(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 115867319 B
(45)授权公告日 2024.01.02

(21)申请号 202180049488.5
(22)申请日 2021.07.13
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115867319 A
(43)申请公布日 2023.03.28
(66)本国优先权数据
PCT/CN2020/102115 2020.07.15 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.01.10
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2021/105899 2021.07.13
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/012492 EN 2022.01.20
(73)专利权人 上海椿安生物医药科技有限公司
地址 201321 上海市浦东新区紫萍路908弄22号2楼
(72)发明人 张浩 张纬江 冯立春 吴国龙 李大峰
(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所 11517
专利代理师 何箏 张璐
(51)Int.Cl.
A61K 47/36(2006.01)
(56)对比文件
CN 103751795 A,2014.04.30
CN 104491875 A,2015.04.08
CN 1705683 A,2005.12.07
CN 107096036 A,2017.08.29
KR 20140104637 A,2014.08.29
CN 101745119 A,2010.06.23
CN 108467439 A,2018.08.31
WO 2020122816 A1,2020.06.18
CN 104603156 A,2015.05.06
审查员 王雨茹

权利要求书17页 说明书223页

(54)发明名称

用于局部递送治疗剂的药物递送系统以及其用途

(57)摘要

本文提供了用于局部递送治疗剂的药物递送系统和方法以及用于使用此类药物递送系统治疗疾病的方法。

CN 115867319 B

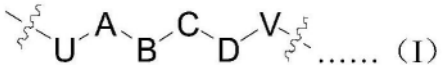
1.一种用于以受控速率局部递送治疗剂的药物递送系统,所述药物递送系统包括:

生物聚合物,所述生物聚合物至少包括第一结合基团BG1,并且选自透明质酸或硫酸软骨素;

治疗剂,所述治疗剂至少包括第二结合基团BG2,并且选自托法替尼、鲁索替尼、巴瑞克替尼或奥拉替尼;以及

连接子,所述连接子将所述生物聚合物与所述治疗剂共价连接并且能够将所述治疗剂保留在施用位置;

其中所述连接子包括式(I)的结构:



……(I)

其中

U通过BG1与所述生物聚合物连接;

其中,

BG1为羧基并且U为-N(R^1)-或

,使得酰胺键被形成;或

BG1为羧基并且U为-O-或直接键,使得酯键被形成;

A选自直接键、烷基和-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中所述烷基任选地被一个或多个R^a基团取代;

B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基、-O-杂芳基,其中烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的每一个任选地被一个或多个R^b基团取代;

C选自直接键、-C(=O)-、-C(=O)N(R^2)-、-N(R^2)C(=O)-、-$[CH_2NHC(=O)]_n$-、-$[NHC(=O)CH_2]_n$-和-NH$(CH_2)_p$C(=O)-;

D选自直接键、烷基和芳基,其中所述烷基任选地被一个或多个R^c基团取代;

V通过BG2与所述治疗剂连接;

其中BG2是胺基,V选自以下之一:

(a)-N(R^2)C(=O)-,所述-N(R^2)C(=O)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得脲键被形成;

(b)-N(R^2)C(S)-,所述-N(R^2)C(S)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得硫脲键被形成;

(c)-OC(=O)-,所述-OC(=O)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氨基甲酸酯键被形成;

(d)-OC(=S)-,所述-OC(=S)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得硫代氨基甲酸酯键被形成;

(e)-OC(=O)OCH_2-,所述-OC(=O)OCH_2-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氮杂-缩醛键被形成;

(f)-C(=O)OCH_2-,所述-C(=O)OCH_2-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氮杂-缩醛键被形成;

(g)-N(R^2)C(=O)OCH_2-,所述-N(R^2)C(=O)OCH_2-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氮杂-缩醛键被形成;

(h)-OP(=O)(OPh)-,所述-OP(=O)(OPh)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氨基磷酸酯键被形成;

(i)-N(R^2)P(=O)(OPh)-,所述-N(R^2)P(=O)(OPh)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氨

基磷酸酯键被形成;

(j)-C(=O)-,所述-C(=O)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得酰胺键被形成;

R^1和R^2独立地选自由以下组成的组:氢、烷基、烯基和炔基;

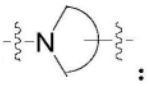
R^a、R^b和R^c独立地选自卤素、羟基、氨基、氰基、硝基、烷基、烷氧基、-C(=O)OR^e和=NH;

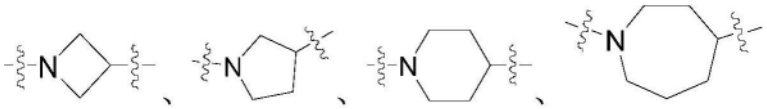
R^e是烷基;

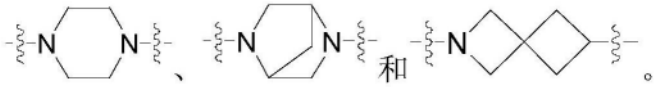
m为0至4的整数;

n为1至4的整数;并且

p为1至4的整数。

2.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中U为选自由以下组成的组的:




和。

3.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为直接键。

4.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为烷基。

5.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为-$(CH_2CH_2O)_m$-。

6.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中B为直接键。

7.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中B为烷基。

8.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中B为环烷基、芳基或杂芳基。

9.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中B为-O-芳基。

10.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为直接键,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。

11.根据权利要求10所述的药物递送系统,其中A为直接键,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、芳基和杂芳基。

12.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为烷基,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基和-O-杂芳基。

13.根据权利要求12所述的药物递送系统,其中A为烷基,B选自由以下组成的组:直接键、芳基或-O-芳基。

14.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为-$(CH_2CH_2O)_m$-,B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。

15.根据权利要求14所述的药物递送系统,其中A为-$(CH_2CH_2O)_m$-,B选自由以下组成的组:直接键、烷基、芳基和杂芳基。

16.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中C为直接键。

17.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中C为-C(=O)-。

18.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中C为-N(R^2)C(=O)-或-C(=O)N(R^2)-。

19.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中C为-$[CH_2NHC(=O)]_n$-。

20.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中C为-$[NHC(=O)CH_2]_n$-。

21.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中C为-NH$(CH_2)_p$C(=O)-。

22.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为烷基,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基和-O-杂芳基,并且C选自由以下组成的组:直接键、-C(=O)-、-N(R^2)C(=O)-、-[CH_2NHC(=O)]$_n$-、-[NHC(=O)CH_2]$_n$-和-NH$(CH_2)_p$C(=O)-。

23.根据权利要求22所述的药物递送系统,其中A为烷基,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基和-O-杂芳基,并且C为直接键、-N(R^2)C(=O)-或-[NHC(=O)CH_2]$_n$-。

24.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中A为-$(CH_2CH_2O)_m$-,B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基,并且C为直接键或-N(R^2)C(=O)-。

25.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中D为直接键。

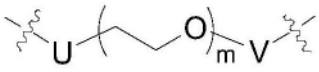
26.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中D为烷基。

27.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中D为芳基。

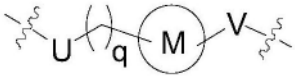
28.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中所述连接子包括式(Ia)至(Im)的结构:



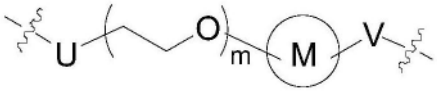
(Ia)、



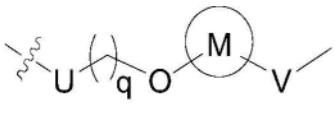
(Ib)、

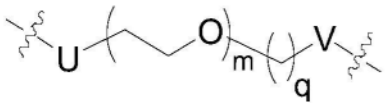


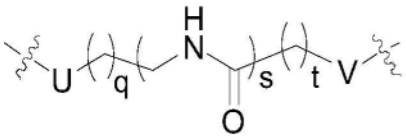
(Ic)、

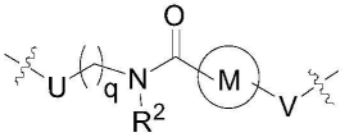


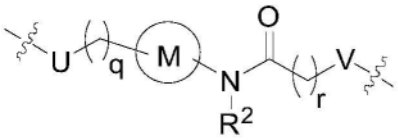
(Id)、

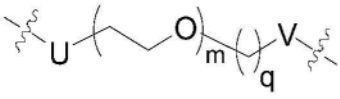

(Ie)、

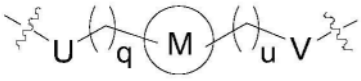

(If)、

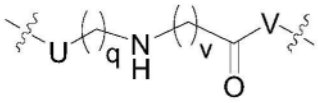

(Ig)、

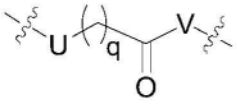

(Ih)、

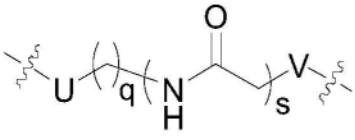

(Ii)、

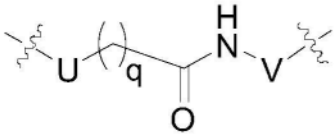

(Ij)、


(Ik)、


(Il)、


(Im)、


(In)和

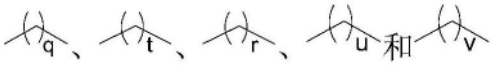

(Io)，

其中，

U和V如权利要求1中所定义；

M选自由以下组成的组：环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，其中每一个任选地被一个或多

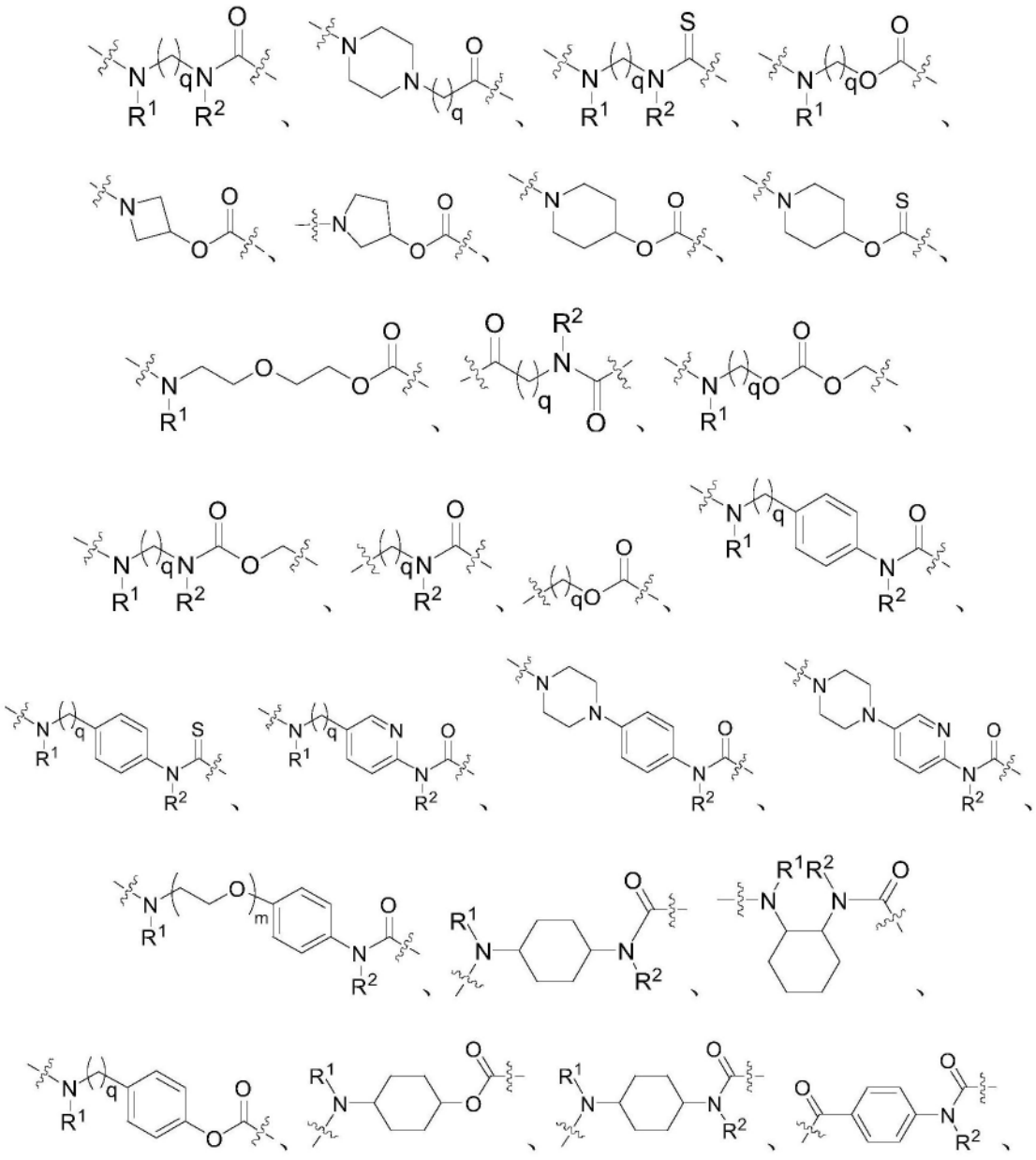
个R^b基团取代；

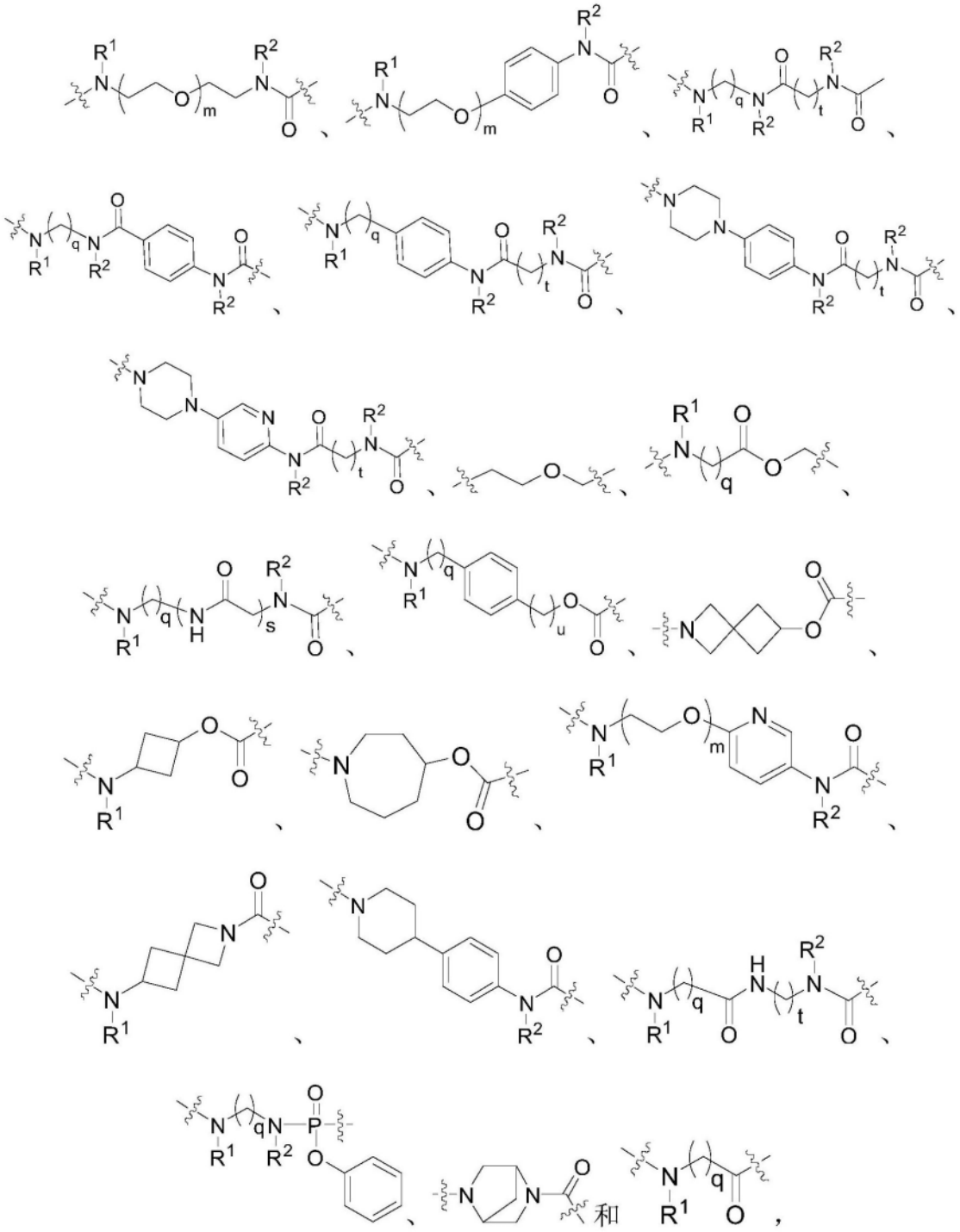
中的每一个任选地被-C(=O)OCH_3取代；并且

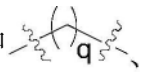
q、r、s、t、u和v独立地是0至5的整数。

29.根据权利要求28所述的药物递送系统，其中M选自由以下组成的组：环己基、苯基、吡啶基、噻唑基和金刚烷基。

30.根据权利要求28所述的药物递送系统，其中所述连接子包括选自由以下组成的组的结构：





其中  和  中的每一个任选地被-C(=O)OCH_3取代。

31.根据权利要求30所述的药物递送系统,其中所述生物聚合物为透明质酸。

32.根据权利要求30所述的药物递送系统,其中所述生物聚合物为硫酸软骨素。

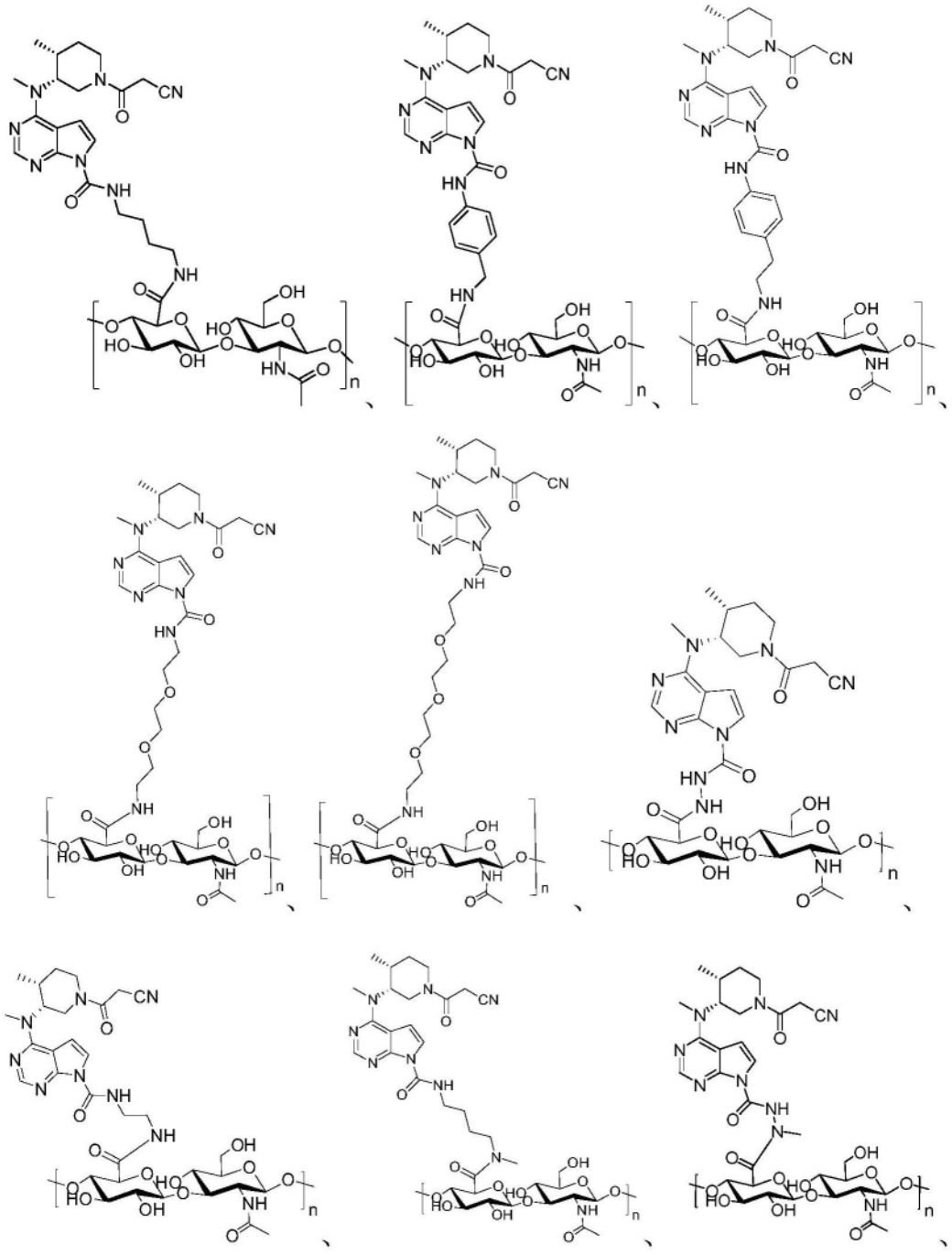
33.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中所述治疗剂为托法替尼。

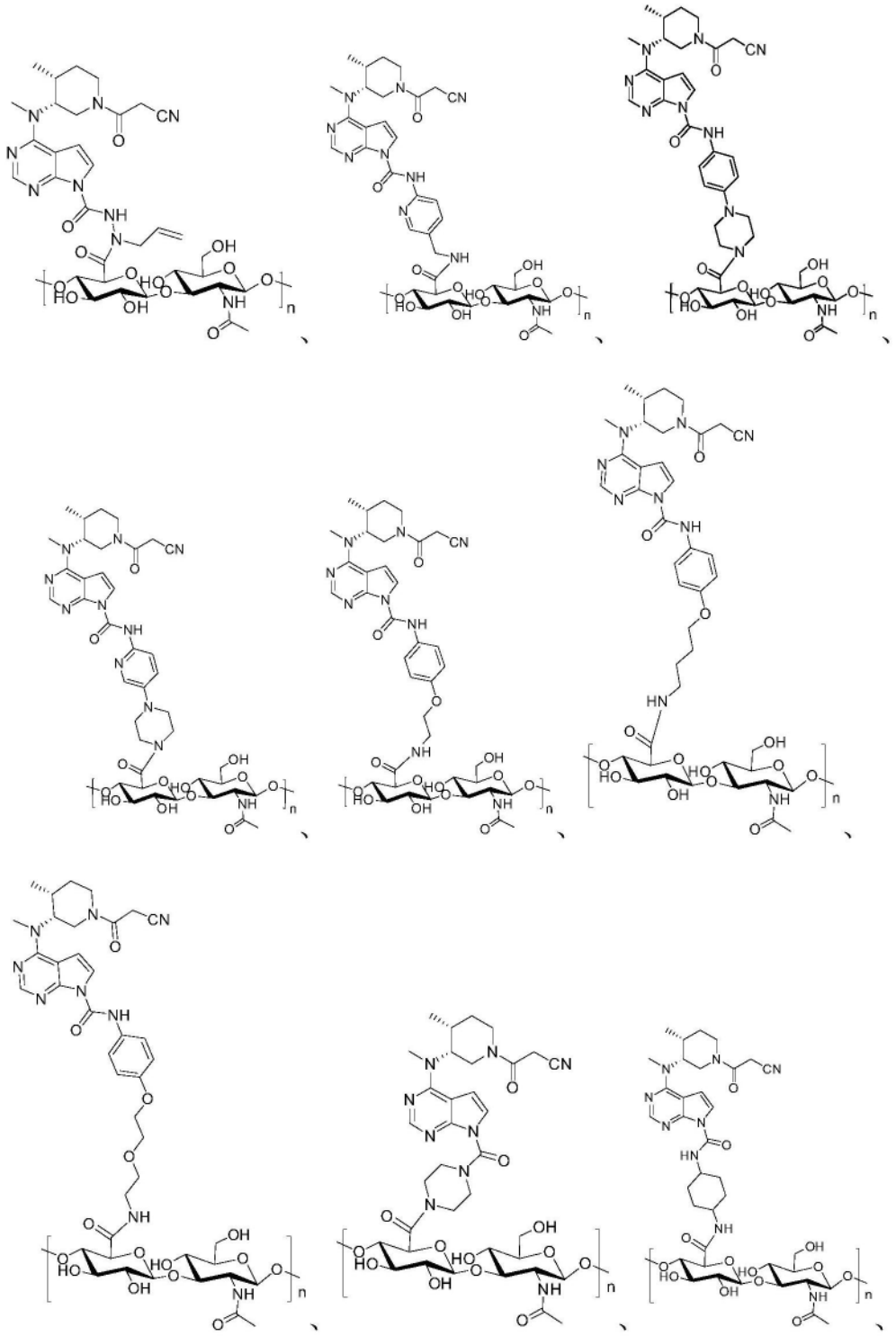
34.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中所述治疗剂为鲁索替尼。

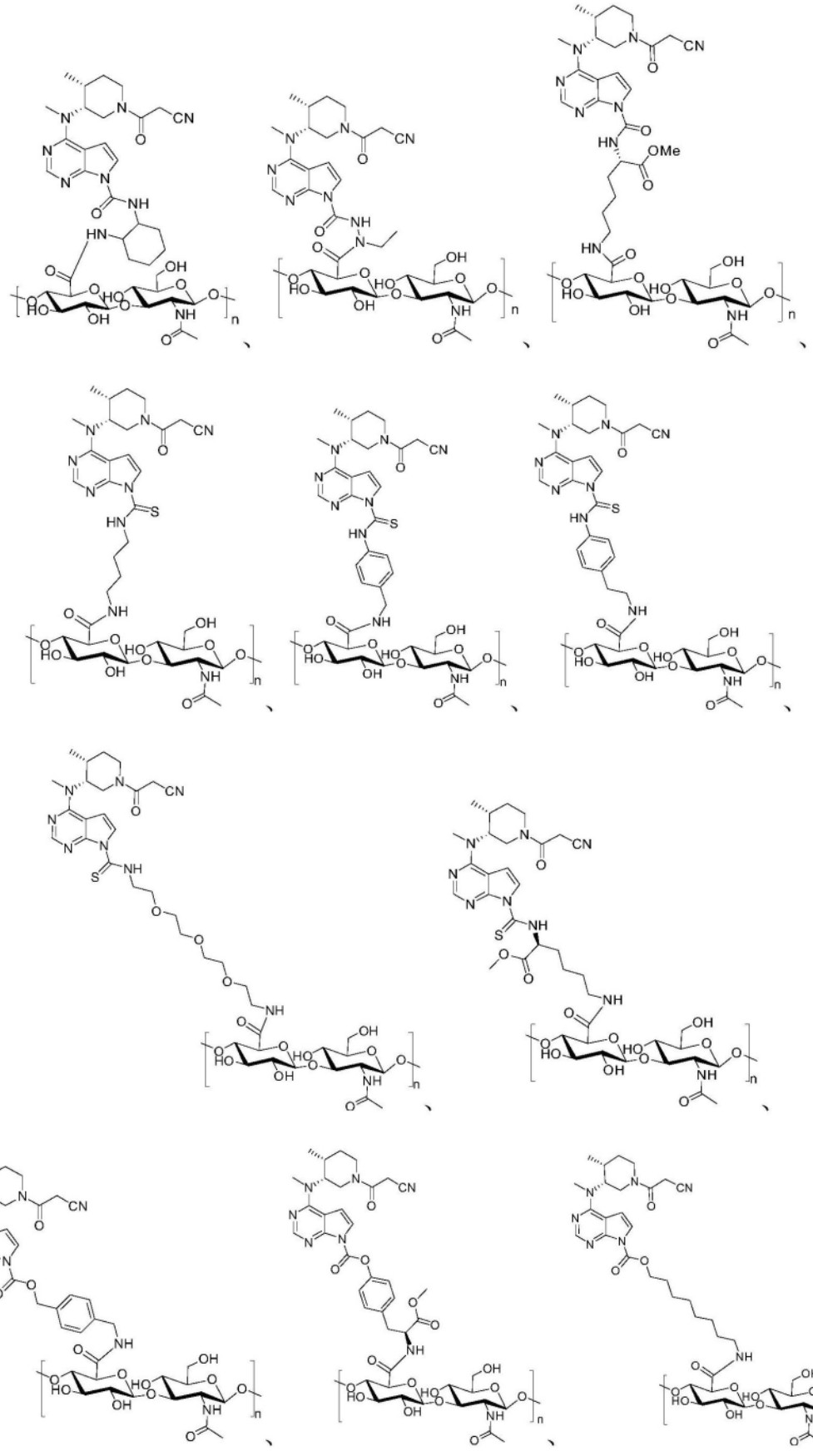
35.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中所述治疗剂为巴瑞克替尼。

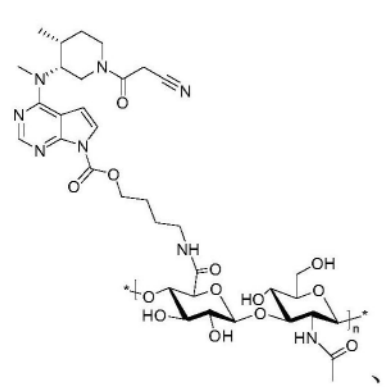
36.根据权利要求1所述的药物递送系统,其中所述治疗剂为奥拉替尼。

37.根据权利要求1所述的药物递送系统,其选自由以下组成的组:

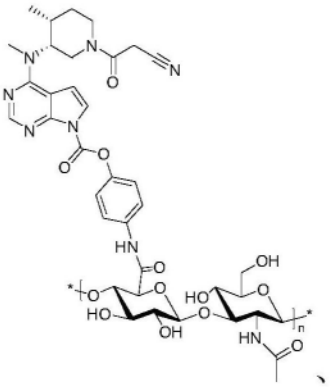




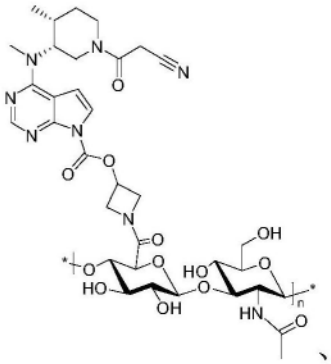




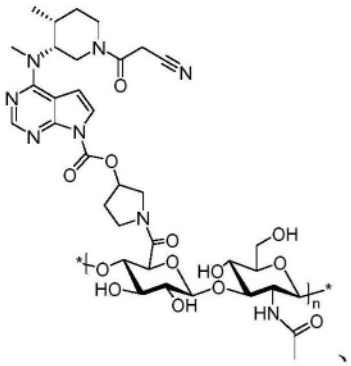
、



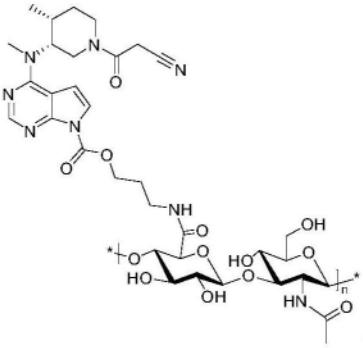
、



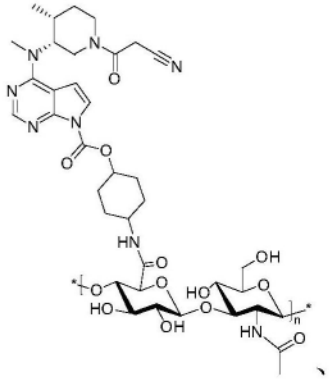
、



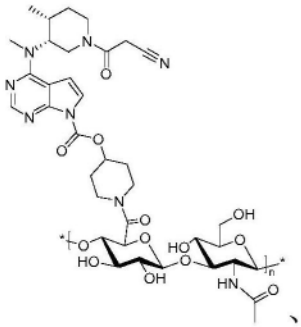
、



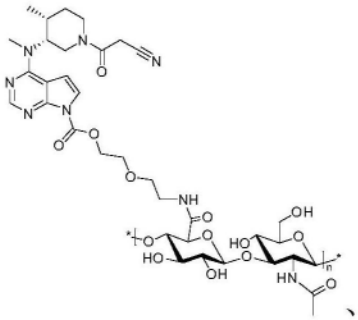
、



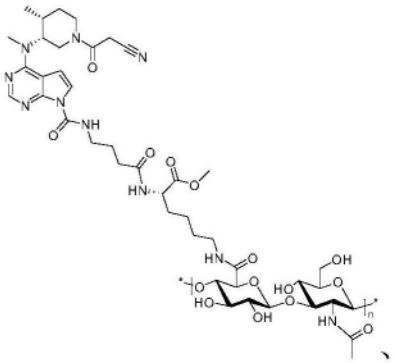
、



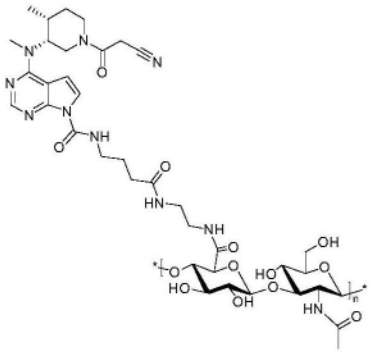
、



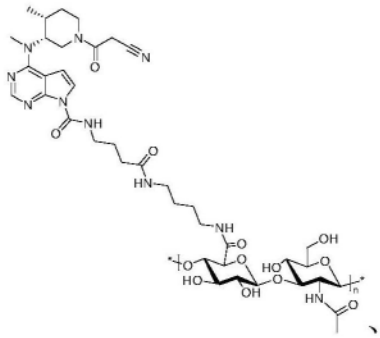
、



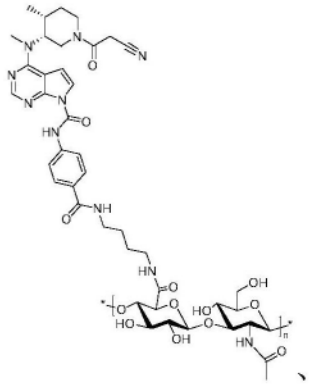
、



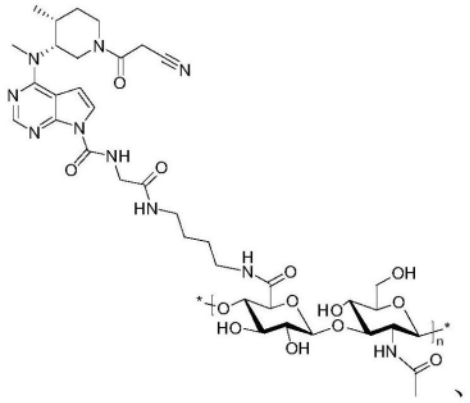
、



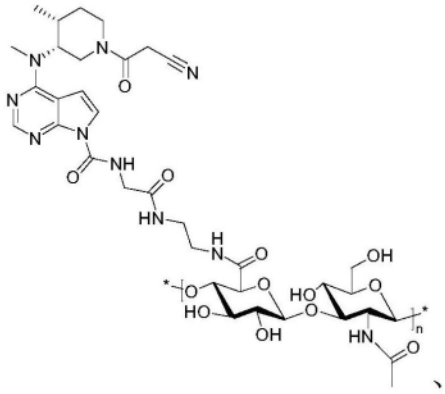
、



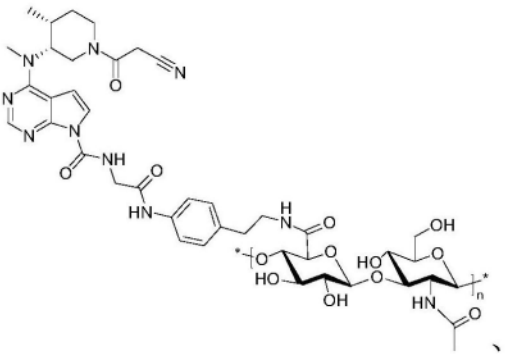
、



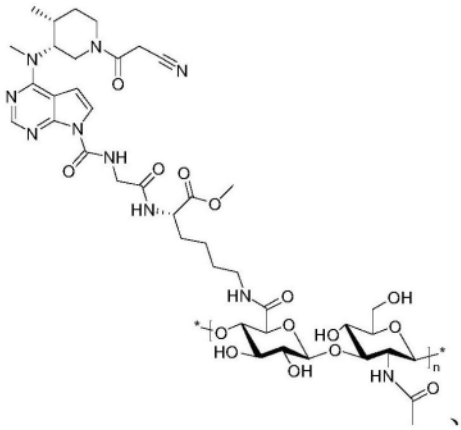
、



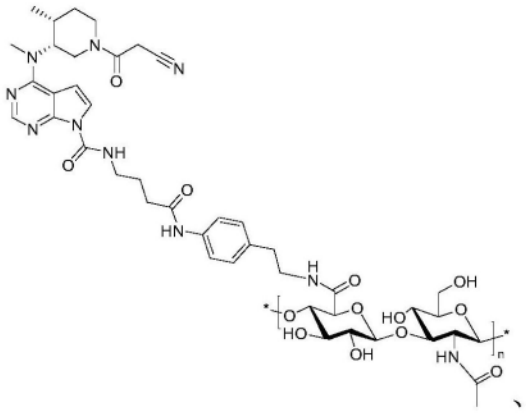
、



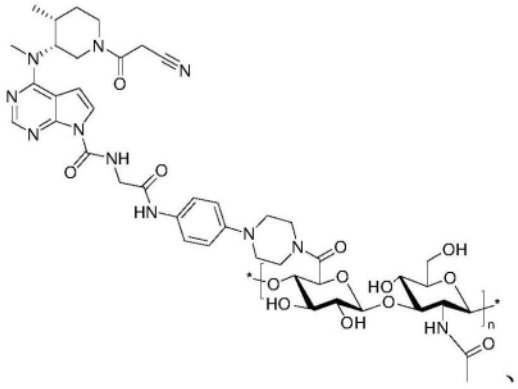
、



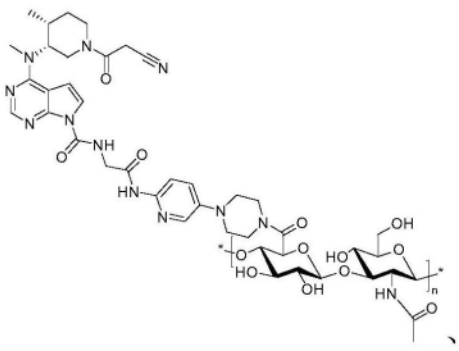
、



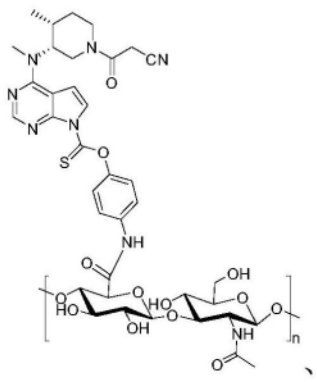
、



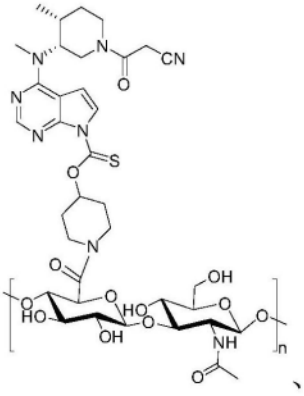
、



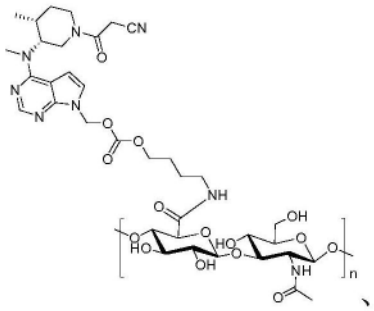
、



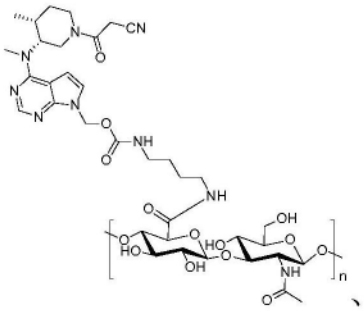
、



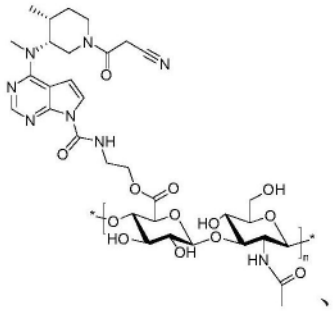
、



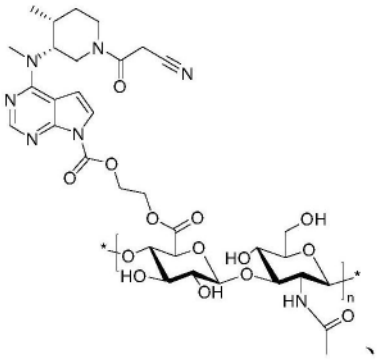
、



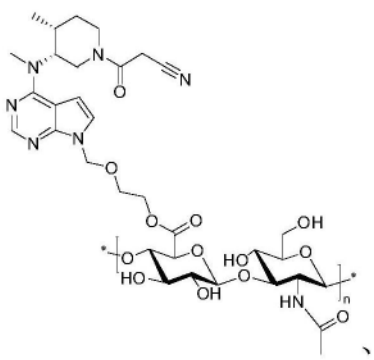
、



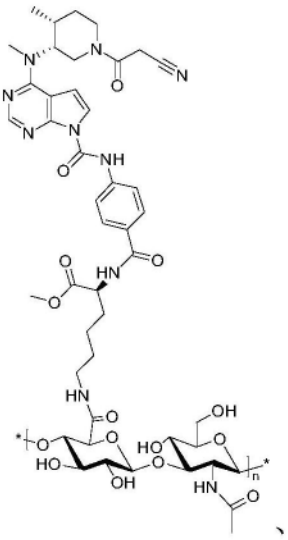
、



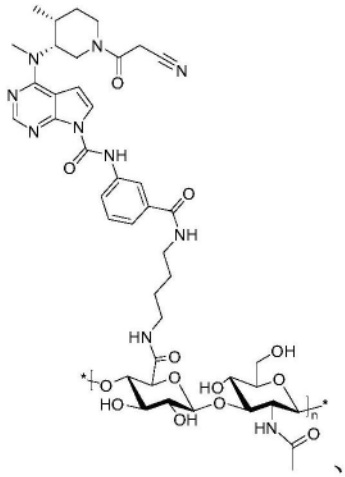
、



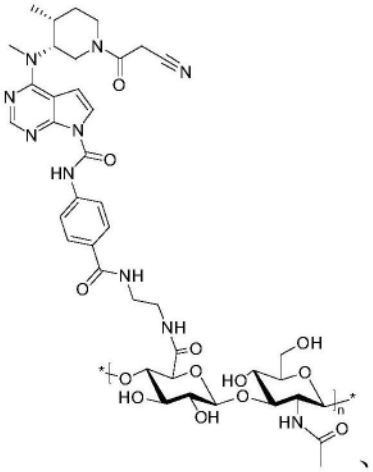
、



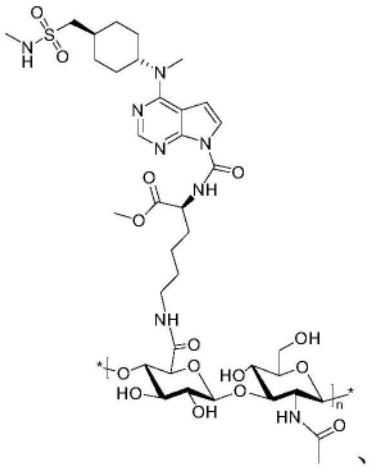
、



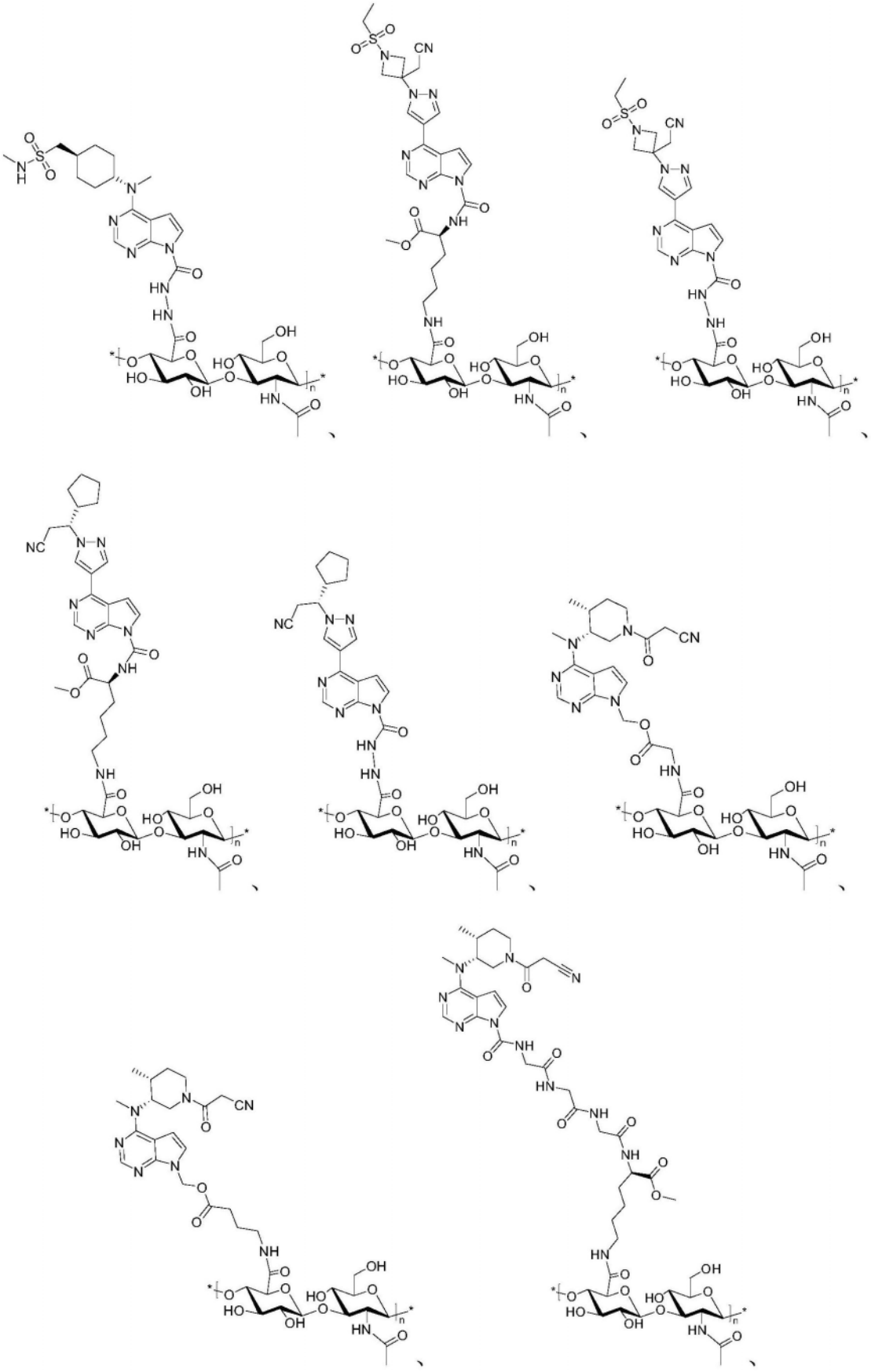
、

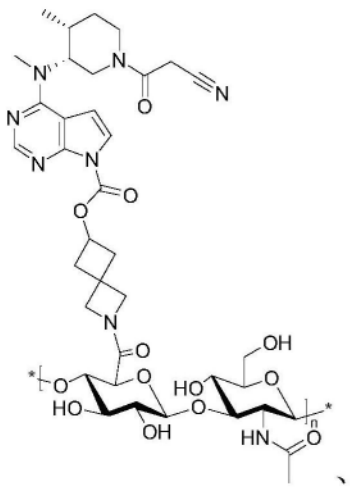


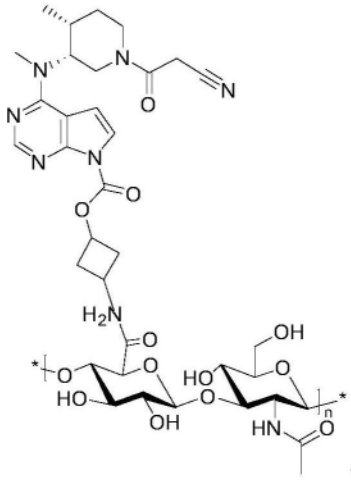
、

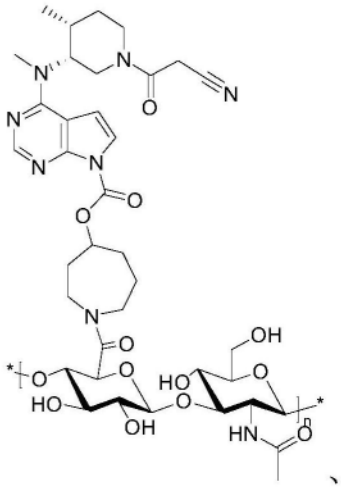


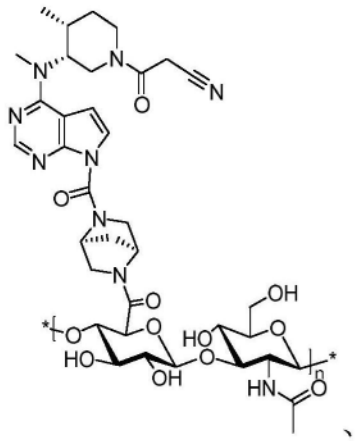
、

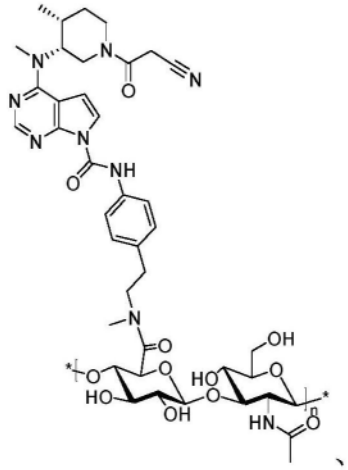


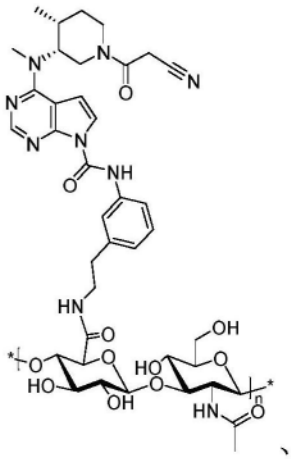


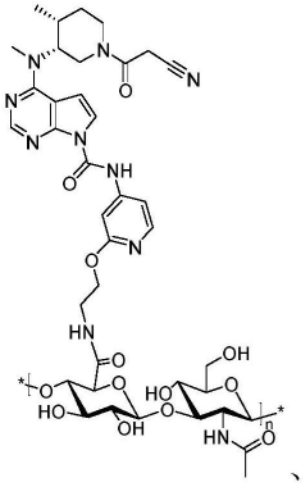


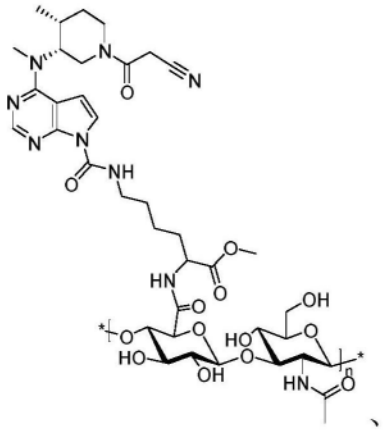


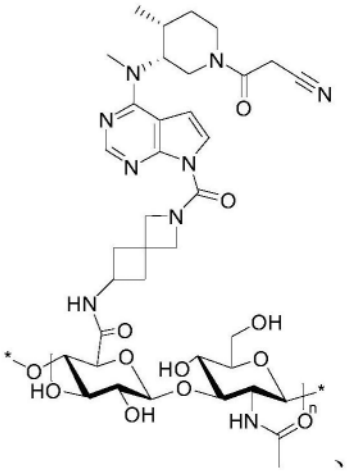


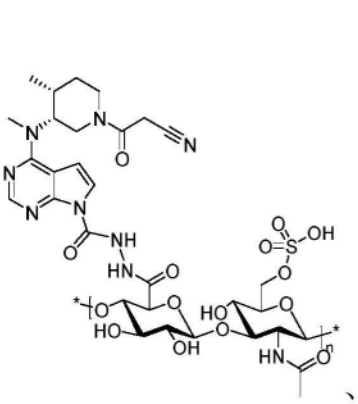


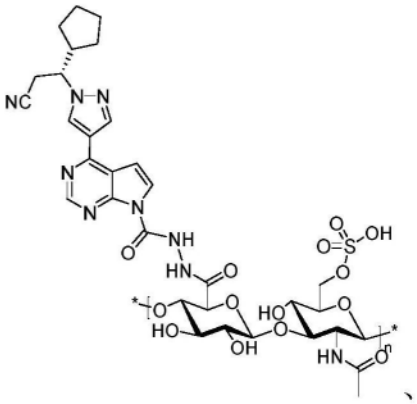


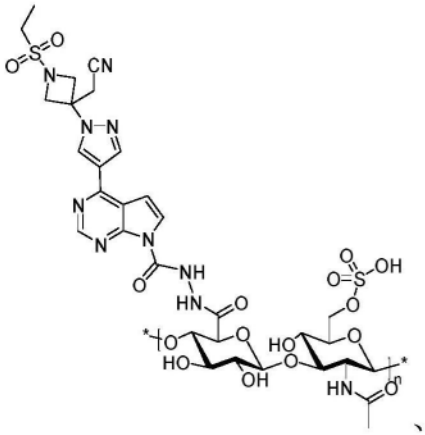


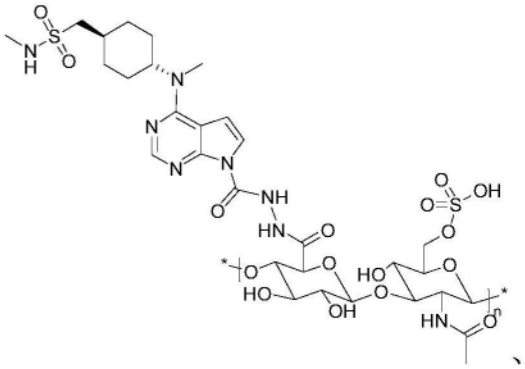


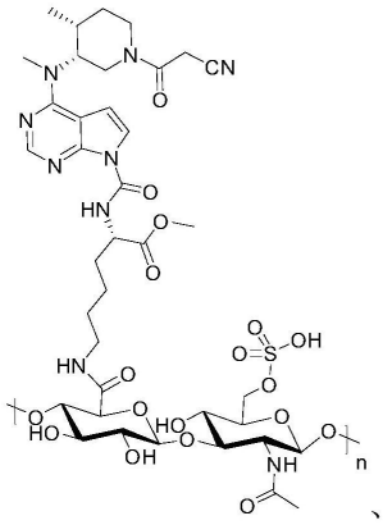


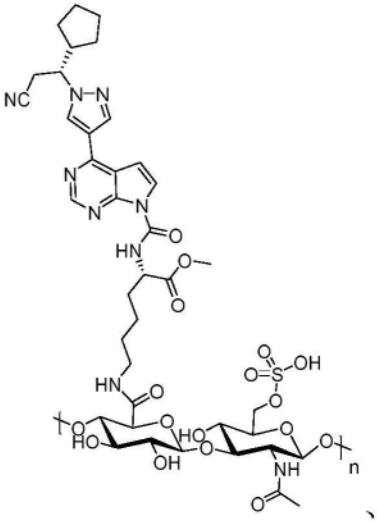


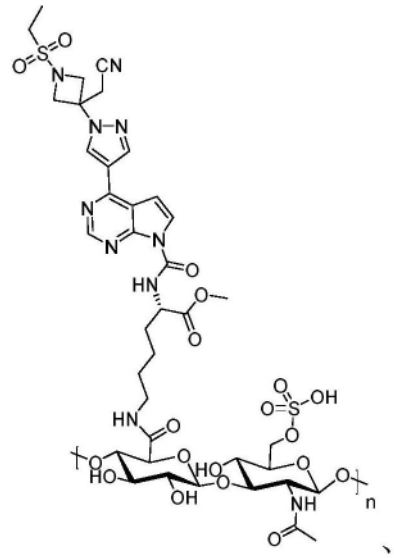
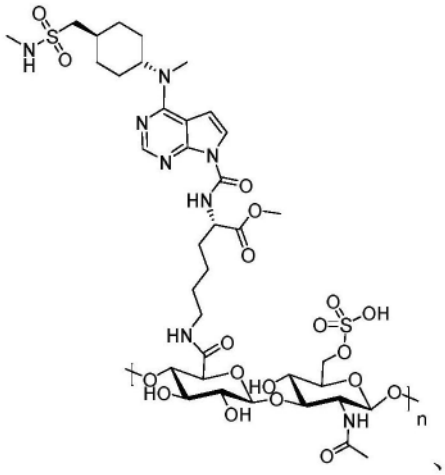
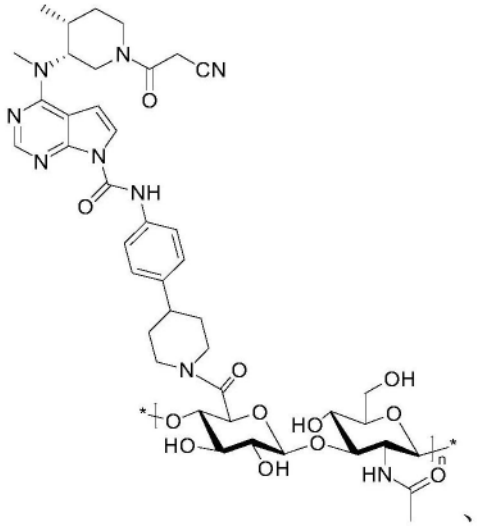
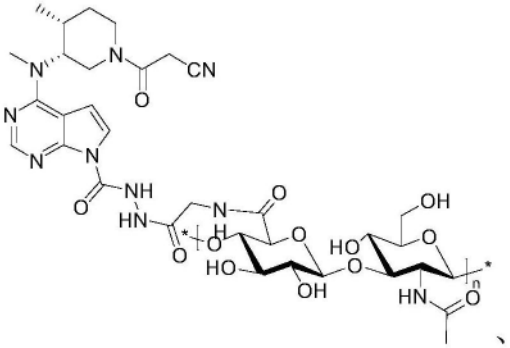
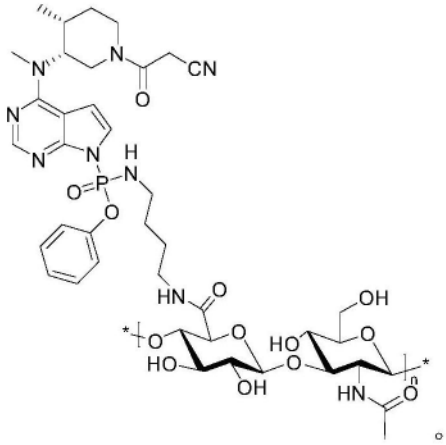










38.根据权利要求1至37中任一项所述的药物递送系统,其中所述药物递送系统被局部施用于有需要的受试者。

39.根据权利要求38所述的药物递送系统,其中所述药物递送系统通过注射被局部施用于有需要的受试者。

40.根据权利要求38所述的药物递送系统,其中所述药物递送系统通过口服剂型被局

部施用于有需要的受试者。

41.根据权利要求38所述的药物递送系统,其中所述药物递送系统通过吸入被局部施用于有需要的受试者。

42.根据权利要求38所述的药物递送系统,其中所述药物递送系统通过植入物被局部施用于有需要的受试者。

43.根据权利要求38所述的药物递送系统,其中所述药物递送系统通过局部应用被局部施用于有需要的受试者。

44.一种药物组合物,其包括根据权利要求1至43中任一项所述的药物递送系统以及药学上可接受的赋形剂。

用于局部递送治疗剂的药物递送系统以及其用途

技术领域

[0001] 本公开涉及用于局部递送治疗剂的药物递送系统和方法以及用于使用此类药物递送系统治疗疾病的方法。

背景技术

[0002] 大多数治疗剂通过口服/GI吸收或全身注射全身性地递送到身体。这些递送途径方便并且适合于治疗全身性疾病。然而,许多疾病是局部病症。尽管全身性地施用的治疗剂可以有效治疗这些病症,但这些治疗剂也可以靶向可能导致副作用或不良反应的其它组织或结合位点。为了减少全身副作用,局部施用的药物递送系统是期望的。将治疗剂递送到期望的位点不像口服或通过注射服用药物那样容易。因此,一种长期、持续释放的用于局部递送药物的药物递送系统是医生和患者接受此类产品的必要条件。此外,在向受试者施用药物后,治疗剂在递送位点处维持有效浓度的释放曲线可能显著影响治疗剂的有效性。因此,治疗剂在身体内特定靶组织或位点处的药物递送代表了制药行业中的长期挑战。

[0003] 已经开发了许多药物递送系统以提供具有组织特异性或所期望释放曲线的受控药物递送。最常见的局部药物递送系统是使用可生物降解聚合物来控制治疗剂的释放速率。这些药物递送系统通过生物聚合物侵蚀和药物分子扩散两者释放药物。这种复杂的释放控制给药物产品制造和质量控制带来了巨大挑战。因此,仍然需要开发在治疗剂释放受控并且副作用减少的情况下可以将治疗剂局部递送到特定组织的药物递送系统。

[0004] 成功的局部药物递送系统有三个关键特性:在递送位点处维持递送系统的能力;以期望速率和曲线释放治疗剂的能力;以及使用治疗剂治疗局部病症的能力。本公开提供了一种不同的方法来实现用于局部药物递送系统的这些关键特性。即,生物聚合物,由于其大分子尺寸而将药物递送系统保持在递送位点处;治疗剂,其从上市产品中选择,或其活性已被后期临床研究证明;以及与所述生物聚合物和所述治疗剂共价结合的连接子,其在化学上不稳定并且在降解时以期望速率向特定递送位点和特定疾病释放治疗剂。

发明内容

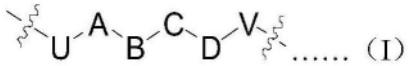
[0005] 一方面,本公开提供了一种用于以受控速率局部递送治疗剂的药物递送系统,所述药物递送系统包括:

[0006] 生物聚合物,所述生物聚合物至少包括第一结合基团BG1,所述第一结合基团BG1选自由以下组成的组:羟基、羧基、氨基以及其组合;

[0007] 治疗剂,所述治疗剂至少包括第二结合基团BG2,所述第二结合基团BG2选自由以下组成的组:羟基、羧基、氨基、酰胺基、胺基以及其组合;以及

[0008] 连接子,所述连接子将所述生物聚合物与所述治疗剂共价连接并且能够将所述治疗剂保留在施用位置;

[0009] 其中所述连接子包括式(I)的结构:

[0010] 

..... (I)

[0011] 其中

[0012] U通过BG1与所述生物聚合物连接,使得选自酯或酰胺的至少一个键被形成,并且U选自由以下组成的组:直接键、-N(R^1)-、-O-、-C(=O)-和,其中是含氮杂环基,所述含氮杂环基任选地包括选自N、O或S的一个或多个另外的杂原子;

[0013] A选自直接键、烷基和-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中所述烷基任选地被一个或多个R^a基团取代;

[0014] B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基、-O-杂芳基,其中烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的每一个任选地被一个或多个R^b基团取代;

[0015] C选自直接键、-C(=O)-、-C(=O)N(R^2)-、-N(R^2)C(=O)-、-$[CH_2NHC(=O)]_n$-、-$[NHC(=O)CH_2]_n$-和-$NH(CH_2)_pC(=O)$-;

[0016] D选自直接键、烷基和芳基,其中所述烷基任选地被一个或多个R^c基团取代;

[0017] V通过BG2与所述治疗剂连接,使得选自由以下组成的组的至少一个键被形成:酰胺、脲、硫脲、氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯、氨基磷酸酯、氮杂-缩醛以及其组合,并且V选自由以下组成的组:直接键、-C(=O)-、-N(R^2)C(=O)-、-N(R^2)C(S)-、-OC(=O)-、-OC(=S)-、-OC(=O)OCH_2-、-C(=O)OCH_2-、-N(R^2)C(=O)OCH_2-、-OP(=O)(OPh)-和-N(R^2)P(=O)(OPh)-;

[0018] R^1和R^2独立地选自氢、烷基、烯基和炔基;

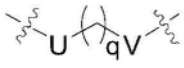
[0019] R^a、R^b和R^c独立地选自卤素、羟基、氨基、氰基、硝基、烷基、烷氧基、-C(=O)OR^e和=NH;

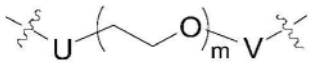
[0020] m为0至4的整数;

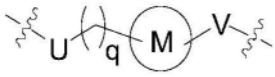
[0021] n为1至4的整数;并且

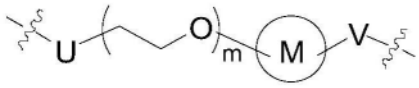
[0022] p为1至4的整数。

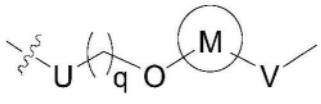
[0023] 在一些实施方式中,本文所提供的药物递送系统中的所述连接子包括式(Ia)至(Im)的结构:


(Ia)、

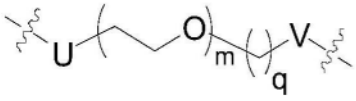

(Ib)、

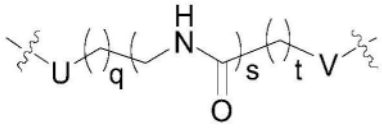

(Ic)、

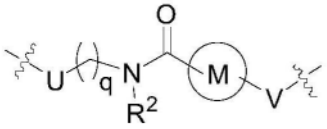

(Id)、

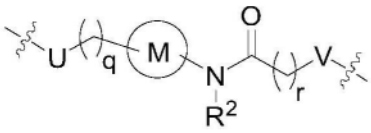

(Ie)、

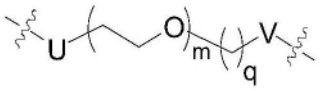
[0024]

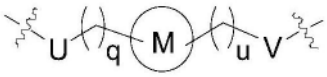

(If)、

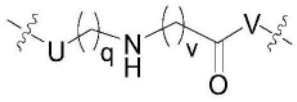

(Ig)、


(Ih)、

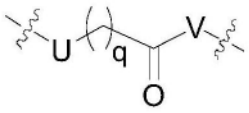

(Ii)、

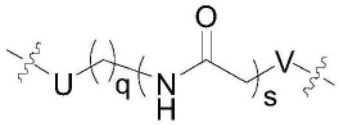

(Ij)、

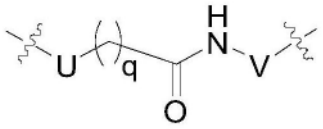

(Ik)、


(Il)、

[0025]


(Im)、


(In)和


(Io)，

[0026] 其中，

[0027] U和V如本申请中所定义；

[0028] M选自由以下组成的组：环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，其中每一个任选地被一个或多个R^b基团取代；并且

[0029] q、r、s、t、u和v独立地是0至4的整数。

[0030] 在一些实施方式中，本文所提供的药物递送系统中的生物聚合物选自由以下组成的组：透明质酸、壳聚糖、甲壳素、软骨素或其衍生物。

[0031] 在一些实施方式中，本文所提供的药物递送系统中的治疗剂选自由以下组成的组：抗炎药、Janus激酶(JAK)抑制剂、血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂、抗癌药物和可能具有严重全身毒性的任何药物。

[0032] 另一方面，本公开提供了一种药物组合物，所述药物组合物包括本文所提供的药物递送系统以及药学上可接受的赋形剂。

[0033] 另一方面，本公开提供了一种治疗有需要的受试者的病症的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所提供的药物递送系统或药物组合物。

具体实施方式

[0034] 现在将详细参考本公开的某些实施方式，在所附结构和式中展示了所述实施方式的实例。虽然将结合所列举的实施方式描述本公开，但应理解，所述实施方式不旨在将本公开限于那些实施方式。相反，本公开旨在涵盖所有替代方案、修改和等效物，所述替代方案、修改和等效物可以包括在如本申请所定义的本公开的范围内。本领域技术人员将认识到可以在实践本公开时使用的与本文所描述的方法和材料类似或等效的许多方法和材料。本公

开决不限于所描述的方法和材料。在所并入的参考文献和类似材料中的一个或多个(包括但不限于所定义的术语、术语用法、所描述的技术等)与本申请不同或相矛盾的情况下,以本公开为准。本公开中所引用的所有参考文献、专利、专利申请均据此通过引用全文并入。

[0035] 应理解,为清楚起见而在单独实施方式的上下文中描述的本公开的某些特征也可以在单个实施方式中组合提供。相反,为简洁起见而在单个实施方式的上下文中描述的本公开的各种特征也可以单独提供或以任何合适的子组合提供。必须指出,除非上下文另外明确指示,否则如在本申请中所使用的,单数形式“一种(a或an)”和“所述(the)”包括其复数形式。

[0036] 定义

[0037] 下文更详细地描述了具体官能团和化学术语的定义。出于本公开的目的,化学元素是根据元素周期表(Periodic Table of the Elements),CAS版,《物理和化学手册(Handbook of Chemistry and Physics)》,第75版,内封面来标识的,并且具体的官能团总体上是如本文所描述那样定义的。另外,有机化学的一般原理以及特定的功能部分和反应性描述于以下文献中:《有机化学(Organic Chemistr)》,Thomas Sorrell,第2版,索萨利托科学书籍出版社(University Science Books,Sausalito),2006;Smith和March,《三月先进有机化学(March's Advanced Organic Chemistry)》,第6版,纽约的约翰威利父子出版公司(John Wiley&Sons,Inc.,New York),2007;Larock,《复杂有机转换(Comprehensive Organic Transformations)》,第3版,纽约VCH出版社有限公司(VCH Publishers,Inc.,New York),2018;Carruthers,《一些现代有机合成方法(Some Modern Methods of Organic Synthesis)》,第4版,剑桥的剑桥大学出版社(Cambridge University Press,Cambridge),2004;上述文献中的每个文献的全部内容通过引用并入本文。

[0038] 在本公开的各处,描述了连接取代基。尤其希望的是,每个连接取代基都包括连接取代基的正向形式和反向形式两者。例如,-NR(CR'R")-包括-NR(CR'R")-和-(CR'R")NR-两者。在结构明确需要连接基团的情况下,针对所述基团所列的马库什变量(Markush variable)被理解为连接基团。例如,如果结构需要连接基团且所述变量的马库什组定义列出“烷基”,则应理解“烷基”表示连接亚烷基。

[0039] 在显示与取代基连接的键与连接环中两个原子的键交叉时,此类取代基可以与环中的任何原子键合。在列出取代基,但未指定此类取代基通过哪个原子与给定式的化合物的剩余部分键合时,此取代基可以通过此式中的任何原子键合。取代基和/或变量的组合是允许的,但仅在此类组合产生稳定化合物时才允许。

[0040] 在任何变量(例如,R^i)在化合物的任何成分或式中出现多于一次时,其在每次出现时的定义独立于其在其它每次出现时的定义。因此,例如,如果显示基团被0至2个R^i部分取代,则所述基团可以任选地被至多两个R^i部分取代,并且R^i在每次出现时各自独立地选自R^i的定义。而且,取代基和/或变量的组合是允许的,但仅在此类组合产生稳定化合物时才允许。

[0041] 如本文所使用的,术语“C_{i-j}”指示碳原子数量的范围,其中i和j是整数,并且碳原子数量的范围包括端点(即,i和j)和其间的每个整数点,并且其中j大于i。例如,C_{1-6}指示一至六个碳原子的范围,包括一个碳原子、两个碳原子、三个碳原子、四个碳原子、五个碳原子和六个碳原子。在一些实施方式中,术语“C_{1-12}”指示1至12个碳原子,尤其是1至10个碳原

子,尤其是1至8个碳原子,尤其是1至6个碳原子,尤其是1至5个碳原子,尤其是1至4个碳原子,尤其是1至3个碳原子或尤其是1至2个碳原子。

[0042] 如本文所使用的,术语“烷基”,不论作为另一个术语的一部分还是独立地使用,是指可以任选地独立地被一个或多个下文所描述的取代基取代的饱和直链或支链烃基。术语“C_{i-j}烷基”是指具有i至j个碳原子的烷基。在一些实施方式中,烷基含有1至10个碳原子。在一些实施方式中,烷基含有1至9个碳原子。在一些实施方式中,烷基含有1至8个碳原子、1至7个碳原子、1至6个碳原子、1至5个碳原子、1至4个碳原子、1至3个碳原子或1至2个碳原子。“C_{1-10}烷基”的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基和癸基。“C_{1-6}烷基”的实例为甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-1-丁基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、3-甲基-3-戊基、2-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-2-丁基、3,3-二甲基-2-丁基等。

[0043] 如本文所使用的,术语“烯基”,不论作为另一个术语的一部分还是独立地使用,是指可以任选地独立地被一个或多个本文所描述的取代基取代的具有至少一个碳-碳双键的直链或支链烃基并且包括具有“顺式”取向和“反式”取向或可替代地“E”取向和“Z”取向的基团。在一些实施方式中,烯基含有2至12个碳原子。在一些实施方式中,烯基含有2至11个碳原子。在一些实施方式中,烯基含有2至11个碳原子、2至10个碳原子、2至9个碳原子、2至8个碳原子、2至7个碳原子、2至6个碳原子、2至5个碳原子、2至4个碳原子、2至3个碳原子,并且在一些实施方式中,烯基含有2个碳原子。烯基的实例包括但不限于乙烯基(ethyleny1或viny1)、丙烯基(烯丙基)、丁烯基、戊烯基、1-甲基-2-丁烯-1-基、5-己烯基等。

[0044] 如本文所使用的,术语“炔基”,不论作为另一个术语的一部分还是独立地使用,是指可以任选地独立地被一个或多个本文所描述的取代基取代的具有至少一个碳-碳三键的直链或支链烃基。在一些实施方式中,烯基含有2至12个碳原子。在一些实施方式中,炔基含有2至11个碳原子。在一些实施方式中,炔基含有2至11个碳原子、2至10个碳原子、2至9个碳原子、2至8个碳原子、2至7个碳原子、2至6个碳原子、2至5个碳原子、2至4个碳原子、2至3个碳原子,并且在一些实施方式中,炔基含有2个碳原子。炔基的实例包括但不限于乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基等。

