

1. 化合物在制备治疗或预防肝癌的药物中的用途,其中所述化合物是6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨基基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中所述肝癌是肝细胞癌、肝细胞瘤、胆管癌、肝母细胞瘤、肝肿瘤、肝血管瘤或转移性肝癌。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中所述肝癌是肝细胞癌。

4. 根据权利要求1所述的用途,其中所述化合物与拮抗性PD1抗体或拮抗性PD-L1抗体组合。

5. 根据权利要求4所述的用途,其中所述化合物与拮抗性PD1抗体组合。

6. 根据权利要求5所述的用途,其中所述拮抗性PD1抗体是纳武单抗或派姆单抗。

7. 根据权利要求5所述的用途,其中所述拮抗性PD1抗体包含具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变结构域VH和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变结构域VL。

8. 根据权利要求4所述的用途,其中所述化合物与拮抗性PD-L1抗体组合。

9. 根据权利要求8所述的用途,其中所述拮抗性PD-L1抗体是阿特殊单抗或度伐单抗或阿维鲁单抗。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述拮抗性PD-L1抗体是阿特殊单抗。

11. 根据权利要求4至10中任一项所述的用途,其中在所述组合疗法中使用另外的抗血管生成剂。

12. 根据权利要求11所述的用途,其中所述抗血管生成剂选自索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗。

13. 根据权利要求12所述的用途,其中所述抗血管生成剂为索拉非尼。

14. 根据权利要求12所述的用途,其中所述抗血管生成剂是贝伐单抗。

15. 根据权利要求1所述的化合物在制备治疗或预防肝癌的药物中的用途,其中所述化合物与抗血管生成剂组合。

16. 根据权利要求15所述的用途,其中所述抗血管生成剂选自索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗。

17. 根据权利要求16所述的用途,其中所述抗血管生成剂是索拉非尼。

18. 根据权利要求16所述的用途,其中所述抗血管生成剂是贝伐单抗。

用于治疗 and 预防肝癌的7-取代的磺亚氨酰基嘌呤酮化合物和衍生物

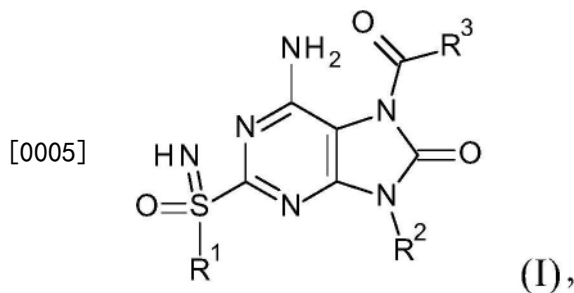
[0001] 本发明涉及新型磺亚氨酰基嘌呤酮衍生物,其具有体内Toll样受体激动活性,用于(用以)肝癌的治疗和/或预防。

背景技术

[0002] 肝癌是第五种最常见的癌症。每年约有75000例确诊,约700000人死于该病,从而其成为世界上第三大癌症死亡原因(Ferlay et al., Int. J. Cancer 127:2893-2917 (2010))。在美国,原发性肝癌的发病率一直在上升,虽然在检测和治疗局限性疾病方面取得了一些进展,但晚期肝癌的五年生存率仍然远远低于10% (American Cancer Society. 2012. Cancer Facts & Figures 2012. Atlanta: American Cancer Society)。

[0003] 对于肝癌已建立的治疗包括手术切除含有肿瘤的肝脏部分(部分肝切除术)、肝移植、经导管动脉化疗栓塞术(TACE)、通过诸如射频消融术(RFA)或冷冻手术和施用索拉非尼(Sorafenib)的各种方法的原位肿瘤破坏。晚期肝病患者的治疗选择有限。因此,对肝癌的有效治疗的医学需求仍然显著地未得到满足。

[0004] 本发明涉及式(I)的化合物,



[0006] 其中R¹至R³在下文中描述,

[0007] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体。

[0008] Toll样受体 (TLR) 检测多种保守性病原体相关分子模式 (PAMP)。它们在感知入侵的病原体和随后启动先天免疫反应中起着重要的作用。人类中存在TLR家族的10个已知成员,它们是特征在于细胞外富含亮氨酸结构域和含有保守性Toll/白介素(IL)-1受体(TIR)结构域的胞质尾区的I型跨膜蛋白。在该家族中,TLR3、TLR7、TLR8和TLR9位于内体中。

[0009] TLR7可以通过与特定的小分子配体(即,TLR7激动剂)或其天然配体(即,单链RNA, ssRNA)结合而被活化。在ssRNA与TLR7结合后,据信以其二聚体形式的受体发生结构变化,导致衔接子蛋白随后募集到其胞质结构域处,该胞质结构域包括髓样分化初级反应基因88(MyD88)。在经由MyD88途径启动受体信号传导级联后,细胞质转录因子诸如干扰素调节因子7 (IRF-7) 和核因子κB (NF-κB) 被活化。然后这些转录因子易位至细胞核并启动各种基因(例如IFN-α和其他抗病毒细胞因子基因)的转录。

[0010] WO201772662涉及用于治疗HER2阳性癌症的TLR7激动剂-抗HER2缀合物。Hotz et al., Oncoimmunology 2012, 227-228涉及用TLR7激动剂治疗癌症。然而,到目前为止,没有TLR7激动剂全身性地用于治疗癌症。已知只有局部TLR7激动剂咪喹莫特(imiquimod)诱导

乳腺癌患者中皮肤转移的免疫介导的排斥反应(Adams S.,Kozhaya L.,Martiniuk F.,Meng T.C.,Chiriboga L.,Liebes L.,Hochman T.,Shuman N.,Axelrod D.,Speyer J.,et al.Clin.Cancer Res.2012;18:6748-6757)。

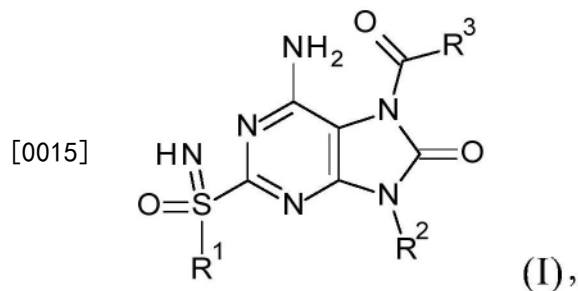
发明内容

[0011] 本发明涉及具有Toll样受体激动活性的一系列新型6-氨基-2-磺亚氨酰基(磺亚氨酰基)-9-取代-7-嘌呤-8-酮化合物及其前药,用于治疗或预防(防止)肝癌。

[0012] 已发现,本文所述的强效且安全的TLR7激动剂前药单独或与其他药剂组合有效治疗肝癌。

[0013] 本发明提供了具有Toll样受体激动活性的一系列新型6-氨基-2-磺亚氨酰基-9-取代-7-嘌呤-8-酮化合物及其前药。本发明还提供了此类化合物的生物活性,以通过活化Toll样受体(诸如TLR7受体)来诱导细胞因子/趋化因子的释放、SEAP水平增大,在人类肝细胞的存在下前药向母体化合物的代谢转化以及此类化合物及其包含这些化合物及其前药的药物组合物在治疗或预防肝癌中的用途。本发明还提供了具有优异活性的化合物。另外,式(I)的化合物还显示出良好的溶解度和PK曲线。

[0014] 本发明涉及新的式(I)化合物,



[0016] R^1 是 C_{1-6} 烷基;

[0017] R^2 是苄基,所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和 C_{1-6} 烷基的取代基取代;

[0018] R^3 是 $-NR^4R^5$,其中

[0019] R^4 是 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基;

[0020] R^5 是(C_{1-6} 烷基) $_2$ NCOC $_{1-6}$ 烷基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基(C_{1-6} 烷基)氨基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基(苯基) C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基氧基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基羰基(C_{1-6} 烷基)氨基 C_{1-6} 烷基或吡咯烷基氨基甲酰氧基 C_{1-6} 烷基;或

[0021] R^4 和 R^5 与它们连接的氮一起形成杂环基;

[0022] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌;

[0023] 条件是,排除以下化合物:

[0024] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0025] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0026] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0027] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0028] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙

酯；

[0029] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0030] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0031] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0032] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0033] 及其对映异构体或非对映异构体。

[0034] 这些前药化合物随着它们在肝中被活化(转化为其活性形式)而特别用于治疗肝癌。它们在肝癌细胞模型中(单独或与抗PD1/PD1抗体或与抗血管生成剂组合)显示出有价值的体内抗肿瘤功效和体外抗肝癌细胞(通过活化外周血细胞和/或因子)。

[0035] 本发明还涉及它们在制备用于治疗或预防肝癌的药物中的用途,所述药物基于根据本发明的化合物用于治疗或预防肝癌。因此,式(I)化合物适用于治疗或预防肝癌,尤其是用于治疗或预防肝细胞癌、肝细胞瘤、胆管癌、肝母细胞瘤、肝肿瘤、肝血管瘤或转移性肝癌。

具体实施方式

[0036] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。此外,阐述以下定义以说明和定义用于描述本发明的各种术语的含义和范围。

[0037] 术语“C₁₋₆烷基”表示含有1至6个,特别是1至4个碳原子的饱和直链或支链烷基,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基等。特别的“C₁₋₆烷基”基团是甲基、乙基和正丙基。

[0038] 术语“C₁₋₆烷氧基”表示式C₁₋₆烷基-O-的基团。C₁₋₆烷氧基的实例包括但不限于:甲氧基,乙氧基,正丙氧基,异丙氧基,正丁氧基,异丁氧基和叔丁氧基。特别的“C₁₋₆烷氧基”是甲氧基、乙氧基和异丙氧基。更特别的C₁₋₆烷氧基是乙氧基。

[0039] 术语“卤素”和“卤代”在本文可互换使用,表示氟、氯、溴或碘。

[0040] 术语“杂环基”表示3至10个环原子的单价饱和或部分不饱和的单环或双环系统,其包含1至5个选自N、O和S的环杂原子,其余的环原子为碳。在特定的实施方案中,杂环基是4至7个环原子的单价饱和单环系统,其包含1、2或3个选自N、O和S的环杂原子,其余的环原子为碳。单环饱和杂环基的实例是:氮丙啶基(aziridinyl),氧杂环丙烷基,氮杂环丁烷基(azetidiny),氧杂环丁基,吡咯烷基,二甲基吡咯烷基,乙氧基羰基吡咯烷基,四氢咪喃基,四氢噻吩基,吡唑烷基,咪唑烷基,噁唑烷基,异噁唑烷基,噻唑烷基,哌啶基,四氢吡喃基,四氢噻喃基,哌嗪基,吗啉基,硫代吗啉基,二氧代硫代吗啉基,氮杂环庚烷基(azepanyl),二氮杂环庚烷基,高哌嗪基或氧氮杂环庚烷基(oxazepanyl)。单环饱和杂环基还可以被1至3个独立地选自卤素、C₁₋₆烷基和C₁₋₆烷氧基羰基的取代基取代。取代的单环饱和杂环基的实例是4-甲基哌嗪基、二甲基吡咯烷基、乙氧基羰基吡咯烷基、二氟吡咯烷基、

氟(甲基)吡咯烷基。双环饱和杂环基的实例是:氮杂双环[3.2.1]辛基,奎宁环基,氧氮杂双环[3.2.1]辛基,氮杂双环[3.3.1]壬基,氧氮杂双环[3.3.1]壬基,硫氮杂双环[3.3.1]壬基,氮杂螺[3.3]庚基和氧氮杂[3.3]庚基。部分不饱和杂环基的实例是:二氢呋喃基,咪唑啉基,二氢噁唑基,四氢吡啶基和二氢吡喃基。

[0041] 单独或组合的术语“羰基”是指基团-C(=O)-。

[0042] 术语“C₁₋₆烷基羰基”是指基团C₁₋₆烷基-C(=O)-,其中“C₁₋₆烷基”如上所定义。特别的“C₁₋₆烷基羰基”基团是乙酰基。

[0043] 术语“对映异构体”表示化合物的两个立体异构体,它们是彼此不可重叠的镜像。

[0044] 术语“非对映异构体”表示具有两个或更多个手性中心并且其分子不是彼此镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同的物理性质,例如熔点、沸点、光谱性质和反应性。

[0045] 术语“药学上可接受的盐”表示在生物学上或其他方面不是不期望的盐。药学上可接受的盐包括酸加成盐和碱加成盐两者。

[0046] 术语“药学上可接受的酸加成盐”表示与无机酸和有机酸形成的那些药学上可接受的盐,所述无机盐诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、碳酸、磷酸,所述有机酸选自脂族、脂环族、芳族、芳脂族、杂环、羧酸和磺酸类的有机酸,诸如甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、葡萄糖酸、乳酸、丙酮酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、天冬氨酸、抗坏血酸、谷氨酸、邻氨基苯甲酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、帕莫酸(embonic acid)、苯乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸和水杨酸。

[0047] 术语“药学上可接受的碱加成盐”表示与有机或无机碱形成的那些药学上可接受的盐。可接受的无机碱的实例包括钠盐、钾盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐和铝盐。衍生自药学上可接受的无毒有机碱的盐包括以下的盐:伯胺、仲胺和叔胺,取代胺(包括天然存在的取代胺),环胺和碱性离子交换树脂,诸如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二乙氨基乙醇、三羟甲基氨基甲烷(trimethamine)、二环己胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、海巴明(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲基葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶和多胺树脂。

[0048] 式(I)化合物及其含有一个或几个手性中心的前药可以以外消旋体、非对映异构体混合物或光学活性单一异构体存在。可以根据已知方法将外消旋体分离为对映异构体。特别地,可通过结晶分离的非对映异构体盐通过与光学活性的酸(诸如例如,D-或L-酒石酸,扁桃酸,苹果酸,乳酸或樟脑磺酸)反应而由外消旋混合物形成。

[0049] 术语“前药”表示化合物的形式或衍生物,其在施用后例如通过受试者的生物流体或酶在体内被代谢成该化合物的药理活性形式,以产生所需的药理作用。前药描述于例如Richard B.Silverman的“The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action”, Academic Press, San Diego, 2004, 第8章前药和药物递送系统,第497-558页。

[0050] “药学上有活性的代谢物”是指通过特定化合物或其盐在体内代谢产生的药学上有活性的产物。在进入人体后,大多数药物是可能改变其物理性质和生物学效应的化学反应的底物。这些通常影响本发明化合物极性的代谢转化改变了药物在身体内分布和从身体内排泄的方式。然而,在一些情况下,药物的代谢是治疗效果所必需的。

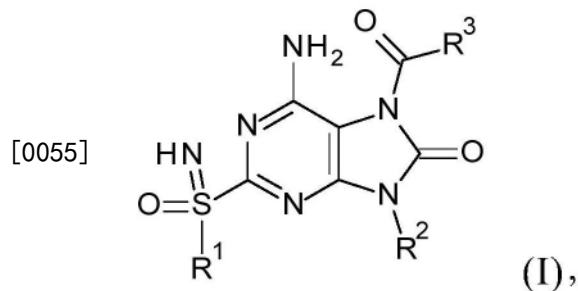
[0051] 术语“治疗有效量”表示本发明的化合物或分子在施用于受试者时实现以下的量:
(i) 治疗或预防特定的疾病、病况或病症, (ii) 减轻、改善或消除所述特定疾病、病况或病症

的一种或多种症状,或(iii)预防或延迟本文所述特定疾病、病况或病症的一种或多种症状的发作。治疗有效量会随化合物、所治疗的疾病状态、所治疗疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、施用途径和形式、主治医师或兽医的判断以及其他因素而变化。

[0052] 术语“药物组合物”表示要被施用于哺乳动物,例如需要其的人的包含治疗有效量的活性药物成分以及药学上可接受的赋形剂的混合物或溶液。

[0053] TLR7激动剂及前药

[0054] 本发明涉及一种式(I)的化合物,



[0056] 其中

[0057] R^1 是 C_{1-6} 烷基;

[0058] R^2 是苄基,所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和 C_{1-6} 烷基的取代基取代;

[0059] R^3 是 $-NR^4R^5$,其中

[0060] R^4 是 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基;

[0061] R^5 是 $(C_{1-6}烷基)_2NCOOC_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(苄基)C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 或吡咯烷基氨基甲酰氧基 $C_{1-6}烷基$;或

[0062] R^4 和 R^5 与它们连接的氮一起形成杂环基;

[0063] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌;

[0064] 条件是排除以下化合物:

[0065] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0066] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0067] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0068] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0069] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙酯;

[0070] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0071] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧代-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0072] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0073] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-

8-酮；

[0074] 及其对映异构体或非对映异构体。

[0075] 本发明的另一实施方案是(ii)式(I)的化合物，

[0076] 其中

[0077] R^1 是 C_{1-6} 烷基；

[0078] R^2 是苄基，所述苄基未被取代或被卤素或 C_{1-6} 烷基取代；

[0079] R^3 是氮杂环丁烷基；

[0080] 被 C_{1-6} 烷基取代的哌嗪基；

[0081] 被哌啶基取代的哌啶基；

[0082] 吡咯烷基；或

[0083] $-NR^4R^5$ ，其中

[0084] R^4 是 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基；

[0085] R^5 是(C_{1-6} 烷基) $_2$ NCOOC C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基(C_{1-6} 烷基)氨基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基(苯基) C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基羰基氧基 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基羰基(C_{1-6} 烷基)氨基 C_{1-6} 烷基或吡咯烷基氨基甲酰氧基 C_{1-6} 烷基，

[0086] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体，用于治疗或预防肝癌。

[0087] 本发明的另一实施方案是(iii)式(I)化合物，

[0088] 其中

[0089] R^1 是乙基或丙基；

[0090] R^2 是苄基、溴苄基、氯苄基、氟苄基或甲基苄基；

[0091] R^3 是氮杂环丁烷基；

[0092] 4-甲基哌嗪基；

[0093] 哌啶基哌啶基；

[0094] 吡咯烷基；或者

[0095] $-NR^4R^5$ ，其中

[0096] R^4 是甲基、乙基、丙基或甲氧基乙基；

[0097] R^5 是乙酰基(甲基)氨基乙基、丁基、丁基(甲基)氨基甲酰氧基乙基、二乙基氨基甲酰氧基乙基、乙氧基羰基(甲基)氨基乙基、乙氧基羰基乙基、乙氧基羰基异丁基、乙氧基羰基异戊基、乙氧基羰基甲基、乙氧基羰基氧基乙基、乙氧基羰基(苯基)乙基、乙基、异丁基、异丙氧基羰基异戊基、异丙氧基羰基(苯基)乙基、异丙基、甲氧基羰基(甲基)氨基乙基、甲氧基乙基、甲氧基丙基、丙基、丙基(甲基)氨基甲酰氧基乙基、吡咯烷基氨基甲酰氧基乙基、叔丁氧基羰基(甲基)氨基乙基、叔丁氧基羰基乙基、叔丁氧基羰基异戊基或叔丁氧基羰基(苯基)乙基，

[0098] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体，用于治疗或预防肝癌。

[0099] 本发明的另一实施方案是(iii-1)式(I)的化合物，

[0100] 其中

[0101] R^1 是乙基或丙基；

[0102] R^2 是苄基、氯苄基、氟苄基或甲基苄基；

[0103] R^3 是氮杂环丁烷基；

[0104] 4-甲基哌嗪基;

[0105] 哌啶基哌啶基;

[0106] 吡咯烷基;或者

[0107] $-NR^4R^5$, 其中

[0108] R^4 是甲基、乙基、丙基或甲氧基乙基;

[0109] R^5 是乙酰基(甲基)氨基乙基、丁基、丁基(甲基)氨基甲酰氧基乙基、二乙基氨基甲酰氧基乙基、乙氧基羰基(甲基)氨基乙基、乙氧基羰基乙基、乙氧基羰基异丁基、乙氧基羰基异戊基、乙氧基羰基甲基、乙氧基羰基氧基乙基、乙氧基羰基(苯基)乙基、乙基、异丁基、异丙氧基羰基异戊基、异丙氧基羰基(苯基)乙基、异丙基、甲氧基羰基(甲基)氨基乙基、甲氧基乙基、甲氧基丙基、丙基、丙基(甲基)氨基甲酰氧基乙基、吡咯烷基氨基甲酰氧基乙基、叔丁氧基羰基(甲基)氨基乙基、叔丁氧基羰基乙基、叔丁氧基羰基异戊基或叔丁氧基羰基(苯基)乙基,

[0110] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0111] 本发明的另一实施方案是(iv)式(I)的化合物,其中 R^3 是氮杂环丁烷基、4-甲基哌嗪基、哌啶基哌啶基、吡咯烷基、乙酰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、双(甲氧基乙基)氨基、丁基(乙基)氨基、丁基(甲基)氨基、丁基(甲基)氨基甲酰氧基乙基(甲基)氨基、二乙基氨基甲酰氧基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基异丁基(甲基)氨基、乙氧基羰基异戊基(甲基)氨基、乙氧基羰基甲基(甲基)氨基、乙氧基羰基氧基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基(苯基)乙基(甲基)氨基、乙基(甲基)氨基、异丁基(甲基)氨基、异丙氧基羰基异戊基(甲基)氨基、异丙氧基羰基(苯基)乙基(甲基)氨基、异丙基(甲基)氨基、甲氧基羰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、甲氧基乙基(乙基)氨基、甲氧基乙基(甲基)氨基、甲氧基乙基(丙基)氨基、甲氧基丙基(甲基)氨基、丙基(乙基)氨基、丙基(甲基)氨基、丙基(甲基)氨基甲酰基氧基乙基(甲基)氨基、吡咯烷基氨基甲酰基氧基乙基(甲基)氨基、叔丁氧基羰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、叔丁氧基羰基乙基(甲基)氨基、叔丁氧基羰基异戊基(甲基)氨基或叔丁氧基羰基(苯基)乙基(甲基)氨基;

[0112] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0113] 本发明的另一个实施方案是(v)式(I)的化合物,其中 R^1 是乙基,用于治疗或预防肝癌。

[0114] 本发明的另一个实施方案是(vi)式(I)的化合物,其中 R^2 是被卤素或 C_{1-6} 烷基取代的苄基,用于治疗或预防肝癌。

[0115] 本发明的另一个实施方案是(vii)式(I)的化合物,其中 R^2 是溴苄基、氯苄基、氟苄基或甲基苄基,用于治疗或预防肝癌。

[0116] 本发明的另一个实施方案是(vii-1)式(I)的化合物,其中 R^2 是氯苄基、氟苄基或甲基苄基,用于治疗或预防肝癌。

[0117] 本发明的另一个实施方案是(viii)式(I)的化合物,其中 R^2 是溴苄基、氯苄基或氟苄基,用于治疗或预防肝癌。

[0118] 本发明的另一个实施方案是(viii-1)式(I)的化合物,其中 R^2 是氯苄基或氟苄基,用于治疗或预防肝癌。

[0119] 本发明的另一个实施方案是(ix)式(I)的化合物,其中R³是-NR⁴R⁵,其中R⁴是C₁₋₆烷基,R⁵是C₁₋₆烷基,用于治疗或预防肝癌。

[0120] 本发明的另一个实施方案是(x)式(I)的化合物,其中R³是丙基(甲基)氨基或乙基(甲基)氨基,用于治疗或预防肝癌。

[0121] 本发明的另一个实施方案是(xi)式(I)的化合物,

[0122] 其中

[0123] R¹是C₁₋₆烷基;

[0124] R²是苄基,所述苄基被卤素或C₁₋₆烷基取代;

[0125] R³是-NR⁴R⁵,其中R⁴是C₁₋₆烷基,R⁵是C₁₋₆烷基,

[0126] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0127] 本发明的另一个实施方案是(xii)式(I)的化合物,

[0128] 其中

[0129] R¹是乙基;

[0130] R²是甲基苄基、溴苄基、氯苄基或氟苄基;

[0131] R³是丙基(甲基)氨基或乙基(甲基)氨基,

[0132] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0133] 本发明的另一个实施方案是(xii-1)式(I)的化合物,

[0134] 其中

[0135] R¹是乙基;

[0136] R²是甲基苄基、氯苄基或氟苄基;

[0137] R³是丙基(甲基)氨基或乙基(甲基)氨基,

[0138] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0139] 本发明的另一实施方案是(xiii)特定的式(I)的化合物如下:

[0140] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0141] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0142] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0143] 6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0144] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0145] 6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0146] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0147] 6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0148] 6-氨基-7-(氮氧杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0149] 6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0150] 6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

- [0151] 6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0152] 6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0153] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯;
- [0154] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯;
- [0155] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯;
- [0156] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯;
- [0157] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯;
- [0158] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯;
- [0159] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯;
- [0160] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸乙酯;
- [0161] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸乙酯;
- [0162] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸异丙酯;
- [0163] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸叔丁酯;
- [0164] N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0165] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯;
- [0166] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯;
- [0167] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯;
- [0168] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯;
- [0169] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-甲酸酯;
- [0170] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯;

- [0171] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯;
- [0172] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基乙基碳酸酯;
- [0173] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;
- [0174] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;
- [0175] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0176] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0177] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0178] 6-氨基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;
- [0179] 6-氨基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;
- [0180] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0181] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0182] 6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0183] 6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0184] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0185] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0186] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0187] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0188] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0189] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0190] 6-氨基-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-

呤-7-甲酰胺;

[0191] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)

嘌呤-7-甲酰胺;

[0192] 6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0193] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0194] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0195] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0196] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0197] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0198] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0199] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0200] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0201] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;和

[0202] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺,

[0203] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0204] 本发明的另一实施例是(xiv)更特别的式(I)的化合物如下:

[0205] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0206] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0207] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0208] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0209] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0210] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0211] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)

嘌呤-7-甲酰胺；

[0212] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0213] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0214] 6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0215] 6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0216] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0217] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0218] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0219] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0220] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0221] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0222] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0223] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0224] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；和

[0225] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0226] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体，用于治疗或预防肝癌。

[0227] 本发明的另一实施例是(xv)更特别的式(I)的化合物如下：

[0228] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0229] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

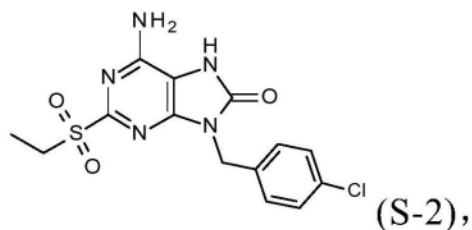
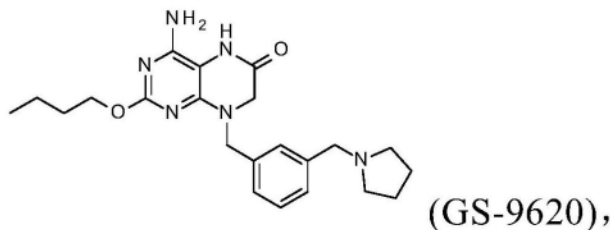
[0230] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0231] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；和

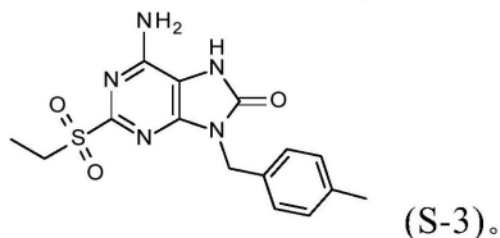
[0232] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺,

[0233] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌。

[0234] 在一些实施方案中,本发明的化合物经测试并与以下参考化合物比较。作为专注于发现和研发用于治疗肝脏疾病的TLR7激动剂的最成功的生物制药公司,Gilead拥有最先进的TLR7激动剂生产线,具有先导化合物,诸如已进入II期研究的GS-9620。在本申请中,US20100143301中作为实例49公开的Gilead化合物GS-9620、JP1999193282中公开的化合物S-2和化合物S-3均被选作参考化合物:



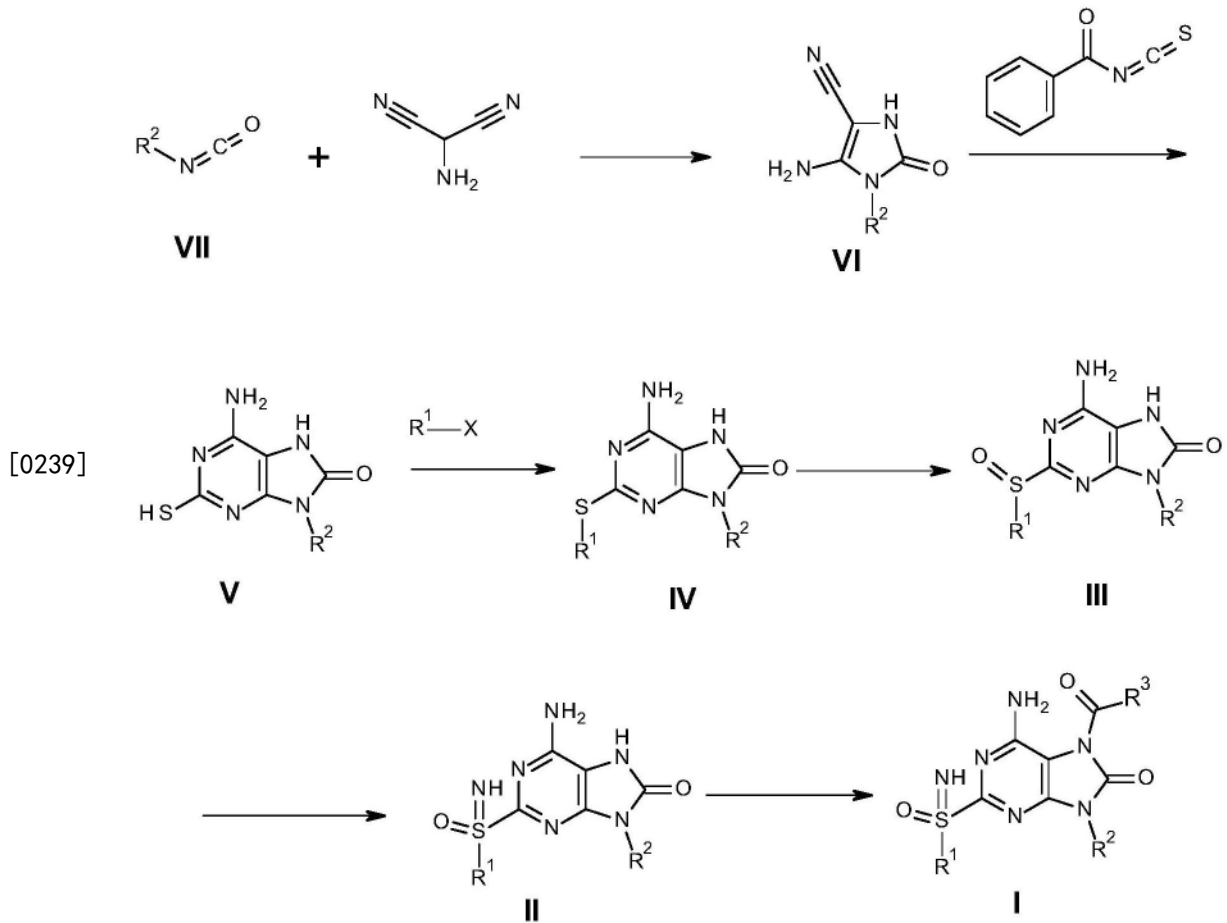
[0235]



[0236] 合成

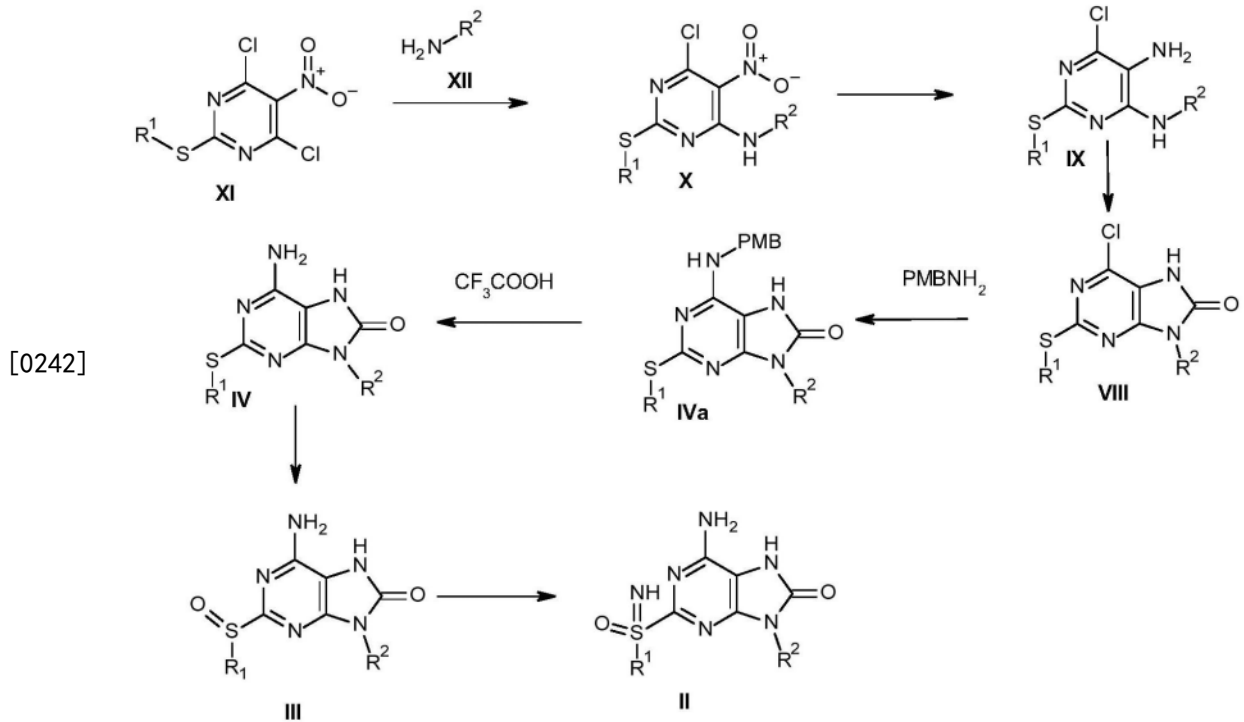
[0237] 本发明的化合物可以通过任何常规方法制备。在以下方案和实施例中提供了合成这些化合物的合适方法及其原料。除非另有说明,所有取代基,特别是 R^1 至 R^{14} 均如上所定义。此外,除非另有明确说明,否则所有反应、反应条件、缩写和符号具有有机化学领域普通技术人员众所周知的含义。

[0238] 方案1



[0240] 通过异氰酸酯VII与氨基丙二腈对甲苯磺酸盐的环化来制备式VI化合物。然后,通过在无机碱诸如NaOH或KOH存在下使式VI化合物与苯甲酰基异硫氰酸酯反应来合成双环V。在碱诸如 K_2CO_3 、NaH或 Cs_2CO_3 的存在下,用烷基卤使双环V烷基化,得到式IV化合物。通过用氧化剂诸如间氯过氧苯甲酸、脲-过氧化氢加合物和 HIO_4 氧化式IV化合物来制备式III化合物。通过用亚胺化试剂诸如于酸(所述酸是例如Eaton试剂或PPA)中的叠氮化钠亚胺化式III化合物来获得式II化合物。通过在诸如吡啶和三乙胺、吡啶和DIPEA、DMAP和三乙胺或DMAP和DIPEA的混合碱的存在下使式II化合物与氨基甲酰氯反应来获得式I化合物。

[0241] 方案2

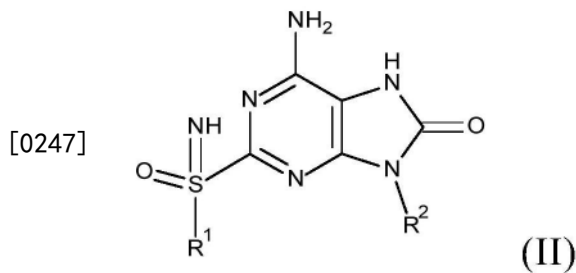


[0243] 式II化合物也可以按照方案2制备。

[0244] 通过使式XI的化合物与R²NH₂反应来制备式X化合物。用还原剂诸如在AcOH中的锌粉或铁粉来还原化合物X,得到式IX化合物。用环化试剂诸如光气、羰基二咪唑、碳酸二乙酯和三光气来环化式IX化合物,得到式VIII化合物。通过用PMBNH₂处理式VIII化合物来制备式IVa化合物。通过用酸诸如CF₃COOH使式IVa化合物脱保护,然后用氧化剂诸如间氯过氧苯甲酸、脲-过氧化氢加合物和HIO₄氧化来制备式III化合物。通过用亚胺化试剂诸如于酸(所述酸例如是伊顿试剂或PPA)中的叠氮化钠亚胺化式III的化合物获得式II化合物。

[0245] 还描述了一种制备式(I)化合物的方法,该方法包括以下反应:

[0246] 在混合碱的存在下使式(II)化合物与氨基甲酰氯反应,



[0248] 其中R¹和R²如上所定义。

[0249] 在上述步骤中,混合碱可以是例如吡啶和三乙胺、吡啶和DIPEA、DMAP和三乙胺或DMAP和DIPEA。

[0250] 当根据以上方法制造时,用于治疗或预防肝癌的式(I)化合物也是本发明的目的。

[0251] 药物组合物和施用

[0252] 另一个实施方案提供用于治疗或预防肝癌的药物组合物或药物,其包含本发明的化合物和治疗惰性的载体、稀释剂或赋形剂,以及使用本发明的化合物制备此类组合物和药物的方法。在一个实施例中,式(I)化合物可以通过在环境温度下在适当的pH下并以所需

的纯度与生理上可接受的载体,即在应用至盖伦施用形式中的剂量和浓度下对接受者无毒的载体混合来配制。制剂的pH主要取决于化合物的特定用途和浓度,但优选为约3至约8的任何范围。在一个实施例中,式(I)化合物在pH 5下在乙酸盐缓冲液中配制。在另一个实施方案中,式(I)化合物是无菌的。化合物可以例如以固体或无定形组合物形式、以冻干制剂或水溶液形式储存。

[0253] 以与良好医学实践一致的方式配制、给药和施用组合物。在此情况下考虑的因素包括正在治疗的特定病症、正在治疗的特定哺乳动物、个体患者的临床状况、病症的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用时间表以及医师已知的其他因素。待施用的化合物的“有效量”将由此类考虑决定,并且是活化TLR7受体并导致产生可用于但不限于治疗或预防乙型和/或丙型肝炎病毒感染患者的INF- α 和其他细胞因子所需的最小量。

[0254] 在一实施例中,每个剂量的肠胃外施用的本发明化合物的药学上的有效量为每天约0.1至50mg/kg患者体重,或者约0.1至30mg/kg患者体重,通常最初使用的化合物范围为0.3至15mg/kg/天。在另一个实施方案中,口服单位剂型,诸如片剂和胶囊剂,优选含有约20至约1000mg的本发明化合物。

[0255] 本发明的化合物可以通过任何合适的方式施用,包括口服、局部(包括经颊和舌下)、直肠、阴道、经皮、肠胃外、皮下、腹膜内、肺内、皮内、鞘内和硬膜外以及鼻内,并且如果局部治疗需要,则病灶内施用。肠胃外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。

[0256] 本发明的化合物可以以任何方便的施用形式施用,例如片剂、散剂、胶囊剂、溶液剂、分散剂、悬浮剂、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳液、贴剂等。这种组合物可以含有药物制剂中常规的组分,例如稀释剂、载体、pH调节剂、甜味剂、填充剂和其他活性剂。

[0257] 通过将本发明的化合物和载体或赋形剂混合来制备典型的制剂。合适的载体和赋形剂是本领域技术人员众所周知的,并且例如在以下中详细地描述:Ansel,Howard C.等人,Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems.Philadelphia:Lippincott,Williams&Wilkins,2004;Gennaro,Alfonso R.等人Remington:The Science and Practice of Pharmacy.Philadelphia:Lippincott,Williams&Wilkins,2000;和Rowe,Raymond C.Handbook of Pharmaceutical Excipients.Chicago,Pharmaceutical Press,2005。制剂还可以包含一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、湿润剂、润滑剂、乳化剂、悬浮剂、防腐剂、抗氧化剂、不透明剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、芳香剂、调味剂、稀释剂和其他提供药物(即本发明的化合物或其药物组合物)优美的外观或有助于药物产品(即药物)生产的已知添加剂。

[0258] 合适的口服剂型的实例是含有与约30mg至90mg无水乳糖、约5mg至40mg交联羧甲基纤维素钠、约5mg至30mg聚乙烯吡咯烷酮(PVP)K30和约1mg至10mg的硬脂酸镁混合的约20mg至1000mg本发明化合物的片剂。首先将粉状成分混合在一起,然后与PVP的溶液混合。可以将所得的组合物干燥、制粒,与硬脂酸镁混合并使用常规设备压制成片剂形式。可以通过将例如20mg至1000mg的本发明化合物溶解在合适的缓冲溶液例如磷酸盐缓冲液中,如果需要加入强渗剂例如氯化钠的盐,来制备气雾剂制剂的实例。可以例如使用0.2微米的过滤器过滤溶液,以除去杂质和污染物。

[0259] 因此,一个实施方案包括包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体或非对映异构体的药物组合物。

[0260] 在另一个实施方案中,包括包含式(I)的化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体或非对映异构体以及药学上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。

[0261] 另一个实施方案包括用于治疗乙型肝炎病毒感染的药物组合物,其包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐或对映异构体或非对映异构体。

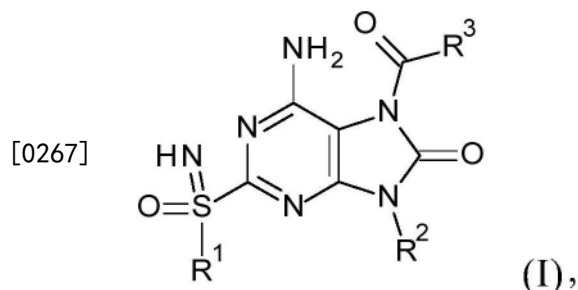
[0262] 适应症和治疗方法

[0263] 本发明提供在有需要的患者中治疗或预防肝癌的方法。在一些实施方案中,肝癌是肝细胞癌、肝细胞瘤、胆管癌、肝母细胞瘤、肝癌、肝血管肉瘤或转移性肝癌。在一些实施方案中,肝癌是难治性癌症。

[0264] 术语“癌症”和“癌性”是指或描述哺乳动物中通常以未受控制的细胞生长/增殖为特征的生理状况。肝癌的实例包括但不限于:肝细胞癌,肝细胞瘤,肝母细胞瘤,胆管癌,肝母细胞瘤,肝癌,肉瘤,淋巴瘤,肝肿瘤和肝血管肉瘤。在各种实施方案中,肝癌(例如,HCC)可以是中期、晚期或终末期。肝癌(例如HCC)可以是转移性的或非转移性的。肝癌(例如HCC)可以切除或不能切除。肝癌(例如,HCC)可以包括单个肿瘤、多个肿瘤或具有浸润性生长模式(进入门静脉或肝静脉)的定义不清的肿瘤。肝癌(例如,HCC)可以包括纤维板层、假腺性(腺状肿)、多形性(巨细胞)或透明细胞模式。肝癌(例如,HCC)可以包括高度分化的形式,并且肿瘤细胞类似于肝细胞,形成小梁、脊髓和巢,和/或在细胞质中包含胆汁色素。肝癌(例如,HCC)可以包括低分化形式,并且恶性上皮细胞是松散的、多形的、间变性的和/或巨大的。在一些实施方案中,肝癌(例如,HCC)与乙型肝炎、丙型肝炎、肝硬化或2型糖尿病相关。术语“细胞增生性疾病”和“增生性疾病”是指与某种程度的异常细胞增殖有关的病症。在一实施方案中,细胞增生性疾病是癌症。

[0265] 在本发明的一个实施方案中,本文所述的化合物(及其药物组合物和药物)用于预防/防止具有高患肝癌风险的患者肝癌。

[0266] 在本发明的一个优选的实施方案中,本文所述的化合物特别用作主要在肝脏中转化为活性药物的前药。本发明实施方案的一个实施方案是本文所述的用于治疗肝癌的前药化合物,其中所述化合物为式(I)的前药,



[0268] 其中

[0269] R^1 是 C_{1-6} 烷基;

[0270] R^2 是苄基,所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和 C_{1-6} 烷基的取代基取代;

[0271] R^3 是 $-NR^4R^5$,其中

[0272] R^4 是 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基;

[0273] R^5 是 $(C_{1-6}烷基)_2NCOOC_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(苯基)C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基氧基C_{1-6}$

