



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 117645636 B

(45) 授权公告日 2024.04.16

(21) 申请号 202410125810.3

CN 116284189 A, 2023.06.23

(22) 申请日 2024.01.30

CN 116854749 A, 2023.10.10

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 1653077 A, 2005.08.10

申请公布号 CN 117645636 A

US 2009170724 A1, 2009.07.02

(43) 申请公布日 2024.03.05

US 2010035253 A1, 2010.02.11

(73) 专利权人 深圳赛陆医疗科技有限公司

US 2010323350 A1, 2010.12.23

地址 518107 广东省深圳市光明区凤凰街道塘尾社区恒泰裕大厦3栋3A-1101

WO 2018/121587 A1, 2018.07.05

(72) 发明人 邱鑫 陈德遐 刘二凯 王谷丰 赵陆洋

David Orain et al..Synthesis of Two New Azabicyclophosphinic Acids as Constrained Analogues of TPMPA.《SYNLETT》.2005,第19卷第3008-3010页.

(74) 专利代理机构 广州广典知识产权代理事务所(普通合伙) 44365

汪江节 等.合成2-氟腺嘌呤的新方法.《合成化学》.2007,第15卷(第4期),第506-507页.

专利代理师 曾银凤

(续)

(51) Int. Cl.

注意:

C07H 1/00 (2006.01)

申请人在申请日后补交了实验数据,但该数据并未包含在本授权公告文档中。

C07H 19/14 (2006.01)

审查员 周俊廷

C07H 23/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 115260262 A, 2022.11.01

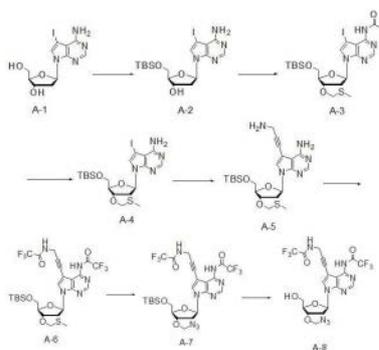
权利要求书2页 说明书10页

(54) 发明名称

一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其反应路线如下.发明提供的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其反应步骤简单、后处理纯化非常简便,能够以较高收率和非常简便的纯化工序制备得到高纯度的腺嘌呤叠氮中间体。



CN 117645636 B

[接上页]

**(56) 对比文件**

Mehrdad Dirin et al..Fragment-based solid-phase assembly of oligonucleotide conjugates with peptide and polyethylene glycol ligands.《European Journal of Medicinal Chemistry》.2016,第121卷第132-

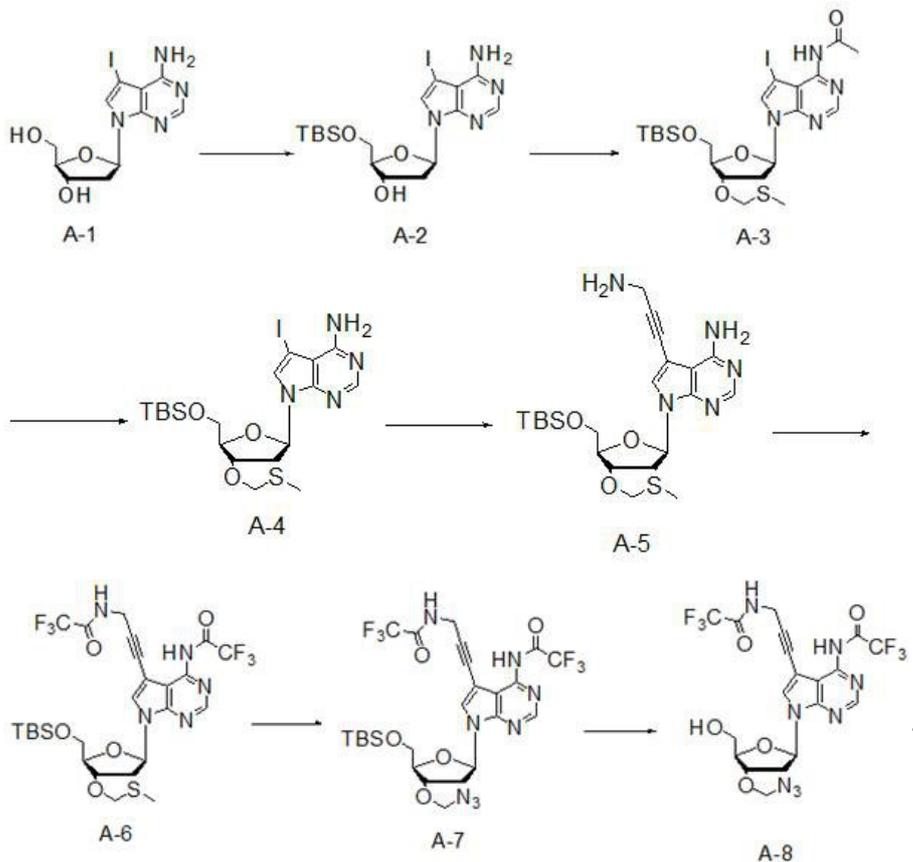
142页.

