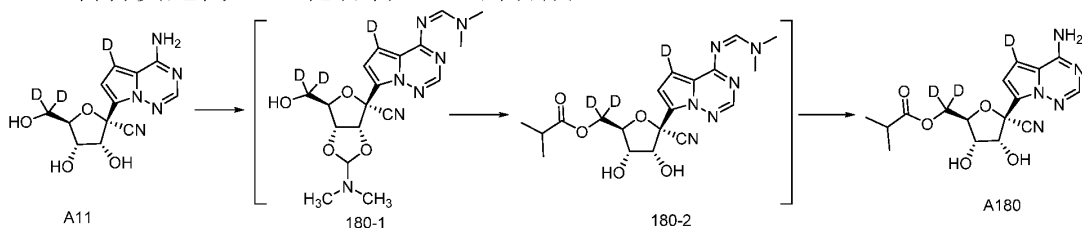
化合物 2-1 (291 mg, 1.0 mmol) 加入到四氢呋喃 (6 mL) 中, 加入浓盐酸 (3 mL), 45 °C 下搅拌, TLC 监测直至反应完全。蒸除溶剂, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A112, 白色固体 168 mg, 收率 54%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.77 (s, 1H), 7.72 (brs, 2H), 7.49 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.83 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 5.58 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.85 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.08 - 3.98 (m, 2H), 3.52 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.34 - 3.29 (m, 1H)。MS m/z = 310.1 $[M + 1]^+$ 。

制备实施例 30: 化合物 A173、A188 的合成



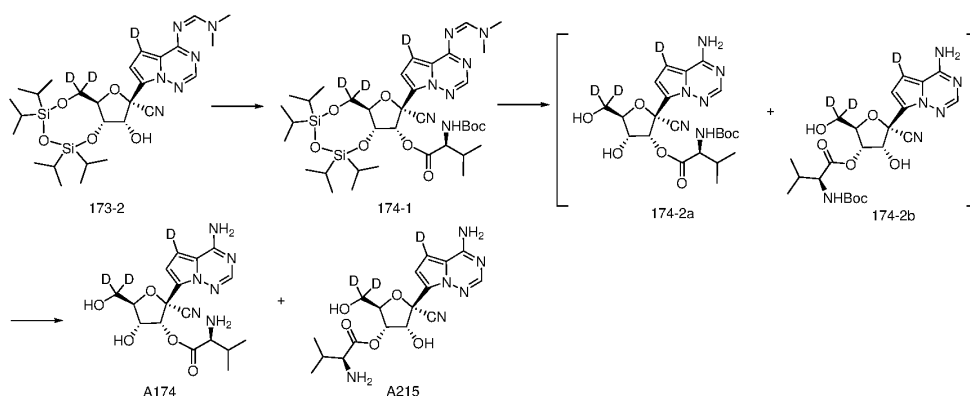
参考化合物 A144 的合成方法, 以 A11 (294 mg, 1.0 mmol) 为原料, 经五步反应得到化合物 A173 和 A188, 进一步重结晶得到 A188 纯品, 白色固体 91 mg, 总收率 25%。所得化合物 A188 的 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.07 - 7.83 (m, 3H), 6.88 (s, 1H), 6.41 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.21 (dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.01 - 4.97 (m, 1H), 4.25 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 1.17 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.15 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H)。MS $m/z = 365.0$ $[\text{M} + 1]^+$ 。

制备实施例 31: 化合物 A180 的合成



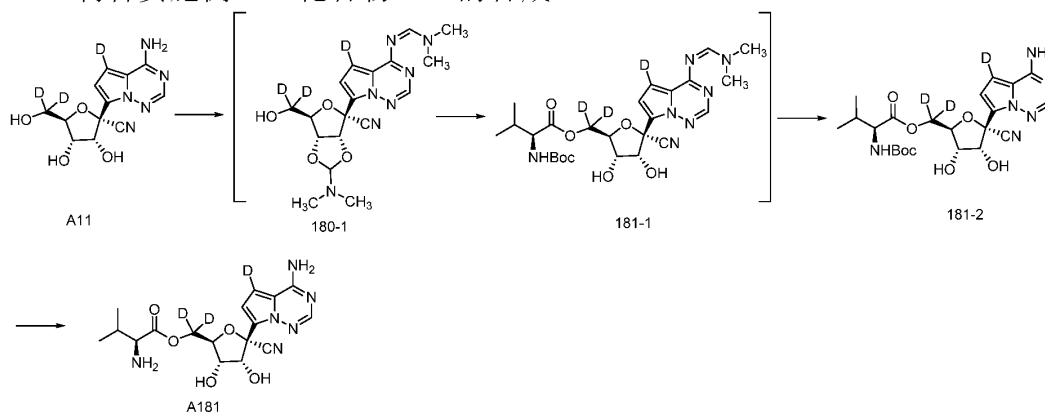
参考化合物 A70 的合成方法, 以 A11 (147 mg, 0.5 mmol) 为原料, 经三步反应得到化合物 A180, 白色固体 80 mg, 总收率 44%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.03 - 7.83 (m, 3H), 6.82 (s, 1H), 6.32 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 5.39 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.71 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.23 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.97 (q, $J = 5.8$ Hz, 1H), 2.57 - 2.53 (m, 1H), 1.10 - 1.01 (m, 6H)。MS $m/z = 365.0$ $[\text{M} + 1]^+$ 。

制备实施例 32: 化合物 A174、A215 的合成



参考化合物 A213 的合成方法，以 173-2 (296 mg, 0.5 mmol) 为原料，经三步反应得到化合物 A215，为二盐酸盐，白色固体 93 mg，收率 40%。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.17 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.53 (dd, J = 5.8, 3.1 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 4.50 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 4.13 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 2.58 - 2.50 (m, 1H), 1.18 (d, J = 4.6 Hz, 3H), 1.17 (d, J = 4.6 Hz, 3H)。MS m/z = 394.0 $[M + 1]^+$ 。若第二步得到的产物 174-2a 和 174-2b 直接脱保护，可得到 A174 和 A215 混合物，A174 含量约为 10%。

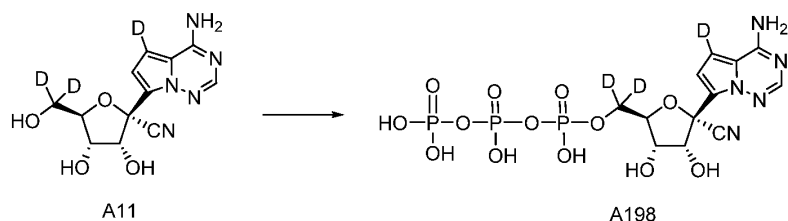
制备实施例33：化合物A181的合成



10

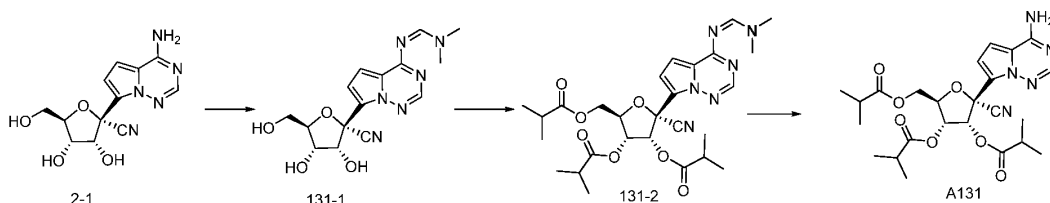
参考化合物 A72 的合成方法，以 A11 (147 mg, 0.5 mmol) 为原料，经四步反应得到化合物 A181，为二盐酸盐，白色固体 75 mg，收率 32%。¹H NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄) δ 8.15 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 4.75 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.62 (dd, J = 12.1, 7.4 Hz, 1H), 4.54 (dd, J = 12.1, 2.8 Hz, 1H), 4.45 (td, J = 7.5, 2.8 Hz, 1H), 2.35 - 2.28 (m, 1H), 1.08 (d, J = 2.4 Hz, 3H), 1.07 (d, J = 2.3 Hz, 3H)。MS m/z = 394.0 $[M + 1]^+$ 。

制备实施例34：化合物A198的合成



参考化合物 A102 的合成方法, 以 A11 (59 mg, 0.2 mmol) 为原料, 得产物 A198, 为三三乙胺盐, 泡沫状固体 59 mg, 收率 35%。¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7.90 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 4.84 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.42 - 4.38 (m, 2H), 3.07 (q, J = 7.3 Hz, 18H), 1.15 (t, J = 7.3 Hz, 27H)。³¹P NMR (202 MHz, D₂O) δ -10.93 (d), -11.46 (d), -23.31 (t)。MS m/z = 533.0 [M - 1]⁻。

制备实施例35: 化合物A131的合成



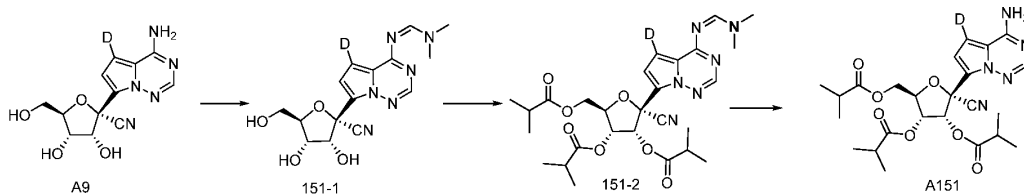
化合物 2-1 (58 mg, 0.2 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (3 mL) 中, 加入 N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛 (160 mg, 1.34 mmol, 6.7 eq), 加毕, 室温反应, 1h 后反应完全。向反应液中加入甲醇, 浓缩, 用异丙醇和甲苯打浆, 得化合物 131-1, 白色固体 59 mg, 收率 85%。

