



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115151548 A

(43) 申请公布日 2022. 10. 04

(21) 申请号 202180016904.1

C·M·塔比 Y·普德尔

(22) 申请日 2021.01.26

M·安达潘·穆鲁盖亚·苏拜亚

(30) 优先权数据

62/966,144 2020.01.27 US

63/058,230 2020.07.29 US

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.08.25

(51) Int.Cl.
C07D 487/04 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/014980 2021.01.26

(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/154666 EN 2021.08.05

(71) 申请人 百时美施贵宝公司
地址 美国新泽西州

(72) 发明人 M·科克斯 N·S·乔达里
A·V·加瓦伊 S·甘瓦

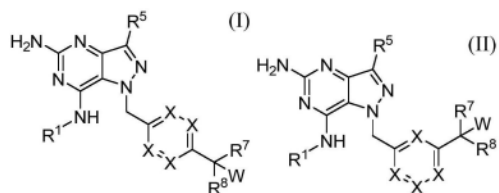
权利要求书5页 说明书63页

(54) 发明名称

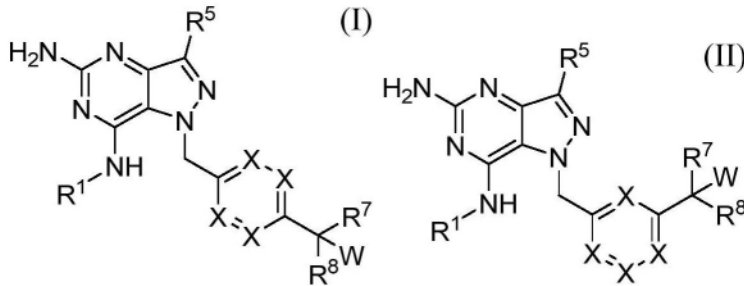
作为To11样受体7 (TLR7) 激动剂的1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶化合物

(57) 摘要

根据式I或II的化合物可用作To11样受体7 (TLR7) 的激动剂。(I) (II) 此类化合物能够用于癌症治疗,尤其是与抗癌免疫治疗剂组合,或者用作疫苗佐剂。

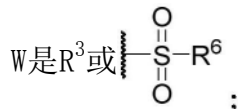


1. 一种化合物,所述化合物具有根据式I或式(II)的结构



其中

每个X独立地是N或CR²;

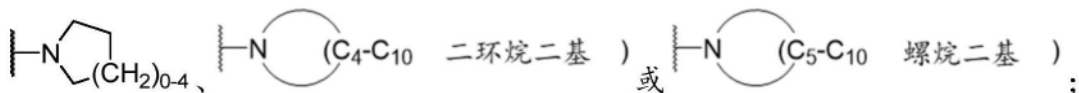


R¹是(C₁-C₅烷基)、(C₂-C₅烯基)、(C₁-C₈烷二基)₀₋₁(C₃-C₆环烷基)、(C₁-C₈烷二基)₀₋₁(C₅-C₁₀螺烷基)、(C₂-C₈烷二基)OH、(C₂-C₈烷二基)O(C₁-C₃烷基)、(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(5-6元杂芳基)、(C₁-C₄烷二基)₀₋₁苯基、(C₁-C₄烷二基)CF₃、(C₂-C₈烷二基)N[C(=O)](C₁-C₃烷基)、或(C₂-C₈烷二基)NR^xR^y;

每个R²独立地是H、O(C₁-C₃烷基)、S(C₁-C₃烷基)、SO₂(C₁-C₃烷基)、C₁-C₃烷基、O(C₃-C₄环烷基)、S(C₃-C₄环烷基)、SO₂(C₃-C₄环烷基)、C₃-C₄环烷基、Cl、F、CN或[C(=O)]₀₋₁NR^xR^y;

R³是NH₂、NH[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₅烷基)、N(C₁-C₅烷基)₂、NH[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₈环烷基)、NH[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₄-C₁₀二环烷基)、NH[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₅-C₁₀螺烷基)、N(C₃-C₆环烷基)₂、N[C₁-C₃烷基]C(=O)(C₁-C₆烷基)、NH(SO₂)(C₁-C₅烷基)、NH(SO₂)(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₈环烷基)、NH(SO₂)(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₄-C₁₀二环烷基)、NH(SO₂)(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₅-C₁₀螺烷基)、6元芳族或杂芳族部分、5元杂芳族部分或

具有以下结构的部分:

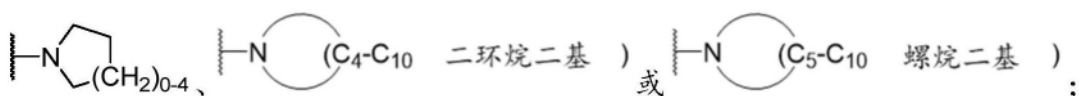


R⁵是H、C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基、C₃-C₆环烷基、卤代、O(C₁-C₅烷基)、(C₁-C₄烷二基)OH、(C₁-C₄烷二基)O(C₁-C₃烷基)、苯基、NH(C₁-C₅烷基)、5或6元杂芳基、



R⁶是NH₂、(NH)₀₋₁(C₁-C₅烷基)、N(C₁-C₅烷基)₂、(NH)₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₈环烷基)、(NH)₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₄-C₁₀二环烷基)、(NH)₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₅-C₁₀螺烷基)、N(C₃-C₆环烷基)₂、或

具有以下结构的部分:



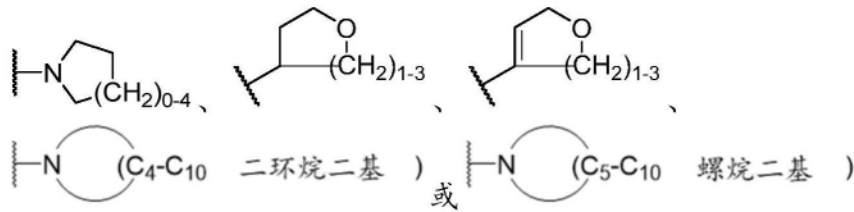
R⁷和R⁸独立地是

C₁-C₄烷基、C₂-C₄亚烷基、C₃-C₄环烷基，

或者R⁷和R⁸与它们所键合的碳组合以形成3至7元环烷基部分；

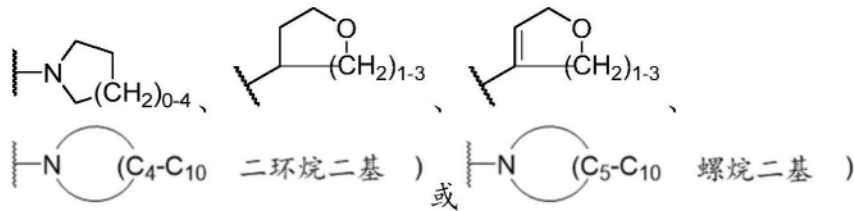
R^x和R^y独立地是H或C₁-C₃烷基或者R^x和R^y与它们所键合的氮组合以形成3至7元杂环；

其中在R¹、R²、R³、R⁵、R⁶、R⁷和R⁸中烷基部分、烷二基部分、环烷基部分或下式的部分：



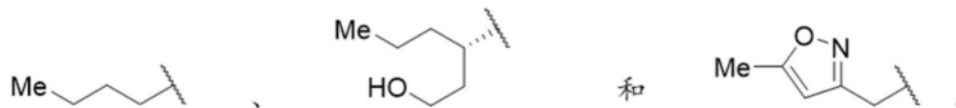
任选地被选自以下的一个或多个取代基取代：OH、卤代、CN、(C₁-C₃烷基)、O(C₁-C₃烷基)、C(=O)(C₁-C₃烷基)、SO₂(C₁-C₃烷基)、NR^xR^y、(C₁-C₄烷二基)OH、(C₁-C₄烷二基)O(C₁-C₃烷基)；并且

烷基、烷二基、环烷基或下式的部分：



能够具有被以下替代的CH₂基团：O、SO₂、CF₂、C(=O)、NH、N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₃烷基)、N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)CF₃、N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)OH、或N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₅环烷基)。

2. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹选自：

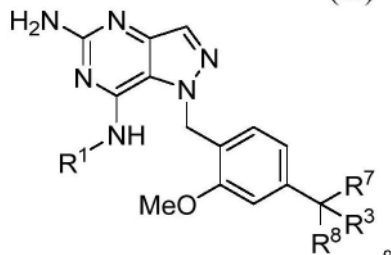


3. 根据权利要求1所述的化合物，其中R²是OMe。

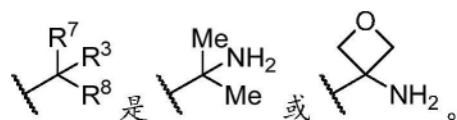
4. 根据权利要求1所述的化合物，其中R⁵是H。

5. 根据权利要求1所述的化合物，所述化合物具有根据式(Ia)的结构

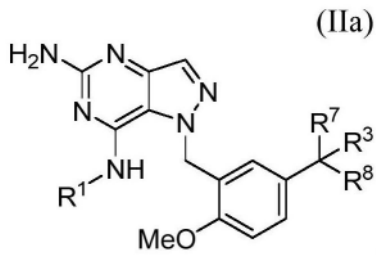
(Ia)



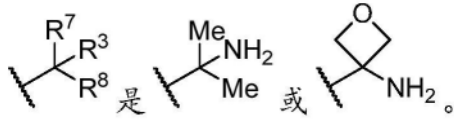
6. 根据权利要求5所述的化合物，其中



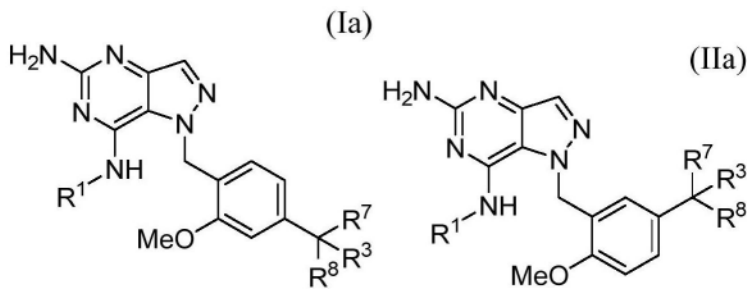
7. 根据权利要求I所述的化合物，所述化合物具有根据式(IIa)的结构



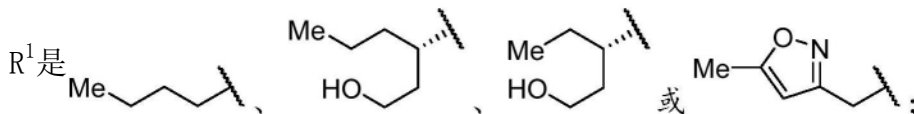
8. 根据权利要求7所述的化合物, 其中



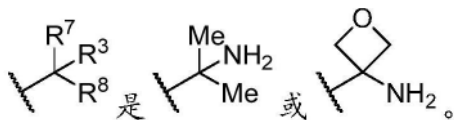
9. 一种根据式 (Ia) 或 (IIa) 的化合物



其中



并且



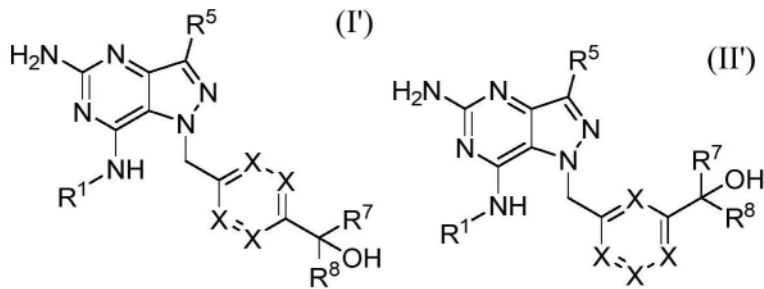
10. 一种治疗癌症的方法, 所述方法包括向患有这样的癌症的患者施用抗癌免疫治疗剂和根据权利要求1或权利要求9所述的化合物的治疗有效组合。

11. 根据权利要求10所述的方法, 其中所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗CTLA-4、抗PD-1或抗PD-L1抗体。

12. 根据权利要求11所述的方法, 其中所述癌症是肺癌 (包括非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌、头颈癌、淋巴瘤 (包括霍奇金淋巴瘤)、皮肤癌 (包括黑素瘤和梅克尔皮肤癌)、尿路上皮癌 (包括膀胱癌)、胃癌、肝细胞癌或结直肠癌。

13. 根据权利要求12所述的方法, 其中所述抗癌免疫治疗剂是伊匹单抗、纳武单抗或派姆单抗。

14. 一种化合物, 所述化合物具有根据式 (I') 或 (II') 的结构



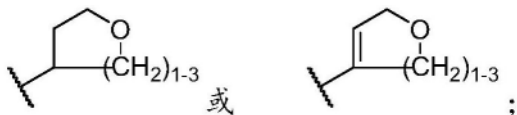
其中

每个X独立地是N或CR²;

R¹是(C₁-C₅烷基)、(C₂-C₅烯基)、(C₁-C₈烷二基)₀₋₁(C₃-C₆环烷基)、(C₁-C₈烷二基)₀₋₁(C₅-C₁₀螺烷基)、(C₂-C₈烷二基)OH、(C₂-C₈烷二基)O(C₁-C₃烷基)、(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(5-6元杂芳基)、(C₁-C₄烷二基)₀₋₁苯基、(C₁-C₄烷二基)CF₃、(C₂-C₈烷二基)N[C(=O)](C₁-C₃烷基)、或(C₂-C₈烷二基)NR^xR^y;

每个R²独立地是H、O(C₁-C₃烷基)、S(C₁-C₃烷基)、SO₂(C₁-C₃烷基)、C₁-C₃烷基、O(C₃-C₄环烷基)、S(C₃-C₄环烷基)、SO₂(C₃-C₄环烷基)、C₃-C₄环烷基、Cl、F、CN或[C(=O)]₀₋₁NR^xR^y;

R⁵是H、C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基、C₃-C₆环烷基、卤代、O(C₁-C₅烷基)、(C₁-C₄烷二基)OH、(C₁-C₄烷二基)O(C₁-C₃烷基)、苯基、NH(C₁-C₅烷基)、5或6元杂芳基、



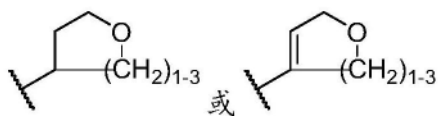
R⁷和R⁸独立地是

C₁-C₄烷基、C₂-C₄亚烷基、C₃-C₄环烷基、

或者R⁷和R⁸与它们所键合的碳组合以形成3至7元环烷基部分;

R^x和R^y独立地是H或C₁-C₃烷基或者R^x和R^y与它们所键合的氮组合以形成3至7元杂环;其中在R¹、R²、R⁵、R⁷和R⁸中

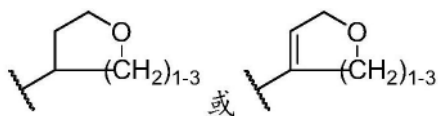
烷基部分、烷二基部分、环烷基部分或下式的部分:



任选地被选自以下的一个或多个取代基取代:OH、卤代、CN、(C₁-C₃烷基)、O(C₁-C₃烷基)、C(=O)(C₁-C₃烷基)、SO₂(C₁-C₃烷基)、NR^xR^y、(C₁-C₄烷二基)OH、(C₁-C₄烷二基)O(C₁-C₃烷基);

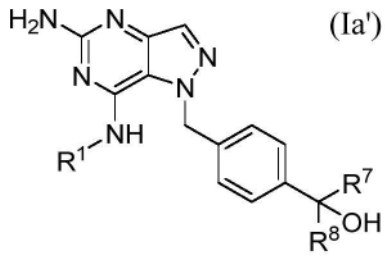
并且

烷基、烷二基、环烷基或下式的部分:

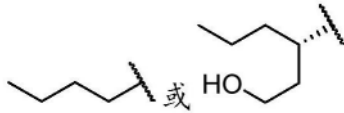


能够具有被以下替代的CH₂基团:O、SO₂、CF₂、C(=O)、NH、N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₃烷基)、N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)CF₃、N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)OH、或N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₅环烷基)。

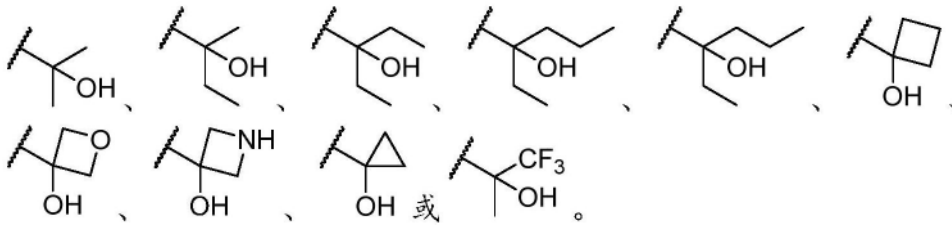
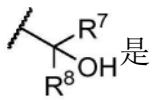
15. 一种化合物,所述化合物具有根据式(Ia')的结构



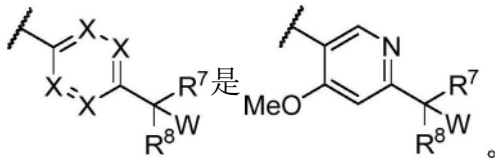
其中
R¹是



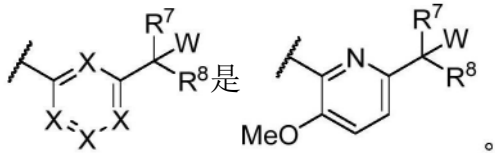
并且



16. 根据权利要求1所述的根据式 (I) 的化合物, 其中以下部分:



17. 根据权利要求1所述的根据式 (II) 的化合物, 其中以下部分:



作为Toll样受体7 (TLR7) 激动剂的1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶化合物

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请根据35U.S.C. §119 (e) 要求2020年7月29日提交的美国临时申请序列号63/058230和2020年1月27日提交的美国临时申请序列号62/966144的权益；将其公开内容通过引用并入本文。

背景技术

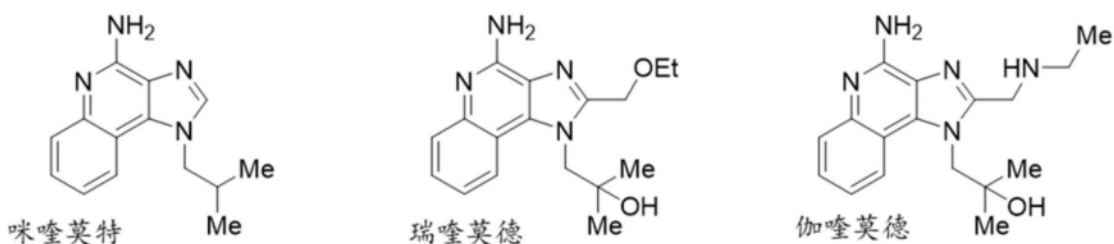
[0002] 本公开文本涉及Toll样受体7 (“TLR7”) 激动剂及其缀合物以及此类激动剂及其缀合物的制备和使用方法。

[0003] Toll样受体 (“TLR”) 是识别病原体相关分子模式 (“PAMP”) 的受体, 所述病原体相关分子模式是在某些种类的病原体中保守的小分子基序。TLR可以位于细胞表面或细胞内。通过结合其同源PAMP而激活TLR传递了宿主内存在相关病原体 (即, 感染) 的信号并且刺激宿主的免疫系统以抵抗感染。人具有10种TLR, 称为TLR1、TLR2、TLR3等。

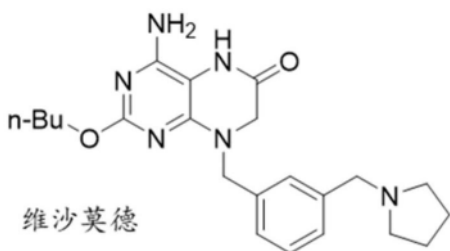
[0004] 通过激动剂激活TLR (其中TLR7是研究最多的) 可以对疫苗和免疫治疗剂通过刺激总体免疫应答而在治疗除实际病原体感染以外的多种病症中的作用产生积极效果。因此, 对TLR7激动剂在癌症免疫疗法中作为疫苗佐剂或作为增强剂的用途存在很大兴趣。参见例如, Vasilakos和Tomai 2013, Sato-Kaneko等人2017, Smits等人2008以及Ota等人2019。

[0005] TLR7 (位于内体膜上的细胞内受体) 识别与单链RNA病毒相关的PAMP。它的激活诱导I型干扰素 (诸如IFN α 和IFN β) 的分泌 (Lund等人2004)。TLR7具有两个结合位点, 一个用于单链RNA配体 (Berghöfer等人2007), 并且一个用于小分子诸如鸟苷 (Zhang等人2016)。

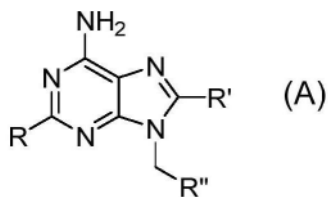
[0006] TLR7可以与基于1H-咪唑并[4,5-c]喹啉骨架的鸟苷样合成激动剂 (诸如咪喹莫特、瑞喹莫德和伽喹莫德 (gardiquimod)) 结合并且被其激活。关于小分子TLR7激动剂的综述, 参见Cortez和Va 2018。



[0007] 基于嘧啶酮分子骨架的合成TLR7激动剂也是已知的, 如由维沙莫德 (vesatolimod) 所例示的 (Desai等人2015)。



[0008] 已经公开了经常根据通式 (A) 的基于嘌呤样骨架的其他合成TLR7激动剂:



其中R、R' 和R'' 是结构变量,其中R'' 通常含有未经取代的或经取代的芳族或杂芳族环。

[0009] 具有嘌呤样骨架的生物活性分子及其在治疗诸如纤维化、炎症性障碍、癌症或病原性感染的病症中的用途的公开文本包括:Akinbobuyi等人2015和2016;Barberis等人2012;Carson等人2014;Ding等人2016,2017a和2017b;Graupe等人2015;Hashimoto等人2009;He等人2019a和2019b;Hollidack等人2012;Isobe等人2009a和2012;Poudel等人2019a和2019b;Pryde 2010;以及Young等人2019。

[0010] 基团R'' 可以是吡啶基:Bonfanti等人2015a和2015b;Halcomb等人2015;Hirota等人2000;Isobe等人2002,2004,2006,2009a,2009b,2011和2012;Kasibhatla等人2007;Koga-Yamakawa等人2013;Musmuca等人2009;Nakamura 2012;Ogita等人2007;以及Yu等人2013。

[0011] 存在式(A)的6,5-稠合环系统(即与咪唑五元环稠合的嘧啶六元环)被修饰的相关分子的公开文本。(a) Dellaria等人2007, Jones等人2010和2012,以及Pilatte等人2017披露了嘧啶环被吡啶环替代的化合物。(b) Chen等人2011, Coe等人2017, Poudel等人2020a和2020b,以及Zhang等人2018披露了咪唑环被吡唑环替代的化合物。(c) Cortez等人2017和2018;Li等人2018;以及McGowan等人2016a,2016b和2017披露了咪唑环被吡咯环替代的化合物。

[0012] Bonfanti等人2015b和2016以及Purandare等人2019披露了大环跨越嘌呤部分的两个环的TLR7调节剂:

[0013] TLR7激动剂可以与配偶体分子缀合,所述配偶体分子可以是例如磷脂、聚(乙二醇) (“PEG”)、抗体或另一种TLR(通常是TLR2)。示例性公开文本包括:Carson等人2013,2015和2016,Chan等人2009和2011,Cortez等人2017,Gadd等人2015,Lioux等人2016,Maj等人2015,Vernejoul等人2014,以及Zurawski等人2012。频繁的缀合位点是在式(A)的R''基团处。

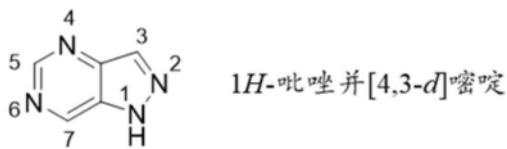
[0014] Jensen等人2015披露了阳离子脂质媒介物用于递送TLR7激动剂的用途。

[0015] 一些TLR7激动剂(包括瑞喹莫德)是双重TLR7/TLR8激动剂。参见例如,Beesu等人2017,Embrechts等人2018,Lioux等人2016,以及Vernejoul等人2014。

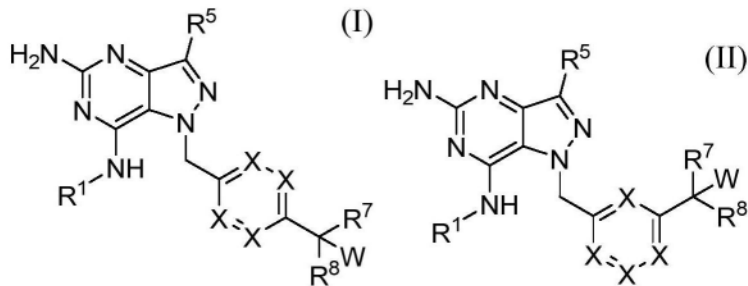
[0016] 本说明书的结尾处列出了通过第一作者或发明人和年份对本文中引用的文献的完全引用。

发明内容

[0017] 本说明书涉及具有1H-吡唑并[4,3d]嘧啶芳族系统的化合物,其具有作为TLR7激动剂的活性。



[0018] 在一个方面,提供了一种具有根据式(I)或(II)的结构的化合物



其中

每个X独立地是N或CR²;

W是R³或 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---S---R}^6 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$;

R¹是(C₁-C₅烷基)、

(C₂-C₅烯基)、

(C₁-C₈烷二基)₀₋₁ (C₃-C₆环烷基)、

(C₁-C₈烷二基)₀₋₁ (C₅-C₁₀螺烷基)、

(C₂-C₈烷二基)OH、

(C₂-C₈烷二基)O (C₁-C₃烷基)、

(C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (5-6元杂芳基)、

(C₁-C₄烷二基)₀₋₁ 苯基、

(C₁-C₄烷二基)CF₃、

(C₂-C₈烷二基)N[C(=O)] (C₁-C₃烷基)、

或

(C₂-C₈烷二基)NR^xR^y;

每个R²独立地是H、O (C₁-C₃烷基)、S (C₁-C₃烷基)、SO₂ (C₁-C₃烷基)、C₁-C₃烷基、O (C₃-C₄环烷基)、S (C₃-C₄环烷基)、SO₂ (C₃-C₄环烷基)、C₃-C₄环烷基、Cl、F、CN或[C(=O)]₀₋₁NR^xR^y;

R³是NH₂、

NH[C(=O)]₀₋₁ (C₁-C₅烷基)、

N (C₁-C₅烷基)₂、

NH[C(=O)]₀₋₁ (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₃-C₈环烷基)、

NH[C(=O)]₀₋₁ (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₄-C₁₀二环烷基)、

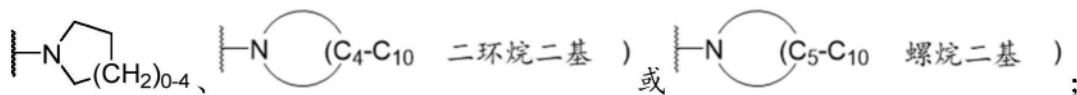
NH[C(=O)]₀₋₁ (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₅-C₁₀螺烷基)、

N (C₃-C₆环烷基)₂、

N[C₁-C₃烷基]C(=O) (C₁-C₆烷基)、

NH(SO₂) (C₁-C₅烷基)、

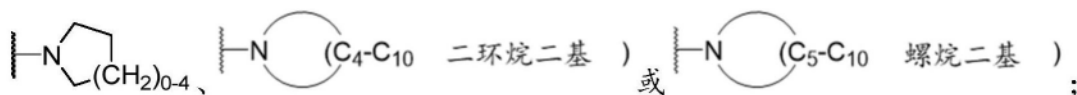
NH(SO₂) (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₃-C₈环烷基)、
 NH(SO₂) (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₄-C₁₀二环烷基)、
 NH(SO₂) (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₅-C₁₀螺烷基)、
 6元芳族或杂芳族部分、
 5元杂芳族部分或
 具有以下结构的部分：



R⁵是H、C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基、C₃-C₆环烷基、卤代、O (C₁-C₅烷基)、(C₁-C₄烷二基)OH、
 (C₁-C₄烷二基)O (C₁-C₃烷基)、苯基、NH (C₁-C₅烷基)、5或6元杂芳基、

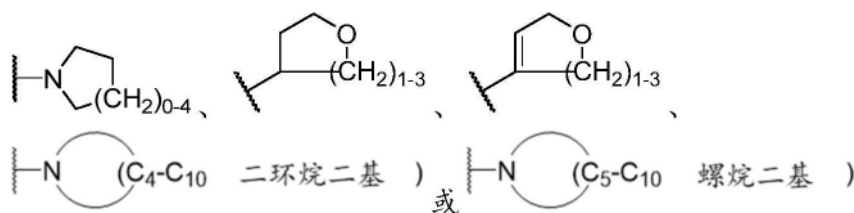


R⁶是NH₂、
 (NH)₀₋₁ (C₁-C₅烷基)、
 N (C₁-C₅烷基)₂、
 (NH)₀₋₁ (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₃-C₈环烷基)、
 (NH)₀₋₁ (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₄-C₁₀二环烷基)、
 (NH)₀₋₁ (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (C₅-C₁₀螺烷基)、
 N (C₃-C₆环烷基)₂、
 或
 具有以下结构的部分：



R⁷和R⁸独立地是
 C₁-C₄烷基、
 C₂-C₄亚烷基、
 C₃-C₄环烷基、
 或者R⁷和R⁸与它们所键合的碳组合以形成3至7元环烷基部分；
 R^x和R^y独立地是H或C₁-C₃烷基或者R^x和R^y与它们所键合的氮组合以形成3至7元杂
 环；