[0045] 如本文所使用的,术语“烷氧基”,不论作为另一个术语的一部分还是独立地使用,是指如先前所定义的通过氧原子与母体分子连接的烷基。术语“C_{i-j}烷氧基”意味着烷氧基的烷基部分具有i至j个碳原子。在一些实施方式中,烷氧基含有1至10个碳原子。在一些实施方式中,烷氧基含有1至9个碳原子。在一些实施方式中,烷氧基含有1至8个碳原子、1至7个碳原子、1至6个碳原子、1至5个碳原子、1至4个碳原子、1至3个碳原子或1至2个碳原子。“C_{1-6}烷氧基”的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如,正丙氧基和异丙氧基)、叔丁氧基、新戊氧基、正己氧基等。

[0046] 如本文所使用的,术语“酰胺”是指-C(=O)NR'-,其中R'表示氢、N-保护基团、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团。

[0047] 如本文所使用的,术语“胺”是指氨的衍生物,其中一个或多个氢原子被取代基替换,并且可以由$N(H)_n(R')_{3-n}$表示,其中n为0、1或2,并且每个R'独立地为羟基、硝基、N-保护基团、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团,或者

两个R'与其所连接的氮原子一起形成任选地经取代的杂环基或杂芳基。

[0048] 如本文所使用的,术语"氨基"是指-NH_2。

[0049] 如本文所使用的,术语"芳基",不论作为另一术语的一部分还是独立地使用,是指具有总共5至20个环成员的单环和多环体系,其中体系中的至少一个环是芳香族的,并且其中体系中的每个环含有3至12个环成员。"芳基"的实例包括但不限于可以带有一个或多个取代基的苯基、联苯基、萘基、蒽基等。如本文所使用的,术语"芳基"的范围还包括芳环与一个或多个另外的环稠合的基团。在多环体系的情况下,仅需要一个环是芳香族的(例如,2,3-二氢吲哚),但所有环都可以是芳香族的(例如,喹啉)。第二环也可以是稠合的或桥连的。多环芳基的实例包括但不限于苯并呋喃基、茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘二甲酰亚胺基、菲啶基或四氢萘基等。芳基可以在一个或多个环位置处被如上文所描述的取代基取代。

[0050] 如本文所使用的,术语"氮杂-缩醛"是指-N-CH_2-O-。

[0051] 如本文所使用的,术语"羧基(carboxylic group)或羧基(carboxyl)"是指-COOH。

[0052] 如本文所使用的,术语"环烷基",不论作为另一个术语的一部分还是独立地使用,是指单价非芳香族饱和或部分不饱和单环和多环体系,其中所有环原子均为碳,并且所述体系含有至少三个成环碳原子。在一些实施方式中,环烷基可以含有3至12个成环碳原子、3至10个成环碳原子、3至9个成环碳原子、3至8个成环碳原子、3至7个成环碳原子、3至6个成环碳原子、3至5个成环碳原子、4至12个成环碳原子、4至10个成环碳原子、4至9个成环碳原子、4至8个成环碳原子、4至7个成环碳原子、4至6个成环碳原子、4至5个成环碳原子。环烷基可以为饱和的或部分不饱和的。环烷基可以为经取代的。在一些实施方式中,环烷基可以为饱和环状烷基。在一些实施方式中,环烷基可以为在其环体系中含有至少一个双键或三键的部分不饱和环状烷基。在一些实施方式中,环烷基可以为单环的或多环的。单环环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、1-环戊-1-烯基、1-环戊-2-烯基、1-环戊-3-烯基、环己基、1-环己-1-烯基、1-环己-2-烯基、1-环己-3-烯基、环己二烯基、环庚基、环辛基、环壬基、环癸基、环十一烷基和环十二烷基。多环环烷基的实例包括但不限于金刚烷基、降冰片烷基、莎基、螺-戊二烯基、螺[3.6]-癸烷基、双环[1,1,1]戊烯基、双环[2,2,1]庚烯基等。

[0053] 如本文所使用的,术语"氰基"是指-CN。

[0054] 如本文所使用的,术语"酯"是指-C(=O)O-。

[0055] 如本文所使用的,术语"氨基甲酸酯"是指-NR'(C=O)O-,其中R'表示氢、N-保护基团、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团。

[0056] 如本文所使用的,术语"硫代氨基甲酸酯"是指-NR'(C=S)O-,其中R'表示氢、N-保护基团、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团。

[0057] 如本文所使用的,术语"卤素"是指选自氟(fluorine或fluoro)、氯(chlorine或chloro)、溴(bromine或bromo)和碘(iodine或iodo)的原子。

[0058] 如本文所使用的,术语"杂原子"是指氮、氧或硫,并且包括氮或硫的任何氧化形式以及碱性氮(包括N-氧化物)的任何季铵化形式。

[0059] 如本文所使用的,术语"杂芳基",不论作为另一个术语的一部分还是独立地使用,是指除碳原子之外还具有一个或多个杂原子的芳基。杂芳基可以为单环的。单环杂芳基的实例包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁

唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吲哚嗪基、嘌呤基、萘啶基、苯并呋喃基和蝶啶基。杂芳基还包括杂芳环与一个或多个芳基、脂环族或杂环基环稠合的多环基团,其中连接基团或连接点位于杂芳环上。多环杂芳基的实例包括但不限于吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、苯并[1,3]二氧杂环戊烯基、二苯并呋喃基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、二氢喹啉基、二氢异喹啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、4H-喹嗪基、咔唑基、吖啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩恶嗪基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基等。

[0060] 如本文所使用的,术语“杂环基”是指饱和或部分不饱和碳环基,其中一个或多个环原子为各自独立地选自氧、硫、氮、磷等的杂原子,剩余环原子为碳,其中一个或多个环原子可以任选地独立地被一个或多个取代基取代。在一些实施方式中,杂环基为饱和杂环基。在一些实施方式中,杂环基为在其环体系中具有一个或多个双键的部分不饱和杂环基。在一些实施方式中,杂环基可以含有碳、氮或硫的任何氧化形式以及碱性氮的任何季铵化形式。“杂环基”还包括杂环基与饱和、部分不饱和或完全不饱和(即,芳香族)碳环或杂环稠合的基团。在可能的情况下,杂环基可以为碳连接的或氮连接的。在一些实施方式中,杂环为碳连接的。在一些实施方式中,杂环为氮连接的。例如,衍生自吡咯的基团可以为吡咯-1-基(氮连接的)或吡咯-3-基(碳连接的)。此外,衍生自咪唑的基团可以为咪唑-1-基(氮连接的)或咪唑-3-基(碳连接的)。

[0061] 在一些实施方式中,术语“3元至12元杂环基”是指具有1至3个各自独立地选自氮、氧或硫的杂原子的3元至12元饱和或部分不饱和单环或多环杂环体系。稠合、螺和桥连环体系也包括在本定义的范围内。单环杂环基的实例包括但不限于氧杂环丁烷基、1,1-二氧代硫杂环丁烷基吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、咪唑基、三唑基、噁唑基、噻唑基、哌啶基、哌嗪基、哌啶基、吗啉基、吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、吡啶酮基、嘧啶酮基、吡嗪酮基、嘧啶酮基、哒嗪酮基、吡咯烷基、三嗪酮基等。稠合杂环基的实例包括但不限于苯基稠环或吡啶基稠环,如喹啉基、异喹啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、喹喔啉基、喹嗪基、喹唑啉基、氮杂吲哚嗪基、蝶啶基、色烯基、异色烯基、吲哚基、异吲哚基、吲哚嗪基、吲唑基、嘌呤基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、咔唑基、吩嗪基、吩噻嗪基、啡啶基、咪唑并[1,2-a]吡啶基、[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡啶基、[1,2,3]三唑并[4,3-a]吡啶基等。螺杂环基的实例包括但不限于螺吡喃基、螺恶嗪基等。桥连杂环基的实例包括但不限于吗啡烷基、六亚甲基四胺基、3-氮杂-双环[3.1.0]己烷、8-氮杂-双环[3.2.1]辛烷、1-氮杂-双环[2.2.2]辛烷、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(DABCO)等。

[0062] 如本文所使用的,术语“羟基”是指-OH。

[0063] 如本文所使用的,术语“硝基”是指-NO_2。

[0064] 如本文所使用的,术语“脲”是指-NR’(C=O)NR”-,其中R’和R”各自独立地表示氢、N-保护基团、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团。

[0065] 如本文所使用的,术语“硫脲”是指-NR’H(C=S)NR”-,其中R’和R”各自独立地表示氢、N-保护基团、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团。

[0066] 如本文所使用的,术语“氨基磷酸酯”是指-(NR')P(=O)(OR')$_a$(NR")$_b$-,其中R'和R"独立地为空、氢、烷基、烯基、炔基、烷氧基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基和其它合适的有机基团,a和b独立地为0、1或2。

[0067] 如本文所使用的,术语“结合基团”或“BG”是指第一实体(例如,本文所提供的生物聚合物、治疗剂)内处于特定位置的基团,所述基团能够与来自第二实体(例如,本文所提供的连接子)的另一基团反应以形成键,由此将两个实体连接在一起以形成一个实体。例如,一个实体中包括的羧基可以与另一个实体中包括的氨基反应以形成将所述两个实体连接在一起的酰胺键,其中所述羧基和所述氨基可以被视为结合基团。

[0068] 如本文所使用的,术语“键”或“连接子”是指由至少两个待连接的实体的官能团之间的化学反应形成的键或化学部分,由此形成一个分子或维持实体足够紧邻地缔合。连接子可以被整合到所得到的连接分子或结构中而具有或不具有其反应的官能团。此类键可以是共价或非共价的。水解不稳定或可降解键意指所述键能够在水或水溶液(包括例如体液,如血液)中降解。酶促不稳定或可降解键意指所述键可以由一种或多种酶降解。此类可降解键包括但不限于由一个实体中的羧酸与生物活性剂上的醇基形成的酯键,其中此类酯基一般在生理条件下水解以释放生物活性剂。其它可水解降解键包括但不限于碳酸酯键、由胺与醛反应产生的亚胺键、由磷酸基与醇反应产生的磷酸酯键、由酰肼与醛反应产生的腙键、由醛与醇反应产生的缩醛键、由胺基与羧基反应产生的酰胺键。

[0069] 如本文所使用的,术语“部分不饱和的”是指包括至少一个双键或三键的基团。术语“部分不饱和的”旨在涵盖具有多个不饱和位点的环,但并不旨在包括芳香族(即,完全不饱和的)部分。

[0070] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的”表明物质或组合物在化学和/或毒理学上与构成调配物的其它成分和/或被治疗的受试者相容。

[0071] 如本文所使用的,术语“取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,都意味着指定部分的一个或多个氢被合适的取代基替代。应当理解,“取代”或“被...取代”包括隐含前提条件,即此类取代与被取代原子的允许化合价一致,并且取代产生稳定的或化学上可行的化合物,例如,不会自发地经历如重排、环化、消除等转化的化合物。除非另有说明,否则“任选地取代的”基团可以在基团的每个可取代位置处具有适当的取代基,并且在任何给定结构中的多于一个位置可以被多于一个选自指定组的取代基取代时,在每个位置处,取代基可以相同或不同。本领域技术人员应理解,如果合适的话,取代基本身可以被取代。除非特别陈述为“未取代”,否则对本文中的化学部分的提及应理解为包括取代的变体。例如,对“芳基”基团或部分的提及隐含地包括取代的变体和未取代的变体两者。

[0072] 如本文所使用的,术语“治疗剂”、“药物”、“生物活性分子”、“生物活性剂”、“活性剂”等是指可能影响生物有机体(包括但不限于病毒、细菌、真菌、植物、动物和人)的任何物理或生物化学特性的任何物质。特别地,如本文所使用的,治疗剂包括旨在用于诊断、治愈、缓和、治疗或预防人类或其它动物的疾病或以其它方式增强人类或动物的身体或精神健康的任何物质。

[0073] 将治疗剂通过药物递送到身体内的特定组织或位点存在各种挑战,特别是在期望将高剂量的具有差水溶性的治疗剂局部递送到特定组织的情况下以及期望避免治疗剂的高全身性浓度导致毒副作用的情况下。

[0074] 因此,一方面,本公开提供了一种能够以受控速率局部递送治疗剂的药物递送系统。在一些实施方式中,所述药物递送系统包括生物聚合物、治疗剂和连接子,所述连接子将所述生物聚合物与所述治疗剂共价连接并且能够将所述治疗剂保留在施用位置。

[0075] 生物聚合物

[0076] 生物聚合物是由生物体产生的天然聚合物,并且含有共价键合以形成较大结构的单体单元。根据所使用的单体单元和所形成的生物聚合物的结构,生物聚合物分为三个主要类别:多核苷酸、多肽和多糖。更具体地,多核苷酸(如RNA和DNA)是由13个或更多个核苷酸单体构成的长聚合物。多肽或蛋白质是氨基酸的短聚合物,并且一些主要的实例包括胶原蛋白、肌动蛋白和纤维蛋白。多糖通常是线性键合的聚合碳水化合物结构,并且一些实例包括纤维素和藻酸盐。生物聚合物的其它实例包括橡胶、软木脂、黑色素和木质素。

[0077] 多种生物聚合物可用作聚合物递送媒剂以将治疗剂递送到靶细胞或组织。适于特定应用的生物聚合物是基于其靶向特定组织、器官或细胞的能力以及其体内稳定性,即,在循环系统或特定组织、细胞或器官中的体内停留时间来选择的。

[0078] 在一些实施方式中,所述生物聚合物选自至少包括第一结合基团BG1的生物相容性聚合物,所述第一结合基团能够与来自第二实体(例如,本文所提供的连接子)的反应性官能团反应以形成键,由此将生物聚合物与第二实体(例如,连接子)连接。如本文所使用的,术语“生物相容性”是指对生物学功能没有医学上不可接受的毒性或伤害作用或身体可耐受的物质。

[0079] 在一些实施方式中,所述生物聚合物选自至少包括第一结合基团BG1的生物相容性聚合物,其中BG1选自由以下组成的组:羟基、羧基、氨基以及其组合。BG1用作缀合适合于将治疗剂与生物聚合物连接的连接子的结合位点。BG1可以存在于生物聚合物的主链内的任何位点处,并且因此在生物聚合物与连接子之间形成的键可以存在于生物聚合物的任何部分处。

[0080] 在一些实施方式中,用于与来自连接子的反应性官能团反应的BG1可以相同或不同。在某些实施方式中,生物聚合物的BG1是相同的。在某些实施方式中,生物聚合物的BG1是不同的。

[0081] 在一些实施方式中,生物聚合物是生物相容性聚合物,所述生物相容性聚合物包括作为BG1的羧基,所述BG1能够与合适的连接子的反应性官能团反应以形成将含羧基的生物聚合物与连接子连接的键。

[0082] 在某些实施方式中,连接子的反应性官能团是氨基或胺,所述氨基或胺与生物聚合物的羧基反应,使得酰胺键被形成。

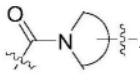
[0083] 在某些实施方式中,连接子的反应性官能团是羟基,所述羟基与生物聚合物的羧基反应,使得酯键被形成。

[0084] 在某些实施方式中,连接子的反应性官能团是卤素,所述卤素与生物聚合物的羧基反应,使得酯键被形成。

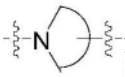
[0085] 在一些实施方式中,生物聚合物是生物相容性聚合物,所述生物相容性聚合物包括作为BG1的氨基,所述BG1能够与合适的连接子的反应性官能团反应以形成键,由此产生生物聚合物-连接子缀合物。

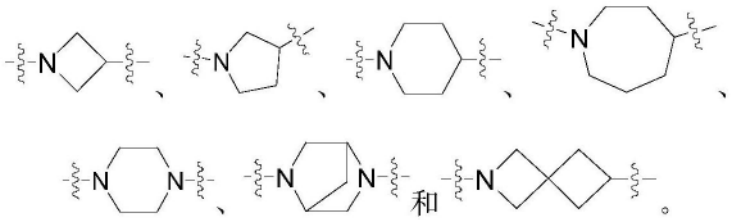
[0086] 在某些实施方式中,连接子的反应性官能团是羧基,所述羧基与生物聚合物的羟

基反应,使得酯键被形成。

[0087] 在一些实施方式中,由生物聚合物的BG1与连接子的反应性官能团之间的反应形成的键选自由以下组成的组:-C(O)N(R^1)-、和-C(O)O-,其中R^1选自由以下组成的组:氢、烷基、烯基和炔基,是任选地包括选自N、O或S的一个或多个另外的杂原子的含氮杂环基。

[0088] 在某些实施方式中,R^1是氢。

[0089] 在某些实施方式中,选自由以下组成的组:

[0090] 

[0091] 在一些实施方式中,生物聚合物可以选自由以下组成的组:透明质酸(HA)、葡聚糖、纤维素、直链淀粉、壳聚糖、甲壳素、软骨素、明胶、藻酸盐、角叉菜胶、结冷胶、瓜尔豆胶、果胶、硬葡聚糖和黄原胶。

[0092] 在一些实施方式中,生物聚合物的数均分子量可以在400至3,000,000Da的范围内,例如,1,000至3,000,000Da、5,000至3,000,000Da、10,000至3,000,000Da、20,000至3,000,000Da、30,000至3,000,000Da、40,000至3,000,000Da、50,000至3,000,000Da或50,000至2,000,000Da。

[0093] 在一些实施方式中,生物聚合物选自由以下组成的组:HA、壳聚糖、甲壳素、软骨素或其衍生物。

[0094] 在某些实施方式中,生物聚合物为HA。在某些实施方式中,HA可以衍生自任何来源。

[0095] 在某些实施方式中,HA的数均分子量可以在400至3,000,000Da的范围内,例如,1,000至3,000,000Da、5,000至3,000,000Da、10,000至3,000,000Da、20,000至3,000,000Da、30,000至3,000,000Da、40,000至3,000,000Da、50,000至3,000,000Da或50,000至2,000,000Da。

[0096] 治疗剂

[0097] 本公开提供了用于局部递送各种治疗剂的经改进的递送系统。

[0098] 在一些实施方式中,治疗剂至少包括第二结合基团BG2,所述第二结合基团BG2能够与来自第二实体(例如,本文所提供的连接子)的反应性官能团和任选的共反应物反应以形成键,由此将治疗剂与第二实体(例如,连接子)连接。

[0099] 在一些实施方式中,治疗剂至少包括第二结合基团BG2,所述第二结合基团BG2选自由以下组成的组:羟基、羧基、氨基、酰胺基、胺基以及其组合。BG2用作缀合适合于将治疗剂与生物聚合物连接的连接子的结合位点。

[0100] 在一些实施方式中,治疗剂包括作为BG2的胺基,所述BG2能够与合适的连接子的

反应性官能团和任选的共反应物反应以形成将含胺的治疗剂与连接子连接的键。

[0101] 在某些实施方式中,治疗剂中的胺基与连接子的反应性官能团和任选的共反应物反应,使得治疗剂通过直接键、酰胺键、脲键、硫脲键、氨基甲酸酯键、硫代氨基甲酸酯键、氮杂-缩醛键、氨基磷酸酯键等与连接子连接。

[0102] 在某些实施方式中,由涉及治疗剂的BG2和连接子的反应性官能团以及任选的共反应物的反应形成的键选自由以下组成的组:-N(R')$_2$-、-C(=O)N(R')-、-C(=O)N(R')$_2$-、-N(R^2)C(=O)N(R')$_2$-、-N(R^2)C(=S)N(R')$_2$-、-OC(=O)N(R')$_2$-、-OC(=S)N(R')$_2$-、-OC(=O)OCH$_2$N(R')$_2$-、-N(R^2)C(=O)OCH$_2$N(R')$_2$-、-OP(=O)(OPh)N(R')$_2$-和-N(R^2)P(=O)(OPh)N(R')$_2$-,其中R^{2}选自由以下组成的组:氢、烷基、烯基和炔基,并且R'独立地选自由以下组成的组:氢、烷基、烯基和炔基,或者两个R'与其均连接的氮原子一起形成杂环基。

[0103] 在某些实施方式中,R^{2}是氢。

[0104] 在一些实施方式中,治疗剂包括作为BG2的羧基,所述BG2能够与合适的连接子的反应性官能团和任选的共反应物反应以形成将含羧基的治疗剂与连接子连接的键。

[0105] 在某些实施方式中,治疗剂中的羧基与连接子的反应性官能团和任选的共反应物反应,使得治疗剂通过酯键与连接子连接。

[0106] 在一些实施方式中,治疗剂包括作为BG2的羟基,所述BG2能够与合适的连接子的反应性官能团和任选的共反应物反应以形成将含羟基的治疗剂与连接子连接的键。

[0107] 在某些实施方式中,治疗剂中的羟基与连接子的反应性官能团和任选的共反应物反应,使得治疗剂通过酯键与连接子连接。

[0108] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂选自由以下组成的组:非甾体类抗炎药(NSAID)、Janus激酶(JAK)抑制剂、血管内皮生长因子(VEGF)抑制剂、抗癌药物和任何可能具有严重全身毒性的药物。

[0109] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是NSAID,所述NSAID选自由以下组成的组:吡罗昔康(Piroxicam)、美洛昔康(Meloxicam)和双氯芬酸(Diclofenac)。

[0110] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是JAK抑制剂,所述JAK抑制剂选自由以下组成的组:托法替尼(Tofacitinib)、鲁索替尼(Ruxolitinib)、巴瑞克替尼(Baricitinib)、培非替尼(Peficitinib)、菲卓替尼(Fedratinib)、奥拉替尼(Oclacitinib)和乌帕替尼(Upadacitinib)。

[0111] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是VEGF抑制剂,所述VEGF抑制剂选自由以下组成的组:阿昔替尼(Axitinib)、拉帕替尼(Lapatinib)、乐伐替尼(Lenvatinib)、帕唑帕尼(Pazopanib)、尼替达尼(Nintedanib)、舒尼替尼(Sunitinib)和凡德他尼(Vandetanib)。

[0112] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是托法替尼。

[0113] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是乌帕替尼。

[0114] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是鲁索替尼。

[0115] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是巴瑞克替尼。

[0116] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是奥拉替尼。

[0117] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是尼替达尼。

[0118] 在一些实施方式中,待递送的治疗剂是舒尼替尼。

[0119] 连接子

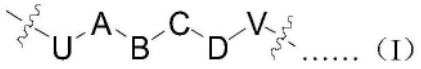
[0120] 通过合适的连接子将治疗剂与生物聚合物连接来实现治疗剂的经改进的局部递送。通过选择合适的连接子,可以控制治疗剂从生物聚合物释放的速率,由此提供治疗剂向靶细胞或组织的经改进的递送。

[0121] 在一些实施方式中,多个连接子可以通过在生物条件下被裂解的可裂解键与治疗剂连接,由此释放治疗剂。

[0122] “可裂解键”是在生理条件下裂解的相对不稳定键。示例性可释放键为在与水反应时裂解(即,水解)的可水解键。键在水中水解的趋势可能不仅取决于连接两个原子的一般类型的键,还取决于与这些原子连接的取代基。适当的水解不稳定或弱键包括但不限于羧酸酯、磷酸酯、酸酐、缩醛、缩酮、酰氧基烷基醚、亚胺、原酸酯、肽、寡核苷酸、硫酯、脲、硫脲、氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯、氨基磷酸酯和碳酸盐。某些官能团具有可以通过除水解外的工艺化学地降解的原子。这类示例性可释放键包括某些氨基甲酸酯和Fmoc衍生物。含有这些类别的适当键合的官能团的某些分子可以在碱作用后经历化学降解(释放)。在此类情况下,“裂解”可以在较高pH值下发生或通过含有碱性部分的生物分子(例如,组氨酸)的作用发生。另一示例性可裂解键为可酶促裂解键。“可酶促裂解键”意指经受由一种或多种酶裂解的键。

[0123] 在一些实施方式中,连接子通过由连接子的反应性官能团和生物聚合物中的BG1形成的键与生物聚合物连接,并且通过由连接子的另一反应性官能团和治疗剂中的BG2形成的键与治疗剂连接。

[0124] 在一些实施方式中,所述连接子包括式(I)的结构:

[0125] 

……(I)

[0126] 其中

[0127] U通过所述生物聚合物的BG1与所述生物聚合物连接,使得选自酯或酰胺的至少一个键被形成,并且U选自由以下组成的组:直接键、$N(R^1)$-、-O-、-C(=O)-和

,其中

是含氮杂环基,所述含氮杂环基任选地包括选自N、O或S的一个或多个另外的杂原子;

[0128] A选自直接键、烷基和$-(CH_2CH_2O)_m-$,其中所述烷基任选地被一个或多个R^a基团取代;

[0129] B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基、-O-杂芳基,其中烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的每一个任选地被一个或多个R^b基团取代;

[0130] C选自直接键、-C(=O)-、-C(=O)$N(R^2)$-、-$N(R^2)$C(=O)-、-$[CH_2NHC(=O)]_n$-、-$[NHC(=O)CH_2]_n$-和-$NH(CH_2)_pC(=O)$-;

[0131] D选自直接键、烷基和芳基,其中所述烷基任选地被一个或多个R^c基团取代;

[0132] V通过所述治疗剂中的BG2与所述治疗剂连接,使得至少一个键被形成,所述至少一个键选自由以下组成的组:酰胺、脲、硫脲、氨基甲酸酯、硫代氨基甲酸酯、氨基磷酸酯、氮杂-缩醛以及其组合,并且V选自由以下组成的组:直接键、-C(=O)-、-$N(R^2)$C(=O)-、-$N(R^2)$

C(S)-、-OC(=O)-、-OC(=S)-、-OC(=O)OCH_2-、-C(=O)OCH_2-、-N(R^2)C(=O)OCH_2-、-OP(=O)(OPh)-和-N(R^2)P(=O)(OPh)-；

[0133] R^1和R^2独立地选自由以下组成的组：氢、烷基、烯基和炔基；

[0134] R^a、R^b和R^c独立地选自卤素、羟基、氨基、氰基、硝基、烷基、烷氧基、-C(=O)OR^e和=NH；

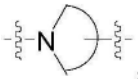
[0135] R^e是烷基；

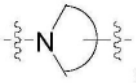
[0136] m为0至4的整数；

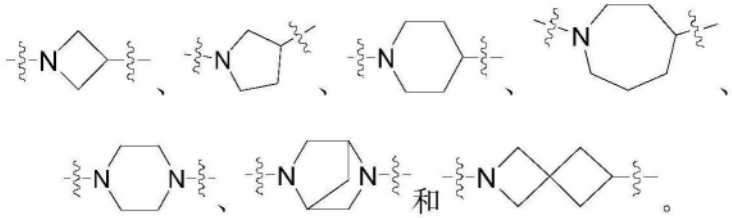
[0137] n为1至4的整数；并且

[0138] p为1至4的整数。

[0139] 在一些实施方式中，BG1是羧基并且U是-N(R^1)-，使得酰胺键被形成以将所述生物聚合物与所述连接子连接。

[0140] 在一些实施方式中，BG1是羧基并且U是，使得酰胺键被形成以将所述生物聚合物与所述连接子连接。

[0141] 在某些实施方式中，BG1是羧基并且U是选自由以下组成的组的：

[0142] 

[0143] 在一些实施方式中，BG1是羟基并且U是-C(=O)-，使得酯键被形成以将所述生物聚合物与所述连接子连接。

[0144] 在一些实施方式中，BG1是羧基并且U是-O-或直接键，使得酯键被形成以将所述生物聚合物与所述连接子连接。

[0145] 在一些实施方式中，BG1是氨基并且U是-C(=O)-，使得酰胺键被形成以将生物聚合物与连接子连接。

[0146] 在一些实施方式中，BG2是胺基，并且V选自以下之一：

[0147] (a)直接键；

[0148] (b)-N(R^2)C(=O)-，所述-N(R^2)C(=O)-通过BG2与所述治疗剂连接，使得脲键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接；

[0149] (c)-N(R^2)C(S)-，所述-N(R^2)C(S)-通过BG2与所述治疗剂连接，使得硫脲键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接；

[0150] (d)-OC(=O)-，所述-OC(=O)-通过BG2与所述治疗剂连接，使得氨基甲酸酯键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接；

[0151] (e)-OC(=S)-，所述-OC(=S)-通过BG2与所述治疗剂连接，使得硫代氨基甲酸酯键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接；

[0152] (f)-OC(=O)OCH_2-，所述-OC(=O)OCH_2-通过BG2与所述治疗剂连接，使得氮杂-缩醛键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接；

[0153] (g)-C(=O)OCH_2-,所述-C(=O)OCH_2-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氮杂-缩醛键被形成;

[0154] (h)-N(R^2)C(=O)OCH_2-,所述-N(R^2)C(=O)OCH_2-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氮杂-缩醛键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接;

[0155] (i)-OP(=O)(OPh)-,所述-OP(=O)(OPh)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氨基磷酸酯键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接;或

[0156] (j)-N(R^2)P(=O)(OPh)-,所述-N(R^2)P(=O)(OPh)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得氨基磷酸酯键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接;

[0157] (k)-C(=O)-,所述-C(=O)-通过BG2与所述治疗剂连接,使得酰胺键被形成。

[0158] 在某些实施方式中,BG2是羧基并且V是-O-或直接键,使得酯键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接。

[0159] 在某些实施方式中,BG2是羟基并且V是-C(=O)-,使得酯键被形成以将所述治疗剂与所述连接子连接。

[0160] 在一些实施方式中,A是直接键。

[0161] 在一些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的烷基。在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-10}烷基。在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基。

[0162] 在一些实施方式中,R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。在某些实施方式中,R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是C_{1-8}烷基、C_{1-7}烷基、C_{1-6}烷基、C_{1-5}烷基、C_{1-4}烷基或C_{1-3}烷基。在某些实施方式中,R^a是-C(=O)OCH_3。

[0163] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-。

[0164] 在某些实施方式中,m为0至4的整数。在某些实施方式中,m是1。在某些实施方式中,m是2。在某些实施方式中,m是3。在某些实施方式中,m是4。

[0165] 在一些实施方式中,B是直接键。

[0166] 在一些实施方式中,B是烷基。在某些实施方式中,B是C_{1-6}烷基、C_{1-5}烷基、C_{1-4}烷基、C_{1-3}烷基或C_{1-2}烷基。在某些实施方式中,B是乙基。

[0167] 在一些实施方式中,B是环烷基、芳基或杂芳基。

[0168] 在一些实施方式中,B是环烷基。

[0169] 在某些实施方式中,B是饱和的环烷基。在某些实施方式中,B是部分不饱和的环烷基。

[0170] 在某些实施方式中,B是3至8元环烷基、3至7元环烷基、3至6元环烷基、3至5元环烷基或3至4元环烷基。

[0171] 在某些实施方式中,B是饱和的3至6元环烷基。在某些实施方式中,B是环已基。

[0172] 在一些实施方式中,B是芳基。在某些实施方式中,B是5至12元芳基、5至10元芳基、5至8元芳基或5至6元芳基。

[0173] 在某些实施方式中,B是苯基。

[0174] 在一些实施方式中,B是杂芳基。在某些实施方式中,B是5至12元杂芳基、5至10元杂芳基、5至8元杂芳基或5至6元杂芳基。

[0175] 在某些实施方式中,B是吡啶基。

[0176] 在一些实施方式中,B是-O-芳基。在某些实施方式中,B是-O-苯基。

[0177] 在一些实施方式中,A是直接键,并且B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。

[0178] 在某些实施方式中,A是直接键,并且B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、芳基和杂芳基。

[0179] 在某些实施方式中,A是直接键,并且B是直接键。

[0180] 在某些实施方式中,A是直接键,并且B是3至8元环烷基、3至7元环烷基、3至6元环烷基、3至5元环烷基或3至4元环烷基。在某些实施方式中,A是直接键,并且B是环已基。

[0181] 在某些实施方式中,A是直接键,并且B是5至12元芳基、5至10元芳基、5至8元芳基或5至6元芳基。在某些实施方式中,A是直接键,并且B是苯基。

[0182] 在某些实施方式中,A是直接键,并且B是5至12元杂芳基、5至10元杂芳基、5至8元杂芳基或5至6元杂芳基。在某些实施方式中,A是直接键,并且B是吡啶基。

[0183] 在一些实施方式中,A是任选地经取代的烷基,并且B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基和-O-杂芳基。

[0184] 在某些实施方式中,A是任选地经取代的烷基,B选自由以下组成的组:直接键、芳基和-O-芳基。

[0185] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,并且B是直接键,其中R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。

[0186] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,并且B是5至12元芳基、5至10元芳基、5至8元芳基或5至6元芳基。在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,并且B是苯基。

[0187] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,并且B是-O-芳基。在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,并且B是-O-苯基。

[0188] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基。

[0189] 在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B选自由以下组成的组:直接键、烷基、芳基和杂芳基。

[0190] 在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是直接键。

[0191] 在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是C_{1-6}烷基、C_{1-5}烷基、C_{1-4}烷基、C_{1-3}烷基或C_{1-2}烷基。在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是乙基。

[0192] 在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是5至12元芳基、5至10元芳基、5至8元芳基或5至6元芳基。在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是苯基。

[0193] 在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是5至12元杂芳基、5至10元杂芳基、5至8元杂芳基或5至6元杂芳基。在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是0至4的整数,并且B是吡啶基。

[0194] 在一些实施方式中,C是直接键。

[0195] 在一些实施方式中,C是-C(=O)-。

[0196] 在一些实施方式中,C是-C(=O)N(R^2)-。

[0197] 在一些实施方式中,C是-N(R^2)C(=O)-。

[0198] 在一些实施方式中,C是-[$CH_2NHC(=O)$]$_n$-。

[0199] 在一些实施方式中,C是-[$NHC(=O)CH_2$]$_n$-。

[0200] 在一些实施方式中,C是-$NH(CH_2)_pC(=O)$-。

[0201] 在一些实施方式中,A是烷基,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基和-O-杂芳基,并且C选自由以下组成的组:直接键、-C(=O)-、-N(R^2)C(=O)-、-[$CH_2NHC(=O)$]$_n$-、-[$NHC(=O)CH_2$]$_n$-和-$NH(CH_2)_pC(=O)$-。

[0202] 在一些实施方式中,A是烷基,B选自由以下组成的组:直接键、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-环烷基、-O-杂环基、-O-芳基和-O-杂芳基,并且C是直接键、-N(R^2)C(=O)-或-[$NHC(=O)CH_2$]$_n$-。

[0203] 在某些实施方式中,A是烷基,B选自由以下组成的组:直接键、芳基和-O-芳基,并且C是直接键或-N(R^2)C(=O)-。

[0204] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,B是直接键,并且C是直接键或-N(R^2)C(=O),其中R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。

[0205] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,B是5至12元芳基、5至10元芳基、5至8元芳基或5至6元芳基,并且C是直接键或-N(R^2)C(=O)-,其中R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。

[0206] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,B是苯基,并且C是直接键或-N(R^2)C(=O)-,其中R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。

[0207] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,B是-O-芳基,并且C是直接键,其中R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。

[0208] 在某些实施方式中,A是任选地被一个或多个R^a基团取代的C_{1-8}烷基,B是-O-苯基,并且C是直接键,其中R^a是-C(=O)OR^e,其中R^e是烷基。

[0209] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,B选自由以下组成的组:直接键、烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基,并且C是直接键或-N(R^2)C(=O)-。

[0210] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B选自由以下组成的组:直接键、烷基、芳基和杂芳基,并且C是直接键。

[0211] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B是直接键,并且C是直接键。

[0212] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B是C_{1-6}烷基、C_{1-5}烷基、C_{1-4}烷基、C_{1-3}烷基或C_{1-2}烷基,并且C是直接键。

[0213] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B是芳基,并且C是直接键。在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B是苯基,并且C是直接键。

[0214] 在一些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B是杂芳基,并且C是直接键。在某些实施方式中,A是-$(CH_2CH_2O)_m$-,其中m是1、2、3或4,B是吡啶基,并且C是直接键。

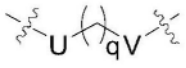
[0215] 在一些实施方式中,D是直接键。

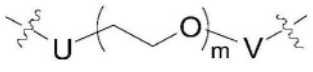
[0216] 在一些实施方式中,D是烷基。在某些实施方式中,D是C_{1-6}烷基、C_{1-5}烷基、C_{1-4}烷基、

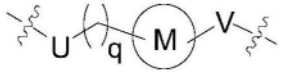
C_{1-3}烷基或C_{1-2}烷基。

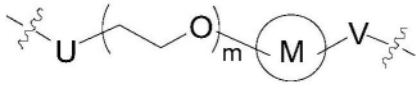
[0217] 在一些实施方式中,D是芳基。在某些实施方式中,D是5至12元芳基、5至10元芳基、5至8元芳基或5至6元芳基。在某些实施方式中,D是苯基。

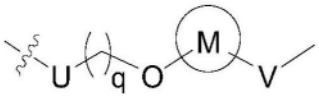
[0218] 在一些实施方式中,本文所提供的连接子包括式(Ia)至(Im)的结构:

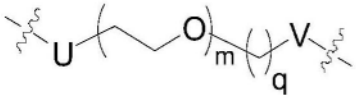

(Ia)、


(Ib)、

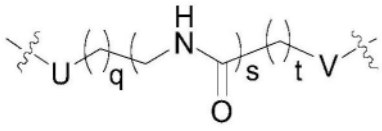

(Ic)、

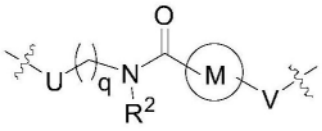

(Id)、

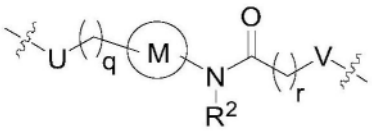

(Ie)、

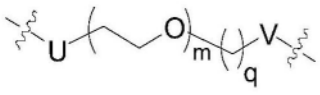

(If)、

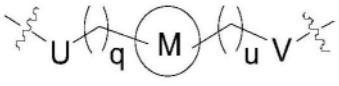
[0219]

