



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101820879 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 02

(21) 申请号 200880110680. 5

(22) 申请日 2008. 10. 08

(30) 优先权数据

60/978, 375 2007. 10. 08 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 04. 08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/079210 2008. 10. 08

(87) PCT申请的公布数据

W02009/048957 EN 2009. 04. 16

(73) 专利权人 疟疾药物投资公司

地址 瑞士日内瓦

(72) 发明人 B·塔恩卓普 Y·育他翁

T·威莱梵 P·基特纳萨布

C·童潘昌 S·甘宗翁拜杉

D·马楚斯 L·维维斯

J·尤瓦尼亚玛 S·扎曼 W·扎曼

S·B·卡蒂亚

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 于巧玲

(51) Int. Cl.

A61K 31/495 (2006. 01)

A61K 31/496 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 4232023 , 1980. 11. 01, 说明书全文 .

US 20040180913 A1, 2004. 09. 16, 说明书全
文 .

US 4033962 , 1977. 07. 05, 说明书全文 .

审查员 涂海华

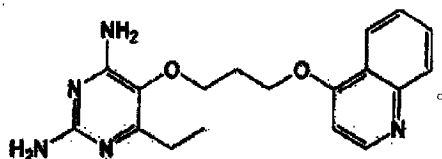
权利要求书 4 页 说明书 30 页 附图 4 页

(54) 发明名称

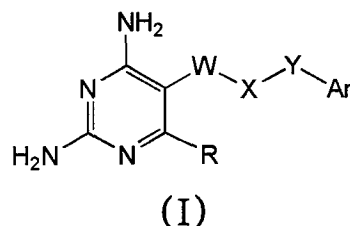
具有柔性侧链的抗疟用化合物

(57) 摘要

本发明涉及可用于治疗疟疾的新的化合物, 所述化合物为恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*) 的野生型和突变型二氢叶酸还原酶 (DHFR) 的抑制剂。还涉及制备和使用这种化合物的方法。本发明的抗疟用化合物对感染疟原虫的宿主具有低毒性, 并且在药物组合物中给药时是有效力的。图



1. 式 I 的化合物：



其中 R 为氢或 C₁₋₄ 烷基；

W-X-Y 为 O(CH₂)₂₋₄O；

Ar 为任选被取代的苯基, 或为任选被取代的喹啉基；

其中 Ar 为任选取代的苯基时, 其任选被至少一个选自以下的基团取代: 羧基、羧基烷基 C(1-3)、烷基 C(1-3) 氧基羰基烷基 C(1-3) 和烷基 C(1-3) 氧基羰基烷基 C(1-3) 氧基；或其药学可接受的盐。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 R 为 C₁₋₄ 烷基。

3. 权利要求 1 的化合物, 其中 R 为乙基。

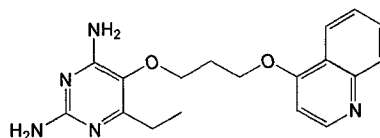
4. 权利要求 1-3 任一项的化合物, 其中 Ar 为被取代的苯基。

5. 权利要求 1-4 任一项的化合物, 其中 Ar 进一步在一个或多个可用位置上被至少一个选自以下的基团取代: 烷基, 被取代的烷基, 环烷基, 被取代的环烷基, 三氟甲基, 芳基, 被取代的芳基, 卤素, 氨基, 被取代的氨基, 烷氧基, 芳基氧基, 羟基和硝基。

6. 权利要求 1-5 任一项的化合物, 其中所述 Ar 为 4- 喹啉基或被取代的 4- 喹啉基。

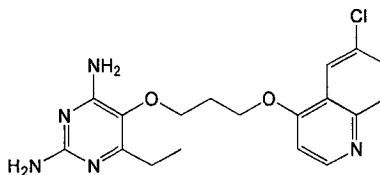
7. 权利要求 1 的化合物, 其中 R 为乙基, W-X-Y 为 O(CH₂)₃O, 和 Ar 为喹啉基或被取代的 4- 喹啉基。

8. 权利要求 1 的化合物, 其中所述化合物选自：



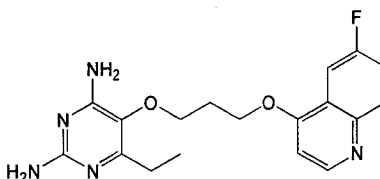
P113

2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶；



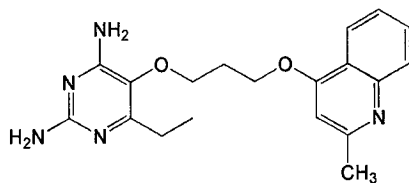
P149

2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(6- 氯 - 喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶；



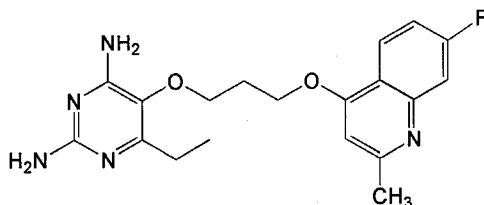
P153

2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-氟-喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶；



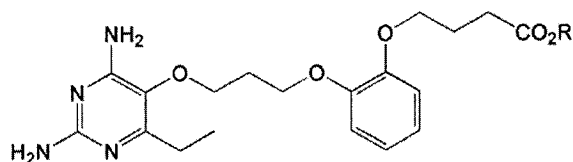
P154

2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶；



P157

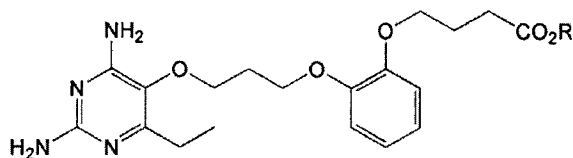
2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶；



R = H

P135

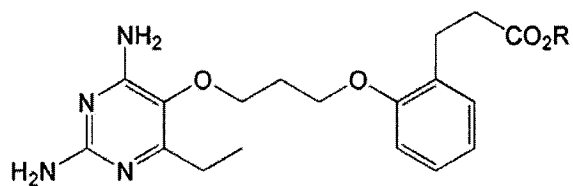
2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶；



R = Et

P217

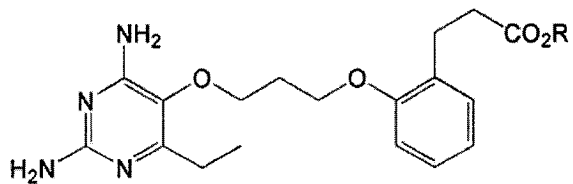
2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶乙基酯；



R = H

P218

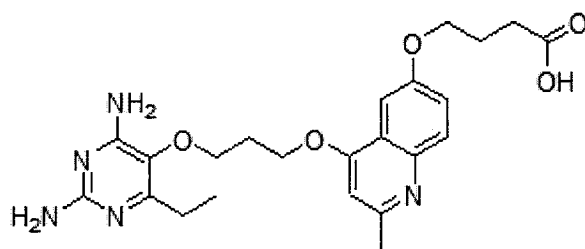
2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶；



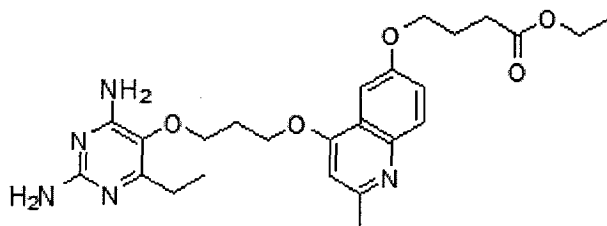
R = Et

P195

2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶乙基酯；

**P169**

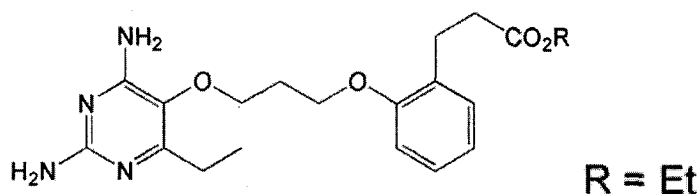
2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-羧基丙氧基)-2-甲基喹啉-4-基氧基)-丙氧基)嘧啶;以及

**P219**

2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-羧基丙氧基)-2-甲基喹啉-4-基氧基)-丙氧基)嘧啶乙基酯,

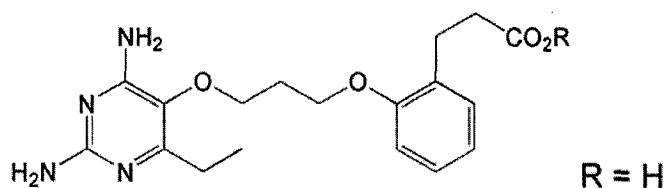
或者其药学上可接受的盐。

9. 权利要求1的化合物,其中所述化合物为P195或其药学可接受的盐,

**P195**

2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶乙基酯。

10. 权利要求1的化合物,其中所述化合物为P218或其药学可接受的盐,

**P218**

2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶。

11. 权利要求10的化合物,其中所述化合物为P218盐:2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶盐酸盐。

12. 权利要求1-11任一项的化合物,用作药物。

13. 药物组合物,包含与至少一种药学可接受的赋形剂混合的权利要求1-11任一项的至少一种化合物。

14. 权利要求 1-11 任一项的化合物在制备用于治疗疟疾的药物中的应用。
15. 权利要求 14 的应用,其中疟疾的耐药株对至少一种抗叶酸剂药物耐药。
16. 权利要求 15 的应用,其中所述疟疾的耐药株对选自环氯胍、氯代环氯胍(chlorcycloguanil)、乙胺嘧啶或其它二氢叶酸还原酶抑制剂的至少一种抗叶酸剂药物耐药。
17. 权利要求 14 的应用,其中所述治疗为经口治疗。

具有柔性侧链的抗疟用化合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2007 年 10 月 8 日提交的美国临时申请 60/978, 375 的权益。

发明领域

[0003] 本发明涉及用于治疗疟疾的抗疟用化合物或抗叶酸剂, 以及制备和使用所述化合物的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 疟疾是蚊传播的疾病, 根据世界卫生组织 (WHO) 的估计, 每年引起超过 270 万例死亡。疟疾是由寄生虫引起的潜在致命的血液病, 所述寄生虫是由疟蚊 (*Anopheles mosquito*) 传播给人和动物宿主的。有四种人寄生虫, 包括恶性疟原虫 (*P. falciparum*)、间日疟原虫 (*P. vivax*)、三日疟原虫 (*P. malariae*)、和卵形疟原虫 (*P. ovale*), 其中恶性疟原虫是引起大部分人致死的主要原因。恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 是危险的, 不仅因为它消化红细胞的血红蛋白, 而且因为它改变它所占据的细胞的附着性质, 引起细胞粘到血管壁上。这在被感染的血细胞粘到血管上阻塞血液流动时是危险的。

[0006] 在人或动物中的疟疾寄生虫的生命周期从被感染的蚊子在进食血液过程中将疟疾孢子注射到新的宿主中时开始。孢子移动到肝脏, 在那里, 它们侵入肝细胞 (肝细胞) 并经历复制循环, 导致在大约二周以后将数千个裂殖子释放到血流中。释放的裂殖子然后侵入红细胞并经历发育的红细胞内周期。在感染红细胞之后的前 48 小时过程中, 寄生虫经历几个发育阶段。第一个阶段是环状体期, 其中寄生虫开始代谢血红蛋白。下一个阶段是营养体阶段, 期间寄生虫代谢大部分的血血红蛋白, 变得更大, 并准备产生更多的寄生虫。最后, 寄生虫无性分裂, 形成多核的裂殖体。在该周期结束时, 红细胞进裂并且释放的裂殖子侵入新的红细胞 (参见 MicroWorlds™ electronic sciencemagazine; Lawrence Berkeley National Laboratory, University of California)。随着寄生虫在红细胞内部成熟, 寄生虫改变它所占据的细胞的附着性质, 这是特别危险的, 因为这些被感染的血细胞粘到脑中的毛细血管上, 阻塞血液流动, 形成被称为脑型疟的病况。另外, 被感染和未被感染的红细胞的连续破裂 (未被感染的红细胞的连续破裂是由于免疫介导的机制引起的) 与从骨髓产生的新红细胞的减少 (异常红系造血) 相结合, 不可避免地导致贫血症。

[0007] 耐药性疟疾已经成为疟疾控制中最重要的问题之一。除了青蒿素及其衍生物之外, 所有的抗疟药物都已经报告了临床的体内耐药性。WHO 推荐的用于耐药性感染的治疗包括与其它种类抗疟药联合使用青蒿素。然而, 这些药物的高成本限制了贫穷国家的易接受性。在世界的某些部分中, 青蒿素药物构成一线治疗, 并且被不加区别地作为单独治疗用于可疑的非重症 (uncomplicated) 疟疾的自我治疗, 这又增加了形成耐药性的危险。耐药性的问题可以主要归因于提高的对恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 的选择压力, 特别是由于用于自我治疗的无差别的和不完善的药物应用。首次在 1961 年在泰国报告的恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 对氯喹的耐药性现在在大多数疟疾地方流行的国家是普遍的。在抗叶酸剂乙胺嘧啶和环氯胍被用作抗疟药之后不久就产生了对它们的耐药性。添加磺胺化合物产

生的药物组合物在许多情况中被证明是对抗耐药性寄生虫有效的,但是,同样对这些组合物产生了耐药性。有几个机制可以解释疟疾寄生虫中药物敏感性的改变,例如,由于非遗传变化引起的生理适应、在药物压力下从混合种群选择出预先存在的耐药性寄生虫、自发突变、核外基因突变、或质粒样因素的存在。

[0008] 药物本身引起的突变选择似乎是一个重要的机制。在其中存在有低于治疗水平的抗疟药物的环境中,通过它们的自然变异或通过突变而具有耐药性的那些寄生虫明显具有重要的生物学优势。这意味着,尽管耐药株最初占少数,但是连续的药物介导的种内竞争对非耐药株的清除允许耐药株获得数量优势,实际上,对诸如氯喹和磺胺多辛-乙胺嘧啶((SP)的常规抗疟药物的耐药性是普遍的。多药耐药性恶性疟原虫(*P. falciparum*)疟疾在东南亚、南美洲和非洲高度流行。作为该疾病负担最高的大洲,非洲还受到因此所致的增加的死亡率的影响(Roll Back Malaria, Facts on ACTs, WHO, January 2006)。大多数研究显示,药物压力选择应对耐药性疟疾的出现负责。在遗传确定的耐药性中,来自耐药性寄生虫种群的配子母细胞得到传播,促进了耐药株的散布。变形体(plasmodium)寄生虫具有极其复杂的基因组,它们可以在不同宿主的微环境之间进行切换的容易性、以及所需要的代谢变化例证了研究抗疟药物对寄生虫代谢的确切作用方式的难度(The Biology of Malaria Parasites: Report of a WHO Scientific Group, WHO Technical Report Series, 1987)。涉及耐药性的抗疟药的实例是抗生素多西环素,某些抗叶酸剂诸如氯胍、乙胺嘧啶和磺胺类,喹啉类诸如氯喹、甲氟喹和奎宁,以及萘醌类诸如阿托伐醌。

[0009] 诸如1,2-二氢三嗪类、2,4-二氨基嘧啶类、和2,4-二氨基喹啉类的某些化合物已经被广泛地作为二氢叶酸还原酶(DHFR)的抑制剂研究,二氢叶酸还原酶是用于维持还原的叶酸储备的关键的酶。在疟原虫中,DHFR作为双官能酶二氢叶酸还原酶-胸苷酸合酶(DHFR-TS)的一部分存在,并且通过将二氢叶酸还原为四氢叶酸起作用,四氢叶酸随后被转化为5,10-亚甲基四氢叶酸。这种辅助因子被胸苷酸合酶(TS)利用,以产生脱氧胸苷酸,脱氧胸苷酸是对于DNA合成和细胞生长来说必不可少的DNA的组分。对DHFR的抑制导致DNA合成的抑制和寄生虫死亡。因此,也被称为抗叶酸剂的这些抑制剂是用于对抗传染物的潜在有用的药物,条件是它们可以选择性地抑制目标寄生虫的DHFR而基本上不影响宿主的细胞。

[0010] DHFR抑制剂通常被称为抗叶酸剂或叶酸拮抗剂,其已经被证明是有效的抗疟药,包括环氯胍(Cyc)、1,2-二氢三嗪和乙胺嘧啶((Pyr)、2,4-二氨基嘧啶、及其在二氢三嗪的1和2位以及在二氨基嘧啶的5和6位上带有不同取代基的衍生物。这些种类中的一些化合物还是良好的细菌DHFR的抑制剂并具有抗菌活性。尽管环氯胍、乙胺嘧啶和其它所述的1,2-二氢三嗪、2,4-二氨基嘧啶和2,4-二氨基喹啉衍生物对抗野生型疟疾寄生虫是有效的,但是它们在口服给药后在体内对于抗叶酸剂耐药性寄生虫不是有效的,所述抗叶酸剂耐药性寄生虫已经表现出在DHFR和二氢蝶酸合成酶(DHPS)中带有突变。耐药性的程度通常随着DHFR突变的数目而增加,促进了对于对抗疟疾寄生虫的非耐药株和耐药株二者都有效的新药物的需求。因为人类宿主也具有DHFR,这些药物必须具有对于寄生虫DHFR高于对于相应的宿主酶的选择性,或者以小得多的程度抑制宿主酶,否则它们可能对宿主产生毒性。药物的其它特征也必须不导致宿主毒性。还优选这些药物不具有显著的抗菌活性,因为它们必须在疟疾地方流行的区域给药,用于治疗疟疾再感染,具有在抗疟治疗过程