化合物 131-1 (59 mg, 0.17 mmol) 加入到二氯甲烷 (5 mL) 中, 室温下, 依次加入三乙胺 (138 mg, 1.36 mmol, 8 eq)、DMAP (62 mg, 0.51 mmol, 3 eq) 和异丁酰氯 (72 mg, 0.68 mmol, 4 eq), 室温反应过夜。将反应液浓缩, 加入乙酸乙酯 (30 mL) 和水 (10 mL), 分出有机相, 有机相分别用稀盐酸、饱和碳酸氢钠和饱和氯化钠洗涤, 干燥后, 蒸干, 得化合物 131-2, 白色固体 85 mg, 收率 90%。

化合物 131-2 (85 mg, 0.15 mmol) 加入到乙腈 (10 mL) 中, 加入水合肼 (30 mg, 0.60 mmol, 4 eq), 加毕, 30 分钟左右反应完全。将反应液加入到水中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 有机相分别用稀盐酸、饱和碳酸氢钠和饱和氯化钠洗涤, 干燥后, 蒸干, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A131, 白色固体 70 mg, 收率 93%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.04 (br, 1H), 7.96 (br, 1H), 7.93 (s, 1H), 6.93 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 6.75 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 6.08 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 5.44 (dd, J = 5.7, 3.7 Hz, 1H), 4.63 (q, J = 3.7 Hz, 1H), 4.33 (dd, J = 12.4, 3.3 Hz, 1H), 4.28 (dd, J = 12.4, 4.1 Hz, 1H), 2.66 - 2.57 (m, 2H), 2.50 - 2.46 (m, 1H), 1.17 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 1.15 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 1.12 - 1.09 (m, 6H), 1.05 (d, J =

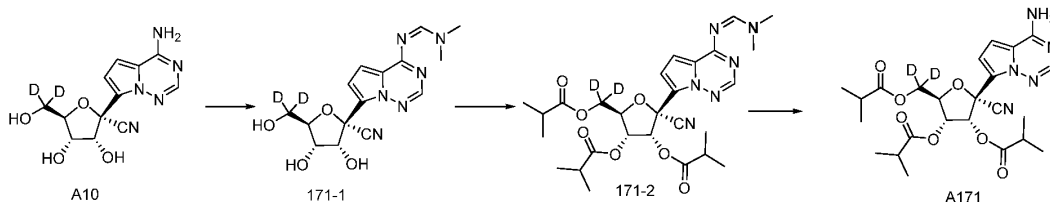
7.0 Hz, 3H), 1.02 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H)。MS $m/z = 502.0$ $[M + 1]^+$ 。

制备实施例36：化合物A151的合成



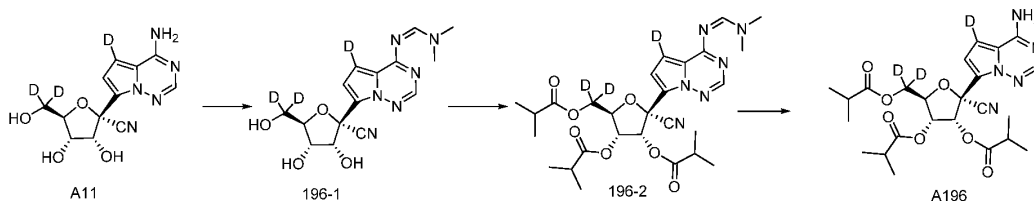
参考化合物A131的合成方法，以A9 (58 mg, 0.2 mmol) 为原料，经三步
 5 反应，得化合物A151，白色固体69 mg，总收率68%。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.04 (br, 1H), 7.96 (br, 1H), 7.93 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.08 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.44 (dd, $J = 5.7, 3.7$ Hz, 1H), 4.63 (q, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.33 (dd, $J = 12.4, 3.3$ Hz, 1H), 4.28 (dd, $J = 12.4, 4.1$ Hz, 1H), 2.66 - 2.57 (m, 2H), 2.49 - 2.46 (m, 1H), 1.17 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H),
 10 1.15 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.12 - 1.09 (m, 6H), 1.05 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.02 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 175.53, 174.90, 174.13, 155.58, 148.12, 120.98, 117.17, 115.44, 110.30, 81.25, 75.81, 72.05, 70.30, 62.46, 33.20, 33.16, 33.09, 18.55, 18.46, 18.40, 18.35, 18.33, 18.18。MS $m/z = 503.0$ $[M + 1]^+$ 。

15 制备实施例37：化合物A171的合成



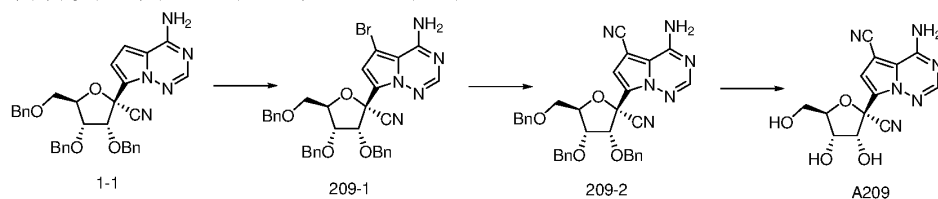
参考化合物 A131 的合成方法，以 A10 (59 mg, 0.2 mmol) 为原料，经三
 步反应，得化合物 A171，白色固体 70 mg，总收率 69%。MS $m/z = 504.0$ $[M +$
 1] $^+$ 。

20 制备实施例38：化合物A196的合成



参考化合物 A131 的合成方法，以 A11 (59 mg, 0.2 mmol) 为原料，经三
 步反应，得化合物 A196，白色固体 59 mg，总收率 58%。MS $m/z = 505.0$ $[M +$
 1] $^+$ 。

制备实施例39：化合物A209的合成

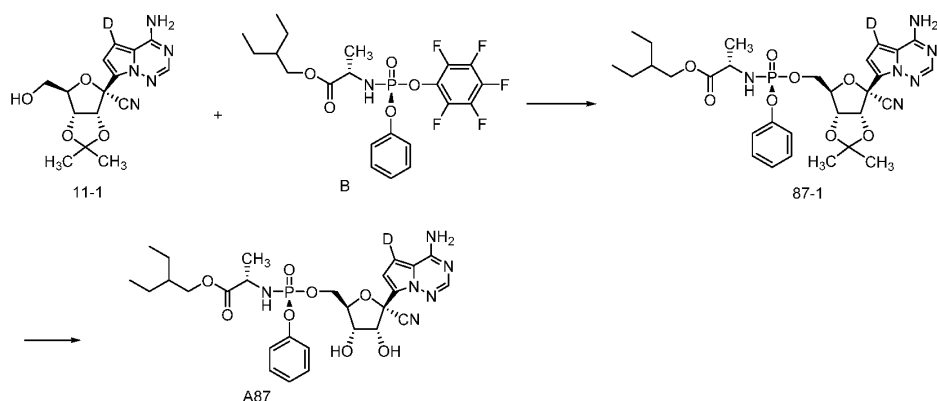


化合物1-1 (0.5 g, 0.89 mmol) 加入到DMF (9 mL) 中, 加入NBS (0.16 g, 0.89 mmol, 1.0 eq), 室温搅拌3-4小时, TLC监测反应完全。向反应液中加入饱和硫代硫酸钠 (10 mL) 溶液, 搅拌, 乙酸乙酯萃取, 分层, 水层再用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取一次。合并乙酸乙酯层, 干燥, 浓缩, 柱层析分离得化合物209-1, 白色固体0.5 g, 收率87%。

化合物209-1 (0.15 g, 0.23 mmol) 加入到N,N-二甲基乙酰胺 (5 mL) 中, 依次加入Zn (2 mg, 0.031 mmol, 0.13 eq), Zn(CN)₂ (0.06 g, 0.51 mmol, 2.2 eq), NiCl₂(dppf) (0.03 g, 0.043 mmol, 0.2 eq) 和Pd₂(dba)₃ (0.02 g, 0.02 mmol, 0.1 eq), 加毕, 140 °C反应过夜, TLC显示反应完全。将反应液倒入乙酸乙酯/水 (20 mL/20 mL) 中, 分层, 水层再用乙酸乙酯 (20 mL) 萃取一次。合并乙酸乙酯层, 干燥, 浓缩, 制备板分离, 得化合物209-2, 白色固体0.1 g, 收率74%。

化合物209-2 (0.1 g, 0.17 mmol) 加入到二氯甲烷 (3 mL) 中, -30 °C下, 滴加1M三氯化硼二氯甲烷溶液 (0.7 mL, 4.1 eq), 滴毕, 保温搅拌1-2小时, TLC监测反应完全。向反应液依次滴加甲醇 (0.5 mL), 三乙胺 (0.3 mL), 蒸干反应液, 制备板分离, 得到化合物A209, 白色固体15 mg, 收率28%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.23 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 6.30 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 5.22 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.93 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.55 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.11 - 4.03 (m, 1H), 3.94 (q, *J* = 5.8 Hz, 1H), 3.73 - 3.65 (m, 1H), 3.57 - 3.49 (m, 1H). MS *m/z* = 317.1 [M + 1]⁺。

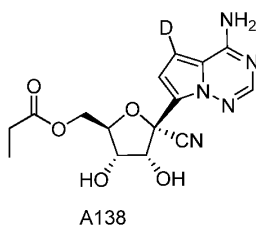
制备实施例40：化合物A87的合成



化合物 11-1 (0.05 g, 0.15 mmol) 加入到四氢呋喃 (3 mL) 中, 冰浴下, 滴加 3 M 甲基溴化镁的 2-甲基四氢呋喃溶液 (0.1 mL, 0.3 mmol), 加毕, 搅拌 5 分钟, 滴加化合物 B (0.1 g, 0.23 mmol) 的四氢呋喃溶液 (1 mL), 滴
5 毕, 室温搅拌 2 小时后, TLC 显示反应完全。将反应液加入到饱和氯化铵溶液 (10 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩得化合物 87-1 粗品, 直接投下步反应。