其中在R¹、R²、R³、R⁵、R⁶、R⁷和R⁸中
 烷基部分、烷二基部分、环烷基部分或下式的部分：

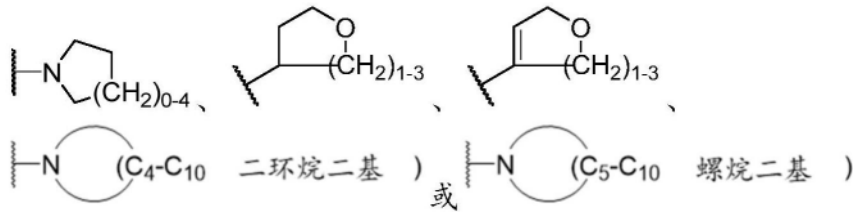


任选地被选自以下的一个或多个取代基取代：OH、卤代、CN、(C₁-C₃烷基)、O (C₁-C₃

烷基)、C(=O)(C₁-C₃烷基)、SO₂(C₁-C₃烷基)、NR^xR^y、(C₁-C₄烷二基)OH、(C₁-C₄烷二基)O(C₁-C₃烷基)；

并且

烷基、烷二基、环烷基或下式的部分：



能够具有被以下替代的CH₂基团：O、SO₂、CF₂、C(=O)、NH、

N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₃烷基)、

N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)CF₃、

N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)OH、

或

N[C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₅环烷基)。

[0019] 本文公开的化合物具有作为TLR7激动剂的活性，并且一些化合物可以与抗体缀合，用于靶向递送至预期作用的靶组织或器官。还可以将其聚乙二醇化，以调节其药物特性。

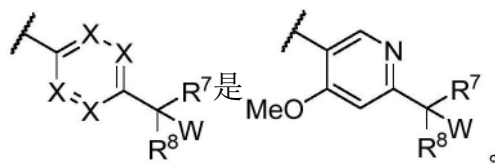
[0020] 本文公开的化合物或其缀合物或其聚乙二醇化衍生物可以用于通过向患有顺从通过激活免疫系统进行治疗的病症的受试者施用治疗有效量的这样的化合物或其缀合物或其聚乙二醇化衍生物(尤其是与疫苗或癌症免疫治疗剂组合)治疗这样的受试者。

具体实施方式

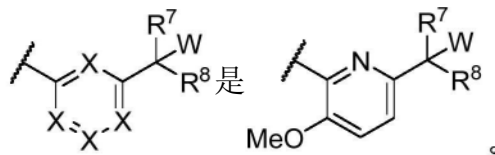
化合物

[0021] 在一个方面，W是R³。

[0022] 在一个方面，在式(I)中，以下部分：

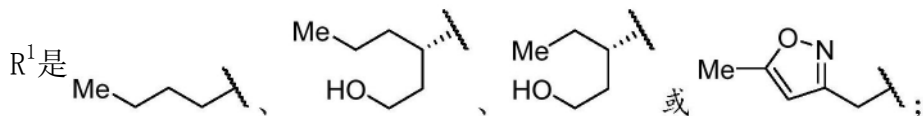


[0023] 在一个方面，在式(II)中，以下部分：

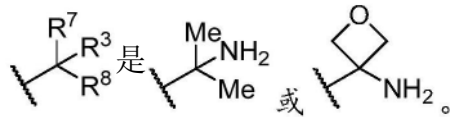


[0024] 在一个方面，本公开文本的化合物是根据式(Ia)，其中R¹、R³、R⁷和R⁸是如关于式(I)所定义的：

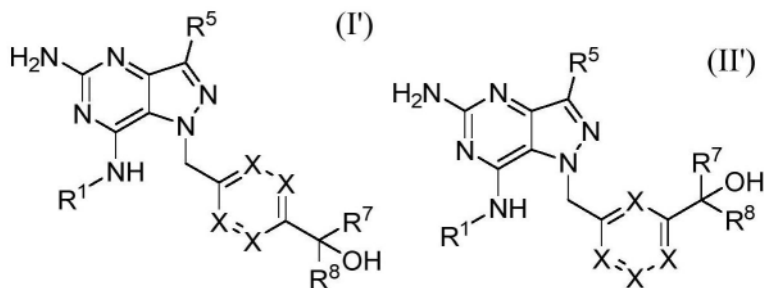
其中



并且



[0034] 在另一个方面,提供了具有根据式(I')或(II')的结构的化合物



其中

每个X独立地是N或CR²;

R¹是(C₁-C₅烷基)、

(C₂-C₅烯基)、

(C₁-C₈烷二基)₀₋₁ (C₃-C₆环烷基)、

(C₁-C₈烷二基)₀₋₁ (C₅-C₁₀螺烷基)、

(C₂-C₈烷二基)OH、

(C₂-C₈烷二基)O (C₁-C₃烷基)、

(C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (5-6元杂芳基)、

(C₁-C₄烷二基)₀₋₁ 苯基、

(C₁-C₄烷二基)CF₃、

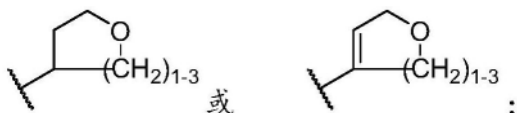
(C₂-C₈烷二基)N[C(=O)] (C₁-C₃烷基)、

或

(C₂-C₈烷二基)NR^xR^y;

每个R²独立地是H、O (C₁-C₃烷基)、S (C₁-C₃烷基)、SO₂ (C₁-C₃烷基)、C₁-C₃烷基、O (C₃-C₄环烷基)、S (C₃-C₄环烷基)、SO₂ (C₃-C₄环烷基)、C₃-C₄环烷基、Cl、F、CN或[C(=O)]₀₋₁NR^xR^y;

R⁵是H、C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基、C₃-C₆环烷基、卤代、O (C₁-C₅烷基)、(C₁-C₄烷二基)OH、(C₁-C₄烷二基)O (C₁-C₃烷基)、苯基、NH (C₁-C₅烷基)、5或6元杂芳基、



R⁷和R⁸独立地是

C₁-C₄烷基、

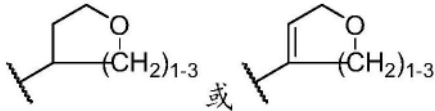
C₂-C₄亚烷基、

C_3 - C_4 环烷基,

或者 R^7 和 R^8 与它们所键合的碳组合以形成3至7元环烷基部分;

R^x 和 R^y 独立地是H或 C_1 - C_3 烷基或者 R^x 和 R^y 与它们所键合的氮组合以形成3至7元杂环;其中在 R^1 、 R^2 、 R^5 、 R^7 和 R^8 中

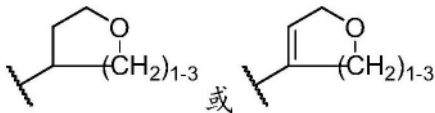
烷基部分、烷二基部分、环烷基部分或下式的部分:



任选地被选自以下的一个或多个取代基取代:OH、卤代、CN、(C_1 - C_3 烷基)、O(C_1 - C_3 烷基)、C(=O)(C_1 - C_3 烷基)、 SO_2 (C_1 - C_3 烷基)、 NR^xR^y 、(C_1 - C_4 烷二基)OH、(C_1 - C_4 烷二基)O(C_1 - C_3 烷基);

并且

烷基、烷二基、环烷基或下式的部分:



能够具有被以下替代的 CH_2 基团:O、 SO_2 、 CF_2 、C(=O)、NH、

$N[C(=O)]_{0-1}$ (C_1 - C_3 烷基)、

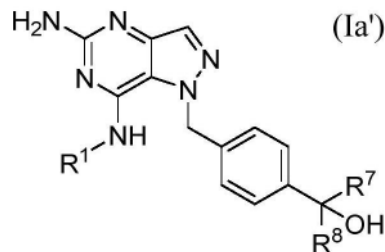
$N[C(=O)]_{0-1}$ (C_1 - C_4 烷二基) CF_3 、

$N[C(=O)]_{0-1}$ (C_1 - C_4 烷二基)OH、

或

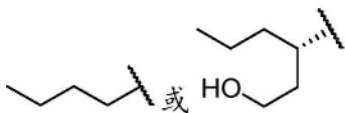
$N[C(=O)]_{0-1}$ (C_1 - C_4 烷二基) $_{0-1}$ (C_3 - C_5 环烷基)。

[0035] 在另一个方面,提供了具有根据式(Ia')的结构的化合物

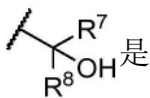


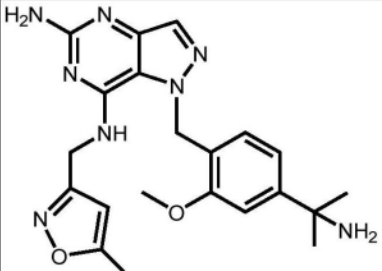

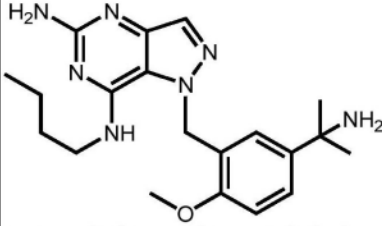
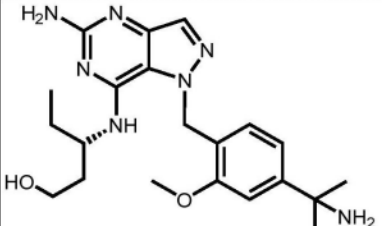
其中

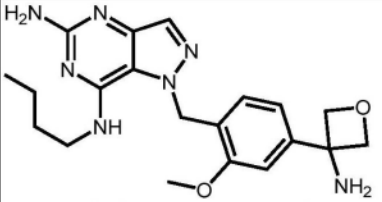
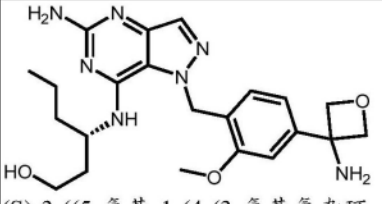
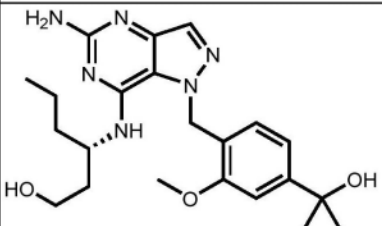
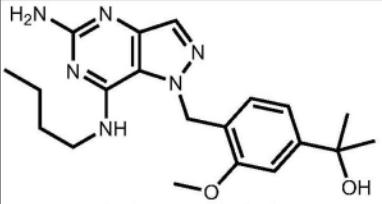
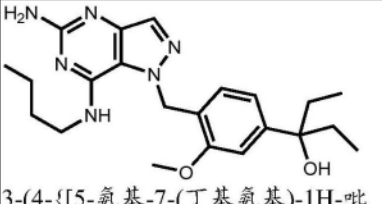
R^1 是

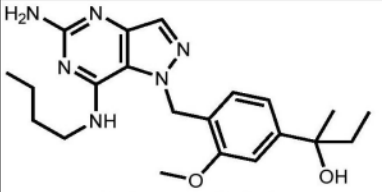
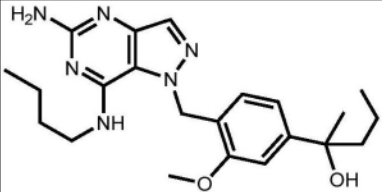
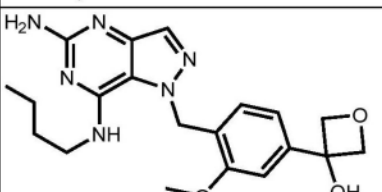
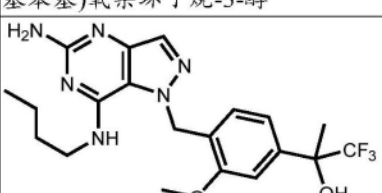
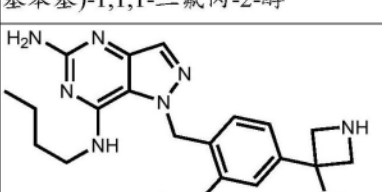


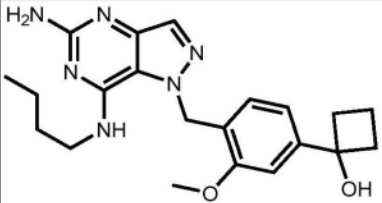
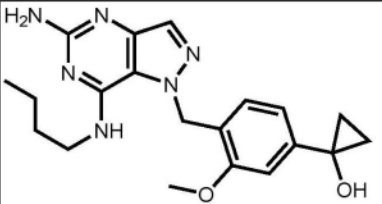
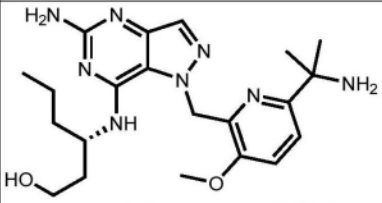
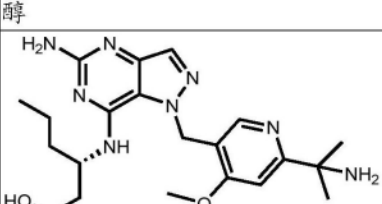
并且



表A				
化合物编号	结构	hTLR7激动作用 EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	分析数据 (质谱, LC/MS保留时间, ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆), 除非另有说明)
103	 <p>1-(4-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-N7-((5-甲基异噁唑-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺</p>	202.0		LC/MS [M+H] ⁺ = 423.1 RT (min) = 1.02 (LC/MS程序A) δ 7.60 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.95 (br d, J=6.4 Hz, 1H), 6.55 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.76 (s, 2H), 5.62 (s, 2H), 4.67 (br d, J=4.3 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 1.41 (s, 6H)。
104	 <p>(S)-3-((5-氨基-1-(5-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇</p>	34.5	12.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 428.2 RT (min) = 1.23 (LC/MS程序A) δ 7.49 (s, 1H), 7.36 (dd, J = 8.6, 2.4 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 5.66 - 5.40 (m, 4H), 4.25 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.25 (m, 2H), 1.60 - 1.24 (m, 6H), 1.14 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.97 (m, 2H), 0.69 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
105	 <p>1-(5-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-N7-丁基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺</p>	—	50.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 383.9 RT (min) = 1.33 (LC/MS程序A) δ 7.55 (s, 1H), 7.44 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 5.61 (s, 4H), 3.80 (s, 4H), 2.55 (s, 2H), 1.56 - 1.44 (m, 2H), 1.39 (s, 6H), 1.23 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
106	 <p>(S)-3-((5-氨基-1-(4-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)戊-1-醇</p>	210.9	3.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 414.2 RT (min) = 1.09 (LC/MS程序A) δ 7.57 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.94 (br d, J=8.0 Hz, 1H), 6.49 (d, J=8.0 Hz, 1H), 5.85 - 5.55 (m, 4H), 4.23 (br s, 1H), 3.96 - 3.81 (m, 3H), 3.45 - 3.26 (m, 1H), 1.76 - 1.60 (m, 2H), 1.60 - 1.47 (m, 8H), 1.41 (dt, J=14.0, 7.1 Hz, 2H), 0.76 - 0.58 (m, 3H)

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7激 动作用 EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	分析数据 (质谱, LC/MS保留时间, ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆), 除非另有说 明)
107	 <p>1-(4-(3-氨基氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-N7-丁基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺</p>	246.7	42.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 398.2 RT (min) = 1.28 (LC/MS程序A) δ 8.37 (br s, 1H), 7.89 (br s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.05 (br d, J=8.5 Hz, 1H), 6.98 (d, J=7.6 Hz, 1H), 5.76 (s, 2H), 4.94 (s, 4H), 3.80 (s, 2H), 3.65 - 3.54 (m, 1H), 1.62 (quin, J=7.4 Hz, 2H), 1.31 (dq, J=15.0, 7.3 Hz, 2H), 0.92 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
108	 <p>(S)-3-((5-氨基-1-(4-(3-氨基氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇</p>	43.4	3.3	LC/MS [M+H] ⁺ = 442.3 RT (min) = 0.97 (LC/MS程序A) δ 7.59 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.05 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 6.50 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.82 - 5.54 (m, 4H), 4.70 (d, J=6.1 Hz, 2H), 4.63 (dd, J=6.0, 2.3 Hz, 2H), 4.33 (br d, J=7.6 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.31 (br t, J=6.4 Hz, 1H), 1.79 - 1.60 (m, 1H), 1.52 (br dd, J=13.6, 7.8 Hz, 1H), 1.47 - 1.32 (m, 2H), 1.15 - 1.00 (m, 2H), 0.77 (t, J=7.3 Hz, 3H)
109	 <p>(3S)-3-[(5-氨基-1-[[4-(2-羟基丙-2-基)-2-甲氧基苄基]甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇</p>	4.6	3.5	[M+H] ⁺ = 429.0 LC RT = 1.36 (LC/MS方法A) δ 7.61 (s, 1H), 7.16 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 6.93 - 6.87 (m, 1H), 6.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.16 (s, 1H), 6.08 (s, 0H), 5.68 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 5.57 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.51 (s, 1H), 3.33 (s, 1H), 2.55 (d, J = 1.2 Hz, 5H), 1.65 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 1.56 - 1.49 (m, 0H), 1.39 (s, 6H), 1.07 (dt, J = 22.6, 8.5 Hz, 2H), 0.78 (t, J = 7.3 Hz, 3H)。
110	 <p>2-(4-[[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基]-3-甲氧基苄基)丙-2-醇</p>	71.13		[M+H] ⁺ = 385.12 LC RT = 1.52 min (LC/MS方法A)
111	 <p>3-(4-[[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基]-3-甲氧基苄基)戊-3-醇</p>	45.85		[M-H] ⁻ = 411.09 LC RT = 1.69 min (LC/MS方法A)

表A				
化合物编号	结构	hTLR7激动作用 EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	分析数据 (质谱, LC/MS保留时间, ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆), 除非另有说明)
112	 <p>2-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)丁-2-醇</p>	95.95		[M+H] ⁺ = 399.37 LC RT = 1.52 min (LC/MS方法A) δ 7.57 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.94 - 6.78 (m, J=7.9 Hz, 1H), 6.55 - 6.43 (m, 2H), 5.78 (br s, 2H), 5.61 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.66 (dt, J=13.2, 6.7 Hz, 2H), 1.48 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.37 (s, 3H), 1.21 (dq, J=14.7, 7.2 Hz, 2H), 0.85 (t, J=7.3 Hz, 3H), 0.67 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
113	 <p>2-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)戊-2-醇</p>	255.54		[M+H] ⁺ = 413.16 LC RT = 1.66 min (LC/MS方法A) δ 7.56 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.83 (br d, J=7.3 Hz, 1H), 6.45 (br d, J=8.2 Hz, 2H), 5.75 (br s, 1H), 5.60 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.61 (br dd, J=10.8, 5.3 Hz, 2H), 1.47 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.37 (s, 3H), 1.31 - 1.16 (m, 3H), 0.98 (br s, 1H), 0.85 (t, J=7.3 Hz, 3H), 0.77 (t, J=7.3 Hz, 3H)
114	 <p>3-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)氧杂环丁烷-3-醇</p>	410.23		[M+H] ⁺ = 399.22 LC RT = 1.39 min (LC/MS方法A) δ 7.56 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.08 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.57 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.46 (br t, J=5.5 Hz, 1H), 5.62 (br d, J=8.9 Hz, 4H), 4.74 (d, J=6.4 Hz, 2H), 4.66 (d, J=6.4 Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 3.40 (br d, J=6.1 Hz, 1H), 1.61 - 1.41 (m, 2H), 1.30 - 1.13 (m, 2H), 0.84 (t, J=7.3 Hz, 3H)
115	 <p>2-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)-1,1,1-三氟丙-2-醇</p>	146.05	340.47	[M+H] ⁺ = 439.12 LC RT = 1.58 min (LC/MS方法A) δ 7.57 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.02 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 6.47 (d, J=7.9 Hz, 2H), 5.64 (br t, J=4.6 Hz, 4H), 3.86 (s, 3H), 3.20 - 3.14 (m, J=14.0 Hz, 1H), 1.58 (br s, 1H), 1.47 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.38 - 1.26 (m, 1H), 1.18 (sxt, J=7.4 Hz, 2H), 0.94 (t, J=7.3 Hz, 2H), 0.83 (t, J=7.5 Hz, 3H)
116	 <p>3-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-3-醇</p>	786.5		[M+H] ⁺ = 398.05 LC RT = 1.05 min (LC/MS方法A) δ 7.55 (s, 1H), 7.20 (br s, 1H), 7.04 (br d, J=7.5 Hz, 1H), 6.56 (br d, J=7.7 Hz, 1H), 5.61 (s, 4H), 3.93 - 3.66 (m, 8H), 3.42 - 3.36 (m, 2H), 1.94 - 1.75 (m, 2H), 1.51 - 1.43 (m, 2H), 1.24 - 1.13 (m, 2H), 0.83 (t, J=7.4 Hz, 3H)

表A				
化合物编号	结构	hTLR7激动作用 EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	分析数据 (质谱, LC/MS保留时间, ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆), 除非另有说明)
117	 <p>1-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)环丁-1-醇</p>	25.9	803.5	[M+H] ⁺ = 397.11 LC RT = 1.59 min (LC/MS方法A) δ 7.60 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.97 (d, J=7.9 Hz, 1H), 6.58 (d, J=7.9 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.56 - 3.41 (m, 1H), 2.42 - 2.31 (m, 2H), 2.28 - 2.21 (m, 2H), 1.94 - 1.85 (m, 1H), 1.67 - 1.57 (m, 1H), 1.50 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.21 (sxt, J=7.4 Hz, 2H), 0.85 (t, J=7.3 Hz, 3H)
118	 <p>1-(4-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-3-甲氧基苯基)环丙-1-醇</p>	257.4	275.7	[M+H] ⁺ = 383.17 LC RT = 1.7 min (LC/MS方法A) δ 7.63 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.48 (d, J=7.8 Hz, 1H), 6.85 (br s, 1H), 6.53 (d, J=7.6 Hz, 1H), 6.02 (br s, 1H), 5.73 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.00 (q, J=7.2 Hz, 2H), 1.47 (quin, J=7.3 Hz, 2H), 1.19 - 1.10 (m, 2H), 1.07 (t, J=7.2 Hz, 3H), 0.81 (t, J=7.5 Hz, 3H)
119	 <p>(3S)-3-[(5-氨基-1-([6-(2-氨基丙-2-基)-3-甲氧基吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇</p>	4954		LC/MS [M+H] ⁺ 429.2 LC RT: 1.04 min. (方法A)。 δ 7.52 (s, 1H), 7.47 - 7.38 (m, 2H), 6.16 (br d, J=8.9 Hz, 1H), 5.82 (br d, J=16.8 Hz, 1H), 5.70 (br d, J=16.8 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 4.29 (br s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.49 (br s, 1H), 3.32 (br s, 1H), 1.90 (br s, 2H), 1.70 - 1.53 (m, 2H), 1.53 - 1.35 (m, 3H), 1.16 (s, 3H), 1.13 - 1.10 (m, 3H), 1.10 - 1.01 (m, 2H), 0.76 (t, J=7.3 Hz, 3H)
120	 <p>(3S)-3-[(5-氨基-1-([6-(2-氨基丙-2-基)-4-甲氧基吡啶-3-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇</p>	48.3		LC/MS m/z = 429.2 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.857 (LC/MS方法B)。 ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.59 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.24 - 6.18 (m, 1H), 5.76 - 5.58 (m, 4H), 4.40 - 4.29 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.39 (br s, 2H), 1.74 - 1.59 (m, 2H), 1.54 - 1.41 (m, 8H), 1.20 - 1.04 (m, 2H), 0.81 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

药物组合物和施用

[0037] 在另一个方面,提供了药物组合物,所述药物组合物包含与药学上可接受的载体或赋形剂一起配制的如本文公开的化合物或其缀合物。它可以任选地含有一种或多种另外的药物活性成分,诸如生物制剂或小分子药物。所述药物组合物可以在组合疗法中与另一种治疗剂(尤其是抗癌剂)一起施用。

[0038] 所述药物组合物可以包含一种或多种赋形剂。可以使用的赋形剂包括载体、表面活性剂、增稠剂或乳化剂、固体粘合剂、分散或悬浮助剂、增溶剂、着色剂、调味剂、包衣、崩解剂、润滑剂、甜味剂、防腐剂、等渗剂及其组合。Gennaro编辑, Remington: The Science

and Practice of Pharmacy, 第20版 (Lippincott Williams&Wilkins 2003) 中教导了合适的赋形剂的选择和使用。

[0039] 优选地, 药物组合物适用于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮施用(例如, 通过注射或输注)。根据施用途, 可以将活性化合物包被在材料中以保护所述化合物免受可能使其失活的酸和其他天然条件的作用。短语“肠胃外施用”意指除了肠施用和外用施用之外的施用方式, 通常通过注射进行, 并且包括而限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心脏内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外以及胸骨内注射和输注。可替代地, 可以经由非肠胃外途径施用所述药物组合物, 所述非肠胃外途径诸如外用、表皮或粘膜施用途, 例如鼻内、口服、阴道、直肠、舌下或外用。

[0040] 药物组合物可以呈无菌水性溶液或分散体的形式。也可以将它们配制成微乳液、脂质体或适合于实现高药物浓度的其他有序结构。所述组合物也可以以冻干物(用于在施用前在水中重构)的形式提供。

[0041] 可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据正在被治疗的受试者和特定的施用方式而变化并且将通常是产生治疗效果的该组合物量。通常, 从百分比来说, 此量的范围将是约0.01%至约99%的活性成分, 优选从约0.1%至约70%、最优选从约1%至约30%的活性成分, 与药学上可接受的载体组合。

[0042] 调整剂量方案以提供治疗反应。例如, 可以施用单次推注, 可以随时间施用几个分开的剂量, 或者可以如由情况的紧急程度所指示的按比例减少或增加剂量。以剂量单位形式配制肠胃外组合物是尤其有利的, 以便于施用和剂量的均匀。“剂量单位形式”是指适合作为单位剂量用于待治疗的受试者的物理上离散的单位; 每个单位含有与所需的药物载体联合的经计算产生所需治疗反应的预定量的活性化合物。

[0043] 所述剂量的范围是从约0.0001至100mg/kg宿主体重并且更通常0.01至5mg/kg宿主体重。例如, 剂量可以是0.3mg/kg体重、1mg/kg体重、3mg/kg体重、5mg/kg体重或10mg/kg体重或者在1-10mg/kg或可替代地0.1至5mg/kg的范围内。示例性治疗方案是每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每月一次、每3个月一次或每3至6个月一次的施用。优选的剂量方案包括使用以下给药时间表中的一种经由静脉内施用1mg/kg体重或3mg/kg体重: (i) 每四周, 持续六个剂量, 然后每三个月; (ii) 每三周; (iii) 一次3mg/kg体重, 然后是每三周1mg/kg体重。在一些方法中, 调整剂量以达到约1-1000 μ g/mL并且在一些方法中约25-300 μ g/mL的血浆抗体浓度。

[0044] 本发明的化合物的“治疗有效剂量”优选地导致疾病症状的严重程度的降低、无疾病症状时期的频率和持续时间的增加或对由于疾病困扰而引起的损伤或残疾的预防。例如, 对于荷瘤受试者的治疗, 相对于未经治疗的受试者, “治疗有效剂量”优选地抑制肿瘤生长至少约20%、更优选至少约40%、甚至更优选至少约60%、仍更优选至少约80%。治疗有效量的治疗化合物可以减小受试者的肿瘤大小或在其他方面改善受试者的症状, 所述受试者通常是人, 但是可以是另一种哺乳动物。在组合治疗中施用两种或更多种治疗剂的情况下, “治疗有效量”是指组合作为整体的功效, 而不是单独地每种药剂的功效。

[0045] 所述药物组合物可以是控释或缓释配制品, 包括植入物、透皮贴剂和微囊化递送系统。可以使用可生物降解的可生物相容的聚合物, 诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。参见例如, Sustained and Controlled Release Drug

Delivery Systems, J.R. Robinson 编辑, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

[0046] 可以经由诸如 (1) 无针皮下注射装置; (2) 微量输注泵; (3) 透皮装置; (4) 输注装置; 和 (5) 渗透装置的医疗装置施用治疗组合物。

[0047] 在某些实施方案中, 可以配制所述药物组合物以确保在体内的适当分布。例如, 为了确保本发明的治疗化合物穿过血脑屏障, 可以将它们配制在脂质体中, 所述脂质体可以另外地包含靶向部分以增强向特定细胞或器官的选择性转运。

工业实用性和用途

[0048] 本文公开的TLR7激动剂化合物可以用于治疗可通过激活TLR7而改善的疾病或病症。

[0049] 在一个实施方案中, 将TLR7激动剂与抗癌免疫治疗剂 (也称为免疫肿瘤学药剂) 组合使用。抗癌免疫治疗剂通过刺激身体的免疫系统以攻击和破坏癌细胞, 尤其是通过激活T细胞来工作。免疫系统具有许多检查点 (调节) 分子, 以帮助维持其攻击正当的靶细胞与防止其攻击健康的正常细胞之间的平衡。一些分子是刺激剂 (上调剂), 这意味着它们的参与促进T细胞激活并且增强免疫应答。其他分子是抑制剂 (下调剂或制止剂), 这意味着它们的参与抑制T细胞激活并且减轻免疫应答。激动性免疫治疗剂与刺激性检查点分子的结合可以导致后者的激活和针对癌细胞的免疫应答增强。相反, 拮抗性免疫治疗剂与抑制性检查点分子的结合可以防止免疫系统被后者下调并且帮助维持针对癌细胞的强烈应答。刺激性检查点分子的例子是B7-1、B7-2、CD28、4-1BB (CD137)、4-1BBL、ICOS、CD40、ICOS-L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、DR3和CD28H。抑制性检查点分子的例子是CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM-3、半乳凝素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳凝素-1、CD113、GPR56、VISTA、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1、CD96和TIM-4。

[0050] 无论抗癌免疫治疗剂的作用方式是哪种, 均可以通过总体上调免疫系统 (诸如通过激活TLR7) 来提高其有效性。因此, 在一个实施方案中, 本说明书提供了治疗癌症的方法, 所述方法包括向患有这样的癌症的患者施用抗癌免疫治疗剂和如本文公开的TLR7激动剂的治疗有效组合。施用时间可以是同时的、顺序的或交替的。施用方式可以是全身的或局部的。可以经由缀合物以靶向的方式递送所述TLR7激动剂。