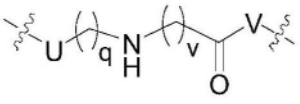

(Ig)、

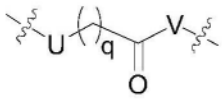

(Ih)、

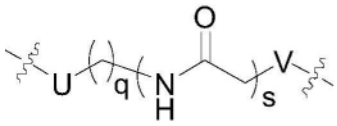

(Ii)、

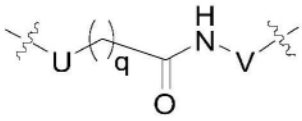

(Ij)、


(Ik)、


(Il)、


（Im）、

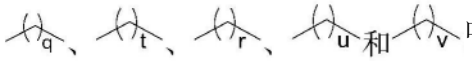
[0220] 
（In）和


（Io），

[0221] 其中，

[0222] U和V如上文中所定义；

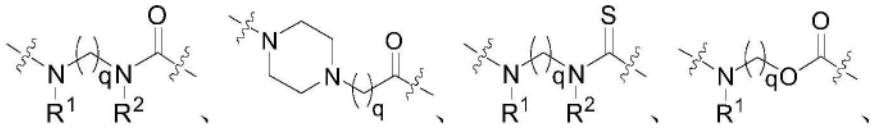
[0223] M选自由以下组成的组：环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，其中每一个任选地被一个或多个R^b基团取代；

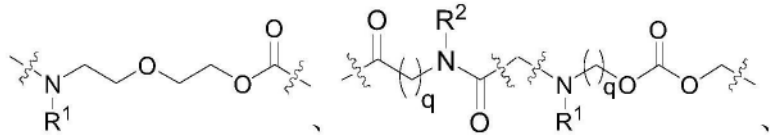
[0224] 
中的每一个任选地被-C(=O)OCH_3取代；并且

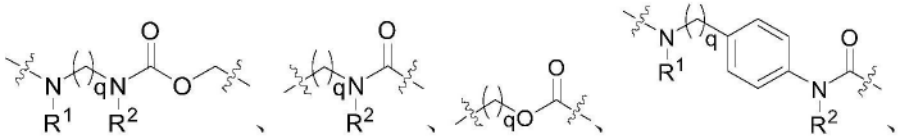
[0225] q、r、s、t、u和v独立地是0至4的整数。

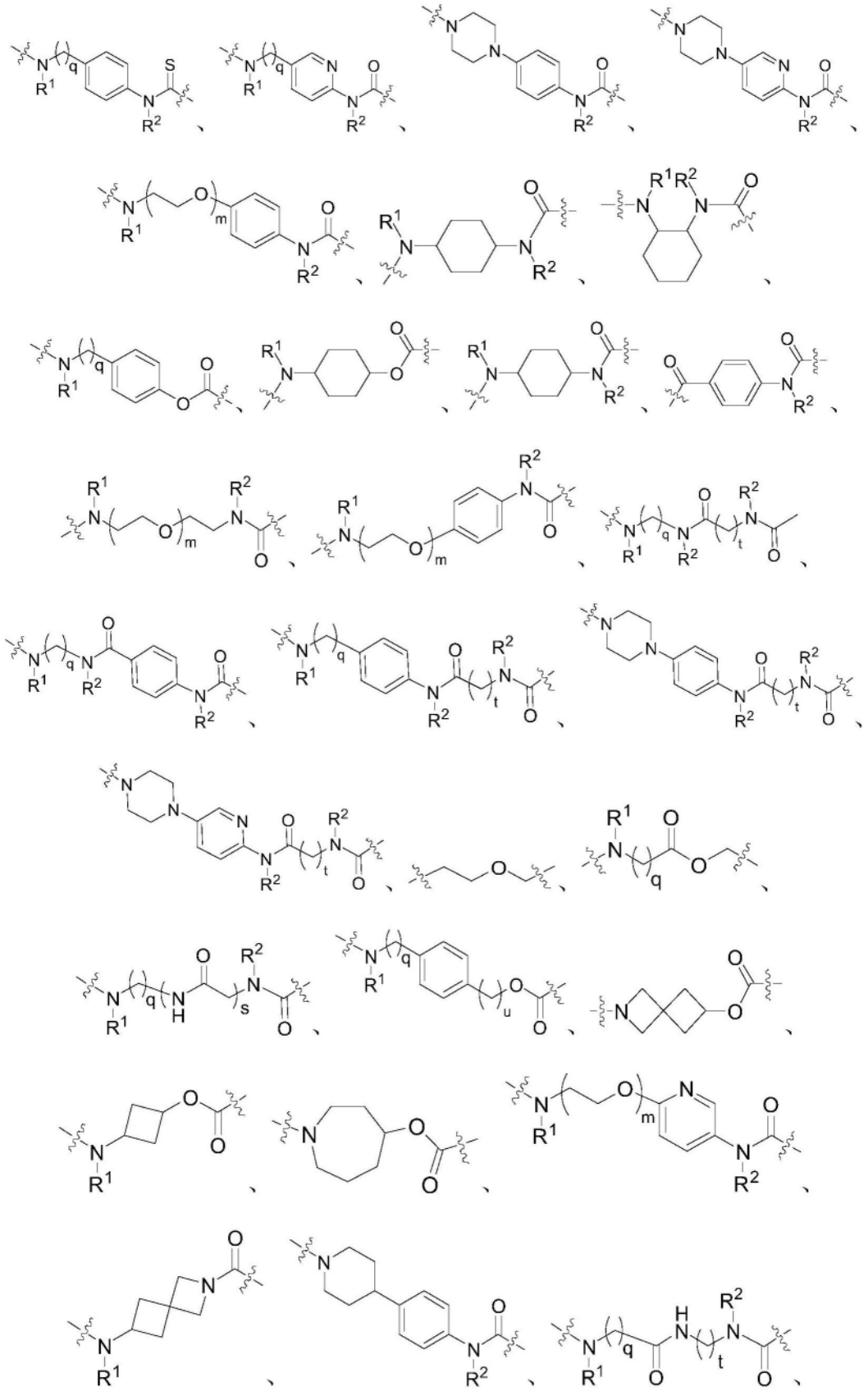
[0226] 在一些实施方式中，M选自由以下组成的组：环己基、苯基、吡啶基、噻唑基、金刚烷基和2,5-二氮杂-双环[2.2.1]庚烷基。

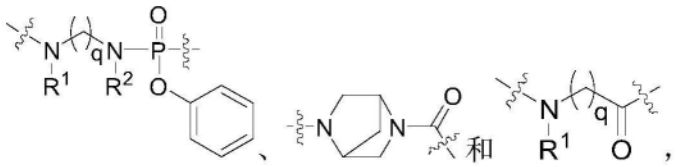
[0227] 在一些实施方式中，本文所提供的连接子包括选自由以下组成的组的结构：

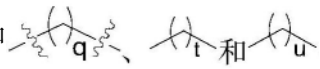


[0228] 



[0229] 

[0230] 

[0231] 其中中的每一个任选地被-C(=O)OCH_3取代。

[0232] 药物递送系统

[0233] 在本公开的一方面,治疗剂通过连接子与生物聚合物连接,由此提供用于向靶位点局部递送治疗剂的药物递送系统。

[0234] 本文所提供的药物递送系统的生物聚合物可以具有一种或多种通过连接子缀合的治疗剂。生物聚合物可以通过生物聚合物主链中的羟基、羧基和/或氨基处的一个或多个连接子与所述一种或多种治疗剂缀合。

[0235] 本公开的药物递送系统是通过生物聚合物与治疗剂之间的缀合借助于连接子通过在生物聚合物与连接子之间形成键并且在治疗剂与连接子之间形成键而获得的。

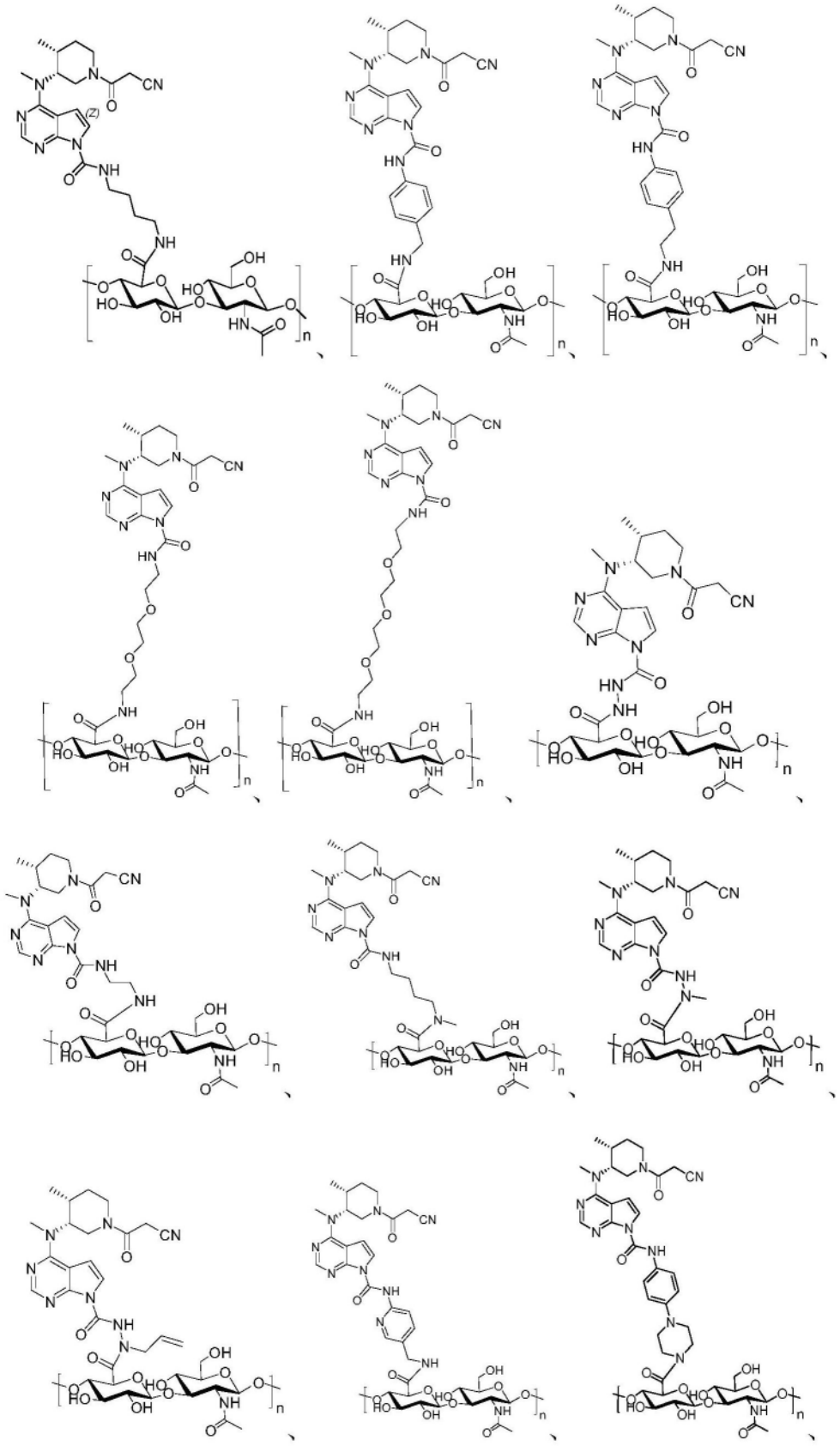
[0236] 在一些实施方式中,连接子的反应性官能团可以首先与治疗剂的BG2反应以在治疗剂与连接子之间形成键,由此提供治疗剂-连接子缀合物。在连接子的末端处含有另一反应性官能团的治疗剂-连接子缀合物随后可以与生物聚合物的BG1反应以在生物聚合物与连接子之间形成键,由此提供本公开的药物递送系统。

[0237] 在某些实施方式中,可以首先使生物聚合物的BG1与连接子的反应性官能团反应以形成生物聚合物-连接子缀合物,并且随后使治疗剂的BG2与生物聚合物-连接子缀合物中的连接子的另一官能团反应,由此提供本公开的药物递送系统。

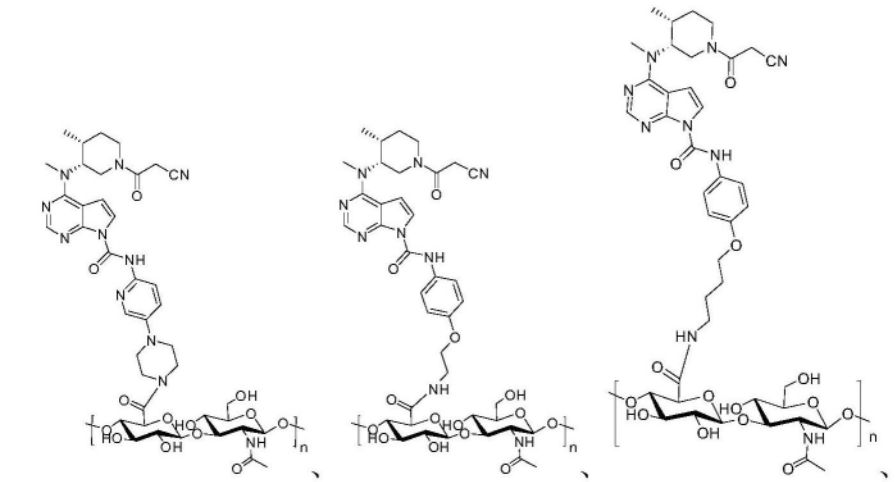
[0238] 在一些实施方式中,为本文所提供的药物递送系统选择的生物聚合物是HA,并且为本文所提供的药物递送系统选择的治疗剂是托法替尼。

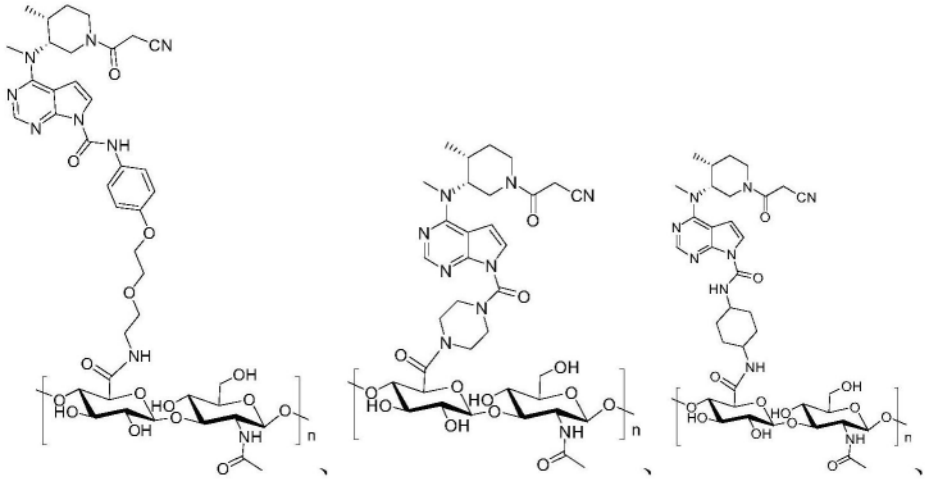
[0239] 在某些实施方式中,本文所提供的药物递送系统选自由以下组成的组:

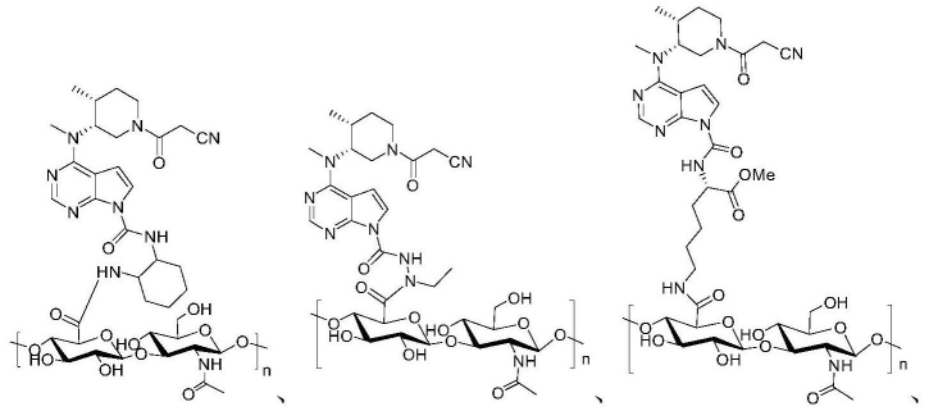
[0240]

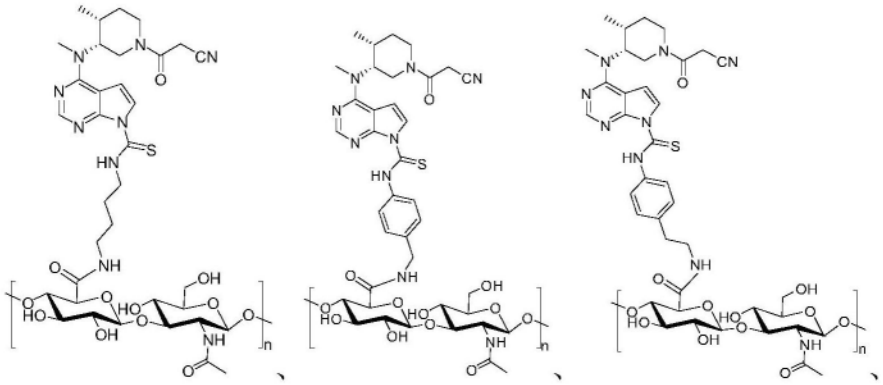


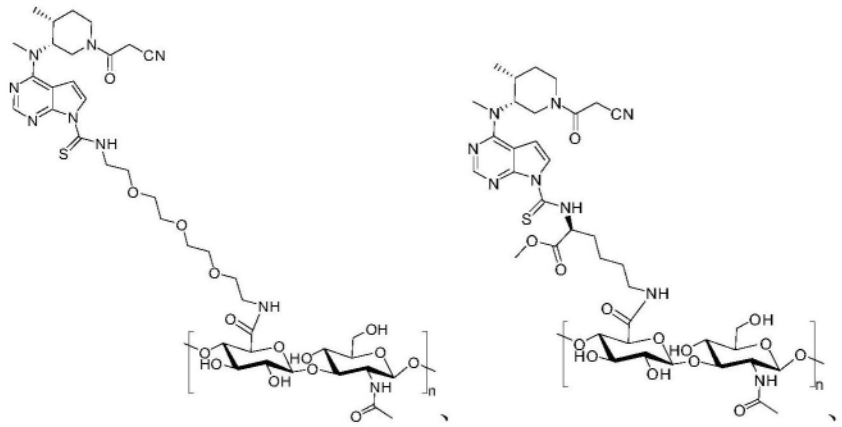
[0241]



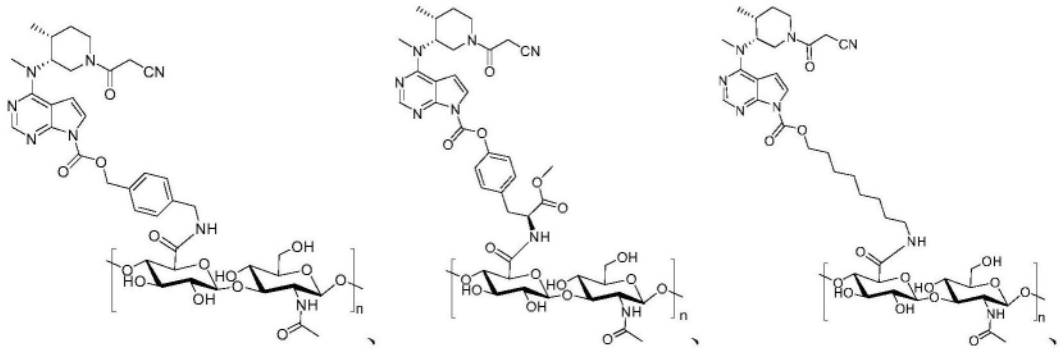


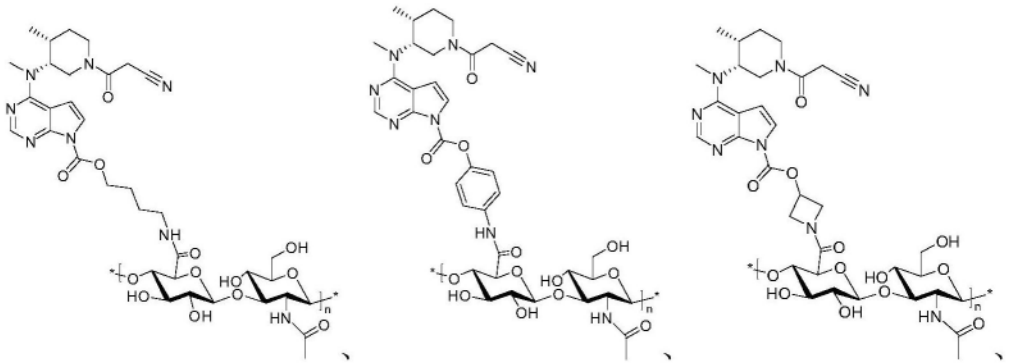


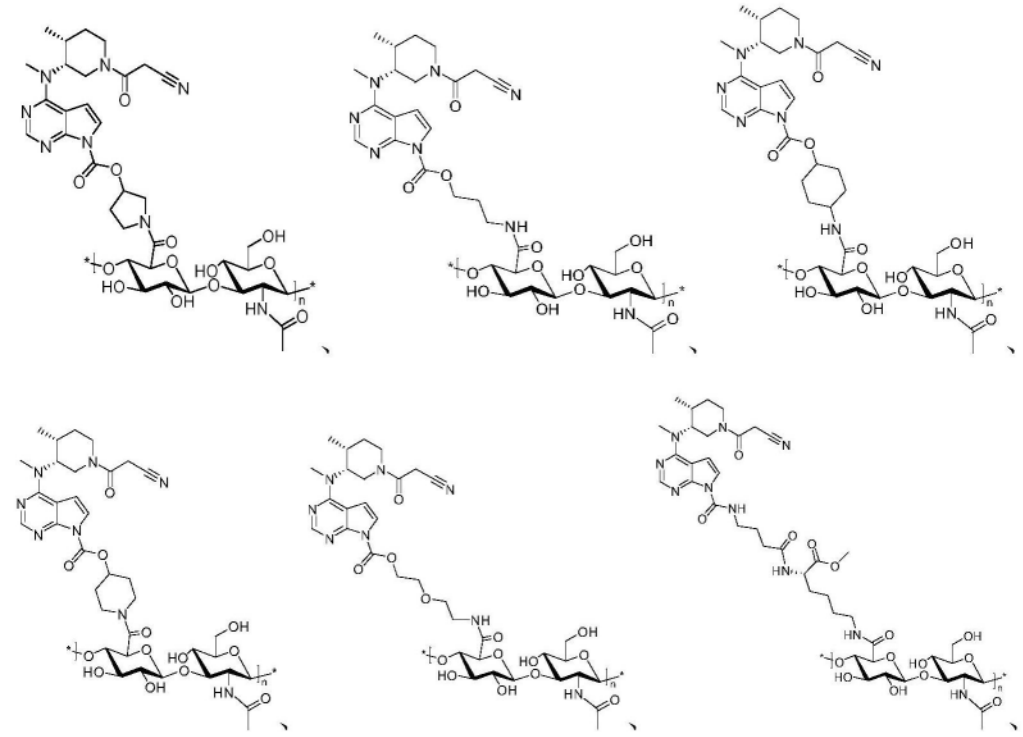




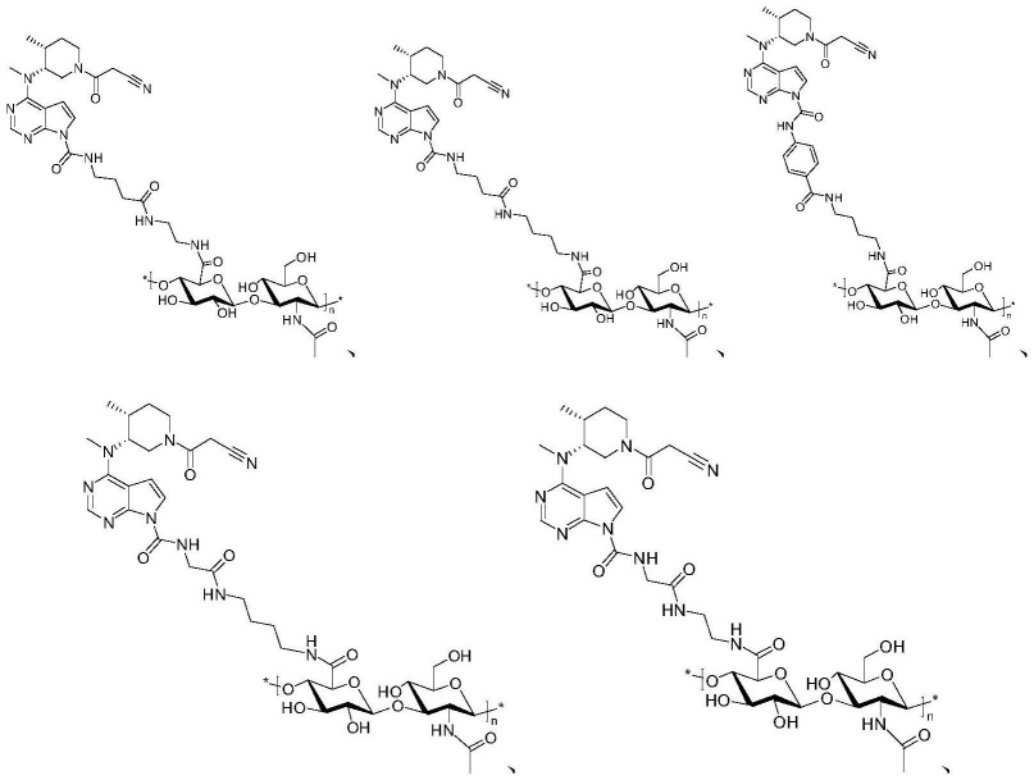
[0242]

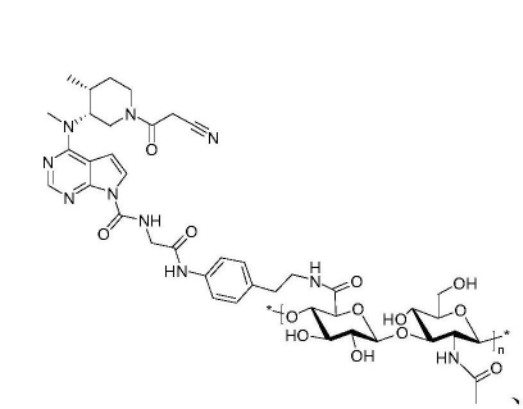


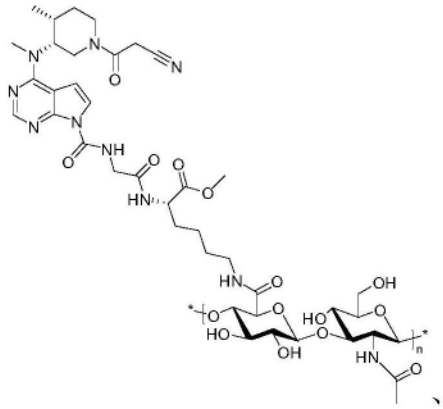


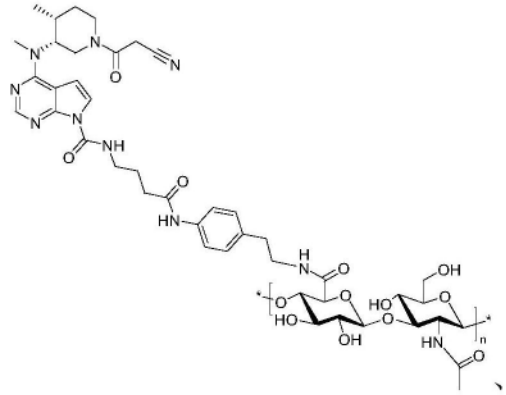


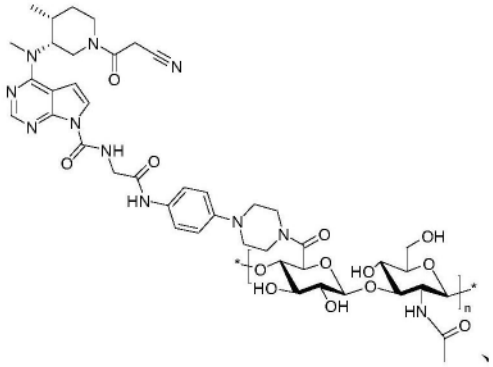
[0243]



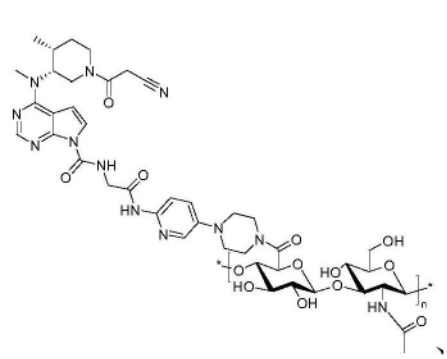


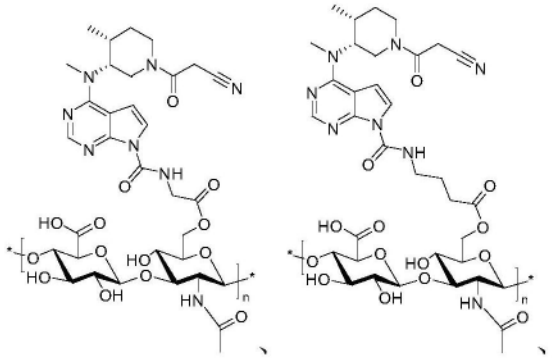


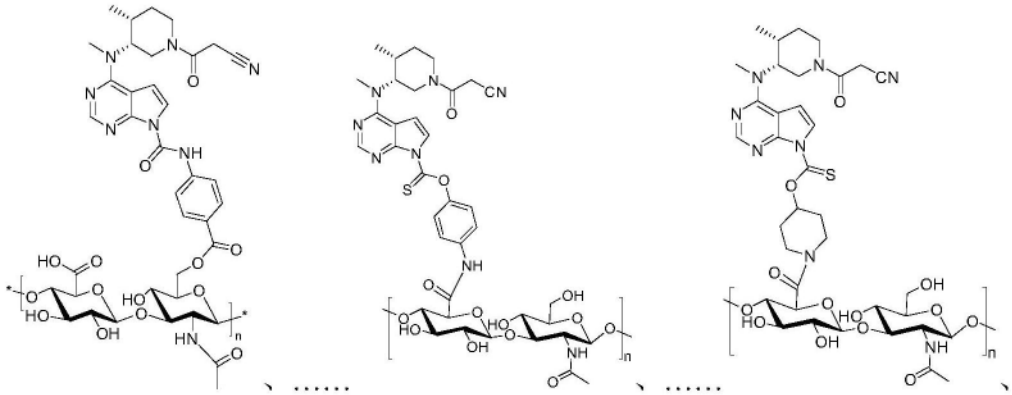


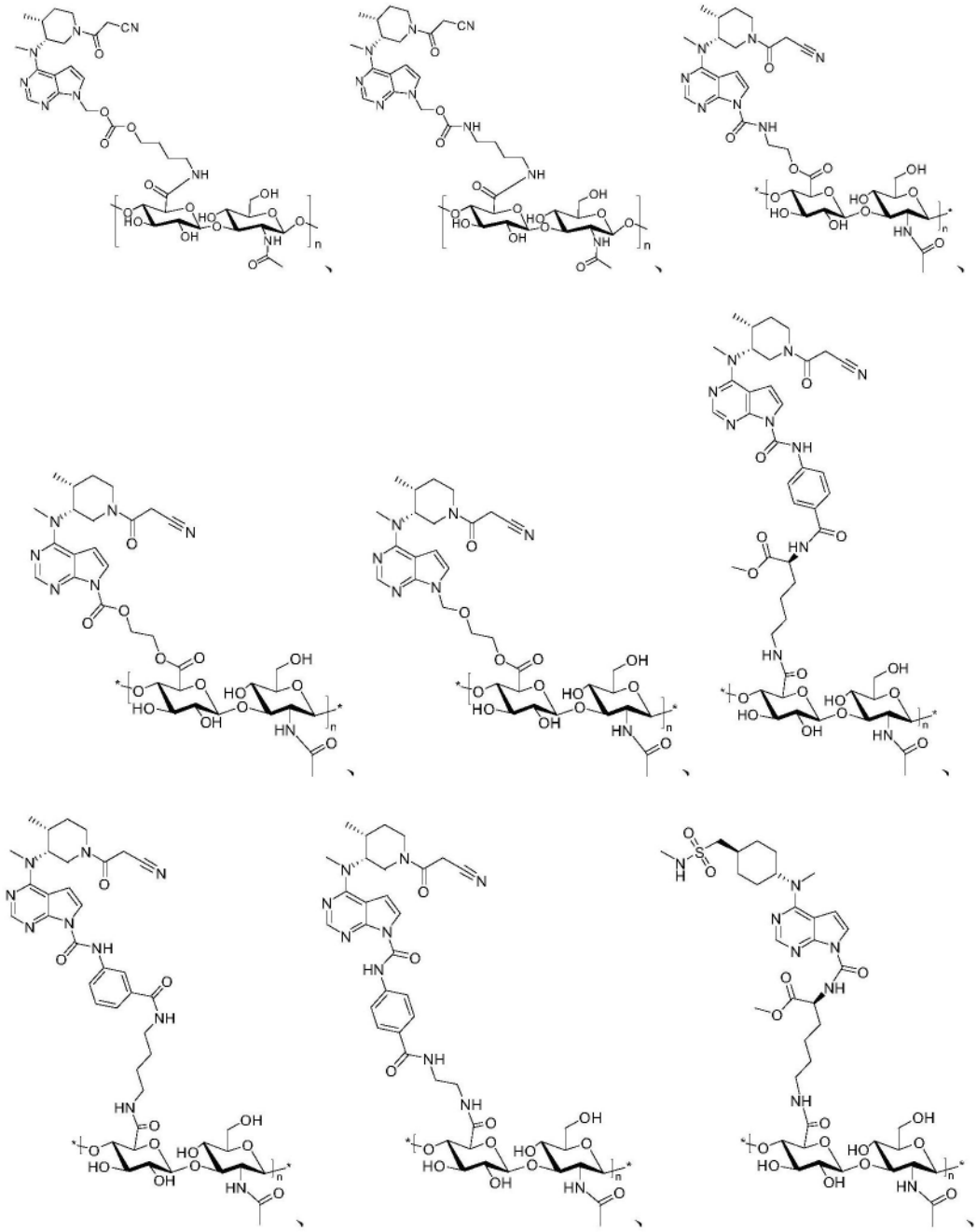


[0244]