Koki Matsumoto et al..Synthesis and properties of oligonucleotides containing a 2,6-diamino-3-deazapurine: furanopyrimidine base pair.《NUCLEOSIDES, NUCLEOTIDES AND NUCLEIC ACIDS》.2020,第1-19页.

1. 一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

- (1) 化合物A-1在碱的作用下与叔丁基二甲基氯硅烷反应,得到化合物A-2;
- (2) 化合物A-2、二甲基亚砜、乙酸和乙酸酐的混合体系进行Pummerer重排反应,得到化合物A-3;
- (3) 化合物A-3在碱的作用下进行水解反应,得到化合物A-4;
- (4) 以三乙胺为溶剂,化合物A-4在催化剂的作用下与炔丙胺反应,得到化合物A-5;所述催化剂为CuI和Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>;
- (5) 化合物A-5在碱的作用下与三氟乙酰基化合物反应,得到化合物A-6;所述三氟乙酰基化合物为三氟乙酸酐或者三氟乙酸酯;
- (6) 化合物A-6与卤化试剂反应后,再与叠氮化钠反应,得到化合物A-7;
- (7) 脱除化合物A-7羟基上的叔丁基二甲基硅基,得到化合物A-8,即得所述腺嘌呤叠氮中间体;

其反应路线如下:



2. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述化合物A-1与叔丁基二甲基氯硅烷的摩尔比为1:1-1.5;和/或,
  - 步骤(1)所述化合物A-1与碱的摩尔比为1:1-1.5;和/或,
  - 步骤(1)所述碱为咪唑和/或吡啶;和/或,
  - 步骤(1)所述反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺和/或吡啶;和/或,
  - 步骤(1)所述反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为8h-16h。

3. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(2)所述化合物A-2、二甲基亚砜、乙酸和乙酸酐的配比为1g:4mL-8mL:2mL-4mL:4mL-8mL;和/或,步骤(2)所述Pummerer重排反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为8h-24h。

4. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(3)所述碱为氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化锂中的一种或多种;和/或,

步骤(3)所述碱以浓度为0.8mol/L-1.2mol/L的水溶液加入反应体系中;和/或,

步骤(3)所述化合物A-3与所述碱的摩尔比为1:1-3;和/或,

步骤(3)所述水解反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为2h-5h。

5. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(3)包括:取化合物A-3用溶剂溶解,在0°C-10°C下加入含有所述碱的水溶液,在18°C-30°C温度下搅拌为2h-5h,得到化合物A-4;其中,所述溶剂为甲醇和/或乙醇。

6. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(4)所述化合物A-4、炔丙胺、CuI和Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>的摩尔比为1:1-2:0.1-0.3:0.05-0.15;和/或,

步骤(4)所述化合物A-4和三乙胺的配比为1g:3mL-30mL;和/或,

步骤(4)所述反应的温度为40°C-60°C,反应的时间为0.5h-2h。

7. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(5)所述三氟乙酸酯为三氟乙酸乙酯和/或三氟乙酸甲酯;和/或,

步骤(5)所述碱为N,N-二异丙基乙胺和/或三乙胺;和/或,

步骤(5)所述化合物A-5、碱与所述三氟乙酰基化合物的摩尔比为1:2-4:1.2-1.8;和/或,

步骤(5)所述反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为二氯甲烷和/或四氢呋喃;和/或,

步骤(5)所述反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为1h-3h。

8. 根据权利要求1所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(6)所述卤化试剂为N-氯代丁二酰亚胺和/或磺酰氯;和/或,

步骤(6)所述化合物A-6、卤化试剂和叠氮化钠的摩尔比为1:1.5-2.5:2-4;和/或,

步骤(6)所述反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺和/或乙腈;和/或,

化合物A-6与卤化试剂反应的温度为-5°C~5°C,时间为1h-3h;和/或,

与叠氮化钠反应的温度为-5°C~10°C,时间为20min-40min。

9. 根据权利要求1-8任一项所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,步骤(7)包括:化合物A-7与Et<sub>3</sub>N·3HF反应,脱除羟基上的叔丁基二甲基硅基。

10. 根据权利要求9所述的腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,其特征在于,化合物A-7与Et<sub>3</sub>N·3HF的摩尔比为1:2-4;和/或,