烷基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷基羰基(C_{1-6} 烷基)氨基 C_{1-6} 烷基或吡咯烷基氨基甲酰氧基 C_{1-6} 烷基;或

[0274] R^4 和 R^5 与它们连接的氮一起形成杂环基;

[0275] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,用于治疗或预防肝癌;

[0276] 条件是,排除以下化合物:

[0277] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0278] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0279] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0280] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0281] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙酯;

[0282] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

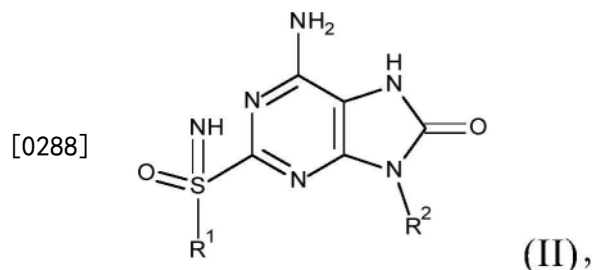
[0283] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0284] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0285] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0286] 及其对映异构体或非对映异构体,

[0287] 并且其中式I的前药化合物在人肝脏中被转化为式II的活性药物



[0289] 其中 R^1 和 R^2 如上所定义。

[0290] 使用人肝微粒体的示例性转化率示于实施例50中。实施例61还证明了肝脏是前药转化为其活性形式的主要部位。

[0291] 本发明的一个优选的实施方案是本文所述的(前药)化合物,其中所述化合物易受肝酶CYP2C9和CYP2C19影响而转化为其活性形式。本发明的一个优选的实施方案是本文所述的(前药)化合物,其中所述化合物在人肝细胞中显示出 $\geq 10\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白的转化为活性化合物的转化率,在人肠上皮细胞中显示 $\leq 2\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白的转化为活性化合物的转化率(如使用人肝细胞和人肠上皮细胞在适当的测定中所测量)。

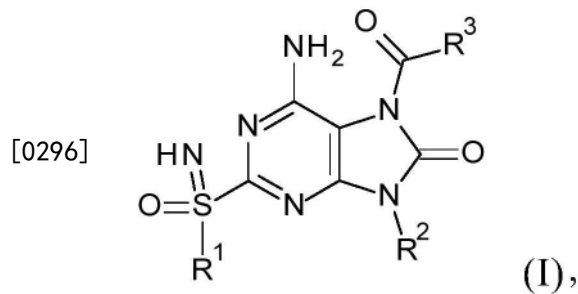
[0292] 组合治疗

[0293] 本发明的一个方面是用式I化合物与抗PD-L1/PD1轴疗法组合治疗(联合治疗)患有肝癌的患者。

[0294] 令人惊讶地,我们发现式I化合物和抗PD-L1/PD1轴疗法的组合治疗对肝肿瘤非常

有效。

[0295] 因此,本发明的一个方面是式(I)化合物(或包含该化合物的药物或药物组合物),



[0297] R¹是C₁₋₆烷基;

[0298] R²是苄基,所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和C₁₋₆烷基的取代基取代;

[0299] R³是-NR⁴R⁵,其中

[0300] R⁴是C₁₋₆烷基或C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基;

[0301] R⁵是(C₁₋₆烷基)₂NCOOC₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基(C₁₋₆烷基)氨基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基(苯基)C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基氧基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基羰基(C₁₋₆烷基)氨基C₁₋₆烷基或吡咯烷基氨基甲酰氧基C₁₋₆烷基;或

[0302] R⁴和R⁵与它们连接的氮一起形成杂环基;

[0303] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;

[0304] 条件是,排除以下化合物:

[0305] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0306] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0307] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0308] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0309] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙酯;

[0310] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0311] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0312] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0313] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0314] 及其对映异构体或非对映异构体,

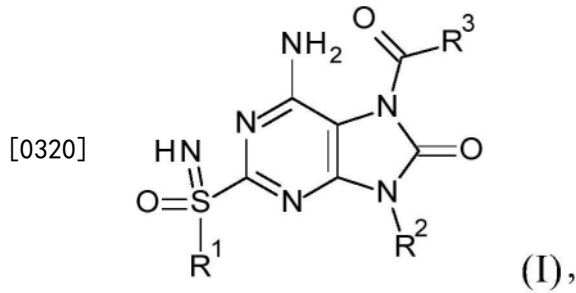
[0315] 用于

[0316] a) 与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体组合治疗肝癌,

[0317] 或

[0318] b) 与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体组合治疗患有肝癌的患者。

[0319] 本发明的一个实施方案是式(I)化合物(或包含该化合物的药物或药物组合物),



[0321] 其中

[0322] R^1 是 C_{1-6} 烷基;

[0323] R^2 是苄基,所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和 C_{1-6} 烷基的取代基取代;

[0324] R^3 是 $-NR^4R^5$,其中

[0325] R^4 是 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基;

[0326] R^5 是 $(C_{1-6}烷基)_2NCOOC_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(苯基)C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 或吡咯烷基氨基甲酰氧基 $C_{1-6}烷基$;或

[0327] R^4 和 R^5 与它们连接的氮一起形成杂环基;

[0328] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;

[0329] 条件是,排除以下化合物:

[0330] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0331] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0332] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0333] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0334] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙酯;

[0335] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0336] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0337] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

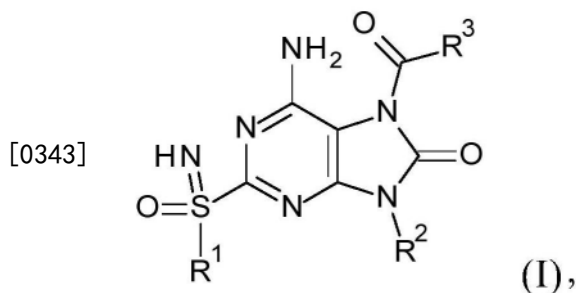
[0338] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0339] 及其对映异构体或非对映异构体,

[0340] 用于预防或治疗肝癌

[0341] 其中拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体被共同施用(其中所述治疗与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体组合)。

[0342] 本发明的一个实施方案是式(I)化合物



[0344] 其中

[0345] R¹是C₁₋₆烷基;

[0346] R²是苄基,所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和C₁₋₆烷基的取代基取代;

[0347] R³是-NR⁴R⁵,其中

[0348] R⁴是C₁₋₆烷基或C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基;

[0349] R⁵是(C₁₋₆烷基)₂NCOOC₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基(C₁₋₆烷基)氨基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基(苯基)C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基氧基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基羰基(C₁₋₆烷基)氨基C₁₋₆烷基或吡咯烷基氨基甲酰氧基C₁₋₆烷基;或

[0350] R⁴和R⁵与它们连接的氮一起形成杂环基;

[0351] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;

[0352] 条件是,排除以下化合物及其对映异构体或非对映异构体:

[0353] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0354] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0355] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0356] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0357] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙酯;

[0358] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0359] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0360] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0361] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0362] 在制备用于治疗或预防肝癌的药剂中的用途,

[0363] 其中拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体被共同施用(其中所述治疗与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体组合)。

[0364] 在本发明的另一个实施方案中,用于与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体联合治疗的

特定的式(I)化合物选自：

- [0365] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0366] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0367] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0368] 6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；
- [0369] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0370] 6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0371] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0372] 6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0373] 6-氨基-7-(氮氧杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；
- [0374] 6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0375] 6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；
- [0376] 6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0377] 6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；
- [0378] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯；
- [0379] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯；
- [0380] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯；
- [0381] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯；
- [0382] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯；
- [0383] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯；
- [0384] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯；
- [0385] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸乙酯；
- [0386] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸乙酯；
- [0387] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基

基]-3-苄基-丙酸异丙酯;

[0388] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸叔丁酯;

[0389] N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0390] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯;

[0391] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯;

[0392] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯;

[0393] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯;

[0394] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-甲酸酯;

[0395] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯;

[0396] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯;

[0397] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基乙基碳酸酯;

[0398] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;

[0399] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;

[0400] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0401] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0402] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0403] 6-氨基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0404] 6-氨基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0405] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0406] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

- [0407] 6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(p-甲基苯基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0408] 6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲基苯基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0409] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0410] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0411] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0412] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0413] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲基苯基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0414] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲基苯基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0415] 6-氨基-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲基苯基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0416] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲基苯基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0417] 6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0418] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0419] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0420] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0421] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0422] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0423] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0424] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0425] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0426] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-

氧代-嘌呤-7-甲酰胺;和

[0427] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0428] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体。

[0429] 在本发明的另一个实施方案中,用于与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体联合治疗的特定的式(I)化合物选自:

[0430] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0431] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0432] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0433] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;和

[0434] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0435] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体。

[0436] 在本发明的另一个实施方案中,用于与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体联合治疗的特定的式(I)化合物为:6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0437] 在一个实施方案中,式I化合物与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体的共同施用(或组合疗法或与……组合治疗或联合治疗)是同时的。在一个实施方案中,式I化合物与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体的共同施用(或组合疗法或与……组合治疗或联合治疗)是顺序的。

[0438] 术语“与……组合施用”或“共同施用”、“共同施用有”、“组合疗法”,“与……组合治疗”或“组合治疗”是指本文所述的式I化合物以及如本文所述的拮抗性PD1或PD-L1抗体例如作为单独的制剂/应用(或作为一个单一制剂/应用)的施用。共同施用可以同时或以任何顺序进行,其中存在两种(或所有)活性剂同时发挥其生物学活性的一个时间段。共同施用是同时或顺序的(例如通过连续输注静脉内(iv))。在一个实施方案中,共同施用是同时的。在一个实施方案中,共同施用是顺序的。共同施用是同时或顺序的(例如通过连续输注静脉内(iv))。

[0439] 不言而喻,抗体以“治疗有效量”(或简称为“有效量”)施用于患者,所述“治疗有效量”或“有效量”是将引起研究人员、兽医、医生或其他临床医师正在寻找的组织、系统、动物或人类的生物学或医学反应的相应化合物或组合的量。

[0440] 共同施用的量和共同施用的时间将取决于所治疗患者的类型(种类、性别、年龄、体重等)与病症和所治疗疾病或病症的严重性。所述式I化合物和所述抗体适当地一次或在一系列治疗内例如(在同一天或在该天后)共同施用于患者。

[0441] PD-1/PD-L1/PD-L2途径:

[0442] 调节T细胞活化的重要的负协同刺激信号由程序性死亡-1受体(PD-1)(CD279)及其配体结合配偶体PD-L1(B7-H1,CD274;SEQ ID NO:13)和PD-L2(B7-DC,CD273)提供。PD-1

的负调节作用由PD-1敲除(Pdcd1^{-/-})揭示,PD-1敲除易于自身免疫。Nishimura et al., *Immunity* 11:141-51(1999); Nishimura et al., *Science* 291:319-22(2001)。PD-1与CD28和CTLA-4相关,但缺少允许同源二聚化的近膜半胱氨酸。PD-1的胞质结构域含有基于免疫受体酪氨酸的抑制基序(ITIM, V/IxYxxL/V)。PD-1仅与PD-L1和PD-L2结合。Freeman et al., *J. Exp. Med.* 192:1-9(2000); Donget al., *Nature Med.* 5:1365-1369(1999); Latchman et al., *Nature Immunol.* 2:261-268(2001); Tseng et al., *J. Exp. Med.* 193:839-846(2001)。

[0443] PD-1可以在T细胞、B细胞、自然杀伤T细胞、活化的单核细胞和树突状细胞(DC)上表达。PD-1被活化的人CD4⁺和CD8⁺T细胞、B细胞和髓样细胞表达,但不被未受刺激的人CD4⁺和CD8⁺T细胞、B细胞和髓样细胞表达。这与CD28和CTLA-4的更受限的表达相反。Nishimura et al., *Int. Immunol.* 8:773-80(1996); Boettler et al., *J. Virol.* 80:3532-40(2006)。已经从活化的人T细胞克隆出至少4种PD-1变异体,包括缺少(i)外显子2, (ii)外显子3, (iii)外显子2和3或(iv)外显子2至4的转录子。Nielsen et al., *Cell. Immunol.* 235:109-16(2005)。除PD-1 δ ex3外,所有变体在静息的外周血单核细胞(PBMC)中均以与全长PD-1相似的水平被表达。在用抗CD3和抗CD28活化人T细胞后,所有变体的表达都被显著诱导。PD-1 δ ex3变体缺少跨膜结构域,并类似于可溶性CTLA-4,其在自身免疫中起重要作用。Ueda et al., *Nature* 423:506-11(2003)。该变体富集于类风湿性关节炎患者的滑液和血清中。Wan et al., *J. Immunol.* 177:8844-50(2006)。

[0444] 两种PD-1配体的表达模式不同。PD-L1在鼠T和B细胞、CD、巨噬细胞、间充质干细胞和骨髓来源的肥大细胞上被组成性表达。Yamazaki et al., *J. Immunol.* 169:5538-45(2002)。PD-L1在广泛范围的非造血细胞(例如角膜、肺、血管上皮、肝非实质细胞、间充质干细胞、胰岛、胎盘滋养层细胞、角质形成细胞等)上被表达[Keir et al., *Annu. Rev. Immunol.* 26:677-704(2008)],并且在活化后在许多细胞类型上调。I型和II型干扰素IFN均上调PD-L1。Eppihimer et al., *Microcirculation* 9:133-45(2002); Schreiner et al., *J. Neuroimmunol.* 155:172-82(2004)。当MyD88、TRAF6和MEK被抑制时,细胞系中的PD-L1表达降低。Liu et al., *Blood* 110:296-304(2007)。JAK2也涉及PD-L1诱导。Lee et al., *FEBS Lett.* 580:755-62(2006); Liu et al., *Blood* 110:296-304(2007)。磷酸酶和张力蛋白同源物(PTEN),即一种修饰磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和Akt信号传导的细胞磷酸酶的丢失或抑制,增加癌症中转录后PD-L1的表达。Parsa et al., *Nat. Med.* 13:84-88(2007)。

[0445] PD-L2的表达比PD-L1更受限制。PD-L2在DC、巨噬细胞和骨髓肥大细胞上被诱导表达。PD-L2还可以在约一半至三分之二的静止腹膜B1细胞上被表达,但在常规B2 B细胞上不被表达。Zhong et al., *Eur. J. Immunol.* 37:2405-10(2007)。PD-L2+B1细胞结合磷脂酰胆碱,并且对于抵抗细菌抗原的先天免疫反应可能很重要。IFN- γ 对PD-L2的诱导部分取决于NF- κ B。Liang et al., *Eur. J. Immunol.* 33:2706-16(2003)。还可通过GM-CSF、IL-4和IFN- γ 在单核细胞和巨噬细胞上诱导PD-L2。Yamazaki et al., *J. Immunol.* 169:5538-45(2002); Loke et al., *PNAS* 100:5336-41(2003)。

[0446] PD-1信号传导通常对细胞因子产生比对细胞增殖具有更大的影响,其中对IFN- γ 、TNF- α 和IL-2产生具有显著影响。PD-1介导的抑制性信号传导还取决于TCR信号传导的强度,在低水平的TCR刺激下传递更大的抑制作用。这种减少可以通过经由CD28的共刺激

[Freeman等, *J. Exp. Med.* 192:1027-34(2000)]或在IL-2的存在下来克服[Carter et al., *Eur. J. Immunol.* 32:634-43(2002)]。

[0447] 越来越多的证据表明,通过PD-L1和PD-L2的信号传导可能是双向的。即,除了修改TCR或BCR信号传导之外,信号传导还可以被传递回表达PD-L1和PD-L2的细胞。虽然未发现使用从沃尔丹斯特伦巨球蛋白血症(Waldenström's macroglobulinemia)患者中分离的天然人抗PD-L2抗体治疗树突状细胞上调MHC II或B7共刺激分子,但此类细胞确实会产生更大量促炎细胞因子,尤其是TNF- α 和IL-6,并刺激T细胞增殖。Nguyen et al., *J. Exp. Med.* 196:1393-98(2002)。用该抗体治疗小鼠也(1)增强对移植的b16黑色素瘤的抵抗力,并迅速诱导肿瘤特异性CTL, Radhakrishnan et al., *J. Immunol.* 170:1830-38(2003), Radhakrishnan et al., *Cancer Res.* 64:4965-72(2004), Heckman et al., *Eur. J. Immunol.* 37:1827-35(2007), (2)在过敏性哮喘的小鼠模型中阻断气道炎症疾病的发展, Radhakrishnan et al., *J. Immunol.* 173:1360-65(2004); Radhakrishnan et al., *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:668-74(2005)。

[0448] 反向信号传导到树突状细胞("DC")内的其他证据来自对用可溶性PD-1(与Ig恒定区融合的PD-1EC结构域-"s-PD-1")培养的骨髓来源的DC的研究。Kuipers et al., *Eur. J. Immunol.* 36:2472-82(2006)。该sPD-1以通过施用抗PD-1的可逆方式抑制DC活化并增加IL-10产生。

[0449] 另外,一些研究表明独立于PD-1的用于PD-L1或PD-L2的受体。B7.1已被鉴定为用于PD-L1的结合伴侣。Butte et al., *Immunity* 27:111-22(2007)。化学交联研究表明,PD-L1和B7.1可以通过其IgV样结构域相互作用。B7.1:PD-L1相互作用可以诱导进入T细胞的抑制信号。PD-L1在CD4+T细胞上通过B7.1的连接或B7.1在CD4+T细胞上通过PD-L1的连接递送抑制信号。缺少CD28和CTLA-4的T细胞在被抗CD3+B7.1包被的珠粒刺激时显示出降低的增殖和细胞因子产生。在缺乏所有用于B7.1受体(即CD28、CTLA-4和PD-L1)的T细胞中,T细胞增殖和细胞因子产生不再被抗CD3+B7.1包被的珠粒抑制。这表明在没有CD28和CTLA-4的情况下,B7.1通过PD-L1特异性作用于T细胞。同样,缺乏PD-1的T细胞在抗CD3+PD-L1包被的珠粒的存在下被刺激时,显示出降低的增殖和细胞因子产生,这表明PD-L1连接对T细胞上的B7.1的抑制作用。当T细胞缺乏所有已知的用于PD-L1受体(即没有PD-1和B7.1)时,T细胞增殖不再被抗CD3+PD-L1包被的珠粒损害。因此,PD-L1可以通过B7.1或PD-1对T细胞发挥抑制作用。

[0450] B7.1与PD-L1之间的直接相互作用表明目前对共刺激的理解尚不完全,并低估了这些分子在T细胞上表达的重要性。对PD-L1-/-T细胞的研究表明,T细胞上的PD-L1可以下调T细胞细胞因子产生。Latchman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:10691-96(2004)。因为PD-L1和B7.1都在T细胞、B细胞、DC和巨噬细胞上被表达,所以在这些细胞类型上B7.1和PD-L1之间可能存在定向的相互作用。此外,非造血细胞上的PD-L1可以与B7.1以及T细胞上的PD-1相互作用,从而引发PD-L1是否参与其调节的问题。B7.1:PD-L1相互作用的抑制作用的一种可能解释是,T细胞PD-L1可能从与CD28的相互作用中捕捉或分离APC B7.1。

[0451] 结果,通过PD-L1的信号传导的拮抗作用(包括阻断PD-L1与PD-1、B7.1或两者相互作用,从而防止PD-L1向T细胞和其他抗原呈递细胞发送负共刺激信号),可能会增强响应于

感染(例如急性和慢性)的免疫力和肿瘤免疫。

[0452] 示例性的PD-L1拮抗剂是抗PD-L1抗体阿特殊单抗(atezolizumab)。其他拮抗性PD-L1抗体是度伐单抗(durvalumab)或阿维鲁单抗(avelumab)。

[0453] 在另一个实施方案中,抗PD-L1/PD1相互作用可以被拮抗性抗PD-1抗体如拮抗性PD1抗体派姆单抗(pembrolizumab)或纳武单抗(nivolumab)或者包含PD1-0103-0312的可变重链和轻链结构域的抗PD1抗体阻断。

[0454] 术语“人PD-L1”是指人蛋白质PD-L1(SEQ ID NO:13,典型地是PD-1信号传导)。如本文所用,“结合于人PD-L1”或“特异性结合于人PD-L1”或“其结合于人PD-L1”或“抗PD-L1抗体”或“拮抗性PD-L1”是指以 1.0×10^{-8} mol/l或更低的KD值,在一个实施方案中以 1.0×10^{-9} mol/l或更低的KD值的亲和力特异性结合于人PD-L1抗原的抗体。结合亲和力用标准结合测定法确定,诸如表面等离子共振技术(BIAcore®,GE-Healthcare Uppsala, Sweden)。因此,本文所用的“结合于人PD-L1的抗体”是指以KD 1.0×10^{-8} mol/l或更低(在一个实施方案中为 1.0×10^{-8} mol/l至 1.0×10^{-13} mol/l),在一个实施方案中KD为 1.0×10^{-9} mol/l或更低(在一个实施方案中为 1.0×10^{-9} mol/l至 1.0×10^{-13} mol/l)的结合亲和力特异性结合于人PD-L1抗原的抗体。

[0455] 术语“人PD1”是指人蛋白质PD1(SEQ ID NO:14,典型地是PD-1信号传导)。如本文所用,“结合于人PD1”或“特异性结合于人PD1”或“其结合于人PD1”或“抗PD1抗体”或“拮抗性PD1”是指以KD值 1.0×10^{-8} mol/l或更低,在一个实施方案中 1.0×10^{-9} mol/l或更低的结合亲和力特异性结合于人PD1抗原的抗体。结合亲和力用标准结合测定法确定,诸如表面等离子共振技术(BIAcore®,GE-Healthcare Uppsala, Sweden)。因此,如本文所用的“与人PD1结合的抗体”是指以KD 1.0×10^{-8} mol/l或更低(在一个实施方案中为 1.0×10^{-8} mol/l至 1.0×10^{-13} mol/l),在一个实施方案中KD为 1.0×10^{-9} mol/l或更低(在一个实施方案中 1.0×10^{-9} mol/l至 1.0×10^{-13} mol/l)的结合亲和力特异性结合人PD1抗原的抗体。

[0456] 如本文所用的“可变结构域”(轻链的可变结构域(VL),重链的可变结构域(VH))表示涉及直接将抗体与抗原结合的一对轻链和重链中的每个。可变的人轻链和重链的结构域具有相同的一般结构,并且每个结构域包含四个框架(FR)区,其序列为广泛保守的,由三个“高变区”(或互补决定区,CDR)连接。框架区采用 β -折叠构象,并且CDR可以形成连接 β -折叠结构的环,每条链中的CDR通过构架区被保持为其三维结构,并与来自另一条链的CDR一起形成抗原结合位点。抗体重链和轻链CDR3区在根据本发明的抗体的结合特异性/亲和力中起特别重要的作用,因此提供了本发明的另一目的。

[0457] 如在本申请中使用的术语“恒定区”表示除可变区之外的抗体的结构域的总和。恒定区不直接参与抗原的结合,但是表现出各种效应器功能。取决于其重链恒定区的氨基酸序列,抗体分为以下类别:IgA,IgD,IgE,IgG和IgM,其中一些可以进一步分为子类,诸如IgG1、IgG2、IgG3,以及IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同类别抗体的重链恒定区分别称为 α , δ , ϵ , γ 和 μ 。可以在所有五种抗体类别中找到的轻链恒定区称为 κ (kappa)和 λ (lambda)。

[0458] 如本申请中所使用的术语“源自人源的恒定区”或“人恒定区”表示子类IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的人抗体的恒定重链区和/或恒定轻链 κ 或 λ 区。这样的恒定区在现有技术中是众所周知的,例如,由Kabat,E.A.等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,

MD(1991) (另参见例如Johnson,G.,and Wu,T.T.,Nucleic Acids Res.28(2000) 214-218; Kabat,E.A.,et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 72(1975) 2785-2788)所描述。在针对位置和突变的编号应用中,根据Kabat,E.A.等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)的EU编号系统(EU Index)被使用并称为“根据Kabat的EU Index的编号”。

[0459] 在一个实施方案中,用于本文所述的组合疗法中的结合于人PD1的拮抗性抗PD1抗体是纳武单抗或派姆单抗,其特征在于包含以下本文所述的VH和VL序列:

[0460] 表:

抗 PD-L1 抗体	重链可变结构域 VH 的氨基酸序列, SEQ ID NO:	轻链可变结构域 VL 的氨基酸序列, SEQ ID NO:
纳武单抗	1	2
派姆单抗	3	4

[0462] 在本发明的一个优选的实施方案中,用于本文所述的联合疗法的式I化合物选自:

[0463] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0464] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0465] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0466] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;或

[0467] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺,

[0468] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;(在一个优选的实施方案中,为6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺);

[0469] 组合疗法中使用的拮抗性PD1抗体为纳武单抗或派姆单抗。

[0470] 在一个实施方案中,本文所述的组合疗法中使用的结合于人PD1的拮抗性抗PD1抗体是单特异性或多特异性拮抗性PD1抗体,并且包含以下本文所述的重链可变结构域VH和轻链可变结构域VL序列。

[0471] 表:

抗 PD1 抗体	重链可变结构域 VH 的氨基酸序列, SEQ ID NO:	轻链可变结构域 VL 的氨基酸序列, SEQ ID NO:
PD1-0103-0312	5	6

[0473] 优选地,基于PD1-0103-0312的重链可变结构域VH和轻链可变结构域VL序列的这种抗PD1抗体包含IgG1亚型的重链恒定区(例如SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:17,最终还包含其他突变,参见下文双特异性实施方案)和人κ轻链恒定区(例如SEQ ID NO:15)。

[0474] 在一个实施方案中,基于PD1-0103-0312的重链可变结构域VH和轻链可变结构域VL序列的这种抗PD1抗体是例如双特异性的,并且i) 双特异性抗体包含人IgG1子类的恒定重链区,其包含突变L234A、L235A和P329G(根据Kabat的EU Index编号);且其中ii) 在恒定重链区中,一个CH3结构域包含S354C和T366W突变,而另一个CH3结构域包含Y349C、T366S、L368A和Y407V突变(根据Kabat的EU Index编号)。

[0475] 在本发明的另一个优选实施方案中,用于本文所述的组合疗法的式I化合物选自:

[0476] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨基酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0477] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨基酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0478] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨基酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0479] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨基酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;或

[0480] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨基酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0481] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;(在一个优选的实施方案中,为6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨基酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺);

[0482] 组合疗法中使用的拮抗性PD1抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链可变结构域VH和具有氨基酸序列SEQ ID NO:6的轻链可变结构域VL。

[0483] 在一个实施方案中,本文所述组合疗法中使用的结合于人PD-L1的抗体是阿特殊单抗或度伐单抗或阿维鲁单抗,其特征在于包含以下本文所述的VH和VL序列:

[0484] 表:

	抗 PD-L1 抗体	重链可变结构域 VH 的氨基酸序列, SEQ ID NO:	轻链可变结构域 VL 的氨基酸序列, SEQ ID NO:
[0485]	阿特殊单抗	7	8
	度伐单抗	9	10
	阿维鲁单抗	11	12

[0486] 在本发明的另一个优选实施方案中,用于本文所述的组合疗法中的式I化合物选自:

[0487] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨基酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0488] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨基酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0489] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨基酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0490] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨基酰基)]-N-甲基-8-

氧代-嘌呤-7-甲酰胺;或

[0491] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺,

[0492] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;(在一个优选的实施方案中,为6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺);

[0493] 组合疗法中使用的拮抗性PD-L1抗体是阿特殊单抗或度伐单抗或阿维鲁单抗(在一个优选的实施方案中是阿特殊单抗)。

[0494] 本发明的另一方面是患有肝癌的患者用如上所述的式I化合物与抗血管生成剂的组合治疗(联合治疗)。抗血管生成剂可以与单独的式I化合物施用或除式I化合物和抗PD-L1/PD1轴治疗联合治疗之外共同施用。本文所用的抗血管生成剂包括(但不限于)竞争性地结合于用于VEGF、PDGF和其他血管生成生长因子的细胞内受体结构域的小分子酪氨酸激酶抑制剂(TKI),例如索拉非尼(sorafenib,4-[4-[3-(4-氯-3-三氟甲基苯基)胺基]苯氧基]吡啶-2-碳酰胺甲基酰胺;NexavarTM)、瑞戈非尼(regorafenib,4-[4-({[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基}氨基)-3-氟苯氧基]-N-甲基吡啶-2-甲酰胺-Hydrat;StivargaTM)和舒尼替尼(sunitinib,N-[2-(二乙氨基)乙基]-5-[(Z)-(5-氟-1,2-二氢-2-氧代-3H-吡啶-3-亚基)-甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺;SutentTM),但也包括抗VEGF或抗-VEGF受体抗体,例如贝伐单抗(bevacizumab,AvastinTM)。

[0495] 在本发明的一个优选的实施方案中,在与本文所述的抗血管生成剂组合治疗的式I化合物选自:

[0496] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0497] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0498] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0499] 6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0500] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0501] 6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0502] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0503] 6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0504] 6-氨基-7-(氮氧杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0505] 6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0506] 6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0507] 6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0508] 6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

- [0509] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯;
- [0510] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯;
- [0511] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯;
- [0512] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯;
- [0513] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯;
- [0514] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯;
- [0515] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯;
- [0516] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸乙酯;
- [0517] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸乙酯;
- [0518] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯;
- [0519] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸叔丁酯;
- [0520] N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0521] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯;
- [0522] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯;
- [0523] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯;
- [0524] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯;
- [0525] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-甲酸酯;
- [0526] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯;
- [0527] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯;
- [0528] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙

基乙基碳酸酯；

[0529] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺；

[0530] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺；

[0531] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0532] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0533] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0534] 6-氨基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮；

[0535] 6-氨基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮；

[0536] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0537] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0538] 6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0539] 6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0540] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0541] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0542] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0543] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0544] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0545] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0546] 6-氨基-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0547] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0548] 6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0549] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0550] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0551] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0552] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0553] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0554] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0555] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;

[0556] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0557] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;和

[0558] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺,

[0559] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;

[0560] 并且在组合疗法中使用的抗血管生成剂是索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗(优选索拉非尼或贝伐单抗)。

[0561] 在本发明的一个优选实施方案中,与本文所述的抗血管生成剂组合治疗的式I化合物选自:

[0562] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0563] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0564] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;

[0565] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;或

[0566] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0567] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体;(在一个优选的实施方案中,为6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌

呤-7-甲酰胺)；

[0568] 组合疗法中使用的抗血管生成剂是索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗(优选索拉非尼或贝伐单抗)

[0569] 在本发明的一个优选实施方案中,在与本文所述的拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体和抗血管生成剂的组合治疗中使用的式I化合物选自:

[0570] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0571] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0572] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0573] 6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0574] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0575] 6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0576] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0577] 6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0578] 6-氨基-7-(氮杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0579] 6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0580] 6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0581] 6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0582] 6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0583] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯;

[0584] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯;

[0585] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯;

[0586] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯;

[0587] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯;

[0588] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯;

[0589] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯;

[0590] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基

基]-4-甲基-戊酸乙酯;

[0591] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸乙酯;

[0592] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯;

[0593] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸叔丁酯;

[0594] N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0595] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯;

[0596] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯;

[0597] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯;

[0598] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯;

[0599] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-甲酸酯;

[0600] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯;

[0601] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯;

[0602] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基乙基碳酸酯;

[0603] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;

[0604] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;

[0605] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0606] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0607] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0608] 6-氨基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

[0609] 6-氨基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;

- [0610] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0611] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0612] 6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0613] 6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0614] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0615] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0616] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0617] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0618] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0619] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0620] 6-氨基-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0621] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0622] 6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0623] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0624] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0625] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0626] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0627] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0628] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0629] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙

基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0630] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0631] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；和

[0632] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺，

[0633] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体；

[0634] i) 拮抗性的PD1抗体是纳武单抗或派姆单抗，或包含SEQ ID NO:5的重链可变结构域VH和SEQ ID NO:6的轻链可变结构域VL；

[0635] ii) 拮抗性PD-L1抗体是阿特珠单抗或度伐单抗或阿维鲁单抗(在一个优选的实施方案中是阿特珠单抗)；

[0636] 并且在组合疗法中使用的抗血管生成剂是索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗(优选索拉非尼或贝伐单抗)。

[0637] 在本发明的一个优选实施方案中，在本文所述的与拮抗性PD1或拮抗性PD-L1抗体和抗血管生成剂的组合疗法中使用的式I化合物选自：

[0638] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0639] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0640] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0641] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；或

[0642] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0643] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体；(在一个优选的实施方案中，6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺)；

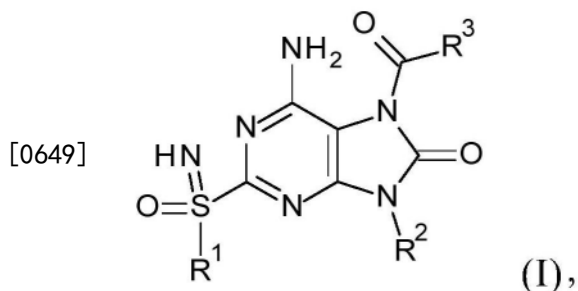
[0644] i) 拮抗性的PD1抗体是纳武单抗或派姆单抗，或包含SEQ ID NO:5的重链可变结构域VH和SEQ ID NO:6的轻链可变结构域VL；

[0645] ii) 拮抗性PD-L1抗体是阿特珠单抗或度伐单抗或阿维鲁单抗(在一个优选的实施方案中是阿特珠单抗)；

[0646] 并且在组合疗法中使用的抗血管生成剂是索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗(优选索拉非尼或贝伐单抗)。

[0647] 在下文中包括本发明的特定实施例：

[0648] 1.一种式(I)的化合物，



[0650] 其中

[0651] R^1 是 C_{1-6} 烷基；

[0652] R^2 是苄基，所述苄基未被取代或被一个、两个或三个独立地选自卤素和 C_{1-6} 烷基的取代基取代；

[0653] R^3 是 $-NR^4R^5$ ，其中

[0654] R^4 是 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基 C_{1-6} 烷基；

[0655] R^5 是 $(C_{1-6}烷基)_2NCOOC_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基(苄基)C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷氧基羰基氧基C_{1-6}烷基$ 、 $C_{1-6}烷基羰基(C_{1-6}烷基)氨基C_{1-6}烷基$ 或吡咯烷基氨基甲酰氧基 $C_{1-6}烷基$ ；或

[0656] R^4 和 R^5 与它们连接的氮一起形成杂环基；

[0657] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体；(或其药物组合物或药物)；

[0658] 用于治疗或预防肝癌；

[0659] 条件是，排除以下化合物：

[0660] 6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮；

[0661] 6-氨基-9-苄基-7-(哌啶-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0662] 6-氨基-9-苄基-7-(吗啉-4-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0663] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二甲基吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0664] 1-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]吡咯烷-2-甲酸乙酯；

[0665] 6-氨基-7-(2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0666] 6-氨基-9-苄基-7-(2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷-6-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0667] 6-氨基-9-苄基-7-(3,3-二氟代吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0668] 6-氨基-9-苄基-7-(3-氟代-3-甲基-吡咯烷-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮；

[0669] 及其对映异构体或非对映异构体。

[0670] 2. 根据实施方案1所述的供使用的化合物，其中

[0671] R^1 是 C_{1-6} 烷基；

[0672] R^2 是苄基，所述苄基未被取代或被卤素或 C_{1-6} 烷基取代；

- [0673] R³是氮杂环丁烷基;
- [0674] 被C₁₋₆烷基取代的哌嗪基;
- [0675] 被哌啶基取代的哌啶基;
- [0676] 吡咯烷基;或
- [0677] -NR⁴R⁵,其中
- [0678] R⁴是C₁₋₆烷基或C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基;
- [0679] R⁵是(C₁₋₆烷基)₂NCOC(C₁₋₆烷基)、C₁₋₆烷氧基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基(C₁₋₆烷基)氨基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基(苯基)C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基羰基氧基C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷基羰基(C₁₋₆烷基)氨基C₁₋₆烷基或吡咯烷基氨基甲酰氧基C₁₋₆烷基。
- [0680] 3. 根据实施方案1或2所述的供使用的化合物,其中
- [0681] R¹是乙基或丙基;
- [0682] R²是苄基、溴苄基、氯苄基、氟苄基或甲基苄基;
- [0683] R³是氮杂环丁烷基;
- [0684] 4-甲基哌嗪基;
- [0685] 哌啶基哌啶基;
- [0686] 吡咯烷基;或者
- [0687] -NR⁴R⁵,其中
- [0688] R⁴是甲基、乙基、丙基或甲氧基乙基;
- [0689] R⁵是乙酰基(甲基)氨基乙基、丁基、丁基(甲基)氨基甲酰氧基乙基、二乙基氨基甲酰氧基乙基、乙氧基羰基(甲基)氨基乙基、乙氧基羰基乙基、乙氧基羰基异丁基、乙氧基羰基异戊基、乙氧基羰基甲基、乙氧基羰基氧基乙基、乙氧基羰基(苯基)乙基、乙基、异丁基、异丙氧基羰基异戊基、异丙氧基羰基(苯基)乙基、异丙基、甲氧基羰基(甲基)氨基乙基、甲氧基乙基、甲氧基丙基、丙基、丙基(甲基)氨基甲酰氧基乙基、吡咯烷基氨基甲酰氧基乙基、叔丁氧基羰基(甲基)氨基乙基、叔丁氧基羰基乙基、叔丁氧基羰基异戊基或叔丁氧基羰基(苯基)乙基。
- [0690] 4. 根据实施方案3所述的供使用的化合物,其中R³是氮杂环丁烷基、4-甲基哌嗪基、哌啶基哌啶基、吡咯烷基、乙酰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、双(甲氧基乙基)氨基、丁基(乙基)氨基、丁基(甲基)氨基、丁基(甲基)氨基甲酰氧基乙基(甲基)氨基、二乙基氨基甲酰氧基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基异丁基(甲基)氨基、乙氧基羰基异戊基(甲基)氨基、乙氧基羰基甲基(甲基)氨基、乙氧基羰基氧基乙基(甲基)氨基、乙氧基羰基(苯基)乙基(甲基)氨基、乙基(甲基)氨基、异丁基(甲基)氨基、异丙氧基羰基异戊基(甲基)氨基、异丙氧基羰基(苯基)乙基(甲基)氨基、异丙基(甲基)氨基、甲氧基羰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、甲氧基乙基(乙基)氨基、甲氧基乙基(甲基)氨基、甲氧基乙基(丙基)氨基、甲氧基丙基(甲基)氨基、丙基(乙基)氨基、丙基(甲基)氨基、丙基(甲基)氨基甲酰氧基乙基(甲基)氨基、吡咯烷基氨基甲酰氧基乙基(甲基)氨基、叔丁氧基羰基(甲基)氨基乙基(甲基)氨基、叔丁氧基羰基乙基(甲基)氨基、叔丁氧基羰基异戊基(甲基)氨基或叔丁氧基羰基(苯基)乙基(甲基)氨基。
- [0691] 5. 根据实施方案1至4中任一项所述的供使用的化合物,其中R¹是乙基。
- [0692] 6. 根据实施方案1或2所述的供使用的化合物,其中R²是被卤素或C₁₋₆烷基取代的

苄基。

[0693] 7. 根据实施方案2至6中任一项所述的供使用的化合物,其中R²是溴苄基、氯苄基、氟苄基或甲基苄基。

[0694] 8. 根据实施方案7所述的供使用的化合物,其中R²是溴苄基、氯苄基或氟苄基。

[0695] 9. 根据实施方案1或2所述的供使用的化合物,其中R³是-NR⁴R⁵,其中R⁴是C₁₋₆烷基, R⁵是C₁₋₆烷基。

[0696] 10. 根据实施方案9所述的供使用的化合物,其中R³是丙基(甲基)氨基或乙基(甲基)氨基。

[0697] 11. 根据实施方案1、2、6和9中任一项所述的供使用的化合物,其中

[0698] R¹是C₁₋₆烷基;

[0699] R²是苄基,所述苄基被卤素或C₁₋₆烷基取代;

[0700] R³是-NR⁴R⁵,其中R⁴是C₁₋₆烷基,R⁵是C₁₋₆烷基。

[0701] 12. 根据实施方案11所述的供使用的化合物,其中

[0702] R¹是乙基;

[0703] R²是甲基苄基、溴苄基、氯苄基或氟苄基;

[0704] R³是丙基(甲基)氨基或乙基(甲基)氨基。

[0705] 13. 一种用于治疗或预防肝癌的化合物,选自以下化合物:

[0706] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0707] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0708] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0709] 6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0710] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0711] 6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0712] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0713] 6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0714] 6-氨基-7-(氮杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0715] 6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0716] 6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮;

[0717] 6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0718] 6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;

[0719] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯;

[0720] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙

酸乙酯；

[0721] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯；

[0722] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯；

[0723] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯；

[0724] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯；

[0725] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯；

[0726] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸乙酯；

[0727] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸乙酯；

[0728] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸异丙酯；

[0729] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苄基-丙酸叔丁酯；

[0730] N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺；

[0731] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯；

[0732] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯；

[0733] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯；

[0734] 2-[[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯；

[0735] 2-[[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-甲酸酯；

[0736] 2-[[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯；

[0737] 2-[[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯；

[0738] 2-[[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基乙基碳酸酯；

[0739] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苄基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺；

- [0740] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺;
- [0741] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0742] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0743] 6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0744] 6-氨基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;
- [0745] 6-氨基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮;
- [0746] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0747] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0748] 6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0749] 6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0750] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0751] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0752] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0753] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0754] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(p-甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0755] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(p-甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0756] 6-氨基-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(p-甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0757] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(p-甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺;
- [0758] 6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺;
- [0759] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙

基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0760] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0761] 6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0762] 6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0763] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0764] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0765] 6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺；

[0766] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0767] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；和

[0768] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0769] 14. 根据实施方案13所述的化合物,选自:

[0770] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0771] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0772] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0773] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；和

[0774] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺；

[0775] 或其药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体。

[0776] 14. 根据实施方案13所述的供使用的化合物,其中所述化合物是6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0777] 16. 根据实施方案1至15中任一项所述的供使用的化合物或药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,其中所述肝癌是肝细胞癌、肝细胞瘤、胆管癌、肝母细胞瘤、肝肿瘤、肝血管瘤或转移性肝癌。

[0778] 17. 根据实施方案1至15中任一项所述的供使用的化合物或药学上可接受的盐、对映异构体或非对映异构体,其中所述肝癌是肝细胞癌。

[0779] 18. 一种药物组合物或药物,其包含根据实施方案1至15中任一项的化合物和治疗

惰性的载体,用于治疗或预防肝癌。

[0780] 19.根据实施方案1至14中任一项所述的化合物在制备用于治疗或预防肝癌的药物中的用途。

[0781] 20.一种用于治疗或预防肝癌的方法,所述方法包括施用治疗有效量的如实施方案1至15中任一项限定的化合物。

[0782] 21.根据实施方案1至15中任一项所限定的化合物,或包含这样的化合物的药物组合物或药剂,用于

[0783] a)与拮抗性PD1抗体或拮抗性PD-L1抗体组合治疗或预防肝癌,或者

[0784] b)与拮抗性PD1抗体或拮抗性PD-L1抗体组合治疗患有肝癌的患者。

[0785] 22.根据实施方案1至15中任一项所限定的化合物,或包含该化合物的药物组合物或药剂,

[0786] 用于治疗或预防肝癌,

[0787] 其中所述治疗与拮抗性PD1抗体或拮抗性PD-L1抗体组合。

[0788] 23.根据实施方案1至15中任一项所限定的化合物

[0789] 在制备用于治疗或预防肝癌的药物中的用途;

[0790] 其中所述治疗与拮抗性PD1抗体或拮抗性PD-L1抗体组合。

[0791] 24.根据实施方案21至23中任一项所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述治疗与拮抗性PD1抗体组合。

[0792] 25.根据实施方案24所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述拮抗性PD1抗体是纳武单抗或派姆单抗。

[0793] 26.根据实施方案24所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述化合物是6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0794] 27.根据实施方案23所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述拮抗性PD1抗体包含具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变域VH和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变域VL。

[0795] 28.根据实施方案27所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述化合物是6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0796] 29.根据实施方案21至23中任一项所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述治疗与拮抗性PD-L1抗体组合。

[0797] 30.根据实施方案29所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述组合疗法中使用的拮抗性PD-L1抗体是阿特殊单抗或度伐单抗或阿维鲁单抗(在一个优选的实施方案中是阿特殊单抗)。