将上步得到的产物加入到四氢呋喃 (2 mL) 中, 冰浴下, 滴加浓盐酸 (0.4 mL), 加毕, 室温搅拌直至反应完全。将反应液加入到饱和碳酸氢钠溶液 (10
10 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A87, 白色固体 0.03 g, 两步收率 33%。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.89 (s, 1H), 7.36 - 7.30 (m, 2H), 7.24 - 7.15 (m, 3H), 6.94 (s, 1H), 4.82 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.46 - 4.37 (m, 2H), 4.35 - 4.28 (m, 1H), 4.20 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.05 (dd, *J* = 10.9, 5.8 Hz, 1H), 3.98 - 3.88
15 (m, 2H), 1.51 - 1.44 (m, 1H), 1.37 - 1.30 (m, 7H), 0.88 (t, *J* = 7.5 Hz, 6H)。MS *m/z* = 604.1 [*M* + 1]⁺。

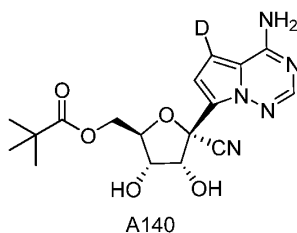
制备实施例41: 化合物A138的合成



参考化合物 A70 的合成方法, 以 A9 (147 mg, 0.5 mmol) 为原料, 经三步
20 反应得到化合物 A138, 白色固体 65 mg, 总收率 37%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.99 - 7.83 (m, 3H), 6.80 (s, 1H), 6.32 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 5.38 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.71 - 4.65 (m, 1H), 4.33 (dd, *J* = 12.0, 2.8 Hz, 1H), 4.25 - 4.19 (m, 1H), 4.15 (dd, *J* = 12.0, 5.5 Hz, 1H), 3.97 - 3.90 (m, 1H), 2.30 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H)。MS *m/z* =

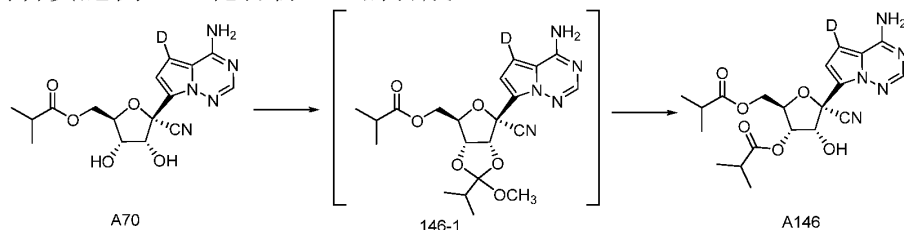
349.2 [M + 1]⁺。

制备实施例42：化合物A140的合成



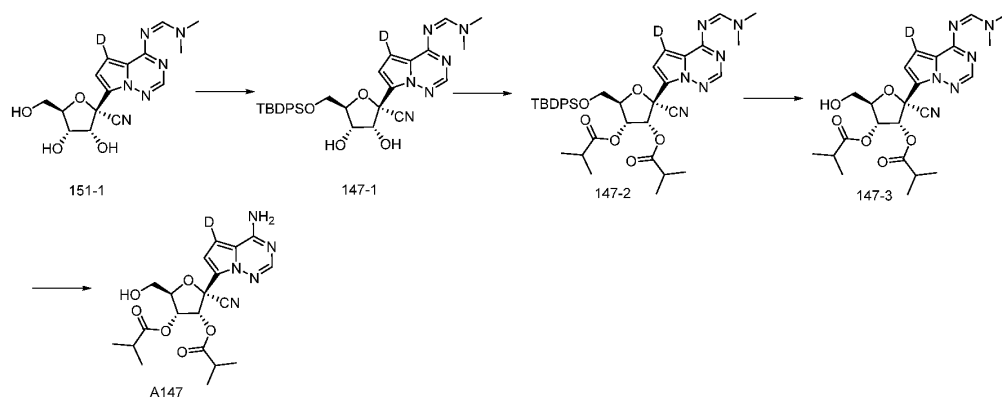
参考 A70 的合成方法，以 A9 (147 mg, 0.5 mmol) 为原料，经三步反应得到化合物 A140，白色固体 77 mg，总收率 41%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.03 - 7.80 (m, 3H), 6.80 (s, 1H), 6.32 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 5.37 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.70 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.30 - 4.22 (m, 2H), 4.21 - 4.14 (m, 1H), 4.01 - 3.94 (m, 1H), 1.09 (s, 9H)。MS *m/z* = 377.2 [M + 1]⁺。

10 制备实施例43：化合物A146的合成



化合物 A70 (0.18 g, 0.5 mmol) 加入到醋酸 (3 mL) 中，加入原异丁酸三甲酯 (0.37 g, 2.5 mmol)，50℃下搅拌，直至反应完全。蒸除溶剂，得到不稳定中间体 146-1。将该中间体溶于四氢呋喃 (6 mL) 中，加入 1M 稀盐酸 (0.5 mL)，室温搅拌，1 小时左右反应完全。向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液，至 pH 为中性，乙酸乙酯萃取，有机相干燥后蒸干，得化合物 A146 粗品。该粗品用异丙醇/水重结晶，得白色固体 0.18 g，收率 82%。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.05 - 7.83 (m, 3H), 6.85 (s, 1H), 6.56 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 5.16 (dd, *J* = 5.6, 4.1 Hz, 1H), 5.09 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.46 (q, *J* = 4.3 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 12.2, 4.0 Hz, 1H), 4.23 (dd, *J* = 12.2, 4.8 Hz, 1H), 2.67 - 2.58 (m, 1H), 2.55 - 2.49 (m, 1H), 1.16 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.15 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.05 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.03 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H)。MS *m/z* = 433.2 [M + 1]⁺。

制备实施例44：化合物A147的合成



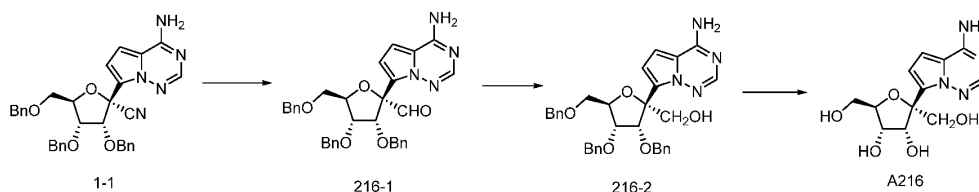
化合物 151-1 (1.51 g, 4.34 mmol) 加入到 N,N-二甲基甲酰胺 (15 mL) 中, 冰浴下, 加入叔丁基二苯基氯硅烷 (2.39 g, 8.69 mmol) 和咪唑 (1.18 g, 17.37 mmol), 室温下搅拌 5 小时。向反应液中加入水和乙酸乙酯, 分出有机相, 有机相依次用稀盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 147-1, 泡沫状固体 2.05 g。

化合物 147-1 (2.05 g, 3.50 mmol) 加入到二氯甲烷 (30 mL) 中, 室温下, 加入三乙胺 (1.24 g, 12.26 mmol)、DMAP (0.21 g, 1.75 mmol) 和异丁酸酐 (1.39 g, 8.76 mmol), 氮气保护, 室温反应 1 小时。反应液浓缩后, 加入水、乙酸乙酯, 分出有机相, 有机相分别用稀盐酸、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得化合物 147-2 粗品, 油状物, 该中间体不经分离直接用于下步反应。

将上步得到的产物加入到四氢呋喃 (30 mL) 中, 室温下, 加入乙酸 (0.11 g, 1.75 mmol) 和 1 M 四丁基氟化铵 (3.5 mL, 3.5 mmol) 的四氢呋喃溶液, 室温搅拌 2 小时。向反应液中加入水和乙酸乙酯, 分出有机相, 有机相分别用饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得化合物 147-3 粗品, 油状物。

将上步得到的 147-3 粗品加入到乙醇 (20 mL) 中, 室温下, 加入乙酸 (4.2 g, 70 mmol), 氮气保护, 50℃ 搅拌过夜。将反应液浓缩后加入水和乙酸乙酯, 分出有机相, 有机相分别用饱和碳酸氢钠和饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 A147, 白色固体 0.85 g, 三步收率 56%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.15 - 7.89 (m, 3H), 6.80 (s, 1H), 6.01 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.44 (dd, *J* = 5.7, 3.1 Hz, 1H), 5.18 (dd, *J* = 6.1, 5.2 Hz, 1H), 4.41 (q, *J* = 3.4 Hz, 1H), 3.71 - 3.60 (m, 2H), 2.69 - 2.54 (m, 2H), 1.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.16 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.11 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H), 1.09 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H)。MS *m/z* = 433.2 [*M* + 1]⁺。

制备实施例45: 化合物A216的合成

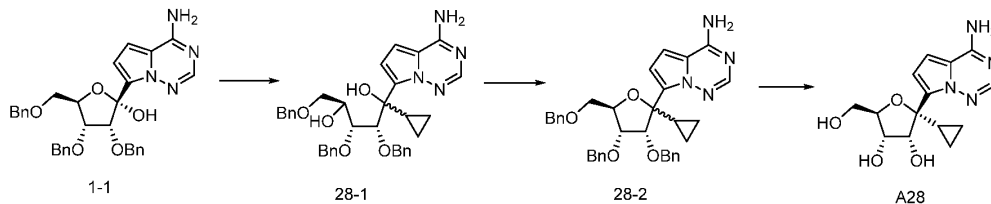


化合物 1-1 (0.2 g, 0.36 mmol) 加入到二氯甲烷 (2 mL) 中, 零下 78°C 下, 缓慢滴加 1.2 M 二异丁基氢化铝 (0.9 mL, 1.08 mmol) 的甲苯溶液, 加毕, 保温搅拌 3-4 小时, TLC 显示反应完全。向反应液滴加乙酸乙酯 (3 mL), 加毕, 自然升温至室温, 加入 20% 酒石酸钠钾水溶液 (5 mL), 室温搅拌过夜。将反应液加入到水 (15 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 得到化合物 216-1。