步骤(7)的反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为四氢呋喃;和/或,

步骤(7)的反应温度为18°C-30°C,时间为2h-6h。

## 一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法

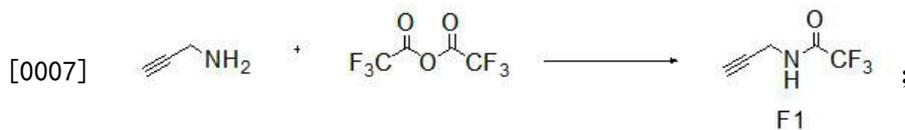
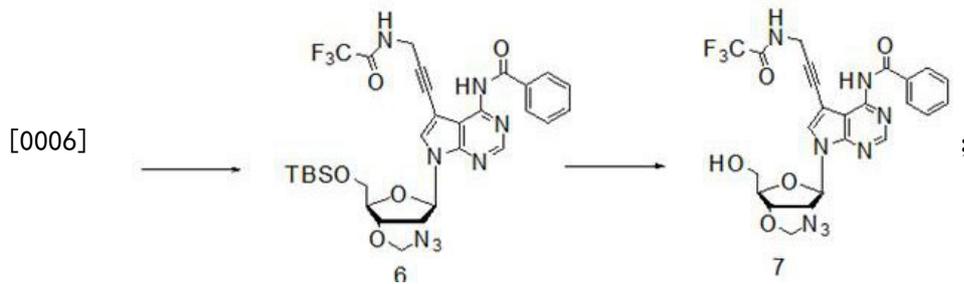
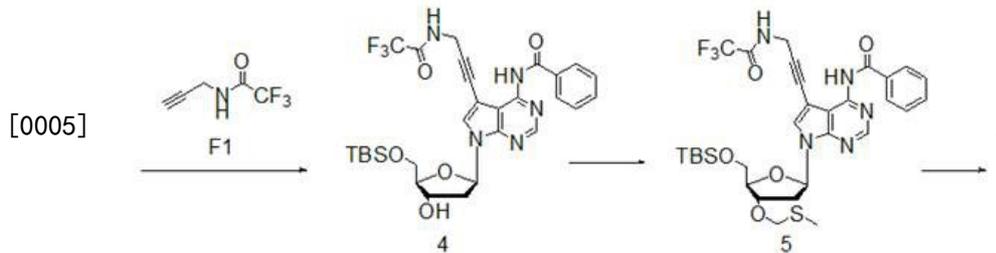
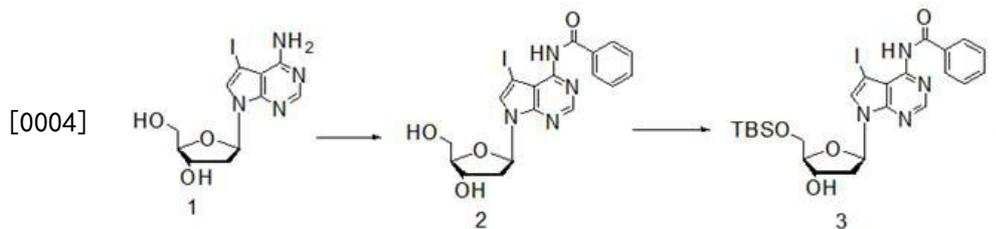
## 技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,特别是涉及一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法。

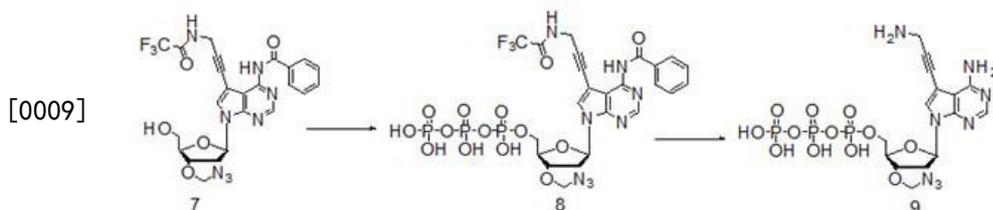
## 背景技术

[0002] 基因测序是医学和生物学发现的重要推动力,随着基因测序技术的迅猛发展,高通量基因测序采用克隆扩增和边合成边测序(SBS)的测序化学技术,可以实现了快速、准确的测序,经过近十年来的迅猛发展,已经深入到生命科学的各个领域,不仅有力地推动了基础研究的发展,在临床应用阶段也占据重要的角色。在目前最为流行的高通量基因测序平台中,为了测定碱基类型,将荧光染料标记的四种可逆终止核苷酸(Reversible Termination Nucleotide, NRT)加入反应体系,通常的,每个修饰NRT的荧光染料标记通过可切割链连接在碱基上,并在3'-OH端加以可切割的保护基团,不同的NRT会发出独特的荧光信号,该信号可用于确定DNA序列的顺序。

[0003] 下述化合物7(腺嘌呤叠氮中间体)是合成可逆终止核苷酸的重要中间体,现有合成该中间体的合成路线如下:



[0008] 进一步通过该中间体合成可逆终止核苷酸的路线如下:



[0010] 发明人在研究腺嘌呤叠氮中间体的合成过程中发现,现有技术中的上述合成方法存在如下问题:碱基的氨基和炔丙胺的氨基分开进行保护,辅料F1需要蒸馏提纯,步骤繁琐;进行Sonogashira反应之后,产物中伴随有个绿色杂质,该杂质用饱和氯化铵溶液和过硅胶柱都除不掉;中间体5与副产物(羟基被乙酰基保护)极性相近,使用硅胶柱分离纯化困难,较难得到高纯度中间体。针对这些不足,有必要提供一种反应步骤简单、后处理纯化简便,更容易得到高纯度腺嘌呤叠氮中间体的制备方法。

### 发明内容

[0011] 基于此,本发明的目的是提供一种反应步骤简单、后处理纯化简便,更容易得到高纯度腺嘌呤叠氮中间体的新制备方法。

[0012] 为了达到上述发明目的,本发明包括如下技术方案。

[0013] 一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,包括如下步骤:

[0014] (1) 化合物A-1在碱的作用下与叔丁基二甲基氯硅烷反应,得到化合物A-2;

[0015] (2) 化合物A-2、二甲基亚砜、乙酸和乙酸酐的混合体系进行Pummerer重排反应,得到化合物A-3;

[0016] (3) 化合物A-3在碱的作用下进行水解反应,得到化合物A-4;

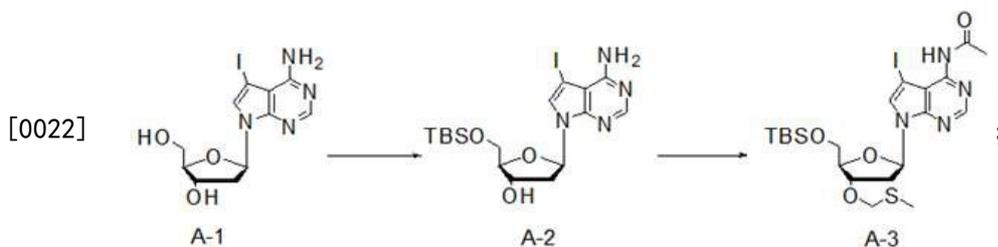
[0017] (4) 以三乙胺为溶剂,化合物A-4在催化剂的作用下与炔丙胺反应,得到化合物A-5;所述催化剂为CuI和Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>;

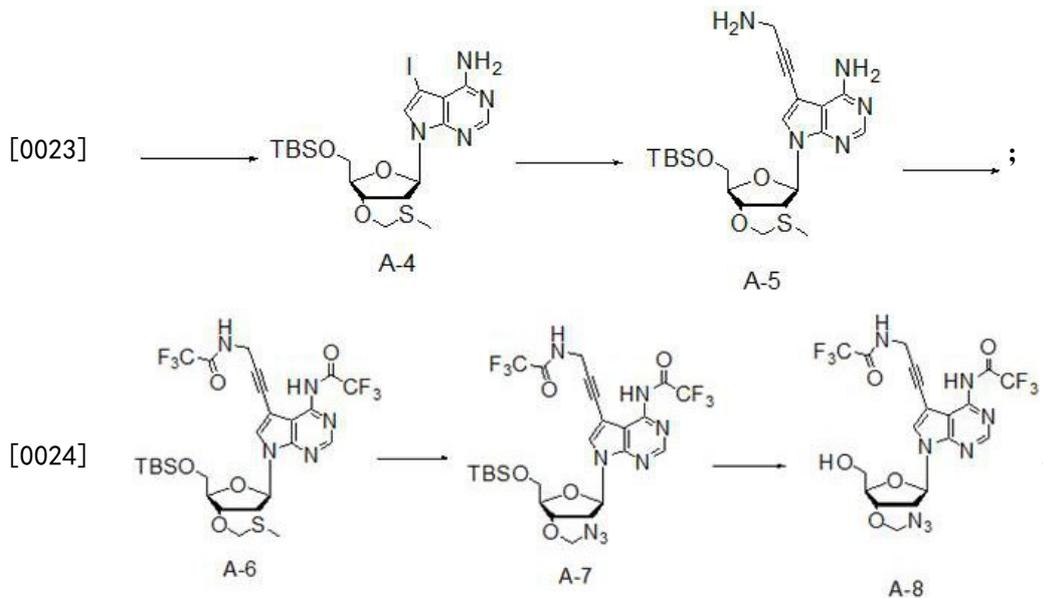
[0018] (5) 化合物A-5在碱的作用下与三氟乙酰基化合物反应,得到化合物A-6;所述三氟乙酰基化合物为三氟乙酸酐或者三氟乙酸酯;

[0019] (6) 化合物A-6与卤化试剂反应后,再与叠氮化钠反应,得到化合物A-7;

[0020] (7) 脱除化合物A-7羟基上的叔丁基二甲基硅基,得到化合物A-8,即得所述腺嘌呤叠氮中间体;

[0021] 其反应路线如下:





[0025] 本发明具有以下有益效果：

[0026] 发明提供的一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法，其反应步骤简单、后处理纯化非常简便，能够以较高收率和非常简便的纯化工工艺制备得到高纯度的腺嘌呤叠氮中间体。

[0027] 本发明巧妙的利用水解保护基的方法，使中间体A-4与主要副产物水解后的A-2的极性相差变大，大大降低了后处理纯化难度，极易纯化得到高纯度的中间体A-4，简化了合成步骤，降低了合成成本。

[0028] 本发明以三乙胺为溶剂，用中间体A-4可以直接与炔丙胺进行Sonogashira反应得到中间体A-5，用三氟乙酰基可以将中间体A-5中两个裸露的氨基同时保护起来，并且不用进一步纯化可以直接进行下一步反应。该优化后的方法无需分步保护氨基，无需先单独合成、提纯辅料F1，简化了合成步骤，大大节省了人力物力，降低了制备成本。

[0029] 本发明用中间体A-4直接与炔丙胺进行Sonogashira反应，其产物通过纯化后，可高收率得到高纯度的中间体A-5化合物，从而可以提高终产物的收率和纯度。