中发展出共同存在的细菌耐药株的更大危险。

[0011] 已知具体的 1,2-二氢三嗪衍生物如 WR99210 及其前体药物 PS-15 在体外是疟疾的一些耐药株的有效的抑制剂,尽管它们在动物模型中还表现出毒性(参见 Knight 等人, Ann. Trop. Med. Parasitol. (1982) 76 :1-7) 且它们的生产涉及产生高毒性的副产物 TCDD,所述副产物必须严格地控制到 ppb 水平。已经合成了几个与 PS-15 相关的化合物,并有一些进行了临床试验(Jensen 等人, J. Med. Chem. (2001) 44 :3925-31 ;美国专利 5,322,858(1994) ;和 Shearer 等人, J. Med. Chem. (2005) 48 :2805-2813)。推测 WR99210 结合于 DHFR,但是结合的真实细节是未知的,直到报告了酶-抑制剂复合物的晶体结构,揭示了 WR99210 与恶性疟原虫 DHFR 之间的分子间相互作用(Yuvaniyama 等人, Nat. Struct. Biol. (2003) 10 :357-65)。尽管它们具有针对非耐药株和抗叶酸剂耐药株的有效的体外抗恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 活性,但是由于它们差的口服生物利用度,尚不清楚这种化合物是否会被开发为针对疟疾的有效治疗。

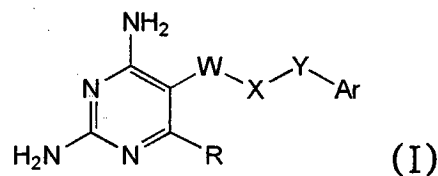
[0012] 由于越来越高的与疟疾有关的死亡率,需要更好的和更有效的疾病控制方法。特别地,需要用于耐药性疟疾的更有效的治疗和预防,即,恶性疟原虫的多重突变型二氢叶酸还原酶的有效抑制剂形式。本发明满足了这些和其它需要。

[0013] 发明概述

[0014] 本发明涉及用于治疗 and 预防疟疾的抗疟用化合物或抗叶酸剂,以及制备和使用所述化合物的方法。抗叶酸剂作为新颖的恶性疟原虫的二氢叶酸还原酶 (DHFR) 抑制剂起作用,用于治疗疟疾,包括非耐药性疟疾和耐药性疟疾。

[0015] 本发明提供以下所示的式 I 的化合物:

[0016]



[0017] 其中 R 为氢或 C₁₋₄ 烷基,

[0018] W 为 O 或 CH₂,

[0019] X 为 (CH₂)₂₋₄ 且任选地被一个或多个羟基基团取代,和

[0020] Y 为 CH₂, O, S, 或 N(Z), 其中 Z 为 H 或任选被取代的酰基,烷基,或芳基,或其衍生物;和

[0021] Ar 为任选被取代的芳基或杂芳基或其衍生物;或其药学可接受的盐。

[0022] 在一个实施方案中, Ar 为任选被取代的芳香环,诸如被取代的苯基或萘基,或任选被取代的杂芳香环,所述杂芳香环任选地选自喹啉基,异喹啉基,喹唑啉基,喹喔啉基,吡啶基,吲哚基,三唑基,苯并噁唑基,苯并咪唑基,二氢吲哚基和苯并三唑基。在 Ar 为芳香环时,其任选被至少一个选自以下的基团取代:酰基,苯并噁唑基,硝基,羧基,羧基烷基 C(1-3),羧基烷基 C(1-3) 氧基,烷基 C(1-3) 氧基羰基烷基 C(1-3),烷基 C(1-3) 氧基羰基烷基 C(1-3) 氧基,四唑基,四唑基烷基 C(1-3) 和四唑基烷基 C(1-3) 氧基。Ar 任选被另外的取代基取代。在另一个实施方案中, Ar 在一个或多个可用位置上被至少一个选自以下的基团取代:烷基,被取代的烷基,环烷基,被取代的环烷基,三氟甲基,芳基,被取代的芳基,卤

素,氨基,被取代的氨基,烷氧基,芳基氧基,羟基和硝基。

[0023] 在一个实施方案中,R 为 C_{1-4} 烷基。在另一个实施方案中,R 为乙基。

[0024] 在一个实施方案中,W-X-Y 为 $O(CH_2)_{2-4}O$ 。在另一个实施方案中,W-X-Y 为 $O(CH_2)_{2-4}S$ 。在又一个实施方案中,W-X-Y 为 $O(CH_2)_{2-4}NZ$ 。在另一个实施方案中,W-X-Y 为 $O(CH_2)_{2-4}$ 或 $(CH_2)_{3-5}O$ 。

[0025] 本发明另外考虑了治疗需要治疗疟疾的受试者的方法,所述方法包括对受试者给予有效量的化合物 I 或其衍生物。在一个实施方案中,所述受试者需要针对疟疾的耐药株或非耐药株的治疗。在另一个实施方案中,疟疾的耐药株(例如,抗叶酸剂耐药株)为对至少一种药物(例如,抗 DHFR 药物)具有耐药性的菌株。这种抗叶酸剂药物包括但不限于环氯胍、环代环氯胍(chlorcycloguanil)、和乙胺嘧啶。在优选实施方案中,疟疾的抗叶酸剂耐药株在其 DHFR 蛋白质序列中具有至少一个突变,包括 16(Ala → Val),51(Asn → Ile),59(Cys → Arg),108(Ser → Asn),108(Ser → Thr),和 164(Ile → Leu)。在另一个优选实施方案中,疟疾的抗叶酸剂耐药株是在其 DHFR 蛋白质序列中具有至少两个突变的疟疾株,包括 16(Ala → Val),51(Asn → Ile),59(Cys → Arg),108(Ser → Asn),108(Ser → Thr),和 164(Ile → Leu)。在另一个优选实施方案中,疟疾的抗叶酸剂耐药株是在其 DHFR 蛋白质序列中具有至少两个突变的疟疾株,包括 16(Ala → Val) 和 108(Ser → Thr)。非重症的疟疾的治疗包括间歇和 / 或预防性治疗,优选通过口服途径。重症或严重的疟疾的治疗优选通过非肠道途径。然而,也考虑了其它给药形式。

[0026] 附图简述

[0027] 通过结合附图可以最好地理解本发明,所述附图用于举例说明优选实施方案。然而,应该理解,本发明不限于图中公开的特定的实施方案。图中所示的化学结构在说明书的实施例 1 中进一步讨论。

[0028] 图 1 举例说明了 P113 的化学结构。

[0029] 图 2 举例说明了 P149 的化学结构。

[0030] 图 3 举例说明了 P153 的化学结构。

[0031] 图 4 举例说明了 P154 的化学结构。

[0032] 图 5 举例说明了 P157 的化学结构。

[0033] 图 6 举例说明了 P135(R = H) 和 P217(R = Et) 的化学结构。

[0034] 图 7 举例说明了 P195(R = Et) 和 P218(R = H) 的化学结构。

[0035] 图 8 举例说明了 P169(R = H) 和 P219(R = Et) 的化学结构。

[0036] 图 9 举例说明了在 IV 给药 P218(游离酸)和口服给药 P195(酯前体药物)后在雄性 Swiss Outbred 小鼠中的 P218 的血浆浓度。

[0037] 发明详述

[0038] i.) 一般概述

[0039] 本发明提供有效对抗疟疾的新的抑制剂,特别是对抗恶性疟原虫(*P. falciparum*)的二氢叶酸还原酶(DHFR)突变所产生的抗叶酸剂耐药性疟疾。已知的恶性疟原虫(*P. falciparum*)抗叶酸剂耐药性株在以下位置上具有突变:108(丝氨酸到天门冬酰胺),51(天门冬酰胺到异亮氨酸),59(半胱氨酸到精氨酸)和 / 或 164(异亮氨酸到亮氨酸)。恶性疟原虫(*P. falciparum*)的另一个抗叶酸剂耐药株在位置 16(丙氨酸到缬氨酸)和 108(丝

氨酸到苏氨酸)处带有突变。有可能它们不仅作用于二氢叶酸还原酶,而且作用于导致有效的寄生虫杀死的疟原虫或宿主响应中的其它靶。本发明的抗疟用化合物对哺乳动物宿主具有相对低的毒性,并且在药物组合物中给药时是有效的。本发明的一个主要优点在于,所述新化合物表现出很少或者没有抗菌活性,并因此极不可能引起细菌的耐药株。

[0040] ii.) 定义

[0041] 术语“抗叶酸剂”、“叶酸拮抗剂”和“DHFR 抑制剂”用于本发明的目的是在本文中可互换使用,所述术语指可用于治疗或预防疟疾的化合物。这些化合物是恶性疟原虫(*P. falciparum*)的突变型和野生型二氢叶酸还原酶(DHFR)的有效抑制剂。

[0042] 术语“恶性疟原虫”和“恶性疟原虫(*P. falciparum*)”在本文中可互换使用,是指被传播到人和动物宿主引起宿主表现出一种或多种疟疾症状的寄生虫。更具体地,恶性疟原虫(*p. falciparum*)是引起疟疾的原生动物。

[0043] 本文中使用的术语“酰基”是指式 $R''-C(=O)-$ 的基团,其中 R'' 为例如 H , C_{1-6} 烷基,芳基, C_{1-6} 烷氧基, OH , NH_2 , NHR' , 或 $N(R')_2$, 其中 R' 为 C_{1-6} 烷基或芳基。

[0044] 如本文中使用的,术语“烷基”、“烯基”和“炔基”包括直链、支链和环状的单价烃基原子团、这些原子团的组合,其在未被取代时仅包含 C 和 H 。实例包括甲基,乙基,异丁基,环己基,环戊基乙基,2-丙烯基,3-丁炔基等。每个这种基团中的碳原子总数有时如本文中所述的,例如在基团可以包含最多十个碳原子时,其可以表示为 1-10C 或表示为 C1-C10 或 C1-10。在允许杂原子(典型地为 N , O 和 S)代替碳原子时,如在杂烷基中,例如,描述基团的数目,尽管仍写作为例如 C1-C6,但是其表示该基团中的碳原子数加上被包括在内的代替所述环中或链中碳原子的这种杂原子的数目的和。

[0045] 典型地,本发明的烷基,烯基和炔基取代基包含 1-10C(烷基)或 2-10C(烯基或炔基)。优选它们包含 1-8C(烷基)或 2-8C(烯基或炔基)。有时包含 1-4C(烷基)或 2-4C(烯基或炔基)。单个基团可以包括一种以上类型的多重键,或一个以上的多重键;在这种基团包含至少一个碳-碳双键时,它们被包括在术语“烯基”的定义内;在包含至少一个碳-碳三键时,它们被包括在术语“炔基”内。

[0046] 烷基、烯基和炔基基团经常被取代,取代程度使得这种取代在化学上有意义。典型的取代基包括但不限于卤素, $=O$, $=N-CN$, $=N-OR$, $=NR$, OR , NR_2 , SR , SO_2R , SO_2NR_2 , $NRSO_2R$, $NRCONR_2$, $NRCOOR$, $NRCOR$, CN , $COOR$, $CONR_2$, $OOOR$, COR , 和 NO_2 , 其中每个 R 独立地为 H , C_{1-8} 烷基, C_{2-8} 杂烷基, C_{1-8} 酰基, C_{2-8} 杂酰基, C_{2-8} 烯基, C_{2-8} 杂烯基, C_{2-8} 炔基, C_{2-8} 杂炔基, C_{6-10} 芳基, 或 C_{5-10} 杂芳基, 且每个 R 为任选被卤素, $=O$, $=N-CN$, $=N-OR'$, $=NR'$, OR' , NR'_2 , SR' , SO_2R' , $SO_2NR'_2$, $NR'SO_2R'$, $NR'CONR'_2$, $NR'COOR'$, $NR'COR'$, CN , $COOR'$, $CONR'_2$, $OOOR'$, COR' , 和 NO_2 取代, 其中每个 R' 独立地为 H , C_{1-8} 烷基, C_{2-8} 杂烷基, C_{1-8} 酰基, C_{2-8} 杂酰基, C_{6-10} 芳基或 C_{5-10} 杂芳基。烷基, 烯基和炔基基团还可以被 C_{1-8} 酰基, C_{2-8} 杂酰基, C_{6-10} 芳基或 C_{5-10} 杂芳基取代, 所述每个取代基可以被适合于特定基团的取代基所取代。

[0047] 尽管如本文中使用的“烷基”包括环烷基和环烷基烷基基团,但是本文中可以使用术语“环烷基”来描述通过环碳原子连接的碳环非芳香族基团,“环烷基烷基”可用来描述通过烷基连接基与分子连接的碳环非芳香族基团。类似地“杂环基”可用来描述包含至少一个杂原子作为环成员并通过环原子(所述环原子可以是 C 或 N)与分子连接的非芳香族环状

基团；“杂环基烷基”可用来描述通过连接基与另一个分子连接的这种基团。适合于环烷基、环烷基烷基、杂环基、和杂环基烷基的大小和取代基与上述适用于烷基基团的那些相同。如本文中使用的，这些术语还包括包含一个或两个双键的环，只要所述环不是芳香族的。

[0048] “芳香族”部分或“芳基”部分是指具有公知的芳香性特征的单环或稠环的双环部分，实例包括苯基和萘基。类似地，“杂芳香族”和“杂芳基”是指包含一个或多个选自 O、S 和 N 的杂原子作为环成员的这种单环或稠合双环系统。包含杂原子允许在 5 元环以及 6 元环中的芳香性。典型的杂芳香族系统包括单环的 C5-C6 芳香族基团，诸如吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、噻吩基、呋喃基、吡咯基、吡唑基、噻唑基、噁唑基、和咪唑基，和为了形成 C8-C10 双环基团通过这些单环基团之一与苯基环或与任何杂芳香族单环基团稠合所形成的稠合双环部分，诸如吲哚基、苯并咪唑基、喹唑基、苯并三唑基、异喹啉基、喹啉基、苯并噻唑基、苯并呋喃基、吡唑并吡啶基、喹唑啉基、喹喔啉基、1,2-二氮杂萘基等。在整个环系统中在电子分布方面具有芳香性特征的任何单环或稠合双环系统都被包括在此定义中。还包括其中至少直接连接于分子的其余部分的环具有芳香性特征的双环基团。典型地，所述环系统包含 5-12 个环成员原子。优选地，单环杂芳基包含 5-6 个环成员，并且双环杂芳基包含 8-10 个环成员。

[0049] 芳基和杂芳基部分可以被多种取代基取代，取代基包括 C1-C8 烷基，C2-C8 烯基，C2-C8 炔基，C5-C12 芳基，C1-C8 酰基、和这些的含杂原子形式，其每个可以自身被进一步取代；芳基和杂芳基部分的其它取代基包括卤素，OR，NR₂，SR，SO₂R，SO₂NR₂，NRSO₂R，NRCONR₂，NRCOOR，NRCOR，CN，COOR，CONR₂，OOCR，COR，和 NO₂，其中每个 R 独立地为 H，C1-C8 烷基，C2-C8 杂烷基，C2-C8 烯基，C2-C8 杂烯基，C2-C8 炔基，C2-C8 杂炔基，C6-C10 芳基，C5-C10 杂芳基，C7-C12 芳基烷基，或 C6-C12 杂芳基烷基，且每个 R 如上对于烷基基团所述那样任选被取代。芳基或杂芳基基团上的取代基当然可以进一步被本文中所述的基团取代，如适合于这种取代基的每个类型或适合于取代基的每个组分那样。因此，例如，芳基烷基取代基可以在芳基部分上被本文中所述的如对于芳基基团典型的取代基取代，并且可以另外在烷基部分上被本文中所述的典型的或适合于烷基基团的取代基取代。

[0050] 如本文中使用的“任选被取代的”表示所述的特定的基团或所描述的基团可以没有非氢取代基，或者所述一个或多个基团可以具有一个或多个非氢取代基。除非另有说明，可以存在的这种取代基的总数等于所述基团的未被取代形式上存在的 H 原子数。在可选的取代基通过双键连接时，诸如羰基氧 (=O)，所述基团占据了两个可用化合价，因此可以包括的取代基的总数对应于可用化合价数目减少。