化合物 216-1 (0.6 g, 1.06 mmol) 加入到乙醇 (10 mL) 和二氯甲烷 (10 mL) 的混合液中, 冰浴下, 分批加入 NaBH_4 (0.1 g, 2.6 mmol), 加毕, 室温搅拌 2-3 小时, TLC 显示反应完全。向反应液中滴加冰醋酸至不再产生气泡, 加入水 (30 mL), 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 饱和碳酸氢钠洗涤, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 216-2, 白色固体 0.48 g, 收率 80%。

化合物 216-2 (0.48 g, 0.85 mmol)、甲酸 (2 mL) 和 10% 钯碳 (0.06 g) 依次加入到甲醇 (6 mL) 中, 室温下, 通入氢气, 常压搅拌 16 小时。过滤, 浓缩, 反相柱分离, 得到化合物 A216, 白色固体 0.05 g, 收率 20%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.80 (s, 1H), 7.61 (s, 2H), 6.81 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 5.18 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 4.79 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.51 - 4.38 (m, 2H), 4.16 (dd, $J = 11.6, 6.7$ Hz, 1H), 3.99 (dd, $J = 11.6, 4.7$ Hz, 1H), 3.94 - 3.83 (m, 1H), 3.78 - 3.69 (m, 1H), 3.70 - 3.59 (m, 1H), 3.56 - 3.47 (m, 1H)。MS $m/z = 297.1$ $[\text{M} + 1]^+$ 。

制备实施例46: 化合物A28的合成



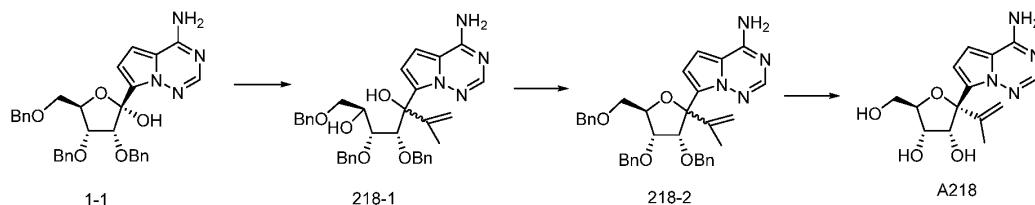
冰浴下, 向化合物 1-1 (0.5 g, 0.9 mmol) 中滴加 0.5 M 环丙基溴化镁四氢呋喃溶液 (18 mL, 9 mmol), 加毕, 室温搅拌过夜。冰浴下, 向反应液中滴加饱和氯化铵溶液 (10 mL), 加入水 (50 mL), 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得化合物 28-1, 白色固体 0.2 g, 收率 37%。

化合物 28-1 (0.2 g, 0.34 mmol) 加入到二氯甲烷 (4 mL) 中, 冰浴下, 滴加甲磺酸 (0.1 g, 1.04 mmol), 加毕, 室温搅拌 10-12 小时, TLC 监测反

应完全。向反应液中加入饱和碳酸氢钠溶液至 pH 为中性，加入水 (15 mL)，乙酸乙酯萃取，分出有机层，干燥，浓缩，硅胶柱层析分离，得化合物 28-2，白色固体 0.1 g，收率 51.0%。

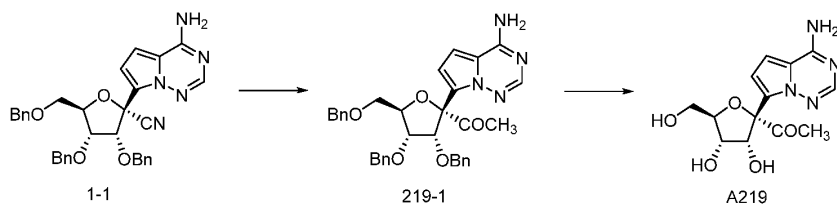
- 化合物 28-2 (0.24 g, 0.42 mmol)、甲酸 (1 mL) 和 10% 钯碳 (0.03 g) 依次加入到甲醇 (3 mL) 中，室温下，通入氢气，常压搅拌 16 小时，TLC 监测反应完全。过滤，浓缩，硅胶柱层析分离，得化合物 A28，白色固体 13 mg，收率 10%。¹H NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7.78 (s, 1H), 6.85 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.79 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 4.01 - 3.95 (m, 1H), 3.95 - 3.89 (m, 1H), 3.81 (dd, *J* = 11.9, 2.8 Hz, 1H), 3.68 (dd, *J* = 11.8, 5.5 Hz, 1H), 2.02 - 1.92 (m, 1H), 0.68 - 0.52 (m, 2H), 0.28 - 0.19 (m, 1H), 0.19 - 0.08 (m, 1H)。MS *m/z* = 307.1 [*M* + 1]⁺。

制备实施例 47：化合物 A218 的合成



- 冰浴下，向化合物 1-1 (2.2 g, 3.98 mmol) 中滴加 1.0 M 异丙基溴化镁四氢呋喃溶液 (40 mL, 40 mmol)，加毕，室温搅拌过夜。向反应液中，缓慢滴加饱和氯化铵水溶液 (10 mL)，加毕，加入水 (40 mL)，乙酸乙酯萃取，分出有机层，干燥，浓缩，硅胶柱层析分离，得中间体 218-1，白色固体 1.6 g，收率 68%。
- 中间体 218-1 (1.6 g, 2.69 mmol) 加入到二氯甲烷 (30 mL) 中，冰浴下，缓慢滴加甲磺酸 (0.77 g, 8.01 mmol)，加毕，室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全，冰浴下，向反应液中滴加饱和碳酸氢钠溶液，至 pH 为中性，加入到水 (40 mL)，二氯甲烷萃取，分出有机层，干燥，浓缩，硅胶柱层析分离，得中间体 218-2，黄色油状物 0.7 g，收率 45%。
- 参考实施例 5 中脱苄基的方法，中间体 218-2 (0.7 g, 1.21 mmol) 与 1.0 M BCl₃ 二氯甲烷溶液 (6.0 mL, 6.0 mmol) 反应，产物经柱层析分离，得化合物 A218，白色固体 0.025 g。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.74 (s, 1H), 7.55 (s, 2H), 6.82 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.83 - 4.73 (m, 3H), 4.72 - 4.64 (m, 2H), 4.05 - 3.94 (m, 1H), 3.84 - 3.76 (m, 1H), 3.70 - 3.60 (m, 1H), 3.51 - 3.42 (m, 1H), 1.59 (s, 3H)。 *m/z* = 307.2 [*M*+1]⁺。

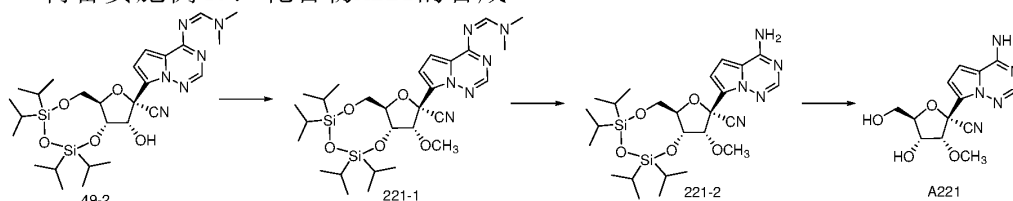
制备实施例 48：化合物 A219 的合成



化合物 1-1 (0.56 g, 1.0 mmol) 加入到四氢呋喃 (5 mL) 中, 氮气保护, 冰浴下, 缓慢滴加 3 M 甲基溴化镁四氢呋喃溶液 (1.7 mL, 5.1 mmol), 加毕, 60°C 下搅拌 2-3 小时。TLC 监测反应完全, 冰浴下, 滴加饱和氯化铵水溶液 (1.0 mL), 加入水 (10 mL), 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 柱层析分离得 219-1, 白色固体 0.38 g, 收率 66%。

参考实施例 5 中脱苄基的方法, 中间体 219-1 (0.2 g, 0.345 mmol) 与 1.0 M BCl_3 二氯甲烷溶液 (1.7 mL, 1.7 mmol) 反应, 产物经硅胶柱层析分离, 得化合物 A219, 白色固体 0.05 g, 收率 47%。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.99 - 7.43 (m, 3H), 6.79 (s, 1H), 6.62 (s, 1H), 5.49 (s, 1H), 5.10 - 4.93 (m, 1H), 4.83 - 4.67 (m, 1H), 4.60 - 4.40 (m, 1H), 4.19 - 3.96 (m, 2H), 3.59 - 3.44 (m, 1H), 3.27 - 3.16 (m, 1H), 2.30 (s, 3H)。MS m/z = 309.2 $[\text{M}+1]^+$ 。