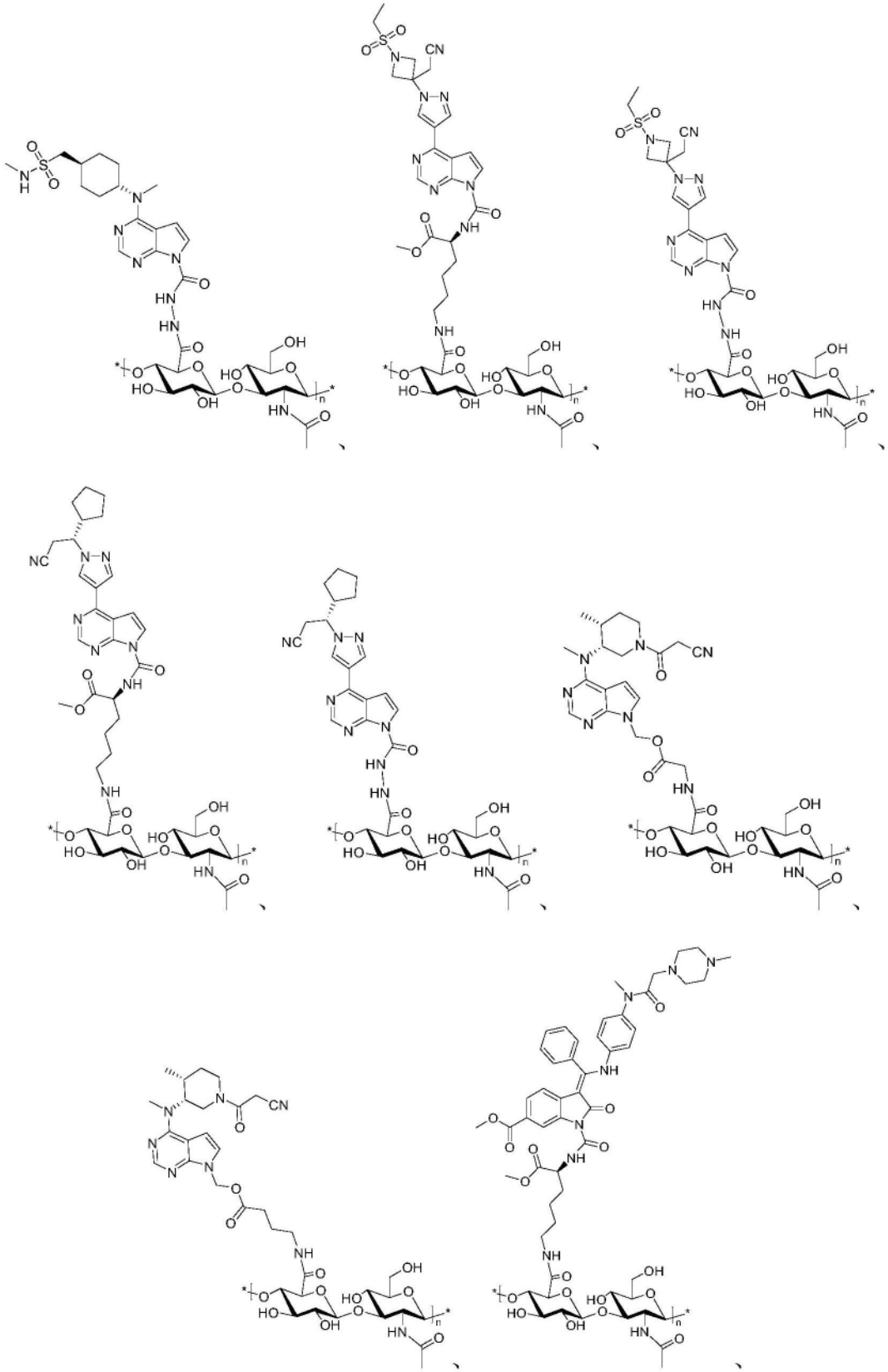


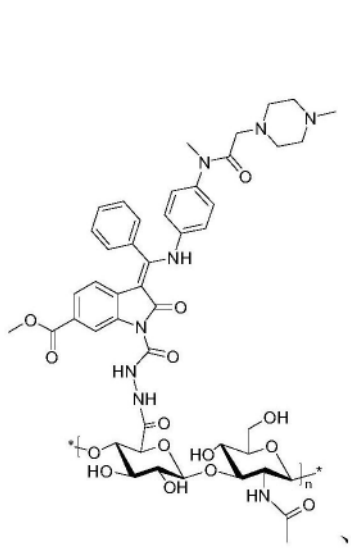


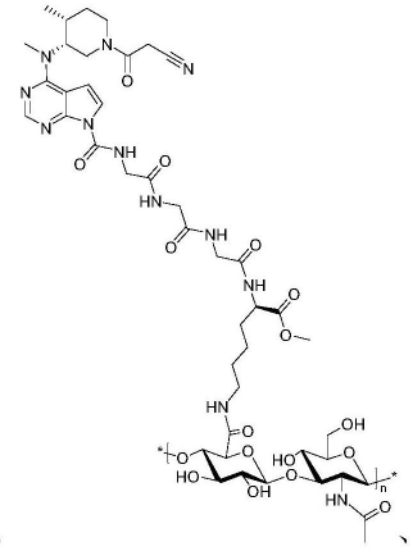


[0245] 

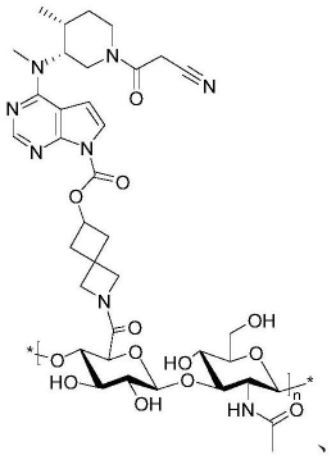
[0246]

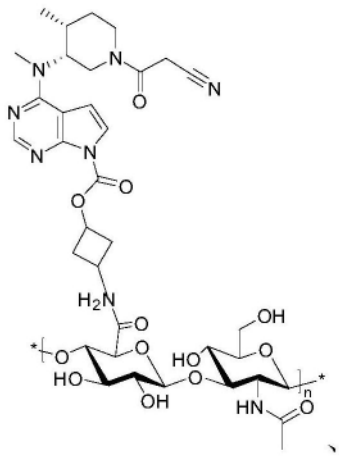


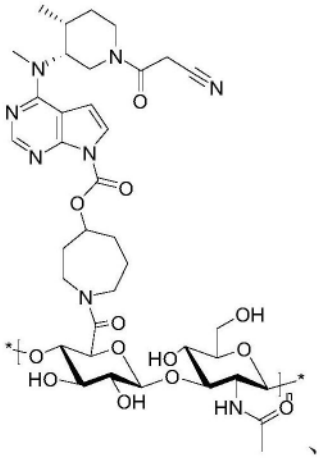


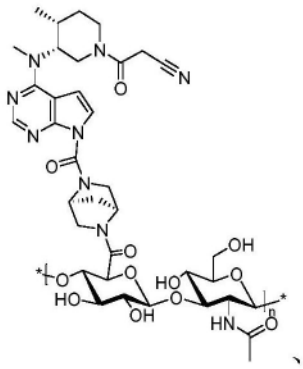


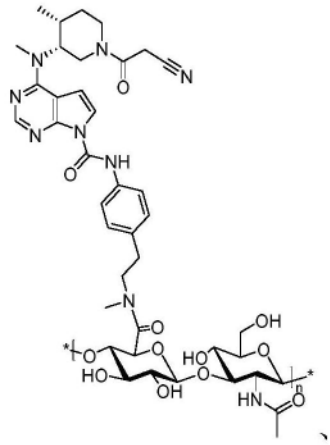
[0247]

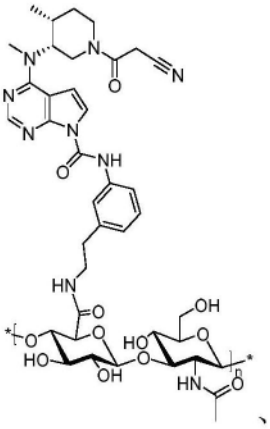




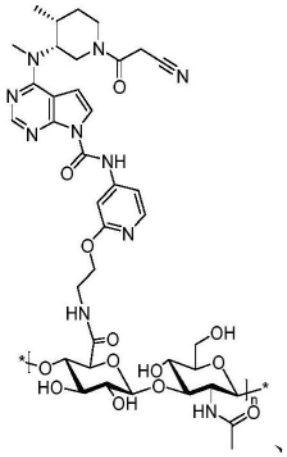
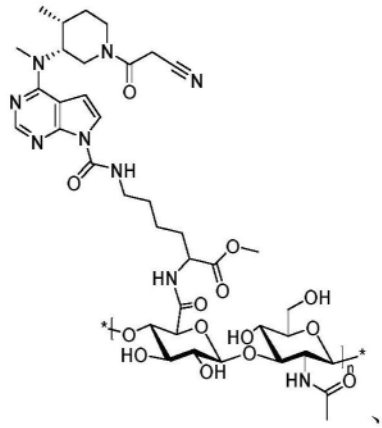
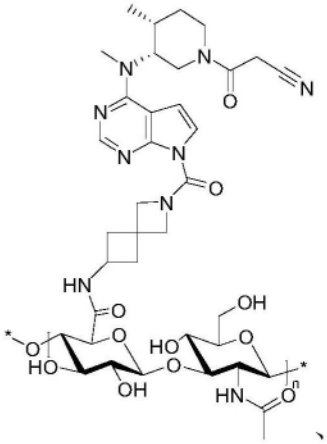
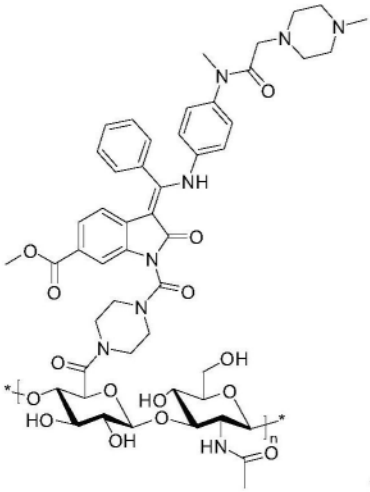
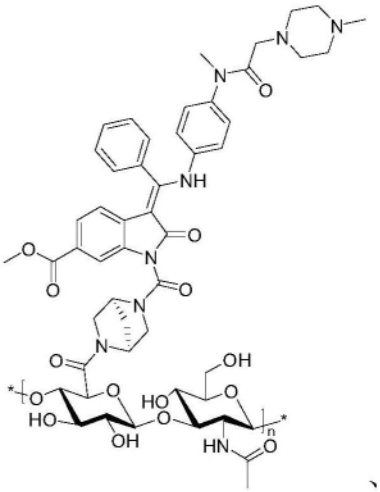
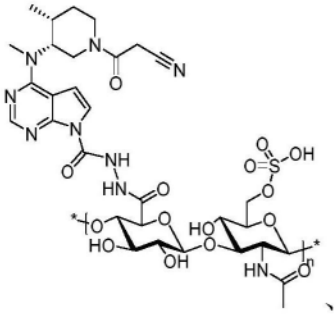
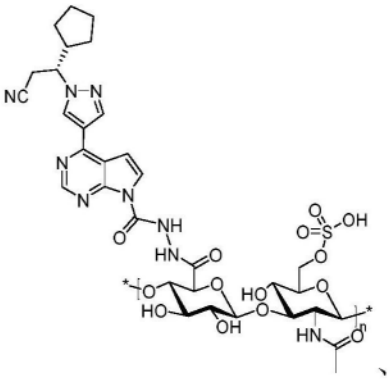




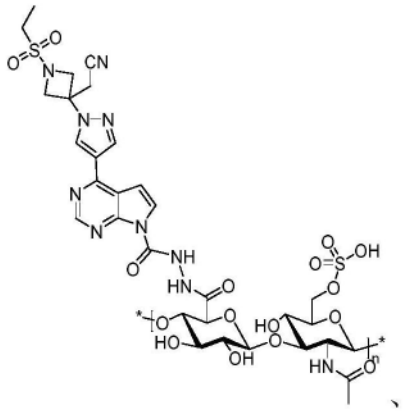
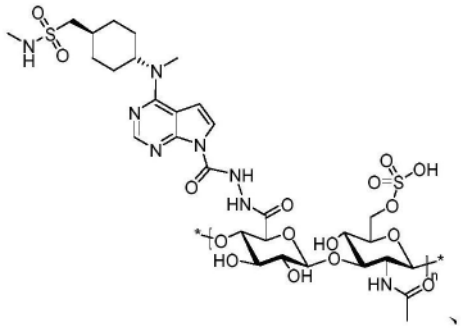
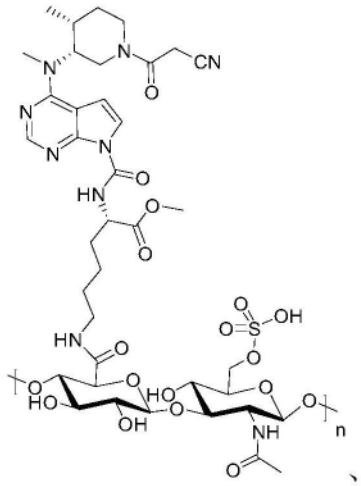
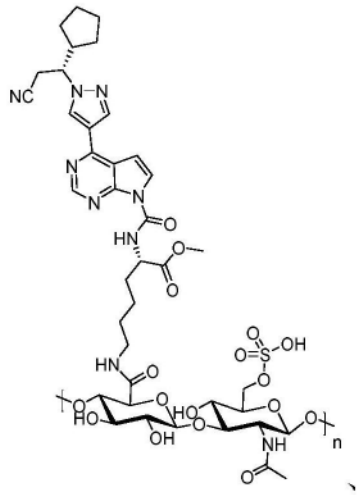
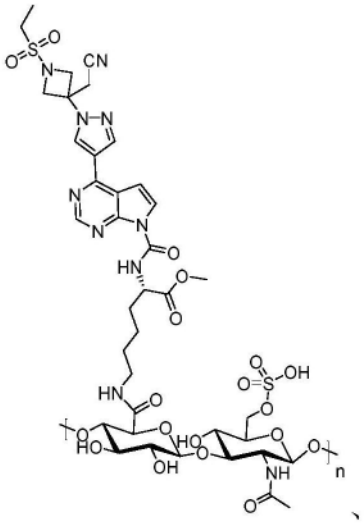
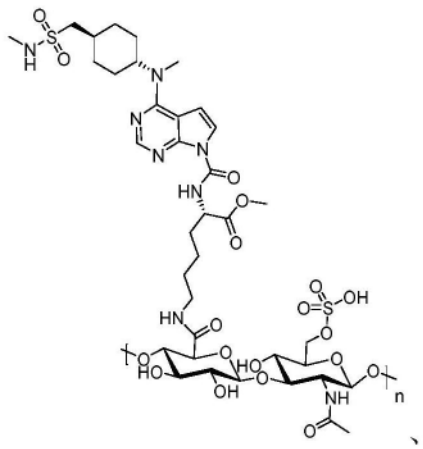




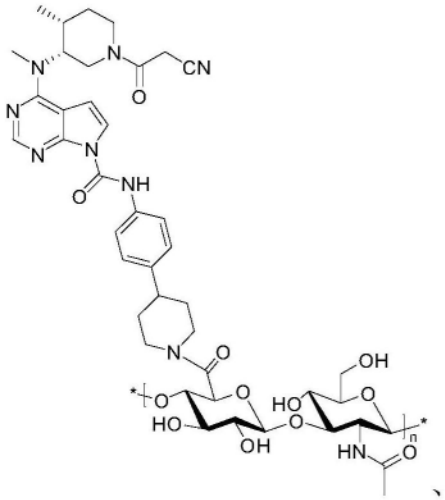
[0248]

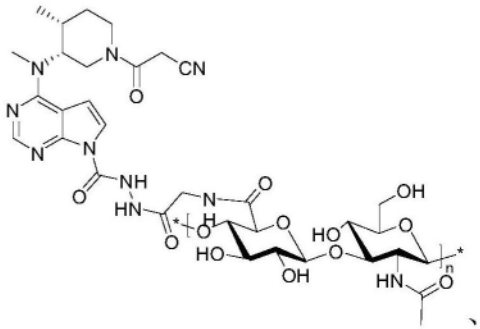








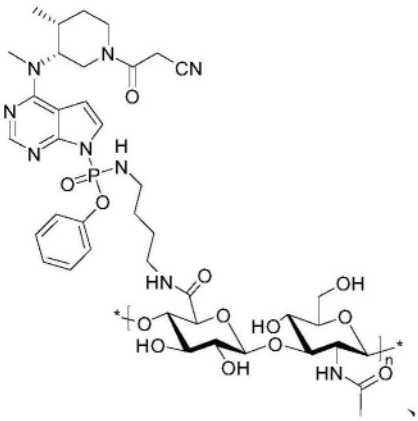
[0249]

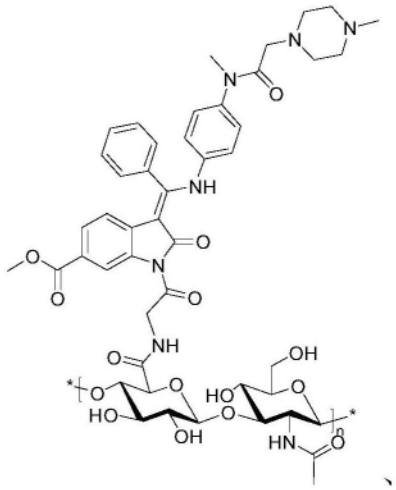







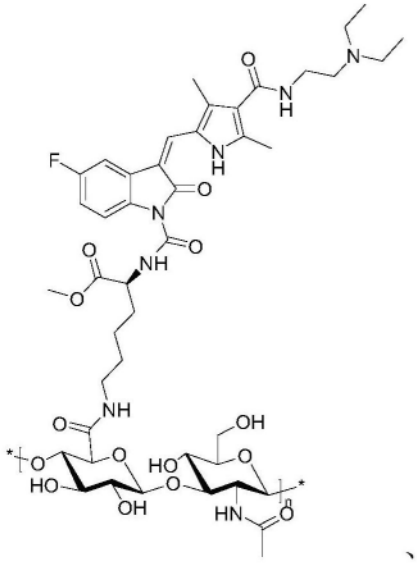
[0250]

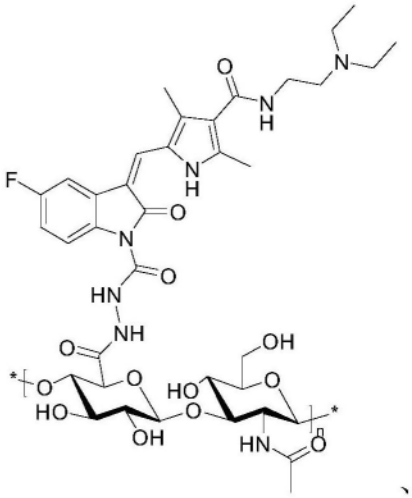


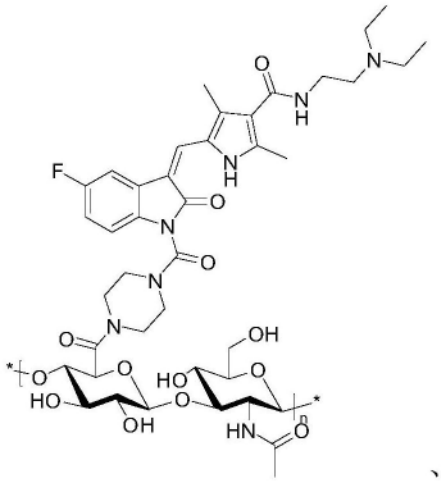
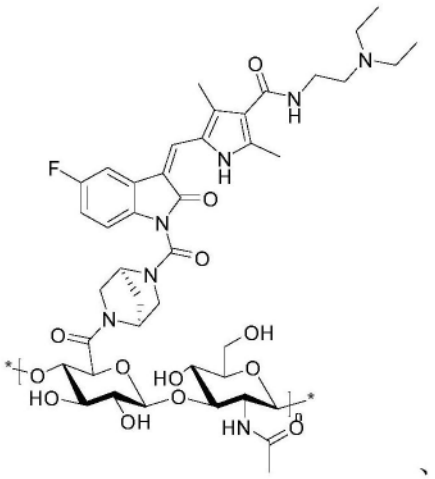
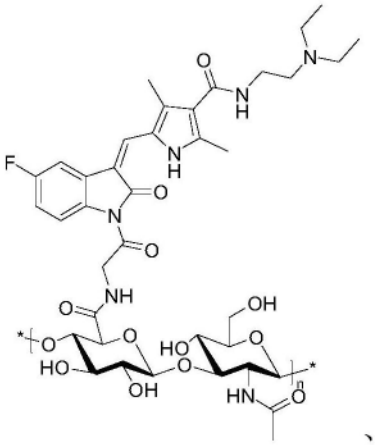
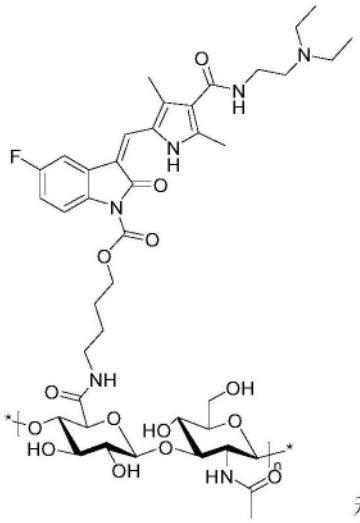
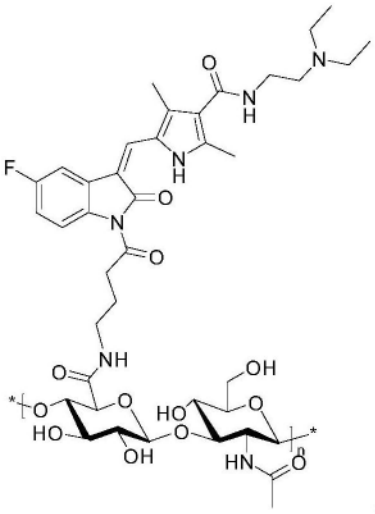










[0251] 、、、和。

[0252] 在一些实施方式中,治疗剂可以通过连接子与生物聚合物缀合,如通过NMR测量的,所述治疗剂与生物聚合物的药物取代率(DSR)为至少1%、至少2%、至少3%、至少5%、至少8%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%,其中与生物聚合物的药物取代率(DSR)是指被药物取代的生物聚合物上的基团的摩尔量与生物聚合物上的能够被药物取代的基团的总摩尔量的比率。

[0253] 通过裂解连接子与生物聚合物或治疗剂之间的键,治疗剂可以从本文所提供的药物递送系统中释放。在一些实施方式中,治疗剂的释放在生物聚合物与连接子之间的键被裂解以释放治疗剂-连接子缀合物的情况下发生,所述治疗剂-连接子缀合物可以被视为前药。随后从连接子中释放治疗剂可以涉及治疗剂与连接子之间的键的酶促或非酶促裂解。在一些实施方式中,治疗剂的释放在治疗剂与连接子之间的键在生物聚合物与连接子之间的键未裂解或在裂解所述键之前裂解的情况下发生。治疗剂的释放也可以涉及酶促或非酶促过程。

[0254] 治疗剂的释放可能受到多种因素的影响,例如,特定治疗剂、连接子和生物聚合物的选择、药物递送系统的施用。本公开考虑具有不同分子量、结合基团BG1的生物聚合物、与连接子的键;具有不同反应性官能团和亚基的连接子;以及具有不同结合基团BG2的治疗剂、与连接子的键。

[0255] 本公开还考虑本文所提供的药物递送系统的不同局部施用。在一些实施方式中,本文所提供的药物递送系统局部地施用于有需要的受试者。在某些实施方式中,本文所提供的药物递送系统通过注射局部地施用于有需要的受试者。在某些实施方式中,本文所提供的药物递送系统通过口服剂型局部地施用于有需要的受试者。在某些实施方式中,本文所提供的药物递送系统通过吸入局部地施用于有需要的受试者。在某些实施方式中,本文所提供的药物递送系统通过植入物局部地施用于有需要的受试者。在某些实施方式中,本文所提供的药物递送系统通过局部应用局部地施用于有需要的受试者。根据特定的治疗剂、连接子和生物聚合物组合,在施用于受试者时治疗剂的释放可能发生在不同位置。方式如,治疗剂的释放可能发生在施用位点处。

[0256] 在一些实施方式中,向受试者施用本文所提供的药物递送系统可以在至少几天到至少几个月的时间段内提供治疗剂的释放。

[0257] 从本文所提供的药物递送系统中释放治疗剂的特征可以为每天从药物递送系统中释放的治疗剂的百分比。在一些实施方式中,治疗剂的释放率可以在以下范围内变化:约0.01%至约20%/天、约0.01%至约15%/天、约0.01%至约10%/天、约0.01%至约9%/天、约0.01%至约8%/天、约0.01%至约7%/天、约0.01%至约6%/天、约0.01%至约5%/天、约0.01%至约4%/天、约0.01%至约3%/天、约0.01%至约2%/天、约0.01%至约1%/天、约0.01%至约0.5%/天、约0.01%至约0.4%/天、约0.01%至约0.3%/天,约0.01%至约0.2%/天、约0.01%至约0.1%/天、约0.01%至约0.05%/天、约0.01%至约0.04%/天、约0.01%至约0.03%/天或约0.01%至约0.02%/天。

[0258] 药物组合物

[0259] 另一方面,提供了包括本公开的药物递送系统的药物组合物。

[0260] 另一方面,提供了包括本公开的药物递送系统的药物组合物以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0261] 如本文所使用的,术语“药物组合物”是指含有呈适于向受试者施用的形式的本公开的药物递送系统的调配物。

[0262] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的赋形剂”意指可用于制备通常安全、无毒并且在生物学上和其它方面均合乎需要的药物组合物的赋形剂,并且包括对于兽医用途以及人类药物用途而言是可接受的赋形剂。如本文所使用的,“药学上可接受的赋形剂”包括

一种和多于一种此类赋形剂。术语“药学上可接受的赋形剂”还涵盖“药学上可接受的载体”和“药学上可接受的稀释剂”。

[0263] 本文所提供的药物组合物可以呈允许向受试者,包括但不限于人,施用组合物并且允许将组合物调配成与预期施用途径相容的任何形式。

[0264] 针对本文所提供的药物组合物考虑了多种途径,并且因此本文所提供的药物组合物可以取决于预期施用途径而以散装或单位剂型供应。例如,对于口服、经颊和舌下施用,粉剂、颗粒、片剂、丸剂、胶囊、软胶囊和囊片作为固体剂型可以为可接受的,并且乳液、糖浆、酏剂、悬浮液和溶液作为液体剂型可以为可接受的。对于注射施用,凝胶、溶液、乳液和悬浮液作为液体剂型可以为可接受的,并且适于用合适溶液复原的粉剂作为固体剂型可以为可接受的。对于吸入施用,溶液、喷雾剂、干粉和气雾剂可以为可接受的剂型。对于局部(包括经颊和舌下)或经皮施用,粉剂、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液和贴片可以为可接受的剂型。对于阴道施用,阴道栓剂、棉塞、乳膏、凝胶、糊剂、泡沫和喷雾剂可以为可接受的剂型。对于植入物施用,固体、半固体、凝胶可以为可接受的剂型。

[0265] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物可以呈口服施用调配物形式。

[0266] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物可以呈注射施用调配物形式。

[0267] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物可以呈吸入施用调配物形式。

[0268] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物可以呈局部施用调配物形式。

[0269] 在某些实施方式中,本文所提供的药物组合物可以以本领域普通技术人员所熟知的皮肤贴片形式调配。

[0270] 除上文所描述的那些代表性剂型以外,药学上可接受的赋形剂和载体对于本领域技术人员而言通常是已知的并且因此包括在本公开中。在例如以下参考文献中描述了此类赋形剂和载体:《雷明顿氏药物科学(Remingtons Pharmaceutical Sciences)》,新泽西州的马克出版公司(Mack Pub.Co.,新泽西州)(1991);《雷明顿:药学科学与实践(Remington: The Science and Practice of Pharmacy)》,编辑费城科学大学(University of the Sciences in Philadelphia),第21版,LWW(2005),所述参考文献通过引用并入本文。

[0271] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物可以被调配成单剂量。本文所提供的化合物在单剂量中的量将根据所治疗的受试者和具体的施用模式而变化。

[0272] 在一些实施方式中,本公开的药物组合物可被调配成以数天、数周、数月或甚至更长的时间间隔向受试者施用。

[0273] 另一方面,还提供了包括本公开的药物递送系统的药物组合物,作为两种或更多种组合疗法。

[0274] 药物递送系统的合成

[0275] 本文所提供的药物递送系统的合成在实施例中的合成方案中进行了说明。本文所提供的药物递送系统可以使用任何已知的有机合成技术来制备并且可以根据多种可能的合成途径中的任何一种来合成,因此这些方案仅是说明性的,并不意味着限制可用于制备本文所提供的化合物的其它可能的方法。另外,方案中的步骤是为了更好地说明,并且可以酌情更改。实施例中的化合物的实施方式是出于研究和可能提交到监管机构的目的而合成的。

[0276] 用于制备本公开的药物递送系统的反应可以在合适的溶剂中进行,有机合成领域

的技术人员可以容易地选择合适的溶剂。合适的溶剂可以在进行反应的温度(例如,范围可以为从溶剂的冻结温度到溶剂的沸腾温度的温度)下与起始材料(反应物)、中间体或产物基本上无反应性。给定反应可以在一种溶剂或多于一种溶剂的混合物中进行。取决于特定反应步骤,特定反应步骤的合适溶剂可以由本领域技术人员选择。

[0277] 本公开的化合物的制备可以涉及各种化学基团的保护和脱保护。对保护和脱保护的需求和对适当的保护基团的选择可以由所属领域的技术人员容易地确定。可以在例如以下参考文献中找到保护基团的化学:T.W.Greene和P.G.M.Wuts,《有机合成中的保护基团(Protective Groups in Organic Synthesis)》,第3版,纽约的约翰威利父子出版公司,(1999);P.Kocienski,《保护基团(Protecting Groups)》,乔治泰米出版社(Georg Thieme Verlag),2003;和Peter G.M.Wuts,《格林氏有机合成中的保护基团(Greene's Protective Groups in Organic Synthesis)》,第5版,Wiley出版社(Wiley),2014,所述参考文献全都通过引用整体并入本文。

[0278] 可以根据本领域中已知的任何适合方法监测反应。例如,可以通过如核磁共振波谱法(例如,^{1}H或^{13}C)、红外光谱法、分光光度法(例如,UV可见)、质谱法等光谱学手段或通过如高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱法-质谱法(LCMS)或薄层色谱法(TLC)等色谱方法来监测产物形成。本领域技术人员可以通过各种方法对化合物进行纯化,所述方法包括高效液相色谱法(HPLC)("制备型LC-MS纯化:改进的化合物特定方法优化(Preparative LC-MS Purification:Improved Compound Specific Method Optimization)"Karl F.Blom,Brian Glass,Richard Sparks,Andrew P.Combs《组合化学杂志(J.Combi.Chem.)》2004,6(6),874-883,所述参考文献通过引用整体并入本文)和正相硅胶色谱法。

[0279] 本公开的已知起始材料可以通过使用或根据本领域已知的方法合成,或者可以从商业供应商处购买。除非另有说明,否则分析级溶剂和可商购获得的试剂均在未经进一步纯化的情况下使用。

[0280] 除非另有说明,否则本公开的反应均在氮气或氩气的正压下或在无水溶剂中使用干燥管进行,并且反应烧瓶通常装配有橡胶隔垫以用于通过注射器引入底物和试剂。玻璃器皿经烘箱干燥和/或加热干燥。

[0281] 治疗疾病的方法

[0282] 另一方面,提供了一种治疗有需要的受试者的病症的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本文所提供的药物递送系统或药物组合物。

[0283] 待治疗的病症取决于所述药物递送系统中选定的治疗剂或本文所提供的药物组合物。在一些实施方式中,所述病症可以选自由以下组成的组:炎症、癌症、心血管疾病、呼吸道疾病、与血管内皮生长因子(VEGF)相关的疾病、骨关节炎、新生血管性(湿性)年龄相关黄斑变性(AMD)、视网膜静脉阻塞后黄斑水肿(RVO)、糖尿病性黄斑水肿(DME)、糖尿病性视网膜病变(DR)、近视脉络膜新生血管(mCNV)、皮炎、银屑病、慢性阻塞性肺病、哮喘。

[0284] 在此背景下,术语"治疗有效量"是指在本文所提供的药物递送系统或其药学上可接受的盐中选定的治疗剂的量,所述量有效地向受试者提供"疗法"或"治疗"受试者的病症、疾病或病状。

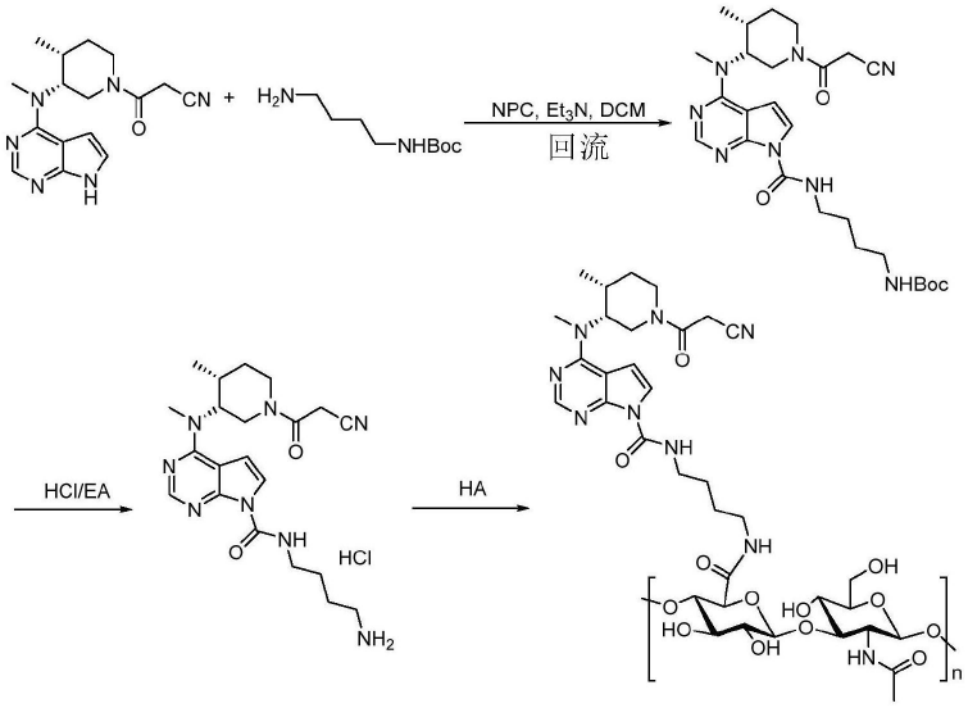
[0285] 实施例

[0286] 出于说明的目的,包括了以下实施例。然而,应理解,这些实施例并不限制本公开,

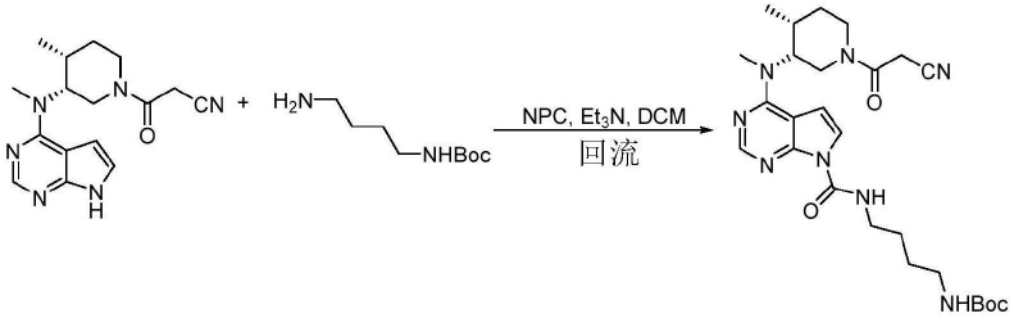
并且仅意在表明实践本公开的方法。本领域技术人员将认识到,可以容易地使所描述的化学反应适于制备本公开的多种其它化合物,并且用于制备本公开的化合物的可替代方法被视作处于本公开的范围内。例如,通过对本领域技术人员而言显而易见的修饰,例如通过适当地保护干扰基团、通过利用本领域已知的除所描述的试剂和构建块之外的其它合适的试剂和构建块和/或通过对反应条件进行常规修改,可以成功地合成根据本公开的非示例性化合物。可替代地,本文所公开或本领域中已知的其它反应将被认为适用于制备本公开的其它化合物。

[0287] 实施例1

[0288] N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0289] 

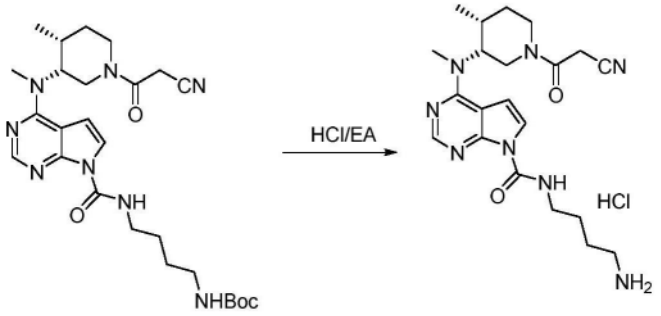
[0290] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0291] 

[0292] 在N_2下将三乙胺(1.2g,12mmol,2.5当量)添加到托法替尼(1.5g,4.8mmol,1当量)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.61g,5.28mmol,1.1当量)于二氯甲烷(30mL)中的混合物中,将反应混合物加热至回流持续3小时。然后添加(4-氨基丁基)氨基甲酸叔丁酯(0.9g,4.82mmol,1当量)并使所得混合物回流持续12小时。在减压下去除溶剂后,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(2.4g,产率:95%);MS(m/z):$C_{26}H_{38}N_8O_4$的[M+H]+计算值,

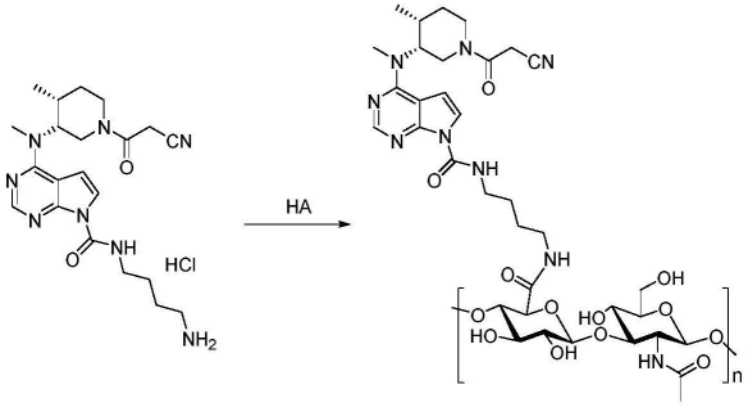
527.30;实验值,527.2。

[0293] 步骤2:N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0294] 

[0295] 在N_2下在0℃下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(9.6mL,38.4mmol)逐滴添加到(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)丁基)氨基甲酸叔丁酯(2.4g,4.56mmol,1当量)于乙酸乙酯(24mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌2天。在减压下去除溶剂,将所得固体在乙酸乙酯(24mL)中搅拌0.5小时,然后过滤以得到呈HCl盐的所期望产物(2.1g,产率:100%);MS(m/z):$C_{21}H_{30}N_8O_2$的[M+H]+计算值,427.25;实验值,427.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.38(d,J=6.7Hz,1H),7.82(d,J=3.9Hz 1H),6.90(s,1H),4.72-4.53(m,1H),4.16-3.26(m,11H),3.04(d,J=6.4Hz 2H),2.66-2.46(m,1H),2.03-1.90(m,1H),1.86-1.69(m,5H),1.12(d,J=7.1Hz,3H).