### 具体实施方式

[0030] 下面通过具体实施例来进一步说明本发明的技术方案。本领域技术人员应该明了，所述实施例仅仅是帮助理解本发明，不应视为对本发明的具体限制。

[0031] 除非另有定义，本发明所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的，不用于限制本发明。

[0032] 本发明的术语“包括”和“具有”以及它们任何变形，意图在于覆盖不排他的包含。例如包含了一系列步骤的过程、方法、装置、产品或设备没有限定于已列出的步骤或模块，而是可选地还包括没有列出的步骤，或可选地还包括对于这些过程、方法、产品或设备固有的其它步骤。

[0033] 在本发明中提及的“多个”是指两个或两个以上。“和/或”，描述关联对象的关联关系，表示可以存在三种关系，例如，A和/或B，可以表示：单独存在A，同时存在A和B，单独存在B这三种情况。字符“/”一般表示前后关联对象是一种“或”的关系。

[0034] 本本发明的发明人在研究腺嘌呤叠氮中间体的合成过程中发现,现有技术合成中间体化合物7的方法(参见本发明背景技术中的合成路线)存在如下问题:碱基的氨基和炔丙胺的氨基分开进行保护,原料F1需单独合成,并且需要蒸馏提纯,步骤繁琐;进行Sonogashira反应之后,产物伴随有个未知绿色杂质,该杂质用饱和氯化铵溶液和过硅胶柱都除不掉,导致中间体化合物4的收率低于65%、纯度低于85%;Pummerer重排反应后得到的中间体5与副产物(羟基被乙酰基保护)极性相近,使用硅胶柱分离纯化困难,较难得到高纯度中间体。针对这些不足,本本发明的发明人通过大量研究提出了一种反应步骤简单、后处理纯化简便,更容易得到高纯度腺嘌呤叠氮中间体的制备方法。

[0035] 在本发明的一个实施方式中,提供了一种腺嘌呤叠氮中间体的制备方法,包括如下步骤:

[0036] (1) 化合物A-1在碱的作用下与叔丁基二甲基氯硅烷反应,得到化合物A-2;

[0037] (2) 化合物A-2、二甲基亚砜、乙酸和乙酸酐的混合体系进行Pummerer重排反应,得到化合物A-3;

[0038] (3) 化合物A-3在碱的作用下进行水解反应,得到化合物A-4;

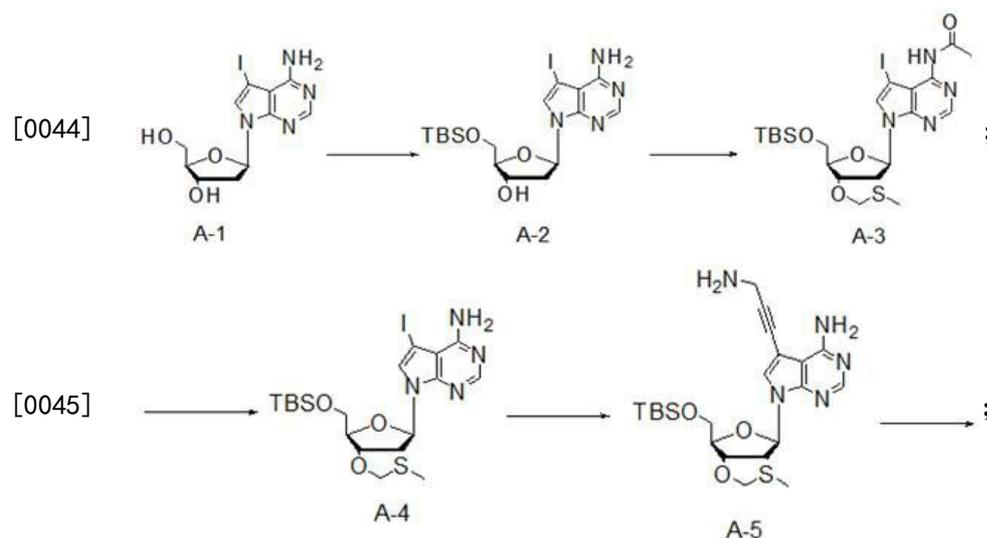
[0039] (4) 以三乙胺为溶剂,化合物A-4在催化剂的作用下与炔丙胺反应,得到化合物A-5;所述催化剂为CuI和Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>;

[0040] (5) 化合物A-5在碱的作用下与三氟乙酰基化合物反应,得到化合物A-6;所述三氟乙酰基化合物为三氟乙酸酐或者三氟乙酸酯;

[0041] (6) 化合物A-6与卤化试剂反应后,再与叠氮化钠反应,得到化合物A-7;

[0042] (7) 脱除化合物A-7羟基上的叔丁基二甲基硅基,得到化合物A-8,即得所述腺嘌呤叠氮中间体;

[0043] 其反应路线如下:





[0054] 在本发明的一些实施例中,步骤(1)所述反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺和/或吡啶。

[0055] 在本发明的一些实施例中,步骤(1)所述反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为8h-16h。