[0051] 可以通过如上所述的组合治疗进行治疗的癌症包括急性髓系白血病、肾上腺皮质癌、卡波西肉瘤、淋巴瘤、肛门癌、阑尾癌、畸胎样/横纹肌样瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、支气管肿瘤、类癌瘤、心脏肿瘤、宫颈癌、脊索瘤、慢性淋巴细胞白血病、慢性骨髓增生性肿瘤、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、胆管癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、鼻腔神经胶质瘤、尤因肉瘤、眼癌、输卵管癌、胆囊癌、胃肠道类癌瘤、胃肠道间质瘤、生殖细胞瘤、毛细胞白血病、头颈癌、心脏癌症、肝癌、下咽癌、胰腺癌、肾癌、喉癌、慢性髓细胞性白血病、唇和口腔癌、肺癌、黑素瘤、梅克尔细胞癌、间皮瘤、口癌、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、阴茎癌、咽喉癌、前列腺癌、直肠癌、唾液腺癌、皮肤癌、小肠癌、软组织肉瘤、睾丸癌、喉癌、甲状腺癌、尿道癌、子宫癌、阴道癌和外阴癌。

[0052] 可以用于如本文公开的组合疗法的抗癌免疫治疗剂包括: AMG 557、AMP-224、阿替利珠单抗 (atezolizumab)、阿维鲁单抗 (avelumab)、BMS 936559、西米普利单抗 (cemiplimab)、CP-870893、达西珠单抗 (dacetuzumab)、度伐鲁单抗 (durvalumab)、依诺妥珠单抗 (enoblituzumab)、加利昔单抗 (galiximab)、IMP321、伊匹单抗、鲁卡木单抗

(lucatumumab)、MEDI-570、MEDI-6383、MEDI-6469、莫罗单抗 (muromonab) -CD3、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗 (pidilizumab)、斯巴达珠单抗 (spartalizumab)、曲美目单抗 (tremelimumab)、乌瑞鲁单抗 (urelumab)、乌托鲁单抗 (utomilumab)、瓦立鲁单抗 (varlilumab)、珀伽利珠单抗 (vonlerolizumab)。下表B列出了它们的一个或多个替代名称 (商标名称、曾用名、研究代码或同义词) 和各自的靶检查点分子。

表B		
免疫治疗剂	一个或多个替代名称	靶标
AMG 557		B7RP-1 (ICOSL)
AMP-224		PD-1

表B		
免疫治疗剂	一个或多个替代名称	靶标
阿替利珠单抗	MPDL3280A、RO5541267、TECENTRIQ®	PD-L1
阿维鲁单抗	BAVENCIO®	PD-L1
BMS 936559		PD-L1
西米普利单抗	LIBTAYO®	PD-1
CP-870893		CD40
达西珠单抗		CD40
度伐鲁单抗	IMFINZI®	PD-L1
依诺妥珠单抗	MGA271	B7-H3
加利昔单抗		B7-1 (CD80)
IMP321		LAG-3
伊匹单抗	YERVOY®	CTLA-4
鲁卡木单抗		CD40
MEDI-570		ICOS (CD278)
MEDI-6383		OX40
MEDI-6469		OX40
莫罗单抗-CD3		CD3
纳武单抗	OPDIVO®	PD-1
派姆单抗	KEYTRUDA®	PD-1
匹地利珠单抗	MDV9300	PD-1
斯巴达珠单抗	PDR001	PD-1
曲美目单抗	替西木单抗 (Ticilimumab)、CP-675、CP-675,206	CTLA-4
乌瑞鲁单抗	BMS-663513	CD137
乌托鲁单抗	PF-05082566	CD137
瓦立鲁单抗	CDX 1127	CD27
珀伽利珠单抗	RG7888、MOXR0916、泊加丽珠单抗 (pogalizumab)	OX40

[0053] 在用TLR7激动剂的组合治疗的一个实施方案中,所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗CTLA-4、抗PD-1或抗PD-L1抗体。所述癌症可以是肺癌 (包括非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌、头颈癌、淋巴瘤 (包括霍奇金淋巴瘤)、皮肤癌 (包括黑素瘤和梅克尔皮肤癌)、尿路上皮癌

(包括膀胱癌)、胃癌、肝细胞癌或结直肠癌。

[0054] 在用TLR7激动剂的组合治疗的另一个实施方案中,所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗CTLA-4抗体,优选伊匹单抗。

[0055] 在用TLR7激动剂的组合治疗的另一个实施方案中,所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗PD-1抗体,优选纳武单抗或派姆单抗。

[0056] 本文公开的TLR7激动剂还可用作疫苗佐剂。

[0057] 通过参考以下实施例可以进一步理解本发明的实践,所述实施例是通过说明而非限制的方式来提供的。

分析程序

NMR

[0058] 以下条件用于获得质子核磁共振(NMR)谱:使用DMSO-d₆或CDCl₃作为溶剂和内标,在400Mz或500Mhz Bruker仪器中采集NMR谱。通过使用ADC Labs的ACD Spectrus版本2015-01或MestReNova软件分析原始NMR数据。

[0059] 化学位移以相对于内部四甲基硅烷(TMS)或相对于由氘化NMR溶剂推断出的TMS位置的低场百万分率(ppm)报告。表观多重性报告为:单峰-s、双峰-d、三重峰-t、四重峰-q或多重峰-m。表现出展宽的峰进一步表示为br。积分是近似的。应当注意,积分强度、峰形、化学位移和耦合常数可以取决于溶剂、浓度、温度、pH和其他因素。此外,在NMR谱中与水或溶剂峰重叠或交换的峰可能不能提供可靠的积分强度。在一些情况下,可以使用水峰抑制获得NMR谱,水峰抑制可能导致重叠峰不可见或具有改变的形状和/或积分。

液相色谱

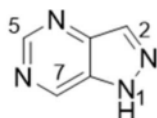
[0060] 使用以下制备型和分析型(LC/MS)液相色谱方法:

[0061] 分析型LC/MS程序A:柱:Waters XBridge C18,2.1mm x 50mm,1.7μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH₄OAc);温度:50°C;梯度:经3min 0%B至100%B,然后在100%B下保持0.50min;流速:1mL/min;检测:MS和UV(220nm)。

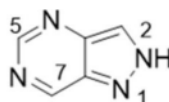
[0062] 分析型LC/MS程序B:柱:Xbridge BEH C18 XP(50x2.1mm),2.5μm;流动相A:5:95CH₃CN:H₂O(含10mM NH₄OAc);流动相B:95:5CH₃CN:H₂O(含10mM NH₄OAc);温度:50°C;梯度:经3min 0-100%B;流速:1.1mL/min。

合成-通用程序

[0063] 通常,本文公开的程序产生在吡唑并嘧啶环系统的1H或2H位置处烷基化的区域异构体(其也分别称为N1和N2区域异构体,暗指被烷基化的氮)的混合物。为简洁起见,为方便起见未示出N2区域异构体,但是应理解的是它们存在于最初的产物混合物中,并且稍后例如通过制备型HPLC进行分离。



1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶



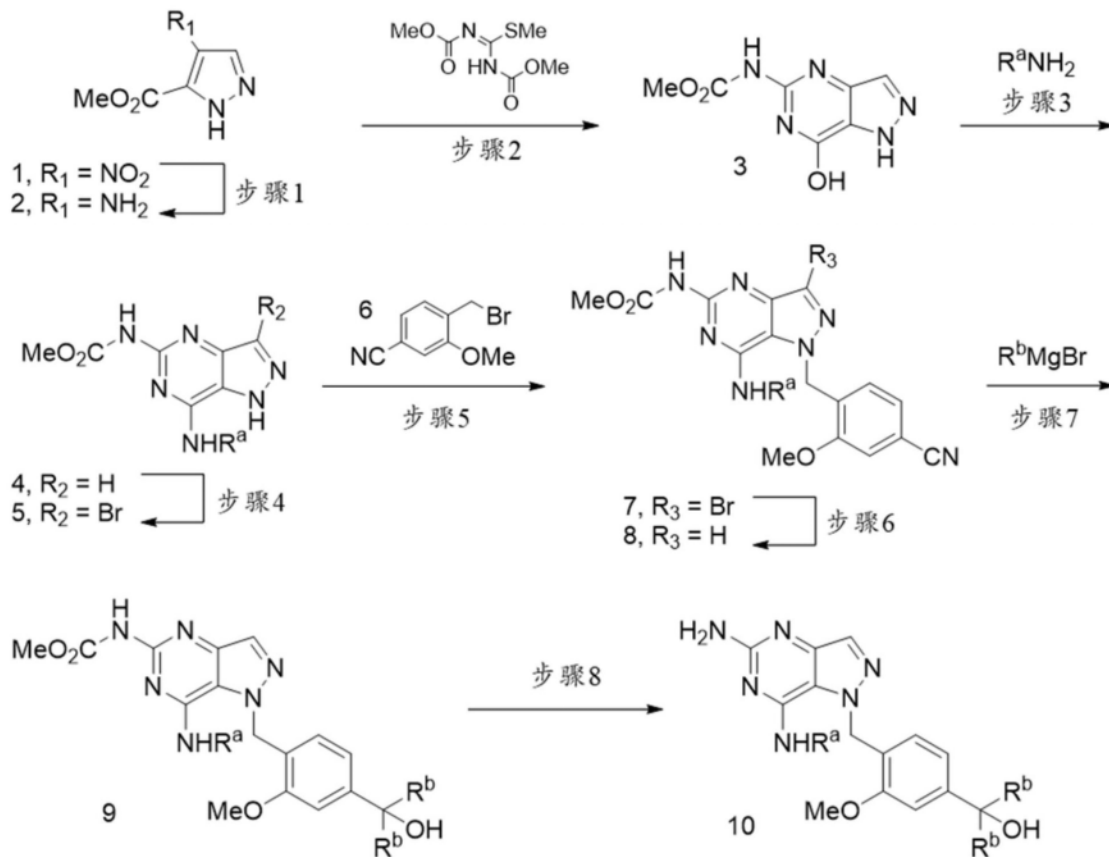
2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0064] 可以在合成的早期分离区域异构体的混合物,并且用1H区域异构体进行剩余的合成步骤,或者可替代地,可以携带区域异构体的混合物进行合成,并且根据需要在后期进行

分离。

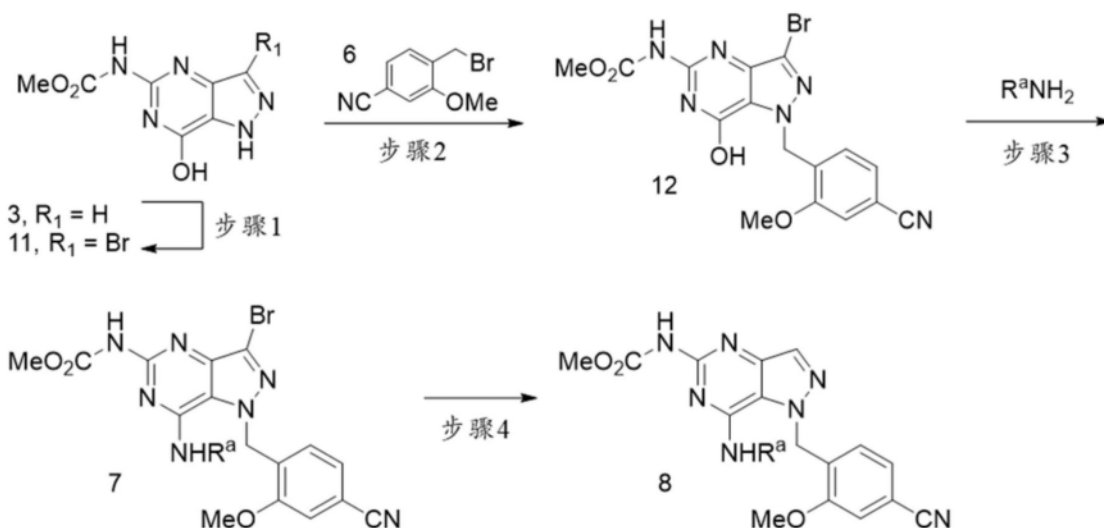
[0065] 可以通过合成有机化学领域的技术人员熟知的多种方法制备本公开文本的化合物。这些方法包括下文描述的那些或其变体。优选的方法包括但不限于下文在以下方案1-4中描述的那些。

方案1



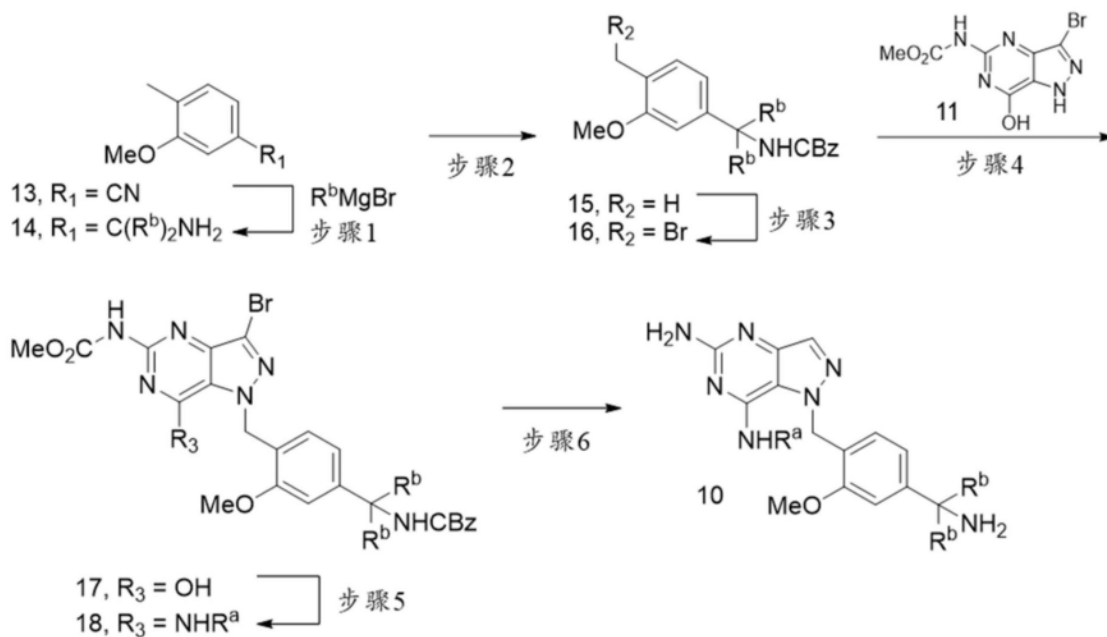
[0066] 可以通过以上方案1中概述的合成序列制备化合物10。还原硝基吡唑1以得到相应的胺2,然后与1,3-双(甲氧基羰基)-2-甲基-2-硫代异脲环化得到羟基吡唑并嘧啶3。使用BOP/DBU偶联条件引入胺以得到化合物4。随后使用NBS进行溴化得到溴吡唑并嘧啶5。使用苄基卤6进行烷基化得到N1和N2产物的混合物,将所述混合物分离,从而得到N1中间体7,将N1中间体7使用催化加氢脱溴以得到氰基中间体8,然后将氰基中间体8使用格氏试剂和异丙醇钛(IV)转化为gem-二烷基胺9。最后,使用氢氧化钠去除氨基甲酸甲酯得到目标化合物10。

方案2



[0067] 可替代地,可以使用在以上方案2中描述的途径获得氰基中间体8。使用NBS将中间体3溴化以得到化合物11,将其使用苄基卤6烷基化以得到羟基中间体12。使用BOP/DBU掺入胺 R^aNH_2 ,然后脱溴得到所需中间体8。

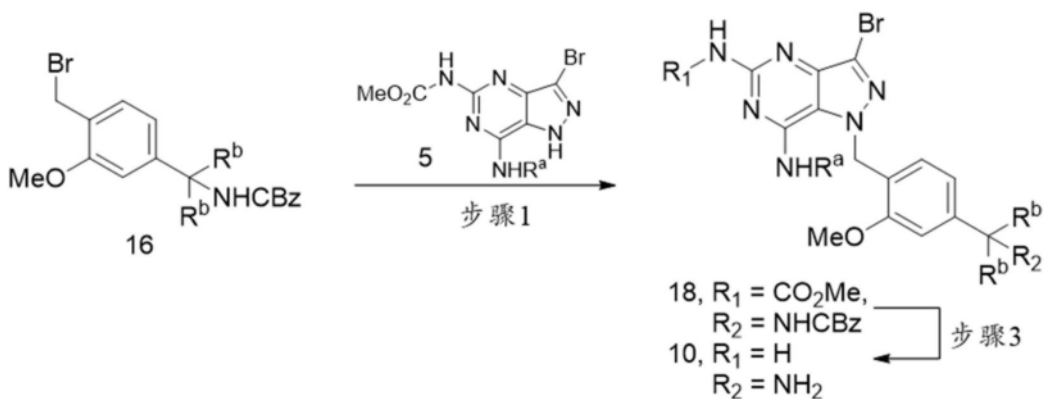
方案3



[0068] 到化合物10的另一条替代途径在以上方案3中描述。使用格氏试剂和异丙醇钛(IV)将苯甲腈13转化为二烷基胺14。然后使用氯甲酸苄酯保护胺14以得到中间体15,将其使用NBS/AIBN转化为苄基溴16。使用在DMF中的 Cs_2CO_3 将苄基溴16附接到吡唑并嘧啶中间体11上。使用BOP/DBU将所得产物17用 R^aNH_2 胺化。这得到中间体18,将其使用催化加氢去除溴基团和Cbz保护基团,然后使用氢氧化钠去除氨基甲酸甲酯而转化为最终化合物10。

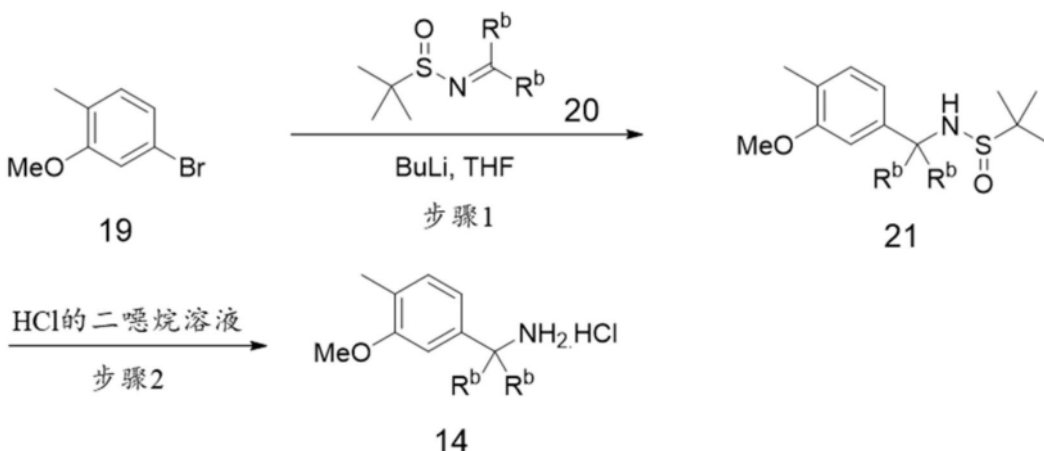
[0069] 以上方案用式(I)的区域异构体描绘。本领域技术人员将理解,相同的方案加以必要的修改可以适用于制备根据式(II)的化合物。

方案4



[0070] 以上方案4示出了替代方法,其中将中间体16附接到含胺的吡唑并嘧啶5上,从而得到中间体18。如之前使用催化加氢和氢氧化钠使中间体18去保护得到目标化合物10。

方案5



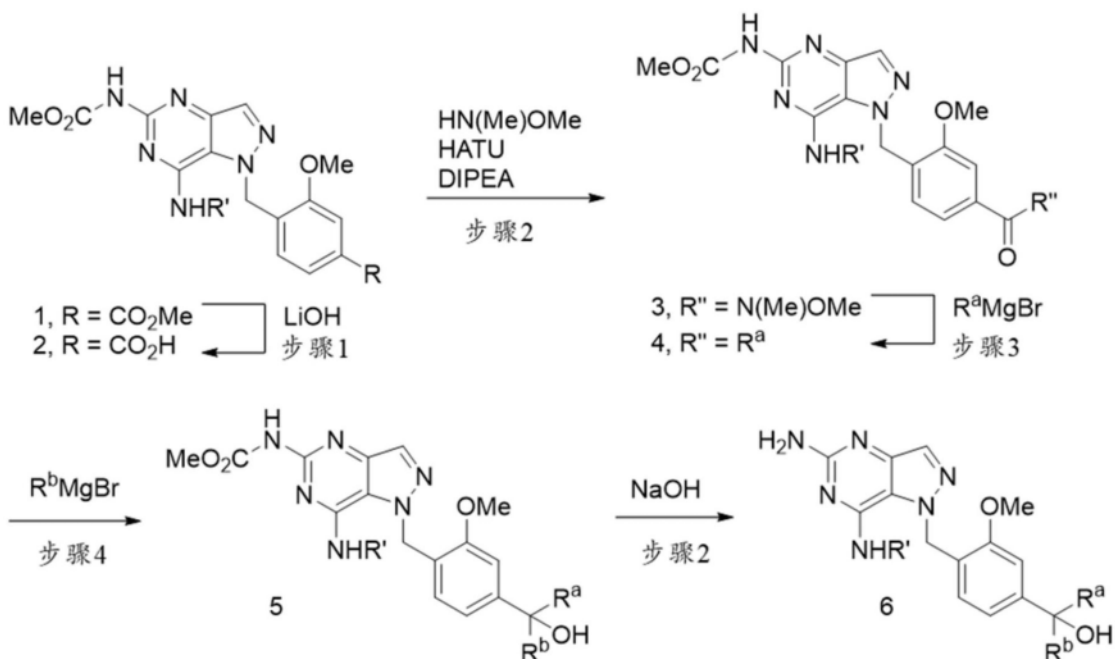
[0071] 中间体胺14的制备的进一步的替代方案在方案5中说明。可以将苯基卤19锂化并且与亚磺酰胺20一起淬灭,以提供受保护的胺21。使用在二噁烷中的HCl进行去保护得到呈盐酸盐的所需胺14。

方案6



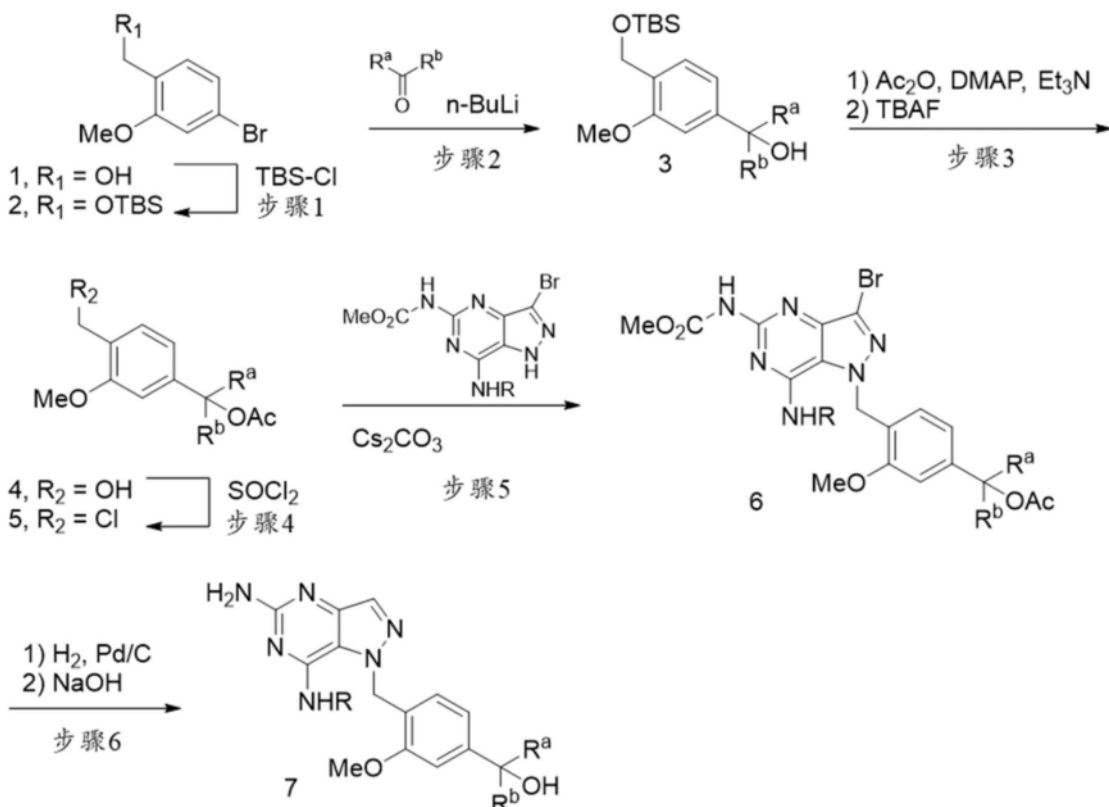
[0072] 可以按以上方案6制备对称的叔醇3(两个 R^a 基团相同)。将格氏试剂 R^aMgBr 添加到化合物1(US 2020/0038403)中,然后去除氨基甲酸甲酯保护基团得到目标化合物3。

方案7



[0073] 可以按以上方案7制备不对称的叔醇。将酯1水解为酸2,然后转化为Weinreb酰胺3。用格氏试剂R^aMgBr将酰胺3转化为酮4。再一次用格氏试剂R^bMgBr进行烷基化并且随后去除氨基甲酸甲酯保护基团产生不对称的叔醇6。

方案8



[0074] 到叔醇的替代途径在以上方案8中示出。保护苯甲醇1(使用TBS基团作为范例)。用n-BuLi金属化化合物2中的溴位置并且与酮R^aC(=O)R^b一起淬灭产生醇3。(R^a和R^b可以相同或不同。)在步骤3中,保护叔醇(例如,作为乙酸酯)并且使苯甲醇去保护产生苯甲醇4,将其

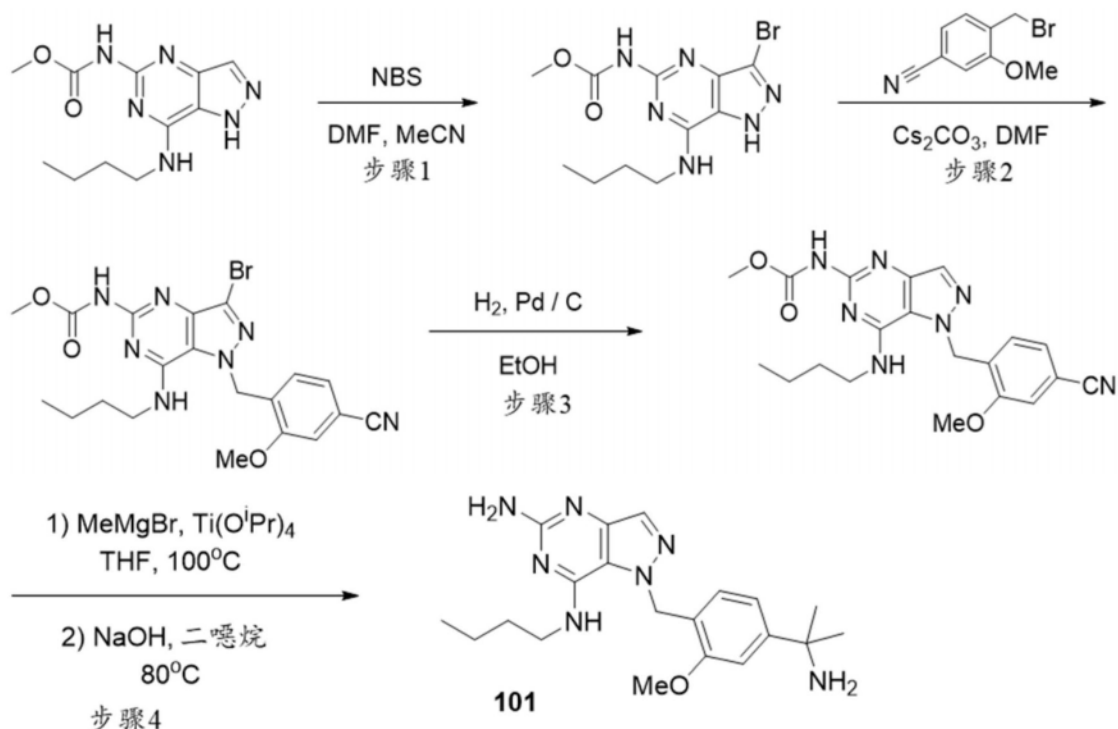
用亚硫酸氯转化为相应的苄基氯6。按步骤5进行偶联产生化合物6。(在C3处的溴基团有助于将偶联导向N1位置优先于N2位置。)加氢去除溴以及氨基甲酸酯保护基团的水解产生最终产物7。

合成-具体实施例

[0075] 为了进一步说明上述内容,包括以下非限制性、以下示例性合成方案。在权利要求范围内的这些实施例的变化在本领域技术人员的能力范围内,并且被认为落入本公开文本的范围内。读者应认识到,被提供本公开文本并且是相关领域的技术人员的技术人员将能够在没有穷举实施例的情况下制备和使用本文公开的化合物。

[0076] 编号100及以上的化合物的分析数据可见于表A。

实施例1-化合物101



[0077] 步骤1.向(7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(10g, 37.8mmol)在DMF/MeCN(1:1,120mL)中的搅拌悬浮液中添加NBS(7.41g,41.6mmol)。将反应在室温下搅拌1h。添加水(150mL),并且将反应混合物再搅拌10min。将产物通过过滤收集并且用水(3x50mL)洗涤,从而得到呈固体的(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(6.1g,17.77mmol,47.0%产率)。

LC-MS(ES, m/z): $[M+H]^+$ 343.0,345.0。

^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.87(br s,1H),9.80(s,1H),7.57(br s,1H),3.62(s,3H),3.59-3.48(m,2H),1.62(quin, $J=7.2\text{Hz}$,2H),1.40(dq, $J=14.9,7.3\text{Hz}$,2H),0.94(t, $J=7.4\text{Hz}$,3H)