[0296] 步骤3:N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0297] 

[0298] 在0℃下将4-甲基吗啉(0.066g,0.65mmol,1.5当量)和2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(0.076g,0.432mmol,1当量)添加到透明质酸钠(MW 50KDa,0.161g,0.432mmol,1当量)于乙腈(22mL)和H_2O(35mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟,并且然后在室温下搅拌1小时。

[0299] 向反应混合物中添加N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.432mmol,1当量),并且然后用4-甲基吗啉将反应混合物的pH调整到6.5至7。将所得反应混合物在室温下搅拌3天。

[0300] 将含NaCl(257mg,10当量)的H_2O(2mL)添加到上述反应混合物中并搅拌0.5小时。

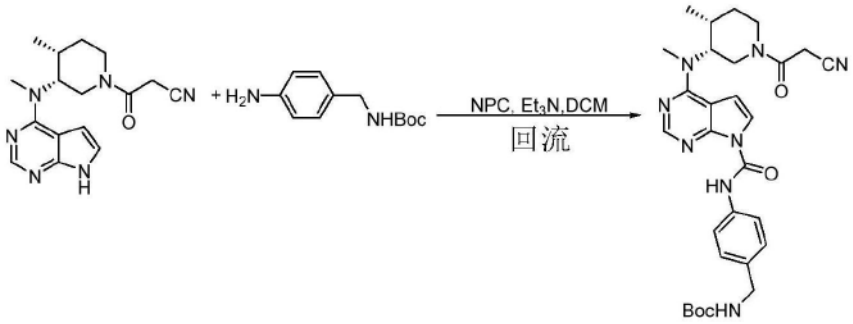
然后将丙酮(350mL)逐滴添加到上述混合物中,同时形成沉淀物。过滤混合物并且用丙醇(10mL*3)洗涤滤饼。将湿饼溶解于乙腈(20mL)和H_2O(40mL)中,并且然后用3.5kDa MW截止膜对去离子水透析3次,然后进行冻干以得到标题化合物(0.15g,产率:43.2%,DSR(药物取代率)=17%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O/d-DMSO=3:1)δppm8.40-7.90(m,0.17H),7.75-7.20(m,0.17H),6.95-6.25(m,0.17H),4.70-4.20(m,2.47H),4.00-3.23(m,11.91H),2.55-2.30(m.0.34H),1.99(d,J=19.7Hz,3H),1.30(t,J=6.8Hz,0.17H),1.20-1.10(m,0.51H).

[0301] 在步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.16g,产率:46%,DSR=22%)。NMR

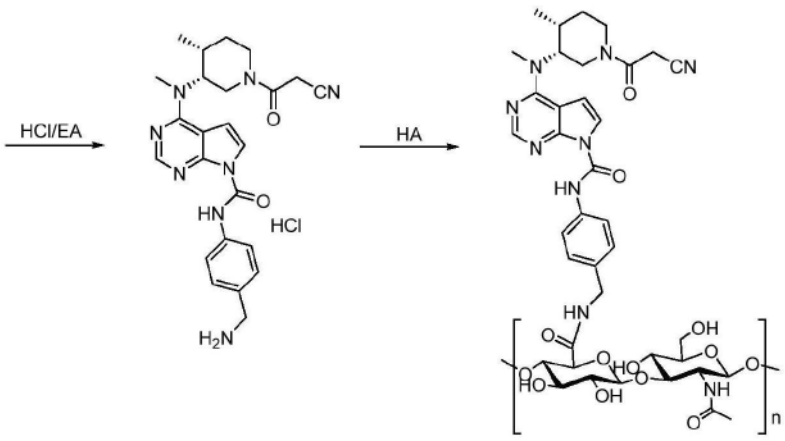
[0302] 在步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.15g,产率:43.2%,DSR=17%)。NMR

[0303] 实施例2

[0304] N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

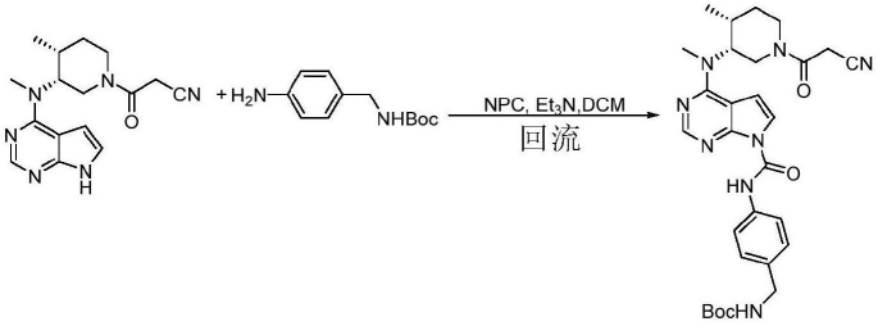


[0305]



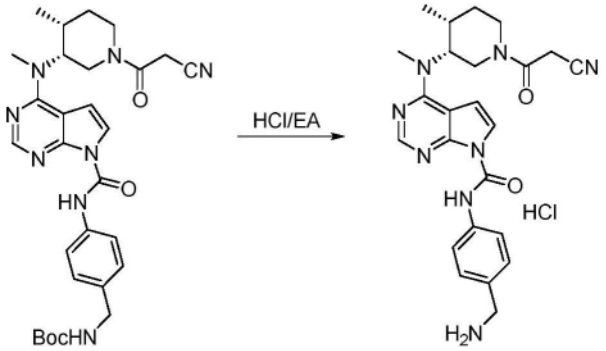
[0306] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苄基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0307]



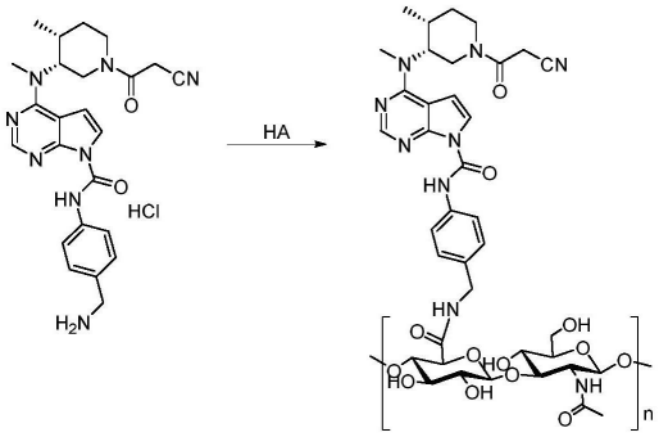
[0308] 通过遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.5g,4.8mmol,1当量)、双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.61g,5.28mmol,1.1当量)和(4-氨基丁基)氨基甲酸叔丁酯(1.07g,4.8mmol,1当量)产生标题产物(1.8g,产率:67%);MS(m/z):$C_{29}H_{36}N_8O_4$的[M+H]+计算值,562.29;实验值,562.2。

[0309] 步骤2:N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0310] 

[0311] 通过遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苄基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g,2.675mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.33g,产率:100%);MS(m/z):$C_{24}H_{28}N_8O_2$的[M+H]+计算值,461.23;实验值,461.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm)δ8.30 -8.08(m,1H),7.7-7.3(m,5H),6.80-6.50(m,1H),4.55(s,2H),4.19(s,2H),4.09-3.88(m,3H),3.6-3.19(m,5H),2.44(br,1H),2.0-1.5(m,2H),1.25-1.0(m,3H).

[0312] 步骤3:N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0313] 

[0314] 通过遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.163g,0.403mmol,1当量)和N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.403mmol,1当量)反应混合物提供标题化合物(0.18g,产率:55%,DSR=38%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O/d-DMSO=3:1)δppm9.0-7.0(m,2.7H),4.75-4.4(m,5.5H),4.4-3.0(m,11H),2.7-2.45(m,0.38H),2.15(s,3H),1.9-1.4(m,0.74H),1.4-0.9(m,1.14H).

[0315] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.15g,产率:44%,DSR=21.4%)。

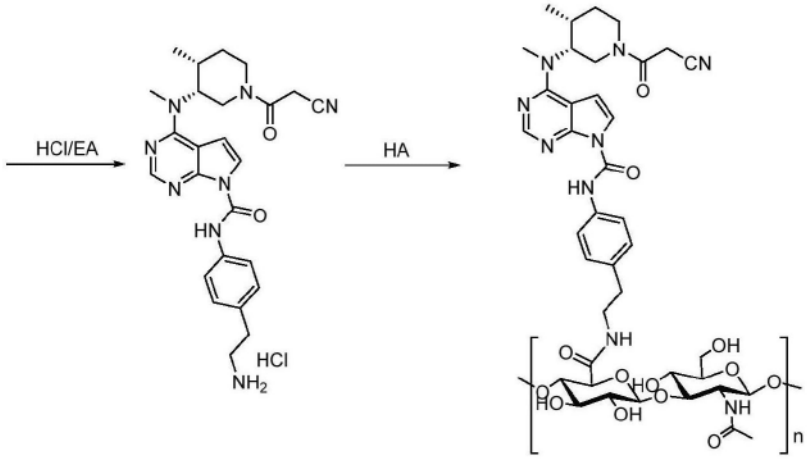
[0316] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.18g,产率:53%,DSR=20.7%)

[0317] 实施例3

[0318] (4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯与HA的缀合物的制备

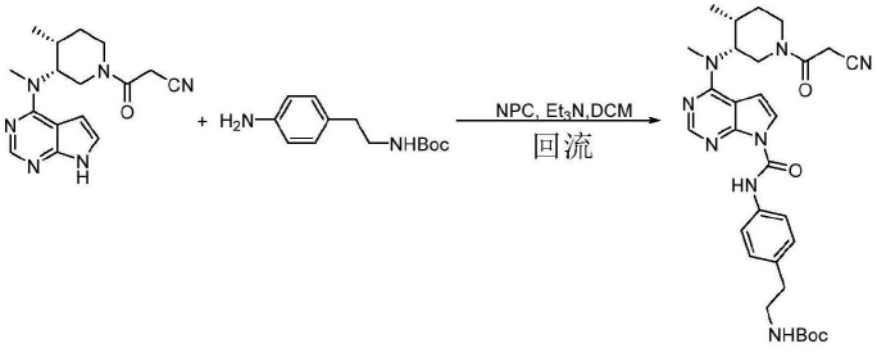


[0319]



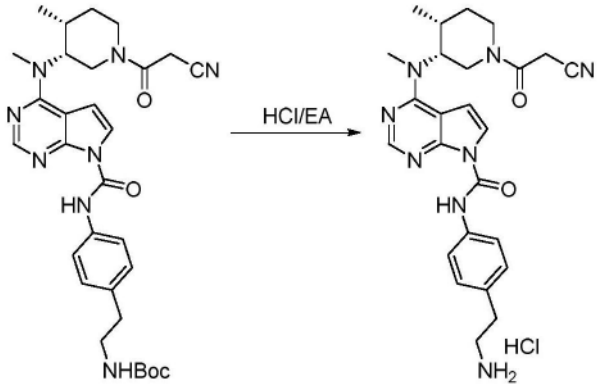
[0320] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0321]



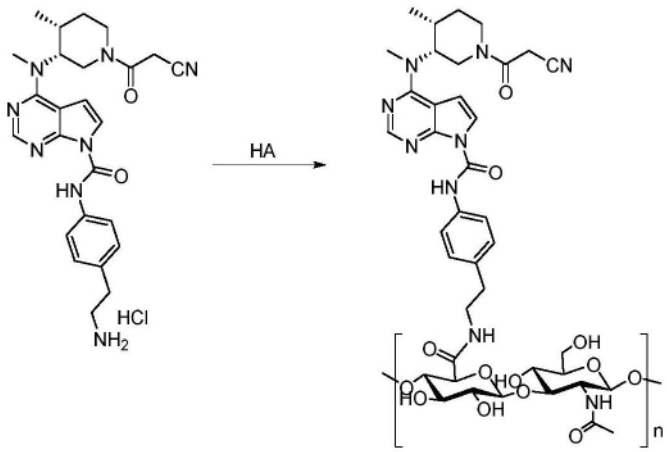
[0322] 通过遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.5g,4.8mmol,1当量)和(4-氨基苯乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.14g,4.8mmol,1当量)产生标题产物(2.2g,产率:79.7%);MS(m/z):$C_{30}H_{38}N_8O_4$的[M+H]+计算值,575.30;实验值,575.2。

[0323] 步骤2:N-(4-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0324] 

[0325] 通过遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g,2.61mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.33g,产率:100%);MS(m/z):$C_{25}H_{30}N_8O_2$的[M+H]+计算值,475.25;实验值,475.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.31-8.01(m,1H),7.96-7.09(m,5H),6.98-6.54(m,1H),4.50(dd,2H),4.10-3.42(m,5H),3.25(d,J=21.8Hz,5H),3.02(t,2H),2.43(d,J=5.7Hz,1H),1.83(dd,J=72.1,15.3Hz,2H),1.13(dd,J=18.5,13.3Hz,3H).

[0326] 步骤3:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯与HA的缀合物的制备

[0327] 

[0328] 通过遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.157g,0.39mmol,1当量)和N-(4-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.39mmol,1当量)提供标题化合物(0.19g,产率:33.4%,DSR=19%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O/DMSO=3:1)δppm 8.5-8.25(m,0.09H),7.90-6.72(m,1.23H),4.75-4.25(m,1.98H),4.02-3.17(m,12H),3.10-2.75(m,0.76H),2.54(br,0.19H),2.04(s,3H),1.60-1.25(m,0.38H),1.18-0.98(m,0.57H).

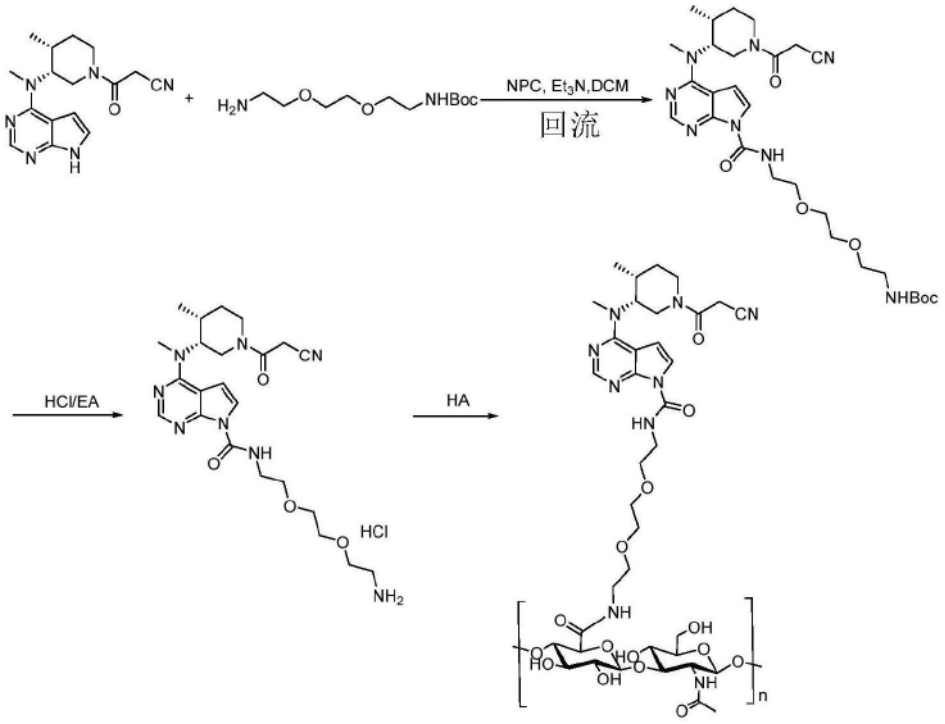
[0329] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.147g,产率:44%,DSR=16%),

[0330] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.175g,产率:53%,DSR=22.9%)。

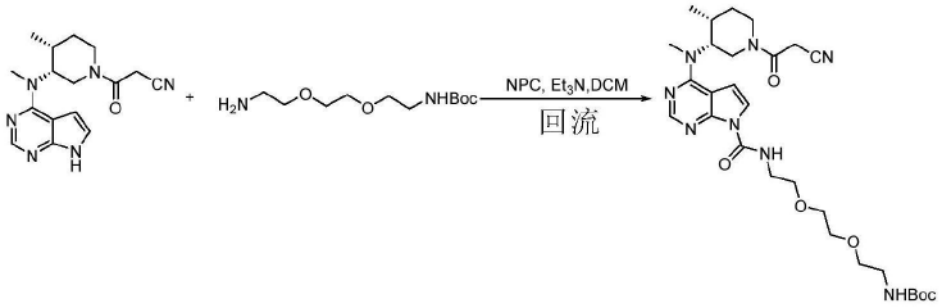
[0331] 实施例4

[0332] N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲

基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

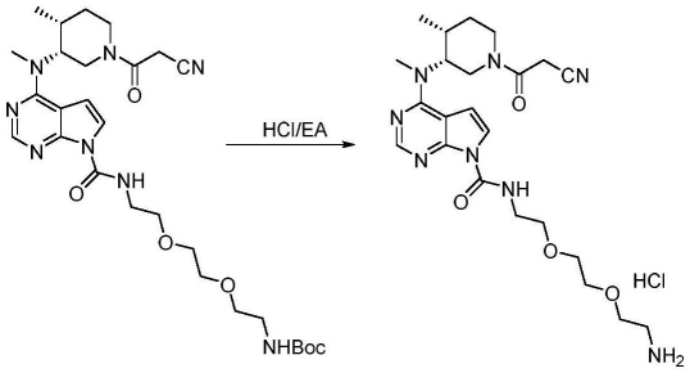
[0333] 

[0334] 步骤1:(2-(2-(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0335] 

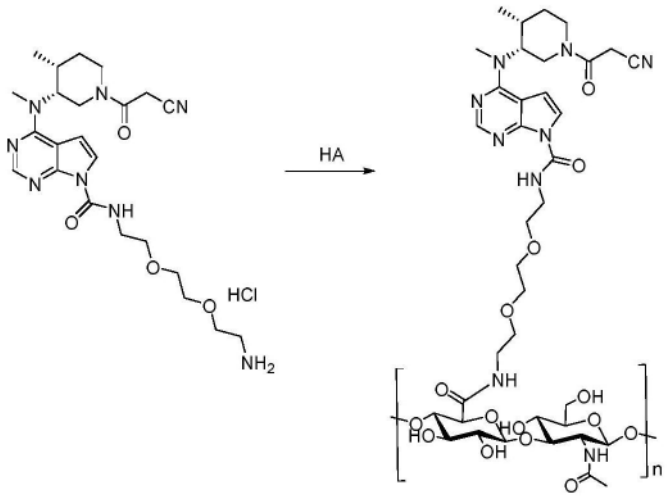
[0336] 通过遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(3g,9.6mmol,1当量)、(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(2.38g,9.6mmol,1当量)产生标题产物(3g,产率:54%);MS(m/z):$C_{28}H_{42}N_8O_6$的[M+H]+计算值,587.32;实验值,587.2。

[0337] 步骤2:N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0338] 

[0339] 通过遵循实施例1中的步骤2,(2-(2-(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g,2.56mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.34g,产率:100%);MS(m/z):$C_{23}H_{34}N_8O_4$的[M+H]+计算值,487.32;实验值,487.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.40(br,1H),7.83(s,1H),6.91(s,1H),4.7-4.5(m,1H),4.06-3.92(m,3H),3.83-3.36(m,16H),3.17(s,2H),2.56(s,1H),2.00-1.72(m,2H),1.14(dd,J=16.1,7.0Hz,3H).

[0340] 步骤3:N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0341] 

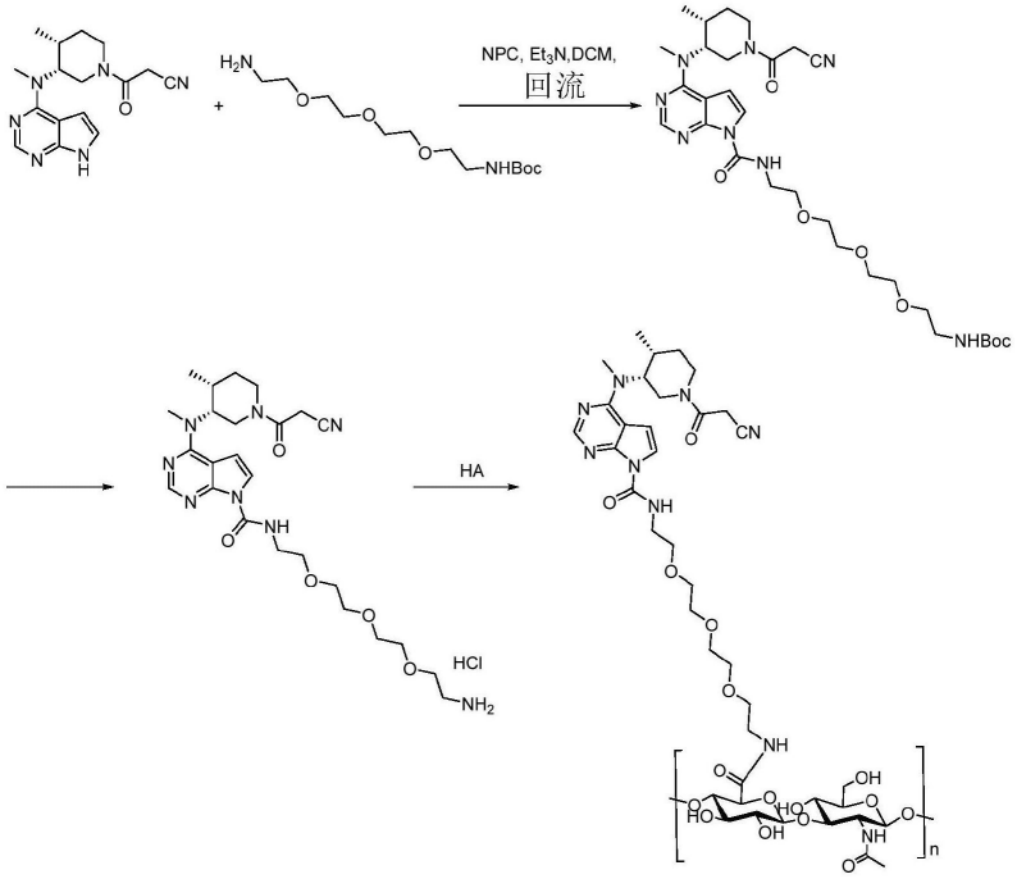
[0342] 通过遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.153g,0.38mmol,1当量)和N-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.38mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:33%,DSR=36.3%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O/d-DMSO=3:1)δppm8.52-7.93(m,0.37H),7.82-7.20(m,0.33H),6.99-6.26(m,0.39H),4.75-3.8(m,5.09H),3.8-2.75(m,14.93H),2.5-2.25(m,0.36H),2.05(s,3H),1.82-1.30(m,0.73H),1.2-0.8(m,1.09H).

[0343] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.186g,产率:56.5%,DSR=32%)

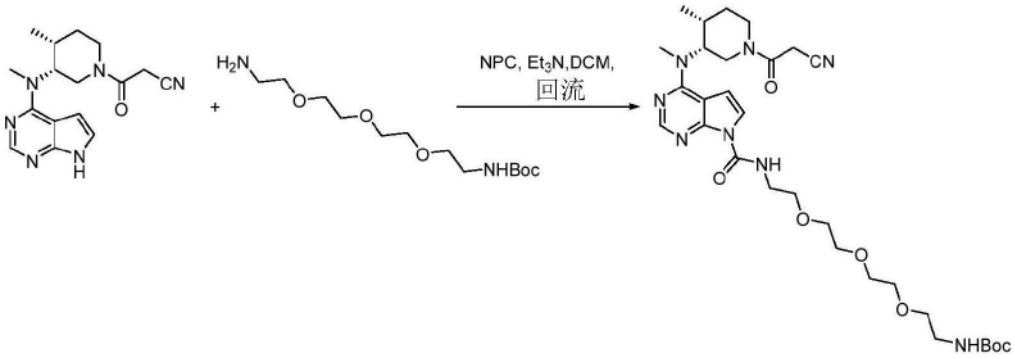
[0344] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.198g,产率:60.2%,DSR=26.6%)。

[0345] 实施例5

[0346] N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

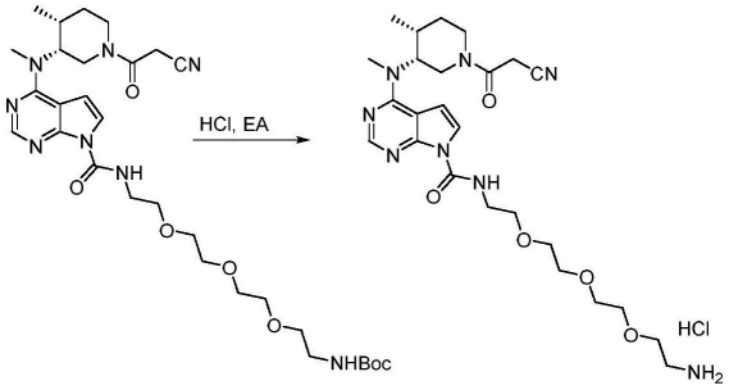
[0347] 

[0348] 步骤1:(1-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-氧代-5,8,11-三氧杂-2-氮杂三癸-13-基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0349] 

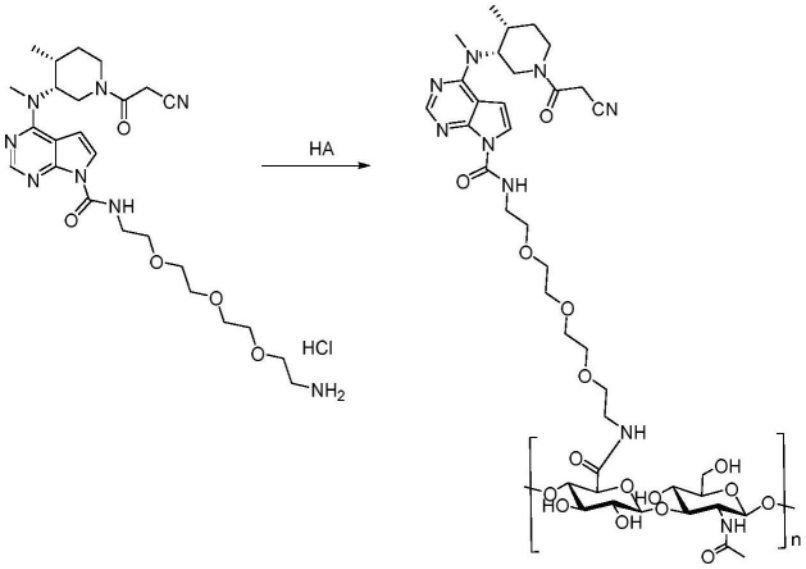
[0350] 通过遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.5g,4.8mmol,1当量)和(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.41g,4.8mmol,1当量)产生标题产物(1.8g,产率:60%);MS(m/z):$C_{30}H_{46}N_8O_7$的[M+H]+计算值,631.35;实验值,631.2。

[0351] 步骤2:N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0352] 

[0353] 通过遵循实施例1中的步骤2,(1-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-氧代-5,8,11-三氧杂-2-氮杂三癸-13-基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g,2.38mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1g,产率:80%);MS(m/z):$C_{25}H_{38}N_8O_5$的[M+H]+计算值,531.30;实验值,531.2。^{1}H-NMR(400MHz,DMSO)δ ppm 9.74(s,1H),8.34(d,J=7.0Hz,1H),8.01(s,1H),7.69(s,1H),6.86(s,1H),4.85(d,J=3.1Hz,1H),4.35-4.0(m,10H),3.7-3.96(m,3H),3.65-3.5(m,10H),2.93(d,J=4.3Hz,2H),2.38(s,1H),1.89-1.68(m,1H),1.59(s,1H),1.01(d,J=4.8Hz,3H).

[0354] 步骤3:N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0355] 

[0356] 通过遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.141g,0.35mmol,1当量)和N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.35mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:62.7%,DSR=24%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O-DMSO=3:1)δ ppm 8.7-8.2(m,0.24H),8.1-7.3(m,0.24H),7.2-6.6(m,0.24H),4.7-4.35(m,1H),4.3-3.1(m,17H),2.7-2.5(br,0.24H),2.14(br,3H),1.93(br,0.24H),1.46(br,0.24H),1.24(br,0.72H).

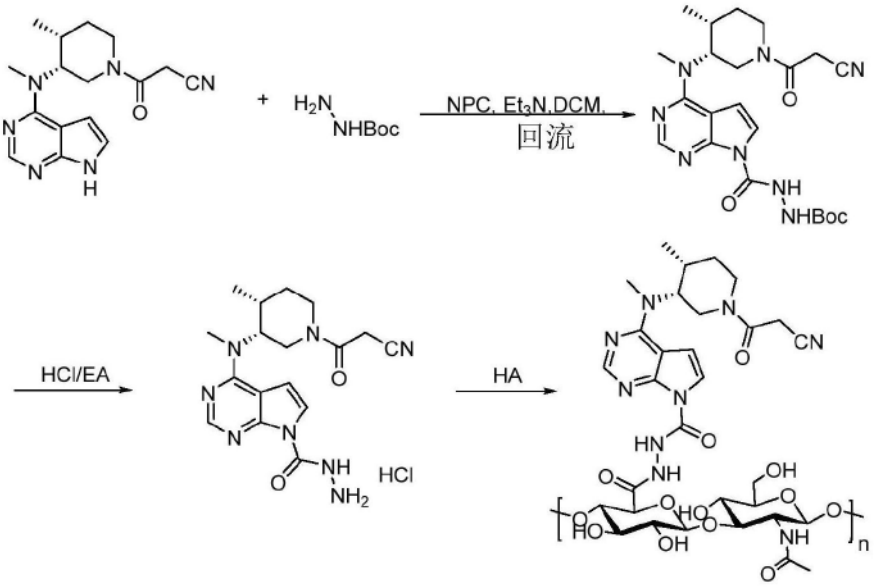
[0357] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产

物(0.186g,产率:58.4%,DSR=26%)

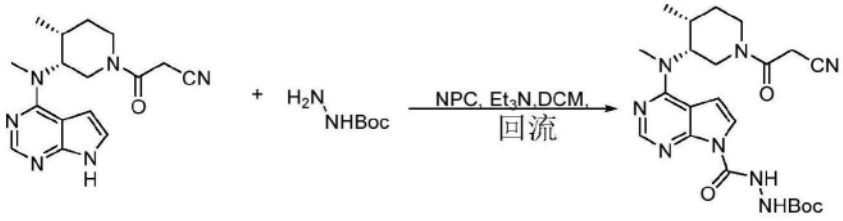
[0358] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.198g,产率:62.2%,DSR=28%)。

[0359] 实施例6

[0360] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

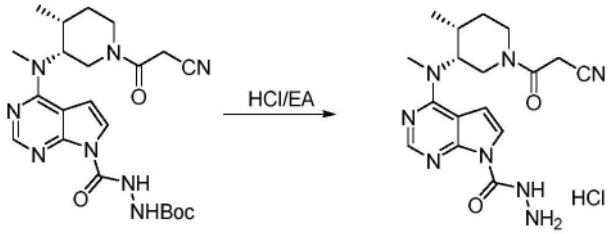
[0361] 

[0362] 步骤1:2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)肼-1-甲酸叔丁酯的制备

[0363] 

[0364] 通过遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)和肼甲酸叔丁酯(0.845g,6.4mmol,1当量)产生标题产物(2.23g,产率:75%);MS(m/z):$C_{22}H_{30}N_8O_4$的[M+H]+计算值,471.24;实验值,471.2。

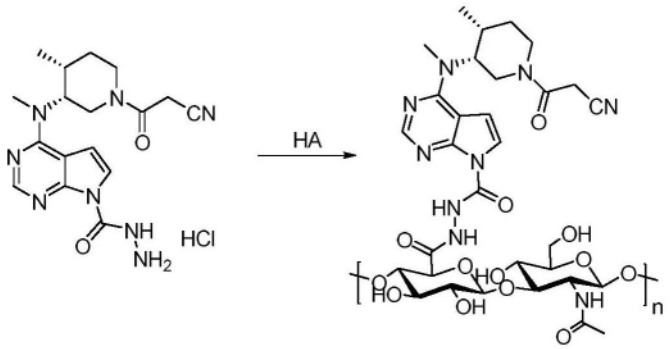
[0365] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐的制备

[0366] 

[0367] 通过遵循实施例1中的步骤2,2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)肼-1-甲酸叔丁酯(2g,4.25mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.5g,产率:85%);MS(m/z):$C_{17}H_{22}N_8O_2$的[M+H]+计算值,

371.19;实验值,371.1。^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD)δppm 8.52(s,1H),7.89(d,J=3.1Hz,1H),7.13(d,J=3.8Hz,1H),4.83(s,1H),4.22-3.32(m,9H),2.55(br,1H),2.05-1.99(m,1H),1.90-1.67(m,1H),1.16(d,J=7.0Hz,3H).

[0368] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

[0369] 

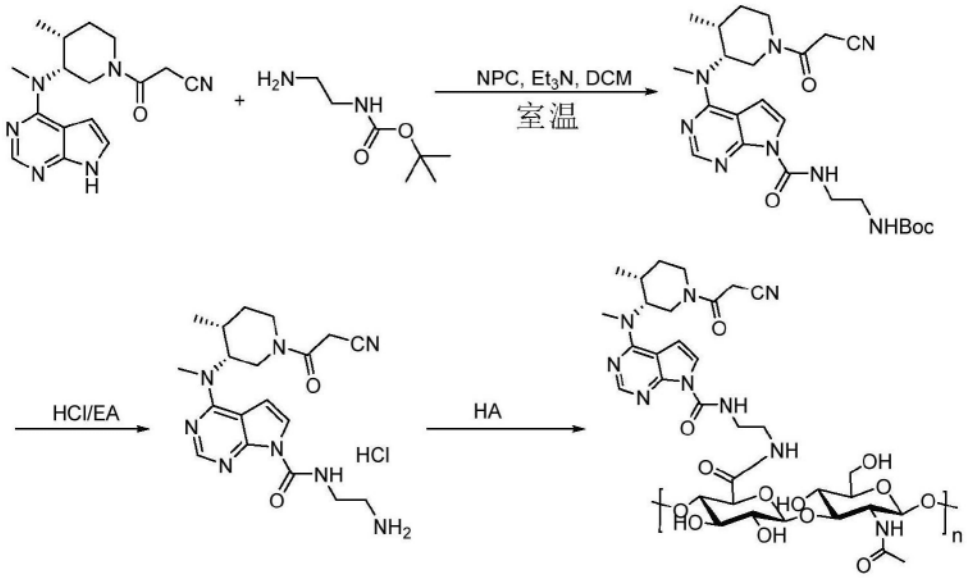
[0370] 通过遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.202g,0.5mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(0.2g,0.5mmol,1当量)提供标题化合物(0.15g,产率:43.2%,DSR=32%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O-DMSO=5:1):δppm 8.4-7.8(m,0.32H),7.8-7.2(m,0.32H),7.0-6.0(m,0.32H),4.75-4.4(m,2.1H),4.26-3.19(m,11.1H),2.45(br,0.32H),2.05(br,3H),1.85-1.3(m,0.65H),1.18(br,0.95H).

[0371] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.18g,产率:48.5%,DSR=35%)。

[0372] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.19g,产率:51.2%,DSR=30%)。

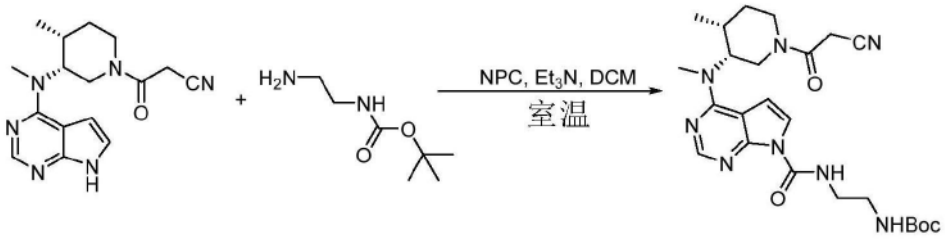
[0373] 实施例7

[0374] N-(2-氨基乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0375] 

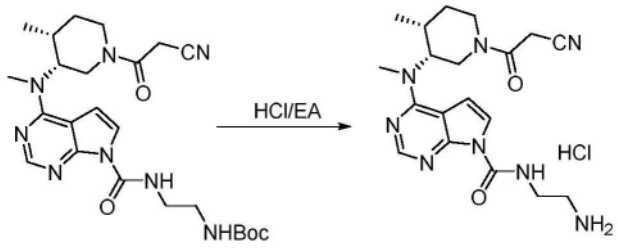
[0376] 步骤1:(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-

7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0377] 

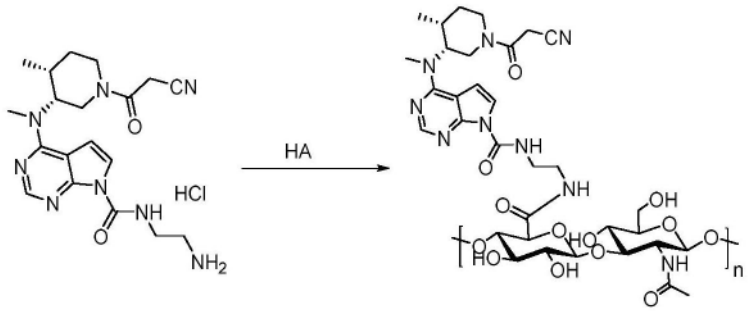
[0378] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(3.2g,10.24mmol,1当量)和(2-氨基乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.64g,10.24mmol,1当量)产生标题产物(3g,产率:59%);MS(m/z):$C_{24}H_{34}N_8O_4$的[M+H]+计算值,499.27;实验值,499.1。

[0379] 步骤2:N-(2-氨基乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0380] 

[0381] 遵循实施例1中的步骤2,(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1g,2mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(870mg,产率:100%);MS(m/z):$C_{19}H_{26}N_8O_2$的[M+H]+计算值,399.22;实验值,399.1。^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD)δppm 8.49(s,1H),7.95(d,J=3.6Hz,1H),7.08(s,1H),4.08-3.73(m,7.5H),3.71-3.41(m,4.5H),3.27(t,2H),2.66-2.44(m,1H),2.00-1.67(m,2H),1.16(d,J=7.0Hz,3H).