[0056] 在本发明的一些实施例中,步骤(2)所述化合物A-2、二甲基亚砷、乙酸和乙酸酐的配比为1g:4mL-8mL:2mL-4mL:4mL-8mL。

[0057] 在本发明的一些实施例中,步骤(2)所述Pummerer重排反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为8h-24h,优选为10h-14h。

[0058] 在本发明的一些实施例中,步骤(3)所述碱为氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化锂中的一种或多种。

[0059] 在本发明的一些实施例中,步骤(3)所述碱以浓度为0.8mol/L-1.2mol/L的水溶液加入反应体系中。

[0060] 在本发明的一些实施例中,步骤(3)所述化合物A-3与所述碱的摩尔比为1:1-3。

[0061] 在本发明的一些实施例中,步骤(3)所述水解反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为2h-5h。

[0062] 在本发明的一些实施例中,步骤(3)包括:取化合物A-3用溶剂溶解,在0°C-10°C下加入含有所述碱的水溶液,在18°C-30°C温度下搅拌为2h-5h,得到化合物A-4。

[0063] 在本发明的一些实施例中,步骤(3)所述溶剂为甲醇和/或乙醇。

[0064] 在本发明的一些实施例中,所述化合物A-4、炔丙胺、CuI和Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>的摩尔比为1:1-2:0.1-0.3:0.05-0.15。

[0065] 在本发明的一些实施例中,所述化合物A-4、炔丙胺、CuI和Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>的摩尔比为1:1.3-1.7:0.18-0.22:0.08-0.12。

[0066] 在本发明的一些实施例中,所述化合物A-4和三乙胺的配比为1g:3mL-30mL。

[0067] 在本发明的一些实施例中,步骤(4)所述反应的温度为40°C-60°C,反应的时间为0.5h-2h。

[0068] 在本发明的一些实施例中,步骤(4)所述反应的温度为45°C-55°C,反应的时间为0.8h-1.5h。

[0069] 在本发明的一些实施例中,步骤(5)所述三氟乙酸酯为三氟乙酸乙酯和/或三氟乙酸甲酯。

[0070] 在本发明的一些实施例中,步骤(5)所述碱为N,N-二异丙基乙胺和/或三乙胺。

[0071] 在本发明的一些实施例中,步骤(5)所述化合物A-5、碱与所述三氟乙酰基化合物的摩尔比为1:2-4:1.2-1.8。

[0072] 在本发明的一些实施例中,步骤(5)所述反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为二氯甲烷和/或四氢呋喃。

[0073] 在本发明的一些实施例中,步骤(5)所述反应的温度为18°C-30°C,反应的时间为1h-3h。

[0074] 在本发明的一些实施例中,步骤(6)所述卤化试剂为N-氯代丁二酰亚胺和/或磺酰氯。

[0075] 在本发明的一些实施例中,步骤(6)所述化合物A-6、卤化试剂和叠氮化钠的摩尔

比为1:1.5-2.5:2-4。

[0076] 在本发明的一些实施例中,步骤(6)所述反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为N,N-二甲基甲酰胺和/或乙腈。

[0077] 在本发明的一些实施例中,步骤(6)中,化合物A-6与卤化试剂反应的温度为-5℃~5℃,时间为1h-3h。

[0078] 在本发明的一些实施例中,步骤(6)中,与叠氮化钠反应的温度为-5℃~10℃,时间为20min-40min。

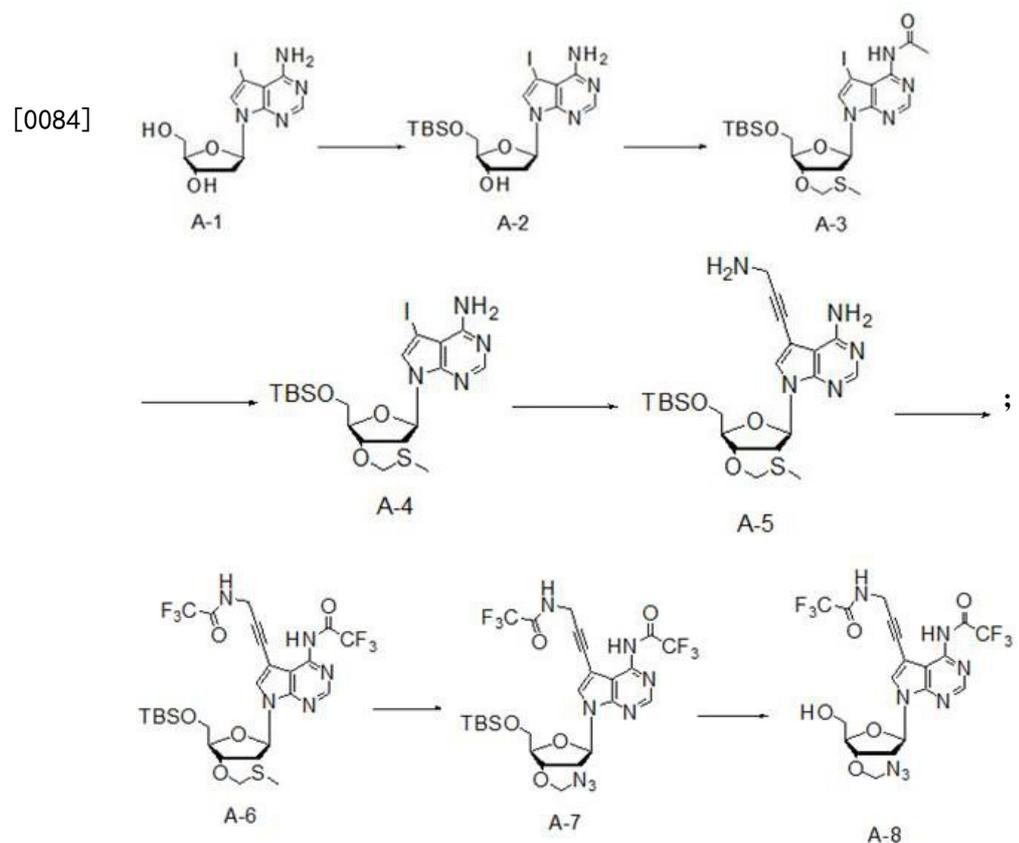
[0079] 在本发明的一些实施例中,步骤(7)包括:化合物A-7与Et<sub>3</sub>N·3HF反应,脱除羟基上的叔丁基二甲基硅基。