制备实施例 49: 化合物 A221 的合成



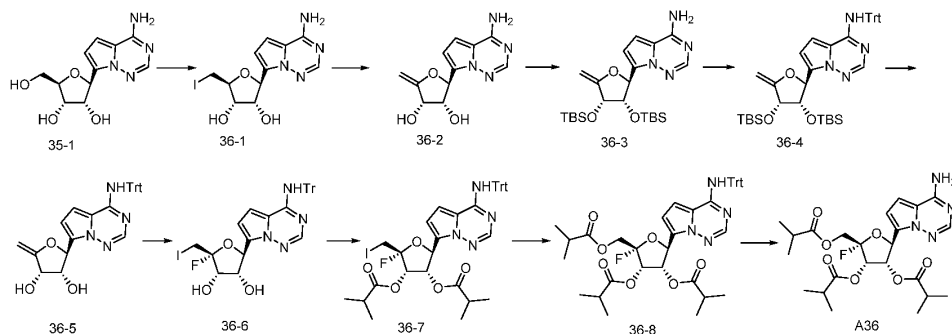
化合物 49-2 (0.6 g, 1 mmol) 加入到 DMF (10 mL) 中, 冰浴下, 依次加入碘甲烷 (0.28 g, 2.0 mmol) 和 60% 氢化钠 (0.014 g, 2.0 mmol), 搅拌 15 分钟后, TLC 显示反应完全。将反应液加入到饱和氯化铵水溶液 (15 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 蒸干, 得化合物 221-1, 该中间体不经纯化直接进行下一步反应。

将上步得到的 221-1 加入到乙腈 (2 mL) 中, 加入 85% 水合肼 (0.24 g, 4.0 mmol), 室温搅拌 1 小时, TLC 显示反应完全。将反应液加入到水 (15 mL) 中, 乙酸乙酯萃取, 分出有机层, 干燥, 浓缩, 柱层析分离得化合物 221-2, 白色固体 0.2 g, 两步收率 37%。

化合物 221-2 (0.2 g, 0.36 mmol) 加入到四氢呋喃 (2 mL) 中, 加入 1M 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液 (0.4 mL, 0.4 mmol), 室温搅拌 2 小时, TLC 显示反应完全。将反应液浓缩, 制备板分离, 得化合物 A221, 白色固体 0.045 g, 收率 41%。 ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.07 - 7.78 (m, 3H), 6.87 (s, 1H),

5.30 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.94 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 4.37 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.11 (q, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.08 - 4.02 (m, 1H), 3.71 - 3.62 (m, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.54 - 3.48 (m, 1H)。MS $m/z = 306.0 [M+1]^+$ 。

制备实施例50：化合物A36的合成



5

化合物35-1 (8.4 g, 31.5 mmol) 溶于吡啶 (85 mL) 中, 加入三苯基磷 (33.1 g, 126.2 mmol), 氮气保护升温至30℃, 40℃以下分批加入碘 (32.0 g, 126.2 mmol), 搅拌1h, TLC显示反应完毕, 加入饱和硫代硫酸钠溶液, 硅胶柱层析分离 (DCM:MeOH=100:1-10:1), 得化合物36-1, 8.5 g, 收率72%。

10 化合物36-1 (3.0 g, 8.0 mmol) 溶于乙腈 (60 mL) 中, 加入DBU (2.4 g, 16.0 mmol), 40℃搅拌3h, TLC显示反应完毕, 硅胶柱层析分离 (DCM:MeOH=50:1-10:1), 得到化合物36-2, 600 mg, 收率30%。

化合物36-2 (200 mg, 0.8 mmol) 加入THF (5 mL) 中, 加入DBU (731 mg, 4.8 mmol), TBSCl (543 mg, 3.6 mmol), 室温搅拌2h, TLC显示反应完毕, 15 加入甲醇 (1 mL), 饱和柠檬酸水溶液 (4 mL), 搅拌, 乙酸乙酯萃取, 分别用饱和食盐水和饱和碳酸氢钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得化合物36-3粗品。

化合物36-3粗品加入二氯甲烷 (10 mL) 中, 加入2,4,6-三甲基吡啶 (194 mg, 1.6 mmol), 硝酸银 (272 mg, 1.6 mmol), 三苯基氯甲烷 (374 mg, 1.2 mmol), 室温反应2h后, 加入甲醇, 浓缩, 加入乙酸乙酯, 分别用饱和硫酸铜 20 和饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩, 得化合物36-4粗品;

化合物36-4粗品加入THF (5 mL) 中, 加入四丁基氟化铵水合物 (508 mg, 1.6 mmol) 的四氢呋喃溶液, 反应1h, 补加四丁基氟化铵水合物 (508 mg, 1.6 mmol) 的四氢呋喃溶液反应, 继续反应1h, 加入水, 乙酸乙酯萃取, 浓缩, 硅胶柱层析分离, 得到化合物36-5, 白色固体84 mg, 三步收率22%; 25

化合物36-5 (70 mg, 0.14 mmol) 加入乙腈 (2mL) 中, 冰盐浴冷却到-5℃, 加入三乙胺三氟化氢 (35 mg, 0.21 mmol), 碘代丁二酰亚胺 (36mg, 0.15

mmol)，保温反应2小时，升到室温反应2h，加入饱和碳酸氢钠和饱和硫代硫酸钠的混合溶液，乙酸乙酯萃取，饱和氯化钠洗涤，无水硫酸钠干燥，浓缩，得化合物36-6粗品；

- 化合物36-6粗品加入二氯甲烷(5 mL)中，依次加入吡啶(114 mg, 1.4 mmol)，
5 异丁酸酐(162 mg, 1.0 mmol)和DMAP(5 mg)，室温反应2小时，加入甲醇，
浓缩，加入乙酸乙酯，分别用饱和硫酸铜溶液和饱和氯化钠溶液洗涤，浓缩，
硅胶柱层析分离(PE: EA=20: 1-10: 1)，得到化合物36-7，淡黄色固体28 mg，
收率20%。

- 化合物36-7(28 mg, 0.036 mmol)加入DMF(2 mL)中，加入18-冠-6(26
10 mg)和异丁酸钠(35 mg, 0.32 mmol)，110℃反应18h，加入水，乙酸乙酯萃
取，饱和氯化钠洗涤，硅胶柱层析分离(PE: EA=20: 1-10: 1)，得到化合物
36-8，淡黄色固体20mg。

- 化合物36-8(100 mg, 0.14 mmol)加入乙酸(3 mL)和水(1 mL)中，
加热到85℃，反应10 mins，原料消失，加入饱和碳酸氢钠溶液，乙酸乙酯萃
15 取，浓缩，硅胶柱层析分离(DCM:MeOH=100:1-50:1)，得到化合物A36，淡黄
色固体50 mg。MS $m/z = 495.2[M+1]^+$ 。

制备实施例51：核苷类似物的合成

- 参照制备实施例1-50的方法，不同点在于采用不同的原料化合物，从而
制得化合物 A5、A6、A8、A13、A14、A28、A30、A37、A54、A55、A57、A58、
20 A63、A73、A78、A79、A80、A81、A86、A88、A89、A91、A95、A97、A99、A101、
A105、A113、A114、A115、A116、A117、A118、A119、A120、A121、A122、A123、
A125、A126、A127、A128、A129、A130、A132、A133、A134、A135、A136、A137、
A139、A141、A142、A143、A145、A148、A149、A150、A152、A153、A154、A155、
A156、A157、A158、A159、A160、A161、A162、A163、A165、A166、A167、A168、
25 A169、A170、A172、A175、A176、A177、A179、A182、A183、A184、A185、A186、
A187、A189、A190、A191、A192、A193、A194、A195、A197、A199、A200、A201、
A202、A203、A204、A205、A206、A207、A208、A210、A211。

测试实施例1：化合物对新型冠状病毒复制的抑制作用研究

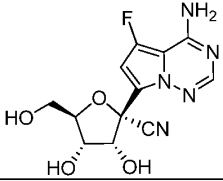
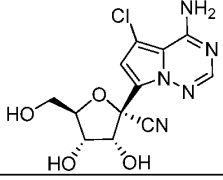
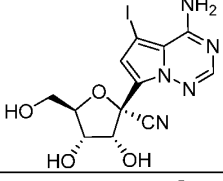
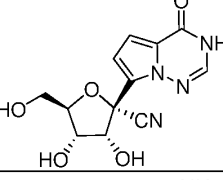
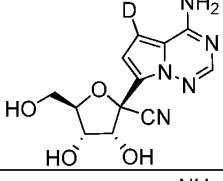
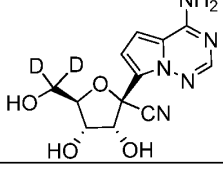
- 30 测定本发明化合物对2019新型冠状病毒(SARS-CoV-2)复制抑制活性：Vero E6
细胞购买自ATCC，SARS-CoV-2病毒来源于国家病毒资源库微生物菌毒种保藏中心。
将Vero E6细胞在密度为 5×10^4 细胞/孔的48孔细胞培养皿中培养过夜，用不同浓度
的本发明化合物预先处理细胞1小时，然后加入病毒(感染复数MOI为0.05)使其感染
1小时，然后取出病毒化合物混合物，用含本发明化合物的新鲜培养基进一步培养