[0051] 术语“株（系）”是指特定的生物体的特定的遗传变体。在化疗中，根据微生物对特定的药物或治疗的敏感性，可以将它们描述为耐药株或非耐药株。经常，耐药株具有一个或多个遗传突变。非耐药株是通常完全响应于特定的药物或治疗的菌株。这种菌株可以具有或可以没有遗传突变。耐药株是对相同的药物或治疗表现出比非耐药株更少响应的菌株。

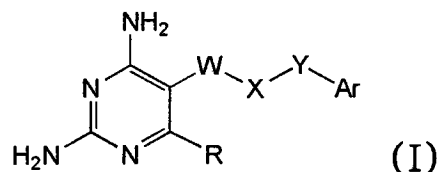
[0052] 术语“非耐药型”和“野生型”在本文中可互换使用，是指通常对特定的药物或治疗完全响应的寄生虫株。

[0053] iii.) 抗疟用化合物

[0054] 在一个方面中，本发明提供有效对抗野生型疟疾和抗药型疟疾的一系列新的抗疟

用化合物,包括由恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 引起的抗叶酸剂耐药性疟疾。这些化合物属于二氢叶酸还原酶抑制剂类。所述新化合物基于以下所示的式 I:

[0055]



[0056] 式 (I) 的化合物中的 R 为 H 或 C₁-C₄ 烷基,并且在一些实施方案中为 C₁₋₄ 烷基。在某些实施方案中, R 为乙基或甲基;有时优选为乙基。

[0057] W 有时为 O 且有时为 CH₂。在一些优选实施方案中, W 为 O。

[0058] Y 通常为 CH₂, O, S 或 NZ。

[0059] X 为二到四个碳的亚烷基链, (CH₂)₂₋₄, 其可以被羟基基团取代。

[0060] Ar 有时优选为杂环基芳香族基团, 诸如喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、或喹喔啉基。在一些优选实施方案中, Ar 为喹啉基, 在特定的实施方案中, Ar 为 4- 喹啉基。

[0061] 在 Ar 为芳香环而不是杂芳香族基团时, 其必须被至少一个基团取代, 而在一些实施方案中, 它被选自以下的至少一个基团取代: 酰基, 苯并噁唑基, 硝基, 羧基, 羧基烷基 C(1-3), 羧基烷基 C(1-3) 氧基, 烷基 C(1-3) 氧基, 羧基烷基 C(1-3) 氧基, 四唑基, 四唑基烷基 C(1-3) 和四唑基烷基 C(1-3) 氧基; 且 Ar 为任选被另外的取代基取代或其药学可接受的盐。在一些实施方案中, Ar 被选自以下的至少一个基团取代: CO₂R', (CH₂)₁₋₃COOR', O(CH₂)₁₋₃COOR', 四唑基, (CH₂)₁₋₃- 四唑基, 和 O(CH₂)₁₋₃- 四唑基, 其中 R' 为 H 或 C₁₋₄ 烷基。在另一个实施方案中, Ar 可以进一步在一个或多个可用位置被可选的取代基取代, 所述取代基选自烷基, 被取代的烷基, 环烷基, 被取代的环烷基, 三氟甲基, 芳基, 被取代的芳基, 卤素, 氨基, 被取代的氨基, 烷氧基, 芳基氧基, 羟基, 硝基等。用于 Ar 的优选的可选取代基包括卤素, CF₃, 甲氧基, 和甲基, 且 Ar 典型地包含 0-2 个、优选 0 或 1 个这种可选取代基。

[0062] 在 Ar 为杂芳香环时, 其可以在一个或多个可用位置被烷基, 被取代的烷基, 环烷基, 被取代的环烷基, 三氟甲基, 芳基, 被取代的芳基, 卤素, 氨基, 被取代的氨基, 烷氧基, 芳基氧基, 羟基, 硝基等取代。在 Ar 为杂芳香环时, 优选的取代基包括卤素, CF₃, 甲氧基, 和甲基, 且在一些实施方案中, Ar 表示的杂芳香族基团是未被取代的。

[0063] 本发明的抗疟用化合物包括它们的互变异构体和药学可接受的盐。本发明还包括包含与至少一种药学可接受的赋形剂混合的至少一种式 (I) 的化合物的药物组合物。在优选实施方案中, 所述赋形剂不是水。在式 (I) 的化合物中存在有手性中心时, 本发明包括该化合物的每种单独的对映异构体或非对映体以及对映异构体或非对映体的混合物, 包括外消旋混合物。

[0064] 本发明还包括在体内容易地转化为式 (I) 的化合物的前体药物。这些前体药物的实例包括被取代的衍生物, 其中胺氮被酰基基团 (典型地为可以被取代的 C1-C6 酰基基团) 取代, 以及其中羧基基团被酯化为 C1-C6 烷氧基羰基基团的化合物。被 N 酰基取代的前体药物经常是优选的, 因为它们容易地被内源性酰胺酶和酯酶脱酰基化, 所述 N 酰基为 C1-C4 酰基基团或者衍生自氨基酸 (诸如甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、谷氨酰胺、缬氨酸、亮氨酸、异

亮氨酸、谷氨酸盐、天冬氨酸等) 或这些氨基酸的二肽或三肽的酰基基团。

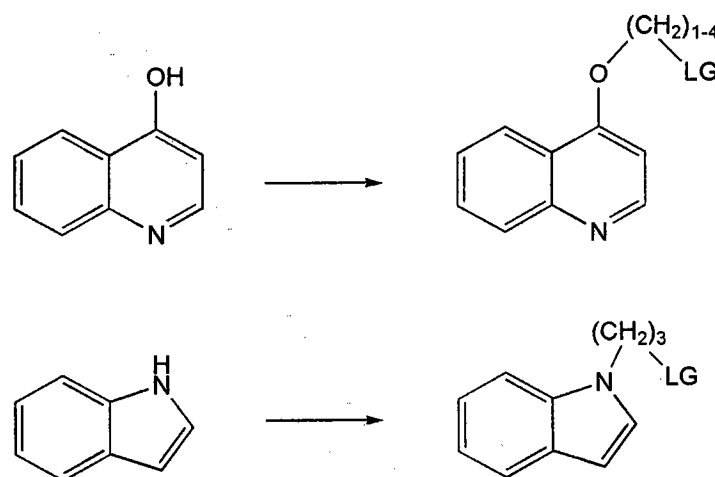
[0065] 另外包括制备上述化合物的合成方法。在某些实施方案中, 制备 5- 烷氧基 -6- 取代的 -2,4- 二氨基嘧啶的合成方法涉及在碱的存在下用卤代烷或烷基甲磺酸酯对 5- 羟基 -6- 取代的 -2,4- 二氨基嘧啶进行 O- 烷基化。

[0066] 在另一个方面, 本发明提供使用所述化合物治疗疟疾的方法, 所述疟疾包括疟疾的非耐药株和耐药株。在优选实施方案中, 所公开的化合物是针对野生型和耐药性恶性疟原虫二氢叶酸还原酶 (pf DHFR) 的有效的抑制剂。另外考虑了所公开的化合物或其药物组合物或盐用于治疗衍生自恶性疟原虫带有的野生型或突变型二氢叶酸还原酶 (pfDHFR) 的耐药性疟疾的用途, 诸如本文中所述的在 DHFR 蛋白质序列中具有至少一个突变的突变株, 或本文中所述的包含至少一个点突变的其它株, 且更优选本文中所述的包含至少两个突变的突变株。

[0067] iv.) 抗疟用化合物的合成

[0068] 其中 Ar 为杂芳香族基团的化合物的柔性侧链部分优选通过 Ar 或 ArOH 与烷化剂的烷基化反应来构建, 如以下方案 1 中举例说明的。

[0069]



方案 1

[0070] 产生可用于合成式 (I) 的化合物的烷基化化合物的适合的烷化剂是公知的。例如, 可以在上述举例说明的反应中使用 1,3- 二溴丙烷或 1- 溴 -3- 氯丙烷来生产式 $Ar-(CH_2)_3-Br$ 或 $Ar-O-(CH_2)_3-Br$ 的化合物。这些中间体可容易地用于将 2,4- 二氨基嘧啶上的 5- 羟基基团烷基化, 以得到式 (I) 的化合物。适合的离去基团 (LG) 包括但不限于化学试剂诸如氯化物、溴化物、碘化物、甲磺酸酯、苯磺酸酯、甲苯磺酸酯和三氟甲磺酸酯。这类反应的变化对于本领域技术人员来说是显而易见的。适合的亲核试剂包括但不限于酚类、其它芳基和杂芳基醇、芳基和杂芳基硫醇、苯硫酚、芳基和杂芳基胺、和容易地在环原子上进行烷基化的杂芳香族化合物诸如吡啶、三唑、咪唑、和它们的被取代的衍生物和共轭碱。

[0071] 在更难以实现选择性的单烷基化时, 还有可能从 ω - 卤化的醇诸如 2- 溴乙醇、3- 溴丙醇或 3- 氯丙醇开始, 来代替双亲电子试剂。在那种情况下, 中间体醇中的 OH 基团应该被转化为更具反应性的离去基团, 条件是其与分子的其它部分的结构相容。例如, 溴化可以通过 PBr_3 , aq HBr, Ph_3PBr_2 , CBr_4/Ph_3P , NBS/ Ph_3P 来进行, 而甲磺酸酯化可以通过 $MsCl/Et_3N$ 来进行。作为选择, 卤代醇和亲核试剂 ($ArYH$) 之间的 Mitsunobu 反应 ($DEAD/Ph_3P$ 或

DIAD/Ph₃P) 允许直接合成所需的具有与 Ar 连接的反应性侧链的中间体。

[0072] 在合成了包含反应性侧链的 Ar 之后, 进一步在碱的存在下用 5- 羟基 -6- 取代的 -2, 4- 二氨基嘧啶使 Ar-(CH₂)₁₋₄-LG 物质烷基化, 得到本发明的化合物。5- 羟基 -6- 取代的 -2, 4- 二氨基嘧啶容易地得自商业来源。所述碱可以选自 LiH, LiOH, KOH, NaH 和 K₂CO₃, 其中最优选的碱为 LiOH。所述碱可以以相对于羟基嘧啶为 1-10 当量添加。反应优选在惰性溶剂中进行, 其中优选的溶剂是 N, N- 二甲基甲酰胺。反应可以在约 25-80℃ 进行, 优选在 25-30℃ 进行。关于反应的更详细说明, 参见被全文并入本文作为参考的以下专利和出版物 (即, 美国专利 4, 179, 562 和 4, 374, 136 ;GB 2086386)。制备这种一般结构的化合物的其它方法是本领域中公知的, 并且容易地由熟练的专业人员改造适用于这些化合物的制备。

[0073] 最终产物可以通过常规方法分离和纯化, 诸如蒸发、提取、结晶化和 / 或柱色谱法。可以通过将式 (I) 的化合物与适当的与期望的盐相对应的酸混合容易地制备的盐酸盐和其它药学可接受的盐, 如本领域中公知的。通常是将酸添加到式 (I) 的化合物在包含水、甲醇和 / 或乙醇的溶剂中的溶液或悬浮液中, 随后进行蒸发以除去任何不希望的溶剂。二氨基嘧啶经常被转化为二盐, 诸如二盐酸盐。

[0074] v.) 抗疟用化合物的药物组合物和制剂

[0075] 抗疟用化合物或抗叶酸剂可以配制为在本发明方法中使用的药物。可以刺激与抗疟化合物对耐药性和非耐药性疟疾中的恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 野生型和突变型 (例如, 单突变型、多重突变型) 二氢叶酸还原酶 (DHFR) 的结合有关的生物响应的组合物或化合物可以在本发明中用作药物。关于制剂和给药技术的这种一般详述的实例在科学文献中有充分描述 (参见 Remington' s Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co., Easton Pa.)。抗叶酸剂药物制剂可以根据本领域中已知用于生产药物的任何方法来制备。用于本发明方法的抗叶酸剂可以配制为用于以任何通常可接受的方式给药, 包括通过口服给药和通过非肠道途径。对于非重症的疟疾的治疗优选口服给药, 对于重症的 (严重的) 疟疾的治疗优选非肠道给药。说明的例子如下所述。

[0076] 表 1 : 三嗪类相对于嘧啶类的抗疟活性和口服生物利用度。

[0077]

	针对恶性疟原虫 (<i>P. falciparum</i>) 的体外 IC ₅₀ (μM)		ED ₅₀ <i>P. chabaudi</i> AS (mg/kg)		在大鼠中的口服 BA (%)
	野生型	耐药突变型	s. c.	口服	
WR99210	0. 0006	0. 018	1. 1	74. 2	<1
环氯胍	0. 037	>100	3. 7	6. 2	59. 3
乙胺嘧啶	0. 079	>100	0. 25	0. 88	~ 100

[0078] 上述表 1 示出了常规的二氢三嗪类相对于常规的嘧啶类的抗疟活性和口服生物利用度。尽管 WR99210 在对感染 *P. chabaudi* AS 的小鼠皮下给药后在体外和体内对于非耐药性和乙胺嘧啶耐药性恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 寄生虫株是有活性的, 但是如果将该

化合物通过口服途径给药,则其效力显著降低(即,高的ED90数值)。这种降低被发现是由于与环氯胍和乙胺嘧啶相比WR99210具有差的口服生物利用度。

[0079] 表2:与甲氧苄啶和乙胺嘧啶相比较的新的2,4-二氨基嘧啶衍生物化合物的抗菌活性

化合物	最小抑菌浓度 ((μ M))	
	金黄色葡萄球菌 (S. aureus)	大肠杆菌 (E. coli)
甲氧苄啶	1 < MIC < 10	1 < MIC < 10
乙胺嘧啶	> 50	> 50
P135	> 50	> 50
P149	1 < MIC < 10	10 < MIC < 50
P153	10 < MIC < 50	10 < MIC < 50
P154	> 50	10 < MIC < 50
P157	> 25	> 25
P171	> 50	> 50

[0081] 比较起来,上述表2示出了本发明的新的2,4-二氨基嘧啶衍生物化合物的抗菌活性。这些所选择的化合物对于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌是无活性的,需要非常高的微摩尔浓度来完全抑制琼脂板上的细菌生长,而其它2,4-二氨基嘧啶衍生物诸如甲氧苄啶是临床上有效的抗生素类。

[0082] 用于口服给药的药物制剂和制备物可以以适合于口服给药的剂量使用本领域中公知的药学可接受的载体来制备。这种载体使得药物制剂可被配制为适合于由患者摄取的单位剂型,如片剂、丸剂、粉剂、胶囊、液体、锭剂、凝胶剂、糖浆、浆液、悬浮液等。用于口服应用的药物制备物可以如下生产:将抗叶酸剂化合物与固体赋形剂合并,任选地研磨得到的混合物,并在需要的情况下加入其它适合的另外的化合物,之后加工颗粒混合物,用于获得片剂或丸剂。适合的固体赋形剂是碳水化合物或蛋白质填料,包括但不限于糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇、或山梨醇,得自玉米、小麦、稻、马铃薯、或其它植物的淀粉,诸如甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、或羧甲基纤维素钠的纤维素,和包括阿拉伯胶和黄蓍胶的树胶,以及诸如明胶和胶原蛋白的蛋白质。如果需要,可以添加崩解剂或增溶剂,诸如交联的聚乙烯基吡咯烷酮、琼脂、海藻酸、或其盐,诸如海藻酸钠。

[0083] 也可以经口使用的本发明的药物制剂是例如由明胶制成的推入配合式胶囊,以及由明胶和诸如甘油或山梨醇的涂覆层制成的软的密封胶囊。推入配合式胶囊可以包含与填料或粘合剂、润滑剂、和任选的稳定剂混合的抗叶酸剂,所述粘合剂诸如乳糖或淀粉,所述润滑剂诸如滑石或硬脂酸镁。在软胶囊中,可以在有或没有稳定剂的情况下将抗叶酸剂化合物溶解或悬浮在适合的液体中,例如脂肪油、液状石蜡、或液体聚乙二醇。

[0084] 本发明的含水悬浮液包含与适合于生产含水悬浮液的赋形剂相混合的抗叶酸剂。这种赋形剂包括助悬剂,例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯基吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯胶;和分散剂或润湿剂,诸如天然存在的磷脂(例如,卵磷脂)、氧化烯与脂肪酸的缩合产物(例如,聚氧乙烯硬脂酸酯)、氧化乙烯与长链脂族醇的缩合产物(例如,十七氧化乙烯十六烷醇)、氧化乙烯与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯单油酸山梨醇酯)、或氧化乙烯与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏

酯的缩合产物(例如,聚氧乙烯单油酸山梨醇酐酯)。含水悬浮液还可以包含一种或多种防腐剂(诸如对羟基苯甲酸乙酯或正丙酯)、一种或多种着色剂、一种或多种调味剂和一种或多种甜味剂(诸如,蔗糖、阿司帕坦或糖精)。可以调节制剂的渗透性。

[0085] 可以通过将抗叶酸剂悬浮在植物油(例如,花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油(例如,液状石蜡)中来配制油悬浮液。所述油悬浮液可以包含增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以添加甜味剂以提供适口的口服制备物。这些制剂可以通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸来保存。