[0080] 在本发明的一些实施例中,化合物A-7与Et<sub>3</sub>N·3HF的摩尔比为1:2-4。

[0081] 在本发明的一些实施例中,步骤(7)的反应在有机溶剂中进行,所述有机溶剂为四氢呋喃。

[0082] 在本发明的一些实施例中,步骤(7)的反应温度为18℃-30℃,时间为2h-6h。

[0083] 以下为具体实施例。



[0085] S1 化合物A-2的合成

[0086] 称取5g化合物A-1,用30mLDMF溶解,加入1.1当量的咪唑和1.1当量的叔丁基二甲基氯硅烷,25℃搅拌12h,TLC检测,原料消耗完全。

[0087] 后处理:将反应液体倒入到200ml水中,有白色固体析出,抽滤,干燥后得到5.9g化合物A-2,收率90.5%。

[0088] LRMS(ESI-)calc'd for C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>Si[(M+H)<sup>+</sup>]:491.42,found:491.35。

[0089] S2 化合物A-3的合成

[0090] 称取5.9g化合物A-2,用35ml DMSO溶解,然后加入17.5ml乙酸和35ml乙酸酐,25℃搅拌12h,TLC检测,原料消耗完全。

[0091] 后处理:将反应液体倒入到100ml冰水中,有白色固体析出,抽滤后得到粗品5.95g,不纯化直接用于下一步反应。

[0092] LRMS(ESI<sup>-</sup>) calc'd for C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>SSi<sup>+</sup>[(M+H)<sup>+</sup>]:593.57,found:593.42。

[0093] S3 化合物A-4的合成

[0094] 取步骤S2制备的粗品5.95g,用50ml甲醇溶解,然后在冰浴下加入2当量1M 氢氧化钠水溶液,25℃搅拌3h,TLC检测,原料消耗完全。

[0095] 后处理:将反应液体中的甲醇通过减压蒸馏除去,用乙酸乙酯萃取3次,有机相用饱和食盐水洗涤,干燥,浓缩,得到粗品。

[0096] 纯化:取20g规格的硅胶柱,二氯甲烷溶解粗品上样,用乙酸乙酯和正己烷体系洗脱,(EA:HE=1:1 1500ml)、(EA:HE=2:1 300ml 该比例产物被洗脱),浓缩后得到4.0g 化合物A-4,两步收率60.5%,纯度98.5%。

[0097] LRMS(ESI<sup>-</sup>) calc'd for C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>SSi<sup>-</sup>[(M-H)<sup>-</sup>]:549.43,found:549.22。

[0098] S4 化合物A-5的合成

[0099] 对比方法1:在10 mL的双口烧瓶中,依次加入100mg化合物A-4、CuI (0.2eq)、Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> (0.1eq)、2ml DMF,油泵换氮气,加入Et<sub>3</sub>N(3eq)、炔丙胺(1.5eq),加热至45摄氏度反应1h,TLC监控反应原料,有较多原料剩余,加热至55摄氏度反应1h,TLC监控仍有较多原料未反应。

[0100] 本发明方法2:在10 mL的双口烧瓶中,依次加入100mg化合物A-4、CuI (0.2eq)、Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> (0.1eq)、2ml Et<sub>3</sub>N,油泵换氮气,加热至50摄氏度,滴加炔丙胺(1.5eq),反应1h,TLC监控原料反应完毕。

[0101] 重复方法2:在50 mL的双口烧瓶中,依次加入3.8g化合物A-4、CuI (0.2eq)、Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> (0.1eq)、15ml Et<sub>3</sub>N,油泵换氮气,加热至50摄氏度,滴加炔丙胺(1.5eq),反应1h,TLC监控原料反应完毕。

[0102] 后处理:将方法2的反应液缓慢倒入10ml饱和氯化铵溶液中,浓缩除去有机溶剂,加入40ml饱和氯化铵溶液,用40ml\*2 乙酸乙酯萃取两次,饱和氯化钠溶液洗一次,干燥,浓缩,得粗品。