[0382] 步骤3:N-(2-氨基乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

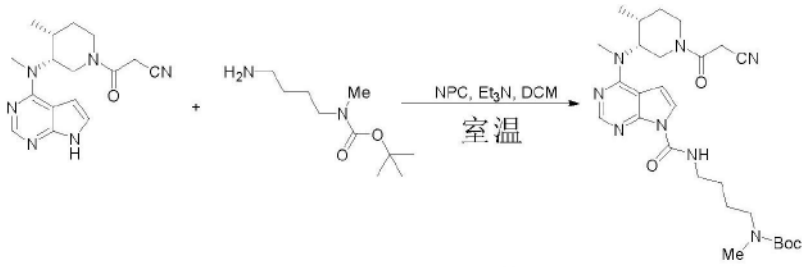
[0383] 

[0384] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.186g,0.46mmol,1当量)和N-(2-氨基乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.46mmol,1当量)提供标题化合物(0.23g,产率:66%,DSR=18%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm:8.23(m,0.18H),7.63(m,0.18H),6.80(m,0.18H),4.64-4.24(m,2.2H),4.05-2.96(m,12.3H),2.42(m,0.18H),1.98(s,3H),1.80-1.67(m,0.18H),1.26(m,0.18H),1.05(m,0.54H).^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm:8.5-7.9(m,0.18H),7.7-7.0(m,0.18H),7.0-5.8(m,0.18H),4.64-4.24(m,2.2H),4.05-2.96(m,

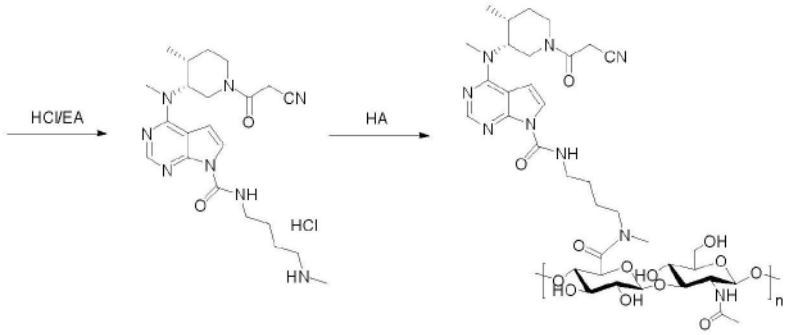
12.3H),2.42(br,0.18H),1.98(s,3H),1.80-1.67(m,0.18H),1.26(br,0.18H),1.05(m,0.54H).

[0385] 实施例8

[0386] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(甲基氨基)丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

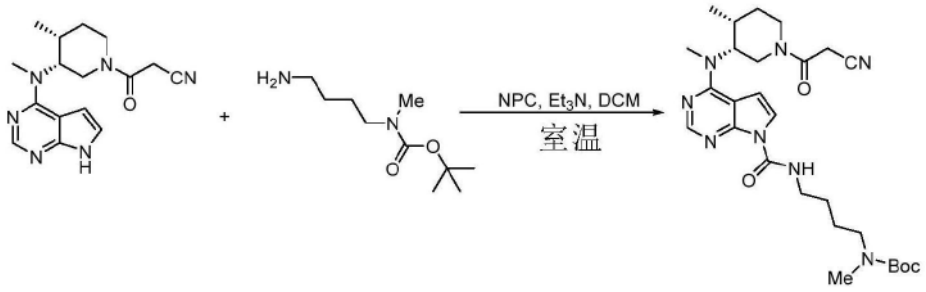


[0387]



[0388] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)丁基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯的制备

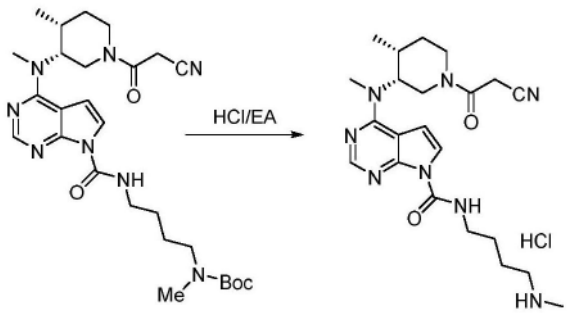
[0389]



[0390] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1g,3.2mmol,1当量)和(4-氨基丁基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.65g,3.2mmol,1当量)产生标题产物(1g,产率:58%);MS(m/z):$C_{27}H_{40}N_8O_4$的[M+H]+计算值,541.32;实验值,541.2。

[0391] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(甲基氨基)丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

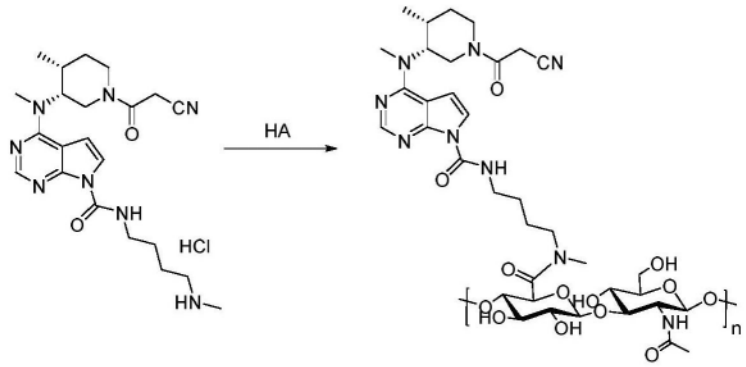
[0392]



[0393] 遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-

基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)丁基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(1g,1.85mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.88g,产率:100%);MS(m/z):$C_{22}H_{32}N_8O_2$的[M+H]+计算值,441.26;实验值,441.1。^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD)δppm 8.50(d,J=4.7Hz,1H),7.94(d,J=3.7Hz,1H),7.07(s,1H),4.20 -3.81(m,3H),3.73-3.32(m,8H),3.08(t,2H),2.72(s,3H),2.55(br,1H),1.99(br,1H),1.91-1.67(m,5H),1.16(d,J=6.9,5.2Hz,3H).

[0394] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(甲基氨基)丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0395] 

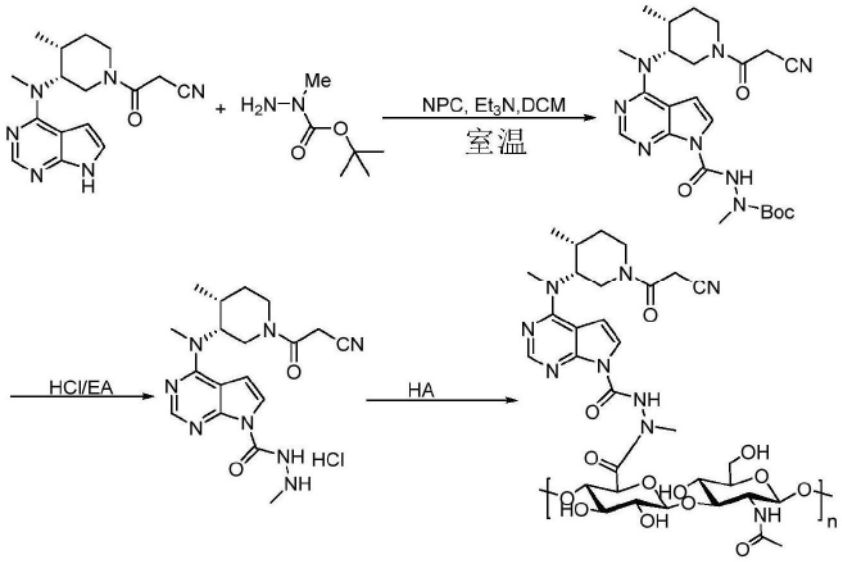
[0396] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.169g,0.42mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(甲基氨基)丁基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.42mmol,1当量)提供标题化合物(0.236g,产率:34.4%,DSR=10%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.4-7.9(m,0.1H),7.75-7.35(m,0.1H),6.95-6.5(m,0.1H),4.7-4.2(m,2.7H),4.0-3.2(m,11H),2.47(br,0.1H),2.02(br,3H),1.29(br,0.2H),1.2-0.95(m,0.3H).

[0397] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.18g,产率:52.3%,DSR=6%)。

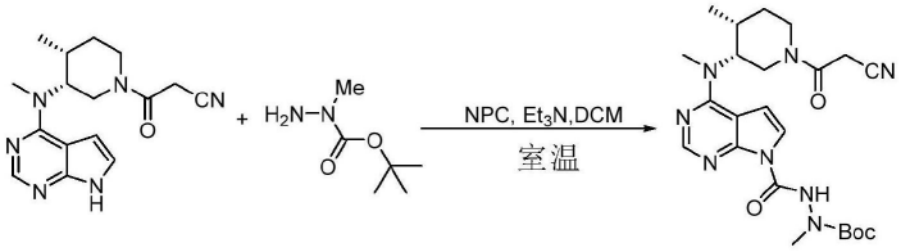
[0398] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物KDa(0.17g,产率:49.4%,DSR=3%)。

[0399] 实施例9

[0400] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

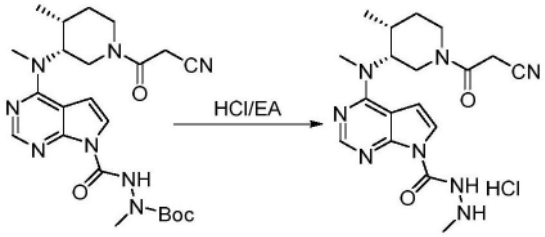
[0401] 

[0402] 步骤1:2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-1-甲基肼-1-甲酸叔丁酯的制备

[0403] 

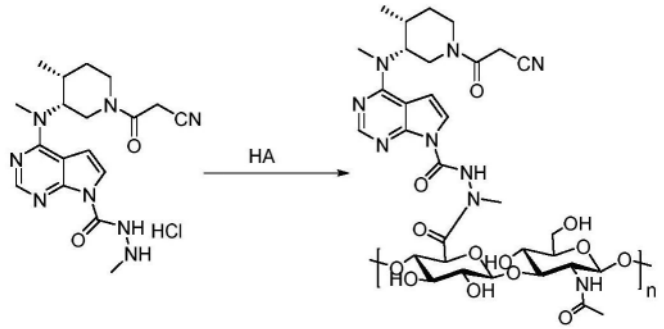
[0404] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(3.124g,10mmol,1当量)和1-甲基肼-1-甲酸叔丁酯(1.45g,10mmol,1当量)产生标题产物(2.2g,产率:46%);MS(m/z):$C_{23}H_{32}N_8O_4$的[M+H]+计算值,485.25;实验值,485.2。

[0405] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐的制备

[0406] 

[0407] 遵循实施例1中的步骤2,2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-1-甲基肼-1-甲酸叔丁酯(1g,2.06mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(870mg,产率:100%);MS(m/z):$C_{18}H_{24}N_8O_2$的[M+H]+计算值,385.20;实验值,385.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.44(d,J=5.0Hz,1H),7.79(d,J=3.5Hz,1H),6.98(s,1H),4.75(s,1H),4.15-3.79(m,4H),3.72-3.32(m,5H),3.03(s,3H),2.55(br,1H),1.97(br,1H),1.83(br,1H),1.13(dd,J=15.1,7.1Hz,3H).

[0408] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

[0409] 

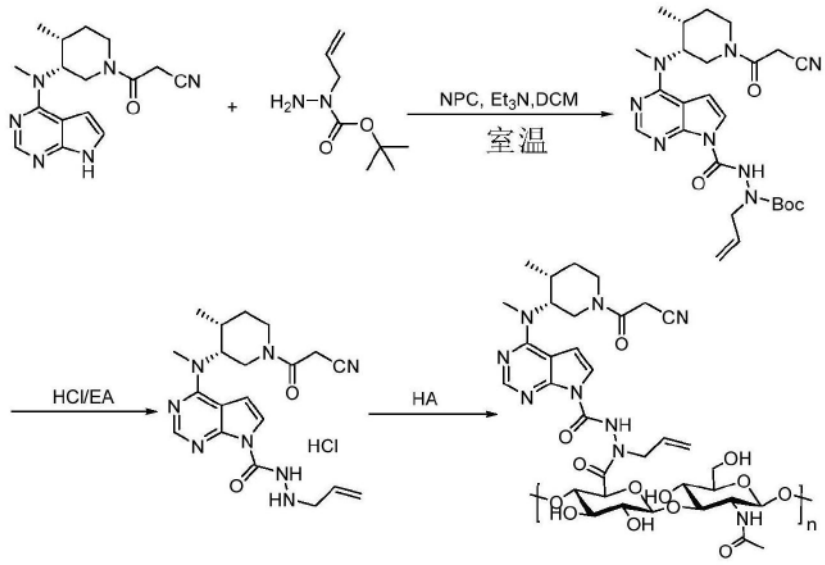
[0410] 遵循实施例1中的步骤2,透明质酸钠(MW 50KDa,0.192g,0.475mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(0.2g,0.475mmol,1当量)提供标题化合物(0.323g,产率:90%,DSR=15%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.4-8.2(m,0.15H),7.8-7.5(m,0.15H),7.05-6.75(m,0.15H),4.75-4.2(m,2.9H),4.0-3.2(m,11H),2.47(br,0.15H),2.02(br,3H),1.30(br,0.15H),1.08(m,0.45H).

[0411] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.303g,产率:83%,DSR=10%)。

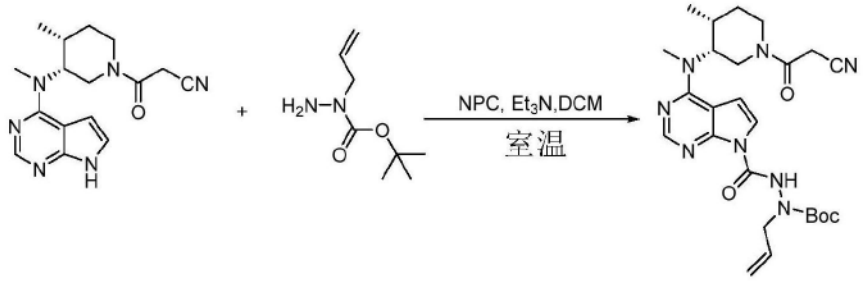
[0412] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.327g,产率:90.3%,DSR=15%)。

[0413] 实施例10

[0414] N'-烯丙基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

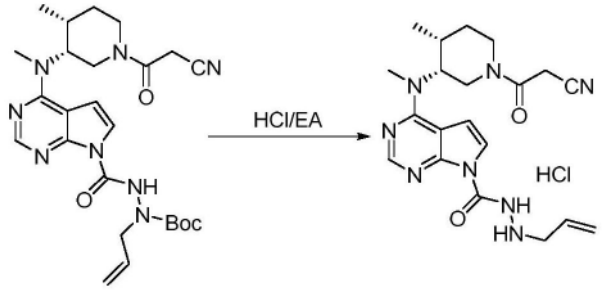
[0415] 

[0416] 步骤1:1-烯丙基-2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)肼-1-甲酸叔丁酯的制备

[0417] 

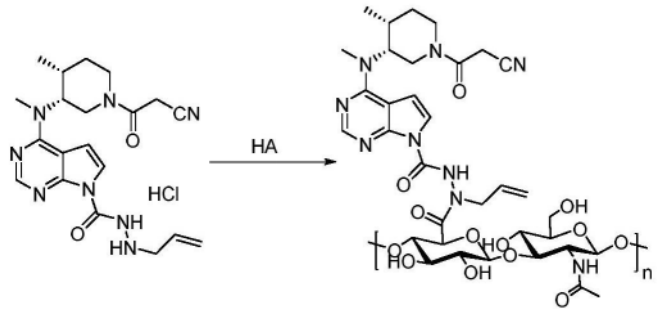
[0418] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)、1-甲基肼-1-甲酸叔丁酯(1.1g,6.4mmol,1当量)产生标题产物(0.8g,产率:25%);MS(m/z):C25H34N8O4的[M+H]+计算值,511.27;实验值,511.1。

[0419] 步骤2:N'-烯丙基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐的制备

[0420] 

[0421] 遵循实施例1中的步骤2,1-烯丙基-2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)肼-1-甲酸叔丁酯(0.8g,1.57mmol)产生呈HCl盐的所期望产物(0.67g,产率:96%);MS(m/z):$C_{20}H_{26}N_8O_2$的[M+H]+计算值,411.22;实验值,411.1。^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD)δppm 8.50(d,J=4.2Hz,1H),7.86(s,1H),7.10(d,J=3.8Hz,1H),6.08-5.98(m,1H),5.61-5.52(m,2H),4.34-3.73(m,6H),3.73-3.32(m,6H),2.53(br,1H),2.05-1.9(m,1H),1.87-1.64(m,1H),1.17(d,J=7.0Hz 3H).

[0422] 步骤3:N'-烯丙基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

[0423] 

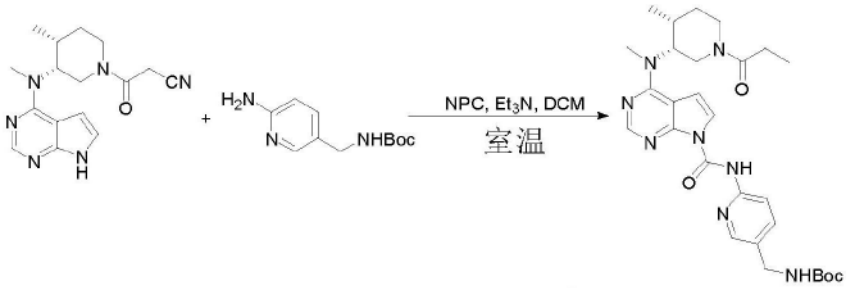
[0424] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.182g,0.45mmol,1当量)和N'-烯丙基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(0.2g,0.45mmol,1当量)提供标题化合物(0.172g,产率:48.6%,DSR=5%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.50-8.17(m,0.05H),7.85-7.55(m,0.05H),7.05-6.8(m,0.05H),6.17-5.60(m,0.15H),4.66-4.31(m,2H),4.08-3.29(m,10.6H),2.47(br,0.05H),2.01(s,3H),1.30(m,0.1H),1.19-0.98(m,0.15H).

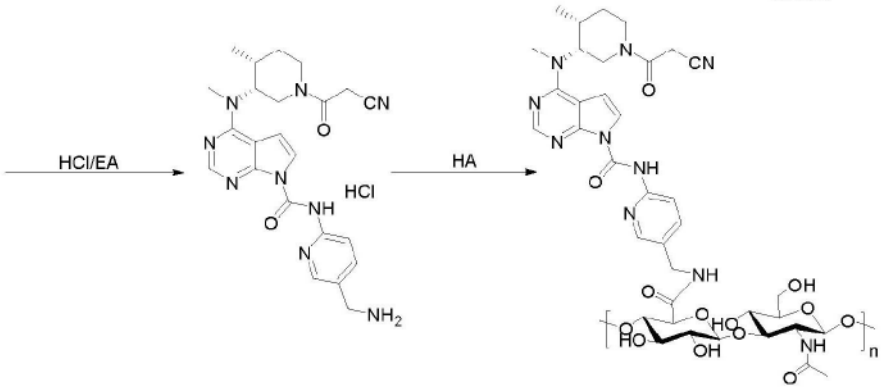
[0425] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.175g,产率:49%,DSR=3%)

[0426] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.186g,产率:52.3%,DSR=1%)。

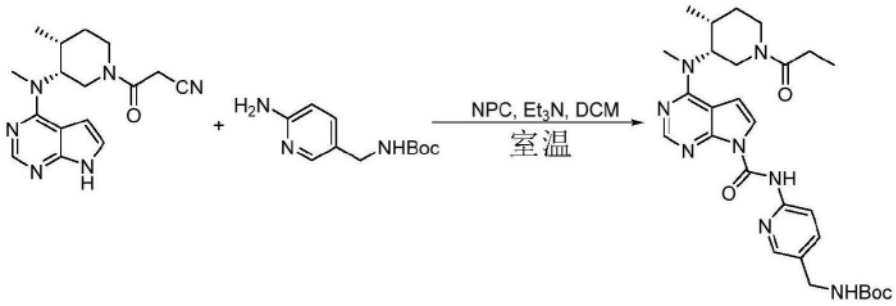
[0427] 实施例11

[0428] N-(5-(氨基甲基)吡啶-2-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0429] 

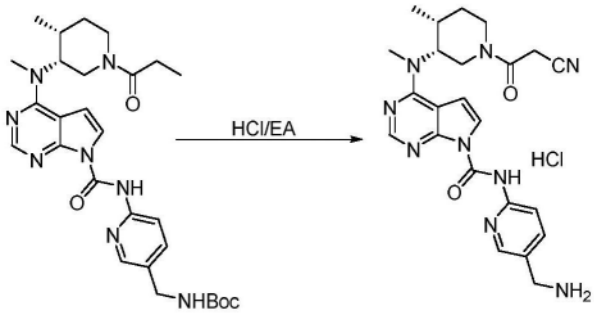


[0430] 步骤1:((6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0431] 

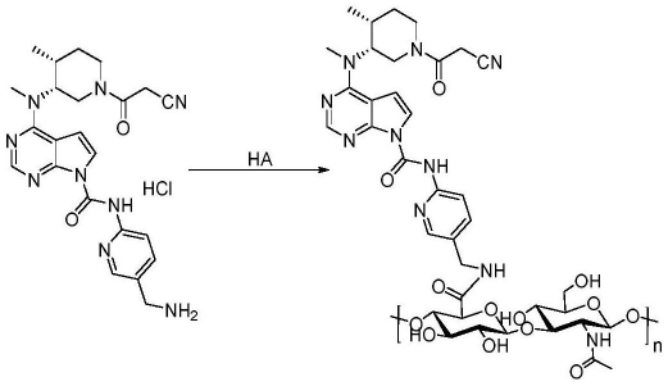
[0432] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(0.9g,2.88mmol,1当量)和((6-氨基吡啶-3-基)甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.643g,2.88mmol,1当量)产生标题产物(1g,产率:62.5%);MS(m/z):$C_{28}H_{35}N_9O_4$的[M+H]+计算值,526.28;实验值,526.1。

[0433] 步骤2:N-(5-(氨基甲基)吡啶-2-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0434] 

[0435] 遵循实施例1中的步骤2,((6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)吡啶-3-基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.8g,1.42mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.7g,产率:100%);MS(m/z):$C_{23}H_{27}N_9O_2$的[M+H]+计算值,462.23;实验值,462.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.41-8.31(m,2H),8.1-7.9(m,3H),7.78-7.68(m,1H),6.83(d,J=2.4Hz,2H),4.67-4.49(m,1H),4.26(s,2H),4.14-3.82(m,5H),3.66-3.51(m,2H),3.45-3.2(m,3H),2.49(br,1H),2.03-1.85(m,1H),1.77(m,1H),1.13(dd,J=24.3,6.3Hz,3H).

[0436] 步骤3:N-(5-(氨基甲基)吡啶-2-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

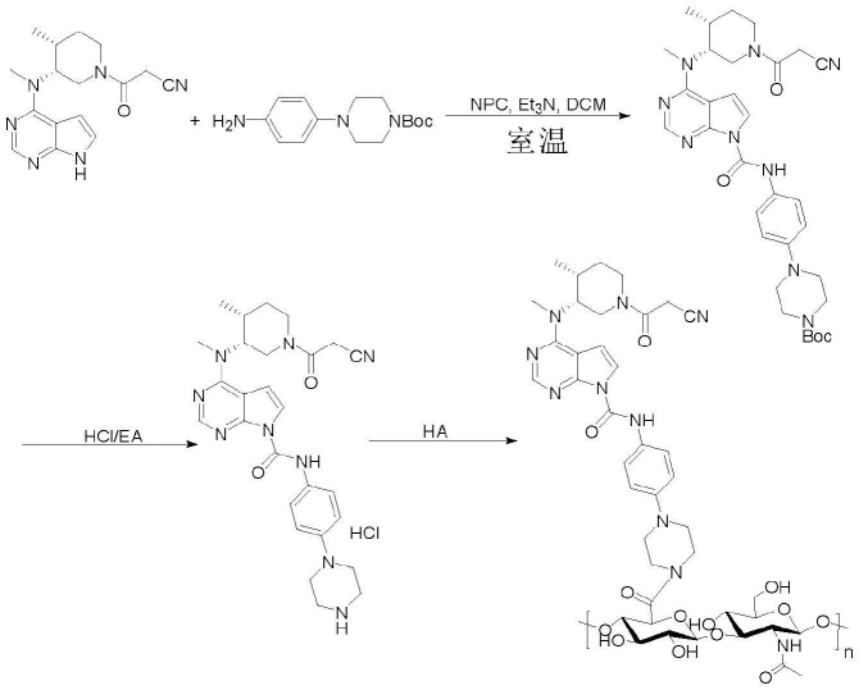
[0437] 

[0438] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.161g,0.4mmol,1当量)和N-(5-(氨基甲基)吡啶-2-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.4mmol,1当量)提供标题化合物(0.17g,产率:50%,DSR=20.5%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.6-7.3(m,1.12H),7.2-6.8(m,0.11H),4.7-4.3(m,2H),4.02-3.17(m,10.46H),2.40(br,0.21H),2.00(s,3H),1.61(br,0.21H),1.35-1.2(m,0.21H),1.15-0.85(m,0.65H).

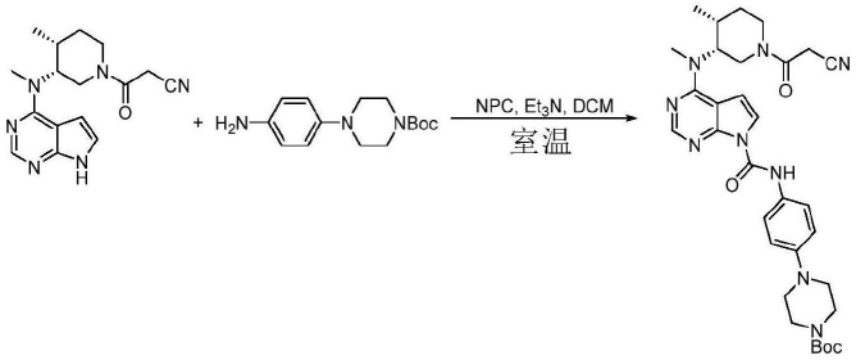
[0439] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.177g,产率:52.6%,DSR=22.2%)。

[0440] 实施例12

[0441] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

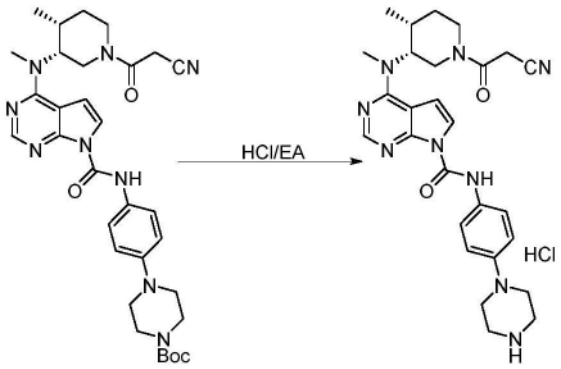
[0442] 

[0443] 步骤1:4-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯的制备

[0444] 

[0445] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(0.52g,1.66mmol,1当量)、4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.46g,1.66mmol,1当量)产生标题产物(0.65g,产率:65%);MS(m/z):$C_{32}H_{41}N_9O_4$的[M+H]+计算值,616.33;实验值,616.1。

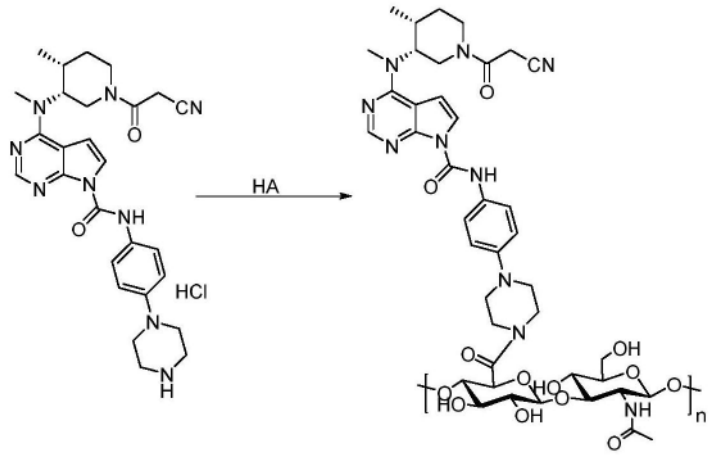
[0446] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0447] 

[0448] 遵循实施例1中的步骤2,4-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-

基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.6g,0.975mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.538mg,产率:100%);MS(m/z):$C_{27}H_{33}N_9O_2$的[M+H]+计算值,516.28;实验值,516.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.28(s,1H),7.68(s,1H),7.55-7.4(m,2H),7.25-7.10(m,2H),6.78(s,1H),4.55(s,1H),4.12-2.92(m,17H),2.47(br,1H),2.0 -1.85(m,1H),1.85-1.65(m,1H),1.11(dd,J=16.6,7.0Hz,3H).

[0449] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

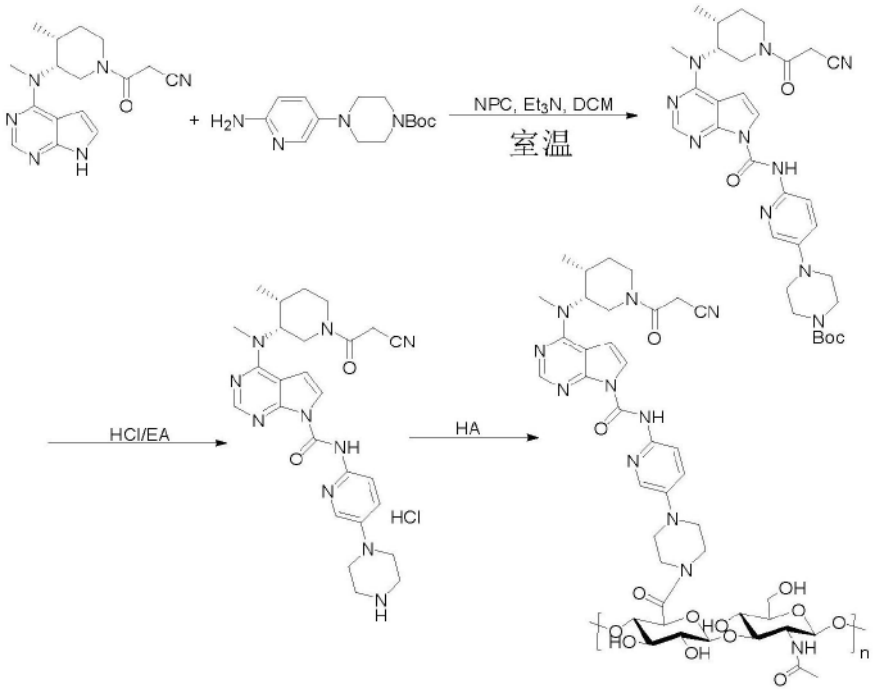
[0450] 

[0451] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.145g,0.36mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌嗪-1-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.36mmol,1当量)提供标题化合物(0.13g,产率:41%,DSR=19%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.4-6.8(m,1.33H),4.7-4.4(m,2H),3.9-3.42(m,12H),3.34(m,1.42H),2.47(br,0.19H),2.02(s,3H),1.29(br,0.38H),1.06(br,0.57H).

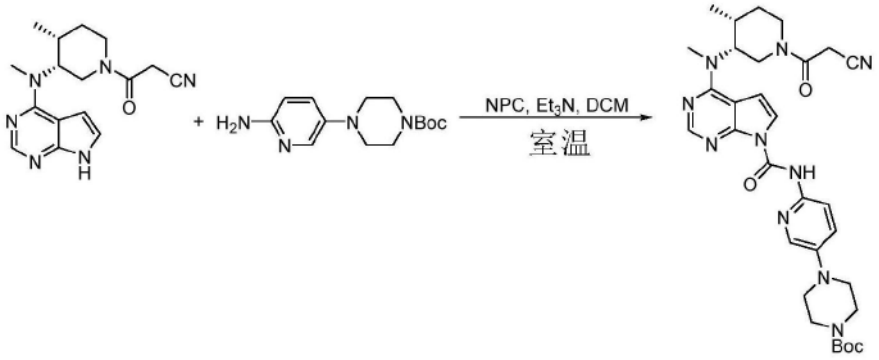
[0452] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.16g,产率:49.7%,DSR=20%)。

[0453] 实施例13

[0454] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

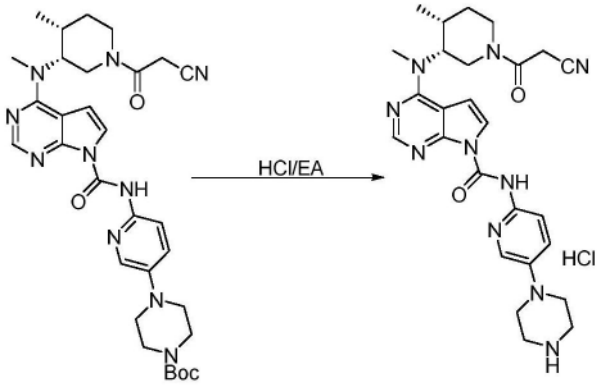
[0455] 

[0456] 步骤1:4-(6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯的制备

[0457] 

[0458] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.12g,3.59mmol,1当量)和4-(6-氨基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g,3.59mmol,1当量)产生标题产物(1.3g,产率:58.7%);MS(m/z):$C_{31}H_{40}N_{10}O_4$的[M+H]+计算值,617.32;实验值,617.2。

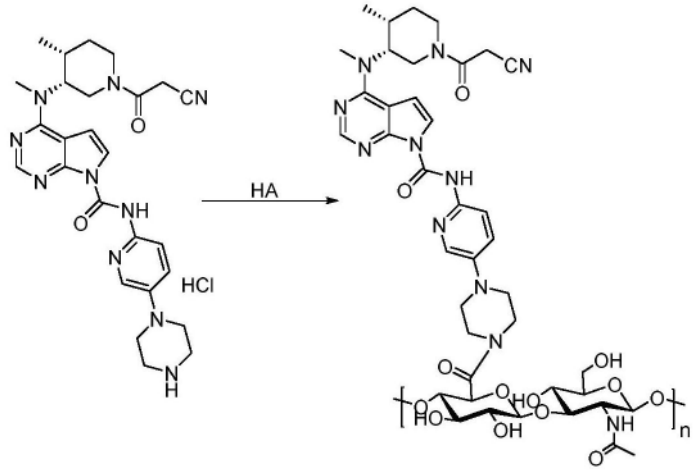
[0459] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0460] 

[0461] 遵循实施例1中的步骤2,4-(6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-

基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g,1.621mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.89g,产率:99%);MS(m/z):$C_{26}H_{32}N_{10}O_2$的[M+H]+计算值,517.28;实验值,517.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.33(d,J=11.6Hz,1H),8.04(d,J=13.2Hz,1H),7.85(d,J=19.7Hz,2H),7.71(d,J=8.7Hz,1H),6.83(s,1H),4.62-4.57(m,1H),4.10-3.76(m,2H),3.65-3.21(m,15H),2.47(m,1H),1.94(m,1H),1.77(m,1H),1.12(dd,J=24.1,7.0Hz,3H).

[0462] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

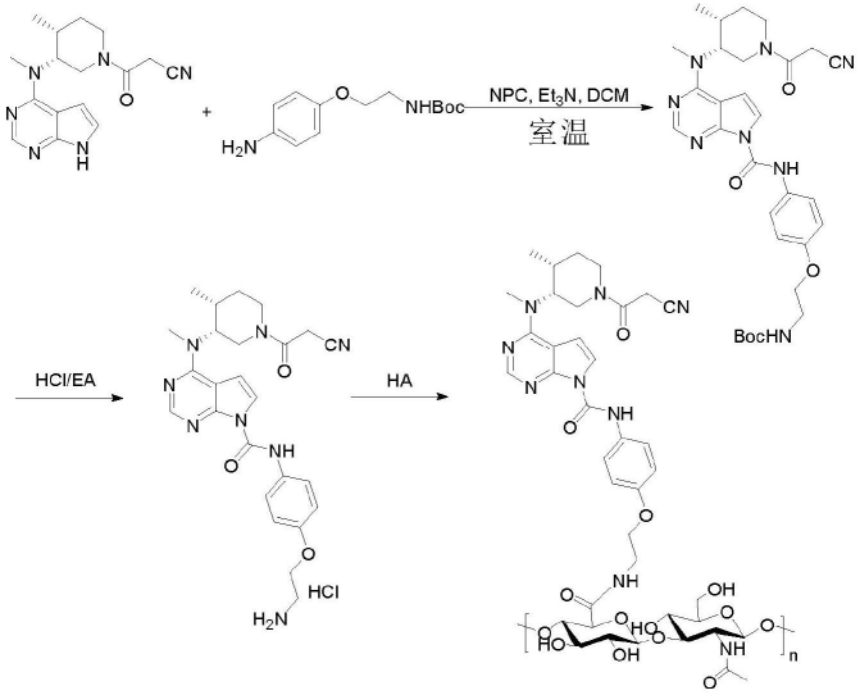
[0463] 

[0464] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.145g,0.36mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.36mmol,1当量)提供标题化合物(0.17g,产率:33%,DSR=28%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.72-6.98(m,1.7H),4.70-4.3(m,2H),3.80-3.28(m,15H),2.84-2.67(m,0.29H),1.95(s,3H),1.40-1.10(m,0.66H),1.1-0.9(m,0.85H).