[0798] 31.根据实施方案30所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述化合物是6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0799] 32.根据实施方案21至31中任一项所述的化合物、组合物、药物或用途,其中在所述组合疗法中使用另外的抗血管生成剂。

[0800] 33. 根据实施方案21至31中任一项所述的化合物、组合物、药物或用途,其中另外的抗血管生成剂选自索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗(在一个优选的实施方案中,所述抗血管生成剂为索拉非尼;在一个优选的实施方案中,所述抗血管生成剂是贝伐单抗),用于组合治疗。

[0801] 34. 根据实施方案1至15中任一项所限定的化合物,或包含这种化合物的药物组合物或药物,用于

[0802] a) 与抗血管生成剂组合治疗或预防肝癌,

[0803] 或者

[0804] b) 与抗血管生成剂组合治疗患有肝癌的患者。

[0805] 35. 根据实施方案1至15中任一项所限定的化合物,或包含该化合物的药物组合物或药物,用于治疗或预防肝癌;

[0806] 其中所述治疗与抗血管生成剂组合。

[0807] 36. 根据实施方案1至15中任一项所限定的化合物在制备用于治疗或预防肝癌的药物中的用途;

[0808] 其中所述治疗与抗血管生成剂组合。

[0809] 37. 根据实施方案34至36中任一项所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述抗血管生成剂选自索拉非尼、瑞戈非尼、舒尼替尼或贝伐单抗(在一个优选的实施方案中,所述抗血管生成剂是索拉非尼;在一个优选的实施方案中,所述抗血管生成剂是贝伐单抗)。

[0810] 38. 根据实施方案37所述的化合物、组合物、药物或用途,其中所述化合物是6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺。

[0811] 39. 如上文所述的本发明。

[0812] 氨基酸序列的描述

[0813] SEQ ID NO:1抗PD1抗体纳武单抗的重链可变结构域

[0814] SEQ ID NO:2抗PD1抗体纳武单抗的轻链可变结构域

[0815] SEQ ID NO:3抗PD1抗体派姆单抗的重链可变结构域

[0816] SEQ ID NO:4抗PD1抗体派姆单抗的轻链可变结构域

[0817] SEQ ID NO:5抗PD1抗体PD1-0103-0312的重链可变结构域

[0818] SEQ ID NO:6抗PD1抗体PD1-0103-0312的轻链可变结构域

[0819] SEQ ID NO:7抗PD-L1抗体阿特珠单抗的重链可变结构域

[0820] SEQ ID NO:8抗PD-L1抗体阿特珠单抗的轻链可变结构域

[0821] SEQ ID NO:9抗PD-L1抗体度伐单抗的重链可变结构域

[0822] SEQ ID NO:10抗PD-L1抗体度伐单抗的轻链可变结构域

[0823] SEQ ID NO:11抗PD-L1抗体阿维鲁单抗的重链可变结构域

[0824] SEQ ID NO:12抗PD-L1抗体阿维鲁单抗的轻链可变结构域

[0825] SEQ ID NO:13示例性人PD-L1

[0826] SEQ ID NO:14示例性人PD1

[0827] SEQ ID NO:15人κ轻链恒定区

[0828] SEQ ID NO:16源自IgG1的人重链恒定区

[0829] SEQ ID NO:17源自在L234A、L235A、P329G上突变的IgG1的人重链恒定区。

附图说明

[0830] 图1:本发明化合物的前药形式(化合物41-A)和索拉非尼的组合在肝细胞癌的iAST小鼠模型中导致两只无肿瘤的小鼠。图1A:化合物41-A和索拉非尼对肿瘤负荷的协同作用(无肿瘤小鼠),图1B:治疗后组合的肝脏和肿瘤的重量。

[0831] 图2:在肝细胞癌的iAST小鼠模型中,用本发明化合物的前药形式(化合物41-A)的治疗诱导PD-L1在肿瘤细胞上的表达。图2A:CD45+总免疫细胞浸润,图2B:CD45-上的PD-L1,图2C:CD11b-淋巴样细胞,图2D:CD11b+髓样细胞

[0832] 图3:本发明化合物的前药形式(化合物41-A)、索拉非尼和抗PD-1的三联组合导致中位生存期增加。

[0833] 图4:用本发明化合物的前药形式(化合物41-A)治疗在肝细胞癌的移植的Hep55.1c小鼠模型中导致肿瘤停滞。

[0834] 图5A:本发明化合物的前药形式(化合物41-A)和抗PD-1抗体的组合在肝细胞癌的Hep55.1c小鼠模型中产生存活益处。

[0835] 图5B:化合物42-A(6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺)单独或与抗PD-1组合在肝细胞癌中的体内功效。

[0836] 图6:用本发明化合物的活性形式治疗不会在源自肝细胞癌和胆管癌的细胞系中诱导增强的肿瘤细胞增殖。图6A:化合物41c-B,图6B:化合物41c-A。

[0837] 图7:7A和7B:用本发明化合物的活性形式(化合物41c-B)治疗后在外周血中释放的因子抑制肿瘤细胞系的增殖。图7A:细胞系Hep3B、SNU449、HLF、JHH2、Huh7、OZ、JHH1、HepG2,图7B:细胞系JHH4、HLE、JHH6、JHH5、SkHep1、EG11,图7C:用本发明化合物的活性形式(化合物41c-A)治疗后在外周血中释放的因子抑制肿瘤细胞系的增殖。

[0838] 图8:实施例41-B的单晶X射线衍射。

[0839] 图9:实施例42-A的单晶X射线衍射。

[0840] 图10:实施例43-B的单晶X射线衍射。

[0841] 实施例

[0842] 将通过参考以下实施例更充分地理解本发明。然而,它们不应被解释为限制本发明的范围。

[0843] 缩写

[0844] aq. 含水的

[0845] BSA N,0-双(三甲基甲硅烷基)乙酰胺

[0846] CDI: N,N'-羰基二咪唑

[0847] DIEPA: N,N-二乙基丙胺

[0848] DBU: 1,8-二氮杂双环十一-7-烯

[0849] DPPA: 二苯基磷酰基叠氮化物

[0850] EC₅₀: 激动剂的摩尔浓度,其产生该激动剂最大可能反应的50%。

[0851] EDC: N1-((乙基亚氨基)亚甲基)-N3,N3-二甲基丙烷-1,3-二胺

- [0852] EtOAc或EA: 乙酸乙酯
- [0853] HATU: 六氟磷酸(1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物)
- [0854] hr(s): 小时
- [0855] HPLC: 高效液相色谱法
- [0856] HOBt: N-羟基苯并三氮唑
- [0857] MS(ESI): 质谱色谱法(电喷雾电离)
- [0858] m-CPBA: 3-氯过氧苯甲酸
- [0859] MTEB: 甲基叔丁基醚
- [0860] NMP: N-甲基吡咯烷酮
- [0861] obsd. 观察到
- [0862] PE: 石油醚
- [0863] PMB: p-甲氧基苄基
- [0864] PPA: 多聚磷酸
- [0865] QOD 每隔一天
- [0866] QW 一周一次
- [0867] RT或rt: 室温
- [0868] sat. 饱和的
- [0869] TFA: 三氟乙酸
- [0870] TEA: 三乙胺
- [0871] V/V 体积比

[0872] 通用实验条件

[0873] 使用以下仪器之一通过快速色谱法纯化中间体和最终化合物:i) Biotage SP1系统和Quad 12/25Cartridge模组,ii) ISCOcombi-flash色谱仪。硅胶品牌和孔径:i) KP-SIL 60Å, 粒径:40-60µm;ii) CAS登记号:硅胶:63231-67-4, 粒径:47-60微米硅胶;iii) 青岛海洋化学有限公司的ZCX, 孔:200-300或300-400。

[0874] 在使用X Bridge™ Perp C18 (5µm, OBDTM 30×100mm) 色谱柱或SunFire™ Perp C18 (5µm, OBDTM 30×100mm) 色谱柱的反相色谱柱上通过制备型HPLC纯化中间体和最终化合物。

[0875] 使用Waters UPLC-SQD Mass获得LC/MS光谱。标准LC/MS条件如下(运行时间3分钟):

[0876] 酸性条件:A: 于H₂O中的0.1%甲酸和1%乙腈;B: 于乙腈中的0.1%甲酸;

[0877] 碱性条件:A: 于H₂O中的0.05%NH₃·H₂O;B: 乙腈。

[0878] 质谱(MS): 通常只报告指示母体质量的离子, 除非另有说明, 否则所引用的质量离子为正质量离子(M+H)⁺。

[0879] 使用Bruker Avance 400MHz获得NMR光谱。

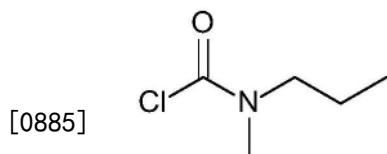
[0880] 所有涉及对空气敏感试剂的反应均在氩气气氛下进行。除非另有说明, 否则试剂按购自商业供应商的原样使用, 不经进一步纯化。

[0881] 制备实施例

[0882] 中间体的制备

[0883] 中间体AA

[0884] N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯

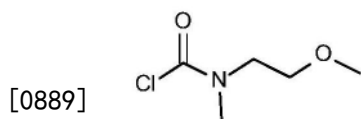


AA

[0886] 在0℃下,向N-甲基丙烷-1-胺(5g,68.4mmol)和碳酸氢钠(11.5g,137mmol)于DCM(70mL)中的混合物中逐滴加入双(三氯甲基)碳酸酯(8.11g,27.3mmol)于DCM(30mL)中的溶液。将混合物在室温下搅拌2小时并过滤。将滤液真空浓缩。所获得的N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(7.2g,中间体AA)无需进一步纯化即可用于下一步。

[0887] 中间体AB

[0888] N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-氨基甲酰氯

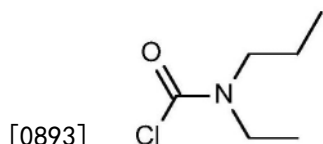


AB

[0890] 类似于中间体AA,通过使用2-甲氧基-N-甲基-乙胺代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AB。得到N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基氨基甲酰氯(8g,中间体AB),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0891] 中间体AC

[0892] N-乙基-N-丙基-氨基甲酰氯

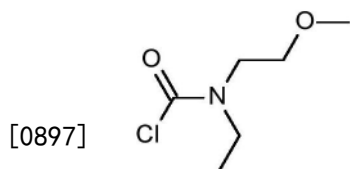


AC

[0894] 类似于中间体AA,通过使用N-乙基丙烷-1-胺代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AC。获得为黄色油的N-乙基-N-丙基-氨基甲酰氯(12.6g,中间体AC),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0895] 中间体AD

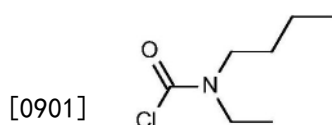
[0896] N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯

**AD**

[0898] 类似于中间体AA,通过使用N-乙基-2-甲氧基乙胺代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AD。获得为浅黄色油的粗制的N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯(2.5g,中间体AD),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0899] 中间体AE

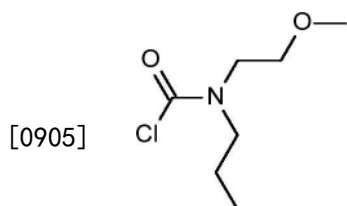
[0900] N-丁基-N-乙基氨基甲酰氯

**AE**

[0902] 类似于中间体AA,通过使用N-乙基丁烷-1-胺(5g)代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AE。获得为浅黄色油的粗制的N-丁基-N-乙基-氨基甲酰氯(6.3g,中间体AE),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0903] 中间体AF

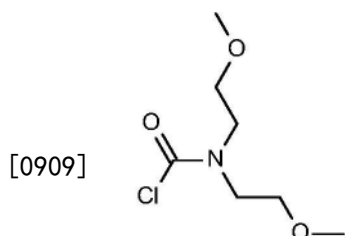
[0904] N-(2-甲氧基乙基)-N-丙基-氨基甲酰氯

**AF**

[0906] 类似于中间体AA,通过使用N-(2-甲氧基乙基)丙烷-1-胺(2g,17.1mmol)代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AF。获得为浅黄色油的粗制的N-(2-甲氧基乙基)-N-丙基-氨基甲酰氯(2.5g,中间体AF),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0907] 中间体AG

[0908] N,N-双(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯

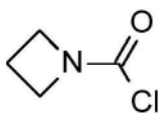
**AG**

[0910] 类似于中间体AA,通过使用双(2-甲氧基乙基)胺(2g,15mmol)代替N-甲基丙烷-1-

胺来制备中间体AG。获得为浅黄色油的粗产物N,N-双(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯(2.6g, 中间体AG), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0911] 中间体AH

[0912] 氮杂环丁烷-1-羰基氯



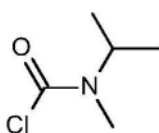
[0913]

AH

[0914] 类似于中间体AA, 通过使用盐酸氮杂环丁烷(10.7g, 107mmol) 和碳酸氢钠(3当量) 代替N-甲基丙烷-1-胺和碳酸氢钠(2当量) 来制备中间体AH。获得为浅黄色油的粗制的氮杂环丁烷-1-羰基氯(1.5g, 中间体AH), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0915] 中间体AI

[0916] N-异丙基-N-甲基-氨基甲酰氯



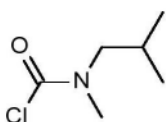
[0917]

AI

[0918] 类似于中间体AA, 通过使用N-甲基丙烷-2-胺(5g, 19.4mmol) 代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AI。获得为黄色油的粗制的N-异丙基-N-甲基-氨基甲酰氯(8.6g, 中间体AI), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0919] 中间体AL

[0920] N-异丁基-N-甲基-氨基甲酰氯



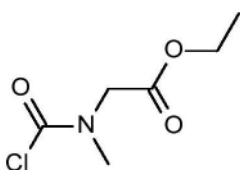
[0921]

AL

[0922] 类似于中间体AA, 通过使用N-2-二甲基丙烷-1-胺(4.8g) 代替N-甲基丙烷-1-胺来制备中间体AL。获得为浅黄色油的粗制的N-异丁基-N-甲基-氨基甲酰氯(8.1g, 中间体AL), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0923] 中间体AP

[0924] 2-[氯羰基(甲基)氨基]乙酸乙酯



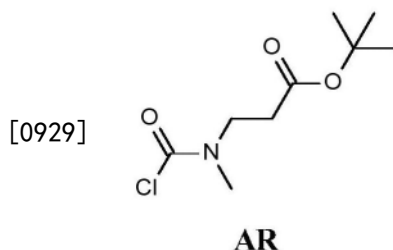
[0925]

AP

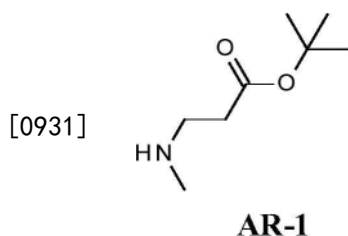
[0926] 在0℃下向三光气(728mg, 2.45mmol)于DCM(5mL)中的溶液中逐滴加入2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐(1.3g, 8.46mmol)和吡啶(1mL)于DCM(5mL)中的溶液。反应混合物变成橙色, 并出现黄色沉淀, 然后将其温热至室温。搅拌1小时后, 将HCl水溶液(0.1N, 25mL)加入到反应混合物中, 分离有机层, 用0.1N HCl(10mL)(两次)、盐水(10mL)洗涤, 经Na₂SO₄干燥并真空浓缩, 得到为浅黄色油的2-[氯羰基(甲基)氨基]乙酸乙酯粗产物(2.0g, 中间体AP), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0927] 中间体AR

[0928] 3-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸叔丁酯

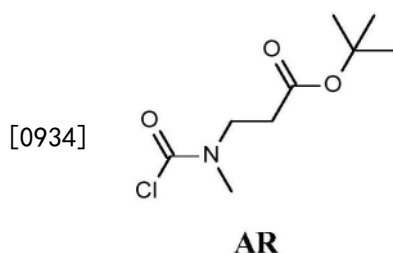


[0930] 步骤1: 制备3-(甲基氨基)丙酸叔丁酯(化合物AR-1)



[0932] 在-45℃下, 向丙烯酸叔丁酯(3g)于DMF(40mL)中的溶液中加入甲胺盐酸盐(4.74g, 70mmol)和DBU(21.4g, 140mmol)。然后将反应温度温热至-10℃。将反应混合物在相同温度下搅拌2.5小时。加入Et₂O(200mL), 并将所得混合物用盐水(50mL)洗涤四次。分离的有机层经Na₂SO₄干燥并真空浓缩, 得到为浅黄色油的3-(甲基氨基)丙酸叔丁酯(3.5g, 化合物AR-1)。

[0933] 步骤2: 制备3-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸叔丁酯(中间体AR)

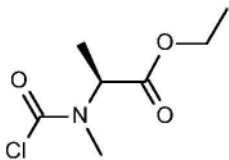


[0935] 类似于中间体AP, 通过使用3-(甲基氨基)丙酸叔丁酯(3.4g, 化合物AR-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AR。获得3-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸叔丁酯(3.5g, 中间体AR), 无需进一步纯化即可用于下一步。

[0936] 中间体AS

[0937] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸乙酯

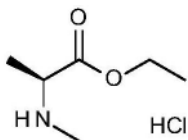
[0938]



AS

[0939] 步骤1:制备(2S)-2-(甲基氨基)丙酸乙酯盐酸盐(化合物AS-1)

[0940]

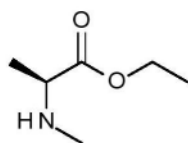


AS-1

[0941] 在0℃下于0.5小时内向(2S)-2-(甲基氨基)丙酸(1g,9.70mmol)于EtOH(10mL)中的溶液中逐滴加入SOCl₂(1.50g,12.61mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌15.5小时,然后用EA(20mL)稀释,用H₂O(5mL)和盐水(5mL)洗涤。有机层经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。获得为黄色油的(2S)-2-(甲基氨基)丙酸乙酯盐酸盐(1.8g,化合物AS-1),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0942] 步骤2:制备(2S)-2-(甲基氨基)丙酸乙酯(化合物AS-2)

[0943]

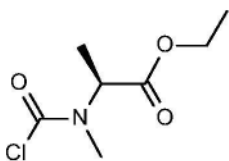


AS-2

[0944] 用10wt.%NaHCO₃水溶液将(2S)-2-(甲基氨基)丙酸乙酯盐酸盐(1.8g,化合物AS-1)于EA(10mL)中的溶液调节至pH=8。将反应混合物在室温下搅拌0.5小时。有机层用盐水(5mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。获得为黄色油的(2S)-2-(甲基氨基)丙酸乙酯(620mg,化合物AS-2),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0945] 步骤3:制备(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸乙酯(中间体AS)

[0946]



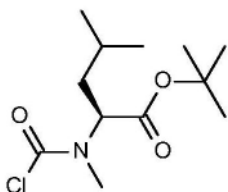
AS

[0947] 类似于中间体AP,通过使用(2S)-2-(甲基氨基)丙酸乙酯(260mg,化合物AS-2)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AS。获得为黄色油的粗制的(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸乙酯(200mg,中间体AS),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0948] 中间体AT

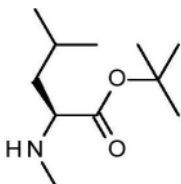
[0949] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯

[0950]

**AT**

[0951] 步骤1:制备(2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸叔丁酯(化合物AT-1)

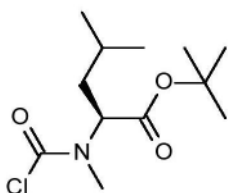
[0952]

**AT-1**

[0953] 在 -78°C 下将2-甲基丙烯(25g, 446mmol)鼓泡入DCM(50mL)中。然后在 0°C 下将2-甲基丙烯溶液加入到(S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸盐盐酸盐(500mg, 2.75mmol)和 H_2SO_4 (3.68g, 2mL, 37.5mmol)于二噁烷(20mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下在密封管中搅拌18小时。将反应溶液倒入冰冷的KOH水溶液(8.4g于水(30mL)中)中,所得混合物用DCM(50mL)萃取两次。合并的有机层用盐水(30mL)洗涤两次,经 Na_2SO_4 干燥并真空浓缩,得到为浅黄色油的(2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸叔丁酯(化合物AT-1)粗产物。

[0954] 步骤2:制备(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基戊酸叔丁酯(中间体AT)

[0955]

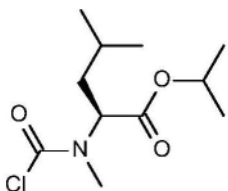
**AT**

[0956] 类似于中间体AP,通过使用(2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸叔丁酯(300mg, 化合物AT-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AT。获得为淡黄色油的粗制的(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯(350mg, 中间体AT),其无需进一步纯化即可用于下一步。

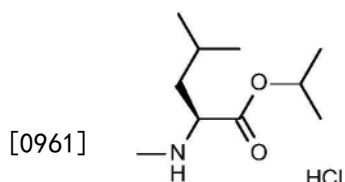
[0957] 中间体AU

[0958] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯

[0959]

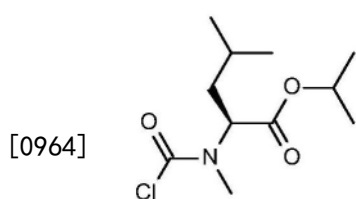
**AU**

[0960] 步骤1:制备(2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸异丙酯盐酸盐(化合物AU-1)

**AU-1**

[0962] 在室温下向 (S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸盐盐酸盐 (0.5g) 于 i-PrOH (7.8g, 10mL) 中的溶液中逐滴加入亚硫酸氯 (655mg, 402 μ L)。将所得混合物搅拌并回流16小时, 然后真空浓缩。将残余物用饱和NaHCO₃水溶液 (30mL) 碱化, 并用DCM (50mL) 萃取。有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。将残余物用HCl/EtOAc (10mL, 1mmol/mL) 盐化并浓缩, 得到为白色固体的 (2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸异丙酯盐酸盐 (510mg, 化合物AU-1)。

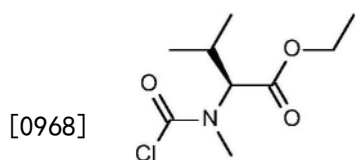
[0963] 步骤2: 制备 (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基戊酸异丙酯 (中间体AU)

**AU**

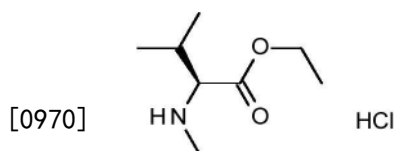
[0965] 类似于中间体AP, 通过使用 (2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸异丙酯盐酸盐 (500mg, 化合物AU-1) 代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AU。获得为浅黄色油的粗制的 (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯 (650mg, 中间体AU), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0966] 中间体AV

[0967] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-甲基-丁酸乙酯

**AV**

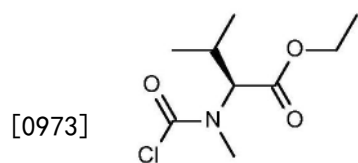
[0969] 步骤1: 制备 (2S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酸乙酯盐酸盐 (化合物AV-1)

**AV-1**

[0971] 在室温下, 向 (2S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酸 (1.0g, 7.6mmol) 于EtOH (10mL) 中的溶液中逐滴加入亚硫酸氯 (2.45g, 21mmol)。将所得混合物搅拌并回流16小时, 然后真空浓缩。将残余物用饱和NaHCO₃水溶液 (30mL) 碱化, 并用DCM (50mL) 萃取两次。合并的有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。将残余物溶于HCl/EtOAc (10mL, 1M) 中并浓缩, 得到为

白色固体的 (2S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酸乙酯盐酸盐 (1.9g, 化合物AV-1)。

[0972] 步骤2: (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-甲基-丁酸乙酯的制备(中间体AV)

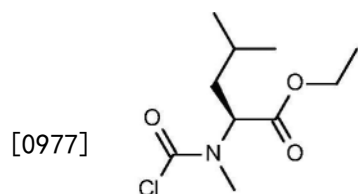


AV

[0974] 类似于中间体AP, 通过使用 (2S)-3-甲基-2-(甲基氨基)丁酸乙酯盐酸盐 (500mg, 化合物AV-1) 代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AV。获得为浅黄色油的粗制的 (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-甲基-丁酸乙酯 (600mg, 中间体AV), 其无需进一步纯化即可用于下一步。

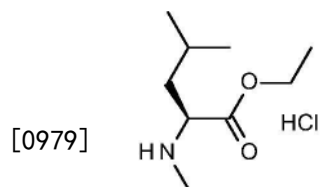
[0975] 中间体AW

[0976] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸乙酯



AW

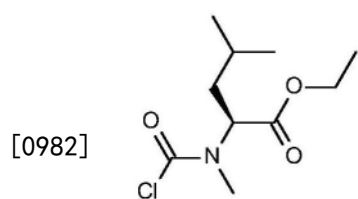
[0978] 步骤1: 制备 (2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸乙酯盐酸盐 (化合物AW-1)



AW-1

[0980] 在室温下向 (2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸 (1g, 6.9mmol) 于EtOH (10mL) 中的溶液中逐滴加入亚硫酸氯 (1.07g, 8.3mmol)。将所得混合物在回流下搅拌16小时, 然后真空浓缩。将残余物用饱和NaHCO₃水溶液 (30mL) 碱化, 并用DCM (50mL) 萃取。有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。将残余物用HCl/EtOAc (10mL, 1mmol/mL) 盐化, 浓缩, 得到为白色固体的 (2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸乙酯盐酸盐 (1.8g, 化合物AW-1)。

[0981] 步骤2: 制备 (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸乙酯 (中间体AW)



AW

[0983] 类似于中间体AP, 通过使用 (2S)-4-甲基-2-(甲基氨基)戊酸乙酯盐酸盐 (610mg,

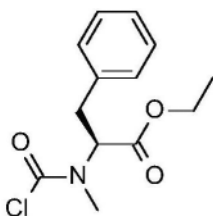
AW-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AW。得到为浅黄色油的粗制的(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸乙酯(280mg,中间体AW),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0984] 中间体AX

[0985] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸乙酯

手性的

[0986]



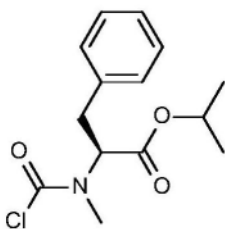
AX

[0987] 类似于中间体AP,通过使用(S)-乙基-2-(甲基氨基)-3-苯基丙酸酯代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐制备中间体AX。获得为浅黄色油的粗制的(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸乙酯(200mg,中间体AX),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0988] 中间体AY

[0989] (2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯

[0990]



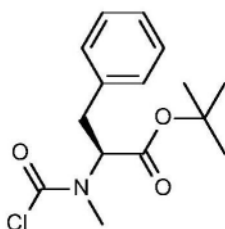
AY

[0991] 类似于中间体AP,通过使用(2S)-2-(甲基氨基)-3-苯基-丙酸异丙酯(190mg)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体AY。得到为浅棕色油的粗制的(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯(220mg,中间体AY),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[0992] 中间体AZ

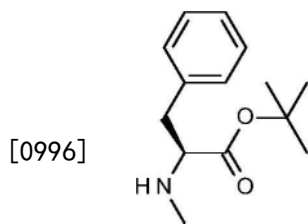
[0993] (S)-2-((氯羰基)(甲基)氨基)-3-苯基丙酸叔丁酯

[0994]



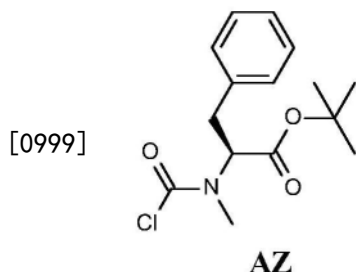
AZ

[0995] 步骤1:制备(2S)-2-(甲基氨基)-3-苯基-丙酸叔丁酯(化合物AZ-1)

**AZ-1**

[0997] 在-78℃下将2-甲基丙烯(25g,446mmol)鼓泡入DCM(50mL)中。然后在0℃下将2-甲基丙烯溶液添加到(S)-2-(甲基氨基)-3-苯基丙酸(500mg)和H₂SO₄(3.68g,2mL)于二噁烷(20mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下在密封管中搅拌18小时。将反应混合物倒入冰冷的KOH水溶液(8.4g于水(30mL)中)中,所得混合物用DCM(50mL)萃取两次。有机层用盐水(30mL)洗涤2次,经Na₂SO₄干燥并真空浓缩,得到为浅黄色油的(2S)-2-(甲基氨基)-3-苯基丙酸叔丁酯(710mg,化合物AZ-1)。

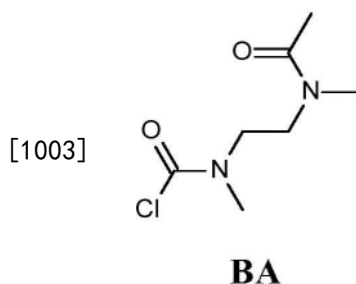
[0998] 步骤2:制备(S)-2-((氯羰基)(甲基)氨基)-3-苯基丙酸叔丁酯(中间体AZ)



[1000] 类似于中间体AP,通过使用(2S)-2-(甲基氨基)-3-苯基-丙酸叔丁酯(化合物AZ-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐制备中间体AZ。获得为浅黄色油的粗制的(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸叔丁酯(360mg,中间体AZ),其无需进一步纯化即可用于下一步。

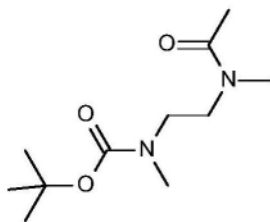
[1001] 中间体BA

[1002] N-[2-[乙酰(甲基)氨基]乙基]-N-甲基氨基甲酰氯



[1004] 步骤1:制备N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(化合物BA-1)

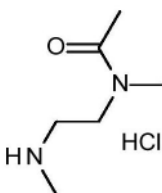
[1005]

**BA-1**

[1006] 在0℃下,向甲基(2-(甲基氨基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.13g,6mmol)于吡啶(10mL)中的溶液中逐滴加入乙酸酐(3.06g,30mmol)。然后将溶液在室温下搅拌0.5小时。真空除去溶剂,并将残余物在EtOAc(50mL)和饱和NaHCO₃水溶液(25mL)之间分配。分离有机层,用盐水(20mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并真空浓缩,得到为黄色油的N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1.28g,化合物BA-1)。

[1007] 步骤2:制备N-甲基-N-(2-(甲基氨基)乙基)乙酰胺盐酸盐(化合物BA-2)

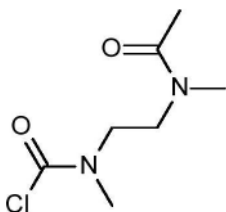
[1008]

**BA-2**

[1009] 将N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1.1g,化合物BA-1)于HCl/EtOAc(10mL,1N HCl于EtOAc中)中的混合物在室温下搅拌2小时,然后将混合物过滤。将收集到的固体用EtOAc(5mL)洗涤三次,并真空干燥,得到为白色固体的粗制的N-甲基-N-(2-(甲基氨基)乙基)乙酰胺盐酸盐(460mg,化合物BA-2)。

[1010] 步骤3:制备N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酰氯(中间体BA)

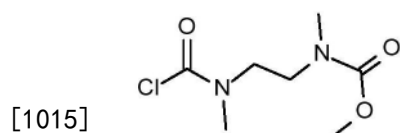
[1011]

**BA**

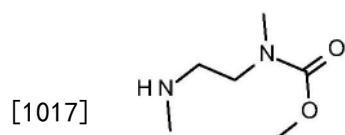
[1012] 类似于中间体AP,通过使用N-甲基-N-(2-(甲基氨基)乙基)乙酰胺盐酸盐(200mg,化合物BA-2)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BA。获得粗制的N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酰氯(300mg,中间体BA),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[1013] 中间体BB

[1014] N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯

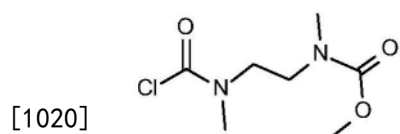
**BB**

[1016] 步骤1:制备N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸甲酯(化合物BB-1)

**BB-1**

[1018] 在-70℃下于1小时内向N,N'-二甲基乙烷-1,2-二胺(10g)于THF(40mL)中的溶液中逐滴加入氯甲酸甲酯(1.92g)。将混合物在25℃下搅拌15小时,然后过滤并用水和盐水洗涤。将有机层干燥并浓缩,得到黄色残余物,将其通过柱色谱法纯化,得到为无色油的N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸甲酯(2g,化合物BB-1)。

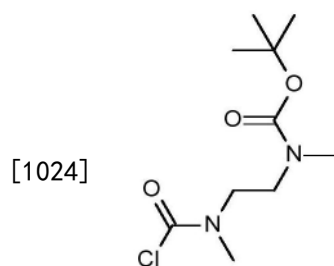
[1019] 步骤2:制备N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯(中间体BB)

**BB**

[1021] 类似于中间体AP,通过使用N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸甲酯(2.0g,化合物BB-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BB。获得粗制的N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯(2.2g,中间体BB),其无需进一步纯化即可用于下一步。

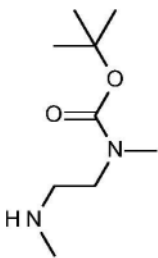
[1022] 中间体BC

[1023] N-[2-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯

**BC**

[1025] 步骤1:制备N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(化合物BC-1)

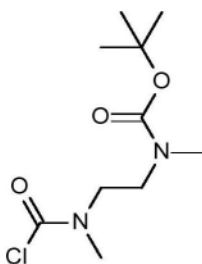
[1026]

**BC-1**

[1027] 在0℃下于1小时内向N,N'-二甲基乙烷-1,2-二胺(40.4g)于DCM(300mL)中的溶液中逐滴加入Boc₂O(10g,10.6mL,45.8mmol)于DCM(100mL)中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌18小时。有机层用饱和NaHCO₃水溶液(50mL)、盐水(50mL)洗涤,经Na₂SO₄干燥并真空浓缩。将残余物通过柱色谱法纯化,得到为黄色油的N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(6.8g,化合物BC-1)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δppm:3.34(br.s.,2H),2.89(s,3H),2.74(t,J=6.7Hz,2H),2.46(s,3H),1.47(s,9H)。

[1028] 步骤2:制备N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(中间体BC)

[1029]

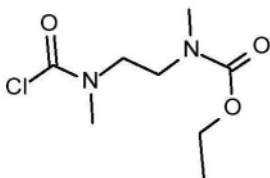
**BC**

[1030] 类似于中间体AP,通过使用N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸叔丁酯(1.15g,化合物BC-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BC。获得粗制的N-[2-[氯代羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1.3g,中间体BC),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[1031] 中间体BD

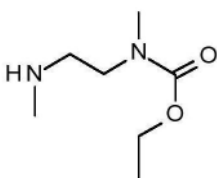
[1032] N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯

[1033]

**BD**

[1034] 步骤1:制备N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸乙酯(化合物BD-1)

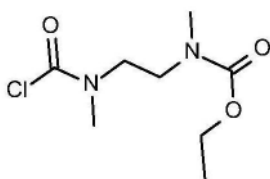
[1035]

**BD-1**

[1036] 在-70℃下于1小时内向N,N'-二甲基乙烷-1,2-二胺(10g)于DCM(40mL)中的溶液中逐滴加入氯甲酸乙酯(2.58g)。将反应混合物在25℃下搅拌15小时,然后过滤并用水和盐水洗涤。将有机层干燥并真空浓缩。黄色残余物通过柱色谱法纯化,得到为无色油的N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸乙酯(2g,化合物BD-1)。

[1037] 步骤2:制备N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯(中间体BD)

[1038]

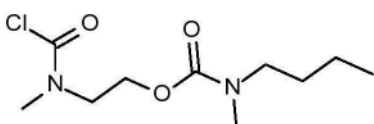
**BD**

[1039] 类似于中间体AA,通过使用N-甲基-N-[2-(甲基氨基)乙基]氨基甲酸乙酯(化合物BD-1)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BD。获得粗制的N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯(2.2g,中间体BD),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[1040] 中间体BE

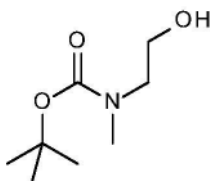
[1041] 2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯

[1042]

**BE**

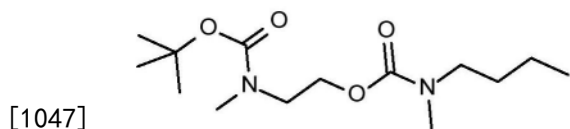
[1043] 步骤1:制备N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(化合物BE-1)

[1044]

**BE-1**

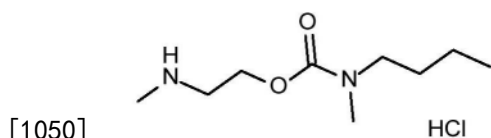
[1045] 在25℃下向2-(甲基氨基)乙醇(10g,133.14mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入Boc₂O(34.87g,159.77mmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时,然后浓缩。将残留物通过柱色谱法纯化,得到为无色油的N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(20g,化合物BE-1)。

[1046] 步骤2:制备2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯(化合物BE-2)

**BE-2**

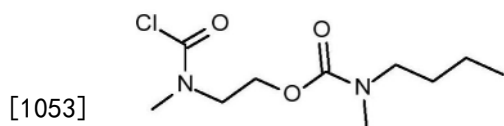
[1048] 在-10℃下于1小时内向N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(880mg,化合物BE-1)和Et₃N(1g,10.08mmol)于DCM(10mL)中的溶液中逐滴加入N-丁基-N-甲基-氨基甲酰氯(903mg,7.04mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌15小时,然后过滤并用水和盐水洗涤。将有机层干燥并浓缩,得到为无色油的2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基N-丁基-N-甲基氨基甲酸酯(2g,化合物BE-2)。

[1049] 步骤3:制备2-(甲基氨基)乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯盐酸盐(化合物BE-3)

**BE-3**

[1051] 向2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯(1g,化合物BE-2)的溶液中加入HCl/EA(40mL,1M)。将反应混合物在0℃下搅拌0.5小时并温热至25℃并再搅拌15.5小时。将反应混合物浓缩,得到为无色油的2-(甲基氨基)乙基-N-丁基-N-甲基氨基甲酸酯盐酸盐(400mg,化合物BE-3)。

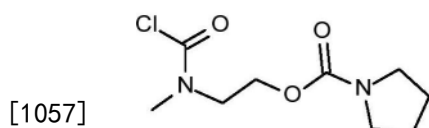
[1052] 步骤4:制备2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯(中间体BE)

**BE**

[1054] 类似于中间体AP,通过使用2-(甲基氨基)乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯盐酸盐(374mg,化合物BE-3)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BE。获得粗制的2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯(330mg,中间体BE),其无需进一步纯化即可用于下一步。

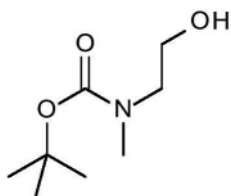
[1055] 中间体BF

[1056] 2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基吡咯烷-1-甲酸酯

**BF**

[1058] 步骤1:制备N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(化合物BF-1)

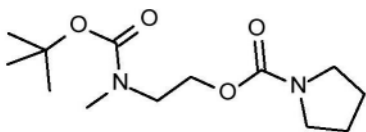
[1059]

**BF-1**

[1060] 在25℃下向2-(甲基氨基)乙醇(10g,133.14mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入Boc₂O(34.87g,159.77mmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时。将反应混合物浓缩,得到残余物,将其通过柱色谱纯化,得到为无色油的N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(20g,化合物BF-1)。

[1061] 步骤2:制备2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(化合物BF-2)

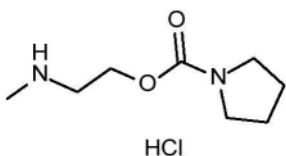
[1062]

**BF-2**

[1063] 在0℃下于0.5小时内向N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(300mg,1.71mmol,化合物BF-1)和Et₃N(578mg,5.71mmol)于DCM(5mL)中的溶液中逐滴加入吡咯烷-1-羰基氯(458mg,3.4mmol),然后在25℃下搅拌15.5小时。过滤后,将滤液用水和盐水洗涤。将有机层干燥并浓缩,得到为无色油的2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(335mg,化合物BF-2)。

[1064] 步骤3:制备2-(甲基氨基)乙基吡咯烷-1-羧酸酯盐酸盐(化合物BF-3)

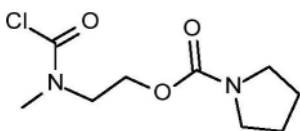
[1065]

**BF-3**

[1066] 将2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(335mg,化合物BF-2)加入到EA中的HCl(12.3mL,1M)中,将混合物在0℃下搅拌0.5小时,然后再在25℃下搅拌15.5小时。将反应混合物浓缩,得到为无色油的2-(甲基氨基)乙基吡咯烷-1-羧酸盐酸盐(300mg,化合物BF-3)。

[1067] 步骤4:制备2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(中间体BF)

[1068]

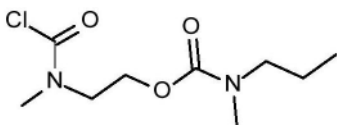
**BF**

[1069] 类似于中间体AP,通过使用2-(甲基氨基)乙基吡咯烷-1-羧酸盐酸盐(299mg,化合物BF-3)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BF。获得粗制的2-[氯羰基(甲基)

氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(230mg,中间体BF),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[1070] 中间体BG

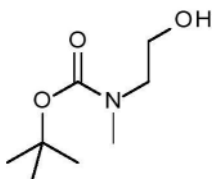
[1071] 2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯



[1072]

BG

[1073] 步骤1:制备N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(化合物BG-1)

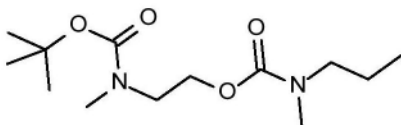


[1074]

BG-1

[1075] 在25℃下向2-(甲基氨基)乙醇(10g,133.14mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入Boc₂O(34.87g,159.77mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时,然后浓缩,得到残余物,将残余物通过柱色谱法纯化,得到为无色油的N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(20g,化合物BG-1)。

[1076] 步骤2:制备N-甲基-N-[2-[甲基(丙基)氨基甲酰基]氧乙基]氨基甲酸叔丁酯(化合物BG-2)

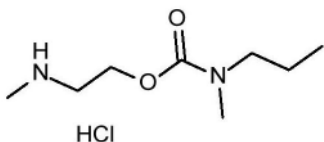


[1077]

BG-2

[1078] 在0℃下于0.5小时内向N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(265mg,化合物BG-1)和Et₃N(1mL,5.71mmol)于DCM(5mL)中的溶液中逐滴加入N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(410mg,1.83mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌15.5小时,然后过滤,并用水和盐水洗涤滤液。将有机层干燥并浓缩,得到为无色油的N-甲基-N-[2-[甲基(丙基)氨基甲酰基]氧乙基]氨基甲酸叔丁酯(380mg,化合物BG-2)。

[1079] 步骤3:制备2-(甲基氨基)乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯盐酸盐(化合物BG-3)



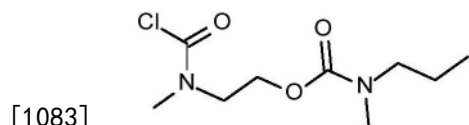
[1080]

BG-3

[1081] 将N-甲基-N-[2-[甲基(丙基)氨基甲酰基]氧乙基]氨基甲酸叔丁酯(380mg,化合物BG-2)加入到于EA中的HCl(13.7mL,1M)中。将混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后将混合

物在25℃下再搅拌15.5小时,浓缩,得到为无色油的2-(甲基氨基)乙基-N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯盐酸盐(300mg,化合物BG-3)。

[1082] 步骤4:制备2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基-N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯(中间体BG)

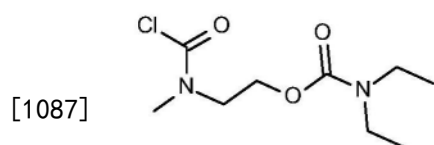


BG

[1084] 类似于中间体AP,通过使用2-(甲基氨基)乙基-N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯盐酸盐(330mg,化合物BG-3)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BG。得到2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基-N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯(300mg,中间体BG),其无需进一步纯化即可用于下一步。

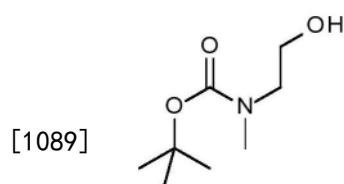
[1085] 中间体BH

[1086] 2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯



BH

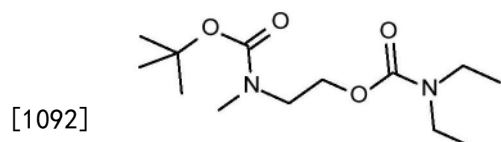
[1088] 步骤1:制备N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(化合物BH-1)