[0103] 纯化:取20g规格的硅胶柱,用二氯甲烷溶解粗品上样,用乙酸乙酯和正己烷体系洗脱,(EA:HE=1:2 500ml)、(EA:HE=1:1 500ml) (EA:HE=2:1 500ml该比例产物被洗脱),浓缩后得到3.01g化合物A-5,为浅黄色固体,收率88.9%,纯度为98.0%。

[0104] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.20 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 6.58 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 4.83 (m, 2H), 4.41 - 4.34 (m, 2H), 4.33 - 4.27 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.05 - 3.86 (m, 2H), 3.83 - 3.74 (m, 2H), 2.68 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.61-2.35 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 0.98 (s, 9H), 0.21 (s, 6H)。

[0105] LRMS(ESI<sup>-</sup>) calc'd for C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>SSi<sup>-</sup>[(M-H)<sup>-</sup>]:476.43,found:476.22。

[0106] S5 化合物A-6的合成

[0107] 1、在10 mL的单口烧瓶中,依次加入100mg化合物A-5、DCM(2ml)、DIPEA(3eq),冰浴下滴加入三氟乙酸酐(1.5eq),反应较为剧烈,滴加过程大量冒烟,10min后撤去冰浴,室温

反应2h, TLC监控反应完毕。

[0108] 2、在10 mL的单口烧瓶中,依次加入100mg化合物A-5、DCM(2ml)、DIPEA(3eq),冰浴下滴加入三氟乙酸乙酯(1.5eq),滴加过程无大量冒烟现象,10min后撤去冰浴,室温反应2h, TLC监控反应完毕。该反应条件可以更温和的得到化合物A-6。

[0109] 3、在50 mL的单口烧瓶中,依次加入2.81g化合物A-5、DCM(20ml)、DIPEA(3eq),冰浴下滴加入三氟乙酸乙酯(1.5eq),滴加过程无大量冒烟现象,10min后撤去冰浴,室温反应2h, TLC监控反应完毕。

[0110] 后处理:在反应液中加入20ml碳酸氢钠饱和溶液,搅拌10min,分液,有机相用水和氯化钠饱和溶液各洗一次,将所得有机相干燥,浓缩得到3.82g化合物A-6,收率90.5%。

[0111]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d)  $\delta$  10.59 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.56 (t, J=7.6Hz, 1H), 4.48 - 4.34 (m, 2H), 4.34 - 4.30 (m, 1H), 4.28 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 4.19 (m, 1H), 3.97-3.81 (m, 2H), 2.65 - 2.38 (m, 2H), 2.15 (s, 3H), 0.98 (s, 9H), 0.21 (s, 6H)。

[0112] LRMS(ESI-) calc'd for  $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_5\text{Si}$  [(M-H) $^-$ ]: 668.71, found: 668.55。

[0113] S6 化合物A-7的合成

[0114] 在双口烧瓶中,加入3.82g 化合物A-6,用15ml DMF溶解,在冰浴条件下,加入 N-氯代丁二酰亚胺(NCS, 2eq),氮气保护下冰浴条件下反应2 h, TLC监控反应,原料活化完毕,加入叠氮化钠(3eq),冰浴条件下反应30min。

[0115] 后处理:将反应液缓慢倒入60ml冰水中,用40ml\*2 乙酸乙酯萃取两次,有机相用饱和氯化钠溶液洗涤,干燥,浓缩,得粗品。

[0116] 纯化:取20g规格的硅胶柱,用二氯甲烷溶解粗品上样,用乙酸乙酯和正己烷体系洗脱, (EA:HE=1:5 500ml)、(EA:HE=1:4 500ml) (EA:HE=1:3 500ml该比例产物被洗脱),得到2.17g化合物A-7,收率57.2%,纯度98.0%。

[0117] LRMS(ESI-) calc'd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{F}_6\text{N}_8\text{O}_5\text{Si}$  [(M-H) $^-$ ]: 663.62, found: 663.53。

[0118] S7 化合物A-8的合成

[0119] 在50 mL单口烧瓶中,依次加入化合物A-7 (2.17 g)、THF (20 mL)、 $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$  (3eq),在室温条件下,氮气保护下反应4 h, TLC监控反应完毕。

[0120] 后处理:浓缩除去溶剂,加入30ml EA和20ml 饱和碳酸氢钠溶液搅拌30min,分液,有机相用饱和氯化钠溶液洗涤,干燥,缓慢加入5ml正己烷,置于4摄氏度冰箱2h,抽滤,干燥得到1.53g固体化合物A-8,收率85.2%,纯度98.5%。

[0121]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d)  $\delta$  10.93 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 6.52 (t, J=7.2Hz, 1H), 4.80-4.72 (m, 1H), 4.72-4.53 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.27 (m, 2H), 4.03-3.77 (m, 2H), 2.73-2.41 (m, 2H), 1.32 (s, 1H)。

[0122] LRMS(ESI-) calc'd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{F}_6\text{N}_8\text{O}_5$  [(M-H) $^-$ ]: 549.43, found: 549.22。

[0123] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0124] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来

说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。