细胞。在24 h p. i. 时, 收集细胞上清液并在裂解缓冲液中裂解, 通过定量实时RT-PCR(qRT-PCR)对细胞上清液中的病毒拷贝数进行定量评估。

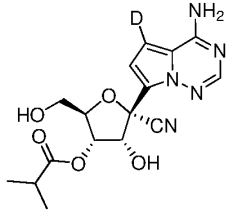
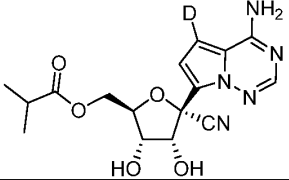
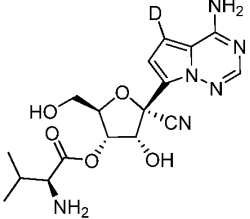
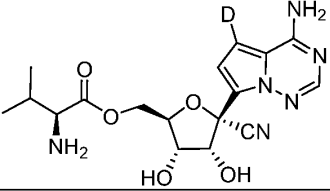
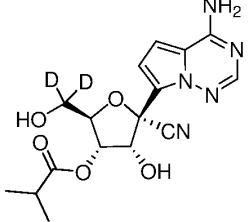
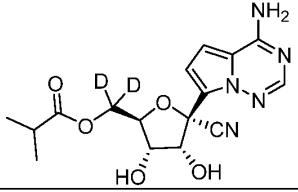
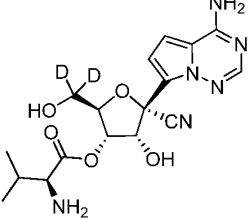
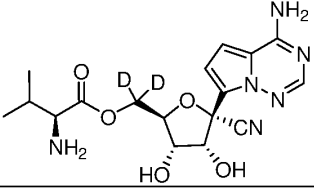
结果表明, 在10 μ M或5 μ M浓度下多个化合物显著抑制SARS-CoV-2病毒复制, 与药物未处理的对照组比较, 对新型冠状病毒复制的抑制率>99%, 部分化合物的EC₅₀值在低微摩尔水平, 其抗病毒活性显著优于对照化合物瑞德西韦(remdesivir)。

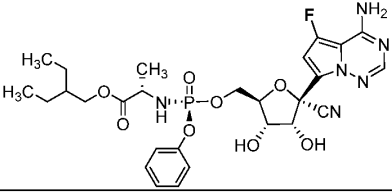
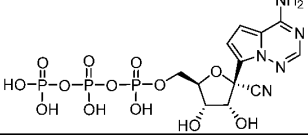
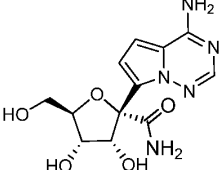
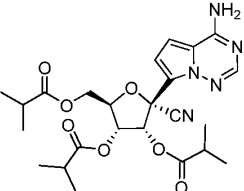
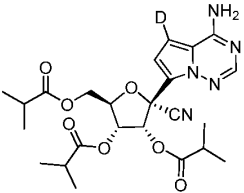
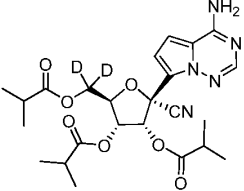
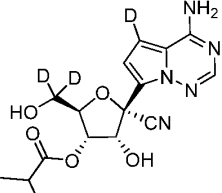
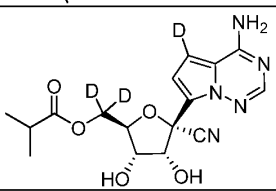
部分优选化合物的EC₅₀和抑制率数据列于表1。

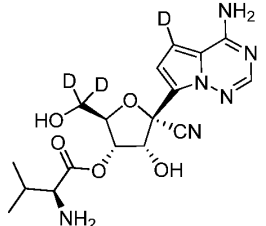
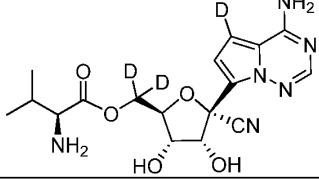
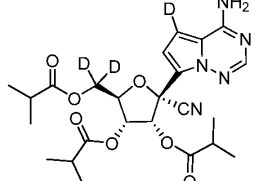
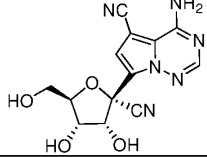
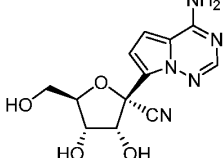
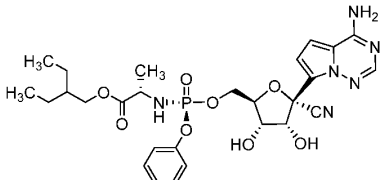
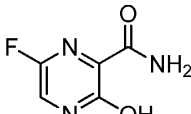
表 1. 对2019新型冠状病毒(SARS-CoV-2)复制抑制活性

化合物编号	游离态结构	抑制率 (10 μ M)	抑制率 (5 μ M)	EC ₅₀ (μ M)
A1		97%	80%	/
A2		< 50%	/	/
A3		< 50%	/	/
A4		< 50%	/	/
A9		/	99%	0.44
A10		/	99%	0.43

A11		/	99%	/
A12		/	98%	/
A35		/	/	/
A124		99%	99%	0.25
A50		99%	99%	0.23
A212		99%	99%	0.11
A52		/	99%	/
A53		65%	/	/
A144		/	99%	0.24

				
A70		/	99%	/
A213		/	99%	0.10
A72		/	99%	
A164		/	99%	0.27
A75		/	99%	/
A214		/	99%	0.11
A77		/	99%	/

A84		82%	/	/
A109		99%	99%	0.58
A112		< 50%	/	/
A131		/	99%	/
A151		/	99%	0.31
A171		/	99%	/
A188		/	99%	/
A180		/	99%	/

A215		/	99%	/
A181		/	99%	/
A196		/	99%	/
A209		/	/	/
GS-441524		/	99%	0.48
瑞德西韦		99%	65%	2.0
法匹拉韦		< 20%	0%	/

注：“/”表示未测定。

测试实施例 2：化合物的半数毒性浓度测定

在本实施例中，通过CCK8试剂盒分析确定本发明化合物(表1中的各化合物)对 Vero E6细胞的半数毒性浓度(CC₅₀)。

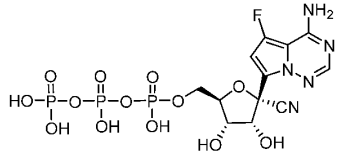
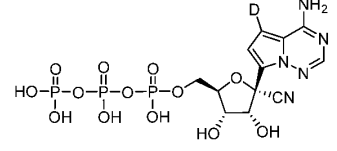
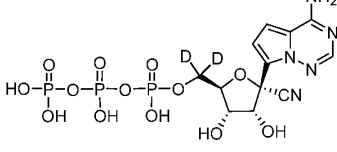
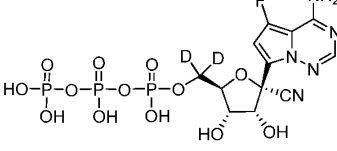
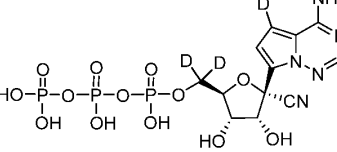
结果显示，测试化合物在最高浓度10 μM下对Vero E6细胞无细胞毒作用，这提示本发明化合物CC₅₀远大于10 μM。

测试实施例3：化合物对新型冠状病毒RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）抑制作用研究

参考文献报道方法（Virus Genes, 2015, 50:498-504），利用荧光法测定本发明化合物对2019新型冠状病毒（SARS-CoV-2）RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）抑制活性：新冠病毒RdRp溶液、底物、化合物溶液、缓冲液等共孵育1小时后，加入荧光DNA结合染料，10分钟后，进行数据采集，计算化合物对RdRp的抑制活性。

结果显示，部分化合物对RdRp具有显著抑制活性，见表2。

表2. 化合物对2019新型冠状病毒RdRp的抑制活性

化合物编号	游离态结构	IC ₅₀ (μM)
A102		B
A106		A
A107		A
A108		/
A198		A

A: < 1μM; B: 1μM ~10μM; C: > 1μM; “/”表示未测定。

测试实施例4：化合物对其它病毒复制的抑制作用研究

利用细胞病变效应（CPE）实验测试化合物对呼吸道合胞病毒（RSV），人冠状病毒 OC43，A 型流感病毒，寨卡病毒（Zika）复制的抑制活性。

细胞病变效应（CPE）实验

将实验细胞以一定的细胞密度接种到 96 孔细胞培养板中，于 5% CO₂、37° C 培养箱中培养过夜。第二天加入化合物和病毒。依所测病毒不同而异，细胞在

5% CO₂、33 ° C 或 37 ° C 条件下于培养箱中培养 3-7 天，直至无化合物的病毒感染对照孔内细胞病变达 80-95%。然后用 CellTiter-Glo 或 CCK-8 检测每孔细胞活力。如含化合物孔的细胞活力较病毒感染对照孔高，即 CPE 减弱，则表明化合物对所测病毒有抑制作用。细胞毒性实验方法与相应的抗病毒实验方法相同，但无病毒感染。

化合物的抗病毒活性和细胞毒性分别由化合物对病毒引起的细胞病毒效应的抑制率(%)和细胞活率(%)表示。计算公式如下：

抑制率(%) = (测试孔读值-病毒对照平均值) / (细胞对照平均值-病毒对照平均值) × 100；

10 细胞活率(%) = (测试孔读值-培养基对照平均值) / (细胞对照平均值-培养基对照平均值) × 100；

EC₅₀ 和 CC₅₀ 值通过 Prism 软件计算，抑制曲线拟合方法为“log(inhibitor) vs. response -- Variable slope”。

登革热病毒空斑减少实验

15 将 Vero 细胞以每孔 600,000 个细胞的密度接种到 6 孔细胞培养板中、于 5% CO₂、37 ° C 培养箱中培养过夜。第二天加入化合物和病毒(40-50 PFU/孔)。细胞在 5% CO₂、37 ° C 条件下于培养箱中培养 2 个小时，随后吸去上清，加入含对应浓度化合物的低融点琼脂糖培养液。细胞在 5% CO₂、33 ° C 或 37 ° C 条件下于培养箱中培养 6-7 天，直至显微镜下无化合物的病毒感染对照孔内可观察到明显的病毒空斑。使用 4%多聚甲醛固定细胞，使用结晶紫染色。计算每孔内空斑数量。