[0086] 适合于通过加入水来制备含水悬浮液的本发明的可分散性粉末和颗粒可以从与分散剂、助悬剂和/或润湿剂、和一种或多种防腐剂相混合的抗叶酸剂来配制。适合的分散剂或润湿剂和助悬剂由本文中公开的那些来举例说明。还可以存在有另外的赋形剂,例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0087] 本发明的药物制剂还可以为水包油型乳剂的形式。油相可以是植物油(诸如,橄榄油或花生油)、矿物油(诸如,液状石蜡)、或这些油的混合物。适合的乳化剂包括天然存在的树胶,例如阿拉伯胶和黄蓍胶;天然存在的磷脂,例如大豆卵磷脂,衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯,诸如单油酸山梨醇酐酯;以及这些偏酯与氧化乙烯的缩合产物,诸如聚氧乙烯单油酸山梨醇酐酯。乳液还可以包含甜味剂和调味剂。糖浆和酏剂还可以使用甜味剂来配制,例如甘油、山梨醇或蔗糖。这种制剂还可以包含缓和剂、防腐剂、调味剂或着色剂。

[0088] 在药物通过注射经静脉内或其它非肠道途径递送时,本发明的抗叶酸剂药物制剂可为灭菌的可注射制备物的形式,诸如灭菌的可注射水溶液。所述灭菌的可注射制备物还可以是在无毒的非肠道可接受的稀释剂或溶剂中的灭菌的可注射溶液。另外,通常可以将无菌的不挥发油类用作溶剂或悬浮介质。为此,可以使用任何温和的不挥发油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。另外,同样可以将诸如油酸的脂肪酸用于可注射制备物中。

[0089] vi.) 实施例

[0090] 提供以下实施例用于说明本发明而非用于限制它的范围。本发明的其它变体对于本领域技术人员来说是显而易见的,并且被包括在权利要求范围内。本文中引用的所有出版物、专利、和专利申请都被全文并入本文作为参考。

[0091] 实施例 1: 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶(P113)(参见图 1)。

[0092] 以下提供用于制备 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶二盐酸盐的代表性方法:

[0093] a) 3-(喹啉-4-基氧基)丙烷-1-醇:

[0094] 将喹啉-4-醇(1.35g, 9.30mmol), 无水碳酸钾(3.73g, 26mmol)和碘化钾((4.23g)在无水 DMF(8mL)中的悬浮液在 25℃ 搅拌 30 分钟。添加 3-氯丙醇(2.93g, 31mmol)并搅拌反应直到起始原料耗尽。反应应用二氯甲烷稀释并用水提取。在蒸发二氯甲烷层之后得到产物,为浅黄色固体(0.5298g, 28%),其不经进一步纯化用于下一步。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 2.09(2H, m), 3.93(2H, t, J = 5.6Hz), 4.10(2H, t, J = 5.6Hz), 4.51(1H, s), 6.25(1H, d, J = 5.5Hz), 7.32(1H, t, J = 7.4Hz), 7.56(1H, t, J = 8.2Hz), 7.90(1H, d, J = 8.4Hz), 7.93(1H, d, J = 8.4Hz), 8.36(1H, d, J = 5.3Hz)。

[0095] b) 3-(喹啉 -4- 基氧基) 丙基甲磺酸酯 :

[0096] 将在步骤 a) 中得到的 3-(喹啉 -4- 基氧基) 丙烷 -1- 醇 (0.5298g, 2.6mmol) 的溶液用含三乙胺 (0.60mL) 和甲烷磺酰氯 (0.55g, 4.8mmol) 的二氯甲烷 (5mL) 处理。在起始原料耗尽之后, 反应用二氯甲烷稀释, 用水、NaHCO₃ 水溶液洗涤并蒸发。残余物通过 SiO₂ 上的柱色谱法纯化并用乙酸乙酯洗脱。得到产物, 为浅黄色固体 (0.3868g, 53%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : 2.43 (2H, m), 3.00 (3H, s), 4.38 (2H, t, J = 5.8Hz), 4.55 (2H, t, J = 5.8Hz), 6.80 (1H, d, J = 5.5Hz), 7.55 (1H, t, J = 8.0Hz), 7.75 (1H, ddd, J = 1.2, 7.0, 8.2Hz), 8.20 (1H, d, J = 8.4Hz), 8.13 (1H, d, J = 8.4Hz), 8.77 (1H, d, J = 5.3Hz)。

[0097] c) 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶 :

[0098] 将 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5- 羟基嘧啶 (0.3963g, 2.6mmol) 添加到搅拌的氢氧化锂一水合物 (497.2mg, 11.8mmol) 的 DMF (2mL) 溶液中并将反应混合物搅拌 1 小时。缓慢加入 3-(喹啉 -4- 基氧基)- 丙基甲磺酸酯 (0.3868g, 1.37mmol) 的 DMF (1mL) 溶液并且反应混合物于 25℃ 搅拌过夜。反应用二氯甲烷稀释并用水提取。蒸发二氯甲烷层, 随后使残余物从甲醇水溶液结晶。得到产物, 为浅黄色固体 (0.4677g, 53%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 0.87 (3H, t, J = 7.0Hz), 2.24 (2H, q, J = 7.0Hz), 2.30 (2H, m), 3.85 (2H, t, J = 5.5Hz), 4.43 (2H, t, J = 5.5Hz), 5.53 (2H, s), 6.11 (2H, s), 7.06 (1H, d, J = 5.2Hz), 7.54 (1H, t, J = 8.0Hz), 7.72 (1H, ddd, J = 1.4, 6.9, 8.3Hz), 7.93 (1H, d, J = 8.3Hz), 8.15 (1H, d, J = 8.5Hz), 8.72 (1H, d, J = 5.2Hz)。

[0099] d) 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶二盐酸盐 :

[0100] 将 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶 (0.1740g, 0.51mmol) 悬浮在甲醇 (1mL) 中并加入 2 当量的浓盐酸。在蒸发并将残余物与乙腈一起研磨之后得到标题化合物, 为灰白色结晶固体 (0.2004g, 95%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 1.04 (3H, t, J = 7.6Hz), 2.42 (2H, m), 2.45 (2H, t, J = 7.0Hz), 3.97 (2H, t, J = 5.9Hz), 4.72 (2H, t, J = 5.9Hz), 7.56 (2H, bs), 7.61 (1H, d, J = 6.7Hz), 7.87 (1H, t, J = 7.8Hz), 7.97 (1H, s), 8.11 (1H, ddd, J = 1.0, 7.3, 8.2Hz), 8.35-8.40 (3H, m), 9.18 (1H, d, J = 6.6Hz), 12.86 (1H, s)。

[0101] 包括游离碱和盐酸盐在内的显示出体外和体内抗菌活性的其它化合物如下所示, 并通过本文中对于 P113 的实施例 1 所述类似的方法来制备。这种化合物从适当的 4- 喹啉醇起始原料 (是本领域中已知的) 开始, 并通过本领域技术人员显而易见的对这些方法的改造而转化为式 (I) 的化合物。示例性化合物如下所示。

[0102] 实施例 2: 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(6- 氯 - 喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶 (P149) (参见图 2)。

[0103] a) 6- 氯喹啉 -4- 醇 :

[0104] 在氮气下将 2,2- 二甲基 -1,3- 二氧杂环己烷 -4,6- 二酮 (梅尔德拉姆酸, 21.62g, 0.15mol) 和原甲酸三甲酯 (150mL) 的混合物加热到温和回流 1 小时。将得到的红色溶液冷却 (80℃) 并分批添加 4- 氯苯胺 (19.14g, 0.15mol), 形成黄色固体。将反应混合物加热到回流, 剧烈搅拌另外的 1 小时, 然后冷却到 25℃ (参见 Ryan 等人, (2006) Org. Lett. 8 : 2779-2782. ; Madrid 等人, (2005) Bioorg. Med. Chem. Lett. 15 : 1015-1018)。将得到的固体过滤并用冷的丙酮洗涤, 得到烯 - 胺化合物 (29.58g, 70%, 熔点 214-214.5℃ (dec.)), 为黄

色固体,通过¹H NMR对其进行表征。向240℃二苯醚溶液(20ml)分多个小部分添加烯-胺化合物(5g,17.75mmol),产生剧烈的气体放出,使反应在氮气下达到回流30分钟。将反应混合物冷却到80℃并通过过滤分离沉淀物,用丙酮和己烷洗涤,直到滤液是无色的。通过用乙醚浸提纯化所述棕色固体,随后减压蒸馏,以55%收率得到6-氯喹啉-4-醇,为浅黄色固体(1.7533g,熔点281-282.5℃(参见Riegel等人,(1946)J. Am. Chem. Soc. 68:1264-1266,熔点274-275℃)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 6.07(1H, d, J = 7.4Hz), 7.59(1H, d, J = 8.8Hz), 7.68(1H, dd, J = 8.8, 2.5Hz), 7.95(1H, d, J = 7.4Hz), 8.01(1H, d, J = 2.4Hz), 11.92(1H, bs)。

[0105] b) 3-(6-氯喹啉-4-基氧基)丙基溴:

[0106] 在25℃在氮气下在20分钟内向6-氯喹啉-4-醇(2.16g,12mmol),三苯膦(3.78g,14.4mmol,1.2eq.),和3-溴-1-丙醇(1.30mL,14.4mmol,1.2eq.)在无水四氢呋喃(40mL)中的悬浮溶液添加偶氮二羧酸二乙酯(2.51g,14.4mmol,1.2eq.)并将反应混合物放置搅拌另外的1小时。加入氢溴酸(1.36mL,12mmol,48%水溶液,1.0eq.)产生白色固体,为相应的氢溴酸盐。将白色盐过滤并用乙醚浸提三次。将白色盐用碳酸钾水溶液中和,随后用二氯甲烷提取。蒸发二氯甲烷层得到粗产物,使其经过柱色谱法纯化(硅胶,含2%甲醇的CH₂Cl₂作为洗脱剂),得到溴化合物,为白色固体(2.52g,70%,熔点102-103.5℃(dec.))。¹H NMR(500MHz, CDCl₃): 2.50(2H, m), 3.70(2H, t, J = 6.3Hz), 4.36(2H, t, J = 5.8Hz), 6.79(1H, d, J = 5.3Hz), 7.64(1H, dd, J = 9.0, 2.4Hz), 7.99(1H, d, J = 9.0Hz), 8.14(1H, d, J = 2.4Hz), 8.75(1H, d, J = 5.2Hz)。

[0107] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-氯喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶:

[0108] 将2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶(1.39g,9mmol)添加到搅拌的氢氧化锂一水合物(1.32g,31.50mmol)在DMF(5mL)中的溶液中并将反应混合物在25℃搅拌1小时。添加3-(6-氯喹啉-4-基氧基)丙基溴(2.71g,9mmol)的DMF(3mL)溶液并将反应混合物在25℃放置搅拌过夜。在减压下部分除去DMF,得到残余物。将残余物用二氯甲烷浸提并过滤,得到白色固体。用甲醇水溶液和热水进行重结晶,得到期望的二氨基嘧啶,为白色固体(1.85g,55%,熔点230-231℃(dec.))。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆): 0.91(3H, t, J = 7.6Hz), 2.26(2H, q, J = 7.6Hz), 2.31(2H, m), 3.86(2H, t, J = 6Hz), 4.45(2H, t, J = 5.9Hz), 5.59(2H, s), 6.17, (2H, s), 7.15(1H, d, J = 5.3Hz), 7.76(1H, dd, J = 9.0, 2.4Hz), 7.98(1H, d, J = 9.0Hz), 8.14(1H, d, J = 2.4Hz), 8.77(1H, d, J = 5.2Hz)。

[0109] d) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-氯喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶二盐酸盐:

[0110] 向2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-氯喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶(0.5608g,1.5mmol)在甲醇(1mL)中的悬浮液添加2当量的浓盐酸。在将反应混合物与乙醚研磨之后得到标题化合物,为灰白色结晶固体(0.6366g,95%)。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆): 1.09(3H, t, J = 7.7Hz), 2.43(2H, m), 2.48(2H, m), 3.99(2H, t, J = 6.2Hz), 4.70(2H, t, J = 5.9Hz), 7.55(2H, bs), 7.64(1H, d, J = 6.6Hz), 7.95(1H, s), 8.15(1H, dd, J = 9.1, 2.4Hz), 8.37(2H, m), 8.41(1H, d, J = 9.1Hz), 9.22(1H, d, J = 6.5Hz), 12.80(1H, s)。

[0111] 实施例3: 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-氟-喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶(P153)(参见图3)。

[0112] a) 3-(6-氟喹啉-4-基氧基)丙基溴氢溴酸盐:

[0113] 在氮气下在 25℃ 在 30 分钟内向 6- 氟喹啉 -4- 醇 (3.67g, 22.5mmol) (根据文献方法 (参见 Price 等人, Organic Syntheses, Coll. Vol. 3, p. 272; Vol. 28, p. 38) 从 4- 氟苯胺和乙氧基亚甲基丙二酸二乙酯开始以 32% 的总收率合成), 三苯膦 (6.56g, 25mmol), 和 3- 溴 -1- 丙醇 (2.3mL, 25mmol) 在无水四氢呋喃 (30mL) 中的悬浮溶液添加偶氮二甲酸二异丙酯 (4.9mL, 25mmol) 并将反应混合物搅拌 1 小时。添加氢溴酸 (2.8mL, 48% 水溶液, 25mmol), 产生标题化合物的沉淀。通过抽吸过滤收集产物并用 THF、丙酮和乙醚洗涤, 得到浅黄色结晶固体 (4.17g, 51%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 2.45 (2H, m), 3.82 (2H, t, J = 6.5Hz), 4.61 (2H, t, J = 5.7Hz), 7.64 (1H, d, J = 6.6Hz), 8.40 (1H, dt, J = 8.5, 2.7Hz), 7.90 (m, 1H), 8.27 (1H, dd, J = 9.4, 4.8Hz), 9.24 (1H, d, J = 6.6Hz)。

[0114] b) 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(6- 氟喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶:

[0115] 将 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5- 羟基嘧啶 (3.00g, 19.5mmol) 添加到搅拌的氢氧化锂一水合物 (1.74g, 41.50mmol) 的 DMF (5mL) 溶液中并将反应混合物在 25℃ 搅拌 1 小时。添加 3-(6- 氟喹啉 -4- 基氧基) 丙基溴 [通过用过量的饱和 NaHCO₃ 水溶液处理 3-(6- 氟喹啉 -4- 基氧基) 丙基溴氢溴酸盐 (4.17g, 11.4mmol, 步骤 b), 随后用二氯甲烷提取并蒸发以定量收率制备得到] 的 DMF (5mL) 溶液并将反应混合物在 25℃ 搅拌过夜。添加水引起产物沉淀, 将其过滤收集。从 MeOH-H₂O 重结晶, 得到游离碱, 为浅黄色结晶固体 (3.23g, 79%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 0.88 (3H, t, J = 7.6Hz), 2.25 (2H, q, J = 7.6Hz), 2.29 (2H, m), 3.84 (2H, t, J = 5.8Hz), 4.43 (2H, t, J = 5.7Hz), 5.54 (2H, s), 6.11 (2H, s), 7.10 (1H, d, J = 5.2Hz), 7.63 (1H, d, t, J = 8.7, 2.6Hz), 7.78 (1H, dd, J = 9.6, 2.7Hz), 8.01 (1H, dd, J = 9.2, 5.4Hz), 8.71 (1H, d, J = 5.2Hz)。

[0116] c) 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(6- 氟喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶二盐酸盐:

[0117] 向 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(6- 氟喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶 (10.02g, 28mmol) 在甲醇 (40mL) 中的悬浮液添加 5.3mL 的浓盐酸。标题化合物几乎立即沉淀出来, 在抽吸过滤并用丙酮洗涤和空气干燥之后得到白色结晶固体 (11.81g, 98%, 熔点 212-214℃)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 1.05 (3H, t, J = 7.4Hz), 2.40 (2H, m), 2.48 (2H, m), 3.98 (2H, t, J = 5.8Hz), 4.68 (2H, t, J = 5.5Hz), 7.50 (bs, 2H), 7.60 (1H, d, J = 6.5Hz), 7.90 (1H, s), 8.04 (1H, dt, J = 9.0, 2.6Hz), 8.10 (1H, dd, J = 8.9, 2.3Hz), 8.33 (1H, s), 8.43 (1H, dd, J = 9.3, 4.8Hz), 9.17 (1H, d, J = 6.4Hz), 12.70 (1H, s)。

[0118] 实施例 4: 2,4- 二氨基 -6- 乙基 -5-(3-(2- 甲基喹啉 -4- 基氧基) 丙氧基) 嘧啶 (P154) (参见图 4)。

[0119] a) 3-(2- 甲基喹啉 -4- 基氧基) 丙基溴:

[0120] 使 2- 甲基喹啉 -4- 醇 (1.59g, 10mmol) (根据本领域中已知的方法从苯胺和乙酰乙酸酯合成, 参见 Leonard 等人, (1946) J. Am. Chem. Soc. 68:1279-1281), 1,3- 二溴丙烷 (8.08g, 40mmol) 和碳酸钾 (1.659g, 12mmol) 在丙酮 (50mL) 中的混合物回流, 直到起始原料消失。将反应混合物过滤并在蒸发溶剂之后将残余物通过硅胶上的柱色谱法纯化 (1% MeOH:99% CH₂Cl₂ 作为洗脱剂)。得到产物, 为浅黄色固体 (1.793g, 64%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): 2.48 (2H, m), 2.69 (3H, s), 3.69 (2H, t, J = 6.3Hz), 4.33 (2H, t, J = 5.8Hz), 6.6 (1H, s), 7.43 (1H, t, J = 7.5Hz), 7.66 (1H, t, J = 7.8Hz), 7.95 (1H, d, J = 8.5Hz), 8.12 (1H, d, J = 8.3Hz)。

[0121] b) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶:

[0122] 将 2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶 (0.539g, 3.5mmol) 和氢氧化锂一水合物 (0.294g, 7.0mmol) 在 DMF (10mL) 中的混合物在 25℃ 搅拌 1 小时, 之后向反应混合物添加 3-(2-甲基喹啉-4-基氧基)丙基溴 (0.980g, 3.5mmol) 并将反应混合物在 25℃ 搅拌过夜。真空蒸发三分之二的 DMF 并将反应混合物倾倒入水中, 通过过滤分离固体并在烘箱中在 80℃ 干燥。粗产物通过硅胶上的柱色谱法纯化 (4% MeOH:96% CH₂Cl₂ 作为洗脱剂), 得到标题化合物, 为浅黄色固体 (0.5814g, 47%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 0.90 (3H, t, J = 7.6Hz), 2.30 (4H, m), 2.60 (3H, s), 3.86 (2H, t, J = 5.9Hz), 4.41 (2H, t, J = 5.9Hz), 5.59 (2H, s), 6.16 (2H, s), 6.97 (1H, s), 7.46 (1H, t, J = 7.7Hz), 7.67 (1H, t, J = 7.7Hz), 7.84 (1H, d, J = 8.4Hz), 8.09 (1H, d, J = 8.2Hz)。

[0123] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶一盐酸盐:

[0124] 在 25℃ 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶 (0.353g, 1mmol) 在甲醇 (10mL) 中的搅拌的悬浮液添加一当量的盐酸。在蒸发溶剂并与乙醚研磨之后, 得到产物, 为浅黄色固体 (0.3587g, 92%)。熔点: 194-196℃ (dec.)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 0.99 (3H, t, J = 7.5Hz), 2.36 (2H, m), 2.44 (2H, q, J = 7.5Hz), 2.65 (3H, s), 3.97 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.45 (2H, t, J = 5.6Hz), 7.09 (1H, s), 7.40 (2H, bs), 7.54 (2H, t, J = 7.5Hz), 7.75 (1H, t, J = 7.8Hz), 7.93 (2H, m), 8.14 (2H, m), 12.55 (1H, bs)。

[0125] 实施例 5: 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶 (P157) (参见图 5)。

[0126] a) 7-氟-2-甲基喹啉-4-醇:

[0127] 在 25℃ 向 3-氟苯胺 (4.44g, 40mmol) 和乙酰乙酸酯 (5.20g, 40mmol) 的搅拌的溶液加入催化量 (2 滴) 的稀盐酸, 在 10 分钟内开始有水分离出来, 并有少量的热生成。使反应混合物在 25℃ 静置过夜; 反应混合物用二氯甲烷 (150mL) 稀释连续地用 0.5N HCl (2x50mL), 0.5N NaOH (2x50mL) 和水洗涤, 用无水硫酸钠干燥。将二氯甲烷蒸发掉, 并在 5 分钟内将油状残余物添加到回流的二苯醚 (40mL) 中, 继续回流 1 小时, 然后将反应混合物在 25℃ 冷却, 并通过过滤分离固体, 用乙醚洗涤以除去一些带颜色的杂质。得到的产物为黄色固体 (2.3388g, 33%, 基于 3-氟苯胺), 为 5 和 7-氟-2-甲基喹啉-4-醇的异构体混合物, 其不经进一步纯化用于下一步。

[0128] b) 3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙基溴:

[0129] 将 5-和 7-氟-2-甲基喹啉-4-醇 (2.12g, 12mmol), 1,3-二溴丙烷 (9.70g, 48mmol) 和无水碳酸钾 (1.99g, 14.4mmol) 在丙酮 (60mL) 中的混合物回流, 直到起始原料消失。将反应混合物过滤并在蒸发溶剂之后将残余物通过硅胶上的柱色谱法纯化 (1% MeOH:99% CH₂Cl₂ 作为洗脱剂)。分离得到 3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙基溴, 为浅黄色固体 (1.25g, 35%), 得到的其余化合物是异构体混合物 (0.89g, 25%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): 2.47 (2H, m), 2.68 (3H, s), 3.67 (2H, t, J = 6.3Hz), 4.33 (2H, t, J = 5.8Hz), 6.62 (1H, s), 7.20 (1H, d, t, J = 8.6, 2.4Hz), 7.57 (1H, dd, J = 10.5, 2.4Hz), 8.10 (1H, dd, J = 9.1, 6.2Hz)。

[0130] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶:

[0131] 将 2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶 (0.5395g, 3.5mmol) 和氢氧化锂一水合物 (0.294g, 7.0mmol) 在 DMF (10mL) 中的混合物在 25℃ 搅拌 1 小时, 之后向反应混合物添加 3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基) 丙基溴 (1.043g, 3.5mmol) 并将反应混合物在 25℃ 搅拌过夜。真空蒸发三分之二的 DMF 并将反应混合物倾倒入水中, 通过过滤分离固体并在烘箱中在 80℃ 干燥。粗产物通过硅胶上的柱色谱法纯化 (4% MeOH : 96% CH₂Cl₂ 作为洗脱剂)。得到产物, 为白色结晶固体 (0.6629g, 51%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 0.89 (3H, t, J = 7.5Hz), 2.28 (4H, m), 2.60 (3H, s), 3.85 (2H, t, J = 5.9Hz), 4.42 (2H, t, J = 5.9Hz), 5.57 (2H, s), 6.15 (2H, s), 6.99 (1H, s), 7.39 (1H, dt, J = 8.8, 2.5Hz), 7.57 (1H, dd, J = 10.8, 2.5Hz), 8.15 (1H, dd, J = 9.1, 6.4Hz)。

[0132] d) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基) 丙氧基) 嘧啶一盐酸盐:

[0133] 在 25℃ 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(7-氟-2-甲基喹啉-4-基氧基) 丙氧基) 嘧啶 (0.3714g, 1mmol) 在甲醇 (10mL) 中的搅拌的悬浮液添加一当量的盐酸。在蒸发溶剂并与乙醚研磨之后, 得到产物, 为白色结晶固体 (0.3834g, 94%)。熔点 > 200℃, ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 0.99 (3H, t, J = 7.6Hz), 2.35 (2H, m), 2.44 (2H, q, J = 7.6Hz), 2.64 (3H, s), 3.97 (2H, t, J = 5.8Hz), 4.45 (2H, t, J = 5.5Hz), 7.07 (1H, s), 7.45 (3H, m), 7.64 (1H, d, J = 10.5Hz), 7.90 (1H, bs), 8.19 (1H, dd, J = 8.9, 6.3Hz), 8.33 (1H, bs), 12.30 (1H, bs)。

[0134] 实施例 6 : 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(1-吡啶基) 丙氧基) 嘧啶一盐酸盐。

[0135] 以下提供用于制备 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(1-吡啶基) 丙氧基) 嘧啶一盐酸盐的代表性方法:

[0136] a) 1-(3-溴丙基) 吡啶:

[0137] 在 0℃ 将吡啶 (1.17g, 10mmol) 的无水 DMF (5mL) 溶液添加到氢化钠 (0.48g, 11mmol, 55%) 在无水 DMF (3mL) 中的悬浮液。将反应混合物在 25℃ 搅拌 30 分钟。在 0℃ 添加 1,3-二溴丙烷 (2.04mL, 20mmol) 并将反应在 0℃ 搅拌, 直到起始原料耗尽。将反应用稀盐酸中和并用乙酸乙酯提取并蒸发。粗产物通过 SiO₂ 上的柱色谱法纯化, 使用含 10% 乙酸乙酯的己烷作为洗脱剂。得到的产物为浅黄色油状物 (0.9048g, 38%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) : 2.38 (2H, m), 3.34 (2H, t, J = 6.1Hz), 4.37 (2H, t, J = 6.3Hz), 6.57 (1H, d, J = 3.0Hz), 7.19 (2H, m), 7.28 (1H, m), 7.43 (1H, d, J = 8.1Hz), 7.69 (1H, d, J = 7.8Hz)。

[0138] b) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(1-吡啶基) 丙氧基) 嘧啶:

[0139] 向搅拌的氢氧化锂一水合物 (0.3147g, 7.5mmol) 的 DMF (2mL) 溶液添加 2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶 (0.4625g, 3mmol) 并将反应混合物搅拌 1 小时。添加 1-(3-溴丙基) 吡啶 (0.7144g, 3mmol) 的 DMF (1mL) 溶液并将反应混合物在 25℃ 搅拌过夜。反应用二氯甲烷稀释并用水提取。将二氯甲烷层蒸发并将残余物从甲醇水溶液重结晶。得到的产物为浅黄色固体 (0.4484g, 48%)。¹H NMR (DMSO-d₆) : 1.02 (3H, t, J = 7.5Hz), 2.20 (2H, m), 2.32 (2H, q, J = 7.5Hz), 3.60 (2H, t, J = 6.3Hz), 4.34 (2H, t, J = 7.2Hz), 5.56 (2H, s), 6.07 (2H, s), 6.43 (1H, d, J = 3.1Hz), 7.01 (1H, m), 7.13 (1H, m), 7.40 (1H, d, J = 3.1Hz), 7.50 (1H, d, J = 8.3Hz), 7.54 (1H, d, J = 7.8Hz)。

[0140] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(1-吡啶基) 丙氧基) 嘧啶一盐酸盐:

[0141] 将 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(1-咪唑基)丙氧基)嘧啶 (0.1557g, 0.5mmol) 悬浮在甲醇 (1mL) 中并添加 1 当量的浓盐酸。在蒸发并将残余物与乙腈研磨之后得到标题化合物, 为灰白色结晶固体 (0.1670g, 96%)。¹H NMR (DMSO-d₆): 1.09 (3H, t, J = 7.5Hz), 2.26 (2H, m), 2.44 (2H, q, J = 7.5Hz), 3.71 (2H, t, J = 6.4Hz), 4.33 (2H, t, J = 7.1Hz), 6.45 (1H, d, J = 2.8Hz), 7.02 (1H, m), 7.14 (1H, m), 7.40 (2H, m), 7.50 (1H, d, J = 8.1Hz), 7.55 (1H, d, J = 7.8Hz), 7.82 (1H, s), 8.32 (1H, s), 12.33 (1H, s)。

[0142] 实施例 7: 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (P135) 及其乙基酯 (P217) (参见图 6)。

[0143] a) 4-(2-羟基苯氧基)丁酸乙酯:

[0144] 在 0℃ 向邻苯二酚 (5.51g, 50mmol) 的无水 DMF (30mL) 溶液缓慢添加氢化钠 (1.2g, 50mmol)。在 25℃ 搅拌 4 小时之后, 将反应混合物在 65-70℃ 加热 1 小时, 随后添加 4-溴丁酸乙酯 (10.7mL, 75mmol)。然后将反应混合物在这个温度搅拌 6 小时。在用水淬灭之后, 用二氯甲烷提取并蒸发, 得到粗产物, 将其通过柱色谱法纯化, 用 87% 己烷:10% CH₂Cl₂:3% EtOAc 洗脱。用己烷结晶, 以 55% 收率得到白色固体 (6.17g, 熔点 37.2-38.4℃)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): 1.26 (3H, t, J = 7.1Hz), 2.17 (2H, m), 2.52 (2H, t, J = 7.0Hz), 4.09 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.16 (2H, q, J = 7.1Hz), 6.81-6.89 (3H, m), 6.92-6.94 (1H, m)。

[0145] b) 4-(2-(3-溴丙氧基)苯氧基)丁酸乙酯:

[0146] 在 0℃ 向 4-(2-羟基苯氧基)丁酸乙酯 (5.61g, 25mmol) 的 DMF (25mL) 的溶液缓慢加入氢化钠 (0.6g, 25mmol), 然后将溶液在 0℃ 搅拌 4 小时。向在 65-70℃ 搅拌的溶液添加 1,3-二溴丙烷 (3.80mL, 37.5mmol)。将得到的溶液继续在 65-70℃ 搅拌 3 小时。正常的后处理并通过硅胶柱色谱法纯化, 以 60% 收率得到溴代-化合物, 为白色固体 (5.18g, 熔点 31-32.6℃, CH₂Cl₂/己烷)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃): 1.25 (3H, t, J = 7.1Hz), 2.13 (2H, m), 2.34 (2H, m), 2.54 (2H, t, J = 7.3Hz), 3.64 (2H, t, J = 6.4Hz), 4.04 (2H, t, J = 6.2Hz), 4.10-4.15 (4H, m), 6.99-6.93 (4H, m)。

[0147] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶:

[0148] 将 2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶 (0.4625g, 3mmol) 添加到氢氧化锂一水合物 (0.4406g, 10.5mmol) 的 DMF (4mL) 溶液中并将反应混合物在 25℃ 搅拌 1 小时。添加 4-(2-(3-溴丙氧基)苯氧基)丁酸乙酯 (1.0357g, 3mmol) 的 DMF (1mL) 溶液并将反应混合物在 25℃ 搅拌过夜。在减压下部分除去 DMF, 得到残余物。将残余物用水稀释并用二氯甲烷提取。水层用稀盐酸中和, 得到白色固体。用丙酮重结晶, 得到期望的二氨基嘧啶, 为白色固体 (0.6911g, 59%, 熔点 204-206℃)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 1.10 (3H, t, J = 7.5Hz), 1.91 (2H, m), 2.14 (2H, m), 2.31-2.39 (4H, m), 3.78 (2H, t, J = 6.1Hz), 3.96 (2H, t, J = 6.4Hz), 4.13 (2H, t, J = 6.1Hz), 5.60 (2H, s), 6.09 (2H, s), 6.86-6.90 (2H, m), 6.95-7.01 (2H, m)。

[0149] d) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶盐酸盐:

[0150] 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (0.3904g, 1mmol) 在水 (1mL) 中的悬浮液添加一当量浓盐酸。在将反应混合物与乙醚研

磨之后,得到标题化合物,为白色结晶固体 (0.4055g,95%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 1.09(3H, t, J = 7.5Hz), 1.90(2H, m), 2.18(2H, m), 2.38(2H, t, J = 7.3Hz), 2.48(2H, q, J = 7.5Hz), 3.89(2H, t, J = 6.1Hz), 3.95(2H, t, J = 6.4Hz), 4.12(2H, t, J = 6.0Hz), 6.86-6.90(2H, m), 6.95-7.02(2H, m), 7.81(1H, bs), 8.14(1H, bs), 8.18(1H, bs), 12.34(1H, bs)。

[0151] e) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-乙氧基羰基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶:

[0152] 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-羧基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (0.3904g, 1mmol) 和催化量的浓 H₂SO₄ 在 EtOH(4mL) 中的溶液添加原甲酸三乙酯 (2mL) 并将溶液在 25℃ 搅拌 8 小时。将反应混合物用 K₂CO₃ 中和并蒸干。粗产物用水稀释并用 CH₂Cl₂ 提取。蒸发到干燥,得到期望的酯,为白色半固体 (0.2720g, 65%)。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆): 0.99(3H, t, J = 7.5Hz), 1.15(3H, t, J = 7.1Hz), 1.93(2H, m), 2.13(2H, m), 2.33(2H, q, J = 7.5Hz), 2.45(2H, t, J = 7.3Hz), 3.78(2H, t, J = 6.0Hz), 3.95(2H, t, J = 6.3Hz), 4.03(2H, q, J = 7.1Hz), 4.13(2H, t, J = 6.0Hz), 5.54(2H, s), 6.07(2H, s), 6.87-6.90(2H, m), 6.95-7.01(2H, m)。

[0153] f) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-乙氧基羰基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶盐酸盐:

[0154] 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(3-乙氧基羰基丙氧基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (0.4185g, 1mmol) 在 EtOH(1mL) 中的悬浮液添加一当量的浓盐酸。在将反应混合物与乙醚研磨之后得到标题化合物,为白色结晶固体 (0.4322g, 95%)。¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆): 1.09(3H, t, J = 7.6Hz), 1.15(3H, t, J = 7.1Hz), 1.93(2H, m), 2.18(2H, m), 2.44(2H, t, J = 7.4Hz), 2.49(2H, q, J = 7.7Hz), 3.89(2H, t, J = 6.1Hz), 3.95(2H, t, J = 6.3Hz), 4.04(2H, q, J = 7.1Hz), 4.12(2H, t, J = 5.7Hz), 6.87-6.90(2H, m), 6.95-7.01(2H, m), 7.43(2H, bs), 7.83(1H, s), 8.33(1H, s), 12.39(1H, s)。

[0155] 实施例 8: 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (P218) 及其乙基酯 (P195) (参见图 7)。

[0156] a) 3-(2-(3-羟基苯基)丙酸甲酯):

[0157] 向二氢香豆素 (10mL, 78.9mmol) 溶液添加含催化量浓 H₂SO₄ 的无水甲醇 (300mL), 然后将反应混合物在 55℃ 加热 8 小时。将甲醇蒸干,得到粗产物,将其用 K₂CO₃ 中和,残余物用水稀释并用二氯甲烷提取。通过柱色谱法纯化粗产物 (20% CH₂Cl₂:3% EtOAc:77% 己烷作为洗脱剂),得到期望的酯,为无色油状物 (12.80g, 90%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 2.71(3H, t, J = 6.4Hz), 2.89(2H, t, J = 6.4Hz), 3.67(3H, s), 6.83-6.87(2H, m), 7.06-7.12(2H, m)。

[0158] b) 3-(2-(3-溴丙氧基)苯基)丙酸甲酯:

[0159] 在氮气下在 25℃ 在 20 分钟内向 3-(2-(3-羟基苯基)丙酸甲酯 (1.80g, 10mmol), 三苯膦 (3.15g, 12mmol), 和 3-溴-1-丙醇 (1.1mL, 12mmol) 在无水四氢呋喃 (30mL) 中的溶液添加偶氮二甲酸二异丙酯 (2.4mL, 12mmol) 并将反应混合物搅拌另外的二小时。蒸发四氢呋喃层得到粗产物,将其通过硅胶柱色谱法纯化,用己烷:CH₂Cl₂:EtOAc (8:1.7:0.3) 的混合物洗脱。得到溴代化合物,为黄色油状物 (2.26g, 75%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 2.33(2H,

m), 2.58 (2H, t, J = 7.8Hz), 2.92 (2H, t, J = 7.8Hz), 3.61 (2H, t, J = 6.4Hz), 3.65 (3H, s), 4.10 (2H, t, J = 5.7Hz), 6.84 (1H, d, J = 8.4Hz), 6.88 (1H, d, J = 7.3Hz), 7.13-7.19 (2H, m)。

[0160] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶:

[0161] 将 2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶 (0.4625g, 3mmol) 添加到氢氧化锂-水合物 (0.4406g, 10.5mmol) 的 DMF (4mL) 的搅拌溶液中并将反应混合物在 25℃ 搅拌 1 小时。添加 3-(2-(3-溴丙氧基)苯基)丙酸甲酯 (0.9035g, 3mmol) 的 DMF (1mL) 溶液并将反应混合物在 25℃ 搅拌过夜。在减压下部分除去 DMF, 得到残余物。残余物用水稀释, 随后用二氯甲烷提取。水层用稀盐酸中和, 得到白色固体。从丙酮重结晶得到期望的二氨基嘧啶, 为白色固体 (0.6271g, 58%, 熔点 155.5-157.5℃)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 1.04 (3H, t, J = 7.6Hz), 2.19 (2H, m), 2.39 (2H, q, J = 7.5Hz), 2.46 (2H, t, J = 7.5Hz), 2.78 (2H, t, J = 7.7Hz), 3.83 (2H, t, J = 6.1Hz), 4.15 (2H, t, J = 5.9Hz), 6.29 (2H, bs), 6.85 (1H, t, J = 7.4Hz), 6.96 (2H, bs), 6.98 (1H, d, J = 8.1Hz), 7.14-7.19 (2H, m)。

[0162] d) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶盐酸盐:

[0163] 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (0.3604g, 1mmol) 在水 (1mL) 中的悬浮液添加一当量的浓盐酸。在将反应混合物与乙醚研磨之后, 得到标题化合物, 为白色结晶固体 (0.3770g, 95%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 1.12 (3H, t, J = 7.5Hz), 2.22 (2H, t, J = 5.8Hz), 2.44-2.52 (4H, m), 2.78 (2H, t, J = 7.5Hz), 3.89 (2H, t, J = 5.9Hz), 4.14 (2H, t, J = 5.5Hz), 6.85 (1H, t, J = 7.3Hz), 6.98 (1H, d, J = 8.1Hz), 7.14-7.19 (2H, m), 7.41 (2H, s), 7.85 (1H, s), 8.31 (1H, s), 12.11 (1H, bs), 12.54 (1H, s)。

[0164] e) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-乙氧基羰基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶

[0165] 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-羧基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (0.3604g, 1mmol) 和催化量的浓 H₂SO₄ 的 EtOH (4mL) 溶液添加原甲酸三乙酯 (2mL) 并将混合物在 25℃ 搅拌 8 小时。将反应混合物用 K₂CO₃ 中和并蒸干。粗产物用水稀释并用 CH₂Cl₂ 提取。蒸发到干燥, 得到期望的酯, 为白色固体 (0.3496g, 90%, 熔点 124.5-125.5℃)。¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): 1.24 (3H, t, J = 7.3Hz), 1.26 (3H, t, J = 7.7Hz), 2.26 (2H, m), 2.59 (2H, q, J = 7.7Hz), 2.62 (2H, t, J = 7.7Hz), 2.95 (2H, t, J = 7.7Hz), 3.98 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.13 (2H, q, J = 7.1Hz), 4.27 (2H, t, J = 5.7Hz), 5.17 (2H, bs), 5.28 (2H, bs), 6.90 (1H, d, J = 8.2Hz), 6.93 (1H, t, J = 7.5Hz), 7.17 (1H, dd, J = 7.4, 1.4Hz), 7.22 (1H, dt, J = 7.8, 1.5Hz)。

[0166] f) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-乙氧基羰基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶盐酸盐:

[0167] 向 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(2-(2-乙氧基羰基乙基)苯氧基)丙氧基)嘧啶 (0.3885g, 1mmol) 在 EtOH (1mL) 中的悬浮液添加一当量的浓盐酸。在将反应混合物与乙醚研磨之后, 得到标题化合物, 为白色结晶固体 (0.4037g, 95%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 1.10 (3H, t, J = 7.8Hz), 1.13 (3H, t, J = 7.1Hz), 2.22 (2H, m), 2.47-2.55 (m, 4H), 2.81 (2H, t, J = 7.6Hz), 3.89 (2H, t, J = 6.2Hz), 4.02 (2H, q, J = 7.1Hz), 4.15 (2H, t, J = 5.8Hz), 6.85 (1H, t, J = 7.4Hz), 6.99 (1H, d, J = 8.1Hz), 7.14 (1H, d, J = 8.2Hz), 7.18 (1H, t, J =

7.5Hz), 7.38(2H, s), 7.85(1H, bs), 8.14(1H, s), 12.32(1H, s)。

[0168] 实施例 9: 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-羧基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)-丙氧基)嘧啶 (P169) 及其乙基酯 (P219) (参见图 8)。

[0169] a) 6-(3-乙氧基羰基丙氧基)-2-甲基喹啉-4-醇:

[0170] 向 4-(4-氨基苯氧基)丁酸乙酯 (3.12g, 14mmol) 和乙酰乙酸酯 (1.82g, 14mmol) 的搅拌的混合物添加催化量的盐酸并如实施例 5a 中所述在回流的二苯醚中环化。得到产物, 为浅黄色固体 (1.70g, 42%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 1.32(3H, t, J = 7.1Hz), 2.15(2H, m), 2.50(3H, s), 2.62(2H, t, J = 7.3Hz), 4.21(4H, m), 6.09(1H, s), 7.42(1H, dd, J = 9.0, 2.7Hz), 7.58(1H, d, J = 2.7Hz), 7.65(1H, d, J = 9.0Hz), 11.8(1H, s)。

[0171] b) 3-(6-(3-乙氧基羰基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙基溴:

[0172] 与实施例 5b 中所述类似地, 使 6-(3-乙氧基羰基丙氧基)-2-甲基喹啉-4-醇 (1.157g, 4mmol), 1,3-二溴丙烷 (3.230g, 16mmol) 和无水碳酸钾 (0.663g, 4.8mmol) 在丙酮中进行反应。得到预期的化合物, 为白色固体 (0.903g, 55%)。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 1.25(3H, t, J = 7.2Hz), 2.18(2H, m), 2.56(4H, m), 2.65(3H, s), 3.67(2H, t, J = 6.3Hz), 4.14(4H, m), 4.31(2H, t, J = 5.8Hz), 6.61(s, 1H), 7.29(1H, dd, J = 9.1, 2.6Hz), 7.36(1H, d, J = 2.6Hz), 7.85(1H, d, J = 9.1Hz)。

[0173] c) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-乙氧基羰基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶:

[0174] 将 2,4-二氨基-6-乙基-5-羟基嘧啶 (0.308g, 2.0mmol), 氢氧化钾 (0.123g, 2.2mmol) 和 3-(6-(3-乙氧基羰基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙基溴 (0.821g, 2.0mmol) 在 DMF 中的混合物在 25℃ 搅拌过夜。将 DMF 蒸干并通过硅胶上的柱色谱法纯化残余物 (4% MeOH:96% CH₂Cl₂ 作为洗脱剂)。得到产物, 为浅黄色固体 (0.3578g, 37%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 0.90(3H, t, J = 7.5Hz), 1.16(3H, t, J = 7.1Hz), 2.08(2H, m), 2.28(4H, m), 2.48(2H, t, J = 7.0Hz), 2.56(3H, s), 3.86(2H, t, J = 5.8Hz), 4.06(4H, m), 4.41(2H, t, J = 5.8Hz), 5.53(2H, s), 6.11(2H, s), 6.93(1H, s), 7.31(1H, dd, J = 9.1, 2.6Hz), 7.37(1H, d, J = 2.6Hz), 7.76(1H, d, J = 9.1Hz)。

[0175] d) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-羧基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶:

[0176] 将在步骤 (c) 中得到的乙基酯 (0.314g, 0.65mmol) 和在 KOH 水溶液 (10 当量) 中的悬浮液在 25℃ 搅拌过夜。通过添加稀盐酸将溶液中和。通过过滤分离形成的沉淀物, 并在烘箱中在 80℃ 干燥, 得到浅黄色固体 (0.2487g, 84%)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): 0.91(3H, t, J = 7.5Hz), 1.98(2H, m), 2.29(4H, m), 2.41(2H, t, J = 7.2Hz), 2.56(3H, s), 3.86(2H, t, J = 5.5Hz), 4.05(2H, t, J = 5.9Hz), 4.40(2H, t, J = 5.3Hz), 5.67(2H, s), 6.24(2H, s), 6.94(1H, s), 7.33(2H, m), 7.75(1H, d, J = 9.1Hz)。

[0177] e) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-乙氧基羰基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶一盐酸盐:

[0178] 在 25℃ 向步骤 (c) 中得到的 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-乙氧基羰基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶 (0.179g, 0.37mmol) 在乙醇 (0.5mL) 中的搅拌的悬浮液添加一当量的盐酸。在蒸发溶剂并与丙酮研磨之后, 得到产物, 为白色结

晶固体 (0.117g, 61%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 0.90 (3H, t, J = 7.5Hz), 1.15 (3H, t, J = 7.0Hz), 2.00 (2H, m), 2.35 (4H, m), 2.40 (2H, m), 2.70 (3H, s), 3.85 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.02 (2H, q, J = 7.0Hz), 4.10 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.52 (2H, m), 7.25 (s, 1H), 7.42 (3H, m), 7.90 (1H, bs), 8.00 (1H, d, J = 10Hz), 8.30 (1H, bs)。

[0179] f) 2,4-二氨基-6-乙基-5-(3-(6-(3-羧基丙氧基))-2-甲基喹啉-4-基氧基)丙氧基)嘧啶一盐酸盐

[0180] 与 (e) 相似合成化合物。在蒸发溶剂并与丙酮研磨之后以定量的收率得到产物, 为白色结晶固体。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) : 1.00 (3H, t, J = 7.5Hz), 1.99 (2H, m), 2.37 (2H, m), 2.41 (4H, m), 2.63 (3H, s), 3.97 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.02 (2H, q, J = 7.0Hz), 4.08 (2H, t, J = 6.0Hz), 4.45 (2H, t, J = 5.3Hz), 7.07 (s, 1H), 7.40 (3H, m), 7.86 (1H, d, J = 9.0Hz), 7.90 (1H, bs), 8.00 (1H, d, J = 10Hz), 8.25 (1H, bs)。

[0181] 实施例 10 : 化合物设计原理。

[0182] 基于对以下化合物性质的考虑通过迭代法设计化合物 : 与使用实验方法衍生的晶体结构模拟的目标酶的相互作用 (即, 疟原虫的 DHFR)、体外和体内抗疟活性、代谢稳定性、口服生物利用度和药代动力学性质。通过已知方法进行的 X 射线衍射测定与野生型和四重突变型酶复合的特定化合物的结构 (参见 Yuvaniyama 等人, (2003) Nat. Struct. Biol. 10 : 357-365)。这种方法提供了关于 DHFR 活性部位的空间和电子信息, 所述活性部位用于设计和优化对野生型和四重突变型恶性疟原虫 (*P. falciparum*) DHFR 为高亲合力和特异性的化合物。使用迭代循环, 可以合成新设计的抑制剂, 与 DHFR 酶共结晶化并使用 X 射线衍射进行研究以提供每个化合物如何准确地结合在 DHFR 活性部位的实验测定。基于这些数据, 然后进行抑制剂的结构修饰, 以便进一步增强对目标酶的结合。这导致对化合物有效结合酶 (即, 如以下实施例 11 中所述的野生型和耐药型酶) 的活性部位所需要的基本要求的了解。化合物对野生型和突变型酶的亲合力测量为 K_i 值 (参见实施例 12)。通过体外方法测量针对恶性疟原虫的抑制活性 (参见实施例 13)。另外, 测量化合物的细胞毒性并测定为最低的 (参见实施例 14)。在口服给药之后还测量了化合物针对 *P. chabaudi* AS 和 ASP (即, 分别为乙胺嘧啶敏感株和乙胺嘧啶耐药株) 的体内活性 (参见实施例 15)。在实施例 16 中测量了化合物在大鼠和小鼠株的生物利用度。然后将得到的结果在一起考虑, 以便优化化合物的性质 : 对野生型和突变型 DHFR 酶的高结合亲合力 (低 K_i 值)、针对恶性疟原虫 (*P. falciparum*) (特别是抗叶酸剂耐药性寄生虫) 的有效的体外抗疟活性 (低 IC₅₀ 值) 和针对 *P. chabaudi* 的有效的体内抗疟活性 (低的 ED₉₀ 值)、以及化合物的良好的口服生物利用度。

[0183] 实施例 11 : 有效化合物的基本要求。

[0184] 设计化合物, 使得它们为通式 Het-X-R(I), 其中 -X-R 为选自嘧啶, 1,3,5-三嗪、喹啉、及其饱和或部分饱和的类似物的杂环的柔性侧链。所述柔性是需要的, 使得可以避免侧链与突变型酶的位置 108 (丝氨酸到天冬酰胺) 的突变残基之间的任何空间位阻。此外, 其它突变引起活性部位的进一步变化, 其需要侧链的进一步优化。具有对靶的良好亲合力的化合物 (参见实施例 3 和 8) 被证明在体外和体内都是活性的, 并且进一步证明是充分生物可利用的。

[0185] 实施例 12 : 酶抑制活性。

[0186] 本发明提供了用于抑制恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 的二氢叶酸还原酶 (DHFR) 酶的 2,4- 二氨基嘧啶衍生物化合物及其药学可接受的盐,所述酶包括野生型 (WT)、双重突变型 (C59R+S108N)、三重突变型 (N51I+C59R+S108N, C59R+S108N+I164L)、和四重突变型 (N51I+C59R+S108N+I164L)。在包含相应基因的大肠杆菌表达系统 (*E. coli* BL21 (DE3) pLysS) 的帮助下制备 WT、双重突变型、三重突变型、和四重突变型。在 25°C 通过分光光度法测定酶的活性。反应 (1mL) 包含 1x DHFR 缓冲液 (50mM TES, pH 7.0, 75mM β - 巯基乙醇, 1mg/mL 牛血清白蛋白), 100 μ M 的每种底物二氢叶酸和辅助因子 NADPH, 以及用于引发反应的适量的亲和力纯化的酶 (在包含 50mM KCl 的磷酸盐缓冲液中的 0.001-0.005 单位)。