BH-1

[1090] 在25℃下向2-(甲基氨基)乙醇(10g,133.14mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入Boc₂O(34.87g,159.77mmol)。将混合物在25℃下搅拌16小时,然后浓缩,残余物通过柱色谱法纯化,得到为无色油的N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(20g,化合物BH-1)。

[1091] 步骤2:制备2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基-N,N-二乙基氨基甲酸酯(化合物BH-2)

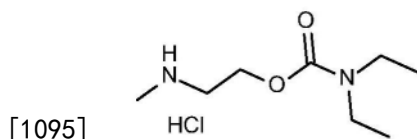


BH-2

[1093] 在0℃下于0.5小时内向N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(200mg,1.14mmol,化合物BH-1)和Et₃N(578mg,5.71mmol)于DCM(5mL)中的溶液中逐滴加入N,N-二乙基氨基甲酰氯(248mg,1.83mmol),并在25℃下搅拌15.5小时。过滤后,将滤液用水和盐水洗涤。将有机层干燥并浓缩,得到为无色油的2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基N,N-二乙

基氨基甲酸酯(313mg,化合物BH-2)。

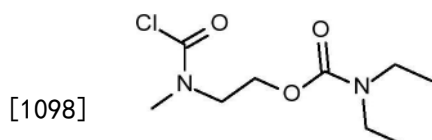
[1094] 步骤3:制备2-(甲基氨基)乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯盐酸盐(化合物BH-3)



BH-3

[1096] 将2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯(436mg,1.77mmol,化合物BH-2)加入至于EA中的HCl(17mL,1M)中。将混合物在0℃下搅拌0.5小时。然后将混合物在25℃下再搅拌15.5小时并浓缩,得到为无色油的2-(甲氨基)乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯盐酸盐(230mg,化合物BH-3)。

[1097] 步骤4:制备2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯(中间体BH)

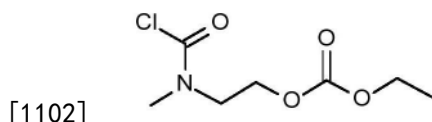


BH

[1099] 类似于中间体AP,通过使用2-(甲基氨基)乙基N,N-二乙基氨基甲酸乙酯盐酸盐(274mg,化合物BH-3)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BH。获得粗制的2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯(250mg,中间体BH),其无需进一步纯化即可用于下一步。

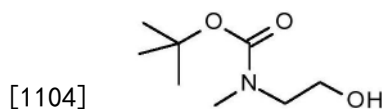
[1100] 中间体BI

[1101] 2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基乙基碳酸酯



BI

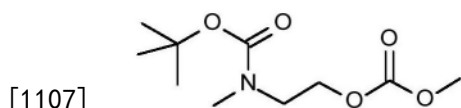
[1103] 步骤1:制备N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(化合物BI-1)



BI-1

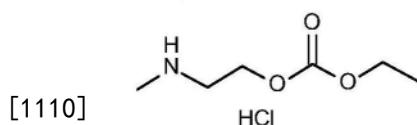
[1105] 在25℃下向2-(甲基氨基)乙醇(1g,13.31mmol)于DCM(10mL)中的溶液中加入Boc₂O(3.49g,15.98mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌16小时,然后浓缩,得到粗产物,将粗产物通过柱色谱法纯化,得到为无色油的N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1.6g,化合物BI-1)。

[1106] 步骤2:制备2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基甲基碳酸酯(化合物BI-2)

**BI-2**

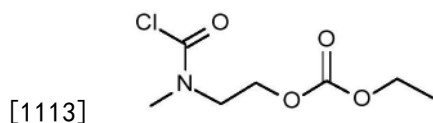
[1108] 在-10℃下向N-(2-羟乙基)-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(1g,化合物BI-1)、DMAP(0.1g)和吡啶(1.15g,11.41mmol)于EA(20mL)中的溶液逐滴加入氯甲酸甲酯(1.21g,11.15mmol)。将混合物在-10℃下搅拌1小时。过滤反应混合物,滤液用5%柠檬酸和盐水洗涤。将有机层干燥并浓缩,得到为无色油的2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基甲基碳酸酯(1.22g,化合物BI-2)。

[1109] 步骤3:制备乙基2-(甲基氨基)乙基碳酸酯盐酸盐(化合物BI-3)

**BI-3**

[1111] 将2-[叔丁氧基羰基(甲基)氨基]乙基甲基碳酸酯(1.22g,4.94mmol,化合物BI-2)加入到于EA中的HCl(10mL,40mmol)中,并将混合物在0℃下搅拌0.5小时然后在25℃下保持15.5小时。浓缩反应混合物,得到乙基2-(甲基氨基)乙基碳酸酯盐酸盐(1.06g,化合物BI-3)。

[1112] 步骤4:制备2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基乙基碳酸酯(中间体BI)

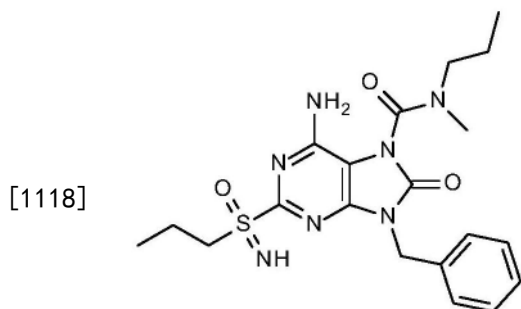
**BI**

[1114] 类似于中间体AP,通过使用乙基2-(甲基氨基)乙基碳酸酯盐酸盐(150mg,中间体BI-3)代替2-(甲基氨基)乙酸乙酯盐酸盐来制备中间体BI。获得粗制的2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基乙基碳酸酯(145mg,中间体BI),其无需进一步纯化即可用于下一步。

[1115] 制备实施例

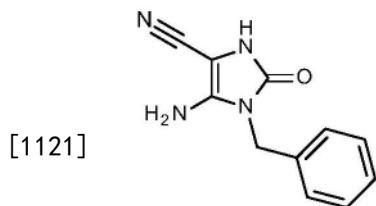
[1116] 实施例1

[1117] 6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

**1**

[1119] 方法A:

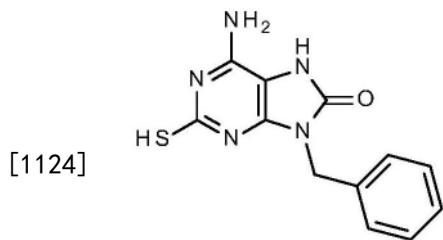
[1120] 步骤1:制备4-氨基-3-苄基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物1a)



1a

[1122] 在室温下向氨基丙二腈对甲苯磺酸盐 (25g, 98.5mmol, TCI, 目录号:A1119-25G) 于无水THF (100mL) 中的溶液中加入异氰酸苄酯 (13.2g, 98.5mmol) 和TEA (10.2g, 79.0mmol)。在室温下搅拌24小时后, 将反应物真空浓缩并将残余物在EtOAc (500mL) 和水 (250mL) 之间分配。分离的有机层用盐水 (50mL) 洗涤两次, 并用氢氧化钠溶液 (50mL, 1N) 萃取两次。合并的氢氧化钠溶液层用10wt. %的硫酸氢钠溶液中和, 并用EtOAc萃取。分离的有机层用盐水洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并真空浓缩。将残余物在2-异丙氧基丙烷中研磨, 然后将悬浮液过滤, 得到为黄色固体的4-氨基-3-苄基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈 (15g, 化合物1a)。该产物无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 215。

[1123] 步骤2:制备6-氨基-9-苄基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1b)

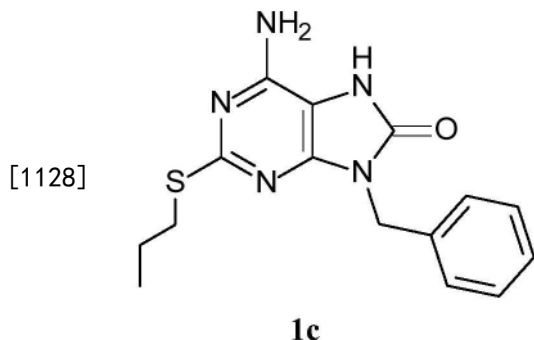


1b

[1125] 向4-氨基-3-苄基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈 (15.0g, 70.0mmol, 化合物1a) 于THF (700mL) 中的溶液中加入苯甲酰基异硫氰酸酯 (28.6g, 175.1mmol, TCI, 目录号:A11596-100G)。在室温下搅拌12小时后, 将反应混合物真空浓缩。将残余物在乙醚 (100mL) 中研磨, 并通过过滤收集所得沉淀。

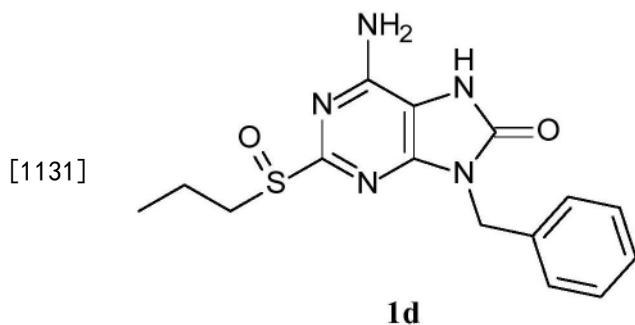
[1126] 向获得的沉淀物于THF (700mL) 中的溶液中加入氢氧化钠 (70mL, 2N)。将该混合物回流50小时, 然后用10wt. %的硫酸氢钠水溶液酸化至pH=3。过滤收集得到的沉淀物, 得到粗制的为黄色固体的6-氨基-9-苄基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮 (8.1g, 化合物1b)。该产物无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 274。

[1127] 步骤3:制备6-氨基-9-苄基-2-(2-丙基硫烷基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)



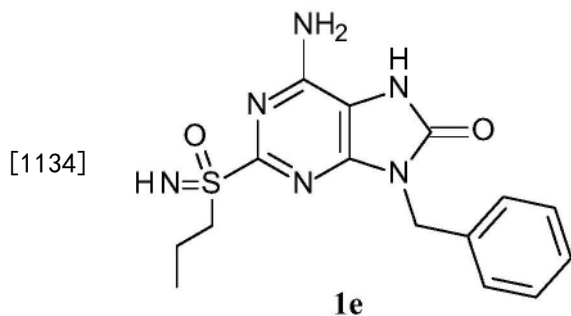
[1129] 向6-氨基-9-苄基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(5.46g, 20.0mmol, 化合物1b)于DMF中的溶液中加入碳酸钾(2.76g, 20.0mmol)。然后将于DMF(5.0mL)中的1-溴丙烷(2.44g, 20.0mmol, TCI, 目录号:B0638-500G)缓慢加入到先前的溶液中。在室温下搅拌12小时后,将反应混合物倒入水(200mL)中,然后用10wt. %的硫酸氢钠水溶液酸化并用EtOAc(100mL)萃取两次。有机层用盐水洗涤,经Na₂SO₄干燥并真空浓缩,得到粗产物,将粗产物通过硅胶快速色谱法纯化,得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-2-(2-丙基硫烷基)-7H-嘌呤-8-酮(4.8g, 化合物1c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 316。

[1130] 步骤4: 制备6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)



[1132] 向化合物6-氨基-9-苄基-2-(2-丙基硫烷基)-7H-嘌呤-8-酮(2.7g, 8.7mmol, 化合物1c)于DCM/MeOH(500mL, V/V=1:1)中的溶液中加入3-氯过氧苯甲酸(2.15g, 8.7mmol, 70%纯度, Aldrich, 目录号:273013-1G)。将反应混合物搅拌2小时后,将反应混合物的体积在真空中减少至约50mL。过滤收集得到的沉淀物,用甲醇洗涤并干燥,得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(1.0g, 化合物1d)。该产物无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 332。

[1133] 步骤5: 制备6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)



[1135] 在50℃下向6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(1.52g, 4.6mmol, 化合物1d)在Eaton试剂(40mL, 五氧化二磷, 7.5wt. %的甲磺酸中Aldrich, 目录号:380814-

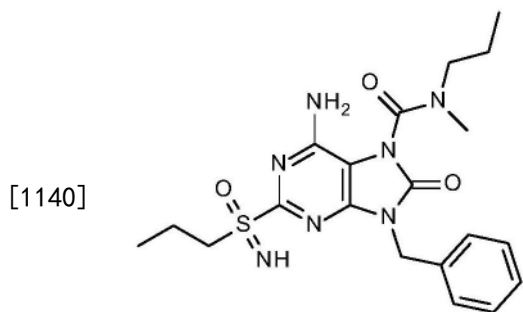
100ML)中的溶液加入叠氮化钠(360mg,5.5mmol)。在该温度下搅拌30分钟后,将反应混合物冷却至室温,倒入饱和碳酸氢钠水溶液中。将反应混合物用n-BuOH(100mL)萃取两次,并将有机相真空浓缩。将残余物通过制备型HPLC纯化,得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(1.2g,化合物1e)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:10.65(br.s.,1H),7.26-7.37(m,5H),6.98(br.s.,2H),4.97(s,2H),4.02(s,1H),3.33(t,J=7.53Hz,2H),1.55-1.74(m,2H),0.92(t,J=7.53Hz,3H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M⁺H)⁺]:347。

[1136] 通过手性HPLC分离化合物1e,得到化合物1e-A(较慢洗脱,500mg)和化合物1e-B(较快洗脱,490mg),为白色固体。(分离条件:甲醇5%-40%(0.05%DEA)/CO₂,ChiralPak AS-3色谱柱。)

[1137] 化合物1e-A:¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz) δppm:10.56(s,1H),7.21-7.46(m,5H),7.03(s,2H),4.96(s,2H),4.04(s,1H),3.25-3.33(m,2H),1.59-1.67(m,2H),0.92(t,J=7.4Hz,3H)。

[1138] 化合物1e-B:¹H NMR(DMSO-d₆,400MHz) δppm:10.57(s,1H),7.23-7.39(m,5H),6.97(s,2H),4.96(s,2H),4.05(s,1H),3.31-3.30(m,2H),1.49-1.74(m,2H),0.91(t,J=7.4Hz,3H)。

[1139] 步骤6:制备6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例1)



1

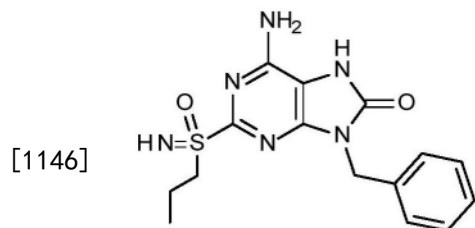
[1141] 在室温下向6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(300mg,化合物1e)、吡啶(329mg,4.2mmol)和DIPEA(538mg,4.2mmol)于NMP(5mL)中的溶液中加入N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(564mg,4.2mmol,中间体AA)。将混合物在室温下搅拌10小时。将反应混合物浓缩并将残余物通过制备型HPLC纯化,得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(108mg,实施例1)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.45-7.24(m,5H),6.89(s,2H),5.01(s,2H),4.17(s,1H),3.44-3.34(m,2H),3.36-3.34(m,2H),3.10-3.00(m,3H),1.74-1.52(m,4H),1.01-0.72(m,6H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:446。

[1142] 用异丙醇5%-40%(0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离实施例1的化合物,得到为白色固体的实施例1-A(较慢洗脱,50mg)和实施例1-B(较快洗脱,40mg)。

[1143] 实施例1-A:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.44-7.24(m,5H),6.89(s,2H),5.01(s,2H),4.17(s,1H),3.44-3.37(m,2H),3.37-3.35(m,2H),3.10-3.00(m,3H),1.74-1.52(m,4H),1.00-0.72(m,6H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:446。

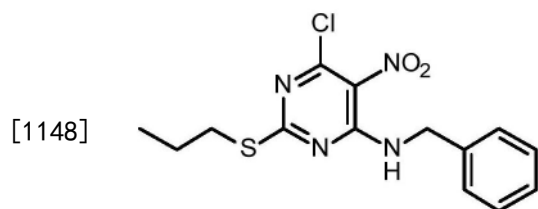
[1144] 实施例1-B: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7.45-7.26 (m, 5H), 6.88 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.15 (s, 1H), 3.44-3.36 (m, 2H), 3.34 (s, 2H), 3.10-3.01 (m, 3H), 1.77-1.52 (m, 4H), 1.02-0.67 (m, 6H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 446。

[1145] 方法B: 制备6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)的另一种方法



1e

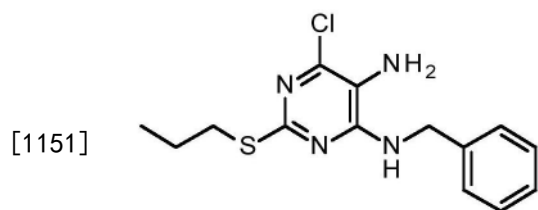
[1147] 步骤1: 制备N-苄基-6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-嘧啶-4-胺(化合物1f)



1f

[1149] 在-78 $^{\circ}\text{C}$ 下向4,6-二氯-5-硝基-2-丙基磺酰基嘧啶(150.0g, 559.5mmol)和DIPEA(108.5g, 839.2mmol)于THF(1.5L)中的溶液中缓慢加入苯甲胺(60.0g, 559.5mmol)于THF(200mL)中的溶液。加入后,将混合物温热至25 $^{\circ}\text{C}$,并在该温度下搅拌16小时。将得到的混合物用EA(1L)稀释,用水(400mL)(3次)和盐水(500mL)洗涤。将分离的有机相经 Na_2SO_4 干燥,过滤并真空浓缩,得到为黄色固体的N-苄基-6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-嘧啶-4-胺(180.0g, 化合物1f),其无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 339.1。

[1150] 步骤2: 制备N4-苄基-6-氯-2-丙基硫烷基-嘧啶-4,5-二胺(化合物1g)

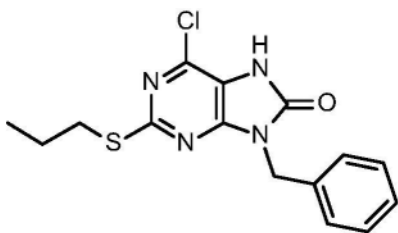


1g

[1152] 在25 $^{\circ}\text{C}$ 下向N-苄基-6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-嘧啶-4-胺(180g, 化合物1f)和HOAc(319g, 5.31mol)于THF(3.0L)中的溶液中缓慢加入Zn(174g, 2.66mol)。添加后,将混合物在25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌16小时。将反应物过滤,并将滤液用饱和 NaHCO_3 水溶液(800mL)碱化,用EA(400mL)萃取3次,经 Na_2SO_4 干燥并真空浓缩。将残余物通过硅胶色谱法纯化,得到为棕色固体的N4-苄基-6-氯-2-丙基硫烷基-嘧啶-4,5-二胺(125g, 化合物1g)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 309.1。

[1153] 步骤3: 制备9-苄基-6-氯-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1h)

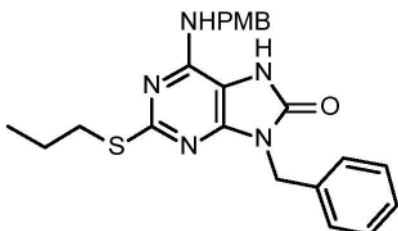
[1154]

**1h**

[1155] 在80℃下将N-苄基-6-氯-2-(丙基硫烷基)嘧啶-4,5-二胺(72.0g, 233.1mmol, 化合物1g)和CDI(75.2g, 233.1mmol)于THF(800mL)中的溶液搅拌16小时。将得到的混合物用EA(400mL)稀释,用水(200mL)(两次)和盐水(200mL)洗涤。将分离的有机层经Na₂SO₄干燥,真空浓缩。残余物用MTBE(200mL)洗涤,得到为白色固体的9-苄基-6-氯-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(58.0g, 化合物1h),其无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 335.1。

[1156] 步骤4:制备9-苄基-6-[(4-甲氧基苯基)甲基氨基]-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1i)

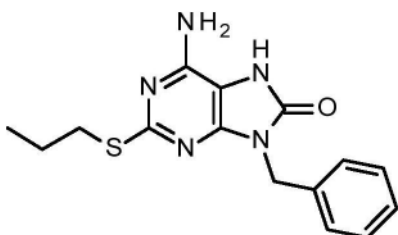
[1157]

**1i**

[1158] 在120℃下将9-苄基-6-氯-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(58.0g, 化合物1h)和PMBNH₂(54.7g, 398.42mmol)于n-BuOH(600mL)中的溶液搅拌20小时。将反应物浓缩,并将残余物用MTBE(400mL)洗涤,得到为白色固体的9-苄基-6-[(4-甲氧基苯基)甲基氨基]-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(75g, 化合物1i),其无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 436.2。

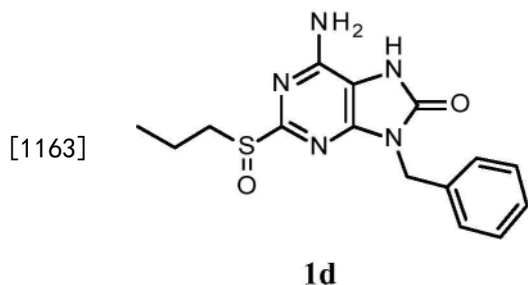
[1159] 步骤5:制备6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)

[1160]

**1c**

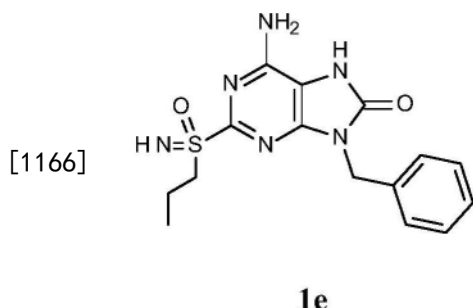
[1161] 在80℃下将9-苄基-6-[(4-甲氧基苯基)甲基氨基]-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(87.0g, 化合物1i)于TFA(200mL)中搅拌16小时。将所得反应混合物浓缩,用饱和NaHCO₃(600mL)水溶液碱化。过滤收集得到的沉淀物,并用(PE/DCM=2:1, 400mL)洗涤,得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(38.0g, 化合物1c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 316.1。

[1162] 步骤6:制备6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)



[1164] 在0℃下向m-CPBA(22.98g,113.2mmol)于THF(50mL)中的溶液中逐滴加入6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(35.0g,化合物1c)于THF(200mL)中的悬浮液。添加后,将反应混合物在25℃下搅拌0.5小时。将混合物过滤,并用MeCN(400mL)、MTBE(500mL)洗涤,得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(35.1g,化合物1d),其无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:332.1。

[1165] 步骤7:制备6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)

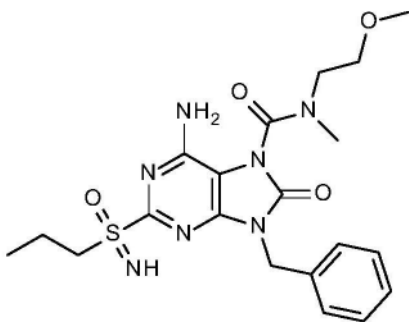


[1167] 在60℃下向6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(34.0g,化合物1d)于Eaton试剂(170.0mL,7.5wt.%于甲磺酸中)中的溶液中缓慢加入NaN₃(15.34g,253.97mmol)。然后将混合物在60℃下搅拌30分钟。将得到的反应混合物冷却至25℃,倒入冰冷的NH₃·H₂O(500mL,1mol/L)中,用n-BuOH(100mL)萃取四次并真空浓缩。通过制备型HPLC纯化残余物,得到6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(10g,化合物1e)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:10.65(br.s.,1H),7.26-7.37(m,5H),6.98(br.s.,2H),4.97(s,2H),4.02(s,1H),3.33(t,J=7.53Hz,2H),1.55-1.74(m,2H),0.92(t,J=7.53Hz,3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M⁺H)⁺]:347。

[1168] 实施例2

[1169] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1170]



2

[1171] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-氨基甲酰氯(中间体AB)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(120mg, 实施例2)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.27-7.39(m, 5H), 6.89(br. s., 1H), 6.78(br. s., 1H), 5.00(s, 2H), 4.16(br. d, J=4Hz, 1H), 3.62(br. dd, J=4, 12Hz, 2H), 3.28-3.42(m, 6H), 3.12(d, J=12Hz, 3H), 3.05(s, 1H), 1.58-1.72(m, 2H), 0.93(t, J=8Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 462。

[1172] 用甲醇5%-40%(0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak OJ-3色谱柱,通过手性HPLC分离实施例2的化合物,得到为白色固体的实施例2-A(较快洗脱, 33mg)和实施例2-B(较慢洗脱, 46mg)。

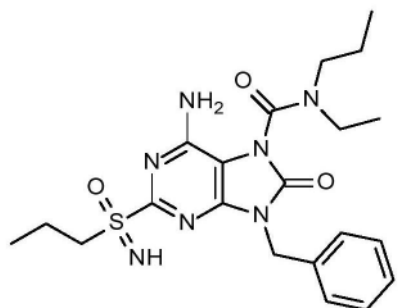
[1173] 实施例2-A:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.27-7.39(m, 5H), 6.89(br. s., 1H), 6.78(br. s., 1H), 5.00(s, 2H), 4.16(br. d, J=4Hz, 1H), 3.62(br. dd, J=4, 12Hz, 2H), 3.28-3.42(m, 6H), 3.12(d, J=12Hz, 3H), 3.05(s, 1H), 1.58-1.72(m, 2H), 0.93(t, J=8Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 462。

[1174] 实施例2-B:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.27-7.39(m, 5H), 6.89(br. s., 1H), 6.78(br. s., 1H), 5.00(s, 2H), 4.16(br. d, J=4Hz, 1H), 3.62(br. dd, J=4, 12Hz, 2H), 3.28-3.42(m, 6H), 3.12(d, J=12Hz, 3H), 3.05(s, 1H), 1.58-1.72(m, 2H), 0.93(t, J=8Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 462。

[1175] 实施例3

[1176] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1177]



3

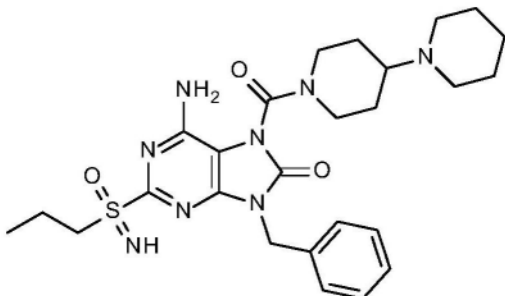
[1178] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-乙基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AC)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。获得为白色固体的6-氨基-9-苄基-N-乙基-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(51mg, 实施例3)

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7.27-7.39 (m, 5H), 6.85 (br. s., 2H), 4.99 (s, 2H), 4.20 (br. d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 3.13-3.54 (m, 4H), 1.46-1.72 (m, 4H), 1.30-1.39 (m, 1H), 1.00-1.26 (m, 6H), 0.81-0.95 (m, 5H), 0.73 (t, $J=8\text{Hz}$, 1H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 474。

[1179] 实施例4

[1180] 6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮

[1181]



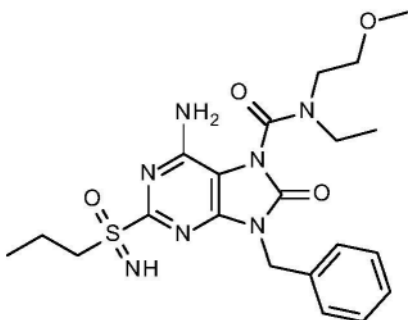
4

[1182] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(1,4'-联哌啶)-1'-羰基氯代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的6-氨基-9-苄基-7-[4-(1-哌啶基)哌啶-1-羰基]-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮(55mg, 实施例4)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7.39-7.27 (m, 5H), 6.97 (br. s., 2H), 4.99 (s, 2H), 4.20 (br. s., 2H), 3.85 (d, $J=12.5\text{Hz}$, 1H), 3.43-3.15 (m, 3H), 2.96 (t, $J=12.3\text{Hz}$, 2H), 2.56 (m, 4H), 1.83 (m, 1H), 1.79-1.54 (m, 4H), 1.50 (br. s., 4H), 1.45-1.33 (m, 3H), 0.93 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 541.2

[1183] 实施例5

[1184] 6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1185]



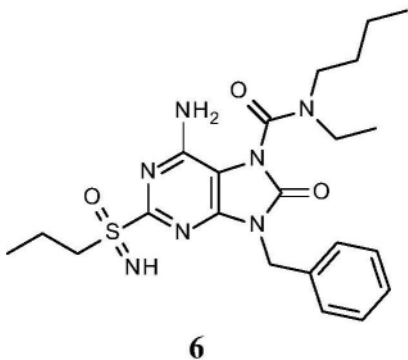
5

[1186] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯(中间体AD)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。获得为白色粉末的6-氨基-9-苄基-N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(34mg, 实施例5)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7.39-7.28 (m, 5H), 6.89 (br. s., 1H), 6.74 (br. s., 1H), 4.99 (s, 2H), 4.17 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 3.67 (br. s., 2H), 3.63-3.51 (m, 2H), 3.50-3.34 (m, 4H), 3.29 (s, 1H), 3.11 (s, 2H), 1.73-1.59 (m, 2H), 1.23-1.07 (m, 3H), 0.93 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 3H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 476.3。

[1187] 实施例6

[1188] 6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1189]



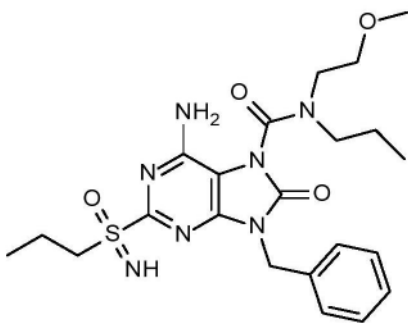
6

[1190] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-丁基-N-乙基-氨基甲酰氯(中间体AE)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。获得为白色固体的6-氨基-9-苄基-N-丁基-N-乙基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(51mg,实施例6)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.27-7.39(m,5H),6.85(br.s.,2H),4.99(s,2H),4.20(br.d,J=8.0Hz,1H),3.13-3.54(m,4H),1.46-1.72(m,4H),1.30-1.39(m,1H),1.00-1.26(m,6H),0.81-0.95(m,5H),0.73(t,J=8Hz,1H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:474。

[1191] 实施例7

[1192] 6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1193]



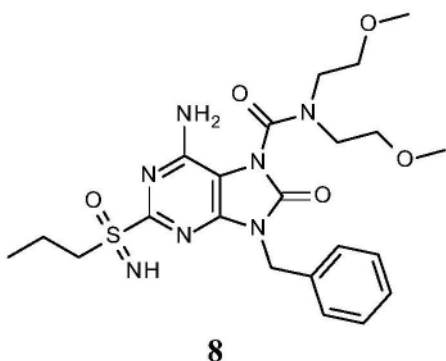
7

[1194] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-乙基-N-(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯(中间体AF)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的6-氨基-9-苄基-N-(2-甲氧基乙基)-8-氧代-N-丙基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(35mg,实施例7)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.40-7.28(m,5H),6.89(br.s.,1H),6.75(br.s.,1H),5.00(d,J=5.5Hz,2H),4.24-4.16(m,1H),3.77(br.s.,1H),3.67(br.s.,1H),3.62-3.53(m,1H),3.42-3.27(m,5H),3.23-3.02(m,3H),1.66-1.38(m,4H),0.96-0.70(m,6H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:490.5。

[1195] 实施例8

[1196] 6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1197]

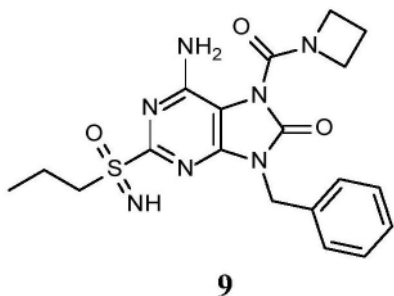


[1198] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用双(2-甲氧基乙基)氨基甲酰氯(中间体AG)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的6-氨基-9-苄基-N,N-双(2-甲氧基乙基)-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(35mg, 实施例8)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.40-7.28(m, 5H), 6.83(br. s., 2H), 4.99(s, 2H), 3.71(br. s., 3H), 3.52-3.27(m, 11H), 3.09(s, 3H), 1.73-1.59(m, 2H), 0.93(t, J=7.5Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 506。

[1199] 实施例9

[1200] 6-氨基-7-(氮杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮

[1201]

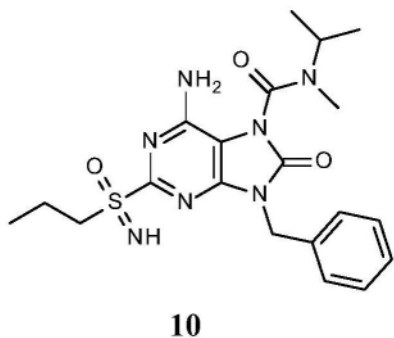


[1202] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用氮杂环丁烷-1-羰基氯(中间体AH)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的6-氨基-7-(氮杂环丁烷-1-羰基)-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-8-酮(120mg, 实施例9)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.02-7.43(m, 7H), 4.99(s, 2H), 4.31(t, J=7.65Hz, 2H), 4.08-4.23(m, 3H), 3.34-3.41(m, 2H), 2.28(m, 2H), 1.56-1.73(m, 2H), 0.93(t, J=7.40Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 430。

[1203] 实施例10

[1204] 6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1205]

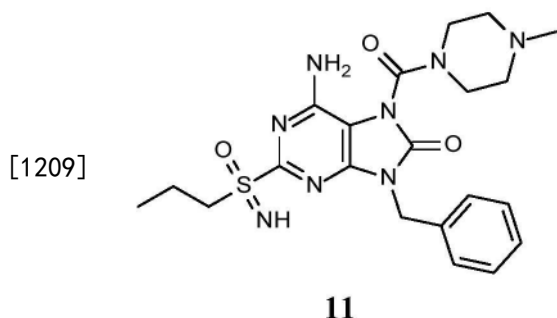


[1206] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-异丙基-N-甲基-氨基甲酰氯(中间体

AI) 代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯 (中间体AA) 来制备标题化合物。得到为白色固体的6-氨基-9-苄基-N-异丙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基) 嘌呤-7-甲酰胺 (97mg, 实施例10)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.27-7.39 (m, 5H), 6.87 (br. s., 2H), 4.99 (s, 2H), 4.38-4.45 (m, 1H), 4.09-4.21 (m, 1H), 3.29-3.43 (m, 2H), 2.89-2.95 (m, 3H), 1.58-1.73 (m, 2H), 1.21 (br d, J=8Hz, 6H), 0.93 (t, J=8Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 446。

[1207] 实施例11

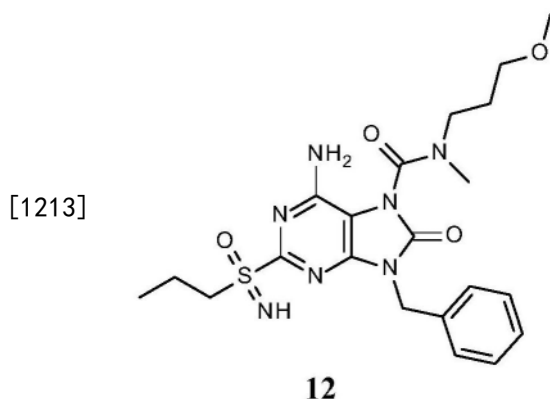
[1208] 6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基) 嘌呤-8-酮



[1210] 类似于实施例1、方法A、步骤6, 通过使用4-甲基哌嗪-1-羰基氯代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯 (中间体AA) 来制备标题化合物。得到为黄色固体的6-氨基-9-苄基-7-(4-甲基哌嗪-1-羰基)-2-(丙基磺亚氨酰基) 嘌呤-8-酮 (59.5mg, 实施例11)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.39-7.31 (m, 5H), 6.99 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.18 (s, 1H), 3.58-3.49 (m, 6H), 2.42 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 1.66-1.61 (m, 2H), 0.95-0.91 (t, J=7.2Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 473。

[1211] 实施例12

[1212] 6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基) 嘌呤-7-甲酰胺

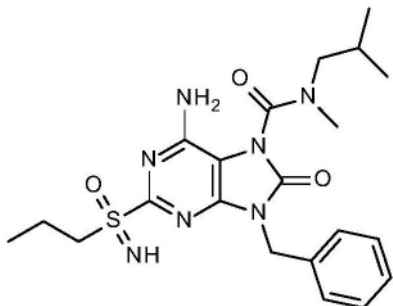


[1214] 类似于实施例1、方法A、步骤6, 通过使用N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-氨基甲酰氯代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯 (中间体AA) 来制备标题化合物。获得白色固体的6-氨基-9-苄基-N-(3-甲氧基丙基)-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基) 嘌呤-7-甲酰胺 (92.2mg, 实施例12)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.23-7.45 (m, 5H), 6.94 (s., 2H), 4.93-5.08 (m, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.30-3.62 (m, 6H), 3.25 (s, 3H), 3.02-3.10 (m, 3H), 1.74-1.90 (m, 2H), 1.55-1.77 (m, 2H), 0.98-0.82 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 476.3。

[1215] 实施例13

[1216] 6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1217]



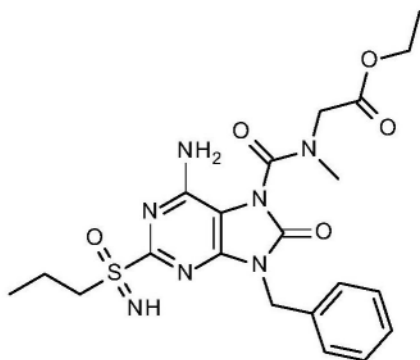
13

[1218] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-异丁基-N-甲基-氨基甲酰氯(中间体AL)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。获得为白色固体的6-氨基-9-苄基-N-异丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(64mg, 实施例13)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.27-7.40 (m, 5H), 6.89 (br. s., 2H), 5.00 (s, 2H), 4.16 (br. s., 1H), 3.25-3.44 (m, 4H), 3.07 (s, 2H), 3.03 (s, 1H), 1.87-2.09 (m, 1H), 1.57-1.74 (m, 2H), 0.75-0.99 (m, 9H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 460。

[1219] 实施例14

[1220] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯

[1221]



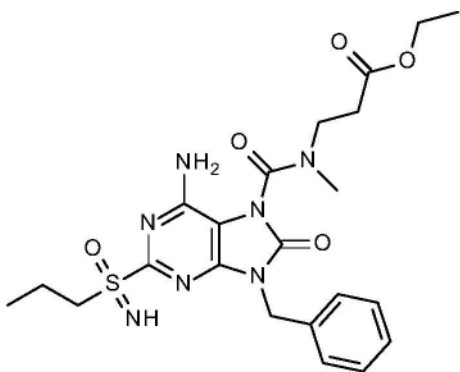
14

[1222] 类似于实施例1、方法A,步骤6,通过使用2-((氯羰基)(甲基)氨基)乙酸乙酯(中间体AP)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为浅黄色粉末的2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙酸乙酯(38mg, 实施例14)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.41-7.27 (m, 5H), 6.82 (br. s., 1H), 5.04-4.95 (m, 2H), 4.35 (br. s., 1H), 4.28 (br. s., 1H), 4.23-4.16 (m, 2H), 4.08 (q, J=7.2Hz, 1H), 3.43-3.28 (m, 3H), 3.15 (s, 2H), 3.08 (s, 1H), 1.71-1.58 (m, 2H), 1.24 (t, J=7.0Hz, 2H), 1.12 (t, J=7.0Hz, 1H), 0.93 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 490。

[1223] 实施例15

[1224] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯

[1225]

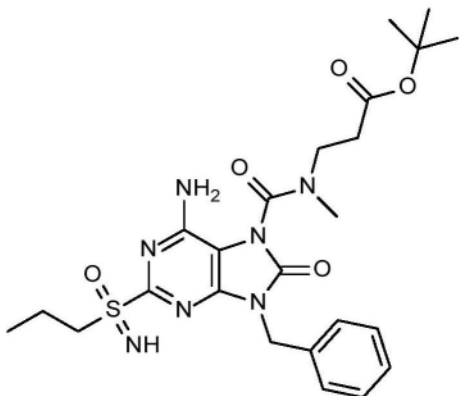
**15**

[1226] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用3-((氯羰基)(甲基)氨基)丙酸乙酯代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯(35mg,实施例15)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.43-7.26(m,5H),6.93(br.s.,2H),4.99(s,2H),4.16(s,1H),4.08(q,J=7.1Hz,1H),3.99(d,J=7.0Hz,1H),3.67(br.s.,2H),3.40-3.29(m,2H),3.08(s,2H),2.99(s,1H),2.71(t,J=6.4Hz,2H),1.74-1.56(m,2H),1.27-1.05(m,3H),0.93(t,J=7.5Hz,3H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:504。

[1227] 实施例16

[1228] 3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯

[1229]

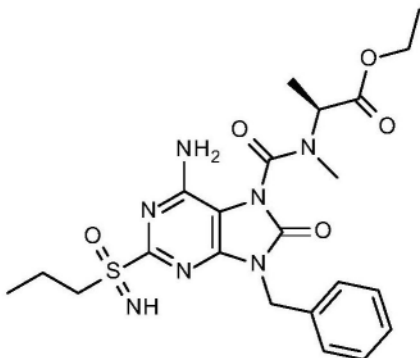
**16**

[1230] 类似于实施例1、方法A,步骤6,通过使用3-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸叔丁酯(中间体AR)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的3-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸叔丁酯(60mg,实施例16)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.41-7.27(m,5H),6.93(br.s.,2H),4.99(s,2H),4.15(s,1H),3.64(br.s.,2H),3.51-3.33(m,2H),3.08(s,2H),2.98(s,1H),2.62(t,J=6.9Hz,2H),1.71-1.57(m,2H),1.41(s,6H),1.34(s,3H),0.93(t,J=7.4Hz,3H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:532。

[1231] 实施例17

[1232] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯

[1233]



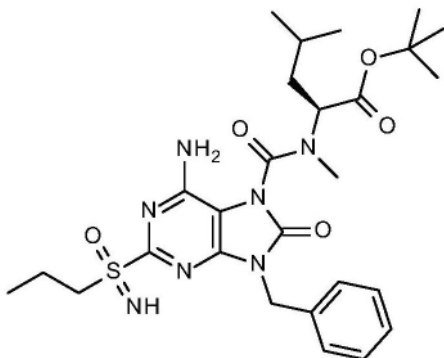
17

[1234] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]丙酸乙酯(中间体AS)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。获得为黄色固体的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]丙酸乙酯(34.1mg,实施例17)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm:7.22-7.49(m,5H),6.78(br.s.,2H),4.93-5.08(m,2H),4.75(br.s.,1H),3.96-4.29(m,3H),3.30-3.46(m,2H),3.09(s,2H),2.93(br.s.,1H),1.55-1.77(m,2H),1.48(d,J=7.16Hz,3H),1.09-1.29(m,3H),0.94(t,J=7.44Hz,3H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:504.2。

[1235] 实施例18

[1236] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯

[1237]



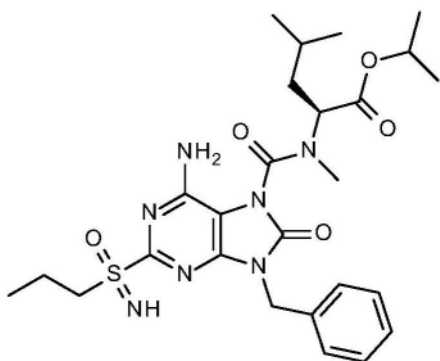
18

[1238] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯(中间体AT)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色固体的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸叔丁酯(22mg,实施例18)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.42-7.27(m,5H),6.78(br.s.,2H),5.05-4.96(m,2H),4.78(br.s.,1H),4.33(br.s.,1H),3.51-3.37(m,2H),3.01(s,3H),1.75-1.54(m,4H),1.44(s,8H),1.33-1.11(m,2H),0.99-0.82(m,9H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:574.3。

[1239] 实施例19

[1240] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯

[1241]