25 细胞毒性实验与抗病毒实验平行进行。将 Vero 细胞以每孔 20,000 个细胞的密度接种到 96 孔细胞培养板中、于 5% CO₂、37 ° C 培养箱中培养过夜。第二天加入化合物(1-5 个浓度点、单点)。细胞在 5% CO₂、33 ° C 或 37 ° C 条件下于培养箱中培养 6-7 天。然后用 CCK-8 检测每孔细胞活力。

化合物的抗病毒活性(EC₅₀或抑制率)和细胞毒性(CC₅₀)的计算方法同上。

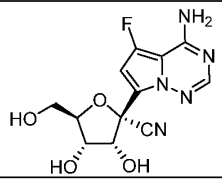
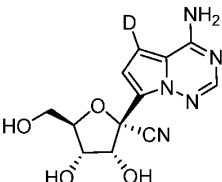
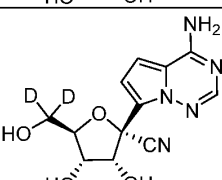
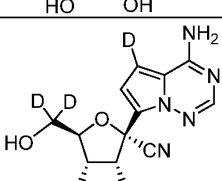
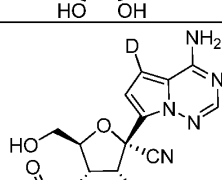
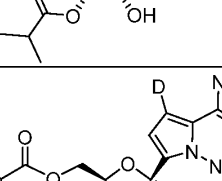
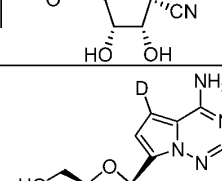
抗猪流行性腹泻病毒(PEDV)活性实验

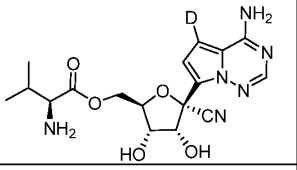
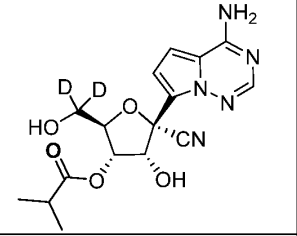
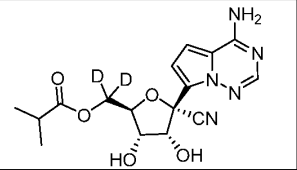
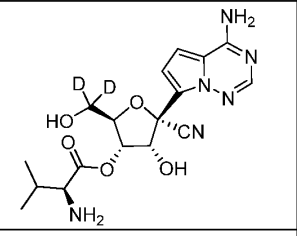
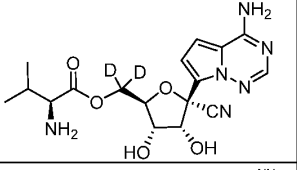
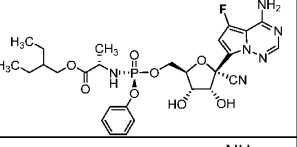
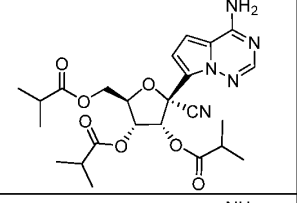
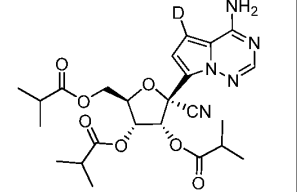
30 将 Vero 细胞进行消化传代，用细胞生长液调整细胞密度为 1×10⁵/mL，并接种于 96 孔板，100 μL/孔，放置于 37 ° C、5%CO₂培养箱培养 24h；取出 96 孔板，弃去孔中培养基，用 1×PBS 清洗三次，甩干后每孔加入化合物(10 个浓度点)和病毒(每孔 0.01 MOI)的混合液，每个浓度设置 8 个重复孔，于 37 ° C、5%CO₂培养箱培养，同时设置病毒对照与细胞对照。36h 后，收集细胞样品，荧光定量 PCR 测定不同处理组病毒含量变化，计算化合物的 EC₅₀。

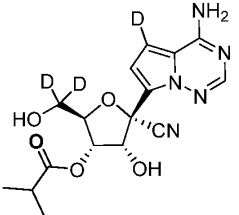
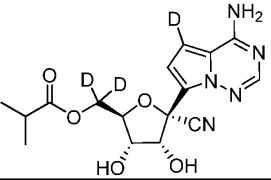
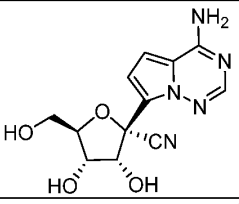
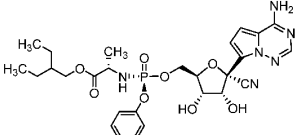
35 结果表明，多个化合物具有显著的抗呼吸道合胞病毒(RSV)、人冠状病毒OC43(HCoV OC43)、猪流行性腹泻病毒(PEDV)、寨卡病毒(Zika)、登革热病毒(DENV)活性，与GS-441524相比，氘代衍生物具有更强的抗病毒效果，部分优选化合物

的EC₅₀列于表3和表4。

表 3, 对呼吸道合胞病毒 (RSV)、人冠状病毒 OC43 (HCoV OC43) 复制抑制活性

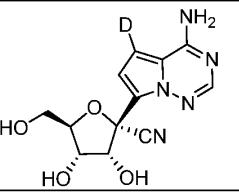
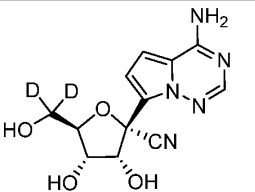
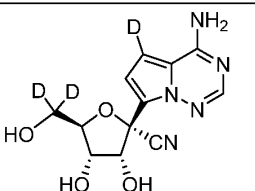
化合物 编号	游离态结构	RSV (HEp-2)		HCoV OC43 (Huh7)	
		EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)
A1		/	/	/	/
A9		0.56	> 10	1.77	> 10
A10		0.63	> 10	1.98	> 10
A11		0.66	> 10	1.99	> 10
A144		0.47	> 10	1.88	> 10
A70		0.58	> 10	1.90	> 10
A213		0.76	> 10	1.97	> 10

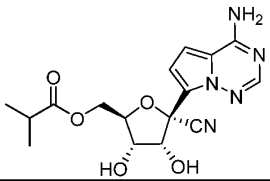
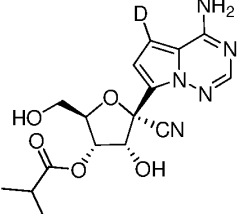
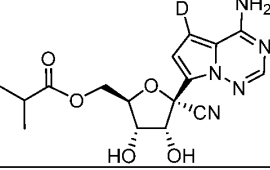
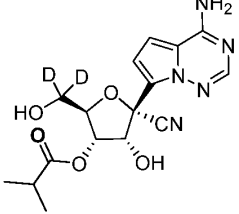
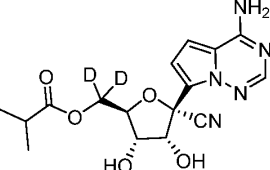
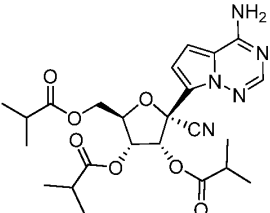
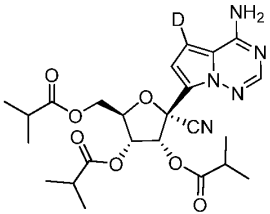
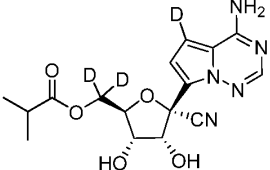
A72		0.77	> 10	/	/
A164		/	/	/	/
A75		0.49	> 10	/	/
A214		/	/	/	/
A77		/	/	/	/
A84		/	/	/	/
A131		/	/	/	/
A151		0.63	> 10	1.99	/

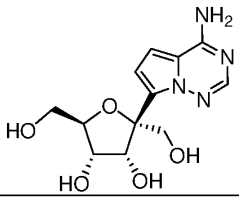
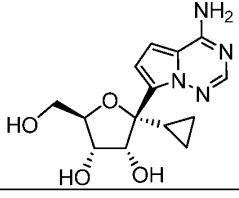
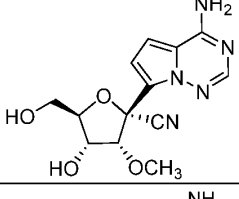
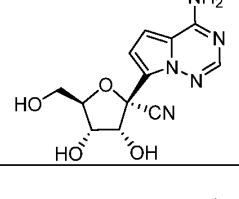
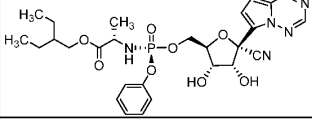
A173		0.46	> 10	/	/
A180		/	/	/	/
GS-441 524		0.73	> 10	1.88	> 10
瑞德西 韦		/	/	0.021	25.7

注：“/”表示未测定。

表4，对猪流行性腹泻病毒（PEDV）、寨卡病毒（Zika）、登革热病毒（DENV）复制抑制活性

化合物 编号	结构	PEDV (Vero)	Zika (Huh7)	DENV (Vero)
		EC ₅₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	5 μM
A9		0.016	12	100%
A10		0.006	/	/
A11		0.005	/	/

A50		0.002	/	/
A144		<0.1	/	/
A70		0.002	~27%, 5uM	/
A164		/	/	/
A75		/	/	/
A131		<0.1	/	/
A151		<0.1	/	/
A180		/	/	/

A216		1.92	/	24%
A28		1.10	/	6%
A221		1.35	/	51%
GS-441 524		0.026	15	/
瑞德西 韦		/	/	100%
利巴韦 林		/	/	17.4