[0187] 在包含 200 μ L 上述混合物的 96 孔板中在抗叶酸剂的存在下研究化合物对各种酶 (例如 WT、双重突变型、三重突变型、和四重突变型, 见上述) 的抑制作用。在 340nm 跟踪动力学。使用以下方程测定抑制剂对野生型和突变型酶的 K_i 值:

[0188] $IC_{50} = K_i (1 + ([S]/K_m))$, 其中 IC_{50} 为在标准测定条件下抑制 50% 的酶活性的抑制剂浓度, K_m 为底物二氢叶酸的米氏常数。

[0189] 化合物对恶性疟原虫的二氢叶酸还原酶 (DHFR) (Pf DHFR) 的野生型和突变型酶的抑制常数 (K_i) 概述在以下表 3 中。低的 K_i 值表示热切的结合, 这与显示出化合物与酶活性部位之间的最佳的相互作用的 X 射线共晶体结构一致, 包括疏水性、范德华力、极性和电荷-电荷相互作用。例如, 引入羧基侧链提供与活性部位中的 R122 的另外结合, 因此得到与没有羧基侧链的比较物相比更低的 K_i 值。

[0190] 表 3: 用于与野生型和突变型 Pf DHFR 结合的 2,4- 二氨基嘧啶衍生物化合物的抑制常数 (K_i)

[0191]

实施例	K _i Pf DHFR (nM)				
	WT	C59R+S108N	N51I+C59R+S108N	C59R+S108N+I164L	N51I+C59R+S108N+I164L
乙胺嘧啶	0.6 ± 0.2	53.9 ± 6.5	67.1 ± 4.2	112.37 ± 17.49	385.0 ± 163.0
P65	0.49 ± 0.1	3.15 ± 0.13	2.61 ± 0.22	4.21 ± 0.23	5.59 ± 0.1
P111	0.92 ± 0.13	1.23 ± 0.12	1.20 ± 0.05	5.02 ± 0.44	4.07 ± 0.72
P112	1.49 ± 0.13	2.22 ± 0.37	3.27 ± 0.21	2.86 ± 0.62	4.61 ± 0.38
P113	1.21 ± 0.17	1.86 ± 0.11	1.82 ± 0.17	3.06 ± 0.21	4.33 ± 0.28
P134	1.19 ± 0.12	nd	nd	nd	3.04 ± 0.27
P138	1.05 ± 0.07	1.45 ± 0.23	1.62 ± 0.13	1.96 ± 0.17	2.66 ± 0.46
P139	1.07 ± 0.14	1.61 ± 0.41	1.67 ± 0.17	1.59 ± 0.22	2.47 ± 0.33
P140	0.92 ± 0.11	1.74 ± 0.03	3.10 ± 0.38	4.12 ± 0.19	4.44 ± 0.66
P141	1.07 ± 0.07	1.31 ± 0.06	1.63 ± 0.06	2.46 ± 0.16	3.90 ± 0.22
P142	1.24 ± 0.10	2.50 ± 0.19	2.03 ± 0.10	3.86 ± 0.31	4.29 ± 0.48
P144	0.84 ± 0.05	3.22 ± 0.54	2.04 ± 0.21	2.44 ± 0.31	3.26 ± 0.58
P145	1.04 ± 0.03	2.30 ± 0.31	2.37 ± 0.19	3.52 ± 0.62	3.81 ± 0.03
P147	0.88 ± 0.10	2.19 ± 0.15	2.25 ± 0.22	3.16 ± 0.21	4.68 ± 0.33
P149	1.05 ± 0.18	2.37 ± 0.16	3.40 ± 0.15	3.66 ± 0.48	4.23 ± 1.06
P153	1.41 ± 0.13	nd	nd	nd	3.41 ± 0.27
P154	1.29 ± 0.14	nd	nd	nd	4.80 ± 0.36
P155	1.17 ± 0.08	nd	nd	nd	3.39 ± 0.08
P156	1.00 ± 0.15	nd	nd	nd	2.83 ± 0.16
P157	1.26 ± 0.24	nd	nd	nd	3.95 ± 0.06
P163	0.47 ± 0.06	nd	nd	nd	1.89 ± 0.35
P164	0.65 ± 0.09	nd	nd	nd	2.60 ± 0.43
P165	0.76 ± 0.03	nd	nd	nd	1.72 ± 0.11
P166	0.42 ± 0.06	nd	nd	nd	1.98 ± 0.09
P167	0.44 ± 0.04	nd	nd	nd	1.11 ± 0.12
P168	0.29 ± 0.02	nd	nd	nd	0.51 ± 0.06
P170	0.25 ± 0.07	nd	nd	nd	0.42 ± 0.04
P171	0.30 ± 0.07	nd	nd	nd	0.62 ± 0.11
P172	0.26 ± 0.03	nd	nd	nd	0.85 ± 0.03
P135	0.72 ± 0.03	0.98 ± 0.003	1.20 ± 0.05	2.54 ± 0.04	3.47 ± 0.09
P217	0.69 ± 0.10	nd	nd	nd	3.30 ± 0.52
P218	0.43 ± 0.07	nd	nd	nd	0.54 ± 0.12
P195	0.26 ± 0.02	nd	nd	nd	1.88 ± 0.13
P169	0.15 ± 0.04	nd	nd	nd	0.36 ± 0.01
P219	0.52 ± 0.08	nd	nd	nd	1.25 ± 0.22

[0192] nd = 未测定

[0193] 实施例 13: 针对恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 的体外活性。

[0194] 本发明提供用于治疗疟疾的 2,4-二氨基嘧啶衍生物化合物, 所述疟疾包括非耐药性疟疾和耐药性疟疾。所述化合物可以单独使用或与作用于叶酸生物合成途径中的 DHPS 酶的磺胺类组合使用、和 / 或与可以通过非抗叶酸机制起作用的其它药物组合使用。在 3% CO₂ 下在 37°C, 在补充有 25mM HEPES, pH 7.4, 0.2% NaHCO₃, 40 μg/mL 庆大霉素和 10% 人血清的标准 RPMI 1640 培养基 (Trager 等人, (1976) Science 193:673-675) 中, 在人红细胞中连续地保持恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 株。使用 [³H]-次黄嘌呤结合方法 (Desjardins 等人, (1979) Antimicrob. Agents Chemother. 16:710-718) 测定体外抗疟活性, 所述方法通过代谢性前体次黄嘌呤的累积来测量寄生虫生长。最初将化合物溶解于 DMSO 中并用相同的标准培养基稀释。将含不同浓度药物的等分样品 (25 μL) 分配在 96 孔板中并添加

200 μ L 的包含 1-2% 寄生物血病的寄生感染的红细胞的 1.5% 细胞混悬液。DMSO 的最终浓度 (0.1%) 不影响寄生虫生长。将混合物在 3% CO_2 保温箱中在 37°C 保温。在保温 24 小时之后, 向每个孔添加 25 μ L (0.25 μ Ci) 的 [^3H]-次黄嘌呤。将寄生虫培养物在相同条件下进一步温育 18-20 小时。将寄生虫的 DNA 收获在玻璃滤纸上。将过滤器空气干燥并添加 20 μ L 的液体闪烁流体。然后使用微板闪烁计数器测量过滤器上的放射性活度。从通过将 [^3H]-次黄嘌呤结合的百分比对药物浓度绘图所得到的 S 形曲线, 测定抑制 50% 寄生虫生长的抑制剂浓度 (IC_{50})。这个系列中具有针对带有野生型 DHFR 以及特别是带有单突变型、双重突变型、三重突变型和四重突变型 DHFR 酶的寄生虫的抗疟活性的化合物的实例示在上述表 3 中。

[0195] 以下表 4 示出了从以下突变株得到的结果: K1CB1 (C59R+S108N), W2 (N51I+C59R+S108N), Cs1-2 (C59R+S108N+I164L) 和 V1/S (N51I+C59R+S108N+I164L)。

[0196] 表 4: 2,4-二氨基嘧啶衍生物化合物对带有以下各种 DHFR 类型的恶性疟原虫 (*P. falciparum*) 的抗疟原虫活性 (IC_{50}): TM4/8.2 (野生型), K1CB1 (C59R+S108N), W2 (N51I+C59R+S108N), Cs1-2 (C59R+S108N+I164L), 和 V1/S (N51I+C59R+S108N+I164L)。

[0197]

化合物	IC ₅₀ 恶性疟原虫(<i>P. falciparum</i>) (μM)				
	TM4/8.2 (WT)	K1CB1	W2	Cs1-2	V1/S
氯喹	0.027	0.37	0.32	0.40	0.38
二氢青蒿素 (nM)	1.69 ± 0.39	1.0 ± 0.57	0.59	1.1 ± 0.4	1.4
Pyr	0.058 ± 0.03	>50	39.88	nd	>100
P065	0.35 ± 0.08	2.63 ± 0.98	1.43 ± 0.73	3.10	5.05 ± 0.47
P111	0.025 ± 0.018	0.4 ± 0.08	2.28 ± 0.9	nd	4.83 ± 0.18
P112	0.0013 ± 0.000	0.02 ± 0.01	0.021 ± 0.01	nd	0.07 ± 0.02
P113	0.004 ± 0.003	0.026 ± 0.01	0.013 ± 0.01	nd	0.050 ± 0.01
P134	0.0050 ± 0.001	0.038 ± 0.01	0.042 ± 0.01	0.23 ± 0.10	0.41 ± 0.43
P138	0.007 ± 0.003	0.018 ± 0.001	0.033 ± 0.02	0.028 ± 0.01	0.024 ± 0.002
P139	0.0022 ± 0.001	0.015 ± 0.003	0.011 ± 0.01	0.011 ± 0.01	0.0049 ± 0.003
P140	0.0027 ± 0.001	0.015 ± 0.01	0.024 ± 0.01	0.042 ± 0.005	0.055 ± 0.02
P141	0.0003 ± 0.000	0.00064 ± 0.0003	0.0042 ± 0.003	0.0037 ± 0.0016	0.0055 ± 0.004
P142	0.0023 ± 0.001	0.0040 ± 0.0003	0.005 ± 0.0036	0.0046 ± 0.003	0.0068 ± 0.003
P144	0.0017 ± 0.0008	0.039 ± 0.01	0.058 ± 0.02	0.31 ± 0.18	0.33 ± 0.14
P145	0.0051 ± 0.003	0.061 ± 0.02	0.18 ± 0.07	0.36 ± 0.12	0.23 ± 0.13
P147	0.0027 ± 0.002	0.0065 ± 0.003	0.011 ± 0.0004	0.01 ± 0.005	0.019 ± 0.008
P149	0.0032 ± 0.0007	0.0040 ± 0.0026	0.011 ± 0.01	0.028 ± 0.02	0.018 ± 0.007
P153	0.00025 ± 0.0001	0.00065 ± 0.0001	0.0012 ± 0.0003	0.0014 ± 0.0001	0.0046 ± 0.0005
P154	0.002 ± 0.0008	0.0057 ± 0.002	0.0069 ± 0.002	0.028 ± 0.02	0.023 ± 0.0045
P155	0.0037 ± 0.001	0.025 ± 0.01	0.016 ± 0.003	0.038 ± 0.01	0.057 ± 0.005
P156	0.0022 ± 0.001	0.0062 ± 0.002	0.0069 ± 0.003	0.021 ± 0.002	0.019 ± 0.009
P157	0.0024 ± 0.0007	0.031 ± 0.01	0.007 ± 0.001	0.027 ± 0.01	0.036 ± 0.01
P163	0.0056 ± 0.001	0.040 ± 0.03	0.089 ± 0.06	0.11 ± 0.04	0.23 ± 0.11
P164	0.0030 ± 0.0008	0.024 ± 0.01	0.017 ± 0.01	0.026 ± 0.002	0.068 ± 0.03
P165	0.0017 ± 0.0004	0.033 ± 0.01	0.027 ± 0.0005	0.34 ± 0.26	0.16 ± 0.08
P166	0.0008 ± 0.00004	0.023 ± 0.02	0.034 ± 0.01	0.20 ± 0.12	0.14 ± 0.07
P167	0.0054 ± 0.001	0.0053 ± 0.002	0.0038 ± 0.002	0.0022 ± 0.001	0.005 ± 0.002
P168	0.022 ± 0.01	0.026 ± 0.03	0.033 ± 0.004	nd	0.032 ± 0.01
P169	0.00022 ± 0.00006	0.002 ± 0.0008	0.00085 ± 0.0002	nd	0.0031 ± 0.002
P170	0.043 ± 0.01	0.066 ± 0.02	0.042 ± 0.02	nd	0.056 ± 0.018
P171	<0.001	0.0033 ± 0.001	0.0022 ± 0.0005	nd	0.017 ± 0.005
P172	0.0043 ± 0.001	0.052 ± 0.01	0.021 ± 0.02	nd	0.275 ± 0.04
P135	0.0016 ± 0.0006	0.0034 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.024 ± 0.02	0.038 ± 0.02
P217	0.004	nd	nd	nd	nd
P218	0.006	nd	nd	nd	nd
P195	0.0025 ± 0.0007	0.003 ± 0.0005	0.001 ± 0.0005	0.014 ± 0.007	0.068 ± 0.017
P169	0.0003 ± 0.0001	0.002 ± 0.0008	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.0005	0.003 ± 0.001
P219	< 0.01	nd	nd	nd	nd

[0198] nd = 未测定

[0199] 上面的表 4 示出了各种 2,4-二氨基嘧啶衍生物化合物。值得注意的是,这些化合物对于乙胺嘧啶耐药性寄生虫株非常有活性。这些实施例的 IC₅₀ 值远低于乙胺嘧啶针对该突变株的 IC₅₀ 值。

[0200] 实施例 14:测定在哺乳动物细胞中的细胞毒性 (IC₅₀)。

[0201] 根据 Skehan 等人, (1990) J. Natl. Cancer Inst. 82:1107-1112 所述的规程在非洲绿猴肾脏成纤维细胞 (Vero) 细胞中进行化合物的细胞毒性试验。这些化合物具有针对疟疾寄生虫的选择性,对哺乳动物细胞系有不同的细胞毒性作用,如表 5 中概述的。具有酸和酯的化合物比具有其它官能团的化合物针对 Vero 细胞具有更好的选择性。

[0202] 表 5:2,4-二氨基嘧啶衍生物化合物在哺乳动物细胞中的细胞毒性

实施例	对 Vero 细胞的细胞毒性, IC ₅₀ (μM)	IC50 比值	
		Vero/TM4	Vero/V1/S
Pyr	32	549	< 0.3
P113	0.119	32	2
P153	0.037	149	8
[0203] P154	0.094	38	4
P157	0.100	42	3
P135	> 10	> 6000	> 260
P217	5.33	1380	nd
P218	>10	> 1620	nd
P195	1.25	500	18
P169	0.42	1405	134

[0204] nd = 未测定

[0205] 实施例 15 :在啮齿动物疟疾模型中的体内活性。

[0206] 使用夏氏鼠疟原虫 (*Plasmodium chabaudi*) 和柏氏鼠疟原虫 (*Plasmodium berghei*) 模型通过 4 天的 Peters 试验评价化合物的体内抗疟活性,在每个实验中都包括乙胺嘧啶作为对比药物。简而言之,将 20gr 的 CD1 雄性小鼠 (Charles Rivers, UK) 保持在无特定病原体的条件下并不限量进食。对于经口给药,将化合物溶解于标准的悬浮配制物 (SSV) [0.5% 羧甲基纤维素钠, 0.5% 苯甲醇, 0.4% Tween 80, 0.9% NaCl (都得自 Sigma)], 对于腹膜内给药或皮下给药,将化合物溶解于 [0.5% w/v 羟丙基甲基纤维素, 0.4% v/v Tween 80, 0.5% v/v 在去离子水中的苯甲醇] 中。用 4×10^6 感染的红细胞静脉内感染小鼠并在感染后的二小时 (第 0 天) 和第 1、2 和 3 天用经口 (p. o.) 给予的 0.2ml 试验化合物溶液进行治疗。通过在第 4 天进行的对吉姆沙染色的血液膜的显微镜检查测定寄生虫血症。使用 GraphPad Prism4 (GraphPad Software, Inc., CA, USA) 处理得自每个小鼠的血液膜的显微镜计数并表示为相对于未经处理组的每个组的算术平均寄生虫血症的抑制百分比。在所述周期针对 *P. chabaudi* AS (非耐药) 以 30mg/kg/ 天在最初筛选中试验化合物,并相对于未经处理的对照计算抑制百分比。然后在所述周期内在相同的模型中以一定范围的剂量试验显示 80% 或更高抑制作用的化合物,以便得到剂量反应曲线并计算它们的 ED₅₀ 和 ED₉₀ 值。然后选择显示 ED₉₀ 等于或低于对比药物水平的化合物 (表 6) 用于针对 *P. chabaudi* ASP (乙胺嘧啶耐药株) 的试验以及在致死性 *P. berghei* ANKA (非耐药株) 中的试验。针对 *P. chabaudi* AS 的体内试验结果概述在表 7 中。从 ED₉₀ 值明显可见,许多化合物在这个模型中具有强烈的活性,并且还在 *P. chabaudi* ASP 和 *P. berghei* ANKA 中进行了试验。