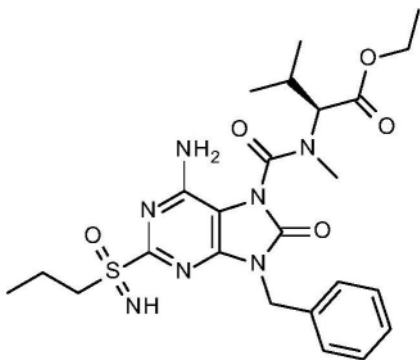
**19**

[1242] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯(中间体AU)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸异丙酯(43mg,实施例19)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.43-7.27(m,5H),6.75(br.s.,2H),5.05-4.94(m,3H),4.88(br.s.,1H),4.19(br.s.,1H),3.43-3.34(m,2H),3.01(s,3H),1.91(br.s.,1H),1.77-1.56(m,4H),1.25-1.16(m,6H),0.99-0.83(m,9H)。MS obsd.(ESI⁺)[M+H⁺]:560.3。

[1243] 实施例20

[1244] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯

[1245]

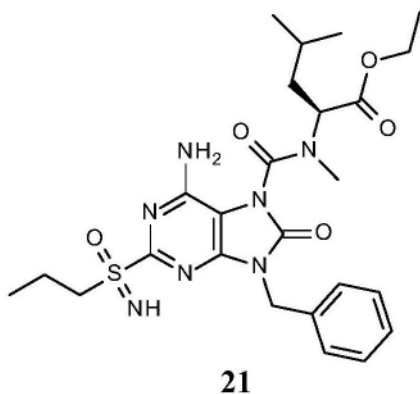
**20**

[1246] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-甲基-丁酸乙酯(中间体AV)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-甲基-丁酸乙酯(51.5mg,实施例20)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.23-7.51(m,5H),6.76(br.s.,2H),5.01(br.s.,2H),4.42(br.s.,1H),3.97-4.26(m,3H),3.34-3.45(m,2H),3.12(br.s.,3H),2.24(br.s.,1H),1.65(br.s.,2H),1.13-1.29(m,3H),0.88-1.10(m,9H)。MS obsd.(ESI⁺)[M+H⁺]:532.2。

[1247] 实施例21

[1248] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)丙基]嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸乙酯

[1249]

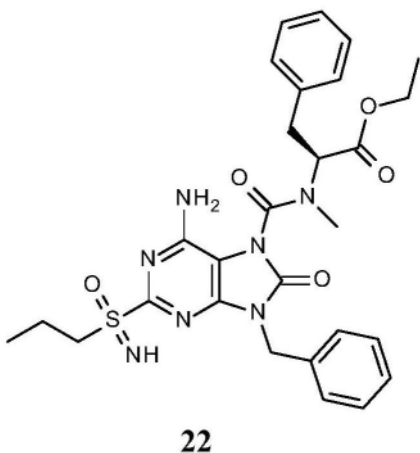


[1250] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-4-甲基-戊酸乙酯(中间体AW)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-4-甲基-戊酸乙酯(17.3mg, 实施例21)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.26-7.45(m, 5H), 6.73(br. s., 2H), 4.91-5.09(m, 3H), 4.06-4.25(m, 3H), 3.34-3.45(m, 2H), 3.04(br. s., 3H), 1.93(br. s., 1H), 1.54-1.78(m, 4H), 1.22(t, J=7.09Hz, 3H), 0.77-1.01(m, 9H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 546.3。

[1251] 实施例22

[1252] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸乙酯

[1253]

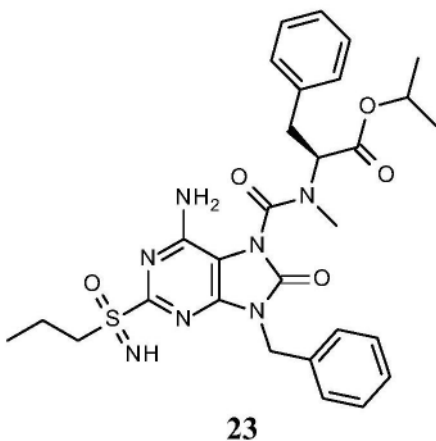


[1254] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸乙酯(中间体AX)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸乙酯(30mg, 实施例22)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.42-7.16(m, 10H), 4.97(s, 3H), 4.19(q, J=7.1Hz, 2H), 3.35-3.15(m, 6H), 3.10-2.90(m, 3H), 1.71-1.46(m, 2H), 1.28-1.18(m, 4H), 0.97-0.85(m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 580。

[1255] 实施例23

[1256] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯

[1257]

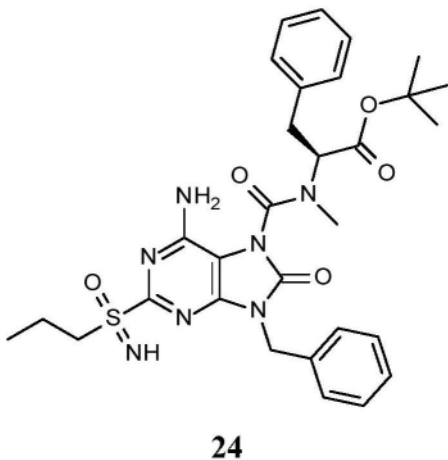


[1258] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯(中间体AY)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸异丙酯(22mg, 实施例23)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.35-7.01 (m, 10H), 5.02-4.89 (m, 3H), 3.37-3.17 (m, 3H), 3.02-3.09 (m, 3H), 3.10-2.90 (m, 3H), 1.66-1.62 (m, 2H), 1.22-1.11 (m, 8H), 0.92 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 594。

[1259] 实施例24

[1260] (2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸叔丁酯

[1261]

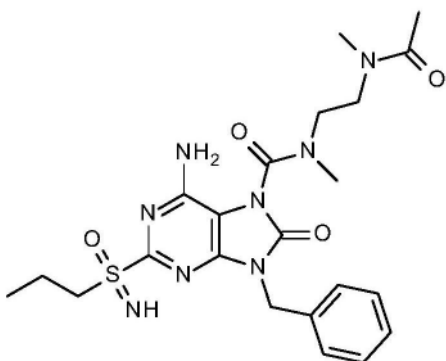


[1262] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用(2S)-2-[氯羰基(甲基)氨基]-3-苯基-丙酸叔丁酯(中间体AZ)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的(2S)-2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]-3-苯基-丙酸叔丁酯(34mg, 实施例24)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.42-7.16 (m, 10H), 5.03-4.90 (m, 3H), 3.68-3.24 (m, 5H), 3.24-3.09 (m, 2H), 3.01 (s, 3H), 1.68-1.57 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.99-0.85 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 608.3。

[1263] 实施例25

[1264] N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

[1265]



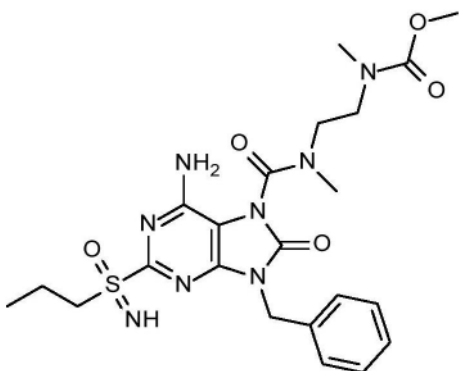
25

[1266] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酰氯(中间体BA)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的N-[2-[乙酰基(甲基)氨基]乙基]-6-氨基-9-苄基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(26.1mg,实施例25)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 7.43-7.27 (m, 5H), 7.02 (br, 2H), 5.04-4.97 (m, 2H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.57 (d, $J=5.5\text{Hz}$, 2H), 3.49-3.34 (m, 2H), 3.14 (s, 1H), 3.12-3.02 (m, 4H), 2.86 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 2.69-2.64 (m, 1H), 2.05 (s, 1H), 1.99 (s, 1H), 1.91-1.83 (m, 1H), 1.70-1.59 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 3H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 503.2。

[1267] 实施例26

[1268] N-[2-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯

[1269]



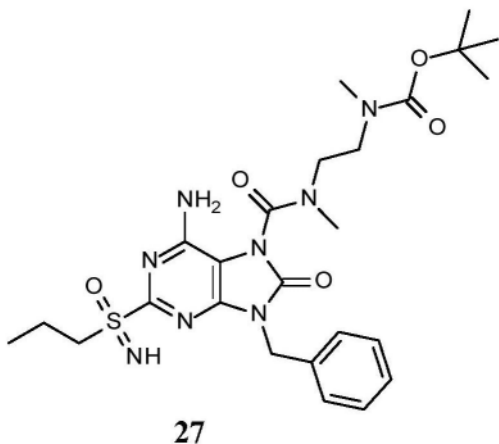
26

[1270] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯(中间体BB)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为黄色固体的N-[2-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸甲酯(65mg,实施例26)。 ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm: 7.29-7.49 (m, 5H), 5.63-5.92 (m, 2H), 5.03-5.17 (m, 2H), 3.43-3.69 (m, 8H), 3.13-3.27 (m, 3H), 2.96-3.05 (m, 2H), 2.72 (br. s., 1H), 1.05 (t, $J=7.40\text{Hz}$, 3H), 1.87 (dd, $J=14.12, 6.96\text{Hz}$, 2H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 519.2。

[1271] 实施例27

[1272] N-[2-[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸酯叔丁基

[1273]

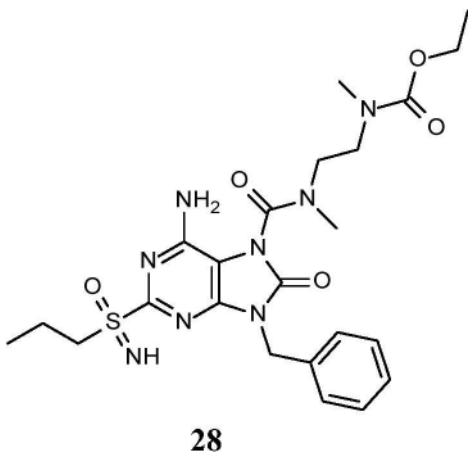


[1274] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(中间体BC)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色粉末的N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸叔丁酯(32mg,实施例27)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.43-7.26 (m, 5H), 6.89 (br. s., 2H), 4.99 (d, J=5.0Hz, 2H), 4.16 (s, 1H), 3.55 (br. s., 2H), 3.48-3.34 (m, 2H), 3.10 (s, 2H), 3.07 (s, 1H), 2.86 (d, J=12.8Hz, 2H), 2.74 (d, J=9.5Hz, 1H), 2.70-2.60 (m, 1H), 1.72-1.54 (m, 2H), 1.39 (s, 6H), 1.23 (s, 2H), 1.13 (s, 2H), 0.93 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 562。

[1275] 实施例28

[1276] N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯

[1277]

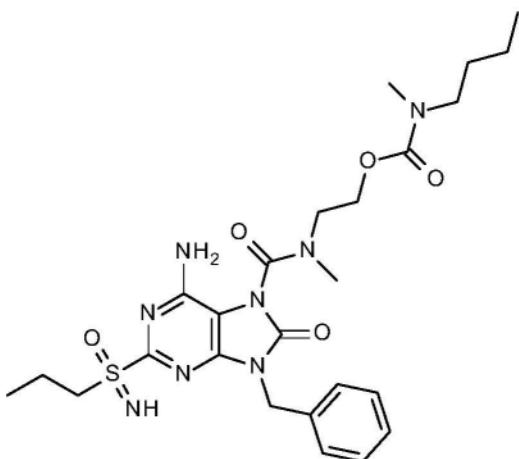


[1278] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-[2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯(中间体BD)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为黄色固体的N-[2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基]-N-甲基-氨基甲酸乙酯(87mg,实施例28)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm: 7.29-7.53 (m, 5H), 5.65-5.90 (m, 2H), 5.02-5.14 (m, 2H), 3.38-4.21 (m, 9H), 3.14-3.26 (m, 3H), 3.00 (br. s., 2H), 2.73 (s, 1H), 1.76-1.99 (m, 2H), 1.22-1.31 (m, 3H), 1.05 (s, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 533.2。

[1279] 实施例29

[1280] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基氨基]乙基-N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯

[1281]



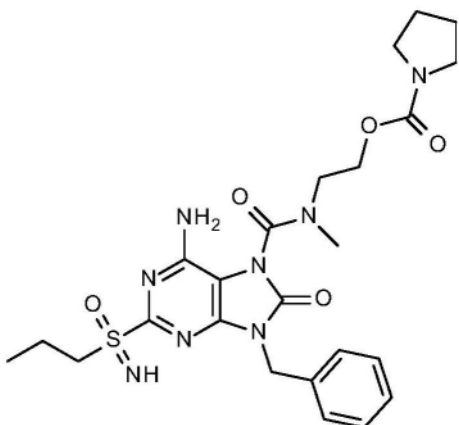
29

[1282] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基-N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯(中间体BE)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为黄色固体的2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基-N-丁基-N-甲基-氨基甲酸酯(19mg,化合物29)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.25-7.48 (m, 5H), 6.96 (br. s., 2H), 4.99 (s, 2H), 4.06-4.36 (m, 3H), 3.59-3.83 (m, 1H), 3.33-3.49 (m, 3H), 3.07-3.21 (m, 4H), 2.79 (s, 2H), 1.65 (br. s., 2H), 1.05-1.47 (m, 6H), 0.93 (t, J=7.40Hz, 3H), 0.70-0.87 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 561.2。

[1283] 实施例30

[1284] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯

[1285]



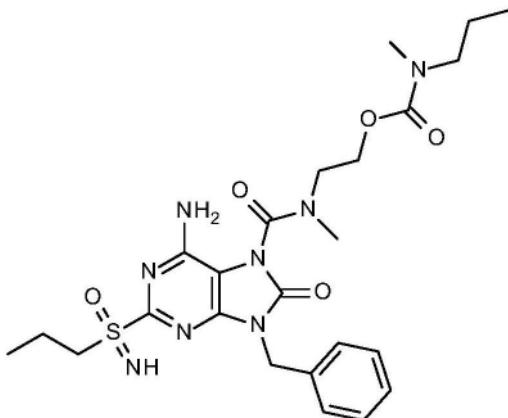
30

[1286] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(中间体BF)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为黄色固体的2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基吡咯烷-1-羧酸酯(10.0mg,实施例30)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.26-7.41 (m, 5H), 6.96 (br. s., 2H), 4.99 (s, 2H), 4.01-4.35 (m, 4H), 3.29-3.47 (m, 3H), 3.23 (br. s., 3H), 3.03-3.17 (m, 4H), 1.52-1.84 (m, 6H), 0.90-0.96 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 545.2。

[1287] 实施例31

[1288] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯

[1289]



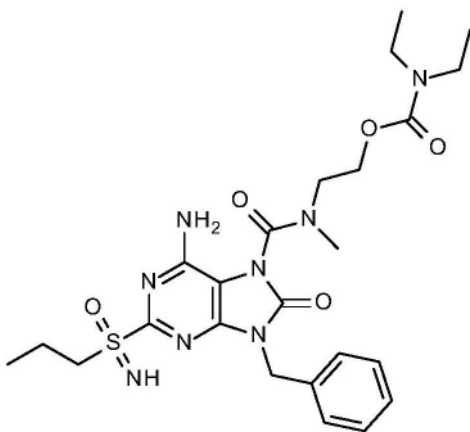
31

[1290] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯(中间体BG)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为黄色固体的2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N-甲基-N-丙基-氨基甲酸酯(3.7mg, 实施例31)。¹H NMR(400MHz, CD₃OD) δppm: 7.22-7.48(m, 5H), 5.09-5.22(m, 4H), 4.55(s, 2H), 3.38-3.57(m, 4H), 3.13(s, 3H), 1.61-1.85(m, 4H), 1.22-1.41(m, 3H), 0.88-1.13(m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 547.2。

[1291] 实施例32

[1292] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯

[1293]



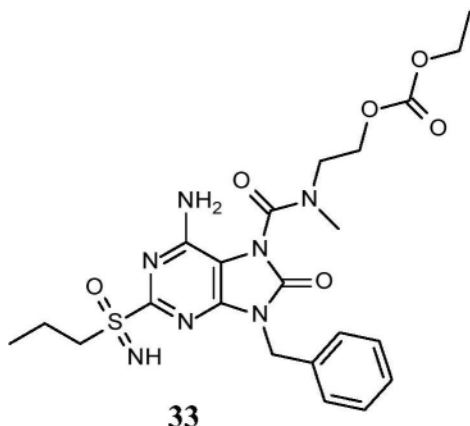
32

[1294] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯(中间体BH)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为黄色固体的2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基N,N-二乙基氨基甲酸酯(21.7mg, 实施例32)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.25-7.41(m, 5H), 6.96(br. s., 2H), 4.99(s, 2H), 4.08-4.36(m, 3H), 3.70(br, 1H), 3.33-3.46(m, 3H), 3.01-3.24(m, 7H), 1.55-1.74(m, 2H), 0.86-1.05(m, 9H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 547.2。

[1295] 实施例33

[1296] 2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基乙基碳酸酯

[1297]

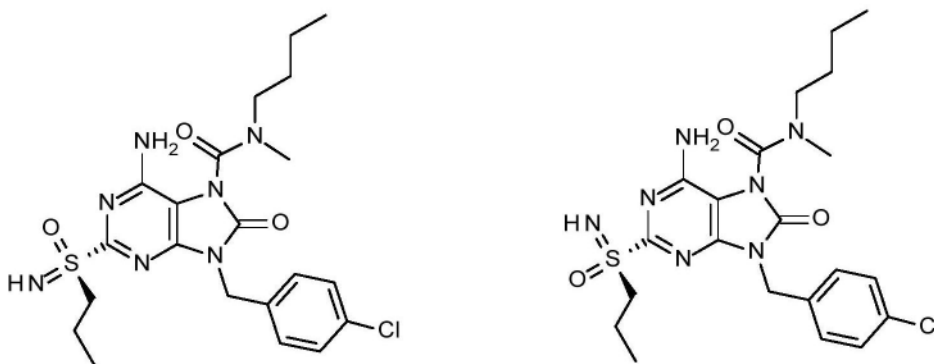


[1298] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用2-[氯羰基(甲基)氨基]乙基乙基碳酸酯(中间体BI)代替N-甲基-N-丙基氨基甲酰氯(中间体AA)制备标题化合物。得到为黄色固体的2-[[6-氨基-9-苄基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-羰基]-甲基-氨基]乙基乙基碳酸酯(46mg, 实施例33)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 0.82-0.99 (m, 3H), 1.02-1.28 (m, 3H), 1.56-1.76 (m, 2H), 3.05-3.18 (m, 3H), 3.35-3.48 (m, 3H), 3.73 (t, J=5.08Hz, 2H), 4.08-4.27 (m, 3H), 4.37 (br. s., 1H), 5.00 (s, 2H), 6.76-7.11 (m, 2H), 7.22-7.45 (m, 5H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 520。

[1299] 实施例34-A和实施例34-B

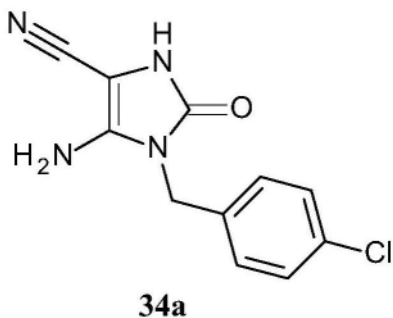
[1300] 6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺

[1301]



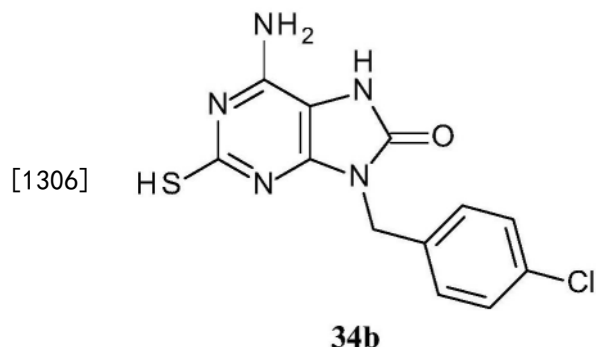
[1302] 步骤1: 制备4-氨基-3-[(4-氯苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物34a)

[1303]



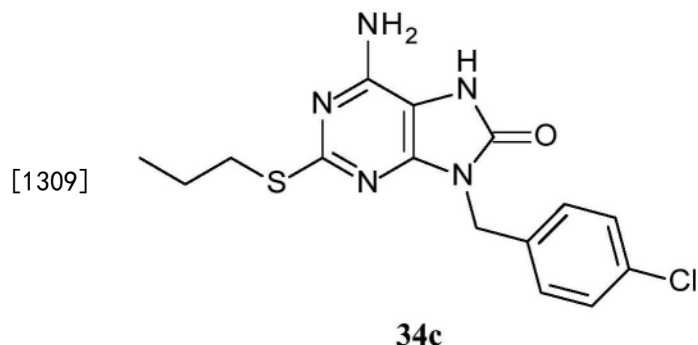
[1304] 类似于实施例1、方法A、步骤1,通过使用4-氯苄基异氰酸酯代替苄基异氰酸酯来制备化合物34a。得到为黄色固体的4-氨基-3-[(4-氯苄基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(8.0g,化合物34a)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:249。

[1305] 步骤2:制备6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34b)



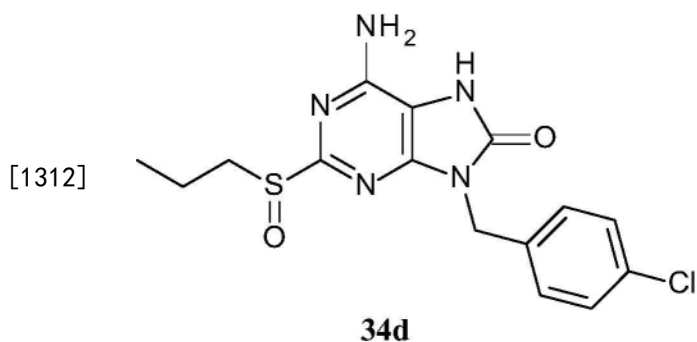
[1307] 类似于实施例1、方法A、步骤2,通过使用4-氨基-3-[(4-氯苄基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物34a)代替4-氨基-3-苄基甲基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物1a)来制备化合物34b。得到为黄色固体的6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(6.4g,化合物34b),其无需进一步纯化即可用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:308。

[1308] 步骤3:制备6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34c)



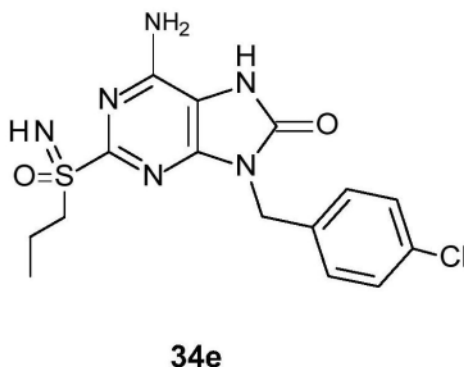
[1310] 类似于实施例1、方法A、步骤3,通过使用6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34b)代替6-氨基-9-苄基甲基-2-磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1b)来制备化合物34c。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(800mg,化合物34c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:350。

[1311] 步骤4:制备6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-丙基亚硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34d)

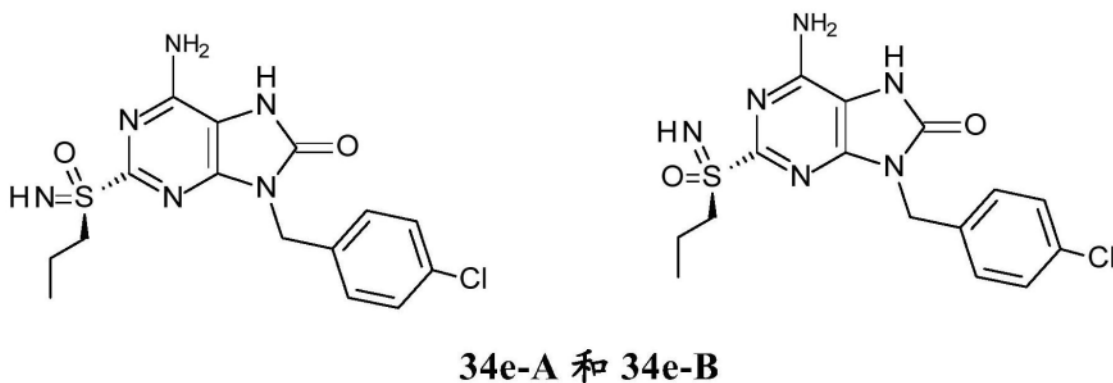


[1313] 类似于实施例1、方法A、步骤4,通过使用6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34c)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)来制备化合物34d。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(150mg,化合物34d)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:366。

[1314] 步骤5:制备6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物34e)、6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-7H-嘌呤-8-酮和6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物34e-A和化合物34e-B)



[1315]



[1316] 类似于实施例1、方法A、步骤5,通过使用6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34d)代替6-氨基-9-苄基-2-(2-丙基亚磺酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)来制备化合物34e。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(250mg,化合物34e)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.60 (br. s, 1H), 7.32-7.42 (m, 4H), 6.98 (br. s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.25-3.41 (m, 2H), 1.56-1.68 (m, 2H), 0.91 (t, J=8Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M⁺H)⁺]:381。

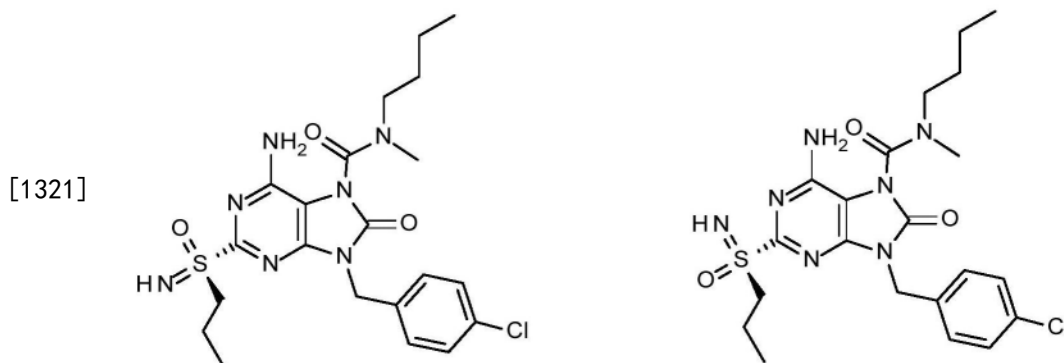
[1317] 用5%-40%甲醇(0.05%DEA)/CO₂/ChiralPak OJ-3色谱柱,通过手性HPLC分离化

合物34e化合物,得到为白色固体的化合物34e-A(较快洗脱,110mg)和化合物34e-B(较慢洗脱,100mg)。

[1318] 化合物34e-A:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:10.63(br.s,1H),7.33-7.42(m,4H),6.99(br.s,2H),4.96(s,2H),4.05(br.s,1H),3.26-3.39(m,2H),1.53-1.69(m,2H),0.91(t,J=7.4Hz,3H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:381。

[1319] 化合物34e-B:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:10.63(br.s,1H),7.33-7.42(m,4H),6.99(br.s,2H),4.96(s,2H),4.05(br.s,1H),3.26-3.40(m,2H),1.54-1.69(m,2H),0.91(t,J=7.5Hz,3H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:381。

[1320] 步骤6:6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-N-丁基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]嘌呤-7-甲酰胺(实施例34-A和实施例34-B)



[1322] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物34e-A和N-丁基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例34-A。

[1323] 实施例34-A(160mg):¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.37-7.45(m,4H),6.91(br.s.,2H),4.99(s,2H),4.17(s,1H),3.28-3.40(m,4H),3.05(s,2H),3.02(s,1H),1.49-1.70(m,4H),1.15-1.37(m,2H),0.89-0.94(m,5H),0.76(t,J=8Hz,1H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:494。

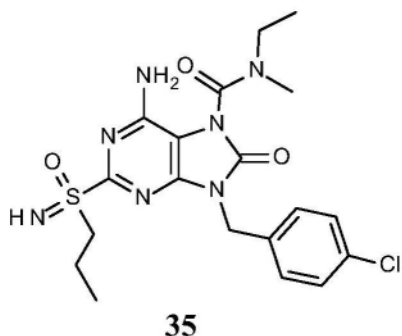
[1324] 类似于实施例34-A,通过使用化合物34e-B代替化合物34e-A来制备实施例34-B(167mg)。

[1325] 实施例34-B:¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.36-7.45(m,4H),6.91(br.s.,2H),4.99(s,2H),4.17(s,1H),3.28-3.41(m,4H),3.05(s,2H),3.02(s,1H),1.50-1.71(m,4H),1.15-1.37(m,2H),0.89-0.94(m,5H),0.76(t,J=7.4Hz,1H)。MS obsd.(ESI⁺)[(M+H)⁺]:494。

[1326] 实施例35

[1327] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺

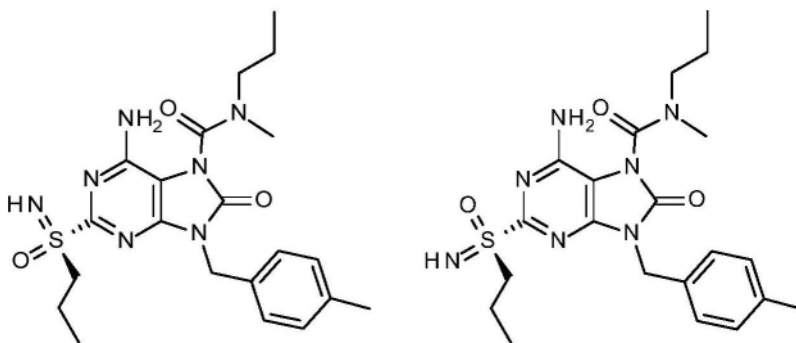
[1328]



[1329] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物34e)和N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)嘌呤-7-甲酰胺(60mg, 实施例35)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.40 (s, 4H), 6.91 (br s, 2H), 4.99 (s, 2H), 4.16 (s, 1H), 3.34-3.44 (m, 4H), 3.05 (s, 2H), 3.01 (s, 1H), 1.58-1.67 (m, 2H), 1.18 (t, J=8.0Hz, 3H), 0.92 (t, J=8.0Hz, 3H). MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 466.

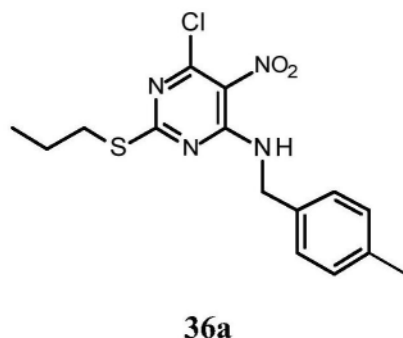
[1330] 实施例36-A和实施例36-B-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺

[1331]



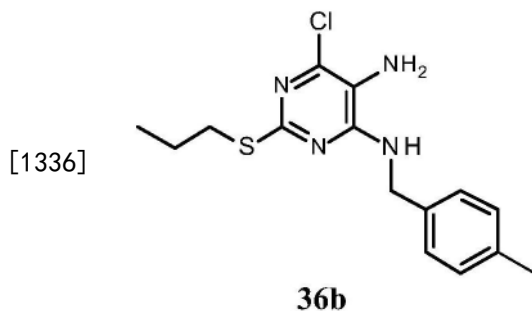
[1332] 步骤1: 制备6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-N-(对甲苯基甲基)嘧啶-4-胺(化合物36a)

[1333]



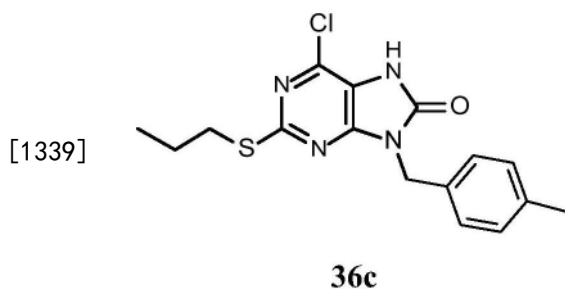
[1334] 类似于实施例1、方法B、步骤1,通过使用对甲苯基甲胺代替苯基甲胺来制备化合物36a。得到为白色固体的6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-N-(对甲苯基甲基)嘧啶-4-胺(3.9g, 化合物36a)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 353.

[1335] 步骤2: 制备6-氯-2-丙基硫烷基-N4-(对甲苯基甲基)嘧啶-4,5-二胺(化合物36B)



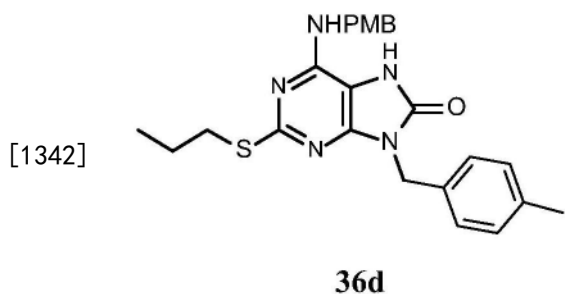
[1337] 类似于实施例1、方法B、步骤2,通过使用6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-N-(对甲苯基甲基)嘧啶-4-胺(化合物36a)代替N-苄基-6-氯-5-硝基-2-丙基硫烷基-嘧啶-4-胺(化合物1f)来制备化合物36b。得到为白色固体的6-氯-2-丙基硫烷基-N4-(对甲苯基甲基)嘧啶-4,5-二胺(2.2g,化合物36b)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:323。

[1338] 步骤3:制备6-氯-2-丙基磺酰基-9-(p-甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36C)



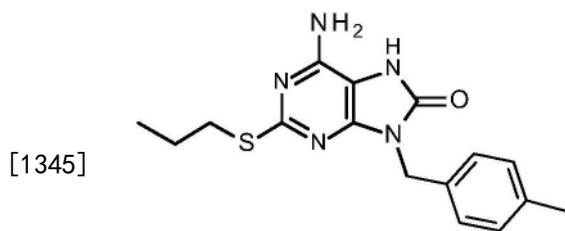
[1340] 类似于实施例1、方法B、步骤3,通过使用6-氯-2-丙基硫烷基-N4-(对甲苯基甲基)嘧啶-4,5-二胺(化合物36b)代替N-苄基-6-氯-2-(丙基硫烷基)嘧啶-4,5-二胺(化合物1g)来制备化合物36c。得到为白色固体的6-氯-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(2.2g,化合物36c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:349。

[1341] 步骤4:制备6-[(4-甲氧基苯基)甲基氨基]-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36d)



[1343] 类似于实施例1、方法B、步骤4,通过使用6-氯-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36c)代替9-苄基-6-氯-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1h)来制备化合物36d。得到为白色固体的6-[(4-甲氧基苯基)甲基氨基]-2-丙基磺酰基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(2.0g,化合物36d)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:450。

[1344] 步骤5:制备6-氨基-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36e)

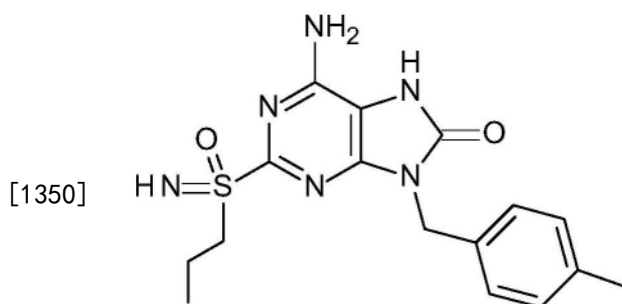
**36e**

[1346] 类似于实施例1、方法B、步骤5,通过使用6-[(4-甲氧基苯基)甲基氨基]-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36d)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1i)来制备化合物36e。得到为白色固体的6-氨基-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(1.0g,化合物36e)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:330。步骤6:制备6-氨基-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36f)

**36f**

[1348] 类似于实施例1、方法B、步骤6,通过使用6-氨基-2-丙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36e)代替6-氨基-9-苄基-2-(2-丙基硫烷基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)来制备化合物36f。得到为白色固体的6-氨基-2-丙基亚磺酰基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(220mg,化合物36f)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:345。

[1349] 步骤7:制备6-氨基-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36g)

**36g**

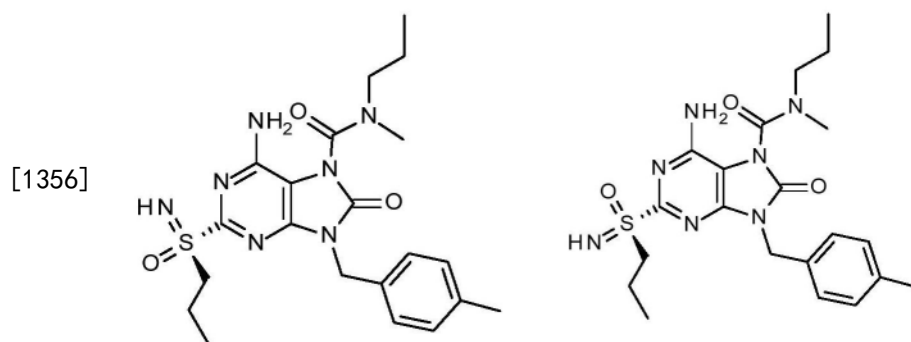
[1351] 类似于实施例1、方法B、步骤7,通过使用6-氨基-2-丙基亚磺酰基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36f)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)来制备化合物36g。得到为白色固体的6-氨基-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(127mg,化合物36g)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.67 (br. s., 1H), 7.23 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.13 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.98 (br. s., 2H), 4.91 (s, 2H), 4.05 (s, 1H), 3.34-3.27 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.67-1.62 (m, 2H), 0.92 (t, J=8.0Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:361。

[1352] 用30%异丙醇(0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离化合物36g,得到为白色固体的化合物36g-A(较快洗脱,50mg)和化合物36g-B(较慢洗脱,49mg)。

[1353] 化合物36g-A:¹H NMR:(400MHz,DMSO-d₆) δppm:10.51(s,1H),7.22(d,J=8.0Hz,2H),7.12(d,J=8.0Hz,2H),7.00(s,2H),4.91(s,2H),4.03(s,1H),3.35-3.31(m,2H),2.26(s,3H),1.70-1.58(m,2H),0.93(t,J=7.40Hz,3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:361。

[1354] 化合物36g-B:¹H NMR:(400MHz,DMSO-d₆) δppm:10.54(s,1H),7.23(d,J=8.0Hz,2H),7.13(d,J=8.0Hz,2H),6.97(s,2H),4.91(s,2H),4.04(s,1H),3.34-3.30(m,2H),2.26(s,3H),1.72-1.57(m,2H),0.93(t,J=7.40Hz,3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:361。

[1355] 步骤8:制备6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-N-甲基-8-氧代-N-丙基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例36-A和实施例36-B)

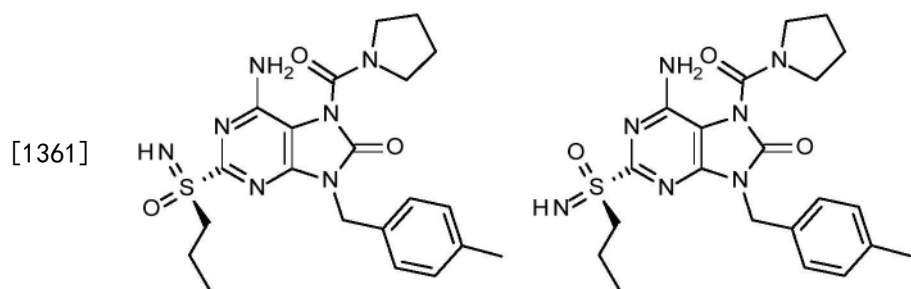


[1357] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物36g-A代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例36-A。得到为白色固体的实施例36-A(108mg)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.27(d,J=8Hz,2H),7.14(d,J=8Hz,2H),6.87(br.s.,2H),4.95(s,2H),4.15(s,1H),3.33-3.57(m,4H),3.05(s,2H),3.02(s,1H),2.26(s,3H),1.52-1.73(m,4H),0.75-0.97(m,6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:460。

[1358] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物36g-B代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例36-B。实施例36-B(125mg):¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.27(d,J=8Hz,2H),7.14(d,J=8Hz,2H),6.87(br.s.,2H),4.95(s,2H),4.15(s,1H),3.33-3.57(m,4H),3.05(s,2H),3.02(s,1H),2.26(s,3H),1.52-1.73(m,4H),0.75-0.97(m,5H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:460。

[1359] 实施例37-A和实施例37-B

[1360] 6-氨基-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮和6-氨基-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)-7-(吡咯烷-1-羰基)嘌呤-8-酮



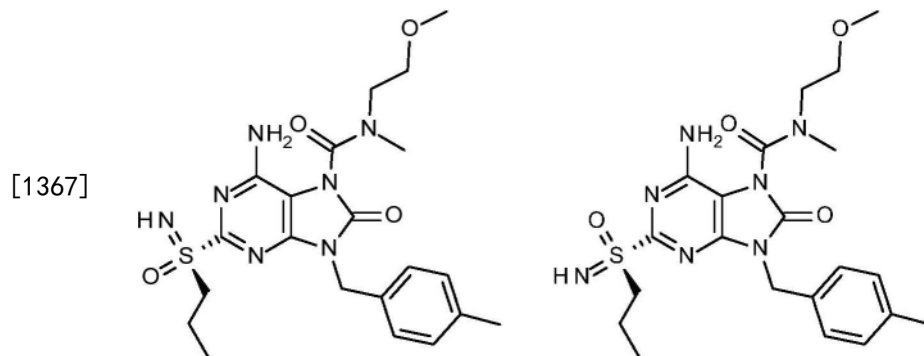
[1362] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物36g-A和吡咯烷-1-羰基氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例37-A。

[1363] 获得为白色固体的实施例37-A(390mg)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:7.31-7.11(m, 4H), 7.04(s, 2H), 4.95(s, 2H), 4.15(s, 1H), 3.65-3.47(m, 4H), 3.37(m, 2H), 2.27(s, 3H), 1.97-1.81(m, 4H), 1.71-1.59(m, 2H), 0.94(t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:458.2。

[1364] 类似于实施例37-A,通过使用化合物36g-B代替化合物36g-A来制备实施例37-B(125mg)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:7.28-7.14(m, 4H), 7.04(s, 2H), 4.95(s, 2H), 4.15(s, 1H), 3.65-3.47(m, 4H), 3.37(m, 2H), 2.27(s, 3H), 1.93-1.84(m, 4H), 1.65-1.60(m, 2H), 0.95(t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:458.3。

[1365] 实施例38-A和实施例38-B

[1366] 6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(S)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-8-氧代-2-[S(R)-丙基磺亚氨酰基]-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺



[1368] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物36g-A和N-(2-甲氧基乙基)-N-甲基-氨基甲酰氯(中间体AB)代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例38-A。

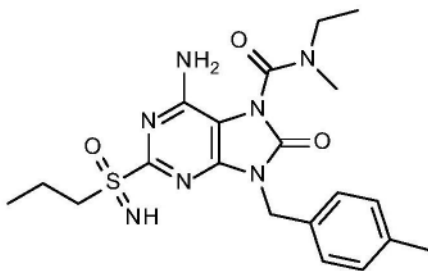
[1369] 获得为白色固体的实施例38-A(57.8mg)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:7.26(d, J=7.6Hz, 2H), 7.14(d, J=7.6Hz, 2H), 6.89-6.78(m, 2H), 4.95(s, 2H), 4.18(s, 1H), 3.62-3.58(m, 2H), 3.43-3.37(m, 2H), 3.30-3.10(m, 3H), 3.09-3.08(m, 3H), 3.08-3.05(m, 2H), 2.27(s, 3H), 1.77-1.54(m, 2H), 0.95(t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:476.3。

[1370] 类似于实施例38-A,通过使用化合物36g-B代替化合物36g-A来制备实施例38-B(46.6mg)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:7.26(d, J=7.6Hz, 2H), 7.14(d, J=7.6Hz, 2H), 6.89-6.78(m, 2H), 4.95(s, 2H), 4.18(s, 1H), 3.62-3.58(m, 2H), 3.43-3.37(m, 2H), 3.30-3.10(m, 3H), 3.09-3.08(m, 3H), 3.08-3.05(m, 2H), 2.27(s, 3H), 1.77-1.54(m, 2H), 0.95(t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:476.3。

[1371] 实施例39

[1372] 6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺

[1373]



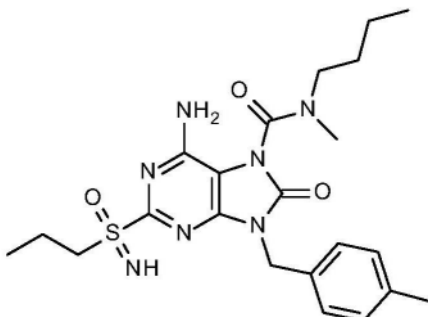
39

[1374] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯和6-氨基-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36g)代替N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)和6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备标题化合物。得到为浅黄色固体的6-氨基-N-乙基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(141.8mg, 实施例39)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.26 (d, J=7.9Hz, 2H), 7.15 (d, J=7.9Hz, 2H), 6.89 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.24-4.07 (m, 1H), 3.52-3.35 (m, 4H), 3.10-2.95 (m, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.77-1.55 (m, 2H), 1.24-1.10 (m, 3H), 0.95 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 446.1。