注：“/”表示未测定。

测试实施例 5：小鼠体内的药代动力学评价

实验方法：

15 只雄性 CD-1 小鼠，随机分成 5 组，每组 3 只，实验前禁食 12 h，自由
5 饮水；给药后 2 h 统一进食。其中 4 组分别灌胃给予 50 mg/kg 的 GS-441524、
A9、A10 和 A11，并于给药后 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24h 经股静脉取血约 30
μL，置于肝素抗凝管中。立即准确吸取 20 μL 全血于预先加好 2 μL PhosSTOP
和 7 μL DTNB (0.5 M) 的离心管中，混匀，4℃离心后，取 10 μL 血浆于预先
10 加好 100 μL 沉淀剂（甲醇：乙腈，1:1, v/v）的离心管中，混匀，4℃离心后
置于干冰中暂存及运输，冻存于-80℃待测。剩余 1 组分别静脉注射给予 25
mg/kg 的 GS-441524，并于给药后 5 min, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24h 经股
静脉取血，置于肝素抗凝管中，处理方法同上。

采用 LC-MS-MS 法测定血浆中 GS-441524、A9、A10 和 A11 的浓度。取 20 μL
上清液与 20 μL 去离子水混匀后进样分析。样品经 Waters HSS T3 (2.1*50

mm, 1.8 μ m) 色谱柱分离后, 采用电喷雾电离源, 在正离子条件下采用多反应监测模式检测。样品的线性范围均为: 10-30000 ng/mL。

表 5, 化合物 GS-441524, A9, A10, A11 小鼠体内的药动学参数

化合物 PK 参数	GS-441524 (p. o.)	GS-441524 (i. v.)	A9 (p. o.)	A10 (p. o.)	A11 (p. o.)
T _{max} (h)	0.8	—	1.2	0.8	0.7
C _{max} (ng/mL)	1826	—	3227	1764	2117
T _{1/2} (h)	1.2	1.0	1.0	1.3	1.9
AUC (0-t) (h*ng/mL)	4556	14513	5982	4551	5684
AUC (0- ∞) (h*ng/mL)	4616	14581	6013	4619	5754
F%	15.7%				

5 测试实施例 6: 大鼠体内的药代动力学评价

实验方法:

18只雄性SD大鼠, 随机分成6组, 每组3只, 实验前禁食12 h (静脉实验组不禁食), 自由饮水; 给药后4 h统一进食。其中3组分别灌胃给予10 mg/kg的A9、A146和A151, 剩余3组分别静脉注射给予2 mg/kg的A9、A146和A151。给药溶媒为DMSO/EtOH/PEG300/0.9%NaCl (5/5/40/50, v/v/v/v)。

于给药后5 min (仅静脉)、0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0和24 h经颈静脉取血0.2 mL, 置EDTA-K2试管中, 11000 rpm离心5 min, 分离血浆, 于-70°C冰箱中冷冻待测。冰水浴操作。采用LC-MS-MS法测定血浆中A9的浓度, 计算药动学参数。

15 表6, 化合物A9, A146, A151大鼠体内的药动学参数

化合物 PK 参数	A9 (po-10 mpk)	A9 (iv-2mp k)	A146 (po-10 mpk)	A146 (iv-2mp k)	A151 (po-10 mpk)	A151 (iv-2mpk)
T _{max} (h)	3.0	0.08	0.25	0.08	0.5	0.1
C _{max} (ng/mL)	221	1260	576	770	498	513
T _{1/2} (h)	3.4	2.3	2.5	1.4	2.6	1.5

AUC (0-t) (h*ng/mL)	1336	1257	1888	779	1886	665
AUC (0-∞) (h*ng/mL)	1726	1283	1998	821	1998	700
F%	21.3%		48.5%		56.7%	

测试实施例 7：组织分布试验

实验方法：

16 只雄性 CD-1 小鼠，随机分成 4 组，每组 4 只，实验前禁食 12 h，自由
5 饮水；给药后 2 h 统一进食。4 组小鼠分别灌胃给予 200 mg/kg 的 A151
(DMSO-ethanol-PEG300-saline 溶解，体积比为 5/5/40/50)，在给药 1h，
2h，4h，和 8h 后，小鼠进行麻醉，心脏穿刺取血，采集肝、肾、心、肺组织
样本，采用 HPLC-MS/MS 法测定各组织中 A9 的分布情况。

10 表 7，小鼠口服 A151 (200 mg/Kg) 后，代谢产物 A9 的组织分布

器官 时间	全血 nM	肝 nMol/kg	肾 nMol/kg	肺 nMol/kg	心脏 nMol/kg
1h	30820	30853	47166	31441	25648
2h	18261	14281	26719	12830	12927
4h	8754	6289	11059	5705	6256
8h	549	639	1220	1032	749

测试实施例 8：抗 SARS-CoV-2 体内药效试验

实验 8.1：

8 周龄的 Balb/c 小鼠，分为 5 组，病毒对照组（溶媒：40%PEG400+10%HS
15 15+50%超纯水）、A151 氢溴酸盐（A151-S）口服组（50 mg/Kg，100 mg/Kg）、
瑞德西韦口服组（50 mg/kg）、瑞德西韦腹腔注射组（50 mg/kg）。各组动物
转导带人源 ACE2 基因的腺病毒，转导 5 天后感染新冠病毒，感染 1 小时后，
采用灌胃或腹腔注射的方式分别给予溶媒、A151-S 和对照药瑞德西韦，每天给
药一次。分别于感染后第 2 天和第 5 天处死小鼠，取小鼠肺组织，检测小鼠肺
20 组织中病毒 RNA 拷贝数。给药 2 天和给药 5 天后的病毒 RNA 拷贝情况分别如图
1 和图 2 所示。

试验结果显示，化合物 A151-S 口服 50 mg/kg 和 100 mg/kg，均能够有效
降低小鼠肺组织中的病毒 RNA 量，具有一定的剂量依赖性。在给药 2 天后，在
50 mg/Kg 剂量下，A151-S 口服抗病毒效果优于瑞德西韦口服组，在给药 5 天

后, A151-S 口服抗病毒效果优于瑞德西韦腹腔注射组。

实验 8.2:

8 周龄的 Balb/c 小鼠, 分为 2 组, 病毒对照组 (溶媒: 5%DMSO+5%SolutolHS15+90%Saline) 和 A151-S 腹腔注射给药组 (100 mg/Kg)。两组动物转导带人源 ACE2 基因的腺病毒, 感染新冠病毒前一天给予 A151-S, 并于感染后当天到第 4 天每天一次腹腔注射给予 A151-S, 对照组进行同样处理。于感染后第 4 天处死小鼠, 取小鼠肺组织, 检测小鼠肺组织中病毒 RNA 拷贝数。结果如图 3 所示。

试验结果显示, 化合物 A151-S 通过腹腔注射, 能够显著降低小鼠肺组织中的病毒 RNA 量, 与对照组相比, 病毒载量下降大于 30 倍。

讨论

本发明的式 I 化合物具有显著的抗 SARS-CoV-2 活性。在病毒感染的 Vero E6 细胞中, 代表性化合物 A9 (实施例 6)、A10 (实施例 7)、A124 (实施例 11)、A50 (实施例 12)、A212 (实施例 13)、A144 (实施例 16)、A213 (实施例 18)、A164 (实施例 20)、A214 (实施例 22)、A151 (实施例 36) 能显著抑制病毒复制, EC_{50} 分别为 0.44 μ M、0.43 μ M、0.25 μ M、0.23 μ M、0.11 μ M、0.24 μ M、0.10 μ M、0.27 μ M、0.11 μ M 和 0.31 μ M, 显著优于对照化合物瑞德西韦 (remdesivir, EC_{50} = 2.0 μ M)。此外, A11、A12、A52、A70、A72、A75、A77、A131、A171、A180、A181、A188、A196、A215 等化合物在 5 μ M 浓度下能显著抑制病毒复制, 抑制率在 98% 以上, 显著高于瑞德西韦在该浓度下对病毒的抑制率 (65%)。

A102、A106、A107、A198 能够显著抑制新型冠状病毒 RdRp 活性, 表明该类化合物通过作用于 RdRp 发挥抗病毒作用。

本发明的式 I 化合物对其它病毒, 包括呼吸道合胞病毒 (RSV)、人冠状病毒 OC43 (HCoV OC43)、猪流行性腹泻病毒 (PEDV)、寨卡病毒 (Zika)、登革热病毒 (DENV) 也具有显著的抑制作用。值得注意的是, 氙代化合物的抗病毒效果更加显著。

小鼠 PK 试验显示, 氙代化合物 A9、A11 口服后, 血浆中药物的暴露量较 GS-441524 高, 分别是 GS-441524 暴露量的 1.3 倍和 1.2 倍; A9 在大鼠上的口服生物利用度为 21.3%, 化合物 A146 和 A151 的口服生物利用度分别为 48.5% 和 56.7%, 与 A9 相比, 大幅度提高。

小鼠体内组织分布试验显示, A151 口服 1 小时后, 代谢产物 A9 在肝、肾、肺、心脏中浓度最高, 并且分布较均匀, 无肝、肾蓄积情况。

A151 的氢溴酸盐 (A151-S) 在表达新冠病毒受体人源 ACE2 的腺病毒转导

小鼠模型上，可通过一天一次口服给药，剂量依赖地降低小鼠肺部的病毒载量，并且在同样剂量下（50mg/Kg），A151-S 抗新冠病毒的效果优于瑞德西韦。以上数据表明，A151-S 抗 SARS-CoV-2 作用显著，并且具有口服优势。从以上数据可推测，本发明的化合物具有很好的抗病毒，尤其是抗新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 的应用前景。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。