[0078] 步骤2.在0°C下,向(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1g,2.91mmol)和 Cs_2CO_3 (1.899g,5.83mmol)在DMF(10mL)中的搅拌悬浮液中添加4-(溴甲基)-3-甲氧基苯甲腈(0.527g,2.331mmol)在DMF(2mL)中的溶液。允许将反应混合物缓慢加温至室温,搅拌过夜,倒入饱和 NaHCO_3 溶液(100mL)中,并且用EtOAc(3x40mL)萃取。将合

并的有机相用盐水 (3x40mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄),过滤,并且浓缩。快速色谱 (80g SiO₂柱,0至70%EtOAc的己烷溶液) 得到呈固体的 (3-溴-7-(丁基氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (320mg,0.655mmol,22.49%产率)。

LC-MS (ES,m/z) : [M+H]⁺488.3,490.3。

¹H NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ9.88 (s,1H),7.53 (s,1H),7.39-7.32 (m,2H),6.77 (d,J=7.7Hz,1H),5.78 (s,2H),3.85 (s,3H),3.63 (s,3H),3.51 (q,J=6.6Hz,2H),1.55 (quin,J=7.3Hz,2H),1.21 (sxt,J=7.4Hz,2H),0.86 (t,J=7.4Hz,3H)。

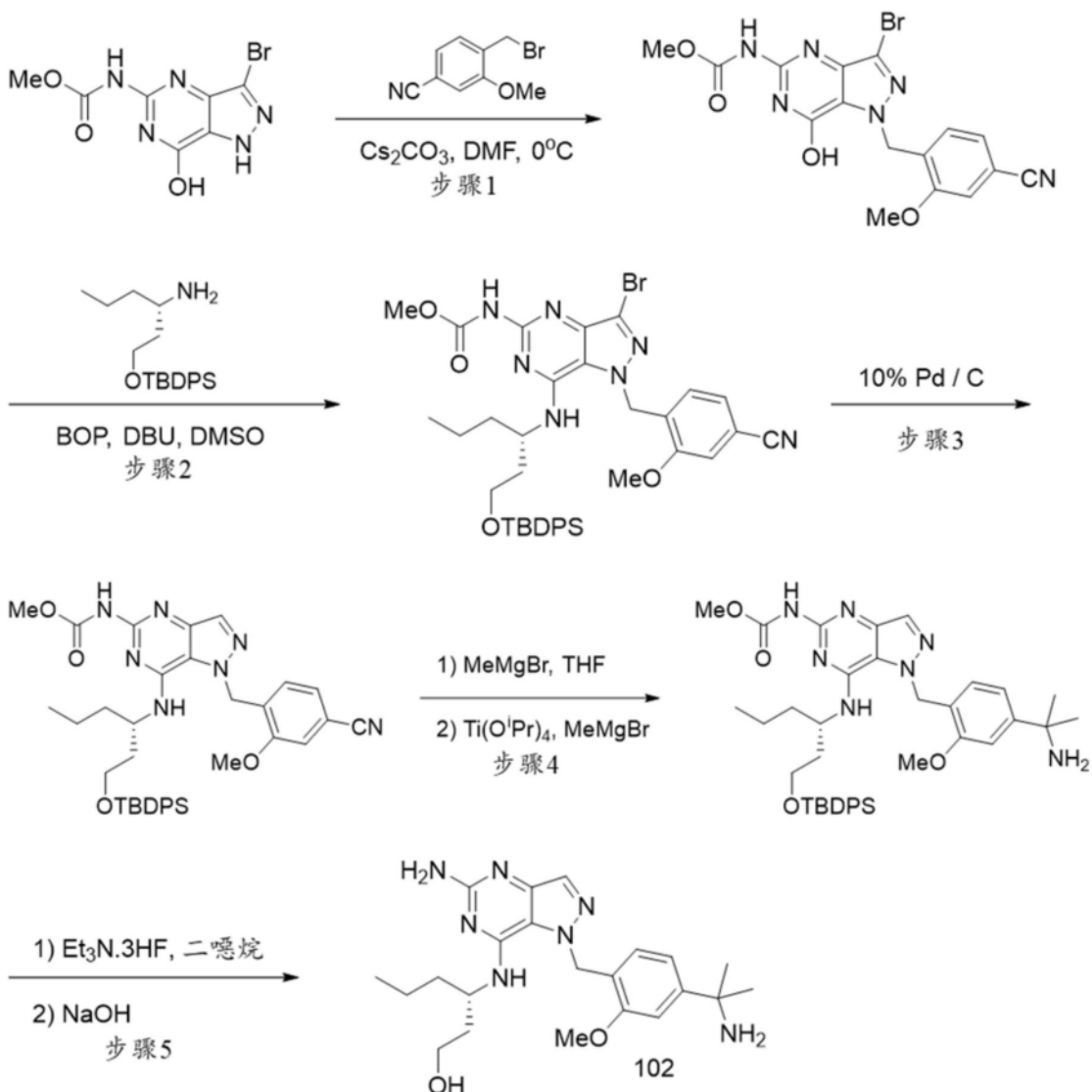
[0079] 步骤3.将 (3-溴-7-(丁基氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (315mg,0.645mmol) 悬浮在EtOH (15mL) 中。添加10%钯碳 (15mg)。将反应容器抽空并且用氢气吹扫六次。将反应混合物在氢气气氛下搅拌2h,过滤,并且蒸发至干,从而得到呈固体的 (7-(丁基氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (264mg,0.645mmol,98%产率)。

LC-MS (ES,m/z) : [M+H]⁺410.4。

¹H NMR (400MHz,氯仿-d) δ9.99 (br s,1H),8.73 (br s,1H),8.03 (s,1H),7.25-7.18 (m,2H),7.11 (s,1H),6.12 (s,2H),3.89 (s,3H),3.86 (s,3H),3.80 (q,J=6.8Hz,2H),1.64 (quin,J=7.4Hz,2H),1.34-1.21 (m,2H),0.89 (t,J=7.4Hz,3H)

[0080] 步骤4.将微波瓶用 (7-(丁基氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (60mg,0.147mmol) 和THF (2mL) 装填。添加甲基溴化镁 (0.293mL,0.879mmol)。在泡腾停止后,将小瓶加盖,并且将反应混合物在微波炉中加热至100℃持续10min。添加异丙醇钛 (IV) (42mg,0.147mmol) 和甲基溴化镁 (0.293mL,0.879mmol),并且将反应混合物在100℃下再加热10min。在冷却后,将反应混合物用饱和NH₄Cl溶液 (20mL) 淬灭并且用EtOAc (3x5mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (2x5mL) 洗涤,干燥 (MgSO₄),过滤,并且浓缩。将残余物溶解在二噁烷 (2mL) 中,并且添加NaOH (0.440mL,2.198mmol)。将反应混合物在80℃下加热3小时。在冷却后,将反应混合物用5N HCl中和并且蒸发至干。将粗材料溶解在DMF (2mL) 中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱: XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水 (含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水 (含NH₄OAc);梯度:在2%B下保持0分钟,经20min 2%-42%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物101 (9.2mg,0.024mmol,16%产率)。

实施例2-化合物102



[0081] 步骤1. 向(3-溴-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2g, 6.94mmol)在DMF(40mL)中的搅拌溶液中添加 Cs_2CO_3 (2.488g, 7.64mmol)。在冰浴中冷却后, 添加4-(溴甲基)-3-甲氧基苯甲腈(1.570g, 6.94mmol)在DMF(10mL)中的溶液。允许将反应缓慢升温至室温并且搅拌过夜。将反应混合物倒入饱和 NaHCO_3 溶液(200mL)和水(200mL)中, 并且添加 EtOAc (200mL)。由于溶解度非常低没有分层, 将混合物过滤。将沉淀物用水(2x50mL)和 MeCN (2x50mL)洗涤, 从而得到呈固体的(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.1g, 2.54mmol, 36.6%产率)。

LC-MS(ES, m/z): $[M-H] = 431.1, 433.1$ 。

^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.53(br s, 2H), 7.60-7.49(m, 1H), 7.43-7.29(m, 1H), 6.92(br d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 5.73(s, 2H), 3.88(s, 3H), 3.75(s, 3H)。

[0082] 步骤2. 向(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1g, 2.308mmol)、(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(1.231g, 3.46mmol)和BOP(1.531g, 3.46mmol)在DMSO(20mL)中的搅拌溶液中添加DBU(1.044mL, 6.92mmol)。将反应在60°C下搅拌1小时。在冷却后, 将反应混合物倒入饱和 NaHCO_3 溶液(100mL)中并且萃取到 EtOAc (3x70mL)中。将合并的有机物用盐水(4x40mL)洗

涤,干燥(MgSO_4),过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(80g SiO_2 柱,0至50%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到呈油状物的(S)-(3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.091g,1.415mmol,61.3%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 770.3, 772.2$ 。

^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.83 (s, 1H), 7.58-7.53 (m, 2H), 7.50-7.45 (m, 3H), 7.43-7.33 (m, 4H), 7.27-7.22 (m, 2H), 7.11 (dd, $J=7.9, 1.3\text{Hz}$, 1H), 6.62 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 6.53 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 5.86-5.71 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.62-3.52 (m, 5H), 1.87-1.77 (m, 2H), 1.57-1.43 (m, 2H), 1.15 (br dd, $J=17.6, 10.8\text{Hz}$, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.79 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。

[0083] 步骤3. 向(S)-(3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.08g,1.401mmol)在乙醇(70mL)中的溶液中添加10%钯碳(100mg)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫六次,然后将反应在氢气气氛下搅拌1小时。将反应通过CELITETM过滤(用乙醇(50mL)洗涤),并且将滤液蒸发至干。将粗材料使用快速色谱(40g SiO_2 柱,0至100%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到183mg产物。将柱再洗脱(经25min 0至10%MeOH的DCM溶液),从而再得到435mg产物。将这两个批次合并,以得到呈固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(618mg,0.893mmol,63.7%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 692.4$

^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.55 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.55 (d, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 7.49-7.34 (m, 7H), 7.23 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 2H), 7.01 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 1H), 6.36 (d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 6.29 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 5.81 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 4.57 (br d, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.61-3.58 (m, 3H), 3.57-3.48 (m, 2H), 1.86-1.72 (m, 2H), 1.55-1.41 (m, 2H), 1.20-0.97 (m, 2H), 0.93 (s, 9H), 0.77 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。

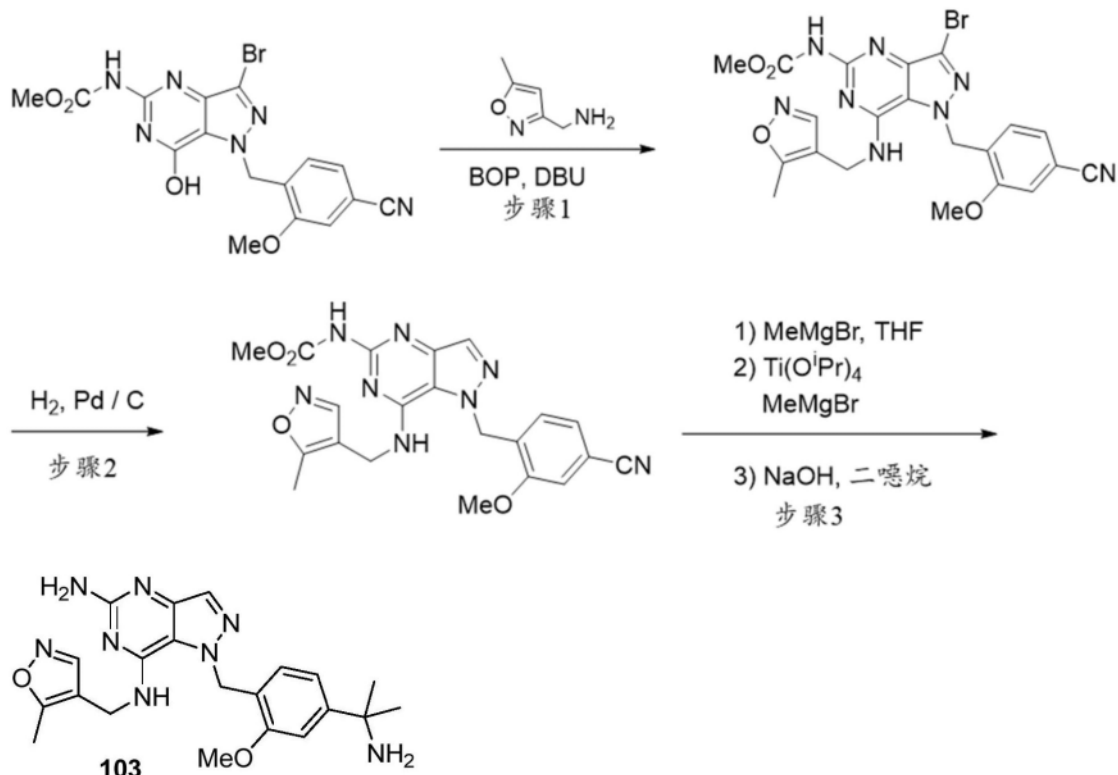
[0084] 步骤4. 将微波瓶用(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(150mg,0.217mmol)和THF(7mL)装填。添加甲基溴化镁(0.361mL,1.084mmol),并且将小瓶加盖,并且将反应在微波炉中在80°C下加热20min。添加异丙醇钛(IV)(0.127mL,0.434mmol),然后添加更多的甲基溴化镁(0.361mL,1.084mmol)。在微波炉中,将反应在80°C下再加热20min。将反应混合物用 NH_4Cl 溶液(10mL)淬灭并且萃取到EtOAc(3x5mL)中。将合并的有机物用盐水(5mL)洗涤,干燥(MgSO_4),过滤并且浓缩,从而得到呈胶状物的(S)-(1-(4-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(150mg,0.145mmol,66.9%产率,70%纯度)。

LC-MS (ES, m/z) : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 724.4$ 。

[0085] 步骤5. 将(S)-(1-(4-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(150mg,0.145mmol)溶解在二噁烷(4mL)中。添加三乙胺三氢氟酸盐(0.118mL,0.725mmol),并且将反应在70°C下搅拌1小时。然后添加NaOH(1.450mL,7.25mmol),并且将反应在80°C下再搅拌

1小时。在冷却后,将反应混合物用5N HCl中和并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF (2mL) 中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在2%B下保持0分钟,经20min 2%-42%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25C。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物102 (22.2mg,0.050mmol,34.7%产率)。

实施例3-化合物103



[0086] 步骤1.向(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(742mg,1.713mmol)、(5-甲基异噁唑-3-基)甲胺(288mg,2.57mmol)和BOP(1136mg,2.57mmol)在DMSO(10mL)中的搅拌溶液中添加DBU(0.775mL,5.14mmol)。将反应在60℃下搅拌1小时。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(100mL)中并且萃取到EtOAc(3x70mL)中。将合并的有机物用盐水(4x40mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。快速色谱(80g SiO₂柱,0至85%EtOAc的己烷溶液)得到呈固体的(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-(((5-甲基异噁唑-3-基)甲基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(295mg,0.559mmol,32.7%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 527.1, 529.1。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.03 (s, 1H), 8.03 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.49 (d, J=1.3Hz, 1H), 7.35 (dd, J=7.7, 1.3Hz, 1H), 6.87 (d, J=7.9Hz, 1H), 6.21 (d, J=0.9Hz, 1H), 5.78 (s, 2H), 4.77 (d, J=5.7Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.74-3.58 (m, 3H), 2.39-2.30 (m, 3H)。

[0087] 步骤2.向(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-(((5-甲基异噁唑-3-基)甲基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(290mg,0.550mmol)在乙醇(15mL)中的搅拌溶液中添加10%钯碳(29mg)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫六次,然后将反应在氢

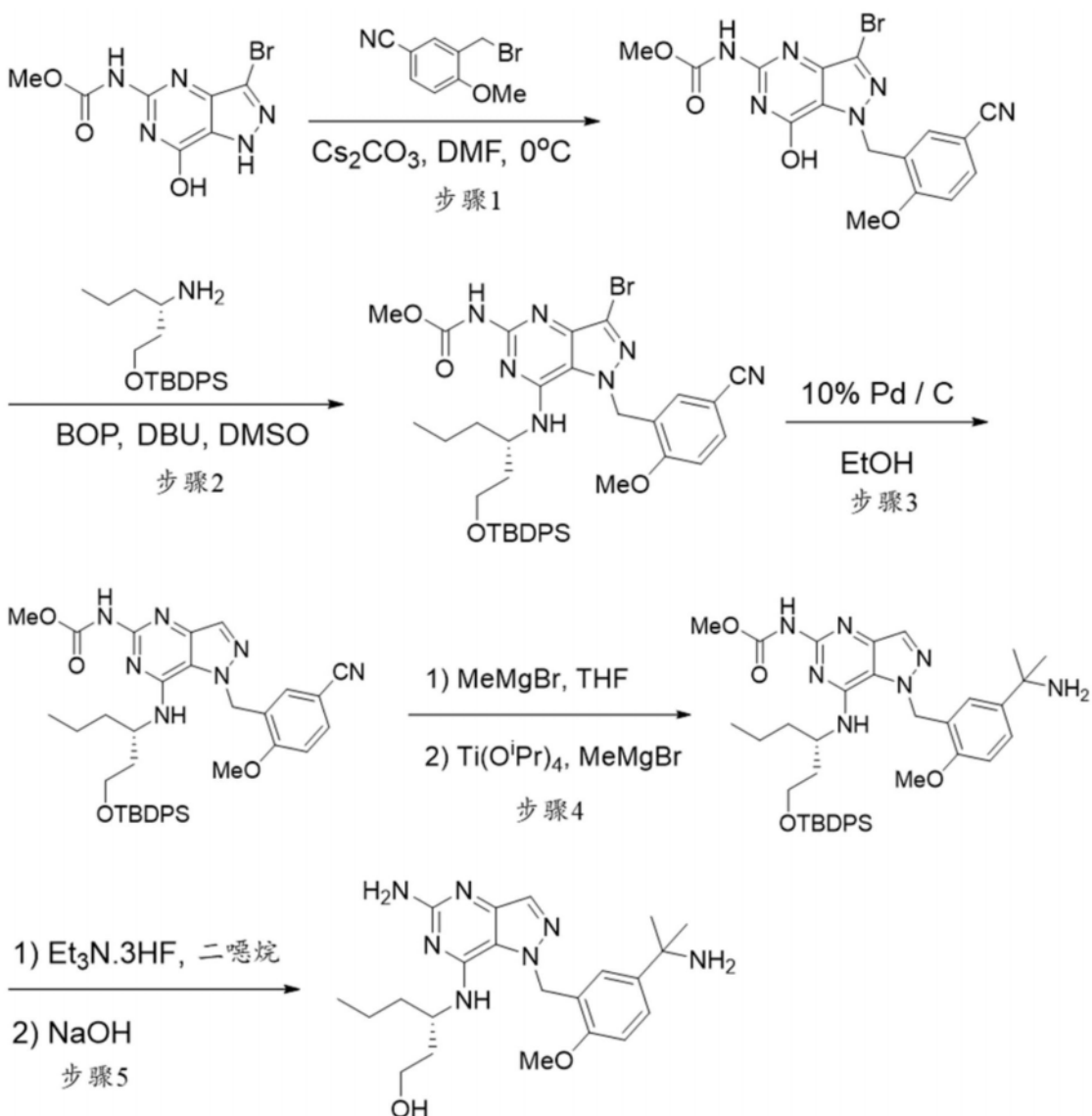
气氛下在室温下搅拌2小时。将反应混合物蒸发至干,并且将粗材料使用快速色谱(24g SiO₂柱,0至10%MeOH的DCM溶液)纯化,从而得到呈固体的(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-(((5-甲基异噁唑-3-基)甲基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(290mg,0.550mmol)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 449.1。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 10.37 (br s, 1H), 8.20 (br s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.50 (d, J=1.3Hz, 1H), 7.32 (dd, J=7.8, 1.2Hz, 1H), 6.71 (br d, J=7.5Hz, 1H), 6.16 (s, 1H), 5.81 (s, 2H), 4.76 (br d, J=5.7Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 2.35 (s, 3H)。

[0088] 步骤3. 将微波瓶用(1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-(((5-甲基异噁唑-3-基)甲基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(70mg,0.156mmol)、THF(3mL)和甲基溴化镁(0.260mL,0.780mmol)装填。在微波炉中,将反应在80℃下加热20min。添加异丙醇钛(IV)(0.091mL,0.312mmol),然后添加甲基溴化镁(0.260mL,0.780mmol),并且将反应在微波炉中在70℃下再加热20min。添加更多的甲基溴化镁(0.260mL,0.780mmol),并且将反应在微波炉中在70℃下再加热30min。将反应混合物用NH₄Cl溶液(10mL)淬灭并且萃取到EtOAc(3x5mL)中。将合并的有机物用盐水(3x5mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。将残余物溶解在二噁烷(2mL)中,并且添加NaOH(0.937mL,4.68mmol)。将反应在80℃下搅拌2小时,然后允许冷却。将反应混合物使用5N HCl中和,然后蒸发至干,再溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在0%B下保持0分钟,经20min 0-40%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物103(5.3mg,0.012mmol,7.65%产率)。

实施例4-化合物104



[0089] 步骤1. 向(3-溴-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2g, 6.94mmol)在DMF(40mL)中的搅拌溶液中添加 Cs_2CO_3 (2.488g, 7.64mmol)。在冰浴中冷却后, 添加3-(溴甲基)-4-甲氧基苯甲腈(1.570g, 6.94mmol)在DMF(10mL)中的溶液。允许将反应缓慢加温至室温并且搅拌过夜。将反应混合物在搅拌下缓慢倒入水(1L)中。将沉淀物过滤, 用水(2x50mL)洗涤并且在真空下干燥, 以提供呈灰色固体的(3-溴-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2.3g, 5.31mmol, 76%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H] = 433.1。

^1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 11.51 (brs, 2H), 7.83 (dd, J=8.6, 2.2Hz, 1H), 7.35 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.23 (d, J=8.6Hz, 1H), 5.70 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.76 (s, 3H)。

[0090] 步骤2. 向(3-溴-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.4g, 0.923mmol)、(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(0.657g, 1.847mmol)和BOP(0.613g, 1.385mmol)在DMSO(9.23mL)中的搅拌溶液中添加DBU(0.418mL, 2.77mmol)。将反应混合物在60°C下搅拌1h。将反应混合物倒入饱和 NaHCO_3 溶液(100mL)中并且萃取到EtOAc(3x70mL)中。将合并的有机相用盐水(4x40mL)洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(Isco, 40g SiO_2 柱, 负载在DCM中, 经30min

0至50%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到呈淡棕色固体的(S)-(3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.34g,0.441mmol,47.8%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 770.3。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.58 (s, 1H), 7.55 (dd, J=8.6, 2.2Hz, 1H), 7.37-7.31 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 2H), 7.20-7.10 (m, 4H), 7.06-6.99 (m, 3H), 6.94 (d, J=8.6Hz, 1H), 6.48 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.61-5.32 (m, 2H), 4.44 (dq, J=11.5, 5.6, 4.1Hz, 1H), 3.51 (s, 3H), 3.45 (t, J=6.5Hz, 2H), 3.37 (s, 3H), 1.67 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 2H), 1.09-0.89 (m, 2H), 0.70 (s, 9H), 0.59 (t, J=7.3Hz, 3H)。

[0091] 步骤3. 将(S)-(3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.34g,0.441mmol)溶解在EtOH(22.05ml)中。添加10%钯碳(33mg),并且将反应混合物抽空并且用氢气吹扫三次。将反应在氢气气氛下搅拌1小时。将反应通过CELITETM过滤(用乙醇(50mL)洗涤),并且将滤液蒸发,以得到呈白色固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(300mg,0.434mmol,98%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 692.3。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.08 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.85-7.76 (m, 1H), 7.66-7.58 (m, 1H), 7.52 (ddt, J=18.0, 6.9, 1.5Hz, 4H), 7.46-7.32 (m, 5H), 7.32-7.11 (m, 4H), 5.95-5.63 (m, 2H), 4.61 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.73-3.61 (m, 2H), 1.94 (m, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.31-1.11 (m, 3H), 0.92 (s, 9H), 0.82 (t, J=7.3Hz, 3H)。

[0092] 步骤4. 将微波瓶用(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(50mg,0.072mmol)和THF(2mL)装填。添加甲基溴化镁(0.241mL,0.723mmol)。将小瓶加盖,并且将反应混合物在微波炉中在100℃下加热20min。添加异丙醇钛(IV)(0.042mL,0.145mmol),然后添加甲基溴化镁(0.120mL,0.361mmol)。在微波炉中,将反应混合物在100℃下再加热20min。LCMS显示出产物的形成。将反应混合物用EtOAc(50mL)稀释并且用饱和NH₄Cl溶液(20mL)淬灭。将水层用EtOAc(2x10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(5mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩,从而得到黄色胶状物,将其在Accq Prep 20x150 mm Xbridge柱上使用乙腈/水(0.1%TFA)进一步纯化。将含有所需产物的级分冻干,以提供(S)-(1-(5-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(25mg,0.035mmol,47.8%产率)。

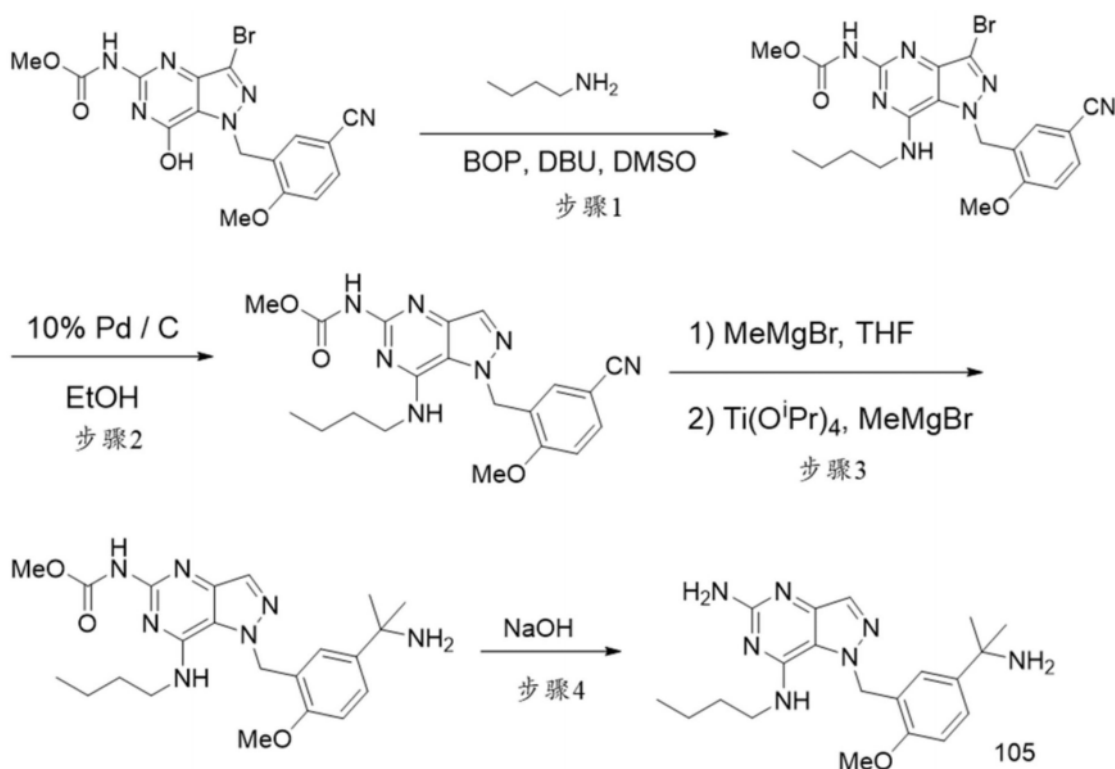
LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 724.4。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.43 (brs, 1H), 8.33 (s, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.59-7.47 (m, 3H), 7.42 (td, J=6.4, 2.9Hz, 3H), 7.38-7.24 (m, 5H), 7.19 (t, J=7.4Hz, 2H), 7.00 (d, J=8.8Hz, 1H), 6.84 (d, J=2.6Hz, 1H), 6.19 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.75-5.39 (m, 2H), 4.51 (q, J=7.1Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.61 (t, J=1.6Hz, 2H), 3.51 (s, 3H), 1.76m, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.43 (m, 2H), 1.37 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.07 (m, 2H), 0.86 (s, 9H), 0.72 (t, J=7.3Hz, 3H)。

[0093] 步骤5. 将(S)-(1-(5-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-((1-((叔丁基二苯基

甲硅烷基氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(50mg, 0.069mmol)溶解在二噁烷(2mL)中。添加三乙胺三氢氟酸盐(0.056mL, 0.345mmol),并且将反应混合物在70℃下搅拌1h。然后添加NaOH(1.450mL, 7.25mmol)。将反应混合物在80℃下再加热1h。在冷却后,将反应混合物用5N HCl中和并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在2%B下保持0分钟,经20min 2%-42%B,然后在100%B下保持0min;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物104(18.6mg, 60%产率)。

实施例5-化合物105



[0094] 步骤1.向(3-溴-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(500mg, 1.154mmol)、丁-1-胺(0.172mL, 1.731mmol)和BOP(766mg, 1.731mmol)在DMSO(10mL)中的搅拌溶液中添加DBU(0.522mL, 3.46mmol)。将反应在60℃下搅拌20min。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(100mL)中并且用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机相用盐水(4x40mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(ISCO, 40g SiO₂柱,负载在DCM中,经30min 0至80%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到呈淡棕色固体的(3-溴-7-(丁基氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.4g, 0.819mmol, 71.0%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 488.1。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.87 (s, 1H), 7.84 (dd, J=8.6, 2.2Hz, 1H), 7.41 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.35 (d, J=2.1Hz, 1H), 7.22 (d, J=8.7Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.61-3.48 (m, 2H), 1.61 (tt, J=7.7, 6.7Hz, 2H), 1.38-1.21 (m, 2H), 0.89 (t, J=7.4Hz, 3H)。

[0095] 步骤2.向(3-溴-7-(丁基氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.4g,0.819mmol)在乙醇(16.38ml)中的溶液中添加10%Pd/C(0.044g,0.041mmol)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫三次,然后在氢气气氛下搅拌过夜。将反应混合物过滤,并且将滤液蒸发至干。将粗材料使用快速色谱(ISCO,40g SiO₂柱,固体负载,经20min 0-20%MeOH的DCM溶液)纯化,从而得到呈白色固体的(7-(丁基氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(270mg,0.659mmol,81%产率)。

LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=410.2。

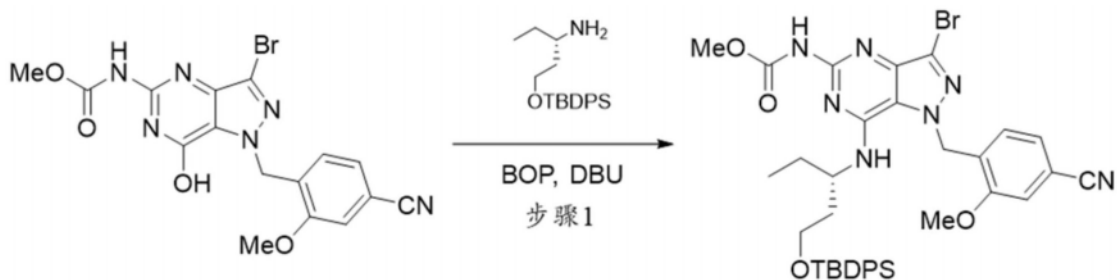
¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ11.38(s,1H),8.45(s,1H),8.04(s,1H),7.84(dd,J=8.6,2.2Hz,1H),7.30(d,J=2.1Hz,1H),7.23(d,J=8.6Hz,1H),5.80(s,2H),3.84(s,3H),3.80(s,3H),3.62(dt,J=7.9,5.9Hz,2H),1.60(p,J=7.3Hz,2H),1.29(h,J=7.3Hz,2H),0.89(t,J=7.4Hz,3H)。

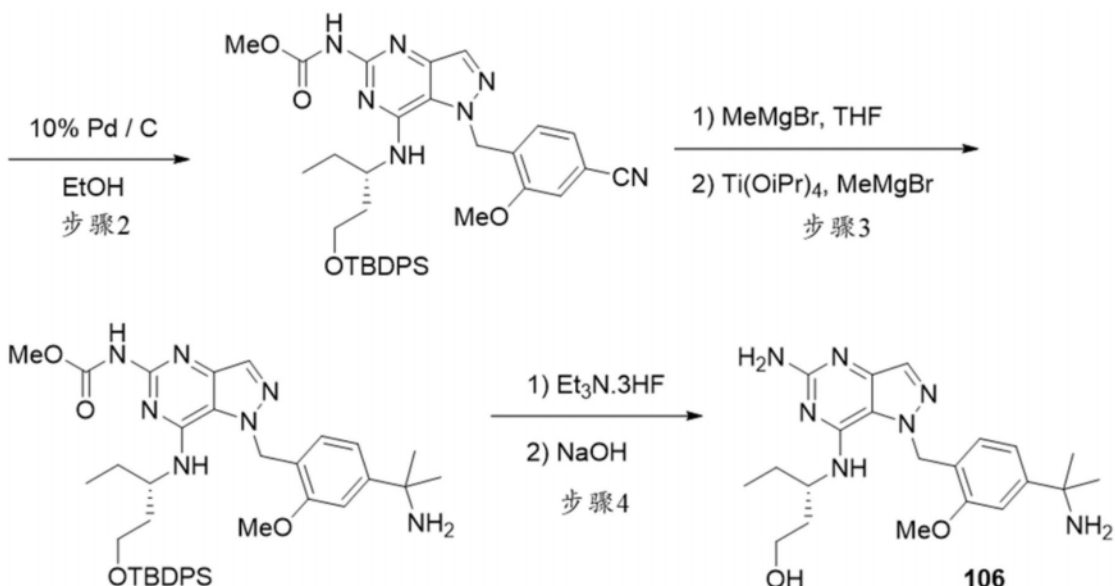
[0096] 步骤3.将微波瓶用(7-(丁基氨基)-1-(5-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(10mg,0.024mmol)和THF(1mL)装填。添加甲基溴化镁(0.144mL,0.488mmol)。将小瓶加盖,并且将反应在微波炉中在90℃下加热20min。添加异丙醇钛(IV)(0.014mL,0.049mmol),然后添加甲基溴化镁(0.072mL,10eq)。在微波炉中,将反应在80℃下加热20min。将反应混合物用NH₄Cl溶液(1mL)淬灭并且浓缩。将残余物溶解在DMF(2mL)中,过滤并且在Accq Prep 30x150 mm Xbridge柱上纯化。将在15min时收集的50%乙腈/水(0.1%TFA)级分冻干,以提供呈白色固体的(1-(5-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯TFA盐(4mg,7.20μmol,29.5%产率)。

LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=442.5。

[0097] 步骤4.将(1-(5-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(9mg,0.020mmol)溶解在二噁烷(2mL)中。添加NaOH(0.041mL,0.408mmol),并且将反应在80℃下搅拌1h。在冷却后,将反应混合物用6N HCl中和并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在2%B下保持0分钟,经20min 2%-42%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物105(3.4mg,8.10μmol,39.8%产率)。

实施例6-化合物106





[0098] 步骤1.向(3-溴-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1g,2.31mmol)、(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-胺(1.18g,3.46mmol)和BOP(1.53g,3.46mmol)在DMSO(20mL)中的搅拌溶液中添加DBU(1.04mL,6.92mmol)。将反应在60℃下搅拌1小时。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(100mL)中并且萃取到EtOAc(3x70mL)中。将合并的有机物用盐水(4x40mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(80g SiO₂柱,0至50%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到呈胶状物的(S)-(3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(320mg,0.42mmol,18.3%产率)。

LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=756.2,758.2。

[0099] 步骤2.向(S)-(3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(320mg,0.42mmol)在乙醇(5mL)中的溶液中添加10%钯碳(32mg)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫六次,然后在氢气气氛下搅拌2小时。将反应混合物过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(40g SiO₂柱,0至100%EtOAc的己烷溶液,然后是0至10%MeOH的DCM溶液)纯化,从而得到呈固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(120mg,0.18mmol,41.9%产率)。

LC-MS(ES,m/z):[M+H]⁺=678.3。

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ9.58(s,1H),7.94(s,1H),7.56-7.51(m,2H),7.51-7.33(m,7H),7.24-7.18(m,2H),6.98(dd,J=7.7,1.3Hz,1H),6.42-6.31(m,2H),5.85-5.74(m,2H),4.54-4.44(m,1H),3.85-3.76(m,3H),3.66-3.55(m,3H),1.87-1.71(m,2H),1.55(quin,J=7.2Hz,2H),0.91(s,9H),0.75(t,J=7.4Hz,3H)。

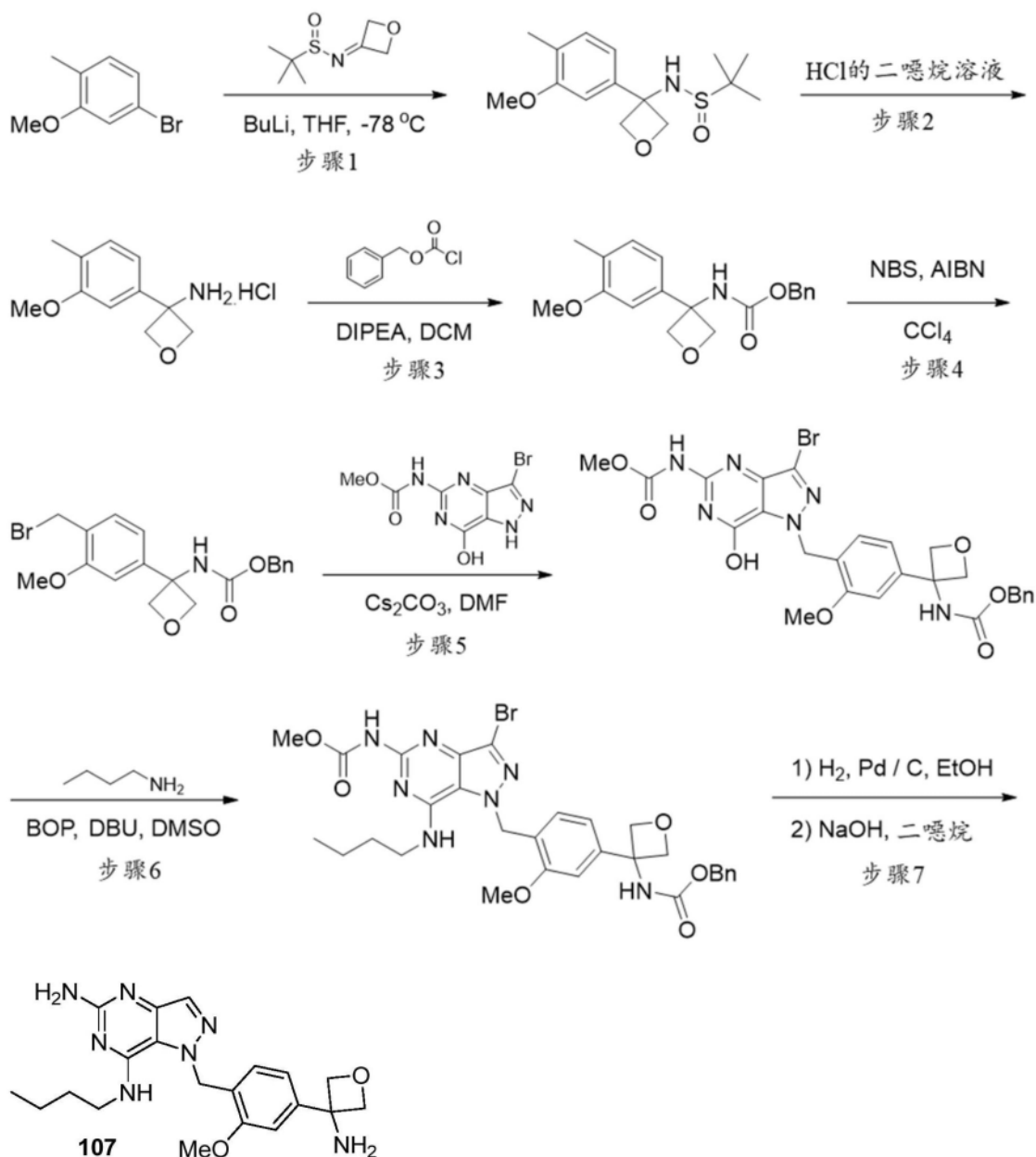
[0100] 步骤3.将微波瓶用(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-基)氨基)-1-(4-氰基-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(115mg,0.17mmol)和THF(10mL)装填。添加甲基溴化镁(0.28mL,0.85mmol)溶液,将小瓶加盖,并且将反应在微波炉中在80℃下加热20min。添加异丙醇钛(IV)(0.1mL,0.34mmol),然后添加更多的甲基溴化镁(0.28mL,0.85mmol)溶液。在微波炉中,将反应在80℃下再加热20min。将反

应混合物用饱和 NH_4Cl 溶液(10mL)淬灭并且萃取到 EtOAc (3x5mL)中。将合并的有机物用盐水(5mL)洗涤,干燥(MgSO_4),过滤并且浓缩,从而得到呈胶状物的(S)-(1-(4-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(105mg,60%纯度,0.053mmol,52.3%产率)。

LC-MS(ES,m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+=710.6$ 。

[0101] 步骤4.将(S)-(1-(4-(2-氨基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)戊-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(105mg,0.148mmol)溶解在二噁烷(4mL)中。添加三乙胺三氢氟酸盐(0.120mL,0.739mmol),并且将反应在70°C下搅拌2小时。然后添加5N NaOH 溶液(1.479mL,7.39mmol),并且将反应在70°C下再加热2小时。在冷却后,将反应混合物用5N HCl 中和并且蒸发至干。将粗材料溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μm 颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含 NH_4OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含 NH_4OAc);梯度:在0%B下保持0分钟,经20min 0-40%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25C。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物106(8.4mg,0.020mmol,13.5%产率)。

实施例7-化合物107二三氟乙酸盐



[0102] 步骤1. 将4-溴-2-甲氧基-1-甲苯 (2g, 9.95mmol) 在四氢呋喃 (90mL) 中的搅拌溶液冷却至 -78°C 。添加正丁基锂 (9.33mL, 14.92mmol), 并且将反应在 -78°C 下搅拌1小时。添加 2-甲基-N-(氧杂环丁烷-3-亚基)丙烷-2-亚磺酰胺 (1.918g, 10.94mmol) 在四氢呋喃 (10mL) 中的溶液, 并且允许将反应缓慢加温至室温并且搅拌2小时。将反应混合物倒入饱和 NH_4Cl 溶液 (100mL) 中并且萃取到 EtOAc (3x50mL) 中。将合并的有机物用盐水 (3x40mL) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱 (80g SiO_2 柱, 0至75% EtOAc 的己烷溶液) 纯化, 从而得到呈胶状物的 N-(3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺 (937mg, 3.15mmol, 31.7% 产率)。

LC-MS (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 298.2$ 。

^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.16 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.00 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 5.00 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 4.89 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 1H), 4.67 (d, $J=6.2\text{Hz}$, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.20-1.07 (m, 9H)。

[0103] 步骤2. 向N-(3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲基丙烷-2-亚磺酰胺(700mg, 2.354mmol)在二噁烷(25mL)中的搅拌溶液中添加4N HCl的二噁烷溶液(1.177mL, 4.71mmol)。将反应在室温下搅拌20min。将产物滤出(用乙醚(100mL)洗涤), 以得到呈固体的3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)氧杂环丁烷-3-胺盐酸盐(501mg, 2.181mmol, 93%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 194.2。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.24 (br s, 3H), 7.34-7.10 (m, 2H), 7.01 (br s, 1H), 4.96 (br s, 4H), 3.84 (br s, 3H), 2.17 (br s, 3H)。

[0104] 步骤3. 将3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)氧杂环丁烷-3-胺盐酸盐(500mg, 2.177mmol)和DIPEA(0.950mL, 5.44mmol)在DCM(25mL)中的溶液在冰浴中冷却。添加氯甲酸苄酯(0.340mL, 2.394mmol), 并且允许将反应加温至室温并且搅拌1小时。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(100mL)中并且萃取到DCM(3x50mL)中。将合并的有机物用盐水(3x40mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(40g SiO₂柱, 0至50%EtOAc的己烷溶液)纯化, 从而得到呈油状物的(3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)氧杂环丁烷-3-基)氨基甲酸苄酯(475mg, 1.451mmol, 66.7%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 328.2。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.54-8.36 (m, 1H), 7.36 (br s, 5H), 7.12 (d, J=7.9Hz, 1H), 7.00-6.91 (m, 2H), 5.02 (br s, 2H), 4.82 (d, J=6.6Hz, 2H), 4.72 (d, J=6.4Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.13 (s, 3H)。

[0105] 步骤4. 将(3-(3-甲氧基-4-甲基苯基)氧杂环丁烷-3-基)氨基甲酸苄酯(470mg, 1.436mmol)、NBS(268mg, 1.507mmol)和AIBN(47.1mg, 0.287mmol)在CCl₄(15mL)中的溶液加热至75℃并且在此温度下保持1小时。在冷却后, 将反应混合物蒸发至干, 并且将粗材料使用快速色谱(40g SiO₂柱, 0至40%EtOAc的己烷溶液)纯化, 从而得到呈油状物的(3-(4-(溴甲基)-3-甲氧基苯基)氧杂环丁烷-3-基)氨基甲酸苄酯(175mg, 0.431mmol, 30.0%产率)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 406.2, 408.1。

¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.57-8.45 (m, 1H), 7.47-7.29 (m, 6H), 7.09-6.98 (m, 2H), 5.03 (br s, 2H), 4.82 (d, J=6.8Hz, 2H), 4.79-4.71 (m, 2H), 4.68-4.62 (m, 2H), 3.86-3.79 (m, 3H)。

[0106] 步骤5. 在0℃下, 向(3-溴-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(120mg, 0.417mmol)在DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(204mg, 0.625mmol), 然后添加(3-(4-(溴甲基)-3-甲氧基苯基)氧杂环丁烷-3-基)氨基甲酸苄酯(169mg, 0.417mmol)在DMF(1mL)中的溶液。允许将反应加温至室温并且搅拌过夜。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(100mL)中并且萃取到EtOAc(3x50mL)中。将合并的有机物用盐水(3x40mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且浓缩, 从而得到呈固体的(1-(4-(3-((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(220mg, 0.251mmol, 60.3%产率, 70%纯度)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 613.2, 615.2。

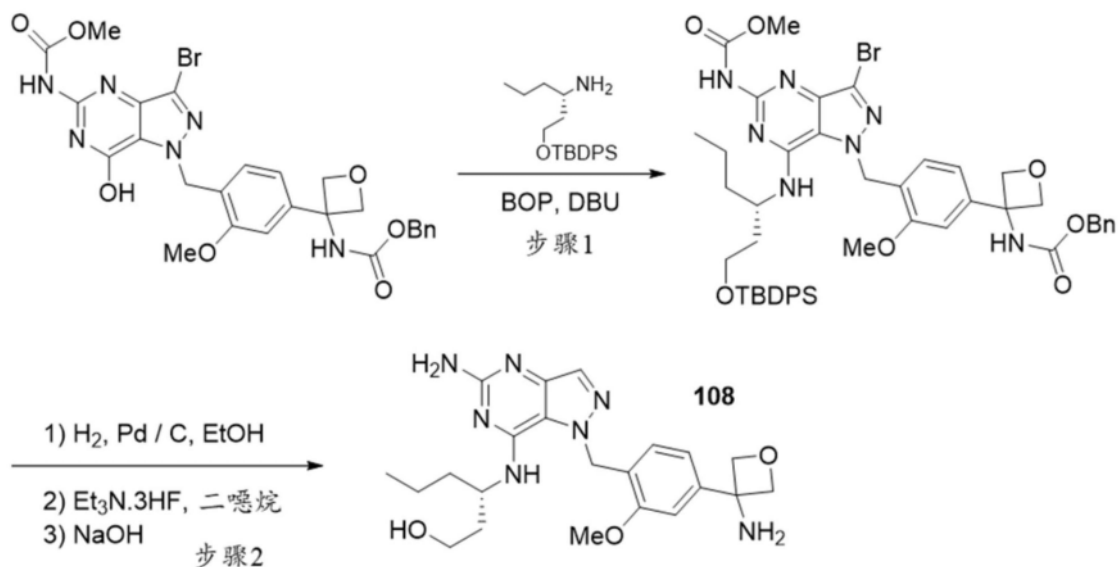
[0107] 步骤6. 将(1-(4-(3-((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(220mg, 0.251mmol, 70%纯度)、

丁-1-胺 (52.5mg, 0.717mmol)、BOP (238mg, 0.538mmol) 和 DBU (0.162mL, 1.076mmol) 在 DMSO (4mL) 中的溶液加热至 60°C 持续 20min, 然后冷却至室温。将反应混合物倒入饱和 NaHCO₃ 溶液 (100mL) 中并且萃取到 EtOAc (3x50mL) 中。将合并的有机物用盐水 (4x40mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并且浓缩, 从而得到呈油状物的 (1-(4-(3-(((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (245mg, 0.220mmol, 87.6% 产率, 60% 纯度)。

LC-MS (ES, m/z) : [M+H]⁺ = 668.3, 670.3。

[0108] 步骤7. 向 (1-(4-(3-(((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (240mg, 0.215mmol) 在 EtOH (10mL) 中的溶液中添加 10% 钨碳 (24mg)。将反应混合物抽空并且用 H₂ 吹扫六次, 然后在 H₂ 气氛下搅拌 24h。将反应混合物过滤并且蒸发至干。将残余物溶解在二噁烷 (4mL) 中, 并且添加 NaOH (1.077mL, 5.38mmol)。将反应混合物在 80°C 下搅拌 2h, 冷却, 使用 5N HCl 中和并且蒸发至干。将残余物溶解在 DMF (2mL) 中, 过滤并且用以下条件经由制备型 LC/MS 纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含 NH₄OAc); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含 NH₄OAc); 梯度: 在 10%B 下保持 0 分钟, 经 20min 10%-50%B, 然后在 100%B 下保持 0 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。由 MS 和 UV 信号触发级分的收集。将含有产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将材料用以下条件经由制备型 LC/MS 进一步纯化: 柱: XBridge Phenyl, 200mm x 19mm, 5μm 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含 0.05% TFA); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含 0.05% TFA); 梯度: 在 5%B 下保持 0 分钟, 经 20min 5%-55%B, 然后在 100%B 下保持 0 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。由 MS 和 UV 信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥, 从而得到化合物 107 二三氟乙酸盐 (22.2mg, 0.032mmol, 14.94% 产率)。

实施例8-化合物108



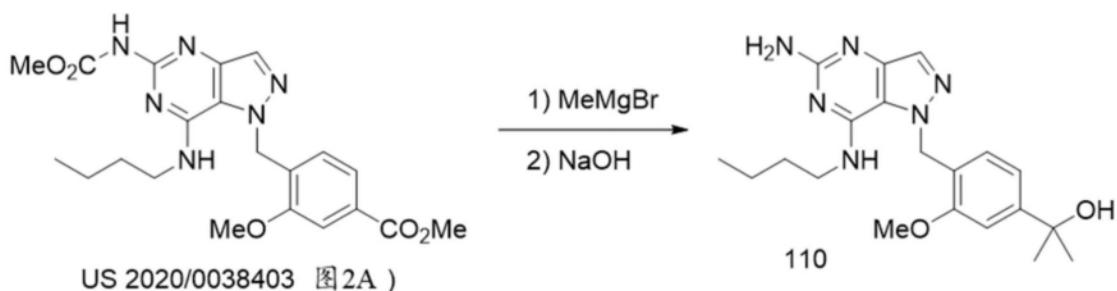
[0109] 步骤1. 向 (1-(4-(3-(((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-羟基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (150mg, 0.245mmol)、BOP (162mg, 0.367mmol) 和 DBU (0.111mL, 0.734mmol) 在 DMSO (2mL) 中的搅拌溶液中添加 (S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺 (130mg, 0.367mmol) 在 DMSO (2mL) 中的溶液。将反

应在60℃下搅拌1小时。将反应混合物用NaHCO₃溶液(10mL)淬灭并且萃取到EtOAc(3x8mL)中。将合并的有机相用盐水(4x5mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(24g SiO₂柱,0至60%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到呈胶状物的(S)-(1-(4-(3-((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(79mg, 0.083mmol, 34.0%产率)。

LC-MS(ES, m/z): [M+H]⁺=950.5, 952.5。

[0110] 步骤2. 将(S)-(1-(4-(3-((苄氧基)羰基)氨基)氧杂环丁烷-3-基)-2-甲氧基苄基)-3-溴-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(79mg, 0.083mmol)溶解在乙醇(10mL)中。添加10%钯碳(8mg)。将反应混合物抽空并且用H₂吹扫六次,然后在H₂气氛下搅拌16h。将反应混合物过滤并且蒸发至干。将残余物溶解在二噁烷(3mL)中,并且添加三乙胺三氢氟酸盐(0.135mL, 0.831mmol)。将反应在60℃下搅拌2h。添加5N NaOH(0.665mL, 3.32mmol),并且将反应在80℃下再搅拌2小时。在冷却后,将反应用5N HCl中和并且蒸发至干。将粗材料溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在3%B下保持0分钟,经20min 3%-43%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物108(15.0mg, 0.034mmol, 40.9%产率)。

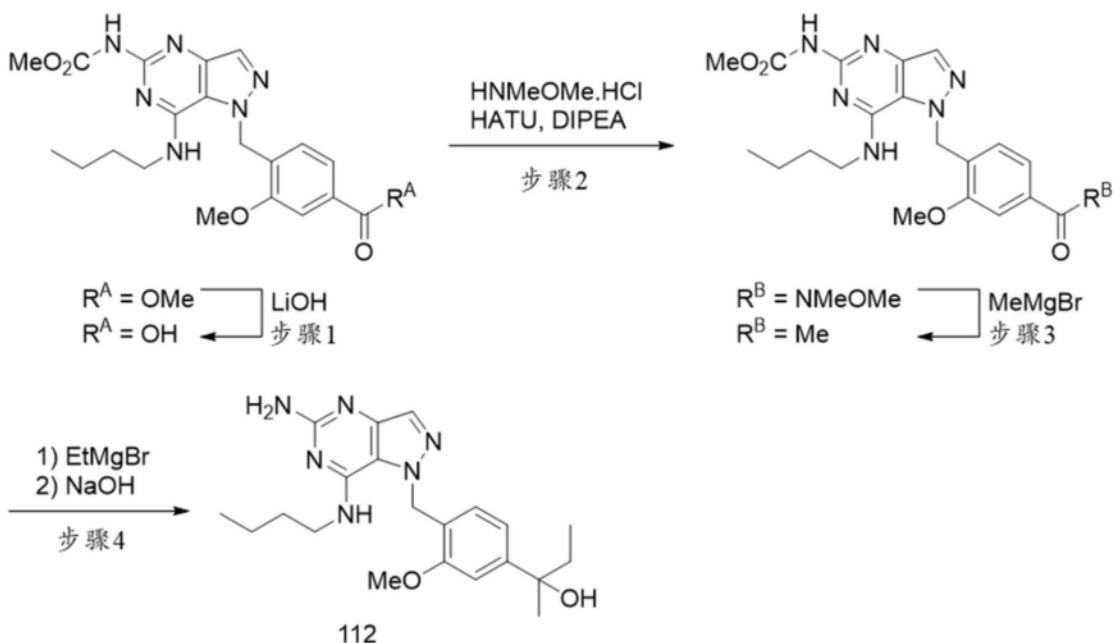
实施例9-化合物110



[0111] 向在4mL闪烁瓶中的4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯(40mg, 0.090mmol)在THF(1mL)中的搅拌溶液中添加甲基溴化镁(0.075mL, 0.226mmol)。将反应在室温下搅拌30min并且用水(1mL)淬灭,然后搅拌10min并且蒸发至干。将粗材料溶解在二噁烷(1mL)中,并且添加NaOH(0.271mL, 1.356mmol)。将反应混合物加热至80℃并且在此温度下保持过夜。在冷却后,将反应混合物用5N HCl(271μL)中和并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在14%B下保持0分钟,经20min 14%-54%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物110(4.3mg, 12%产率)。

[0112] 类似地制备化合物111。

实施例10-化合物112



[0113] 步骤1.向4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯(500mg,1.130mmol)在THF(6mL)中的搅拌溶液中添加氢氧化锂(3.39mL,3.39mmol)。将反应混合物在30℃下搅拌过夜。由于反应不完全,添加更多的氢氧化锂(3.39mL,3.39mmol),并且将反应混合物在30℃下再搅拌24小时。将反应混合物蒸发至干并且使用反相快速色谱(50g C₁₈柱,负载在DMSO/水/MeCN中,0至70%MeCN的水溶液(含0.05%甲酸))纯化,从而得到呈固体的4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯甲酸(262mg,54%产率)。

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ13.00(br s,1H),9.64(s,1H),7.90(s,1H),7.54-7.49(m,1H),7.43(dd,J=7.8,1.2Hz,1H),7.03(br t,J=5.4Hz,1H),6.53(d,J=7.9Hz,1H),5.80(s,2H),3.89(s,3H),3.63(s,3H),3.55-3.39(m,3H),1.58-1.44(m,2H),1.18(sxt,J=7.4Hz,2H),0.83(t,J=7.4Hz,3H)。

LC/MS[M+H]⁺429.18。

[0114] 步骤2.向4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯甲酸(262mg,0.612mmol)、HATU(256mg,0.673mmol)和N,O-二甲基羟胺盐酸盐(84mg,0.856mmol)的搅拌溶液中添加DIPEA(0.235mL,1.345mmol)。将反应在室温下搅拌1小时。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(30mL)中并且用EtOAc(3x30mL)萃取。将合并的有机相用盐水(4x20mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩,从而得到呈固体的(7-(丁基氨基)-1-(2-甲氧基-4-(甲氧基(甲基)氨基甲酰基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(280mg,97%产率)。

LC/MS[M+H]⁺472.22。

[0115] 步骤3.向(7-(丁基氨基)-1-(2-甲氧基-4-(甲氧基(甲基)氨基甲酰基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(250mg,0.530mmol)在THF(4mL)中的搅拌溶液中添加甲基溴化镁(0.884mL,2.65mmol)。将反应在室温下搅拌30min。将反应混合物倒入饱和NH₄Cl溶液(50mL)中并且用EtOAc(3x30mL)萃取。将合并的有机相用盐水(3x30mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。快速色谱(40g SiO₂柱,负载在DCM中,0至10%MeOH的DCM溶液)得

到呈固体的(1-(4-乙酰基-2-甲氧基苄基)-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(140mg,61%)。