[1375] 实施例40

[1376] 6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺

[1377]



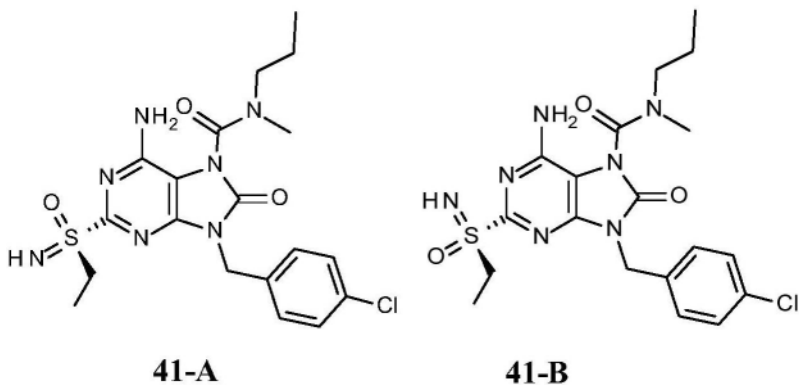
40

[1378] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用6-氨基-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物36g)和N-丁基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备标题化合物。得到为白色固体的6-氨基-N-丁基-N-甲基-8-氧代-2-(丙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(32mg, 实施例40)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.28-7.14 (m, 4H), 6.88 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.16 (s, 1H), 3.41-3.36 (m, 2H), 3.10-2.99 (m, 3H), 2.53-2.51 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.71-1.63 (m, 2H), 1.62-1.51 (m, 2H), 1.42-1.26 (m, 2H), 0.97-0.74 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 474.3。

[1379] 实施例41-A和实施例41-B

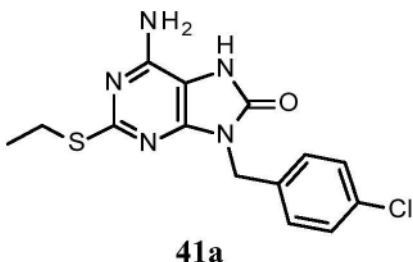
[1380] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例41-A)和6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例41-B)

[1381]



[1382] 步骤1:制备6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-乙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物41a)

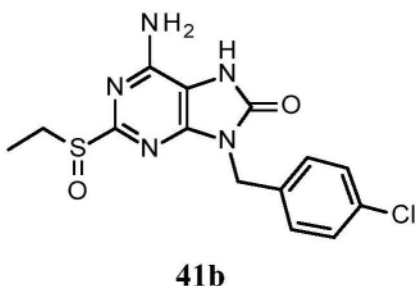
[1383]



[1384] 类似于实施例1、方法A、步骤3,通过使用碘乙烷和6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物34b)代替溴丙烷和6-氨基-9-苄基甲基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1b)来制备化合物41a。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-乙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(2.5g,化合物41a)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:336。

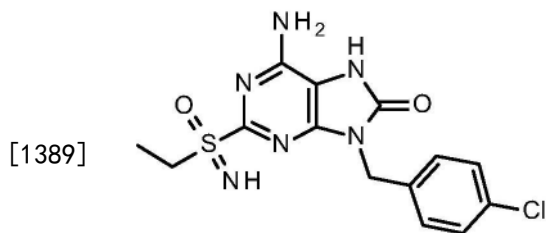
[1385] 步骤2:制备6-氨基-9-(4-氯苄基)-2-乙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物41b)

[1386]



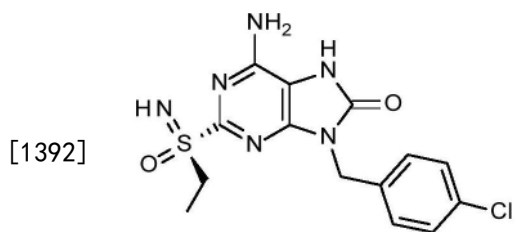
[1387] 类似于实施例1、方法A、步骤4,通过使用6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-乙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物41a)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)来制备化合物41b。得到为白色固体的6-氨基-9-(4-氯苄基)-2-乙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(1.94g,化合物41b)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:352。

[1388] 步骤3:制备6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物41c)

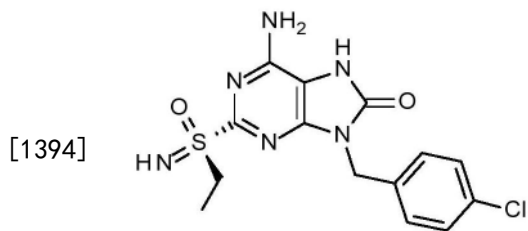
**41c**

[1390] 类似于实施例1、方法A、步骤5,通过使用6-氨基-9-(4-氯苄基)-2-乙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物41b)代替6-氨基-9-苄基-2-(2-甲基亚磺酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)来制备化合物41c。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-(乙基磺亚氨基)-7H-嘌呤-8-酮(217mg, 实施例41c)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.61 (s, 1H), 7.42-7.35 (m, 4H), 6.98 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.05 (s, 1H), 3.42-3.37 (m, 2H), 1.16 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 367.0。

[1391] 用5%-40%甲醇(0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak IC-3色谱柱,通过手性HPLC分离化合物41c的化合物,得到为白色固体的化合物41c-A(较快洗脱, 31.8mg)和化合物41c-B(较慢洗脱, 10mg)。

**41c-A**

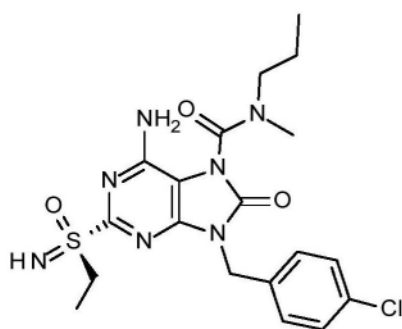
[1393] 化合物41c-A:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.76 (s, 1H), 7.45-7.33 (m, 4H), 7.01 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.40-3.34 (m, 2H), 1.17 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 367.0。

**41c-B**

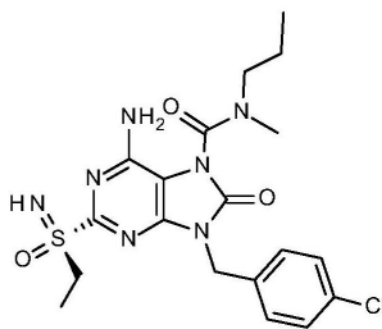
[1395] 化合物41c-B:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.70 (s, 1H), 7.46-7.28 (m, 4H), 7.01 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.44-3.36 (m, 2H), 1.17 (t, J=7.4Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 367.0。

[1396] 步骤4:6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例41-A)和6-氨基-9-[(4-氯苄基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例41-B)

[1397]



41-A



41-B

[1398] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物41c-B代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例41-A。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例41-A,78mg)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:7.43-7.41 (m, 4H), 6.90 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.46-3.39 (m, 2H), 3.39-3.38 (m, 2H), 3.09-2.99 (m, 3H), 1.69-1.52 (m, 2H), 1.19 (t, $J=7.28\text{Hz}$, 3H), 0.95-0.66 (m, 3H)。MS obsd. (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]:466.1。

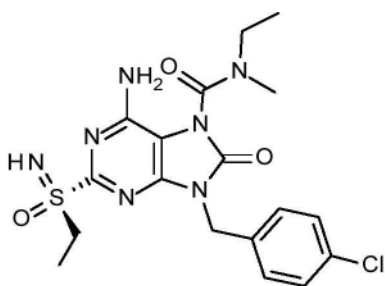
[1399] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物41c-A代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例41-B(125mg)。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例41-B,38mg)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:7.43-7.41 (m, 4H), 6.90 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 4.20 (s, 1H), 3.46-3.41 (m, 2H), 3.40-3.39 (m, 2H), 3.10-3.00 (m, 3H), 1.69-1.50 (m, 2H), 1.24-1.12 (m, 3H), 0.93-0.73 (m, 3H)。MS obsd. (ESI^+) [$(\text{M}+\text{H})^+$]:466.2。

[1400] 通过图1所示的单晶X射线衍射确定实施例41-B的立体化学。

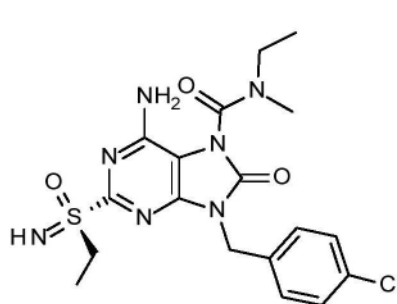
[1401] 实施例42-A和实施例42-B

[1402] 6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例42-A)和6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例42-B)

[1403]



42-A



42-B

[1404] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物41c-A和N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例42-A。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例42-A, 40mg)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm:7.43-7.41 (m, 4H), 6.90 (s, 2H), 4.99 (s, 2H), 4.18 (s,

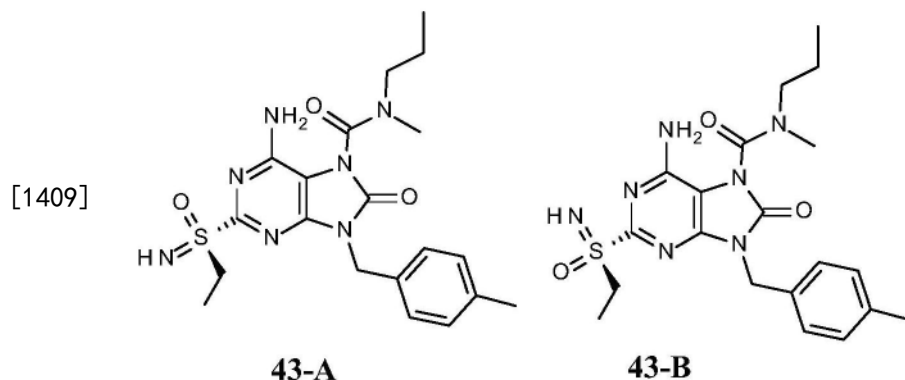
1H), 3.48-3.40 (m, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.05-3.01 (m, 3H), 1.20-1.14 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 452.2。

[1405] 类似于实施例1、方法A、步骤6, 通过使用化合物41c-B和N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例42-B。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例42-B, 38mg)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.43-7.41 (m, 4H), 6.91 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.19 (s, 1H), 3.48-3.40 (m, 2H), 3.39 (s, 2H), 3.09-2.97 (m, 3H), 1.23-1.11 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 452.2。

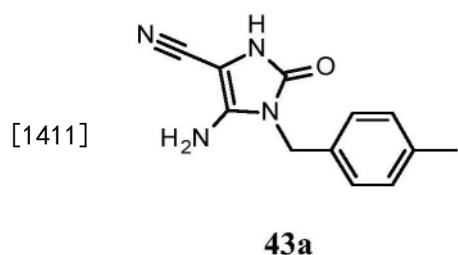
[1406] 通过图2所示的单晶X射线衍射确定实施例42-A的立体化学。

[1407] 实施例43-A和实施例43-B

[1408] 6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例43-A)和6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例43-B)

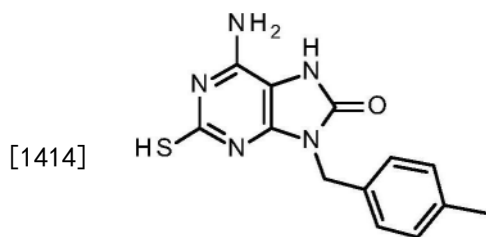


[1410] 步骤1: 制备4-氨基-2-氧代-3-(对甲苯基甲基)-1H-咪唑-5-甲腈(化合物43a)



[1412] 类似于实施例1、方法A、步骤1, 通过使用4-甲基苄基异氰酸酯代替苄基异氰酸酯来制备化合物43a。得到为灰色固体的4-氨基-2-氧代-3-(对甲苯基甲基)-1H-咪唑-5-甲腈(26.6g, 化合物43a), 其无需进一步纯化即可直接用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 229.2。

[1413] 步骤2: 制备6-氨基-9-(对甲苯基甲基)-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物43b)

**43b**

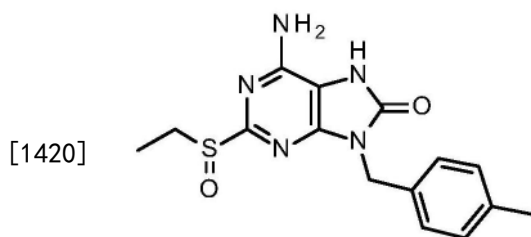
[1415] 类似于实施例1、方法A、步骤2,通过使用4-氨基-2-氧代-3-(对甲苯基甲基)-1H-咪唑-5-甲腈(化合物43a)代替4-氨基-3-苄基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物1a)来制备化合物43b。得到为黄色固体的6-氨基-9-(对甲苯基甲基)-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(20.0g,化合物43b)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:288。

[1416] 步骤3:制备6-氨基-2-乙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物43c)

**43c**

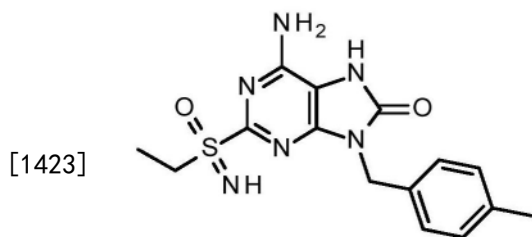
[1418] 类似于实施例1、方法A、步骤3,通过使用6-氨基-9-(对甲苯基甲基)-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物43b)和碘乙烷代替6-氨基-9-苄基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1b)和溴丙烷来制备化合物43c。得到为黄色固体的6-氨基-2-乙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(13g,化合物43c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:316。

[1419] 步骤4:制备6-氨基-2-乙基亚磺酰基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物43d)

**43d**

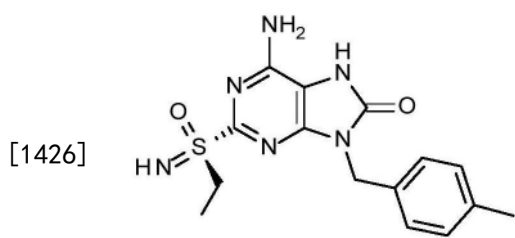
[1421] 类似于实施例1、方法A、步骤4,通过使用6-氨基-2-乙基硫烷基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物43c)代替6-氨基-9-苄基-2-甲基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)来制备化合物43d。得到为黄色固体的6-氨基-2-乙基亚磺酰基-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(3.5g,化合物43d)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:332。

[1422] 步骤5:制备6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物43e)

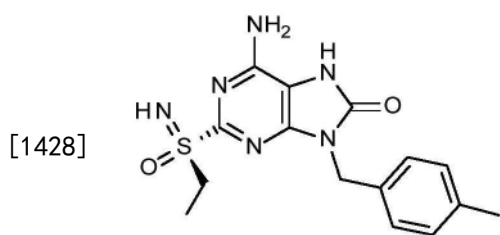
**43e**

[1424] 类似于实施例1、方法A、步骤5,通过使用6-氨基-2-乙基亚磺酰基-9-(对甲苯甲基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物43d)代替6-氨基-9-苄基-2-甲基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)来制备化合物43e。得到为黄色固体的6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-(对甲苯基甲基)-7H-嘌呤-8-酮(530mg, 化合物43e)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.53 (s, 1H), 7.24 (d, J=8.03Hz, 2H), 7.13 (d, J=8.03Hz, 2H), 6.94 (br. s., 2H), 4.91 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.36-3.41 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.18 (t, J=7.28Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 347。

[1425] 用5%-40% (0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离化合物43e的化合物,得到为白色固体的化合物43e-A(较快洗脱, 56.8mg)和化合物43e-B(较慢洗脱, 56.7mg)。

**43e-A**

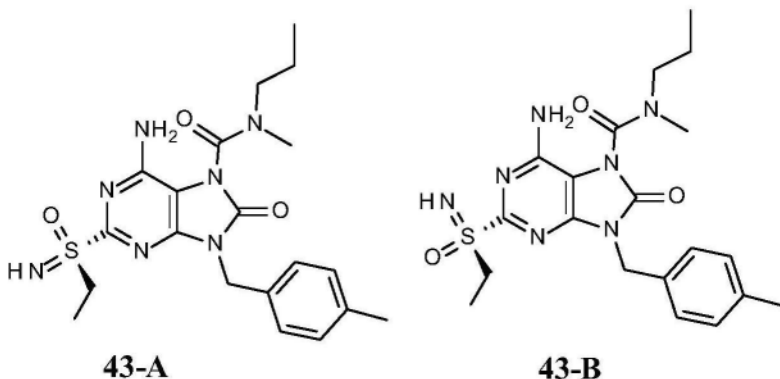
[1427] 化合物43e-A:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.52 (br. s., 1H), 7.23 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.13 (d, J=7.9Hz, 2H), 6.94 (br. s., 2H), 4.90 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.42-3.33 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.17 (t, J=7.3Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 347。

**43e-B**

[1429] 化合物43e-B:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 10.56 (br. s., 1H), 7.23 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.13 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.95 (br. s., 2H), 4.90 (s, 2H), 4.03 (s, 1H), 3.44-3.29 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.17 (t, J=7.3Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 347。

[1430] 步骤6:制备6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例43-A)和6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例43-B)

[1431]



[1432] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物43e-A代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例43-A。得到为白色固体的6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例43-A,58.1mg,较快洗脱,ChiralPak AD-3色谱柱,异丙醇5%至40%(0.05%DEA)/CO₂)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.28(d,J=7.8Hz,2H),7.15(d,J=7.8Hz,2H),6.88(br.s.,2H),5.03-4.87(m,2H),4.19(s,1H),3.61-3.36(m,4H),3.11-2.96(m,3H),2.26(s,3H),1.72-1.45(m,2H),1.20(t,J=7.2Hz,3H),0.97-0.65(m,3H)。MS obsd.(ESI⁺ [(M+H)⁺):446。

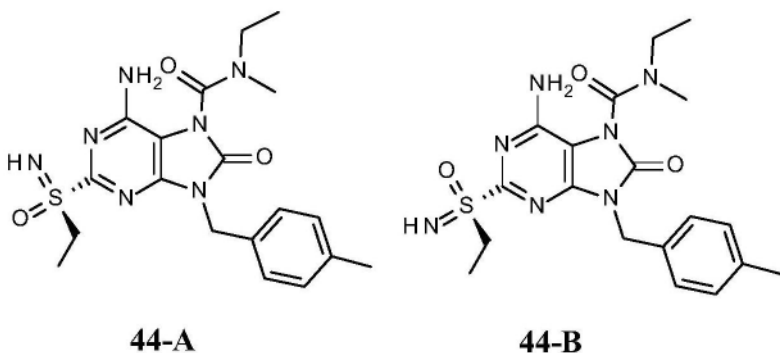
[1433] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物43e-B代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例43-B。得到为白色固体的6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例43-B,40.1mg,较慢洗脱,ChiralPak AD-3色谱柱,异丙醇5%-40%(0.05%DEA)/CO₂)。¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δppm:7.28(d,J=7.5Hz,2H),7.15(d,J=7.5Hz,2H),6.89(br.s.,2H),5.03-4.86(m,2H),4.19(s,1H),3.49-3.37(m,4H),3.08-3.00(m,3H),2.27(s,3H),1.70-1.48(m,2H),1.20(t,J=7.2Hz,3H),0.95-0.71(m,3H)。MS obsd.(ESI⁺ [(M+H)⁺):446.3。

[1434] 通过图3所示的单晶X射线衍射确定实施例43-B的立体化学。

[1435] 实施例44-A和实施例44-B

[1436] 6-氨基-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例44-A)和6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例44-B)

[1437]



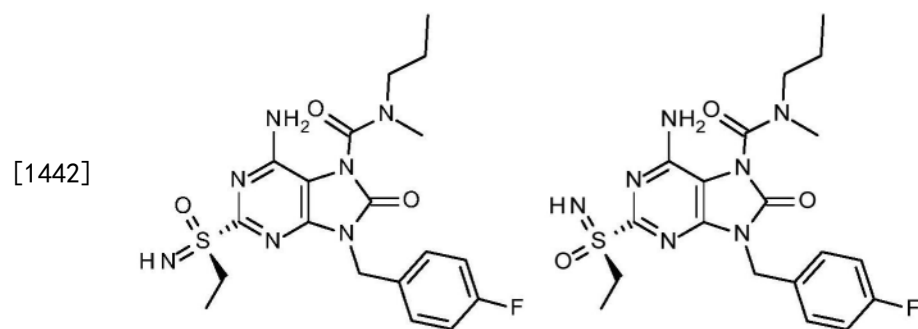
[1438] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物43e-B和N-乙基-N-甲基氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-

氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例44-A。得到为白色固体的6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例44-A,73.1mg)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.28 (d, J=7.8Hz, 2H), 7.15 (d, J=7.8Hz, 2H), 6.90 (br. s., 2H), 4.95 (s, 2H), 4.19 (br. s., 1H), 3.48-3.39 (m, 4H), 3.06-3.00 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.29-1.04 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 432。

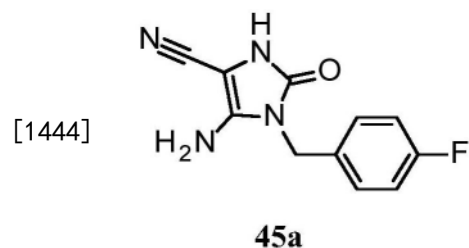
[1439] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用化合物43e-A和N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例44-B。得到为白色固体的6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-9-(对甲苯基甲基)嘌呤-7-甲酰胺(实施例44-B,46.7mg):¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.28 (d, J=7.9Hz, 2H), 7.15 (d, J=7.9Hz, 2H), 6.90 (br. s., 2H), 4.95 (s, 2H), 4.19 (br. s., 1H), 3.50-3.39 (m, 4H), 3.10-2.96 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.27-1.10 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 432。

[1440] 实施例45-A和实施例45-B

[1441] 6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺

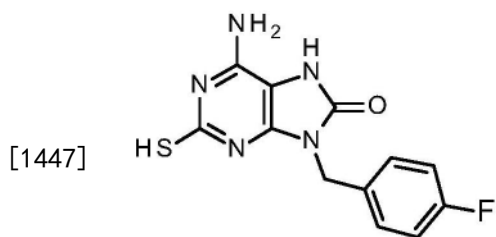


[1443] 步骤1:制备4-氨基-3-[(4-氟苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物45a)



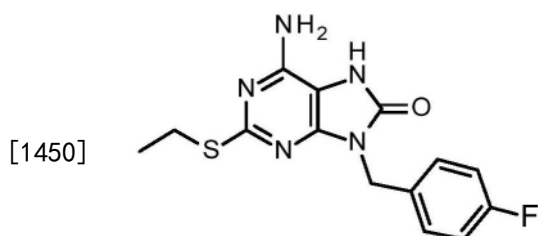
[1445] 类似于实施例1、方法A、步骤1,通过使用4-氟苄基异氰酸酯代替苄基异氰酸酯来制备化合物45a。得到为浅黄色固体的4-氨基-3-[(4-氟苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(48g,化合物45a),其无需进一步纯化即可直接用于下一步。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 233。

[1446] 步骤2:制备6-氨基-9-[(4-氟苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物45b)

**45b**

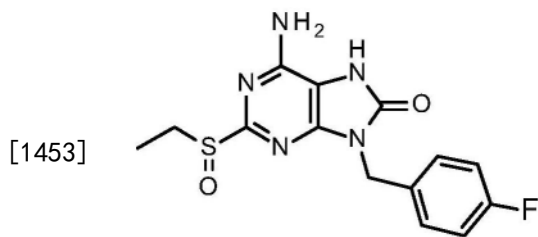
[1448] 类似于实施例1、方法A、步骤2,通过使用4-氨基-3-[(4-氟苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物45a)代替4-氨基-3-苄基甲基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物1a)来制备化合物45b。得到为黄色固体的6-氨基-9-[(4-氟苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(32.0g,化合物45b)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:292。

[1449] 步骤3:制备6-氨基-2-乙基硫烷基-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45c)

**45c**

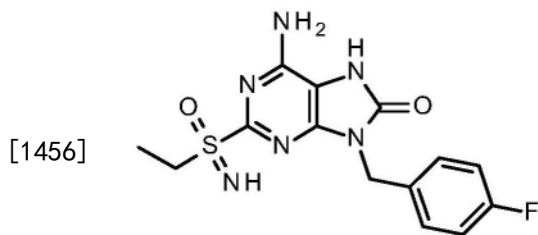
[1451] 类似于实施例1、方法A、步骤3,通过使用6-氨基-9-[(4-氟苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物45b)和碘代乙烷代替6-氨基-9-苄基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1b)和溴丙烷来制备化合物45c。得到为黄色固体的6-氨基-2-乙基硫烷基-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(5.6g,化合物45c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:320。

[1452] 步骤5:制备6-氨基-2-乙基亚磺酰基-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45d)

**45d**

[1454] 类似于实施例1、方法A、步骤4,通过使用6-氨基-2-乙基磺酰基-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45c)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)来制备化合物45d。得到为黄色固体的6-氨基-2-乙基亚磺酰基-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(4.8g,化合物45d)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:332。

[1455] 步骤6:制备6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45e)



45e

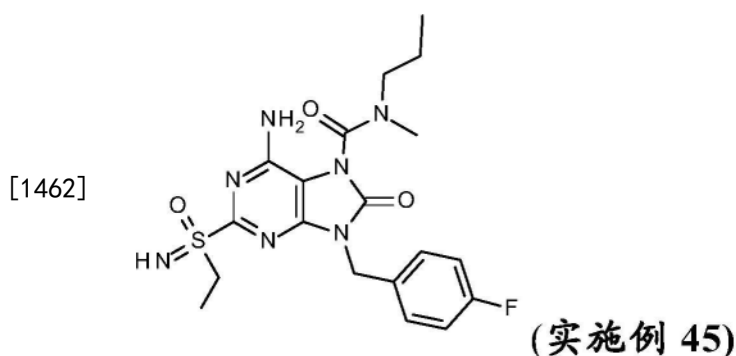
[1457] 类似于实施例1、方法A、步骤5,通过使用6-氨基-2-乙基亚磺酰基-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45d)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)来制备化合物45e。得到为黄色固体的6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(2.9g, 化合物45e)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10.57 (br. s., 1H), 7.40 (dd, $J=8.5, 5.5\text{Hz}$, 2H), 7.16 (t, $J=8.9\text{Hz}$, 2H), 6.97 (br. s., 2H), 4.94 (s, 2H), 4.07 (s, 1H), 3.43-3.36 (m, 2H), 1.17 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 351。

[1458] 用5%-40%甲醇(0.05%DEA)/CO $_2$ 、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离化合物45e的化合物,得到为白色固体的化合物45e-A(较快洗脱, 85.4mg)和化合物45e-B(较慢洗脱, 36.4mg)。

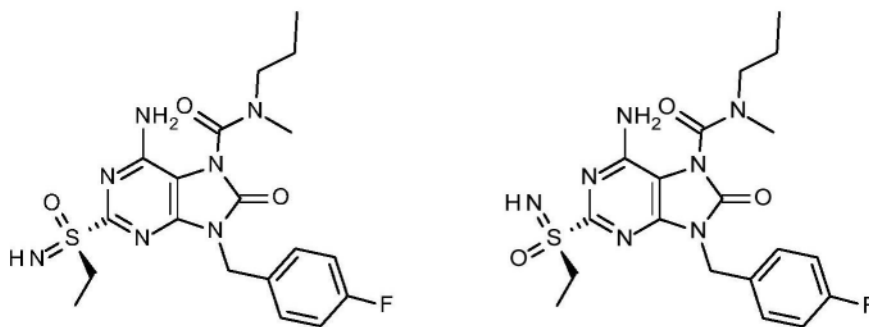
[1459] 化合物45e-A: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10.53 (br. s., 1H), 7.41 (dd, $J=8.5, 5.5\text{Hz}$, 2H), 7.17 (t, $J=8.9\text{Hz}$, 2H), 6.98 (br. s., 2H), 4.95 (s, 2H), 4.07 (s, 1H), 3.45-3.36 (m, 2H), 1.17 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 351。

[1460] 化合物45e-B: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 10.53 (br. s., 1H), 7.41 (dd, $J=8.5, 5.5\text{Hz}$, 2H), 7.17 (t, $J=8.9\text{Hz}$, 2H), 6.98 (br. s., 2H), 4.95 (s, 2H), 4.07 (s, 1H), 3.44-3.37 (m, 2H) 1.17 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H)。MS obsd. (ESI $^+$) [(M+H) $^+$]: 351。

[1461] 步骤7:制备6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例45)、6-氨基-2-[S(R)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-2-[S(S)乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例45-A和实施例45-B)。



[1463]

**(实施例 45-A 和实施例 45-B)**

[1464] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45e)代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例45。得到为白色固体的6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(162.4mg,实施例45)。

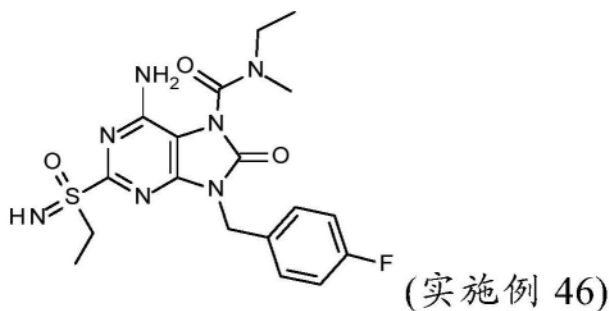
[1465] 用甲醇5%-40%(0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离实施例45的化合物,得到为白色固体的实施例45-A(较快洗脱,85.3mg)和实施例45-B(较慢洗脱,52mg)。

[1466] 实施例45-A:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:7.53-7.38(m, 2H), 7.18(t, J=8.9Hz, 2H), 6.90(br. s., 2H), 4.99(s, 2H), 4.21(s, 1H), 3.48-3.37(m, 4H), 3.10-3.01(m, 3H), 1.69-1.49(m, 2H), 1.25-1.14(m, 3H), 0.94-0.72(m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:450。

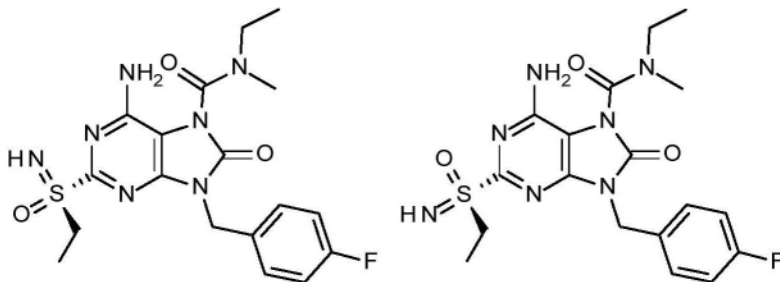
[1467] 实施例45-B:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:7.54-7.38(m, 2H), 7.18(t, J=8.9Hz, 2H), 7.01-6.72(m, 2H), 4.99(s, 2H), 4.21(s, 1H), 3.46-3.38(m, 4H), 3.10-3.01(m, 3H), 1.76-1.50(m, 2H), 1.25-1.16(m, 3H), 0.99-0.69(m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:450。

[1468] 实施例46-A和实施例46-B

[1469] 6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例46)、6-氨基-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨酰基)]-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例46-A和实施例46-B)。



[1470]



(实施例 46-A 和实施例 46-B)

[1471] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用6-氨基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物45e)和N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)制备实施例46。得到为白色固体的6-氨基-N-乙基-2-(乙基磺亚氨酰基)-9-[(4-氟苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(51mg,实施例46)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.46-7.43 (m, 2H), 7.20-7.15 (m, 2H), 6.90 (br. s., 2H), 4.98 (s, 2H), 4.18 (s, 1H), 3.47-3.32 (m, 4H), 3.05-3.01 (m, 3H), 1.21-1.14 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 436。

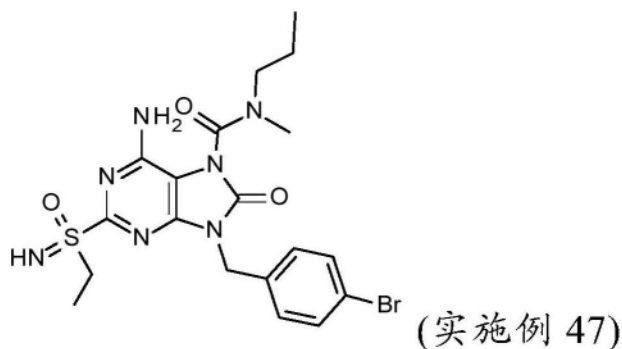
[1472] 用甲醇5%-40% (0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离实施例46的化合物,得到为白色固体的实施例46-A(较快洗脱,72mg)和实施例46-B(较慢洗脱,45mg)。

[1473] 实施例46-A:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.46-7.43 (m, 2H), 7.20-7.16 (m, 2H), 6.90 (br. s., 2H), 4.98 (s, 2H), 4.18 (s, 1H), 3.47-3.32 (m, 4H), 3.05-3.01 (m, 3H), 1.21-1.14 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 436。

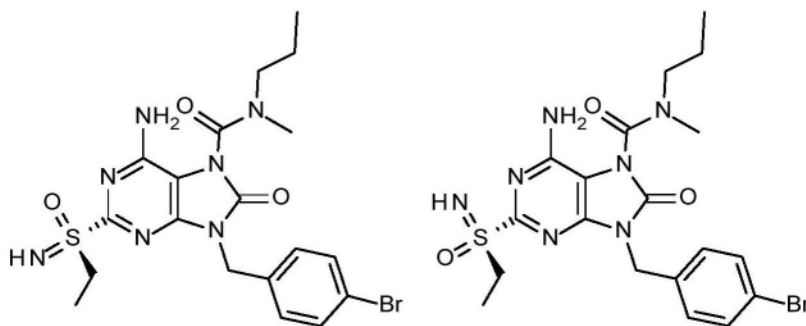
[1474] 实施例46-B:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 7.46-7.43 (m, 2H), 7.20-7.14 (m, 2H), 6.92 (br. s., 2H), 4.98 (s, 2H), 4.20 (br. s., 1H), 3.47-3.32 (m, 4H), 3.05-3.01 (m, 3H), 1.23-1.19 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 436。

[1475] 实施例47-A和实施例47-B

[1476] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例47)、6-氨基-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺

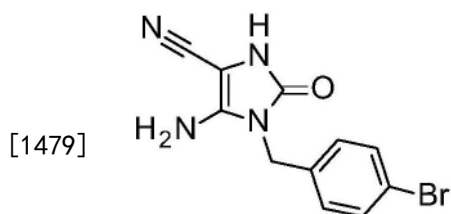


[1477]



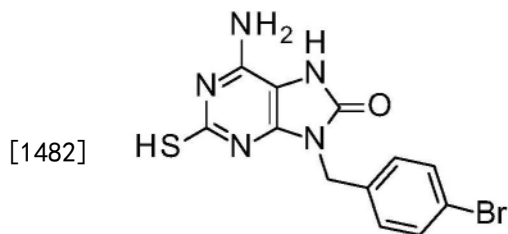
(实施例 47-A 和实施例 47-B)

[1478] 步骤1:制备4-氨基-3-[(4-溴苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物47a)

**47a**

[1480] 类似于实施例1、方法A、步骤1,通过使用4-溴苄基异氰酸酯代替苄基异氰酸酯来制备化合物47a。得到为浅黄色固体的4-氨基-3-[(4-溴苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(500mg,化合物47a),其无需进一步纯化即可直接用于下一步。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ ppm:9.94(s, 1H), 7.55-7.53(d, J=8.0Hz, 2H), 7.20-7.18(d, J=8.0Hz, 2H), 6.52(br. s., 2H), 4.74(s, 2H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:293。

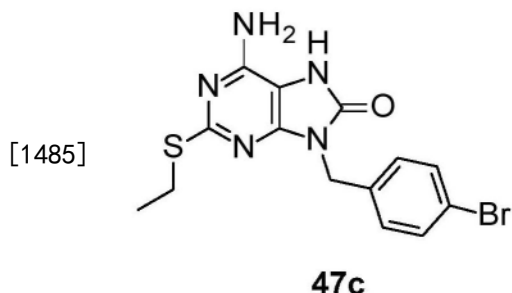
[1481] 步骤2:制备6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物47b)

**47b**

[1483] 类似于实施例1、方法A、步骤2,通过使用4-氨基-3-[(4-溴苯基)甲基]-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物47a)代替4-氨基-3-苄基甲基-2-氧代-1H-咪唑-5-甲腈(化合物1a)来制备化合物47b。得到为黄色固体的6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤

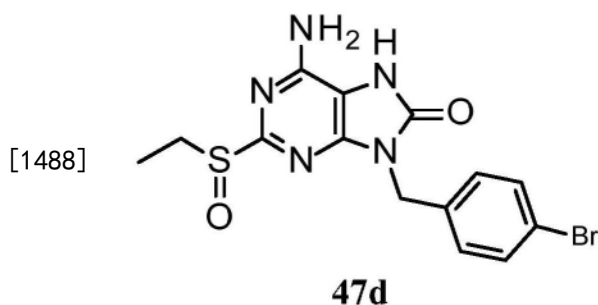
呤-8-酮(300mg,化合物47b)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:352。

[1484] 步骤3:制备6-氨基-2-乙基硫烷基-9-[(4-溴苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(化合物47c)



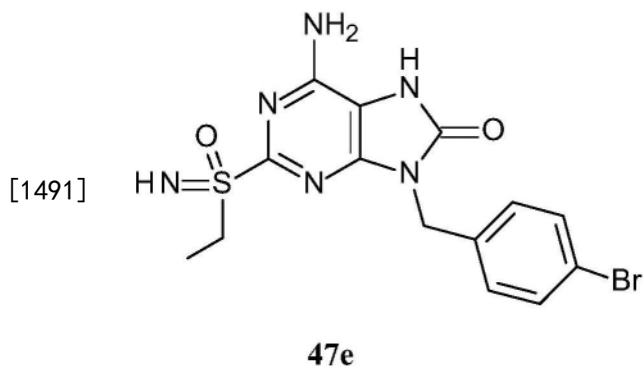
[1486] 类似于实施例1、方法A、步骤3,通过使用6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物45b)和碘乙烷代替6-氨基-9-苄基-2-硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1b)和溴丙烷来制备化合物47c。得到为黄色固体的6-氨基-2-乙基硫烷基-9-[(4-溴苯基)甲基]-7H-嘌呤-8-酮(5.6g,化合物47c)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:380。

[1487] 步骤4:制备6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-乙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物47d)



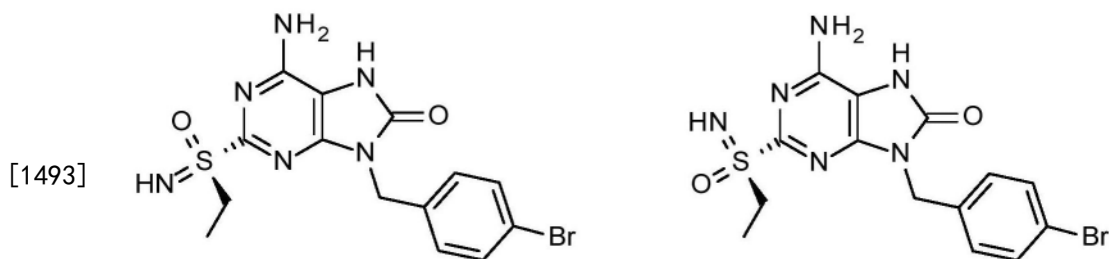
[1489] 类似于实施例1、方法B、步骤6,通过使用6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-乙基硫烷基-7H-嘌呤-8-酮(化合物47c)代替6-氨基-9-苄基-2-(2-丙基硫烷基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1c)来制备化合物47d。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-乙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(3.2g,化合物47d)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:396。

[1490] 步骤5:制备6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物47e)



[1492] 类似于实施例1、方法B、步骤7,通过使用6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-乙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物47d)代替6-氨基-9-苄基-2-丙基亚磺酰基-7H-嘌呤-8-酮(化合物1d)来制备化合物47e。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺

亚磺酰基)-7H-嘌呤-8-酮(4.0g,化合物47e)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:411。



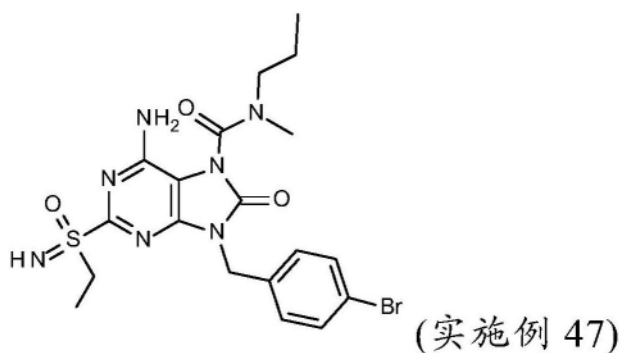
化合物 47e-A 和化合物 47e-B

[1494] 用甲醇5%-40% (0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离化合物47e的化合物,得到为白色固体的化合物47e-A(较快洗脱,112mg)和化合物47e-B(较慢洗脱,99mg)。

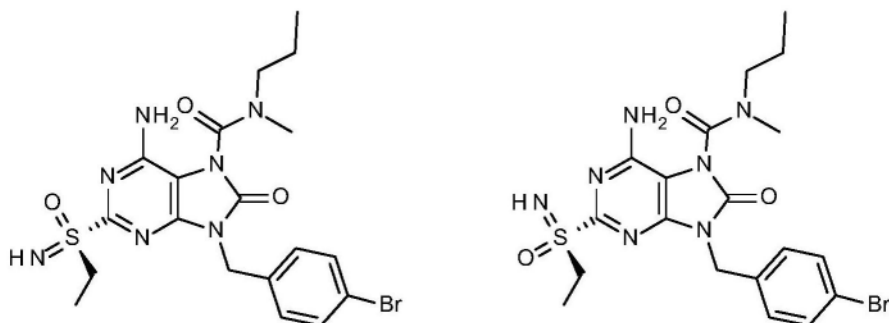
[1495] 化合物47e-A:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:10.58(br. s., 1H), 7.52-7.54(d, J=8.0, 2H), 7.31-7.29(t, J=8.0Hz, 2H), 6.54(br. s., 2H), 4.93(s, 2H), 4.05(s, 1H), 3.42-3.31(m, 2H), 1.15(t, J=7.3Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:411。

[1496] 化合物47e-B:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm:10.58(br. s., 1H), 7.54-7.52(d, J=8.0, 2H), 7.31-7.29(t, J=8.0Hz, 2H), 6.98(br. s., 2H), 4.93(s, 2H), 4.06(s, 1H), 3.40-3.37(m, 2H), 1.15(t, J=7.3Hz, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]:411。

[1497] 步骤6:制备6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例47)、6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-[S(R)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(实施例47-A和实施例47-B)。



[1498]



(实施例 47-A 和实施例 47-B)

[1499] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺

亚氨基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物47e)代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)来制备实施例47。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(570mg, 实施例47)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.56-7.53 (m, 2H), 7.36-7.34 (m, 2H), 6.92 (br. s., 2H), 4.97 (s, 2H), 4.18 (s, 1H), 3.45-3.38 (m, 4H), 3.05-3.02 (m, 3H), 1.65-1.56 (m, 2H), 1.19 (t, J=8.0Hz, 3H), 0.93-0.75 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 510。