[0207] 如表 6 中所示,针对 *P. chabaudi* AS, 这些化合物中有许多表现出比现有药物乙胺嘧啶低 2-90 倍的 ED₉₀ 值 (ED₉₀ = 0.01-0.36mg/kg), 乙胺嘧啶表现出 0.88mg/kg 的 ED₉₀ 值。表 7 示出了这些化合物中的一些在包括 *P. chabaudi* ASP 和致死性 *P. berghei* ANKA 在内的

三个不同的啮齿动物疟疾模型中的效力。与针对乙胺嘧啶耐药性 *P. chabaudi* ASP 的效力 ($ED_{90} = 13.5\text{mg/kg}$) 小于 15 倍的乙胺嘧啶相比, 化合物 P113 保持其针对这个株系的效力 ($ED_{90} = 0.01\text{mg/kg}$) 以及针对致死性 *P. berghei* ANKA 的效力 ($ED_{90} = 0.03\text{mg/kg}$)。

[0208] 表 6 : 在标准的 4 天 Peters 试验中化合物针对 *P. chabaudi* AS 的口服抗疟活性。

[0209]

化合物编号	P. chabaudi AS (mg/kg)	
	ED ₅₀ *	ED ₉₀ *
P65	0.9	1.5
P111	0.03	7.3
P113	0.006	0.01
P112 (在 30mg/kg 具有 99.9 %抑制作用)	nd	nd
P134	0.025	0.076
P135	2	5.2
P136	0.3	3.4
P138	0.7	1.3
P139	0.8	2.8
P140 (在 30mg/kg 具有 99.9 %抑制作用)	nd	nd
P141	0.06	0.65
P142 (在 30mg/kg 具有 97.9 %抑制作用)	nd	nd
P144	0.54	3.08
P145	0.03	0.12
P146	3.8	28.8
P147	1.96	11.8
P148	2.21	14.1
P149	0.01	0.02
P153	0.006	0.013
P154	0.006	0.043
P155 (在 30mg/kg 具有 99.9 %抑制作用)	nd	nd
P156	0.14	0.36
P157	0.008	0.012
P163	0.17	1.4
P164	0.03	0.08
P165	0.39	2.33
P166	1.78	9.57
P167 (在 30mg/kg 具有 48.3 %抑制作用)	nd	nd
P168 (在 30mg/kg 具有 48.3 %抑制作用)	nd	nd
P169	>29	>29
P170 (在 30mg/kg 具有 48.3 %抑制作用)	nd	nd
P171	0.16	0.9
P172	0.22	1.74
P173	>10	>10
P195	0.21	0.69
P217	<0.63	<0.63
P218	<0.63	<0.63
P219	>5	>5
乙胺嘧啶	0.25	0.88

[0210] *ED_{50/90}:产生减少寄生虫血症 50% /90%所需要的剂量。nd = 未测定

[0211] 表 7:化合物针对不同的啮齿动物疟疾模型的口服抗疟活性的概述。

[0212]

	<i>P. chabaudi</i> AS (mg/kg)		<i>P. chabaudi</i> ASP (mg/kg)		<i>P. berghei</i> ANKA (mg/kg)	
	ED ₅₀ *	ED ₉₀ *	ED ₅₀	ED ₉₀	ED ₅₀	ED ₉₀
P65	0.9	1.5	0.7	1.5	1.4	18
P113	0.006	0.01	0.003	0.01	0.01	0.03
P111	0.03	7.3	nt	nt	nt	nt
P135	2.0	5.2	nt	nt	nt	nt
P195	0.21	0.69	nt	nt	nt	nt
P217	<0.63	<0.63	nt	nt	nt	nt
P218	<0.63	<0.63	nt	nt	nt	nt
乙胺嘧啶	0.25	0.88	1.8	13.5	0.5	3.2

[0213] *ED_{50/90}:产生减少寄生虫血症 50%/90%所需要的剂量。nt = 未试验

[0214] 实施例 16:生物利用度

[0215] 为了评价口服生物利用度和药代动力学,对体重为 270-300g 的禁食雄性 Sprague Dawley 大鼠给予试验化合物(参见以下表 8)。在剂量给药前和剂量给药后取样期间,大鼠自由饮水,并在剂量给药后 4 小时恢复供给食物。试验化合物作为 5 分钟的恒速输注静脉内给予(1.0mL/大鼠)和通过灌胃法经口给予(1.0mL/大鼠)。IV 制剂典型地是包含共溶剂(如果溶解需要)的经过缓冲的水溶液。口服制剂制备为在羟丙基甲基纤维素或羧甲基纤维素中的悬浮液,各自添加 Tween 80 和苯甲醇。收集动脉血和总尿的样品,直到剂量给药后 24 小时。动脉血直接收集到包含肝素、蛋白酶抑制剂混合物、氟化钾、和 EDTA 的硼硅酸盐小瓶(4℃)中,以使血液/血浆样品中的试验化合物的离体降解可能性最小化。在收集后,将血样离心,取出上清血浆并储存在 -20℃,通过 LCMS 测定试验化合物的血浆浓度。

[0216] 表 8. 在对雄性 Sprague Dawley 大鼠 i.v. 和口服剂量给药后测定的所选化合物的药代动力学参数。

[0217]

化合物	i. v. CL _(血浆) (mL/min/kg)	i. v. t _{1/2} (h)	V _D (L/kg)	口服 BA (剂量的%)
P111	51.4	1.7	7.4	18.5
P113	未确定	未确定	未确定	< 2.0
P134	未确定	未确定	未确定	14.6

P135	49.1	未确定	1.6	7.0
P149	66.3	24.3	51.2	10
P153	69.6	15.7	17.3	26
P154	84.1	3.2	8.8	9.3
P157	74.7	17.6	15.2	25.5
P164	218.3	0.6	11.6	1.0

[0218] 表 8 中的数据示出了各种化合物的不同的药代动力学特征和生物利用度性质。对于单独的化合物在口服生物利用度、清除率、 $t_{1/2}$ 和 V_d 方面有许多数值。

[0219] 在单独的研究中,在小鼠中研究了 P195 的口服生物利用度,P195 是包含羧酸侧链的 P218 的酯前体药物。对雄性 Swiss 杂种小鼠通过推注尾静脉注射静脉内给予 5mg/kg 公称剂量的 P218(游离酸)和通过灌胃法经口给予 20mg/kg 公称剂量的 P195(酯前体药物)。剂量给药制剂与在上述大鼠研究中所使用的那些类似。通过心脏穿刺进行采血,每只小鼠进行一次取样,在剂量给药后的 16 小时内的每个时间点对 2 只小鼠进行采血。将血样分离并如上所述通过 LCMS 分析血浆。在 P218 的 IV 给药后和前体药物 P195 口服给药后的 P218 血浆浓度对时间曲线表示出在以下图 9 中。P218 的血浆浓度保持高于定量的下限 (LLQ = 0.0014 μ M) 达 IV 给药后 7.5 小时。在酯前体药物的口服给药后,酸 P218 的血浆浓度保持高于 LLQ 达剂量给药后 16 小时,且 P218 的生物利用度为约 50% (通过将口服给药 P195 后的 P218 的剂量归一化的 AUC 数值相对 IV 给药 P218 后的 P218 的 AUC 相比较来测定)。在口服给药 P195 后在第一个血样 (15min) 中观察到 P218 的最大血浆浓度 (C_{max}),且前体药物 P195 的血浆浓度在所有时间点都低于定量下限 (0.0014 μ M)。这些结果提示了酯前体药物在口服给药后的快速吸收和裂解,以释放酸 P218。

[0220] 本发明的各种改进和变化对于本领域技术人员来说是显而易见的,并不脱离本发明的范围和主旨。尽管已经在特定的优选实施方案方面描述了本发明,应该理解,所要求保护的本发明不应受到这种特定实施方案的过度限制。实际上,本领域技术人员可以理解的对用于实施本发明的所述方式的各种改进意旨在本发明范围内。

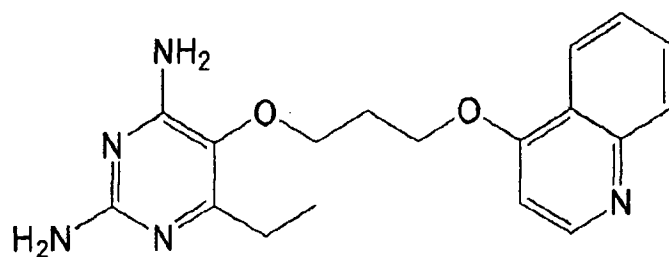


图 1

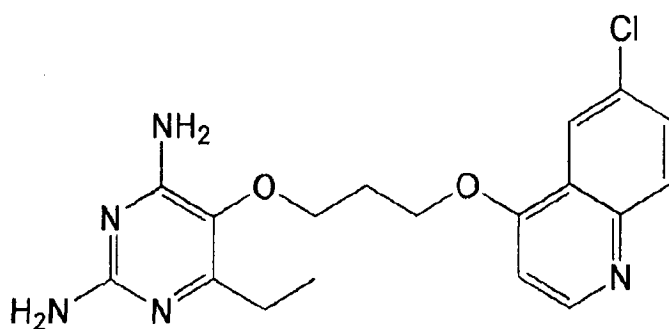


图 2

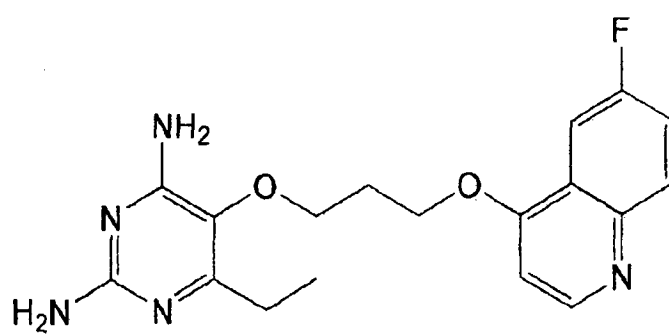


图 3

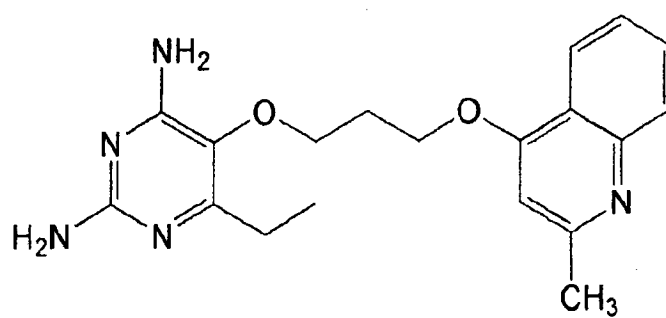


图 4

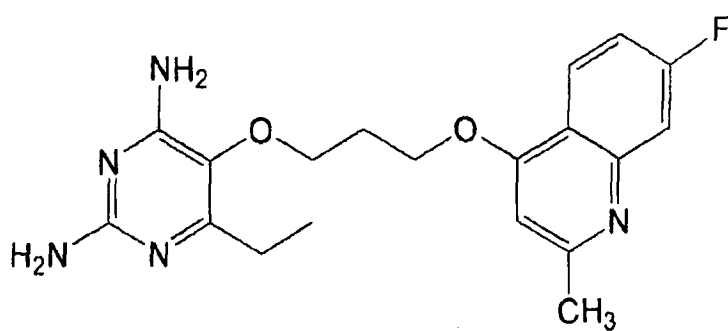


图 5

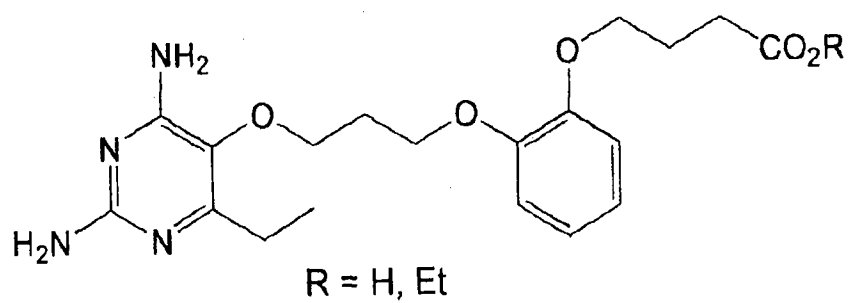


图 6

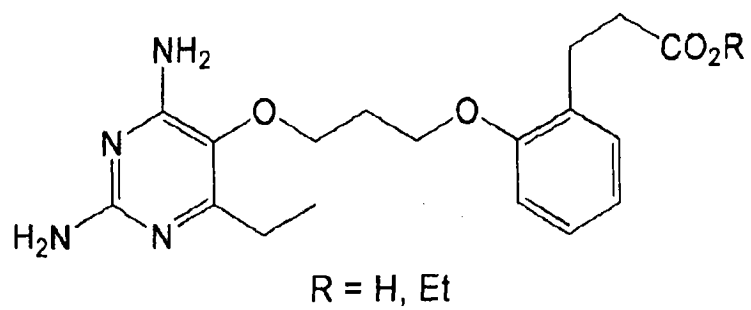


图 7

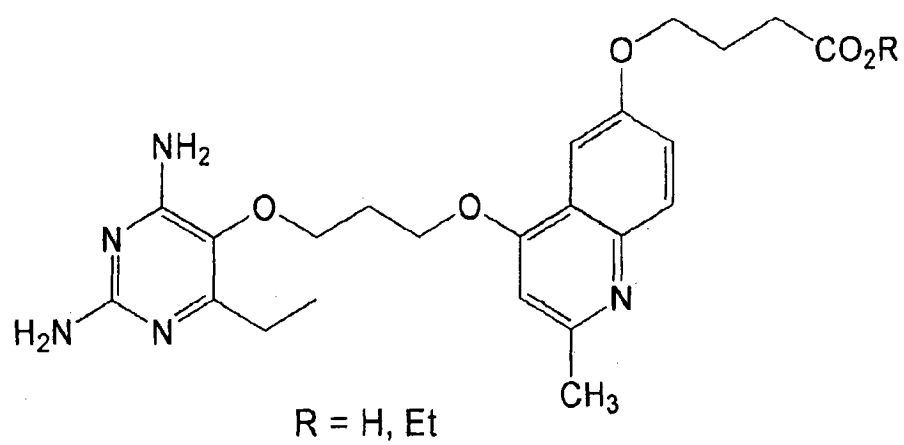


图 8

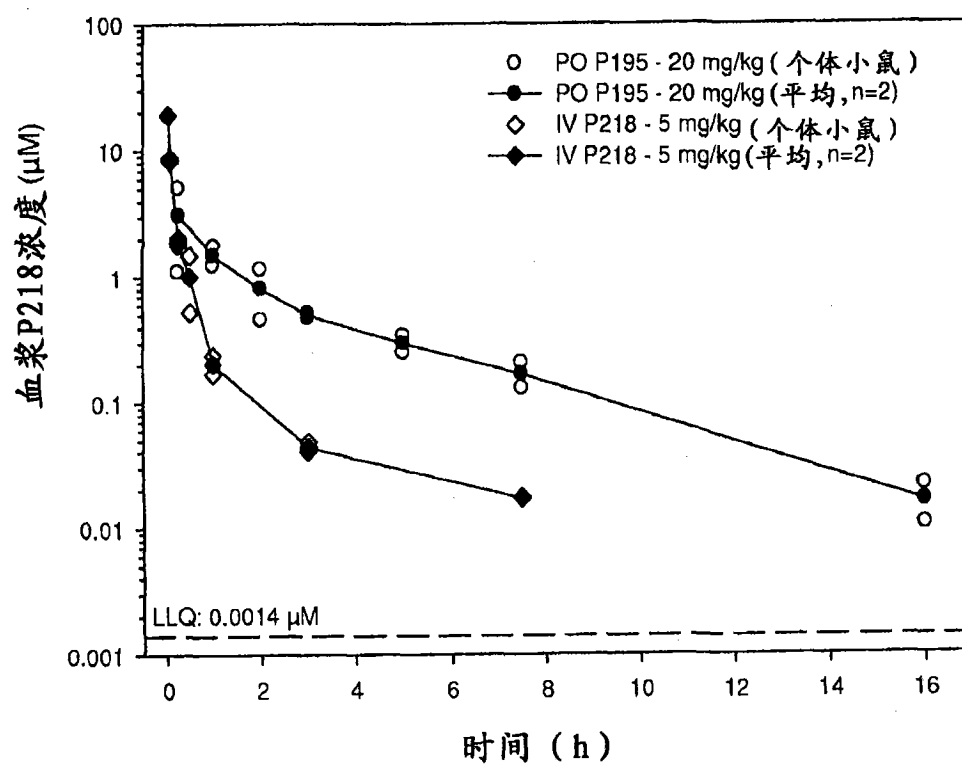


图 9