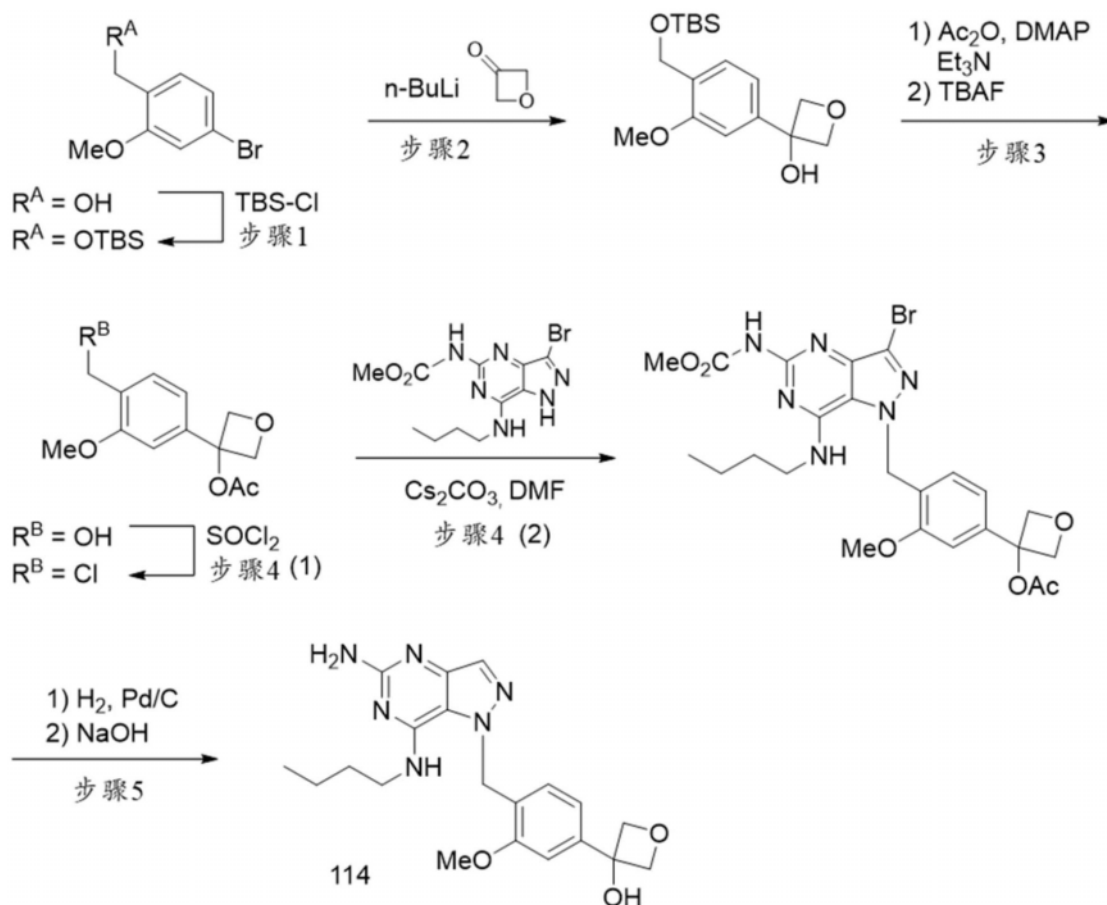
^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9.64 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.48 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.06 (br t, J=5.4Hz, 1H), 6.55 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.80 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.52-3.43 (m, 2H), 3.31 (s, 3H), 1.53 (quin, J=7.3Hz, 2H), 1.19 (sxt, J=7.4Hz, 2H), 0.83 (t, J=7.4Hz, 3H)。

LC/MS [M+H] $^+$ 425.1。

[0116] 步骤4. 将(1-(4-乙酰基-2-甲氧基苄基)-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(25mg, 0.059mmol) 溶解在THF (5mL) 中。添加EtMgBr (39.1mg, 0.293mmol)。将反应混合物在室温下搅拌30min, 用MeOH (1mL) 淬灭, 并且蒸发至干。将残余物溶解在二噁烷(3mL) 中。添加NaOH (0.234mL, 1.172mmol), 并且将反应在80°C下搅拌4h。在冷却后, 将反应混合物用1N HCl中和, 然后蒸发至干。将残余物溶解在DMF (2mL) 中, 过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水(含10mM NH_4OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水(含10mM NH_4OAc); 梯度: 在16%B下保持0分钟, 经20min 16%-56%B, 然后在100%B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25C。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有化合物112的级分合并并且经由离心蒸发干燥(3.9mg, 17%产率)。

[0117] 类似地制备化合物113。关于分析数据, 参见表A。

实施例11-化合物114



[0118] 步骤1. 将(4-溴-2-甲氧基苄基) 甲醇(5g, 23.03mmol)、TBS-Cl (4.17g, 27.6mmol)

和咪唑 (2.195g, 32.2mmol) 在DMF (50mL) 中的溶液在室温下搅拌过夜。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液 (100mL) 中并且用EtOAc (3x70mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (4x50mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并且浓缩。快速色谱 (120g柱, 负载在DCM中, 用DCM洗脱) 得到呈无色液体的 ((4-溴-2-甲氧基苄基) 氧基) (叔丁基) 二甲基硅烷 (6.766g, 89%产率)。

¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.22 (d, J=8.2Hz, 1H), 7.00 (dd, J=8.1, 1.8Hz, 1H), 6.84 (d, J=1.8Hz, 1H), 4.60-4.54 (m, 2H), 3.76-3.68 (m, 3H), 0.84 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

[0119] 步骤2. 将 ((4-溴-2-甲氧基苄基) 氧基) (叔丁基) 二甲基硅烷 (2.66g, 8.03mmol) 在THF (40mL) 中的溶液冷却至-78°C。经10min分批添加正丁基锂 (3.37mL, 8.43mmol)。将所得溶液在-78°C下搅拌15min。经5min分批添加氧杂环丁烷-3-酮 (0.550g, 7.63mmol) 在THF (10mL) 中的溶液。允许将反应混合物加温至室温并且搅拌过夜。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液 (100mL) 中并且用EtOAc (3x40mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (3x40mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并且浓缩。快速色谱 (40g柱, 负载在DCM中, 0至60%EtOAc的己烷溶液) 得到呈油状物的3-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基)-3-甲氧基苄基) 氧杂环丁烷-3-醇 (1.36g, 52%产率), 其在静置时凝固。

¹H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ7.40 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.07 (dd, J=7.8, 1.7Hz, 1H), 6.92 (d, J=1.5Hz, 1H), 4.84-4.77 (m, 4H), 4.68-4.58 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 1.93-1.87 (m, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.00 (s, 6H)。

[0120] 步骤3. 将20mL闪烁瓶用3-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基)-3-甲氧基苄基) 氧杂环丁烷-3-醇 (488mg, 1.504mmol)、三乙胺 (0.419mL, 3.01mmol)、DMAP (18.37mg, 0.150mmol) 和DCM (5mL) 装填。添加乙酸酐 (0.156mL, 1.654mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物蒸发至干, 然后再溶解在MeCN (2x5mL) 中并且再次蒸发至干。将残余物溶解在MeCN (2mL) 中。添加TBAF (3.01mL, 3.01mmol) [1N, 在THF中], 并且将反应搅拌1小时。将反应混合物蒸发至干, 然后溶解在MeCN (5mL) 中并且蒸发至干两次。将粗材料使用快速色谱 (40g柱, 负载在DCM中, 0至80%EtOAc的己烷溶液) 纯化, 从而得到呈固体的3-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苄基) 氧杂环丁烷-3-基乙酸酯 (158mg, 42%产率)。

¹H NMR (400MHz, CD₃Cl) δ7.33 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.06-6.99 (m, 1H), 5.07 (d, J=8.1Hz, 2H), 4.96 (d, J=7.9Hz, 2H), 4.71 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.86 (br s, 1H), 1.63 (br s, 1H)。

LC/MS [M+H]⁺253.08。

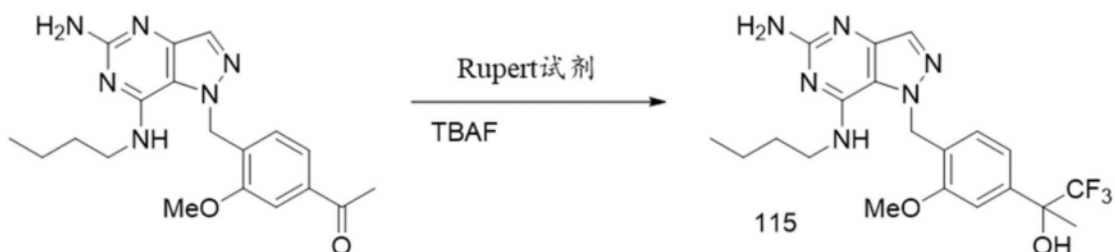
[0121] 步骤4. 将3-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苄基) 氧杂环丁烷-3-基乙酸酯 (150mg, 0.595mmol) 溶解在DCM (5mL) 中。添加SOCl₂ (0.130mL, 1.784mmol)。将反应在室温下搅拌1h。将反应混合物蒸发至干, 然后从MeCN (5mL) 中溶解并且蒸发两次。向(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (190mg, 0.554mmol) 在DMF (2mL) 中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃ (361mg, 1.108mmol), 然后添加3-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苄基) 氧杂环丁烷-3-基乙酸酯 (150mg, 0.554mmol) 在DMF (2mL) 中的溶液。将反应混合物在室温下搅拌过夜。将反应用饱和NaHCO₃溶液 (10mL) 淬灭并且用EtOAc (3x5mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (4x5mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄), 过滤并且浓缩。快速色谱 (40g SiO₂柱, 负载在DCM中, 0至15% MeOH的DCM溶液) 得到3-(4-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基) 氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基) 甲基)-3-甲氧基苄基) 氧杂环丁烷-3-基乙酸酯 (220mg, 34%, 约50%纯, 主

要被2-区域异构体副产物污染)。

LC/MS[M-H]⁻ 575.1, 577.0。

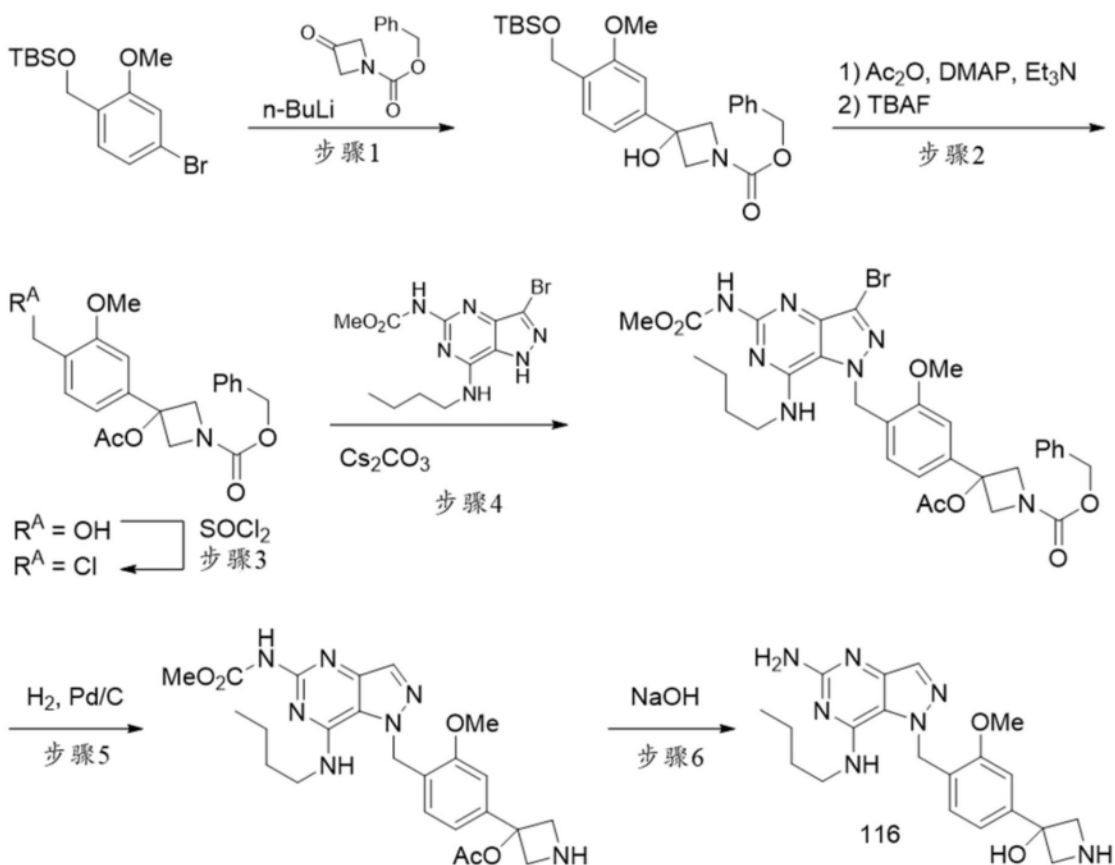
[0122] 步骤5. 将3-(4-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)氧杂环丁烷-3-基乙酸酯(65mg, 0.113mmol) 溶解在EtOH(4mL)中。添加Pd/C(50mg)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫六次,然后在氢气气氛下搅拌过夜。将反应混合物过滤,并且将滤液蒸发至干。将残余物溶解在二噁烷(2mL)中。添加NaOH(0.349mL, 1.745mmol)溶液,并且将反应混合物在80°C下搅拌3小时。在冷却后,将反应混合物用HCl中和并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH₄OAc);梯度:在8%B下保持0分钟,经20min 8%-48%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25°C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物114(2.1mg, 4.7%)。

实施例12-化合物115



[0123] 将1-(4-((5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)乙-1-酮(64mg, 0.174mmol) 溶解在THF(5mL)中。添加TBAF(0.521mL, 0.521mmol), 并且将反应在冰浴中冷却。分批添加(三氟甲基)三甲基硅烷(Ruppert试剂, 0.126mL, 1.737mmol)在THF(1mL)中的溶液。允许将反应混合物缓慢加温至室温并且搅拌1h。添加更多的(三氟甲基)三甲基硅烷(0.126mL, 1.737mmol)。将反应混合物再搅拌30min。将反应用水(0.5mL)和MeOH(0.5mL)淬灭并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中,过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.1%TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.1%TFA);梯度:在12%B下保持0分钟,经25min 12%-52%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25°C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将材料用以下条件经由制备型LC/MS进一步纯化:柱:XBridge Phenyl, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH₄OAc);梯度:在28%B下保持0分钟,经20min 28%-68%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25°C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,从而得到化合物115(5.0mg, 21%产率)。

实施例13-化合物116



[0124] 步骤1. 将((4-溴-2-甲氧基苄基)氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(3g, 9.05mmol)在THF(40mL)中的溶液冷却至 -78°C 。经10min分批添加正丁基锂(3.80mL, 9.51mmol)。将所得溶液在 -78°C 下搅拌15min。经5min分批添加3-氧代氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(1.765g, 8.60mmol)在THF(10mL)中的溶液。允许将反应混合物加温至室温并且搅拌过夜。将反应混合物倒入饱和 NaHCO_3 溶液(100mL)中并且用 EtOAc (3x40mL)萃取。将合并的有机相用盐水(3x40mL)洗涤,干燥(MgSO_4),过滤并且浓缩。快速色谱(40g SiO_2 柱,负载在DCM中,0至60% EtOAc 的己烷溶液)得到呈油状物的3-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-甲氧基苄基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(679mg, 16.39%产率)。

^1H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ 7.38(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.27-7.17(m, 5H), 6.95(dd, $J=7.9, 1.5\text{Hz}$, 1H), 6.81(d, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 5.03(s, 2H), 4.63(s, 2H), 4.28-4.11(m, 4H), 3.71(s, 3H), 0.84(s, 9H), 0.00(s, 6H)。

[0125] 步骤2. 将20mL闪烁瓶用3-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-甲氧基苄基)-3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(680mg, 1.486mmol)、三乙胺(0.414mL, 2.97mmol)、DMAP(18.15mg, 0.149mmol)和DCM(5mL)装填。添加乙酸酐(0.154mL, 1.634mmol),并且将反应在室温下搅拌1h。将反应混合物蒸发至干,溶解在MeCN(5mL)中并且蒸发至干两次。将残余物溶解在MeCN(4mL)中。添加TBAF(2.97mL, 2.97mmol, 1N, 在THF中),并且将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物蒸发至干,然后溶解在MeCN(5mL)中并且蒸发至干两次。将粗材料使用快速色谱(40g SiO_2 柱,负载在DCM中,0至60% EtOAc 的己烷溶液)纯化,从而得到呈油状物的3-乙酰氧基-3-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苄基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(260mg, 45%产率)。

^1H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ 7.38-7.27(m, 6H), 6.95(dd, $J=7.7, 1.8\text{Hz}$, 1H), 6.88

(d, J=1.5Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.66 (s, 2H), 4.47-4.39 (m, 4H), 3.86 (s, 3H), 2.10 (s, 3H)。

[0126] 步骤3. 将3-乙酰氧基-3-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(260mg, 0.675mmol)溶解在DCM(5mL)中。添加SOCl₂(0.059mL, 0.810mmol), 并且将反应在室温下搅拌1h。将反应混合物蒸发至干, 溶解在MeCN(5mL)中并且再次蒸发, 从而得到呈无色油状物的3-乙酰氧基-3-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(270mg, 0.669mmol, 99%产率)。

[0127] 步骤4. 将20mL闪烁瓶用(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(200mg, 0.583mmol)、Cs₂CO₃(380mg, 1.166mmol)和DMF(2mL)装填并且在冰浴中冷却。添加3-乙酰氧基-3-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(130mg, 0.322mmol)在DMF(3mL)中的溶液。允许将反应混合物缓慢升温至室温并且搅拌24h。添加水(10mL), 并且将反应混合物萃取到EtOAc(3x5mL)中。将合并的有机相用盐水(4x5mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且浓缩。快速色谱(24g SiO₂柱, 负载在DCM中, 0至10%MeOH的DCM溶液)得到3-乙酰氧基-3-(4-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(163mg, 20%产率, 约50%, 被2-区域异构体污染)。

LC/MS[M-H]⁻708.0, 710.0。

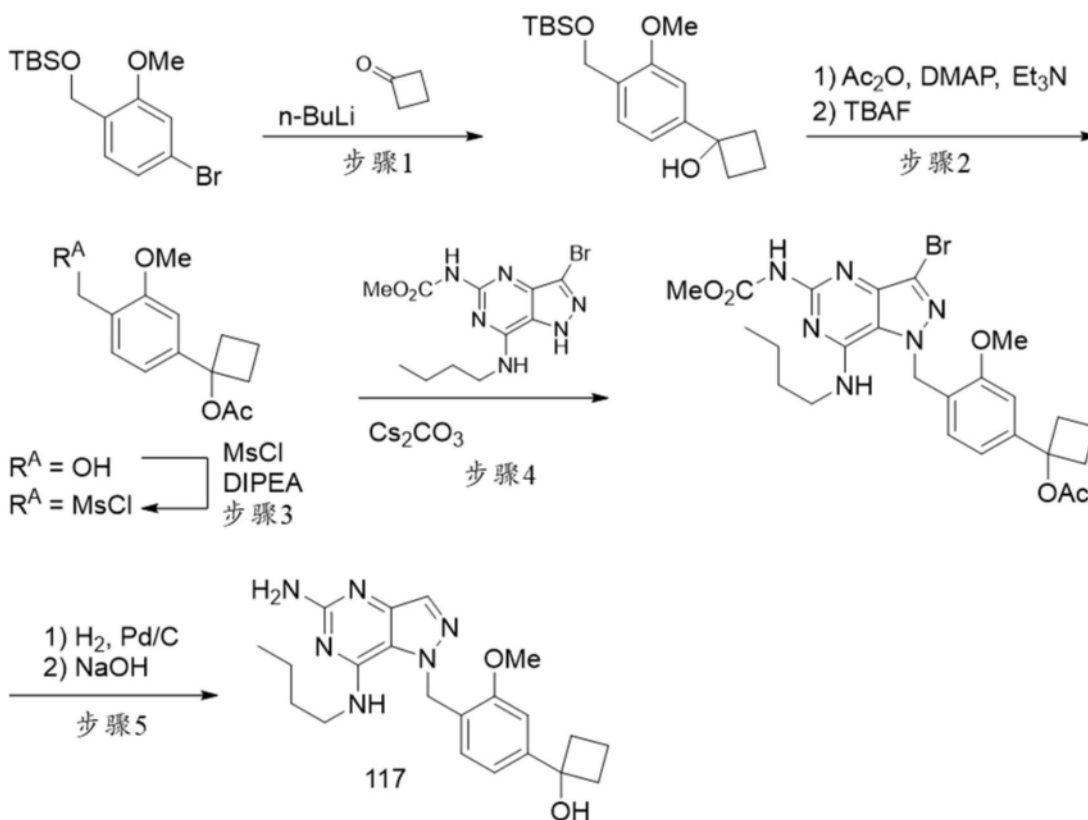
[0128] 步骤5. 向3-乙酰氧基-3-(4-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-1-甲酸苄酯(163mg, 0.229mmol, 1-和2-区域异构体的混合物)在乙醇(20mL)中的溶液中添加10%Pd/C(100mg)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫六次, 然后在氢气气氛下搅拌2天。将反应混合物过滤并且蒸发至干。快速色谱(40g SiO₂柱, 负载在DCM中, 0至20%MeOH的DCM溶液)得到呈固体的3-(4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-3-基乙酸酯(20mg, 0.040mmol, 17.52%产率)。

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ9.63 (br s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.17-6.92 (m, 3H), 6.57 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.72 (s, 2H), 4.28-4.16 (m, 4H), 3.86 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.55-3.47 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 1.56 (quin, J=7.3Hz, 2H), 1.25 (sxt, J=7.4Hz, 2H), 0.91-0.84 (m, 3H)。

LC/MS[M+H]⁺498.25。

[0129] 步骤6. 将3-(4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)氮杂环丁烷-3-基乙酸酯(20mg, 0.040mmol)溶解在二噁烷(2mL)中。添加NaOH(0.201mL, 1.005mmol), 并且将反应混合物在80°C下搅拌2h。在冷却后, 将反应混合物用HCl中和并且蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中, 过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水(含NH₄OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水(含NH₄OAc); 梯度: 在4%B下保持0分钟, 经20min 4%-44%B, 然后在100%B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥, 从而得到化合物116(3.5mg, 22%产率)。

实施例14-化合物117



[0130] 步骤1. 将((4-溴-2-甲氧基苄基)氧基)(叔丁基)二甲基硅烷(2.75g, 8.30mmol)在THF(40mL)中的溶液冷却至 -78°C 。经10min分批添加正丁基锂(3.49mL, 8.72mmol)。将所得溶液在 -78°C 下搅拌15min。经5min分批添加环丁酮(0.611g, 8.72mmol)在THF(10mL)中的溶液。允许将反应混合物加温至室温, 搅拌过夜, 并且倒入饱和 NaHCO_3 溶液(100mL)中。用 EtOAc (3x40mL)进行萃取提供合并的有机相, 将其用盐水(3x40mL)洗涤, 干燥(MgSO_4), 过滤并且浓缩。快速色谱(80g SiO_2 柱, 负载在DCM中, 0至25% EtOAc 的己烷溶液)得到呈油状物的1-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-甲氧基苄基)环丁-1-醇(2.015g, 75%产率), 其在静置时凝固。

^1H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ 7.35(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 6.98(dd, $J=7.7, 1.5\text{Hz}$, 1H), 6.87(d, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 4.64(s, 2H), 3.73(s, 3H), 2.50-2.42(m, 2H), 2.30-2.21(m, 2H), 1.95-1.81(m, 1H), 1.64-1.52(m, 1H), 0.86-0.83(m, 9H), 0.00(s, 6H)。

[0131] 步骤2. 将20mL闪烁瓶用1-(4-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-甲氧基苄基)环丁-1-醇(2g, 6.20mmol)、三乙胺(1.729mL, 12.40mmol)、DMAP(0.076g, 0.620mmol)和DCM(20mL)装填。添加乙酸酐(0.644mL, 6.82mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h, 并且蒸发至干。将残余物溶解在MeCN(5mL)中并且蒸发至干两次。将残余物再溶解在MeCN(8mL)中。添加TBAF(12.40mL, 12.40mmol, 1N, 在THF中), 并且将反应混合物搅拌1h。将反应混合物蒸发至干。将残余物溶解在MeCN(5mL)中并且蒸发至干两次。将粗材料使用快速色谱纯化, 从而得到呈油状物的乙酸1-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苄基)环丁酯(1.0g, 64%产率)。

^1H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ 7.26(d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.07(dd, $J=7.8, 1.7\text{Hz}$, 1H), 6.98(d, $J=1.3\text{Hz}$, 1H), 4.67(s, 2H), 3.89(s, 3H), 2.70-2.55(m, 4H), 2.09-1.92(m, 4H), 1.74(dquin, $J=11.2, 8.8\text{Hz}$, 1H)。

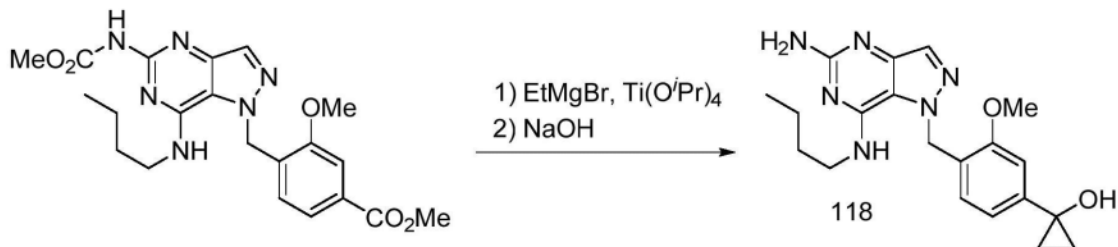
[0132] 步骤3. 将乙酸1-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基)环丁酯(500mg, 1.998mmol)溶解在DCM(10mL)中并且在冰浴中冷却。添加DIPEA(0.436mL, 2.497mmol), 然后添加甲磺酰氯(0.467mL, 5.99mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌30min, 然后在室温下搅拌过夜。将反应混合物用饱和NaHCO₃溶液(10mL)淬灭并且用DCM(2x5mL)萃取。将合并的有机相用NaHCO₃溶液(10mL)和盐水(2x10mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且浓缩, 从而得到呈油状物的乙酸1-(3-甲氧基-4-((甲基磺酰基)氧基)甲基)苯基)环丁酯(498mg, 76%产率)。

[0133] 步骤4. 在0℃下, 向(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(650mg, 1.894mmol)在DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(1234mg, 3.79mmol), 然后添加乙酸1-(3-甲氧基-4-((甲基磺酰基)氧基)甲基)苯基)环丁酯(498mg, 1.515mmol)在DMF(1mL)中的溶液。允许将反应混合物加温至室温, 搅拌72h, 并且倒入饱和NaHCO₃溶液(50mL)中。用EtOAc(3x40mL)进行萃取提供有机相, 将其合并并且用盐水(4x30mL)洗涤, 干燥(MgSO₄), 过滤并且浓缩。快速色谱(40g SiO₂柱, 负载在DCM中, 0至65%EtOAc的己烷溶液)得到呈固体的乙酸1-(4-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)环丁酯(242mg, 22%产率)。

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ9.86(s, 1H), 7.30(t, J=5.6Hz, 1H), 7.02-6.96(m, 2H), 6.73(d, J=7.7Hz, 1H), 5.68(s, 2H), 3.80(s, 3H), 3.63(s, 3H), 3.60-3.50(m, 2H), 3.32(s, 2H), 2.59-2.44(m, 2H), 1.96(s, 3H), 1.94-1.86(m, 1H), 1.77-1.65(m, 1H), 1.59(quin, J=7.3Hz, 2H), 1.27(sxt, J=7.4Hz, 2H), 0.88(t, J=7.4Hz, 3H)。LC/MS[M+H]⁺575.37, 577.37。

[0134] 步骤5. 将乙酸1-(4-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)环丁酯(200mg, 0.348mmol)溶解在EtOH(25mL)中。添加10%Pd/C(50mg)。将反应混合物抽空并且用氢气吹扫六次, 在氢气气氛下搅拌过夜, 过滤, 并且蒸发至干。将残余物溶解在二噁烷(2mL)中。添加NaOH(0.242mL, 1.208mmol), 并且将反应加热至80℃并且在此温度下保持4小时。在冷却后, 将反应混合物用5N HCl中和, 然后蒸发至干。将残余物溶解在DMF(2mL)中, 过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水(含NH₄OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水(含NH₄OAc); 梯度: 在16%B下保持0分钟, 经20min 16%-56%B, 然后在100%B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥, 从而得到化合物117(22.5mg, 16%产率)。

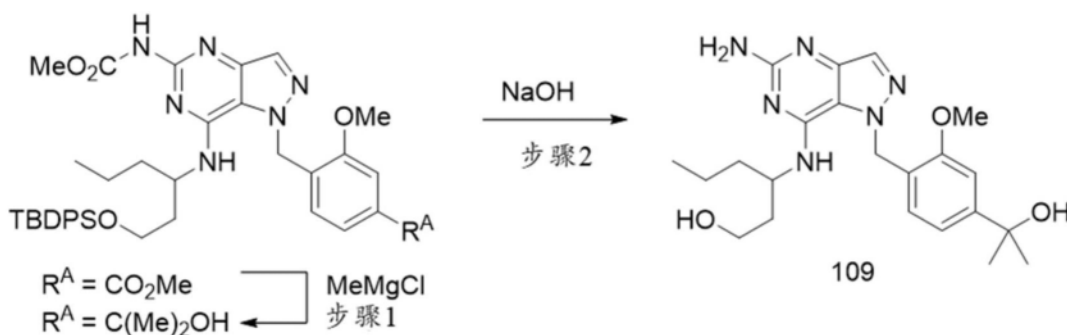
实施例15-化合物118



[0135] 在-78℃下, 经10min向异丙醇钛(IV)(257mg, 0.904mmol)在THF(8mL)中的溶液中分批添加乙基溴化镁(2.71mL, 2.71mmol)。将反应在-78℃下搅拌60min。然后添加4-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯(100mg, 0.226mmol)在THF(1mL)中的溶液。允许将反应缓慢加温至室温并且搅拌过

夜。将反应用水 (20mL) 淬灭, 过滤并且用 EtOAc (3x5mL) 萃取。将合并的有机相用盐水 (3x5mL) 洗涤, 干燥 ($MgSO_4$), 过滤并且浓缩。将残余物溶解在二噁烷 (2mL) 中。添加 NaOH (0.436mL, 2.179mmol), 并且将反应混合物在 80°C 下搅拌 2 小时。在冷却后, 将它用 HCl 中和并且蒸发至干。将粗材料溶解在 DMF (2mL) 中, 过滤并且用以下条件经由制备型 LC/MS 纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含 NH_4OAc); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含 NH_4OAc); 梯度: 在 19%B 下保持 0 分钟, 经 20min 19%-59%B, 然后在 100%B 下保持 0 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。由 MS 信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将材料用以下条件经由制备型 LC/MS 进一步纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含 NH_4OAc); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含 NH_4OAc); 梯度: 在 20%B 下保持 0 分钟, 经 20min 20%-60%B, 然后在 100%B 下保持 0 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。由 MS 和 UV 信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥, 从而得到化合物 118 (9.4mg, 11% 产率)。