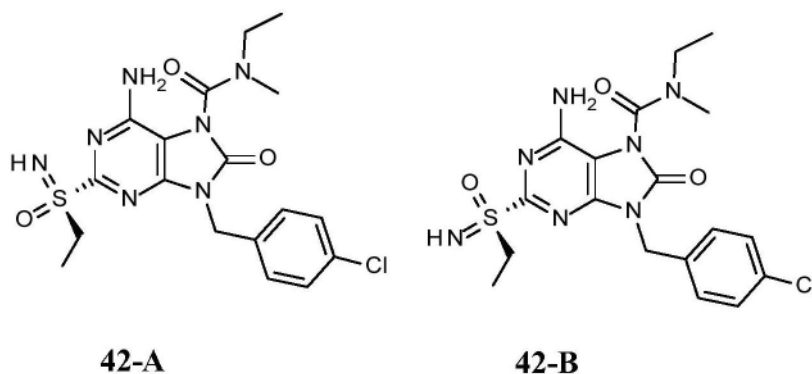
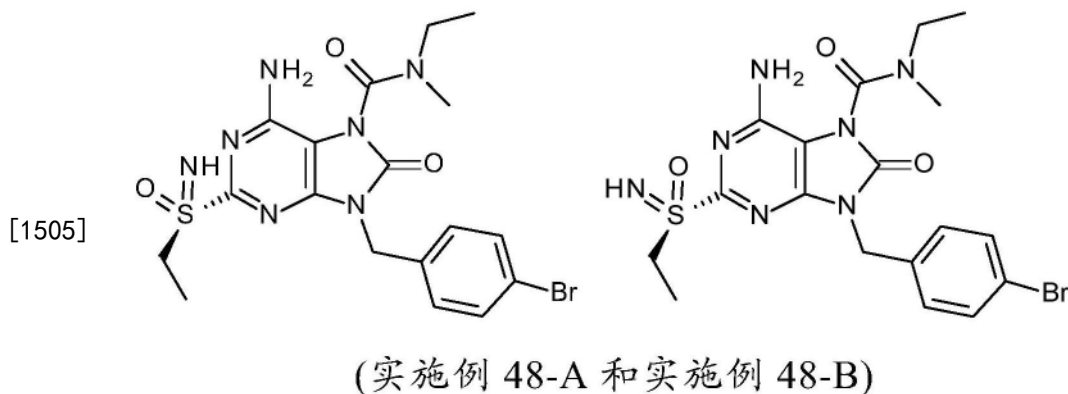
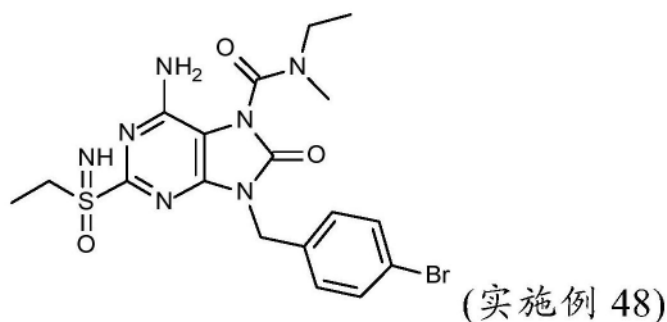
[1500] 用甲醇5%-40% (0.05%DEA)/CO₂/ChiralPak AD-3色谱柱, 通过手性HPLC分离实施例47的化合物, 得到为白色固体的实施例47-A(较快洗脱, 260mg) 和实施例47-B(较慢洗脱, 266mg)。

[1501] 实施例47-A: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.56-7.54 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.36-7.33 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.90 (br. s., 2H), 4.97 (s, 2H), 4.21 (s, 1H), 3.46-3.41 (m, 4H), 3.05-3.02 (m, 3H), 1.65-1.54 (m, 2H), 1.24-1.16 (m, 3H), 0.93-0.75 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 510。

[1502] 实施例47-B: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.54-7.53 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.36-7.33 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.90 (br. s., 2H), 4.97 (s, 2H), 4.21 (s, 1H), 3.46-3.41 (m, 4H), 3.06-3.02 (m, 3H), 1.65-1.54 (m, 2H), 1.20-1.16 (m, 3H), 0.93-0.75 (m, 3H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 510。

[1503] 实施例48-A和实施例48-B

[1504] 6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-(乙基磺亚氨基)-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例48)、6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(S)-(乙基磺亚氨基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺和6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-N-乙基-2-[S(R)-(乙基磺亚氨基)]-N-甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺(实施例48-A和实施例48-B)。



[1506] 类似于实施例1、方法A、步骤6,通过使用6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物47e)和N-乙基-N-甲基-氨基甲酰氯代替6-氨基-9-苄基-2-(丙基磺亚氨酰基)-7H-嘌呤-8-酮(化合物1e)和N-甲基-N-丙基-氨基甲酰氯(中间体AA)来制备实施例48。得到为白色固体的6-氨基-9-[(4-溴苯基)甲基]-2-(乙基磺亚氨酰基)-N-甲基-8-氧代-N-丙基-嘌呤-7-甲酰胺(469mg,实施例48)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.56-7.54(d, J=8.0Hz, 2H), 7.36-7.34(d, J=8.0Hz, 2H), 6.98(br. s., 2H), 4.97(s, 2H), 3.53-3.46(m, 4H), 3.05-3.01(m, 3H), 1.22-1.16(m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 496。

[1507] 用甲醇5%-40%(0.05%DEA)/CO₂、ChiralPak AD-3色谱柱,通过手性HPLC分离实施例48的化合物,得到为白色固体的实施例48-A(较快洗脱,198mg)和实施例48-B(较慢洗脱,202mg)。

[1508] 实施例48-A:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.56-7.54(d, J=8.0Hz, 2H), 7.36-7.34(d, J=8.0Hz, 2H), 6.92(br. s., 2H), 4.97(s, 2H), 4.19-4.18(m, 1H), 3.46-3.41(m, 4H), 3.05-3.01(m, 3H), 1.20-1.14(m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 496。

[1509] 实施例48-B:¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δppm: 7.56-7.54(d, J=8.0Hz, 2H), 7.36-7.34(d, J=8.0Hz, 2H), 6.92(br. s., 2H), 4.97(s, 2H), 4.24(br. s., 1H), 3.58-3.41(m, 4H),

3.05-3.01 (m, 3H), 1.26-1.01 (m, 6H)。MS obsd. (ESI⁺) [(M+H)⁺]: 496。

[1510] 实施例49

[1511] 化合物和实施例在HEK293-hTLR-7分析中的活性

[1512] HEK293-Blue-hTLR-7细胞分析:

[1513] 稳定的HEK293-Blue-hTLR-7细胞系购自InvivoGen (Cat.#:hkb-htlr7, San Diego, California, USA)。这些细胞被设计用于通过监测NF-κB的活化来研究人TLR7的刺激。将SEAP (分泌型胚胎碱性磷酸酶) 报告基因置于与五个NF-κB和AP-1结合位点融合的IFN-β最小启动子的控制之下。经由用TLR7配体刺激HEK-Blue hTLR7细胞活化NF-κB和AP-1来诱导SEAP。因此, 在刺激人TLR7 20小时后, 报告基因表达受到NF-κB启动子的调节。使用QUANTI-Blue™试剂盒 (Cat.#:rep-qbl, Invivogen, San Diego, Ca, USA) 在640nm波长下测定细胞培养上清液SEAP报告基因的活性, 检测介质在碱性磷酸酶的存在下变为紫色或蓝色。

[1514] 将HEK293-Blue-hTLR7细胞以250,000至450,000个细胞/mL的密度, 以180μL的体积于96孔板中在含有4.5g/L葡萄糖、50U/mL青霉素、50mg/mL链霉素、100mg/mL Normocin、2mM L-谷氨酰胺、10% (V/V) 热灭活的胎牛血清的Dulbecco改良的Eagle培养基 (DMEM) 中孵育24小时。然后, 加入20μL测试化合物的连续稀释液, 在最终1%的DMSO存在下孵育HEK293-Blue-hTLR-7细胞, 并在CO₂培养箱中于37°C下进行孵育20小时。然后将每个孔中的20μL上清液与180μL Quanti-blue底物溶液一起在37°C下孵育2小时, 并使用分光光度计在620至655nm下读取吸光度。TLR7活化导致下游NF-κB活化的信号传导途径已被广泛接受, 因此类似的报告基因分析也被广泛用于评估TLR7激动剂 (Tsuneyasu Kaisho and Takashi Tanaka, Trends in Immunology, Volume 29, Issue 7, July 2008, Pages 329. sci; Hiroaki Hemmi et al, Nature Immunology 3, 196-200 (2002))。

[1515] 如本文所述在HEK293-hTLR-7分析中测试了本发明的化合物和实施例的TLR7激动活性, 结果列于表1。发现前药的实施例的EC₅₀为约2.1μM至约1000μM, 发现活性形式的化合物的EC₅₀小于0.2μM。EC_{50(前药)}/EC_{50(活性形式)}}的计算比率在32至约7600的范围内。}

[1516] 表1. 本发明实施例和化合物在HEK293-hTLR-7分析中的活性

[1517]

前药	HEK293-hT LR-7 EC ₅₀ (前药, μM)	对应活性形 式	HEK293-hTLR- 7 EC ₅₀ (活性形式, μM)	比率 (EC ₅₀ (前 药)/EC ₅₀ (活性形式))
实施例 1	50.4	化合物 1e	0.065	775.4
实施例 1-A	42.5	化合物 1e-A	0.067	634.3
实施例 1-B	27	化合物 1e-B	0.086	314.0
实施例 2	32	化合物 1e	0.065	372.1
实施例 2-A	3.7	化合物 1e-B	0.086	43.0
实施例 2-B	4.4	化合物 1e-A	0.067	65.7
实施例 3	15.1	化合物 1e	0.065	232.3
实施例 4	23	化合物 1e	0.065	353.8
实施例 5	41	化合物 1e	0.065	630.8

[1518]

实施例 6	82.3	化合物 1e	0.065	1266.2
实施例 7	19.9	化合物 1e	0.065	306.2
实施例 8	2.1	化合物 1e	0.065	32.3
实施例 9	19.2	化合物 1e	0.065	295.4
实施例 10	68.5	化合物 1e	0.065	1053.8
实施例 11	5.6	化合物 1e	0.065	86.2
实施例 12	43.9	化合物 1e	0.065	675.4
实施例 13	67	化合物 1e	0.065	1030.8
实施例 14	2.4	化合物 1e	0.065	36.9
实施例 15	494	化合物 1e	0.065	7600
实施例 16	32.1	化合物 1e	0.065	493.8
实施例 25	24.2	化合物 1e	0.065	372.3
实施例 26	13.4	化合物 1e	0.065	206.2
实施例 27	31.7	化合物 1e	0.065	487.7
实施例 28	6.9	化合物 1e	0.065	106.2
实施例 29	48.8	化合物 1e	0.065	750.8
实施例 32	22.5	化合物 1e	0.065	346.2
实施例 34-A	6.0	化合物 34e-A	0.014	428.6
实施例 34-B	6.36	化合物 34e-B	0.011	578.2
实施例 36-A	31.8	化合物 36g-A	0.019	1673.7
实施例 37-A	26.6	化合物 36g-A	0.019	1400
实施例	47.4	化合物	0.022	2154.5

[1519]

37-B		36g-B		
实施例 38-A	26.2	化合物 36g-A	0.019	1378.9
实施例 38-B	19.5	化合物 36g-B	0.022	886.4
实施例 39	4.3	化合物 36g	0.027	159.3
实施例 40	52.8	化合物 36g	0.027	1955.6
实施例 41	36	化合物 41c	0.053	679.2
实施例 41-A	44.1	化合物 41c-B	0.085	518.8
实施例 41-B	32.1	化合物 41c-A	0.071	452.1
实施例 42-A	40.5	化合物 41c-A	0.071	570.4
实施例 42-B	49.2	化合物 41c-B	0.085	578.8
实施例 43-A	110	化合物 43e-A	0.11	1000
实施例 43-B	78.4	化合物 43e-B	0.035	2240
实施例 44-A	65.4	化合物 43e-B	0.035	1868.6
实施例 44-B	96.7	化合物 43e-A	0.11	879.1
实施例 45-A	153	化合物 45e-B 或	0.26 或 0.39	588 或 392

[1520]

		化合物 45e-A		
实施例 45-B	>1000	化合物 45e-B 或 化合物 45e-A	0.26 或 0.39	>3846 或 >2564
实施例 46-A	45.5	化合物 45e-A 或 化合物 45e-B	0.26 或 0.39	175 或 116.7
实施例 46-B	45.7	化合物 45e-B 或 化合物 45e-A	0.26 或 0.39	175.7 或 117.2
实施例 47-A	10.9	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	0.021 或 0.025	519.0 或 436
实施例 47-B	13.1	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	0.021 或 0.025	623.8 或 524
实施例 48-A	18.3	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	0.021 或 0.025	871.4 或 732

[1521]	实施例 48-B	20.8	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	0.021 或 0.025	990.5 或 832
--------	---------------------	------	--	---------------	-------------

[1522] 实施例50

[1523] 式(I)化合物的前药的代谢

[1524] 进行了研究以评估前药、式(I)化合物向其相应活性形式的代谢转化。式(I)化合物如果用作前药,则可以在体内被代谢为活性化合物或本发明的其他化合物。人肝微粒体通常用于评估动物或人体内前药的代谢转化程度。

[1525] 材料

[1526] 包括 β -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)、异柠檬酸和异柠檬酸脱氢酶的NADPH辅因子系统购自Sigma-Aldrich Co. (St.Louis,MO,USA)。人肝微粒体(Cat No.452117, Lot No.38290)获自Corning (Woburn,MA,USA)。小鼠肝微粒体(Cat No.M1000, Lot No.1310028)获自Xenotech。

[1527] 化合物的工作溶液及其他溶液

[1528] 将化合物溶解在DMSO中制成10mM储备溶液。用乙腈(990 μ L)稀释10 μ L储备溶液,得到100 μ M工作溶液。

[1529] 孵育

[1530] 将微粒体与测试化合物于37 $^{\circ}$ C下在pH 7.4的100mM磷酸钾缓冲液中预孵育10分钟。通过添加NADPH再生系统开始反应,得到200 μ L的最终孵育体积,并在37 $^{\circ}$ C的水浴中振荡。孵育混合物由肝微粒体(0.5mg微粒体蛋白/mL)、底物(1.0 μ M)和NADP(1mM)、异柠檬酸脱氢酶(1单位/mL)、异柠檬酸(6mM)组成。

[1531] 制备用于分析的样品

[1532] 在30分钟时,通过添加600 μ L冷乙腈(包括100ng/mL甲苯磺丁脲和100ng/mL拉贝洛尔作为内标物)来淬灭反应。将样品以4000rpm离心20分钟,并将所得的上清液进行LC-MS/MS分析。

[1533] 如下制备用于校准曲线的样品。将100 μ L/孔的肝微粒体和98 μ L/孔的NADPH再生系统溶液分配到96孔板中。首先添加600 μ L淬灭溶液,然后添加2 μ L标准曲线和QC工作溶液。

[1534] 生物分析

[1535] 在API4000 LC-MC/MC仪器上以ESI-正MRM模式对化合物进行定量。

[1536] 在人肝微粒体的存在下进行研究以评估前药(1 μ M):实施例1、实施例1-A、实施例1-B、实施例2、实施例2-A、实施例2-B、实施例3、实施例4、实施例5、实施例6、实施例7、实施例8、实施例9、实施例10、实施例11、实施例12、实施例13、实施例14、实施例15、实施例16、实施例17、实施例21、实施例22、实施例23、实施例25、实施例26、实施例27、实施例28、实施例29、实施例30、实施例31、实施例32、实施例33、实施例34-A、实施例34-B、实施例36-A、实施例36-B、实施例37-A、实施例37-B、实施例38-A、实施例38-B、实施例39、实施例40、实施例41、实施例41-A、实施例41-B、实施例42、实施例42-A、实施例42-B、实施例43、实施例43-A、

实施例43-B、实施例44、实施例44-A、实施例44-B和实施例45-A、实施例46-A、实施例46-B、实施例47-A、实施例47-B、实施例48-A、实施例48-B向相应活性形式：化合物1e、化合物1e-A、化合物1e-B、化合物34e-A、化合物34e-B、化合物36g-A、化合物36g-B、化合物36g、化合物41c、化合物41c-B、化合物41c-A、化合物43e、化合物43e-A、化合物43e-B、化合物45e-A、化合物45e-B、化合物47e-A和化合物47e-B的代谢转化。结果汇总并显示在表2中。

[1537] 表2. 人肝微粒体中前药的代谢转化

实施例编号	相应代谢产物(活性形式)	人肝微粒体中的代谢产物浓度(μM)	实施例编号	相应代谢产物(活性形式)	人肝微粒体中的代谢产物浓度(μM)
[1538] 实施例 1	化合物 1e	0.0214	实施例 31	化合物 1e	0.005
实施例 1-A	化合物	0.018	实施例 32	化合物 1e	0.013

[1539]

	1e-A				
实施例 1-B	化合物 1e-B	0.022	实施例 33	化合物 1e	0.59
实施例 2	化合物 1e	0.028	实 施 例 34-A	化合物 34e-A	0.2
实施例 2-A	化合物 1e-B	0.036	实 施 例 34-B	化合物 34e-B	0.088
实施例 2-B	化合物 1e-A	0.029	实 施 例 36-A	化合物 36g-A	0.02
实施例 3	化合物 1e	0.12	实 施 例 36-B	化合物 36g-B	0.019
实施例 5	化合物 1e	0.078	实 施 例 37-A	化合物 36g-A	0.004
实施例 6	化合物 1e	0.074	实 施 例 37-B	化合物 36g-B	0.002
实施例 7	化合物 1e	0.15	实 施 例 38-A	化合物 36g-A	0.026
实施例 8	化合物 1e	0.043	实 施 例 38-B	化合物 36g-B	0.034
实施例 9	化合物 1e	0.002	实施例 40	化合物 36g	0.032
实施例 10	化合物 1e	0.005	实 施 例 41-A	化合物 41c-B	0.38
实施例 11	化合物 1e	0.001	实 施 例 41-B	化合物 41c-A	0.36
实施例 12	化合物 1e	0.018	实 施 例 42-A	化合物 41c-A	0.14
实施例 13	化合物 1e	0.04	实 施 例 42-B	化合物 41c-B	0.004
实施例 14	化合物 1e	0.026	实 施 例 43-A	化合物 43e-A	0.014
实施例 15	化合物 1e	0.002	实 施 例 43-B	化合物	0.016

				43e-B	
实施例 16	化合物 1e	0.024	实施例 44-A	化合物 43e-B	0.002
实施例 17	化合物 1e	0.075	实施例 44-B	化合物 43e-A	0.002
实施例 21	化合物 1e	0.48	实施例 45-A	化合物 45e-B 或 化合物 45e-A	0.41
实施例 22	化合物 1e	0.42	实施例 46-A	化合物 45e-A 或 化合物 45e-B	0.039
实施例 23	化合物 1e	0.42	实施例 46-B	化合物 45e-B 或 化合物 45e-A	0.18
实施例 25	化合物 1e	0.018	实施例 47-A	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	0.36
实施例 26	化合物 1e	0.042	实施例 47-B	化合物 47e-B 或 化合物 47e-A	0.41
实施例 27	化合物 1e	0.11	实施例 48-A	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	0.11
实施例 28	化合物 1e	0.084	实施例 48-B	化合物 47e-B 或 化合物 47e-A	0.053
实施例 29	化合物 1e	0.009			

[1540]

[1541] 实施例51

[1542] 本发明化合物的前药形式(化合物41-A)和索拉非尼在肝细胞癌的高度侵袭性模型中的体内组合疗效(无肿瘤小鼠)

[1543] 在iAST小鼠中,通过将表达Cre重组酶的 5×10^8 个IFU腺病毒(Ad-CMV-iCre载体体内应用,Vector Biolabs)静脉注射到表达肝细胞特异性白蛋白启动子(1oxP侧翼终止盒)和SV40大T-抗原的转基因小鼠中来引发肿瘤形成(Runge A, et al., Cancer Res. 74(2014)

4157-69)。Cre重组酶在转导的细胞中切除终止盒,并导致短暂性病毒性肝炎,并在8周内导致多结节性肿瘤发生。雌性小鼠经口管饲每天用媒介物(对于索拉非尼为7.5%明胶/0.22%NaCl;或对于41-A为2%Klucel®羟丙基纤维素LF(Asland)、0.5%D-α-生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯(TPGS,Sigma)、0.09%对羟基苯甲酸甲酯(Sigma)、于水中的0.01%对羟基苯甲酸丙酯(Sigma))或90mg/kg索拉非尼(Nexavar®,Bayer HealthCare)治疗,或每周一次用化合物41-A(10mg/kg)进行治疗。在腺病毒施用后第7.5周且在施用化合物41-A前3天开始使用媒介物或索拉非尼治疗。在治疗开始后第12天处死动物,并测定总肝脏和肿瘤重量。通过单向ANOVA对每组n=10进行分析,Tukey校正使用GraphPad Prism软件版本6显示为具有平均值±SEM的单个点。尽管索拉非尼在单药疗法中高度有效,但在肝细胞癌的这种高度侵袭性模型中,与本发明化合物的活性形式(化合物41-A)组合使用,通过对肝脏的表面检查,甚至导致2/10无肿瘤的小鼠。结果显示在下表和图1A和1B中。

[1544] 化合物41-A和索拉非尼对肿瘤负荷(无肿瘤小鼠)的协同作用

治疗	肝的浅表肿瘤结节的检查
媒介物	0/10 无肿瘤结节
[1545] 化合物 41-A	0/10 无肿瘤结节
索拉非尼	0/10 无肿瘤结节
化合物 41-A + 索拉非尼	2/10 无肿瘤结节

[1546] 实施例52

[1547] 用本发明化合物的前药形式(化合物41-A)进行的治疗在肝细胞癌的肿瘤细胞上诱导PD-L1表达。

[1548] 如图1所示治疗iAST小鼠的肿瘤。在治疗开始后第12天处死动物,并通过流式细胞术分析肿瘤。对于流式细胞术,切除肿瘤并通过机械加工和酶消化(DNase 0.01%,胶原酶IV 1mg/ml)获得单细胞悬液。使用2.4G2抗体克隆(1:200稀释度,BD Bioscience)从Fc受体阻断开始染色程序,然后使用以下抗体(克隆)分析白细胞浸润:CD45-FITC(30-F11,BioLegend)和CD11b-BUV737(M1/70,BD Bioscience)。使用LSR Fortessa机器(BD Bioscience)获取样品,并通过FlowJo版本10(Treestar)进行分析。数据显示为每组n=5,通过单向ANOVA分析和Tukey校正使用GraphPad Prism软件版本6显示为具有平均值±SEM的单个点。尽管通过任何所述治疗方法都没有改变iAST肿瘤中的绝对免疫细胞浸润(图2A),但观察到肿瘤的全部淋巴和髓样组成有明显变化(图2C和D)。在这里,这些变化显然由索拉非尼驱动,索拉非尼先前被显示为也对免疫细胞起作用(Martin del Campo,et al,J Immunol.195(2015)1995-2005)。然而,41-A治疗在单药疗法中以及与索拉非尼组合诱导肿瘤细胞上的PD-L1表达(图2B)。

[1549] 实施例53

[1550] 41-A、索拉非尼和抗PD-1的体内三重组合导致中值存活期增加。

[1551] 如对比图1所描述,在iAST小鼠中诱导多结节性肿瘤(参见实施例51)。雌性转基因小鼠在注射病毒后7.5周经口管饲每天用媒介物(对于索拉非尼为7.5%明胶/0.22%NaCl;或

对于41-A为2% **Klucel**[®]羟丙基纤维素LF (Asland)、0.5%D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯 (TPGS, Sigma)、0.09%对羟基苯甲酸甲酯 (Sigma)、于水中的0.01%对羟基苯甲酸丙酯 (Sigma)) 或90mg/kg索拉非尼 (**Nexavar**[®], Bayer HealthCare) 或每周一次用化合物41-A (10mg/kg) 治疗。在腺病毒施用后第7.5周且在施用化合物41-A前3天开始使用媒介物或索拉非尼治疗。以250 μ g/小鼠每3天腹腔内施用抗小鼠PD-1抗体(克隆RPM1-14, BioXCell)。总治疗期为2周(对于索拉非尼为3天+2周), 并监测iAST小鼠的存活期。当表现出窘迫迹象, 诸如>20%体重增加、毛皮褶皱和/或阴影线位置(hatched position)后处死小鼠。通过成对对数秩测试(Pairwise Log-Rank test)分析Kaplan-Meier曲线(参见表)。在存活期情况下, 索拉非尼和41-A均未在单药疗法中有效。与VEH对照相比, 抗PD-1单药治疗甚至显著降低存活期。iAST小鼠的中值存活期在索拉非尼和抗PD-1抗体的组合组中显著提高。然而, 41-A与索拉非尼和抗PD-1的三重组合在高度侵袭性HCC模型中导致中值存活期从71天(VEH)最大且显著地增加到104天(41-A+PD-1+索拉非尼)。结果显示在图3和下表。

[1552] 表: 成对对数秩测试(多个测试水平=0.00179)

组	VEH	索拉非尼	41-A	PD-1	41-A+索拉非尼	41-A+PD-1	PD-1+索拉非尼	41-A+PD-1+索拉非尼	
[1553]	VEH	1.0	0.1580	0.2309	0.0004*	0.8759	0.1465	0.0192*	0.0001*

[1554] 实施例54

[1555] 在肝细胞癌的移植Hep55.1c小鼠模型中用本发明化合物的前药形式(化合物41-A)进行治疗

[1556] 给雌性C57BL/6N小鼠(Jackson Laboratories)肝内注射 5×10^5 Hep55.1c肿瘤细胞系和Matrigel(Matrigel Basement Membrane Matrix, Corning Cat#354234), 总体积为20 μ l (10 μ l 细胞悬液+10 μ l Matrigel)。在单次静脉内施用对比剂Exitron 6000(Viscovert)后, 使用 μ CT(TomoScope Synergy Twin, CT Imaging GmbH)每周监测肿瘤体积。成像数据通过TomoScope软件进行重构, 并使用Osirix软件进行分析。一旦肿瘤达到80mm³, 则每周经口管饲用10mg/kg 41-A化合物或媒介物(2% **Klucel**[®]羟丙基纤维素LF (Asland)、0.5%D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯 (TPGS, Sigma)、0.09%对羟基苯甲酸甲酯 (Sigma)、于水中的0.01%对羟基苯甲酸丙酯 (Sigma)) 治疗小鼠。为了与另一种激动剂、免疫刺激剂进行比较, 给出了单剂量的抗CD40抗体(4mg/kg; 克隆FGK.45, BioXCell)。所描绘的数据是每组至少n=9只动物的平均值 \pm SEM。

[1557] 当与媒介物治疗相比时, 每周施用化合物41-A导致带有Hep55.1c肿瘤小鼠的肿瘤生长受到抑制。如先前公布的, 单剂量抗CD40抗体可导致皮下MC38肿瘤中肿瘤根除, 并且已证明抗CD40抗体在肝脏中具有炎症作用(Hoves S, et al, J Exp Med, DOI:10.1084/jem.20171440; Published February 7, 2018)。然而, 抗CD40抗体在带有Hep55.1c肿瘤小鼠中未观察到有益的治疗效果。结果显示在图5A中。

[1558] 实施例55

[1559] 化合物42-A(6-氨基-9-[(4-氯苯基)甲基]-N-乙基-2[S(S)-乙基磺亚氨酰基]-N-

甲基-8-氧代-嘌呤-7-甲酰胺), 单独或与抗PD-1组合, 的体内功效在肝细胞癌的Hep55.1c小鼠模型中产生存活期益处。

[1560] 给雌性C57BL/6N小鼠 (Jackson Laboratories) 肝内注射 5×10^5 Hep55.1c肿瘤细胞系以及Matrigel (Matrigel Basement Membrane Matrix, Corning Cat#354234), 总体积为20 μ l (10 μ l细胞悬液+10 μ l Martigel)。讲观查的动物 (Scout animals) 处死以确定在约80mm³肿瘤体积下开始治疗的时间点。经口管饲化合物42-A 10mg/kg或媒介物 (2% Klucel® 羟丙基纤维素LF (Asland)、0.5%D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯 (TPGS, Sigma)、0.09%对羟基苯甲酸甲酯 (Sigma)、于水中的0.01%对羟基苯甲酸丙酯 (Sigma)), 或腹膜内施用250 μ g抗PD-1抗体 (克隆RPM1-14, BioXCell), 或化合物42-A+抗PD-1的组合作用小鼠。每周 (共3次) 给予42-A, 并在同一天开始抗PD-1抗体治疗。每三到四天继续进行抗体治疗, 总共6剂。与VEH对照和PD-1单药疗法相比, 用42-A的单药疗法产生较小的肿瘤体积。42-A和抗PD-1的组合作用, 肿瘤体积也减小, 其中3/9只小鼠无肿瘤。结果显示在图5B和下表。

[1561] 化合物42-A和抗PD-1对肿瘤负荷 (无肿瘤小鼠) 的组合作用

	治疗	肝检查
[1562]	媒介物	0/7 无肿瘤
	α PD-1	1/9 无肿瘤
	42-A	1/7 无肿瘤
[1563]	42-A+ α PD-1	3/9 无肿瘤

[1564] 实施例56

[1565] 肝细胞癌的Hep55.1c小鼠模型中本发明化合物的前药形式 (化合物41-A) 和抗PD-1抗体的组合。

[1566] 给雌性C57BL/6N小鼠 (Jackson Laboratories) 肝内注射 5×10^5 Hep55.1c肿瘤细胞系以及Matrigel (Matrigel Basement Membrane Matrix, Corning Cat#354234), 总体积为20 μ l (10 μ l细胞悬液+10 μ l Martigel)。3周后, 处死动物并从肝脏切除肿瘤。将切除的肿瘤切成1x1 mm³的小块, 并移置到雌性C57BL/6N小鼠的肝脏中。处死侦查动物以确定在约80mm³肿瘤体积下开始治疗的时间点。经口管饲化合物41-A 10mg/kg或媒介物 (2% Klucel® 羟丙基纤维素LF (Asland)、0.5%D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯 (TPGS, Sigma)、0.09%对羟基苯甲酸甲酯 (Sigma)、于水中的0.01%对羟基苯甲酸丙酯 (Sigma)), 或腹膜内施用250 μ g抗PD-1抗体 (克隆RPM1-14, BioXCell), 或化合物41-A+抗PD-1的组合作用小鼠。每周给予41-A, 而抗PD-1抗体治疗则在41-A治疗后一天开始, 并且每三至四天持续, 共8剂。在最后一次抗PD-1施用后停止两种药物的治疗。与媒介物对照 (1/10) 相比, 用41-A的单药疗法延长小鼠的存活期 (5/10)。41-A和抗PD-1的组合作用提高小鼠的存活率, 在肿瘤片段移植后第94天, 存活率甚至达到8/10。

[1567] 实施例57

[1568] 用本发明化合物的活性形式 (化合物41c-B) 的治疗不会在源自肝细胞癌和胆管癌的细胞系中诱导肿瘤细胞增殖增强。

[1569] 在以下培养基中维持和测试源自肝细胞癌和胆管癌的细胞系(EGI1和OZ):在4.5g/L葡萄糖(Gibco,Cat#31966-021)、10%FCS(GIBCO,Cat#10500-064Lot 07G3690K)、2mM L-谷氨酰胺(Thermo Fischer,目录号25030081)、1mM丙酮酸钠(GIBCO Cat#11360-039)中培养Huh7和EGI1。在Eagles MEM+Earle's BSS(PAN,Cat#P04-08510)、10%FCS、2mM L-谷氨酰胺、0.1mM NEAA(PAN Cat#P08-32100)和1mM丙酮酸钠中培养Hep3B和HepG2。在Williams'E(PAN Cat#P04-29050)、10%FCS和2mM L-谷氨酰胺中培养JHH1、JHH5、JHH6和OZ。使用Williams'E、10%FCS和2mM L-谷氨酰胺培养JHH2。在DMEM 4.5g/L葡萄糖、10%FCS和2mM L-谷氨酰胺中培养HLE。在DMEM 4.5g/L葡萄糖、5%FCS、0.1mM NEAA和2mM L-谷氨酰胺中培养HLF。在Eagles MEM+Earle's BSS、10%FCS和2mM L-谷氨酰胺中培养JHH4。在Eagles MEM+Earle's BSS、10%FCS、2mM L-谷氨酰胺、0.1mM NEAA和1mM丙酮酸钠中培养SkHep1。使用RPMI 1640(PAN Cat#P04-18047)、10%FCS和2mM L-谷氨酰胺培养SNU449。在96孔平底透明底部黑色聚苯乙烯TC处理的微孔板(Corning,Cat#3904)中将细胞以每孔5000个细胞的密度接种于各个培养基中过夜。第二天,添加从27 μ M降至270pM的41c-B对数稀释液,分别孵育72、120和148小时。使用Perkin Elmer Operetta成像系统和Harmony软件通过对使用Hoechst33342染料(2 μ g/ml,Sigma Cat#B2261)在完全培养基中染色20分钟的细胞核计数来确定肿瘤细胞计数。显示的数据是基于相对于DMSO对照对每孔9张图像的分析,从一式三份孔获得的平均值+SD。

[1570] 在所示的时间点直接用41c-B处理后,所测试的细胞系均未显示出明显的增殖增加。结果显示在图6A中。

[1571] 实施例58

[1572] 用本发明化合物的活性形式(化合物41c-A)治疗不会在源自肝细胞癌和胆管癌的细胞系中诱导肿瘤细胞增殖增强。

[1573] 在以下培养基中维持和测试肝细胞癌和胆管癌衍生的细胞系(EGI1):在DMEM 4.5g/L葡萄糖(Gibco,Cat#31966-021)、10%FCS(GIBCO,Cat#10500-064, Lot 07G3690K)、2mM L-谷氨酰胺(Thermo Fischer,Cat#25030081)、1mM丙酮酸钠(GIBCO Cat#11360-039)中培养Huh7和EGI1。在Eagles MEM+Earle's BSS(PAN,目录号P04-08510)、10%FCS、2mM L-谷氨酰胺、0.1mM NEAA(PAN Cat#P08-32100)和1mM丙酮酸钠中培养Hep3B和HepG2。使用Williams'E、10%FCS和2mM L-谷氨酰胺培养JHH2。在DMEM 4.5g/L葡萄糖、5%FCS、0.1mM NEAA和2mM L-谷氨酰胺中培养HLF。在Eagles MEM+Earle's BSS、10%FCS、2mM L-谷氨酰胺、0.1mM NEAA和1mM丙酮酸钠中培养SkHep1。在96孔平底透明底部黑色聚苯乙烯TC处理的微孔板(Corning,Cat#3904)中将细胞以每孔5,000个细胞的密度接种于各个培养基中过夜。第二天,添加从27 μ M降至270pM的化合物41c-A的对数稀释液,并孵育72小时。使用Perkin Elmer Operetta成像系统和Harmony软件通过对使用Hoechst33342染料(2 μ g/ml,Sigma Cat#B2261)在完全培养基中染色20分钟的细胞核计数来确定肿瘤细胞计数。显示的数据是基于相对于DMSO对照对每孔9张图像的分析,从一式三份孔获得的平均值+SD。

[1574] 在72小时后直接用41c-A治疗后,所测试的细胞系均未显示出明显的增殖增加。结果显示在图6B中。

[1575] 实施例59

[1576] 在外周血存在下用本发明化合物(化合物41c-B)的活性形式治疗肿瘤细胞导致抑

制肿瘤细胞增殖。

[1577] 将3个不同供体的肝素化全血在RPMI培养基 (PAN Cat#P04-18047)+10%FCS (GIBCO Cat#10500-064, lot 07G3690K) 中以1:1稀释,并在37°C和5%CO₂下与2.7μM化合物41c-B一起孵育24小时。收获上清液,并以600x g离心8分钟,以去除残留的白细胞、血小板和红细胞。将上清液保存在-80°C直至进一步使用,并在添加到细胞系中之前于室温下缓慢解冻。在96孔平底透明底部黑色聚苯乙烯TC处理的微孔板 (Corning, Cat#3904) 中将细胞系Huh7、JHH2、HLE、HLF、JHH4、Hep3B、HepG2、JHH1、EGI1、JHH5、JHH6、OZ、SkHep1、SNU449以每孔5,000个细胞的密度接种于100μl各自的培养基中 (如实施例57中所述),过夜。第二天,将100μl全血上清液加入细胞系中。添加未添加41c-B化合物 (“w/o全血”) 或纯RPMI培养基+FCS (“培养基CTRL”) 的全血上清液作为对照。将细胞系孵育72小时。使用Perkin Elmer Operetta成像系统和Harmony软件通过对在完全培养基中使用Hoechst33342 (2μg/ml, Sigma Cat#B2261) 染色20分钟的细胞核进行计数来确定肿瘤细胞计数,并通过Propidium Iodine (PI, 1μg/ml, Sigma Cat#P4864) 的另外检测来评估存活率。显示的数据是基于对每孔9张图像的分析,来自一式三份孔的平均值+SD。

[1578] 结果显示在图7A和图7B中。对于一些细胞系 (SNU449、JHH2和SkHep), 添加非刺激全血的上清液会导致高于培养基对照水平的增殖,而其他则反应为增殖减少 (OZ、JHH1、HepG2、JHH4、JHH6、JHH5和EGI1)。然而,与各自的“全血w/o”对照相比,用源自41c-B孵育的全血的上清液进行的治疗在所有测试的情况下均导致细胞计数减少。细胞计数减少要归因于增殖停止,并且只有细胞系JHH2、JHH4、JHH6、Hep3B和EGI1确实经历细胞死亡,如通过相当大的PI阳性所测定 (数据未显示)。

[1579] 实施例60

[1580] 用本发明化合物的活性形式 (化合物41c-A) 治疗后在外周血中释放的因子导致抑制肿瘤细胞系的增殖

[1581] 将2个不同供体的肝素化全血在RPMI培养基 (PAN Cat.#P04-18047)+10%FCS (GIBCO Cat#10500-064, lot 07G3690K) 中以1:1稀释,并在37°C和5%CO₂下与2.7μM化合物41c-A一起孵育24小时。收获上清液,并以600x g离心8分钟,以去除残留的白细胞、血小板和红细胞。将上清液保存在-80°C直至进一步使用,并在添加到细胞系中之前于室温下逐渐解冻。在96孔平底透明黑色聚苯乙烯TC处理的微孔板 (Corning, Cat#3904) 中,将细胞系Huh7、JHH2、HLF、Hep3B、HepG2、EGI1和SkHep1以每孔5,000个细胞的密度接种在100μl各自的培养基中 (如图6中所述),过夜。第二天,将100μl全血上清液加入细胞系。添加未添加41c-A化合物 (“w/o全血”) 或纯RPMI培养基+FCS (“培养基CTRL”) 的全血上清液作为对照。将细胞系孵育72小时。使用Perkin Elmer Operetta成像系统和Harmony软件通过对在完全培养基中使用Hoechst33342 (2μg/ml, Sigma Cat#B2261) 染色20分钟的细胞核计数来确定肿瘤细胞的数量,并通过另外检测Propidium Iodine (PI, 1μg/ml, Sigma Cat#P4864) 来评估存活率。显示的数据是基于对每孔9张图像的分析,来自一式三份孔的平均值+SD。

[1582] 结果显示在图7C中,与各自的“全血w/o”对照相比,用源自与41c-A孵育的全血的上清液的治疗在所有测试情况下引起细胞计数减少或稳定。仅在Hep3B中,供体#5的上清液增加该细胞系的增殖,而来自供体#4的上清液对肿瘤细胞的增殖没有影响。

[1583] 实施例61

[1584] 在雄性Wister-Han大鼠中的单剂量PK研究

[1585] 在雄性Wister-Han大鼠中进行单剂量PK,以评估被测化合物的药代动力学特性。两组动物经由各自化合物的管饲法(POE)给药。在给药组后15分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时、7小时和24小时经由颈静脉或备用部位采集血液样品(约20 μ L)。将血液样品放入含有EDTA-K2抗凝剂的试管中,并在4 $^{\circ}$ C下以5000rpm离心6分钟,以从样品中分离血浆。离心后,将所得血浆转移至干净的试管中,以在LC/MS/MS上对前药和活性形式进行生物分析。在前药给药组中,血浆样品中的前药浓度低于检测极限。表8中的“被测化合物”用作内标,用于体内测试“剂量化合物”的代谢物(活性形式)。使用WinNonlin[®] Professional 6.2的非房室模块计算药代动力学参数。直接根据实验观察记录峰浓度(C_{\max})。使用线性梯形法则计算血浆浓度-时间曲线下的面积(AUC_{0-t}),直到最后可检测的浓度。

[1586] C_{\max} 和 $AUC_{0-\text{最终}}$ 是与被测化合物的体内功效有关的两个关键PK参数。具有更高 C_{\max} 和 $AUC_{0-\text{最终}}$ 的化合物将导致更好的体内功效。口服施用活性形式和竞争性化合物后的PK参数结果列于表7。前药的PK参数列于表8。

[1587] 口服前药后,在血浆中观察到活性形式,因此进行了测试。与参考化合物(GS9620、S-2和S-3)和本发明中提及的均为活性形式的化合物(化合物41c-A、41c-B和43e-A)相比,本发明的示例性前药(实施例41-B、42-A、42-B、43-A、45-A和45-B)令人惊讶地显示出大大提高的 C_{\max} (增加5-175倍)和 $AUC_{0-\text{最终}}$ (增加2.5-56倍)。结果清楚地证明,前药在PK参数上出乎预料地优于活性形式,这具有更好的体内功效。

[1588] 表7. 在5mg/kg口服给药后活性形式的平均血浆浓度和PK参数

[1589]

给药化合物	GS9620	S-2	S-3	化合物 41c-A
时间(h)	平均血浆浓度(nM)			
0.25	56.3	9.49	8.89	16.75
0.5	33.2	16.74	9.99	27.48
1	83.4	19.33	10.16	32.33
2	136	24.89	8.40	27.34
4	16.7	47.55	11.54	27.38
8*	9.49	52.72	8.17	18.02
24	ND	4.90	ND	5.60
C_{最大} (nM)	164	52.72	11.54	32.33
AUC_{0-最终} (nM·h)	316	748	95	242.5
给药化合物	化合物 41c-B	化合物 43e-A	化合物 45e-A	化合物 45e-B
时间(h)	平均血浆浓度(nM)			
0.25	3.41	12.60	64.6	42.8
0.5	0.75	15.22	80.0	52.2
1	2.04	13.01	58.1	37.6
2	5.46	11.98	42.5	24.2
4	2.52	8.20	77.8	53.9
8*	1.21	6.31	34.6	29
24	ND	ND	8.6	5.7
C_{最大} (nM)	5.46	15.22	80.0	53.9
AUC_{0-最终} (nM·h)	55.8	77	767	568

[1590] *对于化合物41c-A、化合物41c-B和化合物43e-A为7小时

[1591] 表8. 在5mg/kg口服给药后前药的PK参数

[1592]

给药化合物	被测化合物	C_{最大} (nM)	AUC_{0-最终} (nM·h)
-------	-------	----------------------------	--------------------------------------

[1593]

实施例 41-B	化合物 41c-A	1315	3658
实施例 42-A	化合物 41c-A	1742	4867
实施例 42-B	化合物 41c-B	956	3148
实施例 43-A	化合物 43e-A	77	229
实施例 45-A	化合物 45e-B	922	1914
实施例 45-B	化合物 45e-A	1436	2619

[1594] 实施例62

[1595] LYSA溶解度研究

[1596] LYSA研究用于测定被测化合物的水溶解度。从10mM DMSO储备溶液一式两份制备样品。用离心真空蒸发器蒸发DMSO后,将化合物溶解在0.05M磷酸盐缓冲液(pH 6.5)中,搅拌1小时并振荡2小时。一夜后,使用微量滴定板过滤溶液。然后通过HPLC-UV分析滤液及其1/10稀释液。此外,由10mM储备溶液制备四点校准曲线,用于测定化合物的溶解度。结果以 $\mu\text{g/mL}$ 为单位。如果蒸发后溶液中测得的样品除以计算出的最大样品量的百分比大于80%,则报告溶解度大于该值。

[1597] LYSA的结果示于表9中。很明显,当转化成各种前药时,活性形式的溶解度出乎意料地提高了10倍至超过200倍。

[1598] 表9. 特定化合物的溶解度数据

[1599]

前药	前药的 LYSA($\mu\text{g/mL}$)	相应活性形式	活性形式的 LYSA ($\mu\text{g/mL}$)
实施例 1	290	化合物 1e	21
实施例 1-A	315	化合物 1e-A	56
实施例 1-B	200	化合物 1e-B	50
实施例 2	615	化合物 1e	21
实施例 2-A	>600	化合物 1e-B	50
实施例 2-B	>590	化合物 1e-A	56
实施例 3	240	化合物 1e	21
实施例 4	695	化合物 1e	21
实施例 5	>595	化合物 1e	21

[1600]

实施例 6	140	化合物 1e	21
实施例 7	615	化合物 1e	21
实施例 8	620	化合物 1e	21
实施例 9	>520	化合物 1e	21
实施例 10	120	化合物 1e	21
实施例 11	>618	化合物 1e	21
实施例 12	120	化合物 1e	21
实施例 13	155	化合物 1e	21
实施例 14	225	化合物 1e	21
实施例 15	405	化合物 1e	21
实施例 16	205	化合物 1e	21
实施例 17	190	化合物 1e	21
实施例 25	>670	化合物 1e	21
实施例 26	>690	化合物 1e	21
实施例 27	>380	化合物 1e	21
实施例 28	695	化合物 1e	21
实施例 29	395	化合物 1e	21
实施例 32	125	化合物 1e	21
实施例 36-A	168	化合物 36g-A	6
实施例 36-B	209	化合物 36g-B	11
实施例 41-A	260	化合物 41c-B	5
实施例 41-B	250	化合物 41c-A	1
实施例 42-A	225	化合物 41c-A	1
实施例 42-B	335	化合物 41c-B	5
实施例 43-A	203	化合物 43e-A	13
实施例 43-B	170	化合物 43e-B	13
实施例 45	172	化合物 45e	152
实施例 45-A	>560	化合物 45e-A 或 化合物 45e-B	90 或 115
实施例 45-B	420	化合物 45e-B 或化合物 45e-A	115 或 90
实施例 46-A	205	化合物 45e-A 或化合物 45e-B	90 或 115

[1601]	实施例 46-B	>580	化合物 45e-B 或化合物 45e-A	115 或 90
	实施例 47-A	154	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	<1.0 或 <1.0
	实施例 47-B	128	化合物 47e-B 或 化合物 47e-A	<1.0 或 <1.0
	实施例 48-A	305	化合物 47e-A 或 化合物 47e-B	<1.0 或 <1.0
	实施例 48-B	275	化合物 47e-B 或 化合物 47e-A	<1.0 或 <1.0

[1602] 实施例63

[1603] 门静脉研究

[1604] 该研究的目的是了解前药在其通过肠道吸收进入门脉循环时是否保持不变,并证明其主要转化部位。

[1605] 门静脉插管(PVC)和颈动脉插管(CAC)的手术程序

[1606] 手术在戊巴比妥(pentobarbital)/异氟醚麻醉下进行。简而言之,在用必妥碘(betadine)和70%异丙醇对腹部区域进行消毒之后,进行一个小的腹部中线切口。拉出盲肠,鉴别肠系膜静脉并分离约5mm的血管。将松散的结扎线放置在近端,并结扎静脉的远端。在分离的静脉上做一个小切口(恰好足以插入导管),然后向肝插入适当的长度的PU导管。通过将松散的结扎线绑在插管的周围来固定导管。将盲肠重新放置于腹腔中。在右腹壁上产生一个洞,使导管末端自由通过。通过缝合线将导管固定在腹壁上。用缝合线缝合腹肌切口。在肩胛区域做一个小切口,作为导管的出口部位。将导管经皮下穿刺,并通过肩胛切口取出。将经固定的缝合线放置在肩胛区域。检查导管的通畅性,然后从皮下空间取出到背颈区域。在轻轻擦拭该区域后,缝合腹腔。然后通过插入PE50导管来对左颈动脉插入。两个取出的导管均牢固地绑在背颈区域并固定。然后允许动物在其笼子中恢复,并在手术后至少三天用于研究。每天用肝素化生理盐水冲洗所有导管一次以保持通畅。

[1607] PVC/CAC双插管大鼠中的经口PK研究

[1608] 将动物禁食过夜(n=3),并经由经口管饲(10mg/kg,10mL/kg)。在0.083、0.25、0.5、1、2、4、7、24小时同时从门静脉和颈动脉导管中采集血液样品(60μL)。将所有血液样品转移到含有2μL K₂EDTA(0.5M)作为抗凝剂的微量离心试管中,并置于湿冰上。然后通过约4℃下离心处理血液样品以得到血浆,半小时内收集3000g。血浆样品将被储存在聚丙烯试管中,在干冰上快速冷冻,并保持在-70±10℃下直至LC/MS/MS分析。

[1609] 检测并分析在门静脉插管大鼠中经口施用前药(10mg/kg)后,门静脉和颈动脉样品中前药和活性形式的药代动力学参数(平均值±SD,n=3)。实施例1-B、41-A、41-B、42-A和43-A的测试结果总结如下。

[1610] 表10. 在门静脉插管大鼠中经口施用实施例41-A(10mg/kg)后,在门静脉和颈动脉

样品中实施例41-A及其相应活性形式化合物

[1611] 41c-B的药代动力学参数

前药	实施例 41-A			
	化合物 41c-B			
相应活性形式	门静脉取样		颈动脉取样	
	前药	活性形式	前药	活性形式
PK 参数				
$T_{\text{最大}}$ (h)	0.14	0.4	0.19	0.42
$C_{\text{最大}}$ (nM)	9703	2223	210	2185
AUC_{0-2} (nM·h)	2188	2246	114	2108
$AUC_{\text{活性}}/AUC_{\text{总}}$	51%		95%	

[1613] 表11. 在门静脉插管大鼠中经口施用实施例43-A(10mg/kg)后,在门静脉和颈动脉样品中实施例43-A及其相应活性形式化合物

[1614] 43e-A的药代动力学参数

前药	实施例 43-A			
	化合物 43e-A			
相应活性形式	门静脉取样		颈动脉取样	
	前药	活性形式	前药	活性形式
PK 参数				
$T_{\text{最大}}$ (h)	0.28	0.33	0.22	0.28
$C_{\text{最大}}$ (nM)	4110	818	191	691
AUC_{0-2} (nM·h)	2067	679	124	564
$AUC_{\text{活性}}/AUC_{\text{总}}$	25%		82%	

[1616] 表12. 在门静脉插管大鼠中经口施用实施例1-B(10mg/kg)后,在门静脉和颈动脉样品中实施例1-B及其相应活性形式化合物1e-A的药代动力学参数

前药	实施例 1-B			
	化合物 1e-A			
相应活性形式	门静脉取样		颈动脉取样	
	前药	活性形式	前药	活性形式
PK 参数				
$T_{\text{最大}}$ (h)	0.083	0.25	0.083	0.5
$C_{\text{最大}}$ (nM)	670	192	70	174
AUC_{0-2} (nM·h)	266	164	40	184
$AUC_{\text{活性}}/AUC_{\text{总}}$	38%		82%	

[1618] 表13. 在门静脉插管大鼠中经口施用实施例42-A(10mg/kg)后,在门静脉和颈动脉样品中实施例42-A及其相应活性形式化合物

[1619] 41c-A的药代动力学参数

前药	实施例 42-A			
	化合物 41c-A			
相应活性形式	门静脉取样		颈动脉取样	
	前药	活性形式	前药	活性形式
[1620] PK 参数				
T _{最大} (h)	0.19	0.42	0.22	0.36
C _{最大} (nM)	8917	3162	286	3326
AUC ₀₋₂ (nM·h)	3461	3199	286	3326
AUC _{活性} /AUC _总	48%		96%	

[1621] 表14. 在门静脉插管大鼠中经口施用实施例41-B(10mg/kg)后,在门静脉和颈动脉样品中实施例41-B及其相应活性形式化合物

[1622] 41c-A的药代动力学参数

前药	实施例 41-B			
	化合物 41c-A			
相应活性形式	门静脉取样		颈动脉取样	
	前药	活性形式	前药	活性形式
[1623] PK 参数				
T _{最大} (h)	0.19	0.5	0.25	0.5
C _{最大} (nM)	7068	3315	29.6	3432
AUC ₀₋₂ (nM·h)	1444	3211	22.5	3301
AUC _{活性} /AUC _总	69%		99%	

[1624] 根据以上结果,得出结论,前药转化的主要部位是肝脏而不是肠道,因为从颈动脉采样的AUC_{活性}/AUC_总高于从门静脉采样的AUC_{活性}/AUC_总。

序列表

- <110> 豪夫迈·罗氏有限公司
- <120> 用于治疗 and 预防肝癌的 7-取代的磺亚氨酰基嘌呤酮化合物和衍生物
- <130> P34694-W0-1
- <150> PCT/CN2018/077501
- <151> 2018-02-28
- <160> 17
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 113
- <212> PRT
- <213> 人工
- <220>
- [0001] <223> 抗 PD1 抗体纳武单抗的重链可变结构域
- <400> 1
- Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
- Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30
- Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
- Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
- Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 100 105 110

Ser

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗 PD1 抗体纳武单抗的轻链可变结构域

<400> 2

[0002]

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg

		85		90		95
	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys					
		100		105		
	<210> 3					
	<211> 120					
	<212> PRT					
	<213> 人工					
	<220>					
	<223> 抗 PD1 抗体派姆单抗的重链可变结构域					
	<400> 3					
	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala					
	1	5		10		15
[0003]	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr					
		20		25		30
	Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met					
		35		40		45
	Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe					
		50		55		60
	Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr					
		65		70		75
						80
	Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
		85		90		95
	Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln					
		100		105		110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 4

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗 PD1 抗体派姆单抗的轻链可变结构域

<400> 4

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
 20 25 30

[0004]

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 5

<211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 人源化变体 -PD1-0103_01 的重链可变结构域

<400> 5

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

[0005] Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Leu Leu Thr Gly Arg Val Tyr Phe Ala Leu Asp Ser Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 6
 <211> 111
 <212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 人源化变体 - PD1-0103_01 的轻链可变结构域

<400> 6

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Ser
 20 25 30

Asp Asn Ser Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ser Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60

[0006]

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Tyr
 85 90 95

Asp Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 7

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗 PD-L1 抗体阿特殊单抗的重链可变结构域

<400> 7

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
 85 90 95

[0008]

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 9

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗 PD-L1 抗体度伐单抗的重链可变结构域

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

[0009] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 抗 PD-L1 抗体度伐单抗的轻链可变结构域

<400> 10

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro
 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

[0010] <210> 11
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> 抗PD-L1 抗体阿维鲁单抗的重链

<400> 11

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 13

<211> 290

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

[0012] Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
 100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
 115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
 130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
 145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
 165 170 175

[0013] Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
 180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
 195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
 210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
 225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
 245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
 260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
 275 280 285

Glu Thr
 290

<210> 14
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 14

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
 1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
 20 25 30

[0014]

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
 35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
 50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
 65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
 85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
 100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg

115

120

125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
 130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala
 165 170 175

Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp
 180 185 190

Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
 195 200 205

[0015]

Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu
 210 215 220

Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser
 225 230 235 240

Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro
 245 250 255

Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 260 265

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 15

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

[0016]

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 16

<211> 328

<212> PRT

<213> 智人

<400> 16

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

[0017] Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

[0018] Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 325

<210> 17

<211> 328

<212> PRT

<213> 智人

<400> 17

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

[0019]

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

[0020] Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 325

化合物41-A和索拉非尼对肿瘤负荷
(无肿瘤小鼠)的协同作用

治疗	检查肝脏的浅表肿瘤结节
媒介物	0/10 无肿瘤结节
化合物41-A	0/10 无肿瘤结节
索拉非尼	0/10 无肿瘤结节
化合物41-A+索拉非尼	2/10 无肿瘤结节

图1A

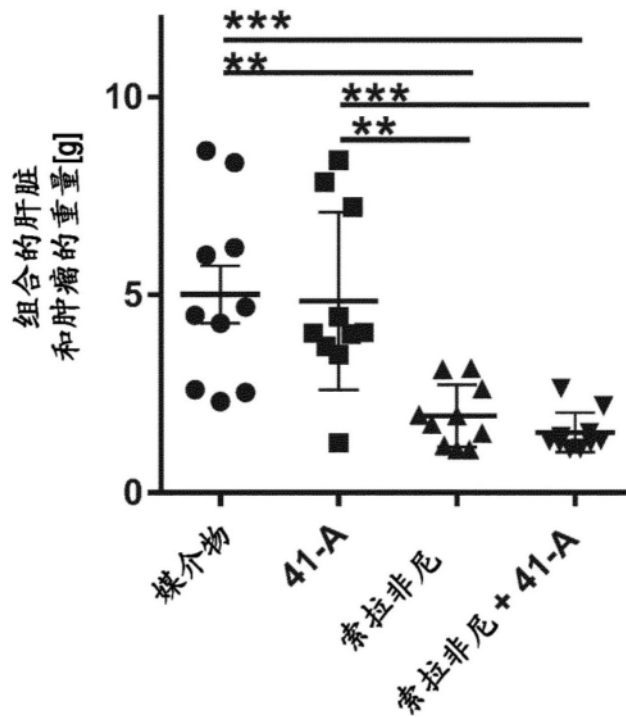


图1B

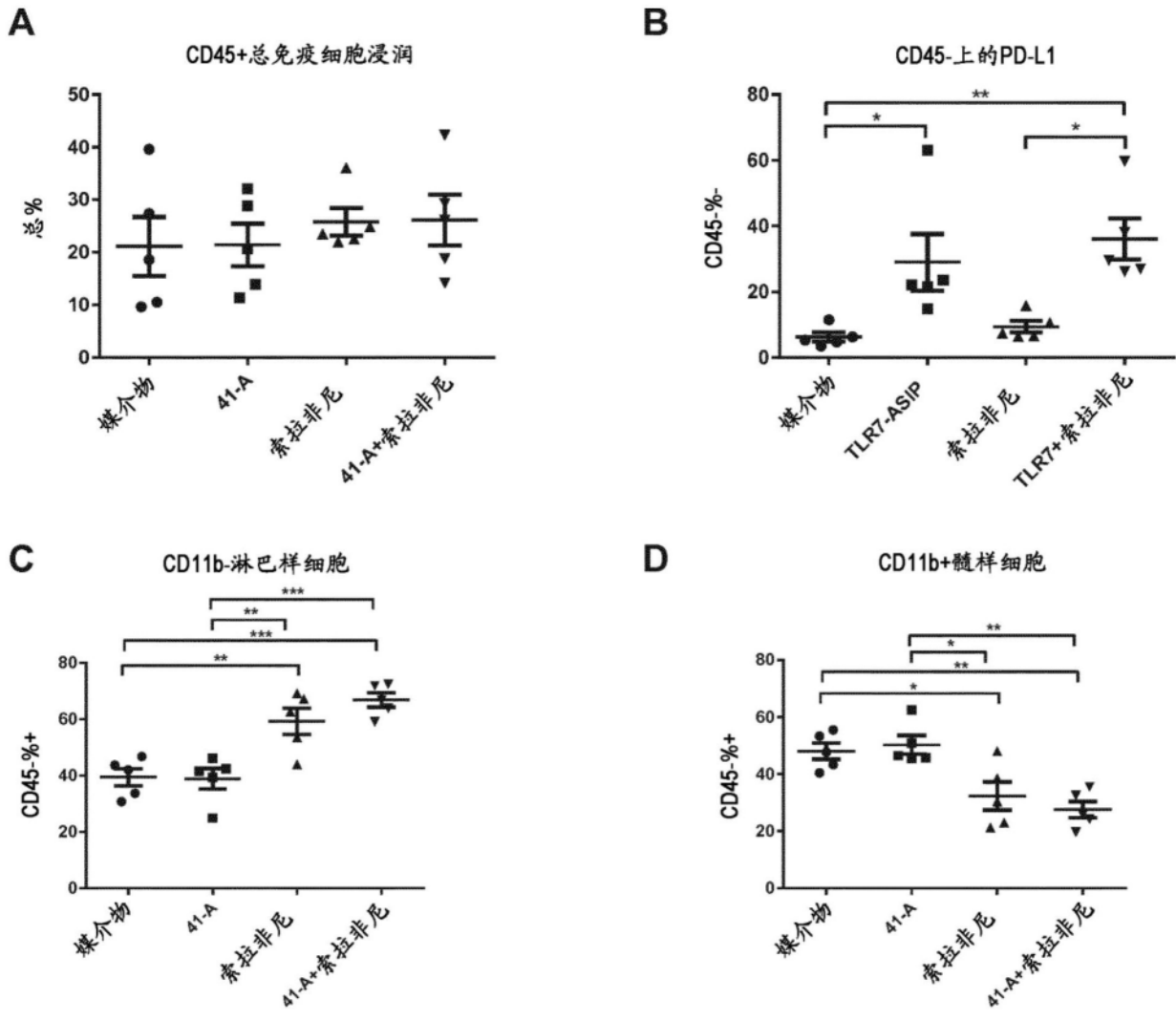


图2

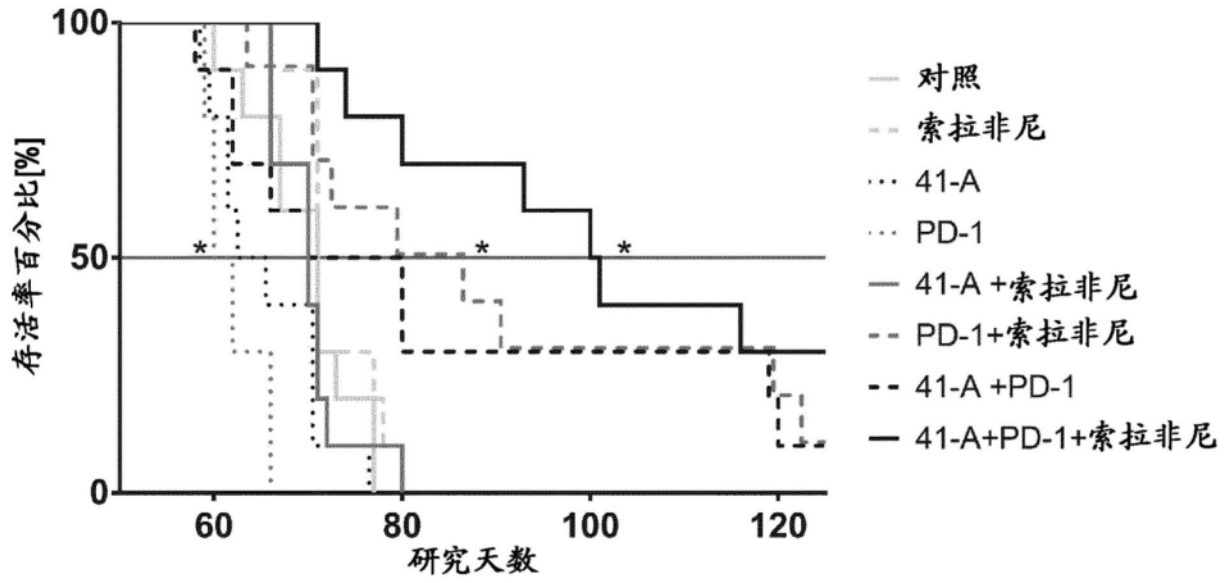


图3

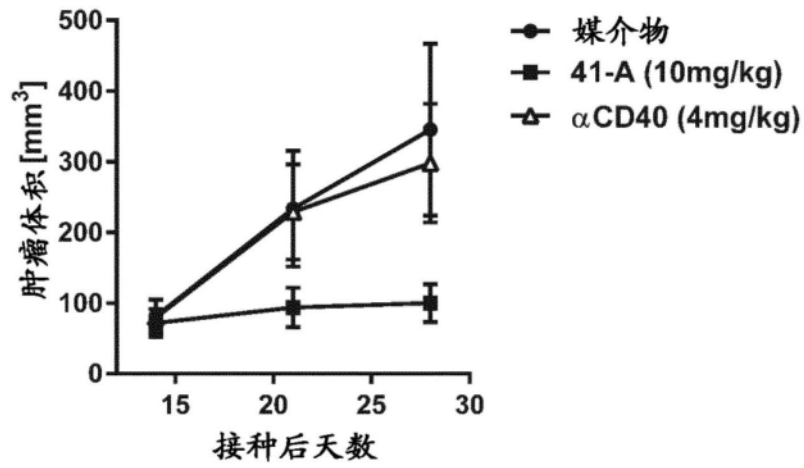


图4

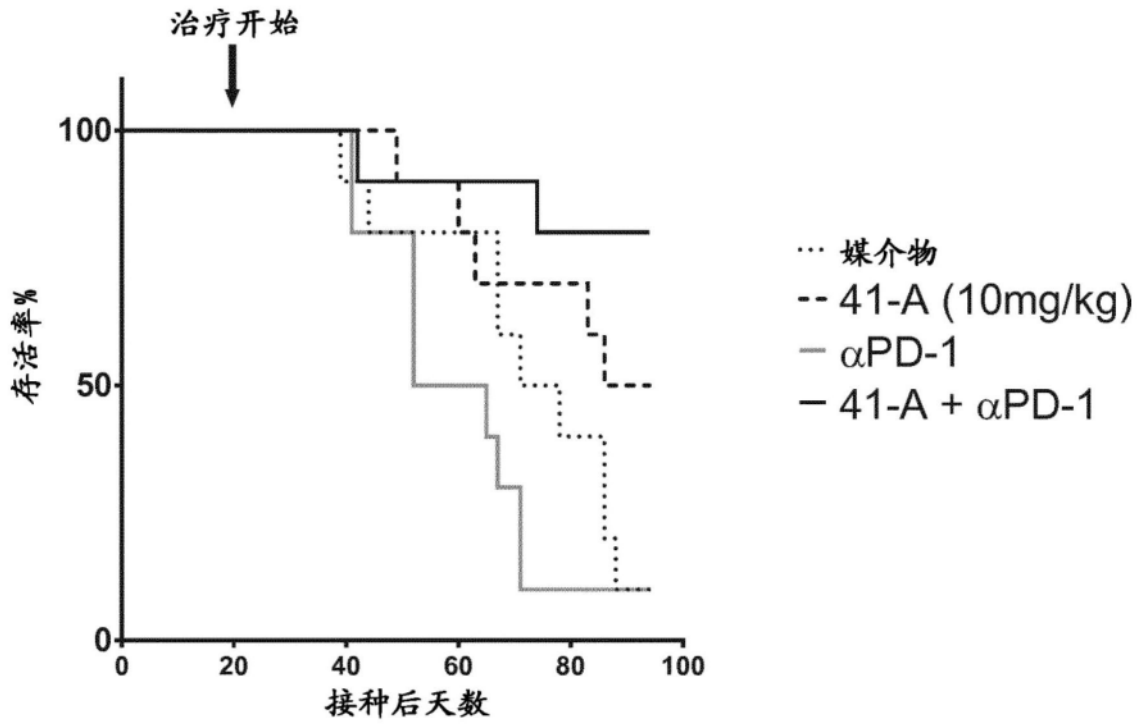


图5A

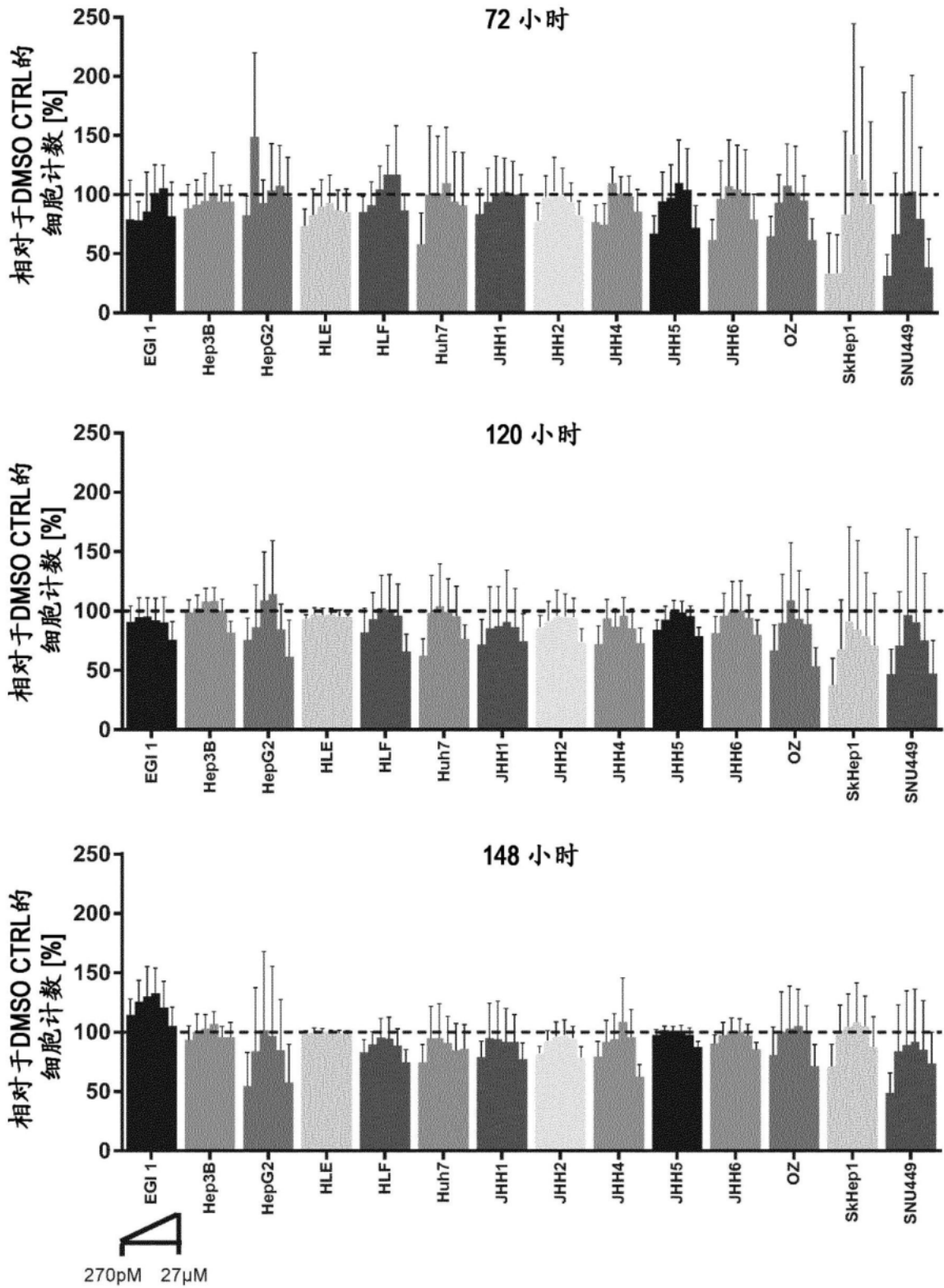


图6A

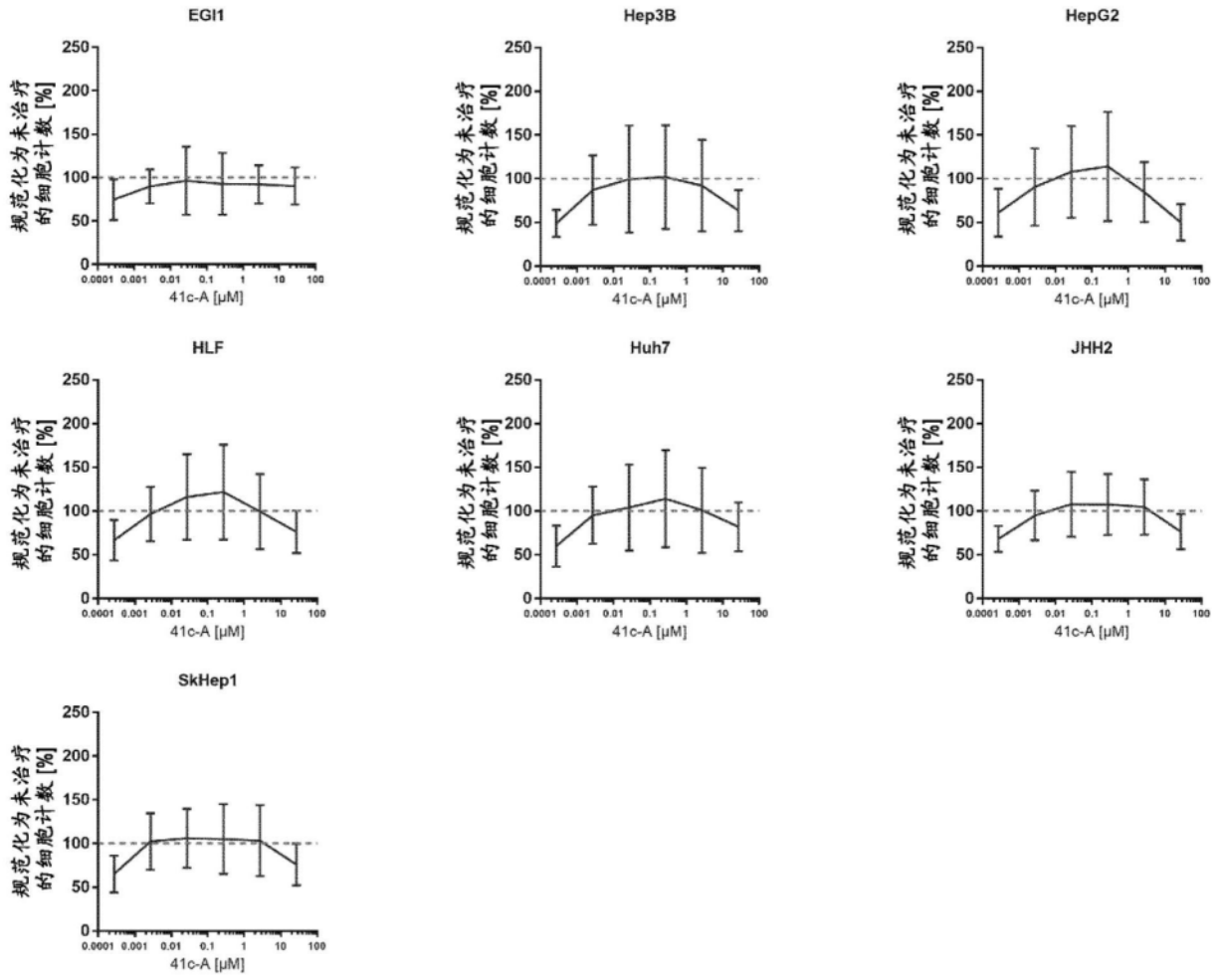


图6B

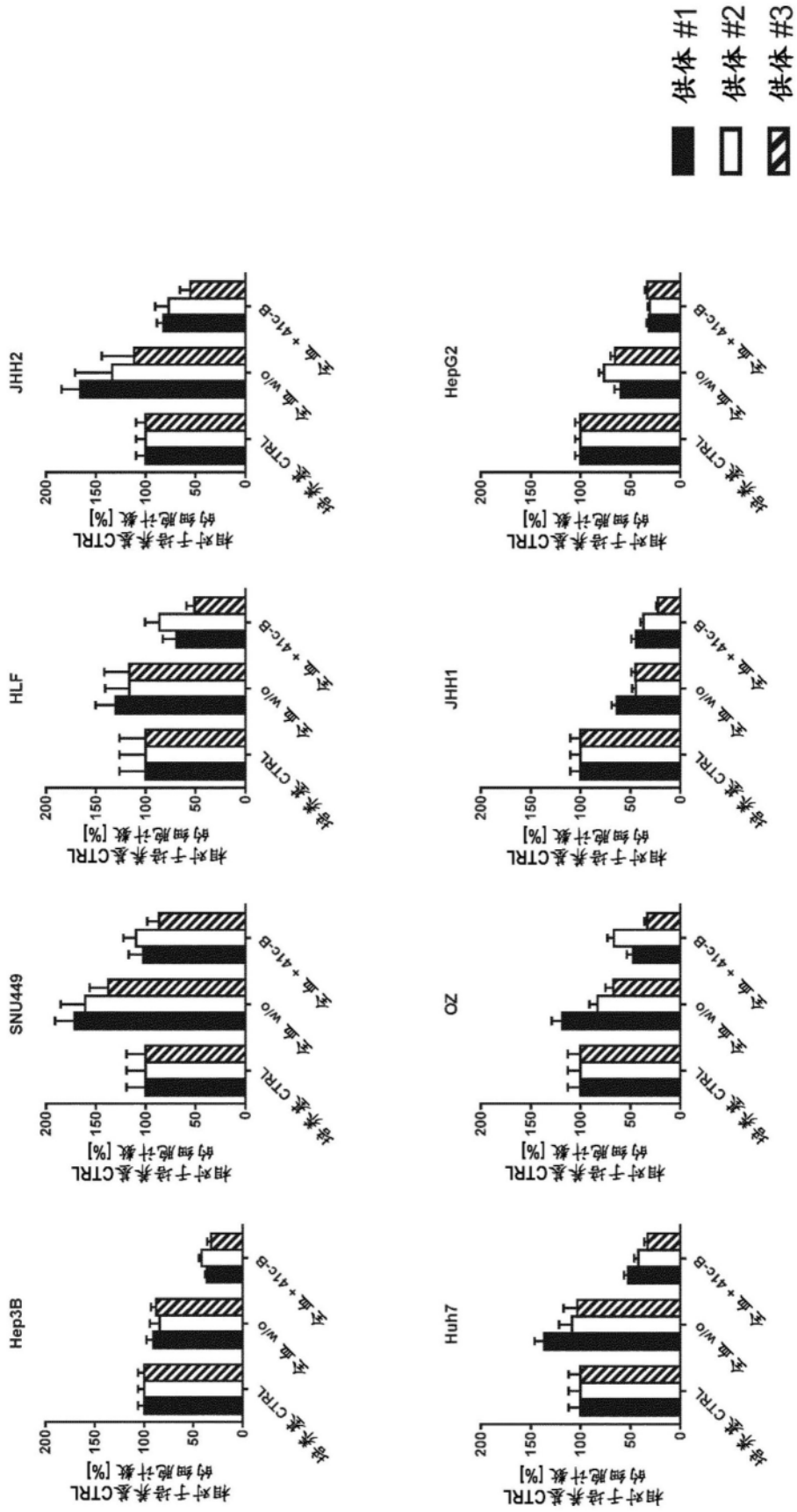


图7A

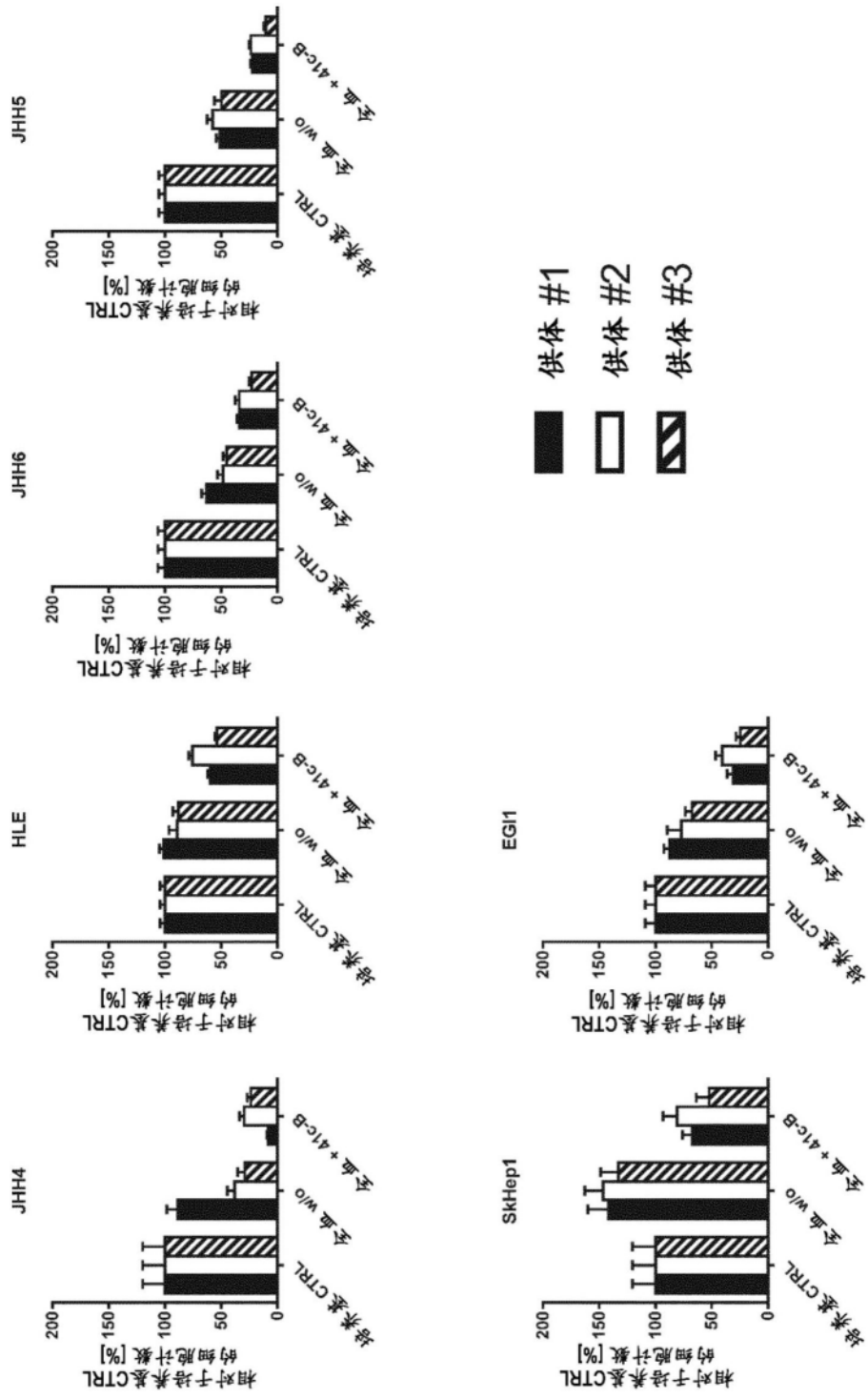


图7B

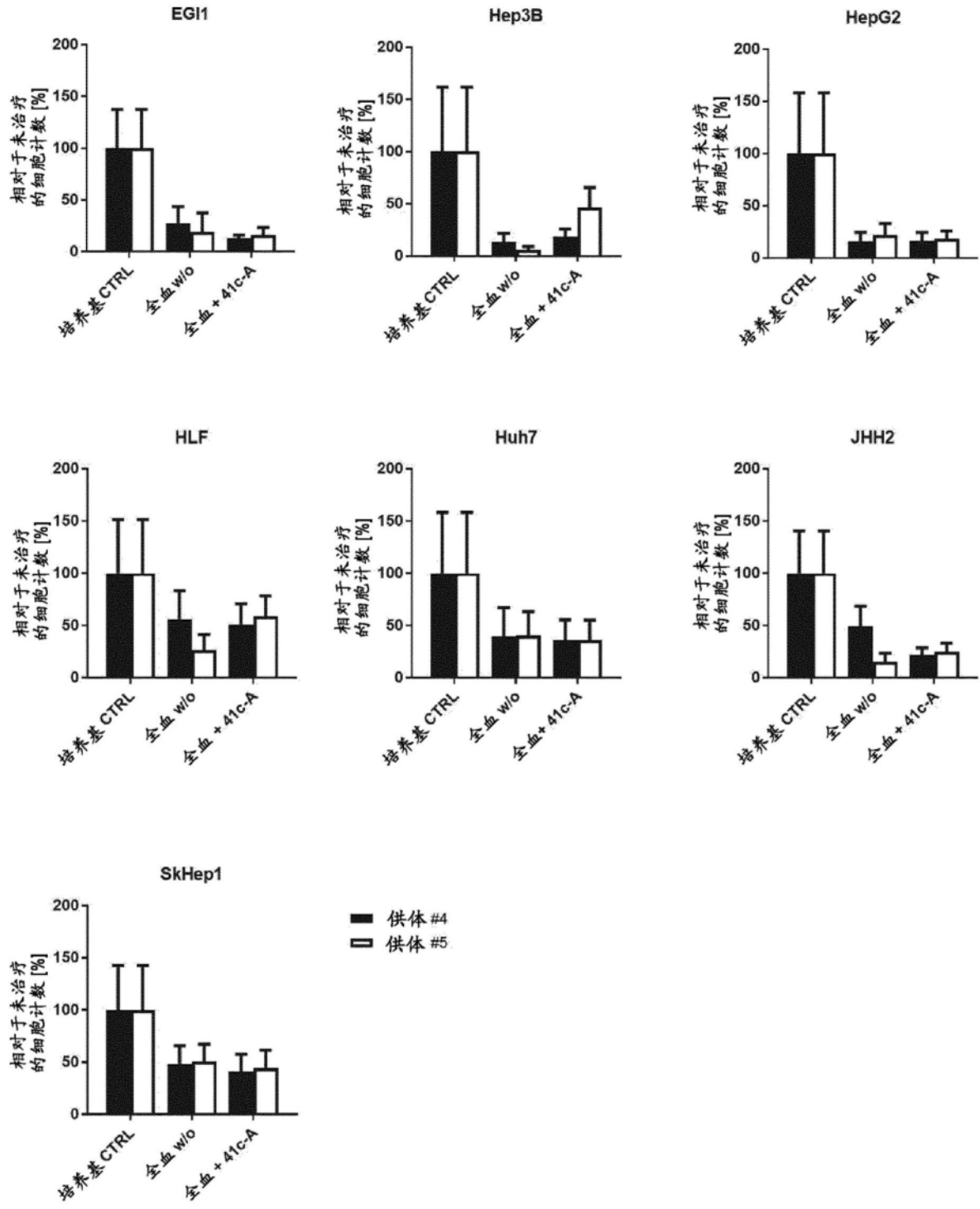


图7C

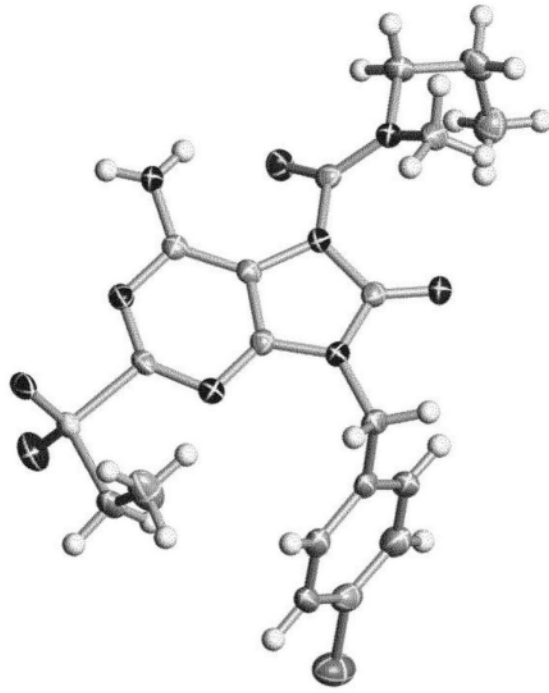


图8

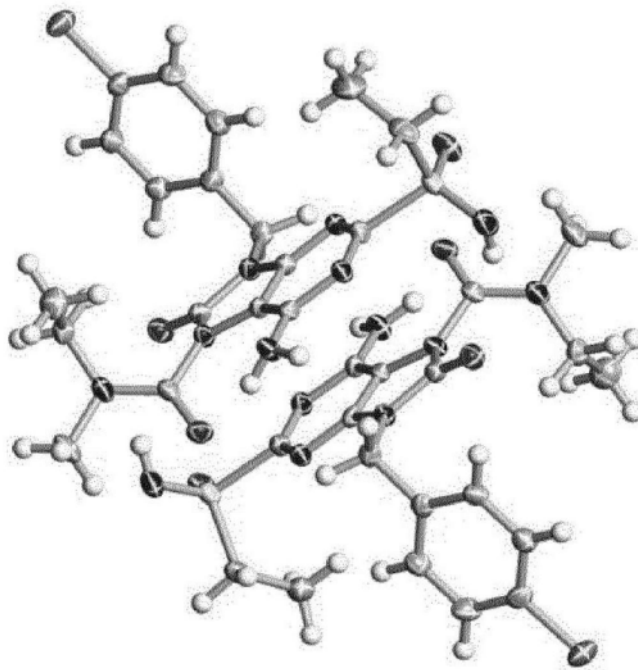


图9

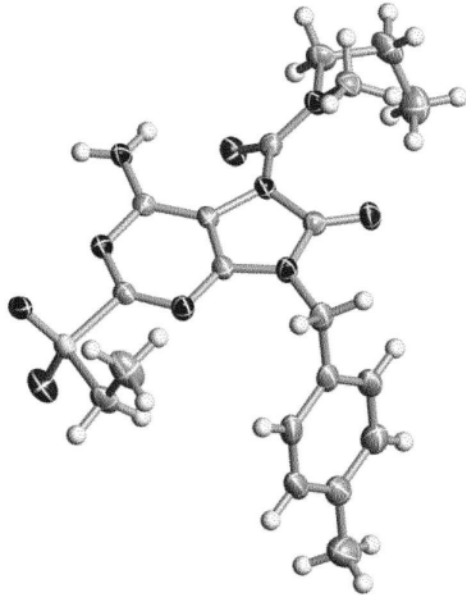


图10