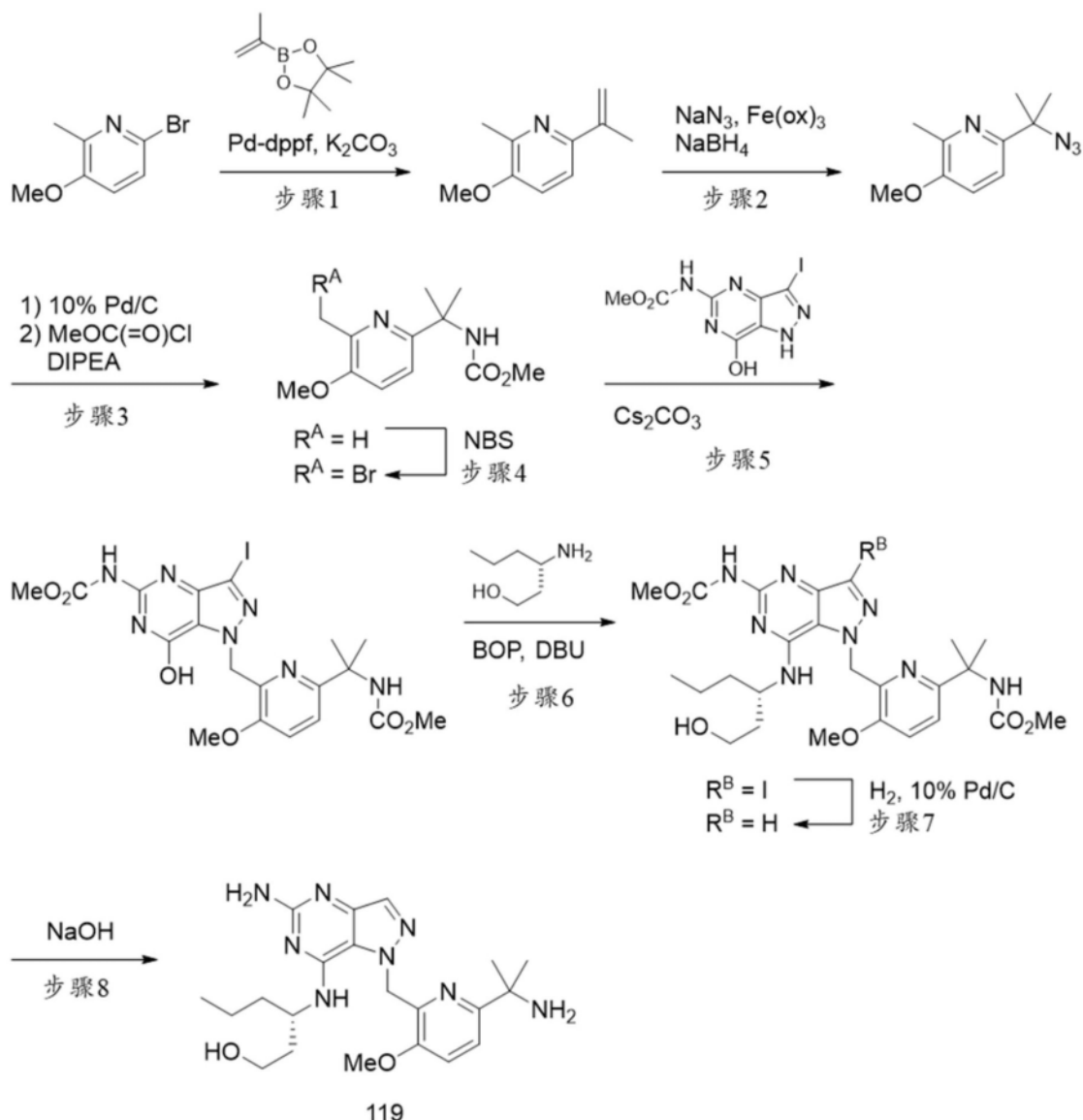
实施例 16-化合物 109



[0136] 步骤 1. 将 (S)-4-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯甲酸甲酯 (30mg, 0.041mmol; US 2020/0038403, 图 3A, 化合物 24) 在 THF (1mL) 中的溶液用甲基氯化镁的 THF 溶液 (0.069mL, 0.207mmol) 处理。将反应混合物搅拌 1h, 之后 LCMS 显示出反应完成。将反应用 MeOH (1mL) 淬灭, 并且将溶剂蒸发。将粗产物按原样带到下一步。

[0137] 步骤 2. 将 (S)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(4-(2-羟基丙-2-基)-2-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (26mg, 0.036mmol) 在二噁烷 (0.5mL) 中的溶液用 NaOH (0.179mL, 0.179mmol) 处理并且在 80°C 下加热过夜, 之后 LCMS 显示出氨基甲酸酯和 TBDPS 的去保护。通过缓慢添加 6M HCl 将反应中和至 pH 7, 并且将溶剂蒸发。将粗材料用以下条件经由制备型 LC/MS 纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含 10mM NH_4OAc); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含 10mM NH_4OAc); 梯度: 在 11%B 下保持 0 分钟, 经 20min 11%-51%B, 然后在 100%B 下保持 4 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25°C。由 MS 和 UV 信号触发级分的收集。将含有所需化合物 109 的级分合并并且经由离心蒸发干燥。

实施例 17-化合物 119



[0138] 步骤1. 将小瓶用4,4,5,5-四甲基-2-(丙-1-烯-2-基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(0.832g, 4.95mmol)、6-溴-3-甲氧基-2-甲基吡啶(1g, 4.95mmol)、[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)(0.362g, 0.495mmol)、二噁烷(9.90mL)和水(2.475mL)装填。将反应混合物在65℃下加热过夜。将反应混合物倒入饱和NaHCO₃溶液(10mL)中并且用EtOAc(3x5mL)萃取。将合并的有机相用盐水(3x5mL)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(40g SiO₂柱,负载在DCM中,0至20%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到呈油状物的3-甲氧基-2-甲基-6-(丙-1-烯-2-基)吡啶(366mg, 45%产率)。

LC/MS[M+H]⁺164.1。

[0139] 步骤2. 将草酸铁(III)六水合物(1766mg, 4.48mmol)在水(70mL)中的悬浮液搅拌4小时以溶解固体材料。然后将溶液在冰浴中冷却并且用氮气脱气10min。添加叠氮化钠(437mg, 6.73mmol)在EtOH(35mL)中的溶液,然后添加3-甲氧基-2-甲基-6-(丙-1-烯-2-基)吡啶(366mg, 2.242mmol)在EtOH(35mL)中的溶液。将反应混合物在0℃下搅拌5min;然后分两批间隔5min添加硼氢化钠(254mg, 6.73mmol)。将反应搅拌30min并且用氨溶液(40mL)淬灭并且在室温下再搅拌30min。将产物用DCM(3x50mL)萃取,并且将合并的有机相用盐水

(50mL) 洗涤,干燥 (MgSO_4),过滤并且浓缩。将粗材料使用快速色谱纯化,从而得到呈无色液体的6-(2-叠氨基丙-2-基)-3-甲氧基-2-甲基吡啶(290mg,63%产率)。

LC/MS[M+H]⁺207.2。

[0140] 步骤3.向6-(2-叠氨基丙-2-基)-3-甲氧基-2-甲基吡啶(290mg,1.406mmol)在乙醇(7mL)中的溶液中添加10%钨碳(74.8mg,0.070mmol)。将反应混合物在氢气气氛下搅拌4h,通过CELITETM过滤并且浓缩。将残余物溶解在DCM(7mL)中并且冷却至0℃。添加DIPEA(0.737mL,4.22mmol),然后添加氯甲酸甲酯(0.218mL,2.81mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,用饱和 NaHCO_3 溶液(20mL)淬灭并且用DCM(3x10mL)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL)洗涤,干燥 (MgSO_4) 并且浓缩。将粗材料使用快速色谱纯化,从而提供呈油状物的(2-(5-甲氧基-6-甲基吡啶-2-基)丙-2-基)氨基甲酸甲酯(219mg,65%产率)。

LC/MS[M+H]⁺239.2。

[0141] 步骤4.向NBS(164mg,0.919mmol)和AIBN(15.09mg,0.092mmol)在四氯化碳(4mL)中的溶液中添加(2-(5-甲氧基-6-甲基吡啶-2-基)丙-2-基)氨基甲酸甲酯(219mg,0.919mmol)。将反应混合物在75℃下搅拌3h。在冷却后,将它蒸发至干并且使用快速色谱(24g SiO_2 柱,负载在DCM中,0至50%EtOAc的己烷溶液)纯化,从而得到(2-(6-(溴甲基)-5-甲氧基吡啶-2-基)丙-2-基)氨基甲酸甲酯(273mg,94%产率)。

LC/MS[M+H]⁺317.1,319.1。

[0142] 步骤5.向(7-羟基-3-碘-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(288mg,0.861mmol)在DMF(5738 μ l)中的搅拌溶液中添加 Cs_2CO_3 (308mg,0.947mmol),然后添加(7-羟基-3-碘-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(288mg,0.861mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,用EtOAc(50mL)稀释,用盐水(2x20mL)洗涤,干燥 (MgSO_4),浓缩,并且使用快速色谱(0-20%MeOH/DCM)纯化。将含产物的级分浓缩,以提供呈固体的(7-羟基-3-碘-1-((3-甲氧基-6-(2-((甲氧基羰基)氨基)丙-2-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(374mg,76%产率)。

LC/MS[M+H]⁺572.2。

[0143] 步骤6.向(7-羟基-3-碘-1-((3-甲氧基-6-(2-((甲氧基羰基)氨基)丙-2-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(94mg,0.165mmol)、(S)-3-氨基己-1-醇HCl(50.6mg,0.329mmol)和BOP(109mg,0.247mmol)在DMSO(1645 μ l)中的搅拌溶液中添加DBU(99 μ l,0.658mmol)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,用EtOAc(30mL)稀释,用盐水(4x20mL)洗涤,干燥 (MgSO_4) 并且浓缩。将粗材料使用快速色谱(24g SiO_2 柱,负载在DCM中,0至10%MeOH/DCM)纯化,从而得到呈固体的(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-3-碘-1-((3-甲氧基-6-(2-((甲氧基羰基)氨基)丙-2-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(64mg,58.0%产率)。

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.84(s,1H),7.41(d,J=8.8Hz,1H),7.18(d,J=8.6Hz,1H),7.12(s,1H),6.66(d,J=8.6Hz,1H),5.98(d,J=17.6Hz,1H),5.80(d,J=17.6Hz,1H),4.43(br d,J=6.8Hz,1H),4.34(dd,J=6.6,4.6Hz,1H),3.87(s,3H),3.62(s,3H),3.46-3.40(m,4H),1.70-1.59(m,2H),1.55-1.45(m,1H),1.41(br d,J=9.2Hz,1H),1.14-0.96(m,8H),0.73-0.68(m,3H)。

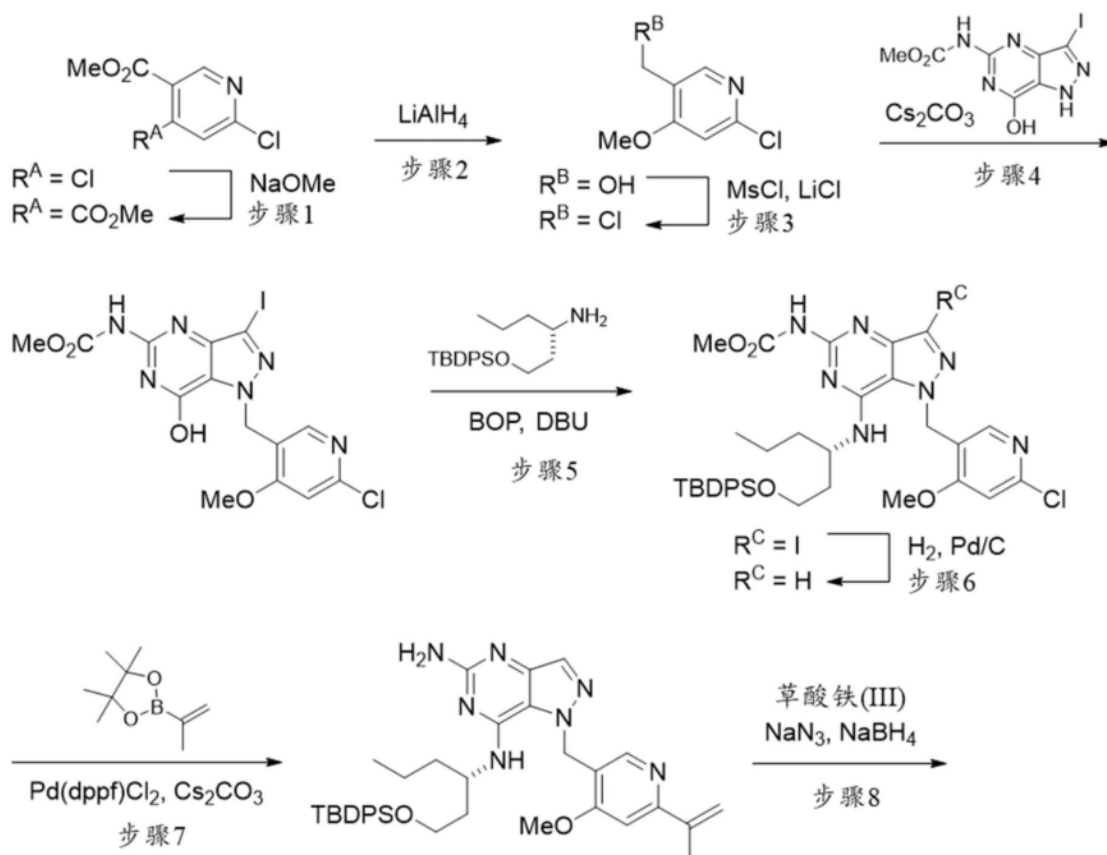
LC/MS[M+H]⁺671.3。

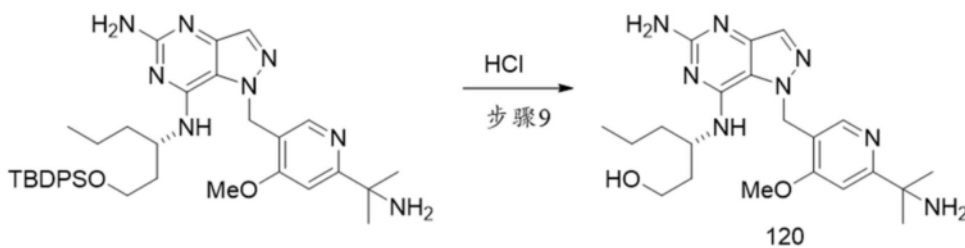
[0144] 步骤7. 将(S) - (7 - ((1 - 羟基己 - 3 - 基) 氨基) - 3 - 碘 - 1 - ((3 - 甲氧基 - 6 - (2 - ((甲氧基羰基) 氨基) 丙 - 2 - 基) 吡啶 - 2 - 基) 甲基) - 1H - 吡唑并 [4, 3 - d] 嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯 (64mg, 0.095mmol) 溶解在EtOH (4772 μ l) 中。添加10% 钯碳 (7.11mg, 6.68 μ mol)。将反应混合物抽空, 用氢气吹扫三次, 并且在氢气气氛下搅拌过夜。将反应混合物通过CELITETM过滤 (用乙醇 (10mL) 洗涤)。将滤液蒸发, 以得到呈固体的(S) - (7 - ((1 - 羟基己 - 3 - 基) 氨基) - 1 - ((3 - 甲氧基 - 6 - (2 - ((甲氧基羰基) 氨基) 丙 - 2 - 基) 吡啶 - 2 - 基) 甲基) - 1H - 吡唑并 [4, 3 - d] 嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯 (52.0mg, 100% 产率)。

LC/MS [M+H]⁺ = 545.4。

[0145] 步骤8. 向(S) - (7 - ((1 - 羟基己 - 3 - 基) 氨基) - 1 - ((3 - 甲氧基 - 6 - (2 - ((甲氧基羰基) 氨基) 丙 - 2 - 基) 吡啶 - 2 - 基) 甲基) - 1H - 吡唑并 [4, 3 - d] 嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯 (52mg, 0.095mmol) 在MeOH (955 μ l) 中的搅拌溶液中添加NaOH (191 μ l, 1.910mmol)。将反应混合物在80 $^{\circ}$ C下搅拌过夜, 浓缩并且再溶解在二噁烷 (1mL) 中。然后将它用NaOH (0.2mL) 处理并且在100 $^{\circ}$ C下搅拌过夜。将反应冷却至0 $^{\circ}$ C, 用HCl (159 μ l, 1.910mmol) 淬灭并且浓缩。将粗材料溶解在DMF (2mL) 中, 过滤并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水 (含NH₄OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水 (含NH₄OAc); 梯度: 在0%B下保持0分钟, 经25min 0-40%B, 然后在100%B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥, 从而得到化合物119 (6.2mg, 15% 产率)。

实施例18 - 化合物120





[0146] 步骤1. 在0℃下,向4,6-二氯烟酸甲酯(5g,24.27mmol)在THF(50mL)中的搅拌溶液中经2min逐滴添加甲醇钠(5.41mL,29.1mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌5min,然后在室温下搅拌12h。将反应混合物在水(50mL)与乙酸乙酯(50mL)之间分配。将有机层分离出来,并且将水层用EtOAc(2x30mL)萃取。将合并的有机层用盐水溶液(100mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩,以提供粗产物,将其通过快速色谱(40g硅胶柱,30%EtOAc的石油醚溶液)纯化,以提供呈灰白色固体的6-氯-4-甲氧基烟酸甲酯(3.4g,16.86mmol,69.5%产率)。

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ=8.57(s,1H),7.37(s,1H),3.96(s,3H),3.82(s,3H)。

LC-MS m/z 202.2[M+H]⁺。

[0147] 步骤2. 在0℃下,向6-氯-4-甲氧基烟酸甲酯(3.2g,15.87mmol)在THF(40mL)中的搅拌溶液中经10min以逐滴方式添加LiAlH₄(31.7mL,31.7mmol)。在添加结束后,允许将反应混合物加温至室温并且搅拌2h。将反应混合物冷却并且通过依次逐滴添加水(1.0mL)、15%水性NaOH(1.0mL)和水(2.0mL)淬灭。在搅拌30min后,将混合物通过CELITETM垫过滤,将其用过量的EtOAc洗涤。将滤液在减压下浓缩,以得到残余物,将其用冷醚(15mL)洗涤并且干燥,以提供呈灰白色固体的(6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲醇(2.2g,12.67mmol,80%产率)。

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ=8.20-8.14(m,1H),7.15-7.07(m,1H),5.20(t,J=5.5Hz,1H),4.46(d,J=5.5Hz,2H),3.90-3.86(m,3H)。LC-MS m/z 174.2[M+H]⁺。

[0148] 步骤3. 在0℃下,向(6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲醇(2.9g,16.71mmol)在DCM(30.0mL)中的搅拌溶液中添加TEA(4.66mL,33.4mmol)、MsCl(2.60mL,33.4mmol)和氯化锂(无水的,1.416g,33.4mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌30min,然后在室温下搅拌3h。将反应混合物在DCM与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤并且经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈浅棕色油状物的2-氯-5-(氯甲基)-4-甲氧基吡啶(3.0g,9.22mmol,55.2%产率)。

¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ=8.24-8.22(m,1H),6.86-6.84(m,1H),4.59-4.54(m,2H),3.96-3.95(s,3H)。LC-MS m/z 192.0[M+H]⁺。

[0149] 步骤4. 在0℃下,向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(5.0g,14.92mmol)在DMF(50.0mL)中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(9.72g,29.8mmol)和2-氯-5-(氯甲基)-4-甲氧基吡啶(2.87g,14.92mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1h,然后添加水。将沉淀的固体过滤并且用过量的水洗涤,然后用石油醚洗涤。将固体在真空下干燥,以提供呈灰白色固体的(1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(4.9g,8.79mmol,58.9%产率)。

¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ=11.69(br s,1H),11.40-11.34(m,1H),7.97-7.94(m,1H),7.23-7.19(m,1H),5.70-5.67(m,2H),3.88-3.84(m,3H),3.78-3.74(m,3H)。LC-MS m/z 490.8[M+H]⁺。

[0150] 步骤5. 向(1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(4.0g, 8.15mmol)在DMSO(30.0mL)中的搅拌溶液中添加DBU(3.69mL, 24.46mmol)、BOP(5.41g, 12.23mmol)和(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(2.90g, 8.15mmol)。将反应混合物在45℃下搅拌2h, 然后在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供残余物。将粗化合物通过ISCO Combiflash色谱(通过用50%-100%乙酸乙酯的氯仿溶液洗脱)纯化, 以提供呈浅棕色固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-碘-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2.89g, 3.25mmol, 39.8%产率)。

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ=9.74(s, 1H), 7.75(s, 1H), 7.59-7.55(m, 2H), 7.52-7.33(m, 7H), 7.28-7.22(m, 2H), 7.16(s, 1H), 6.75(d, J=8.5Hz, 1H), 5.78-5.59(m, 2H), 4.72-4.61(m, 1H), 3.73(s, 3H), 3.71-3.66(m, 2H), 3.59(s, 3H), 1.95-1.86(m, 2H), 1.66-1.47(m, 2H), 1.32-1.14(m, 2H), 0.93(s, 9H), 0.86-0.81(m, 3H); LC-MS m/z 828.2[M+H]⁺。

[0151] 步骤6. 向(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-3-碘-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.65g, 1.992mmol)在乙酸乙酯(10.0mL)和乙醇(10.0mL)的混合物中的搅拌溶液中添加Pd/C(1.060g, 0.996mmol)。将反应混合物在室温下在氢气囊压力下搅拌16h。将反应混合物通过CELITETM床过滤。将CELITETM床用过量的甲醇洗涤。将滤液在减压下浓缩, 以提供呈浅棕色固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.5g, 1.730mmol, 87%产率)。

LC-MS m/z 702.2[M+H]⁺。

[0152] 步骤7. 向(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.5g, 0.712mmol)在1,4-二噁烷(4.0mL)和水(1.0mL)的混合物中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(0.696g, 2.136mmol)、4,4,5,5-四甲基-2-(丙-1-烯-2-基)-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(0.201mL, 1.068mmol)和PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂加合物(0.058g, 0.071mmol)。将反应混合物用氮气吹扫并且在100℃下搅拌16h。将反应混合物通过CELITETM床过滤。将滤液在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供残余物。将粗化合物通过ISCO Combiflash色谱(通过用40%-100%乙酸乙酯的氯仿溶液洗脱)纯化, 以提供呈棕色半固体的(S)-N7-(1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)-1-((4-甲氧基-6-(丙-1-烯-2-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺(162mg, 0.229mmol, 32.2%产率)。

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ=7.61-7.48(m, 7H), 7.43-7.34(m, 4H), 7.31-7.25(m, 2H), 7.17(s, 1H), 5.86(s, 1H), 5.77-5.49(m, 4H), 5.27(s, 1H), 4.56-4.45(m, 1H), 3.86-3.83(m, 3H), 3.69-3.61(m, 2H), 2.08-2.05(m, 3H), 1.83-1.76(m, 2H), 1.49-1.40(m, 2H), 1.16-1.05(m, 2H), 0.96(s, 9H), 0.80-0.74(m, 3H)。

LC-MS m/z 650.4[M+H]⁺。

[0153] 步骤8. 在室温下, 将草酸铁(III)六水合物(0.606g, 1.539mmol)在水(10.0mL)中

搅拌2h以制备均质溶液。在0℃下,将此混合物用氮气脱气10min。向此混合物中添加THF (10.0mL)和叠氮化钠(0.200g,3.08mmol),然后添加(S)-N7-(1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)-1-((4-甲氧基-6-(丙-1-烯-2-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺(0.2g,0.308mmol)在THF(10.0mL)中的溶液。将反应混合物在0℃下搅拌5min。随后,经10min分两批添加硼氢化钠(0.075g,1.969mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌30min,用氨溶液处理并且在室温下搅拌30min。将反应混合物在DCM与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供残余物。将粗化合物通过ISCO Combiflash色谱(通过用0-20%甲醇的氯仿溶液洗脱)纯化,以提供呈浅棕色半固体的(S)-1-((6-(2-氨基丙-2-基)-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N7-(1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺(130mg,0.177mmol,57.6%产率)。

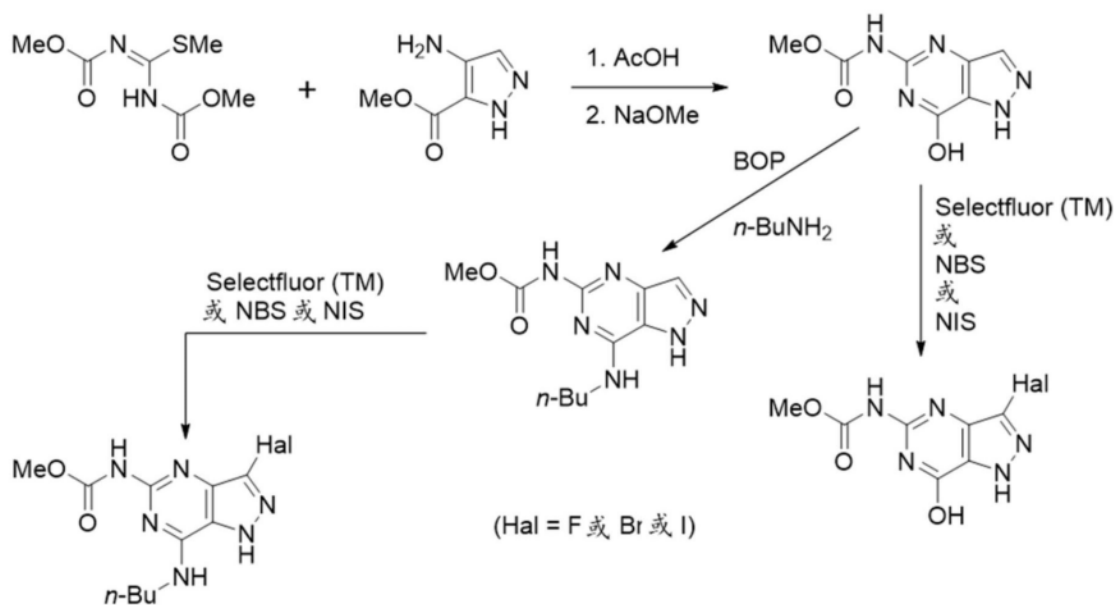
LC-MS *m/z* 667.2[M+H]⁺。

[0154] 步骤9.在0℃下,向(S)-1-((6-(2-氨基丙-2-基)-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-N7-(1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺(100.0mg,0.150mmol)在MeOH(3.0mL)中的搅拌溶液中添加浓HCl(1.0mL,1.500mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h并且在减压下浓缩,以提供残余物。将残余物用乙醚和石油醚磨碎,将固体在真空下干燥。将粗化合物通过反相制备型LC/MS(柱:Waters XBridge C18,19x150mm,5μm颗粒;流动相A:10mM NH₄OAc;流动相B:乙腈;梯度:经20min 15%-55%B,然后在100%B下保持5分钟;流速:15mL/min)纯化。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由使用Genevac仪器离心蒸发干燥,以提供化合物120(11.1mg,0.026mmol,17.28%产率)。

实施例19-起始材料和中间体

[0155] 下文的图1示出了用于制备可作用于制备本文公开的TLR7激动剂的起始材料或中间体的化合物的方案。所述方案可以适用于制备其他类似的可以用作起始材料或中间体的化合物。所采用的试剂是本领域熟知的,并且在许多情况下,它们的使用已经在前述实施例中进行了展示。

图1



生物活性

[0156] 可以通过以下程序测定本文公开的作为TLR7激动剂的化合物的生物活性。

人TLR7激动剂活性测定

[0157] 此程序描述了用于测定在本说明书中公开的化合物的人TLR7 (hTLR7) 激动剂活性的方法。

[0158] 将具有人TLR7分泌型胚胎碱性磷酸酶 (SEAP) 报告转基因的工程化人胚肾蓝细胞 (HEK-BlueTMTLR细胞; Invivogen) 悬浮在非选择性培养基 (补充有10%胎牛血清 (Sigma) 的DMEM高葡萄糖 (Invitrogen)) 中。将HEK-BlueTMTLR7细胞添加到384孔组织培养板的每个孔中 (15,000个细胞/孔), 并且在37°C、5%CO₂下孵育16-18h。将化合物 (100nl) 分配到含有HEK-BlueTMTLR细胞的孔中, 并且将经处理的孔在37°C、5%CO₂下孵育。在处理18h后, 将十微升的新鲜制备的Quanti-BlueTM试剂 (Invivogen) 添加到每个孔中, 孵育30min (37°C, 5%CO₂), 并且使用Envision读板仪 (OD=620nm) 测量SEAP水平。计算半数最大有效浓度值 (EC₅₀; 在测定基线与最大值之间引起反应的一半的化合物浓度)。

人血液中I型干扰素基因 (MX-1) 和CD69的诱导

[0159] I型干扰素 (IFN) MX-1基因和B细胞激活标记物CD69的诱导是在TLR7途径激活后发生的下游事件。以下是人全血测定, 其测量响应于TLR7激动剂的诱导。

[0160] 从人类受试者中收获肝素化的人全血, 并且将其用1mM的测试TLR7激动剂化合物处理。将血液用RPMI 1640培养基稀释, 并且使用Echo预加样 (predot) 10nL/孔, 从而得到1uM的最终浓度 (在10uL血液中有10nL)。在摇床上混合30秒后, 将板盖住并且置于37°C室中过夜=17h。制备固定/裂解缓冲液 (在H₂O中5x->1x, 在37°C下加温; 目录号BD 558049), 并且保持perm缓冲液 (在冰上), 以备后用。

[0161] 对于表面标记物 (CD69) 染色: 制备表面Ab: 0.045ul hCD14-FITC (ThermoFisher目录号MHCD1401) + 0.6ul hCD19-ef450 (ThermoFisher目录号48-0198-42) + 1.5ul hCD69-PE (目录号BD555531) + 0.855ul FACS缓冲液。添加3ul/孔, 1000rpm旋转1min, 并且在摇床上混合30秒, 置于冰上30min。在用70uL预加温的1x固定/裂解缓冲液30min后停止刺激, 并且使用Feliex伴侣重悬 (15次, 对每个板更换吸头) 并且在37°C下孵育10min。

[0162] 在2000rpm下离心5min, 用HCS板清洗器抽出, 在摇床上混合30秒, 然后用在dPBS中的70uL洗涤并且沉淀2次 (2000rpm, 持续5min), 并且用在FACS缓冲液中的50ul洗涤, 沉淀1次 (2000rpm, 持续5min)。在摇床上混合30秒。对于细胞内标记物 (MX-1) 染色: 添加50ul BD Perm缓冲液III, 并且在摇床上混合30秒。在冰上孵育30min (在黑暗中)。用50uL FACS缓冲液洗涤2次 (在perm后, 在2300rpm下旋转5min), 然后在摇床上混合30秒。在20ul含有MX1抗体 (4812) -Alexa 647: Novus Biologicals#NBP2-43704AF647) 20ul FACS缓冲液+0.8ul hIgG+0.04ul MX-1的FACS缓冲液中重悬。1000rpm旋转1min, 在摇床上混合30秒, 并且将样品在黑暗在室温下孵育45min, 然后用FACS缓冲液洗涤2次 (在perm后, 在2300rpm下旋转5min)。在20ul (每孔总计35uL) FACS缓冲液重悬, 并且用箔纸覆盖, 并且置于4°C下, 以在第二天读数。在iQuePlus上读取板。将结果加载到工具集中, 并且在curve master中生成IC50曲线。将y轴100%设置为1uM瑞喹莫德。

小鼠血液中TNF- α 和I型IFN反应基因的诱导

[0163] TNF- α 和I型IFN反应基因的诱导是在TLR7途径激活后发生的下游事件。以下是测

量在小鼠全血中响应于TLR7激动剂的诱导的测定。

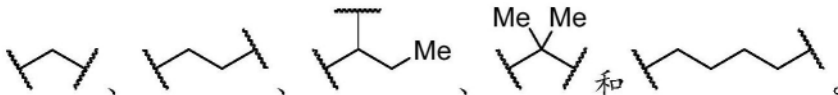
[0164] 将肝素化的小鼠全血用含青霉素-链霉素的RPMI 1640培养基以5:4的比率稀释(50uL全血和40uL培养基)。将90uL体积的经稀释的血液转移到Falcon平底96孔组织培养板的孔中,并且将板在4°C下孵育1h。将100%DMSO储备溶液中的测试化合物在相同培养基中稀释20倍用于进行浓度反应测定,然后将10uL经稀释的测试化合物添加到孔中,使得最终DMSO浓度为0.5%。对照孔接受10uL含有5%DMSO的培养基。然后将板在37°C下在5%CO₂培养箱中孵育17h。在孵育后,将100uL培养基添加到每个孔中。将板离心,并且取出130uL上清液用于通过ELISA (Invitrogen, 目录号88-7324, Thermo-Fisher Scientific) 测定TNFa的产生。将来自Invitrogen mRNA Catcher Plus试剂盒(目录号K1570-02)的70uL体积的含DTT的mRNA捕获裂解缓冲液(1x)添加到孔中剩余的70uL样品中,并且通过上下移液5次进行混合。然后将板在室温下摇动5-10min,然后向每个孔中添加2uL蛋白酶K(20mg/mL)。然后将板在室温下摇动15-20min。然后将板在-80°C下储存直到进一步处理。

[0165] 将冷冻样品解冻,并且根据制造商的说明书,使用Invitrogen mRNA Catcher Plus试剂盒(目录号K1570-02)提取mRNA。使用Invitrogen SuperScript IV VILO Master Mix(目录号11756500),使用来自RNA提取的一半产率的mRNA在20uL逆转录酶反应中合成cDNA。使用来自ThermoFisher (Applied Biosystems)的QuantStudio实时PCR系统进行TaqMan®实时PCR。使用针对小鼠IFIT1、IFIT3、MX1和PPIA基因表达的商业化预设计的TaqMan测定和TaqMan Master Mix一式两份地运行所有实时PCR反应。将PPIA用作管家基因。遵循来自制造商的建议。通过平均管家基因(Ct)归一化所有原始数据(Ct),然后利用比较Ct(ΔΔCt)方法量化相对基因表达(RQ)用于进行实验分析。

定义

[0166] “脂族”意指直链或支链的饱和或不饱和的非芳族烃部分,其具有指定数量的碳原子(例如,如在“C₃脂族”、“C₁₋₅脂族”、“C₁-C₅脂族”或“C₁至C₅脂族”中,后三个短语与具有从1至5个碳原子的脂族部分同义)或者在未明确指定碳原子数量的情况下从1至4个碳原子(在不饱和脂族部分的情况下2至4个碳)。类似的理解适用于其他类型中的碳数量,如在C₂₋₄烯烃、C₄-C₇脂环族等中。以类似的方式,诸如“(CH₂)₁₋₃”的术语应理解为对下标是1、2或3的简写,使得这样的术语代表CH₂、CH₂CH₂和CH₂CH₂CH₂。

[0167] “烷基”意指饱和的脂族部分,其中用于指定碳原子数量的相同惯例是可适用的。通过说明的方式,C₁-C₄烷基部分包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、异丁基、叔丁基、1-丁基、2-丁基等。“烷二基”(有时也称为“亚烷基”)意指烷基的二价对应物,诸如



[0168] “烯基”意指具有至少一个碳-碳双键的脂族部分,其中用于指定碳原子数量的相同惯例是可适用的。通过说明的方式,C₂-C₄烯基部分包括但不限于乙烯基(ethenyl/vinyl)、2-丙烯基(烯丙基或丙-2-烯基)、顺式-1-丙烯基、反式-1-丙烯基、E-(或Z-)2-丁烯基、3-丁烯基、1,3-丁二烯基(丁-1,3-二烯基)等。

[0169] “炔基”意指具有至少一个碳-碳三键的脂族部分,其中用于指定碳原子数量的相同惯例是可适用的。通过说明的方式,C₂-C₄炔基包括乙炔基(ethynyl/acetylenyl)、炔丙基

(丙-2-炔基)、1-丙炔基、丁-2-炔基等。

[0170] “脂环族”意指具有从1至3个环的饱和或不饱和的非芳族烃部分，每个环具有从3至8个(优选地从3至6个)碳原子。“环烷基”意指每个环是饱和的脂环族部分。“环烯基”意指至少一个环具有至少一个碳-碳双键的脂环族部分。“环炔基”意指至少一个环具有至少一个碳-碳三键的脂环族部分。通过说明的方式，脂环族部分包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环辛基和金刚烷基。优选的脂环族部分是环烷基部分，尤其是环丙基、环丁基、环戊基和环己基。“环烷二基”(有时也称为“环亚烷基”)意指环烷基的二价对应物。类似地，“二环烷二基”(或“二环亚烷基”)和“螺烷二基”(或“螺亚烷基”)是指二环烷基和螺烷基(或“螺环烷基”)的二价对应物。

[0171] “杂脂环族”意指这样的脂环族部分，其中在其至少一个环中，至多三个(优选地1至2个)碳已经被独立地选自N、O或S的杂原子替代，其中N和S任选地可以被氧化并且N任选地可以被季铵化。优选的脂环族部分由一个大小为5至6元的环组成。类似地，“杂环烷基”、“杂环烯基”和“杂环炔基”分别意指其至少一个环已经被如此修饰的环烷基、环烯基或环炔基部分。示例性杂脂环族部分包括氮杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、1,3-二噁烷基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、四氢噻喃基砷、吗啉基、硫代吗啉基、硫代吗啉基亚砷、硫代吗啉基砷、1,3-二氧戊环基、四氢-1,1-二氧代噻吩基、1,4-二噁烷基、硫杂环丁烷基等。“杂环亚烷基”意指杂环烷基的二价对应物。

[0172] “烷氧基”、“芳氧基”、“烷硫基”和“芳硫基”分别意指-O(烷基)、-O(芳基)、-S(烷基)和-S(芳基)。例子分别是甲氧基、苯氧基、甲硫基和苯硫基。

[0173] 除非指示较窄的含义，否则“卤素”或“卤代”意指氟、氯、溴或碘。

[0174] “芳基”意指具有单、双或三环环系统(优选地单环)的烃部分，其中每个环具有从3至7个碳原子，并且至少一个环是芳族的。环系统中的环可以彼此稠合(如在萘基中)或彼此键合(如在联苯基中)，并且可以与非芳族环稠合或键合(如在茛满基或环己基苯基中)。通过进一步说明的方式，芳基部分包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茛满基、联苯基、菲基、蒽基和茈基。“亚芳基”意指芳基的二价对应物，例如1,2-亚苯基、1,3-亚苯基或1,4-亚苯基。

[0175] “杂芳基”意指具有单、双或三环环系统(优选地5至7元单环)的部分，其中每个环具有从3至7个碳原子，并且至少一个环是含有从1至4个独立地选自N、O或S的杂原子的芳族环，其中N和S任选地可以被氧化并且N任选地可以被季铵化。这样的至少一个含有杂原子的芳族环可以与其他类型的环稠合(如在苯并呋喃基或四氢异喹啉基中)，或者与其他类型的环直接键合(如在苯基吡啶基或2-环戊基吡啶基中)。通过进一步说明的方式，杂芳基部分包括吡咯基、呋喃基、噻吩基(thiophenyl/thienyl)、咪唑基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、噻唑基、异噻唑基、三唑基、四唑基、吡啶基、N-氧代吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、喹啉基、异喹啉基(isoquinolynyl)、喹唑啉基、噌啉基、喹唑啉基(quinozalynyl)、蔡啶基、苯并呋喃基、吲哚基、苯并噻吩基、噁二唑基、噻二唑基、吩噻唑基(phenothiazolyl)、苯并咪唑基、苯并三唑基、二苯并呋喃基、呋唑基、二苯并噻吩基、吡啶基等。“杂亚芳基”意指杂芳基的二价对应物。

[0176] 在指示部分可以被取代(诸如通过使用如在“未经取代或经取代的C₁-C₅烷基”或“任选经取代的杂芳基”中的短语“未经取代或经取代的”或“任选经取代的”)的情况下，这

样的部分可以具有一个或多个独立选择的取代基,优选地数量为1至5、更优选地数量为1或2。考虑到取代基所附接的部分,本领域普通技术人员可以选择取代基和取代模式,以提供化学稳定的并且可以通过本领域已知的技术以及本文列出的方法合成的化合物。在部分被鉴定为“未经取代或经取代的”或“任选经取代的”的情况下,在一个优选实施方案中,这样的部分是未经取代的。

[0177] “芳基烷基”、“(杂脂环族)烷基”、“芳基烯基”、“芳基炔基”、“联芳基烷基”等意指被芳基、杂脂环族、联芳基等部分(视情况而定)取代的烷基、烯基或炔基部分(视情况而定),其中开放的(未满足的)化合价在烷基、烯基或炔基部分处,例如如在苄基、苯乙基、N-咪唑基乙基、N-吗啉代乙基等中。相反,“烷基芳基”、“烯基环烷基”等意指被烷基、烯基等部分(视情况而定)取代的芳基、环烷基等部分(视情况而定),例如如在甲基苯基(甲苯基)或烯丙基环己基中。“羟基烷基”、“卤代烷基”、“烷基芳基”、“氰基芳基”等意指被一个或多个鉴定的取代基(羟基、卤代等,视情况而定)取代的烷基、芳基等部分(视情况而定)。

[0178] 例如,允许的取代基包括但不限于烷基(尤其是甲基或乙基)、烯基(尤其是烯丙基)、炔基、芳基、杂芳基、脂环族、杂脂环族、卤代(尤其是氟)、卤代烷基(尤其是三氟甲基)、羟基、羟基烷基(尤其是羟基乙基)、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-O(卤代烷基)(尤其是-O_{CF₃})、-O(环烷基)、-O(杂环烷基)、-O(芳基)、烷硫基、芳硫基、=O、=NH、=N(烷基)、=NOH、=NO(烷基)、-C(=O)(烷基)、-C(=O)H、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NH(羟基烷基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-OSO₂(烷基)、-SH、-S(烷基)、-S(芳基)、-S(环烷基)、-S(=O)烷基、-SO₂(烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(烷基)、-SO₂N(烷基)₂等。

[0179] 在被取代的部分是脂族部分的情况下,优选的取代基是芳基、杂芳基、脂环族、杂脂环族、卤代、羟基、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-O(卤代烷基)、-O(环烷基)、-O(杂环烷基)、-O(芳基)、烷硫基、芳硫基、=O、=NH、=N(烷基)、=NOH、=NO(烷基)、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NH(羟基烷基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-OSO₂(烷基)、-SH、-S(烷基)、-S(芳基)、-S(=O)烷基、-S(环烷基)、-SO₂(烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(烷基)和-SO₂N(烷基)₂。更优选的取代基是卤代、羟基、氰基、硝基、烷氧基、-O(芳基)、=O、=NOH、=NO(烷基)、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂和-NHC(=NH)NH₂。尤其优选的是苯基、氰基、卤代、羟基、硝基、C₁-C₄烷氧基、O(C₂-C₄烷二基)OH和O(C₂-C₄烷二基)卤代。

[0180] 在被取代的部分是脂环族、杂脂环族、芳基或杂芳基部分的情况下,优选的取代基是烷基、烯基、炔基、卤代、卤代烷基、羟基、羟基烷基、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-O

(卤代烷基)、-O(芳基)、-O(环烷基)、-O(杂环烷基)、烷硫基、芳硫基、-C(=O)(烷基)、-C(=O)H、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NH(羟基烷基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-OSO₂(烷基)、-SH、-S(烷基)、-S(芳基)、-S(环烷基)、-S(=O)烷基、-SO₂(烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(烷基)和-SO₂N(烷基)₂。更优选的取代基是烷基、烯基、卤代、卤代烷基、羟基、羟基烷基、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-C(=O)(烷基)、-C(=O)H、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂和-NHC(=NH)NH₂。尤其优选的是C₁-C₄烷基、氰基、硝基、卤代和C₁-C₄烷氧基。

[0181] 在陈述范围的情况下,如在“C₁-C₅烷基”或“5%至10%”中,这样的范围包括所述范围的端点,如在第一个实例中的C₁和C₅以及在第二个实例中的5%和10%。

[0182] 除非具体指示特定的立体异构体(例如,通过在结构式中的相关立体中心处的加粗或加虚线的键,通过在结构式中将双键描绘为具有E或Z构型,或通过使用立体化学指定的命名法或符号),否则作为纯化合物及其混合物的所有立体异构体都包括在本发明的范围内。除非另外指示,否则外消旋体、单独的对映体(不论是光学纯的还是部分拆分的)、非对映体、几何异构体及其组合和混合物都被本发明涵盖。

[0183] 本领域技术人员应理解,化合物可以具有互变异构体形式(例如,酮和烯醇形式)、共振形式和两性离子形式,所述形式等效于在本文使用的结构式中描绘的那些,并且所述结构式涵盖此类互变异构体形式、共振形式或两性离子形式。

[0184] “药学上可接受的酯”意指在体内(例如在人体中)水解产生母体化合物或其盐或者本身具有与母体化合物类似的活性的酯。合适的酯包括C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基或C₂-C₅炔基酯,尤其是甲基、乙基或正丙基酯。

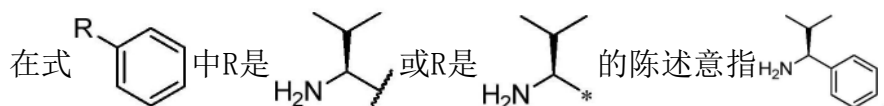
[0185] “药学上可接受的盐”意指适用于药物配制品的化合物的盐。在化合物具有一个或多个碱性基团的情况下,所述盐可以是酸加成盐,诸如硫酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐、乙酸盐、双羟萘酸盐(恩波酸盐(embonate))、氢碘酸盐、硝酸盐、盐酸盐、乳酸盐、甲基硫酸盐、富马酸盐、苯甲酸盐、琥珀酸盐、甲磺酸盐、乳糖醛酸盐、辛二酸盐、甲苯磺酸盐等。在化合物具有一个或多个酸性基团的情况下,所述盐可以是诸如以下的盐:钙盐、钾盐、镁盐、葡甲胺盐、铵盐、锌盐、哌嗪盐、氨丁三醇盐、锂盐、胆碱盐、二乙胺盐、4-苯基环己胺盐、苯乍生盐、钠盐、四甲基铵盐等。多晶型结晶形式和溶剂化物也涵盖在本发明的范围内。

[0186] “受试者”是指动物,包括但不限于灵长类动物(例如,人)、猴、牛、猪、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠或小鼠。关于例如哺乳动物受试者(诸如人)的术语“受试者”和“患者”在本文中可互换地使用。

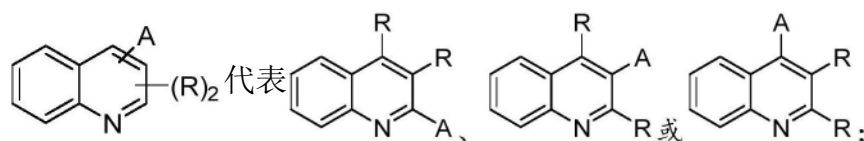
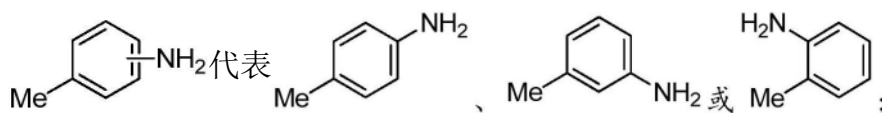
[0187] 在治疗疾病或障碍的上下文中,术语“治疗”(“treat”、“treating”和

“treatment”)意在包括减轻或消除障碍、疾病或病症,或与障碍、疾病或病症相关的一种或多种症状;或减慢障碍、疾病或病症或其一种或多种症状的进展、扩散或恶化。“癌症的治疗”是指以下作用中的一种或多种:(1)在一定程度上抑制肿瘤生长,包括(i)减慢和(ii)完全阻止生长;(2)减少肿瘤细胞的数量;(3)维持肿瘤大小;(4)减小肿瘤大小;(5)抑制,包括(i)减少、(ii)减慢或(iii)完全防止肿瘤细胞浸润到外周器官中;(6)抑制,包括(i)减少、(ii)减慢或(iii)完全防止转移;(7)增强抗肿瘤免疫应答,这可以导致(i)维持肿瘤大小、(ii)减小肿瘤大小、(iii)减慢肿瘤生长、(iv)减少、减慢或防止侵袭和/或(8)在一定程度上缓解与障碍相关的一种或多种症状的严重程度或数量。

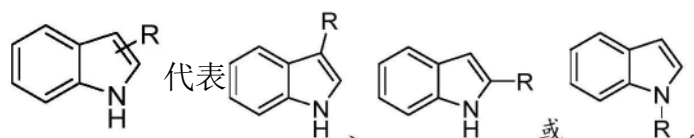
[0188] 在本说明书的式中,横向于键的波浪线(~~~~)或在键末端的星号(*)表示共价附接位点。例如,



[0189] 在本说明书的式中,在其两个碳之间横穿芳族环的键意指附接至所述键的基团可以位于所述芳族环的任何位置,所述任何位置是通过除去隐含地在那里(或明确地在那里,如果写出来的话)的氢而变得可用的。通过说明的方式:



并且



[0190] 本公开文本包括在本文描述的化合物中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但质量数不同的那些原子。通过一般举例而非限制的方式,氢的同位素包括氕和氘。碳的同位素包括¹³C和¹⁴C。本发明的同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过本文所述的那些类似的方法使用适当的同位素标记的试剂代替原本采用的未标记的试剂来制备。通过举例的方式,C₁-C₃烷基可以是未氘化的、部分氘化的或完全氘化的,并且“CH₃”包括CH₃、¹³CH₃、¹⁴CH₃、CH₂T、CH₂D、CHD₂、CD₃等。在一个实施方案中,化合物中的各种元素以其天然同位素丰度存在。

[0191] 本领域技术人员应理解,某些结构可以绘制呈一种互变异构体形式或另一种互变异构体形式,例如酮与烯醇,并且这两种形式是等效的。

首字母缩略词和缩写

[0192] 表C提供了在本说明书中使用的首字母缩略词和缩写及其含义的列表。

表C

首字母缩略词或缩写	含义或定义
AIBN	偶氮二异丁腈
Alloc	烯丙氧基羰基
Aq.	水性
Boc	叔丁氧基羰基
BOP	(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(V)
BOP	(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(V)
DBU	1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯
DCM	二氯甲烷
DIAD	偶氮二甲酸二异丙酯
DIPEA、DIEA	N,N-二异丙基乙胺, 也称为胡宁氏碱
DMA	N,N-二甲基乙酰胺
DMAP	4-(二甲基氨基)吡啶
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
DTDP	2,2'-二硫代二吡啶
DTPA	二亚乙基三胺五乙酸
EEDQ	2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸乙酯
Fmoc	芴基甲氧基羰基
HATU	六氟磷酸盐氮杂苯并三唑四甲基脲鎓; 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐
HEPES	4-(2-羟基乙基)哌嗪-1-乙烷磺酸、N-(2-羟基乙基)哌嗪-N'-(2-乙烷磺酸)
HPLC	高压液相色谱
Hunig's base	参见DIPEA、DIEA
LCMS、LC-MS、LC/MS	液相色谱-质谱
mCPBA	间氯过氧苯甲酸
MS	质谱
MsCl	甲磺酰氯 (Methanesulfonyl chloride、mesyl chloride)
NBS	N-溴代琥珀酰亚胺
NMR	核磁共振
PEG	聚(乙二醇)
PTFE	聚(四氟乙烯)
RT (在液相色谱的背景下)	保留时间, 以min计
RT (在反应条件的背景下)	室(环境)温, 近似25°C
Sat.	饱和的
Soln	溶液
TBDPS	叔丁基二苯基甲硅烷基
TBS	叔丁基二甲基甲硅烷基
TEA	三乙胺
TEAA	三乙基乙酸铵
TFA	三氟乙酸

表C	
首字母缩略词或缩写	含义或定义
THF	四氢呋喃

参考文献

[0193] 下文提供了在本说明书中较早以缩写方式通过第一作者(或发明人)和日期引用的以下参考文献的完整引用。将这些参考文献中的每一个出于所有目的通过引用并入本文。

[0194] Akinbobuyi et al., *Tetrahedron Lett.* 2015, 56, 458, “Facile syntheses of functionalized toll-like receptor 7agonists”.

[0195] Akinbobuyi et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016, 26, 4246, “Synthesis and immunostimulatory activity of substituted TLR7 agonists.”

[0196] Barberis et al., US 2012/0003298 A1 (2012).

[0197] Beesu et al., *J. Med. Chem.* 2017, 60, 2084, “Identification of High-Potency Human TLR8 and Dual TLR7/TLR8 Agonists in Pyrimidine-2,4-diamines.”

[0198] Berghöfer et al., *J. Immunol.* 2007, 178, 4072, “Natural and Synthetic TLR7Ligands Inhibit CpG-A-and CpG-C-Oligodeoxynucleotide-Induced IFN- α Production.”

[0199] Bonfanti et al., US 2014/0323441 A1 (2015) [2015a].

[0200] Bonfanti et al., US 2015/0299221 A1 (2015) [2015b].

[0201] Bonfanti et al., US 2016/0304531 A1 (2016).

[0202] Carson et al., US 2013/0202629 A1 (2013).

[0203] Carson et al., US 8,729,088 B2 (2014).

[0204] Carson et al., US 9,050,376 B2 (2015).

[0205] Carson et al., US 2016/0199499 A1 (2016).

[0206] Chan et al., *Bioconjugate Chem.* 2009, 20, 1194, “Synthesis and Immunological Characterization of Toll-Like Receptor 7Agonistic Conjugates.”

[0207] Chan et al., *Bioconjugate Chem.* 2011, 22, 445, “Synthesis and Characterization of PEGylated Toll Like Receptor 7Ligands.”

[0208] Chen et al., US 7,919,498 B2 (2011).

[0209] Coe et al., US 9,662,336 B2 (2017).

[0210] Cortez and Va, *Medicinal Chem. Rev.* 2018, 53, 481, “Recent Advances in Small-Molecule TLR7 Agonists for Drug Discovery”.

[0211] Cortez et al., US 2017/0121421 A1 (2017).

[0212] Cortez et al., US 9,944,649 B2 (2018).

[0213] Dellaria et al., WO 2007/028129 A1 (2007).

[0214] Desai et al., US 9,127,006 B2 (2015).

[0215] Ding et al., WO 2016/107536 A1 (2016).

[0216] Ding et al., US 2017/0273983 A1 (2017) [2017a].

[0217] Ding et al., WO 2017/076346 A1 (2017) [2017b].

- [0218] Gadd et al., *Bioconjugate Chem.* 2015, 26, 1743, "Targeted Activation of Toll-Like Receptors: Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity."
- [0219] Graupe et al., US 8,993,755 B2 (2015).
- [0220] Embrechts et al., *J. Med. Chem.* 2018, 61, 6236, "2,4-Diaminoquinazolines as Dual Toll Like Receptor (TLR) 7/8 Modulators for the Treatment of Hepatitis B Virus."
- [0221] Halcomb et al., US 9,161,934 B2 (2015).
- [0222] Hashimoto et al., US 2009/0118263 A1 (2009).
- [0223] He et al., US 10,487,084 B2 (2019) [2019a].
- [0224] He et al., US 10,508,115 B2 (2019) [2019b].
- [0225] Hirota et al., US 6,028,076 (2000).
- [0226] Holldack et al., US 2012/0083473 A1 (2012).
- [0227] Isobe et al., US 6,376,501 B1 (2002).
- [0228] Isobe et al., JP 2004137157 (2004).
- [0229] Isobe et al., *J. Med. Chem.* 2006, 49 (6), 2088, "Synthesis and Biological Evaluation of Novel 9-Substituted-8-Hydroxyadenine Derivatives as Potent Interferon Inducers."
- [0230] Isobe et al., US 7,521,454 B2 (2009) [2009a].
- [0231] Isobe et al., US 2009/0105212 A1 (2009) [2009b].
- [0232] Isobe et al., US 2011/0028715 A1 (2011).
- [0233] Isobe et al., US 8,148,371 B2 (2012).
- [0234] Jensen et al., WO 2015/036044 A1 (2015).
- [0235] Jones et al., US 7,691,877 B2 (2010).
- [0236] Jones et al., US 2012/0302598 A1 (2012).
- [0237] Kasibhatla et al., US 7,241,890 B2 (2007).
- [0238] Koga-Yamakawa et al., *Int. J. Cancer* 2013, 132 (3), 580, "Intratracheal and oral administration of SM-276001: A selective TLR7 agonist, leads to antitumor efficacy in primary and metastatic models of cancer."
- [0239] Li et al., US 9,902,730 B2 (2018).
- [0240] Lioux et al., US 9,295,732 B2 (2016).
- [0241] Lund et al., *Proc. Nat' l Acad. Sci (USA)* 2004, 101 (15), 5598, "Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7."
- [0242] Maj et al., US 9,173,935 B2 (2015).
- [0243] McGowan et al., US 2016/0168150 A1 (2016) [2016a].
- [0244] McGowan et al., US 9,499,549 B2 (2016) [2016b].
- [0245] McGowan et al., *J. Med. Chem.* 2017, 60, 6137, "Identification and Optimization of Pyrrolo[3,2-d]pyrimidine Toll-like Receptor 7 (TLR7) Selective Agonists for the Treatment of Hepatitis B."

- [0246] Musmuca et al., J.Chem.Information&Modeling 2009,49(7),1777, "Small-Molecule Interferon Inducers.Toward the Comprehension of the Molecular Determinants through Ligand-Based Approaches."
- [0247] Nakamura et al., Bioorg.Med.Chem.Lett.2013,13,669, "Synthesis and evaluation of 8-oxoadenine derivatives as potent Toll-like receptor agonists with high water solubility."
- [0248] Ogita et al., US 2007/0225303 A1 (2007).
- [0249] Ota et al., WO 2019/124500 A1 (2019).
- [0250] Pilatte et al., WO 2017/216293 A1 (2017).
- [0251] Poudel et al., US 10,472,361 B2 (2019) [2019a].
- [0252] Poudel et al., US 10,494,370 B2 (2019) [2019b].
- [0253] Poudel et al., US 2020/0038403 A1 (2020) [2020a].
- [0254] Poudel et al., US 2020/0039984 A1 (2020) [2020b].
- [0255] Purandare et al., WO 2019/209811 A1 (2019).
- [0256] Pryde, US 7,642,350 B2 (2010).
- [0257] Sato-Kaneko et al., JCI Insight 2017,2,e93397, "Combination Immunotherapy with TLR Agonists and Checkpoint Inhibitors Suppresses Head and Neck Cancer".
- [0258] Smits et al., The Oncologist 2008,13,859, "The Use of TLR7 and TLR8 Ligands for the Enhancement of Cancer Immunotherapy".
- [0259] Vasilakos and Tomai, Expert Rev.Vaccines 2013,12,809, "The Use of Toll-like Receptor 7/8 Agonists as Vaccine Adjuvants".
- [0260] Vernejoul et al., US 10,457,681 B2 (2014).
- [0261] Young et al., US 2019/0055244 A1 (2019).
- [0262] Yu et al., PLoS One 2013,8(3),e56514, "Toll-Like Receptor 7 Agonists: Chemical Feature Based Pharmacophore Identification and Molecular Docking Studies."
- [0263] Zhang et al., Immunity 2016,45,737, "Structural Analysis Reveals that Toll-like Receptor 7 Is a Dual Receptor for Guanosine and Single-Stranded RNA."
- [0264] Zhang et al., WO 2018/095426 A1 (2018) >
- [0265] Zurawski et al., US 2012/0231023 A1 (2012).
- [0266] 前述具体实施方式包括主要或专门涉及本发明的特定部分或方面的段落。应理解,这是为了清楚和方便,特定特征可能在不只是公开它的段落中是相关的,并且本文中的公开内容包括在不同段落中找到的信息的所有适当组合。类似地,尽管本文中的各种附图和描述涉及本发明的具体实施方案,但应理解,在特定附图或实施方案的背景下公开了具体特征的情况下,也可以在另一个附图或实施方案的背景下、与另一个特征组合或总体上在本发明中在适当的程度上使用这样的特征。
- [0267] 此外,虽然已经根据某些优选实施方案具体描述了本发明,但本发明不限于此类

优选实施方案。而是,本发明的范围由所附权利要求限定。