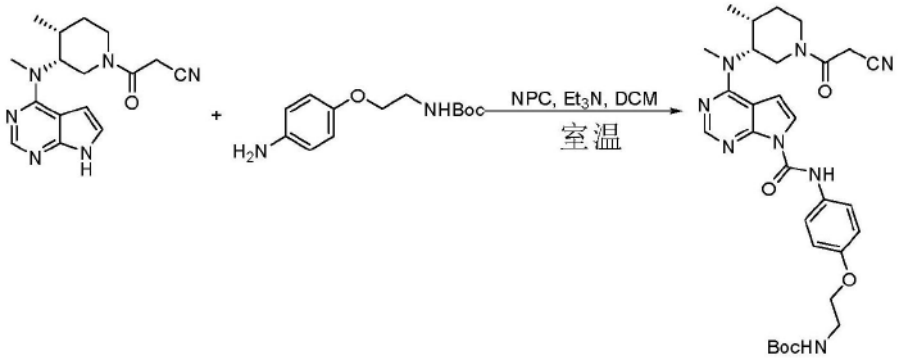
[0465] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.22g,产率:68%,DSR=20%)。

[0466] 实施例14

[0467] N-(4-(2-氨基乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

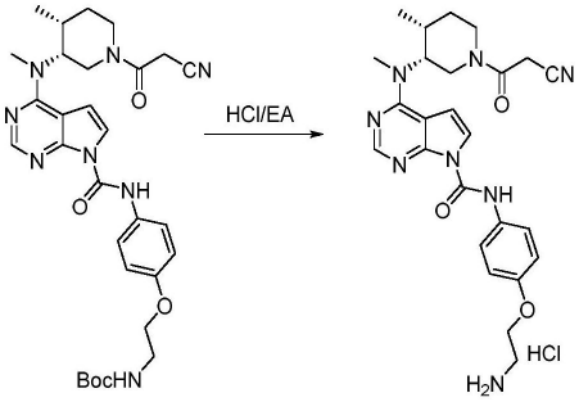
[0468] 

[0469] 步骤1:(2-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0470] 

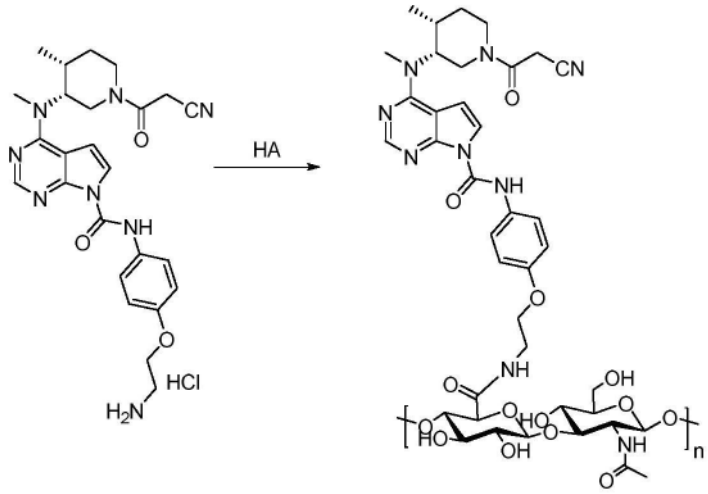
[0471] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.24g,3.96mmol,1当量)和(2-(4-氨基苯氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1g,3.96mmol,1当量)产生标题产物(1.3g,产率:55.6%);MS(m/z):$C_{30}H_{38}N_8O_5$的[M+H]+计算值,591.30;实验值,591.2。

[0472] 步骤2:N-(4-(2-氨基乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0473] 

[0474] 遵循实施例1中的步骤2,(2-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1g,1.69mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.892g,产率:100%);MS(m/z):$C_{25}H_{30}N_8O_3$的[M+H]+计算值,491.24;实验值,491.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.15(s,1H),7.51(s,1H),7.34(dd,J=16.5,8.8Hz,2H),7.03(t,2H),6.63(s,1H),4.45(s,1H),4.38-3.38(m,10H),3.21(d,J=15.1Hz,2H),2.39(s,1H),2.0-1.6(m,2H),1.08(dd,J=16.9,6.8Hz,3H).

[0475] 步骤3:N-(4-(2-氨基乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

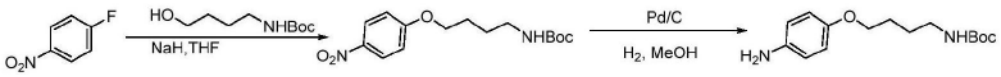
[0476] 

[0477] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.153g,0.38mmol,1当量)和N-(4-(2-氨基乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.38mmol,1当量)提供标题化合物(0.22g,产率:66%,DSR=11%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.0-6.6(m,0.77H),4.53(br,1.58H),4.01-3.19(m,12H),2.77-2.58(m,0.11H),1.95(s,3H),1.28(br,0.22H),1.15-0.95(m,0.33H).

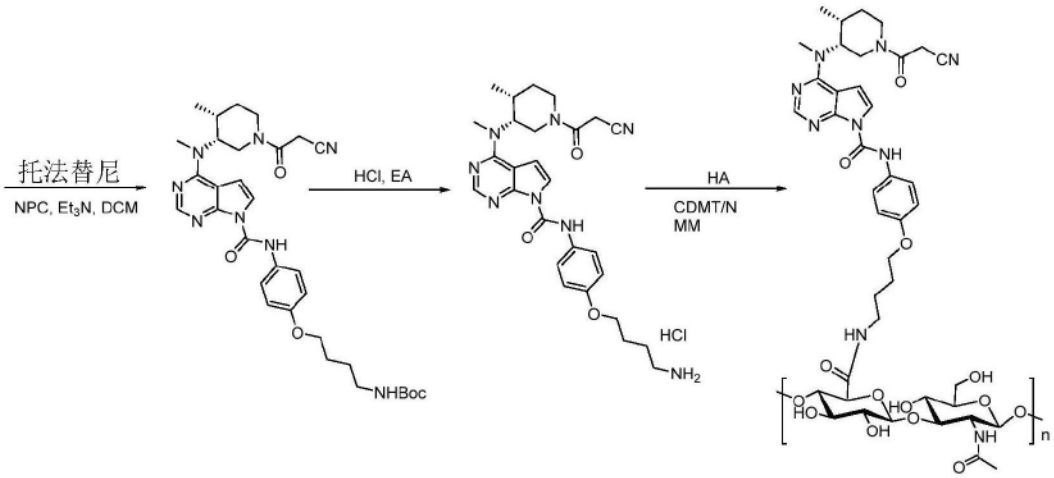
[0478] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.24g,产率:73%,DSR=10%)。

[0479] 实施例15

[0480] N-(4-(4-氨基丁氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

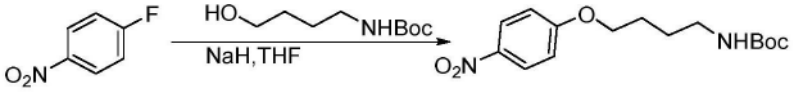


[0481]



[0482] 步骤1:(4-(4-硝基苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

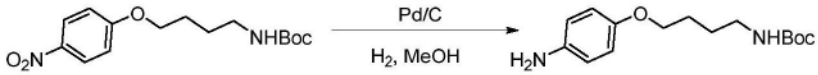
[0483]



[0484] 在N_2下在0℃下将NaH(1.772g,44.3mmol,2.5当量)添加到(4-羟丁基)氨基甲酸叔丁酯(3.7g,19.5mmol,1.1当量)于THF(40mL)中的溶液中。将反应混合物在0℃搅拌30分钟,并且然后向其中添加1-氟-4-硝基苯(2.5g,17.72mmol,1当量)。使所得混合物回流持续12小时。在大部分1-氟-4-硝基苯被消耗后,用饱和NH4Cl水溶液(100mL)淬灭反应,并用乙酸乙酯(40mL*2)萃取。用饱和NaCl水溶液(100mL)洗涤合并有机相,经无水Na_2SO_4干燥并在高真空下浓缩。通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(4g,产率:73%);MS(m/z):$C_{15}H_{22}N_2O_5$的[M+H]+计算值,311.15;实验值,311.1。

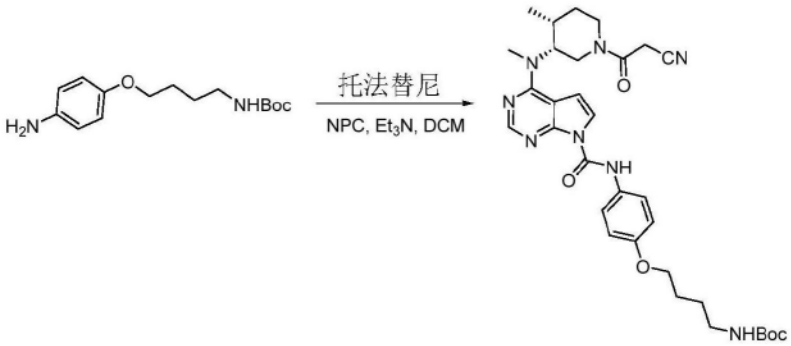
[0485] 步骤2:(4-(4-氨基苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0486]



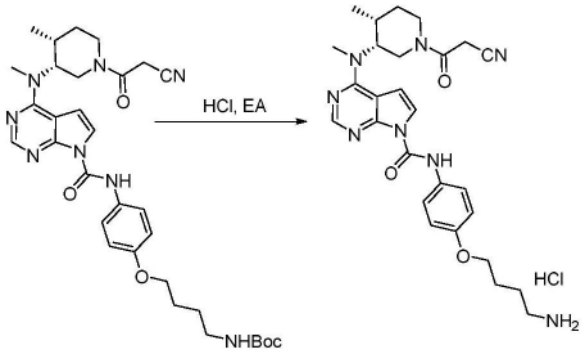
[0487] 将10% Pd/C(0.2g)添加到(4-(4-硝基苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯(2g,6.444mmol,1当量)于甲醇(30mL)中的溶液中,在室温下在H_2气球下搅拌反应混合物持续24小时。在(4-(4-硝基苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯被完全消耗后,通过硅藻土垫过滤反应混合物,并用甲醇(10mL*2)洗涤所述垫。浓缩合并的滤液以得到标题产物(1.8g,产率:100%);MS(m/z):$C_{15}H_{24}N_2O_3$的[M+H]+计算值,281.18;实验值,281.1。

[0488] 步骤3:(4-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0489] 

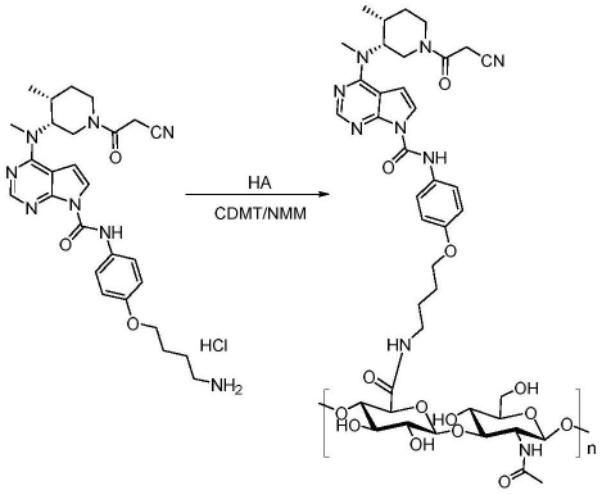
[0490] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(2.23g,7.133mmol,1当量)和(4-(4-氨基苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯(2g,7.133mmol,1当量)产生标题产物(2.6g,产率:59%);MS(m/z):$C_{32}H_{42}N_8O_5$的[M+H]+计算值,619.33;实验值,619.2。

[0491] 步骤4:N-(4-(4-氨基丁氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0492] 

[0493] 遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯(1.3g,2.1mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.1g,产率:100%);MS(m/z):$C_{27}H_{34}N_8O_3$的[M+H]+计算值,519.28;实验值,519.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.14-8.11(d,J=10.8Hz,1H),7.43-7.21(m,3H),6.83(d,J=8.6Hz,2H),6.70-6.45(m,1H),4.49(br,1H),4.12-3.09(m,13H),2.36(m,1H),1.85-1.55(m,6H),1.04(d,J=7.4Hz,3H).

[0494] 步骤5:N-(4-(4-氨基丁氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

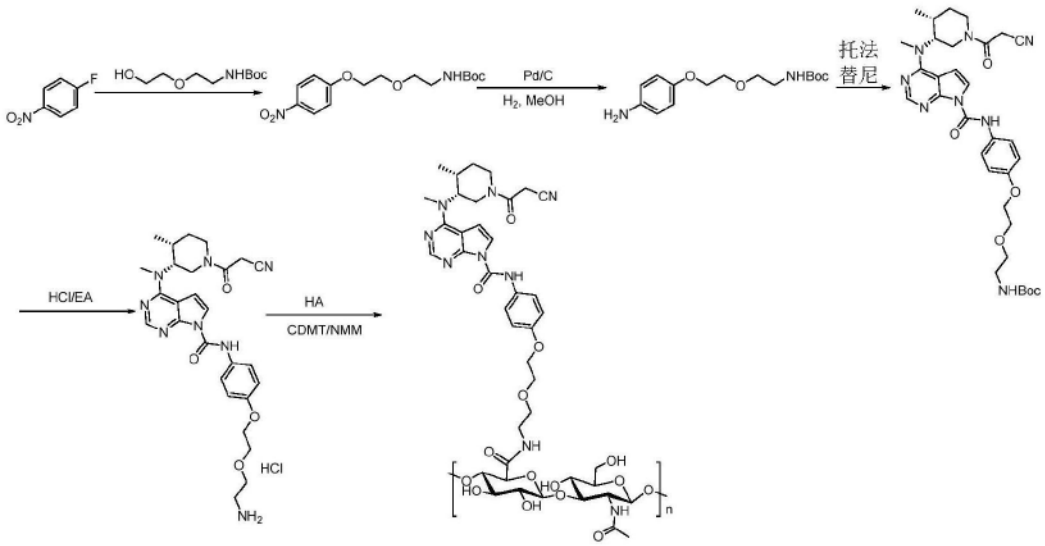
[0495] 

[0496] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.153g,0.38mmol,1当量)和N-(4-(4-氨基丁氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(00.2g,0.38mmol,1当量)提供标题化合物(0.22g,产率:66%,DSR=31%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.60-5.22(m,2.17H),4.7-4.2(m,3.1H),4.0-3.25(m,12H),3.3-2.9(m,1.24H),2.84-2.11(m,0.31H),2.02(s,3H),1.79(br,1.24H),1.30(br,0.62H),1.15-0.5(m,0.93H).

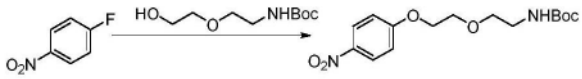
[0497] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.123g,产率:36%,DSR=4%)。

[0498] 实施例16

[0499] N-(4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

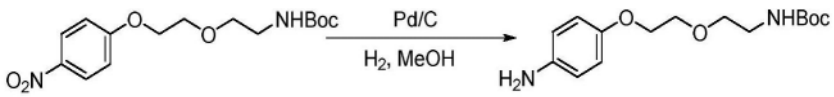
[0500] 

[0501] 步骤1:(2-(2-(4-硝基苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0502] 

[0503] 在N_2下在0℃下将NaH(1.42g,35.425mmol,2.5当量)添加到(2-(2-羟基乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(3.2g,15.59mmol,1.1当量)于THF(40mL)中的溶液中,在0℃下搅拌反应混合物持续30分钟,然后向其中添加1-氟-4-硝基苯(2g,14.17mmol,1当量),使所得混合物回流持续12小时。在大部分1-氟-4-硝基苯被消耗后,用饱和NH_4Cl水溶液(100mL)淬灭反应,并用乙酸乙酯(50mL*2)萃取。用饱和NaCl水溶液(100mL)洗涤合并有机相,经无水Na_2SO_4干燥并在高真空下浓缩。通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(2g,产率:43.3%);MS(m/z):$C_{15}H_{22}N_2O_6$的[M+H]+计算值,327.15;实验值,327.1。

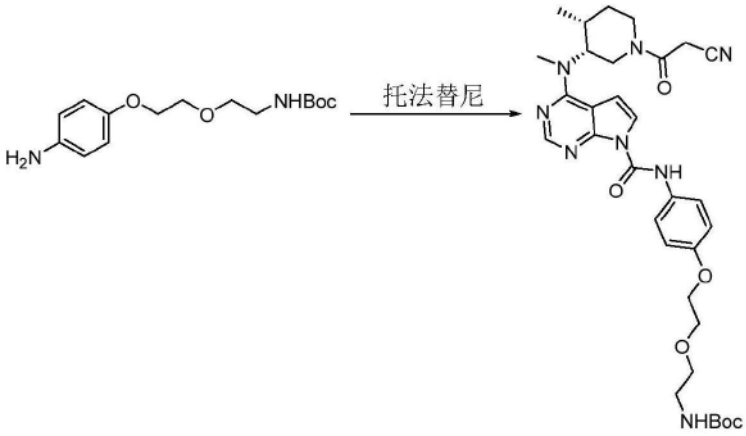
[0504] 步骤2:(2-(2-(4-氨基苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0505] 

[0506] 将添加10% Pd/C(0.2g)添加到(2-(2-(4-硝基苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(2g,6.13mmol,1当量)于甲醇(40mL)中的溶液中,在室温下在H_2气球下搅拌反应混合物持续24小时。在(2-(2-(4-硝基苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯被完全消耗后,通

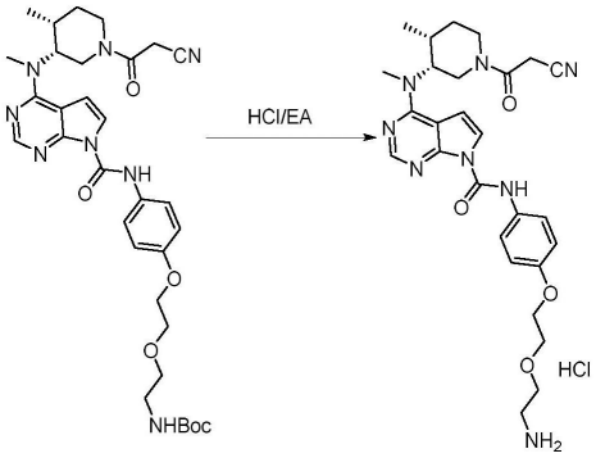
过硅藻土垫过滤反应混合物,并用甲醇(20mL*2)洗涤所述垫。浓缩合并的滤液以得到标题产物(1.8g,产率:100%);MS(m/z):$C_{15}H_{24}N_2O_4$的[M+H]+计算值,297.17;实验值,297.1。

[0507] 步骤3:(2-(2-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0508] 

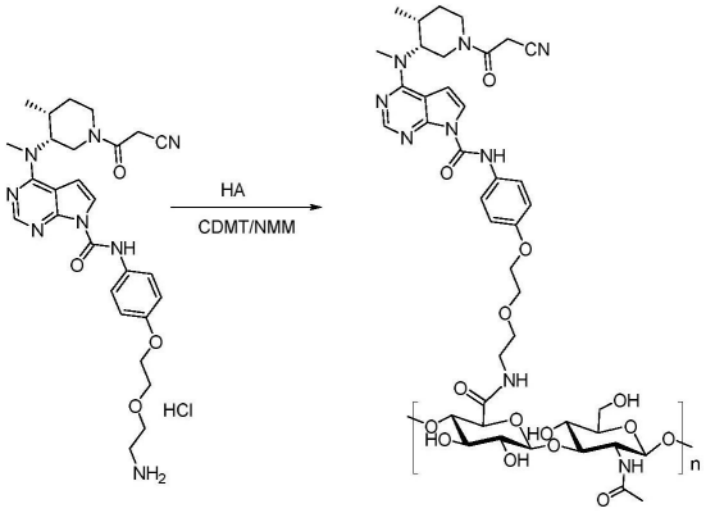
[0509] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.9g,6.07mmol,1当量)和(2-(2-(4-氨基苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.8g,6.07mmol,1当量)产生标题产物(1.8g,产率:57%);MS(m/z):$C_{32}H_{42}N_8O_6$的[M+H]+计算值,635.32;实验值,635.2。

[0510] 步骤4:N-(4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0511] 

[0512] 遵循实施例1中的步骤2,(2-(2-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1g,1.575mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.89g,产率:100%);MS(m/z):$C_{27}H_{34}N_8O_4$的[M+H]+计算值,535.27;实验值,535.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.19(d,J=9.4Hz,1H),7.52(d,J=15.7Hz,1H),7.37(d,J=8.8Hz,2H),6.99(d,J=8.8Hz,2H),6.72-6.50(m,1H),4.63-4.54(m,1H),4.23(s,2H),4.09-3.81(m,7H),3.74-3.12(m,8H),2.42(s,1H),1.77(m,2H),1.08(d,J=6.8Hz,3H).

[0513] 步骤5:N-(4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

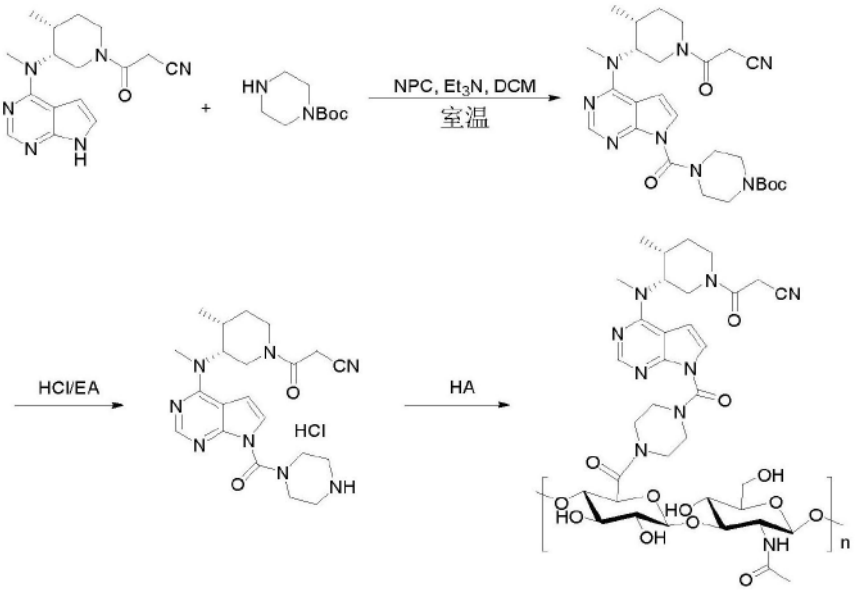
[0514] 

[0515] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.141g,0.35mmol,1当量)和N-(4-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.35mmol,1当量)提供标题化合物(0.15g,产率:32%,DSR=25%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.49-7.25(m,0.76H),7.25-5.75(m,1.0H),4.78-4.02(m,3.23H),4.02-3.22(m,12H),3.2-2.75(m,1.23H),2.5(br,0.25H),2.01(s,3H),1.63-1.16(m,0.5H),1.25-0.5(m,0.75H).

[0516] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.132g,产率:42%,DSR=28%)。

[0517] 实施例17

[0518] 3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-(哌嗪-1-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

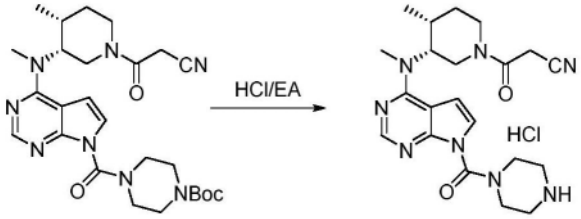
[0519] 

[0520] 步骤1:4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯的制备

[0521] 

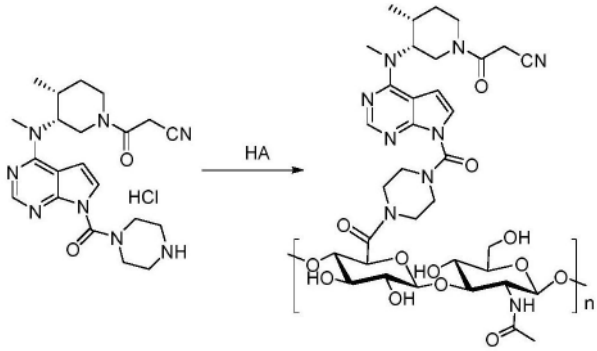
[0522] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.68g,5.37mmol,1当量)和哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1g,5.37mmol,1当量)产生标题产物(0.9g,产率:32%);MS(m/z):$C_{26}H_{36}N_8O_4$的[M+H]+计算值,525.29;实验值,525.2。

[0523] 步骤2:3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-(哌嗪-1-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈盐酸盐的制备

[0524] 

[0525] 遵循实施例1中的步骤2,4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.8g,1.525mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.7g,产率:100%);MS(m/z):$C_{21}H_{28}N_8O_2$的[M+H]+计算值,425.23;实验值,425.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.41(d,J=5.5Hz,1H),7.59(d,J=3.9Hz,1H),7.04(s,1H),4.74-4.57(m,1H),4.17-3.82(m,7H),3.80-3.06(m,10H),2.68-2.51(m,1H),2.06-1.90(m,1H),1.89-1.71(m,1H),1.16(dd,J=14.8,7.1Hz,3H).

[0526] 步骤3:3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-(哌嗪-1-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

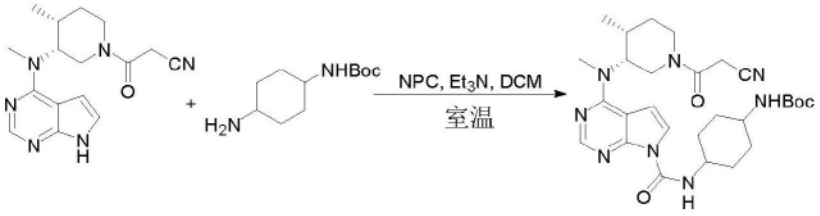
[0527] 

[0528] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.175g,0.434mmol,1当量)和N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.434mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:57.3%,DSR=24%);^{1} ^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.21(br,0.24H),7.33(br,0.24H),6.91(br,0.24H),4.7-4.3(m,2.32H),4.18-3.12(m,14H),2.46(br,0.24H),2.02(s,3H),1.79(br,0.24H),1.30(m,0.24H),1.18-0.93(m,0.72H).

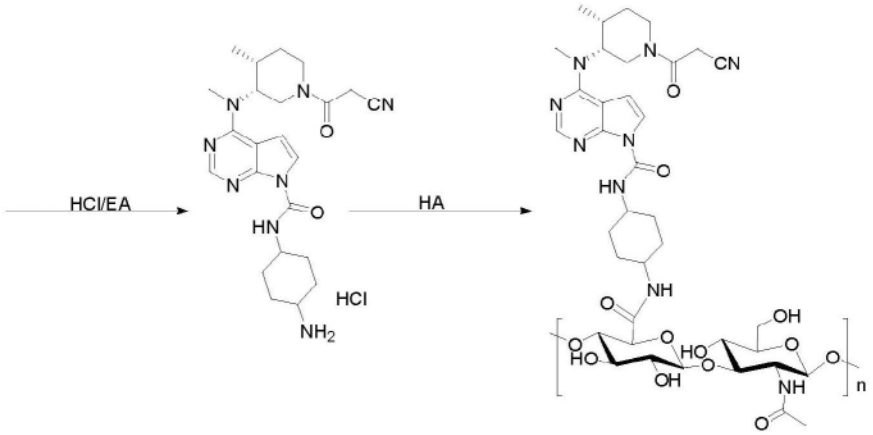
[0529] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.162g,产率:46.4%,DSR=28%)。

[0530] 实施例18

[0531] 3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-(哌嗪-1-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

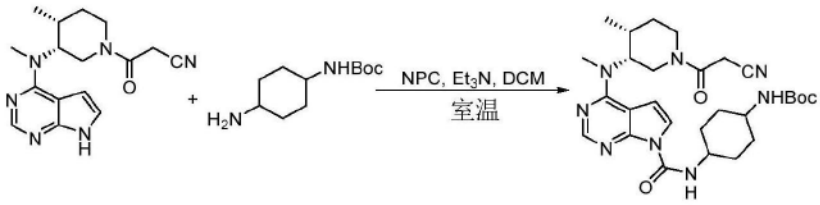


[0532]



[0533] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)环己基)氨基甲酸叔丁酯的制备

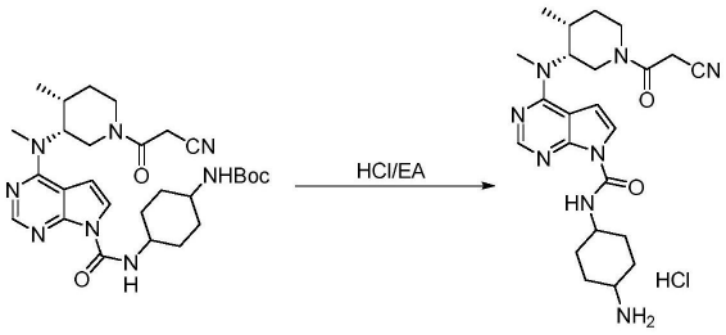
[0534]



[0535] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.895g,6.066mmol,1当量)和(4-氨基环己基)氨基甲酸叔丁酯(1.3g,6.066mmol,1当量)产生标题产物(1.785g,产率:53.2%);MS(m/z):$C_{28}H_{40}N_8O_4$的[M+H]+计算值,553.32;实验值,553.2。

[0536] 步骤2:N-(4-氨基环己基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

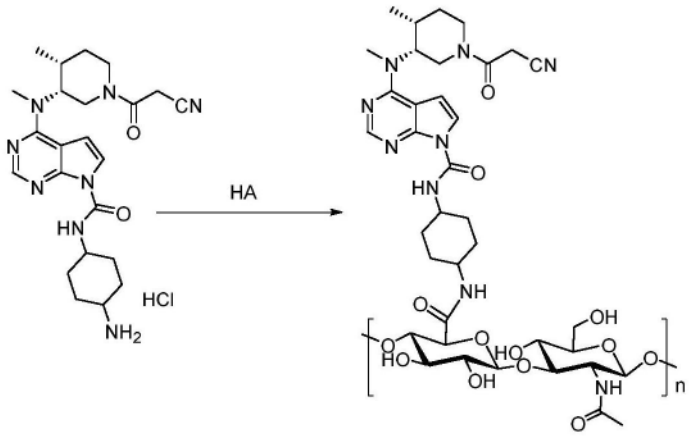
[0537]



[0538] 遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)环己基)氨基甲酸叔丁酯(1.5g,2.71mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1g,产率:77%);MS(m/z):$C_{23}H_{32}N_8O_2$的[M+H]+

计算值,453.26;实验值,453.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.6-8.2(m,1H),7.90-7.70(m,1H),6.89(br,1H),4.69-4.59(m,1H),4.14-3.13(m,11H),2.62-2.49(m,1H),2.31-2.11(m,1H),2.05-1.58(m,9H),1.15(dd,J=6.6,5.4Hz,3H).

[0539] 步骤3:3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-(哌嗪-1-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

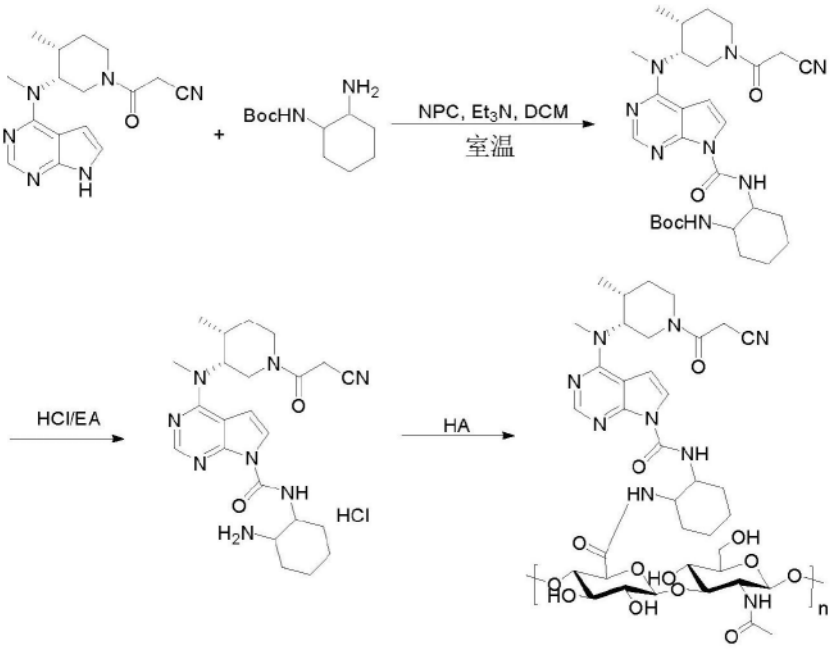
[0540] 

[0541] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.178g,0.44mmol,1当量)和3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-(哌嗪-1-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈盐酸盐(0.2g,0.44mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:55%,DSR=25%);^{1}H-NMR(400MHz,D2O)δppm 8.4-7.8(m,0.25H),7.7-7.2(m,0.25H),6.90-6.0(m,0.25H),4.45(br,2.5H),3.77-3.27(m,12H),3.17-3.06(m,0.51H),2.42(br,0.25H),1.96(s,3H),1.85-1.52(m,2H),1.24(br,0.5H),1.1-0.9(m,0.75H).

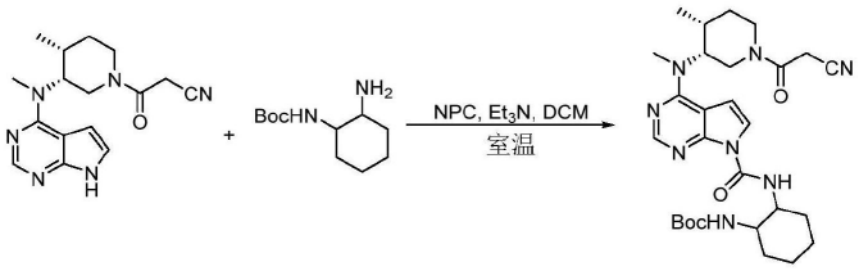
[0542] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.109g,产率:30%,DSR=9%)。

[0543] 实施例19

[0544] N-(2-氨基环己基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

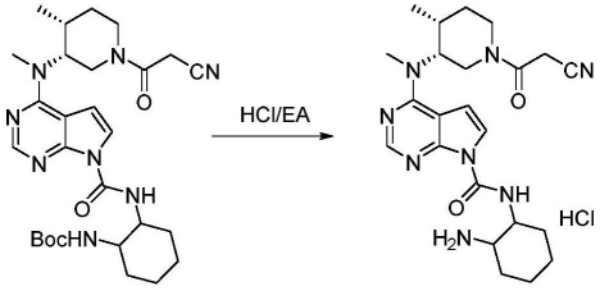
[0545] 

[0546] 步骤1:(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)环己基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0547] 

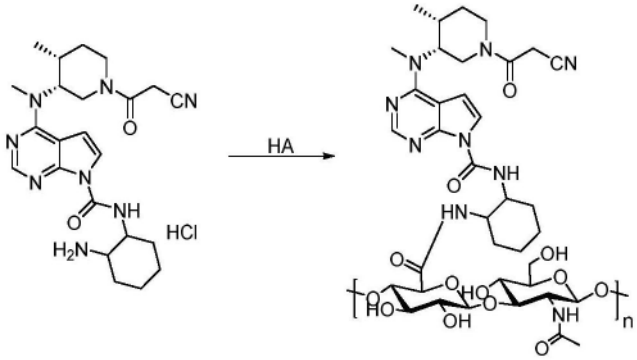
[0548] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.46g,4.67mmol,1当量)和(2-氨基环己基)氨基甲酸叔丁酯(1g,4.67mmol,1当量)产生标题产物(2g,产率:78%);MS(m/z):$C_{28}H_{40}N_8O_4$的[M+H]+计算值,553.32;实验值,553.2。

[0549] 步骤2:N-(2-氨基环己基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0550] 

[0551] 遵循实施例1中的步骤2,(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)环己基)氨基甲酸叔丁酯(1.3g,2.352mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.15g,产率:100%);MS(m/z):$C_{23}H_{32}N_8O_2$的[M+H]+计算值,453.26;实验值,453.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.52-8.36(m,1H),7.90-7.78(m,1H),6.93(s,1H),4.63(m,2H),4.21-3.78(m,4H),3.70-3.25(m,6H),2.55(br,1H),2.14(m,1H),2.04-1.31(m,9H),1.20-1.04(m,3H).

[0552] 步骤3:N-(2-氨基环己基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0553] 

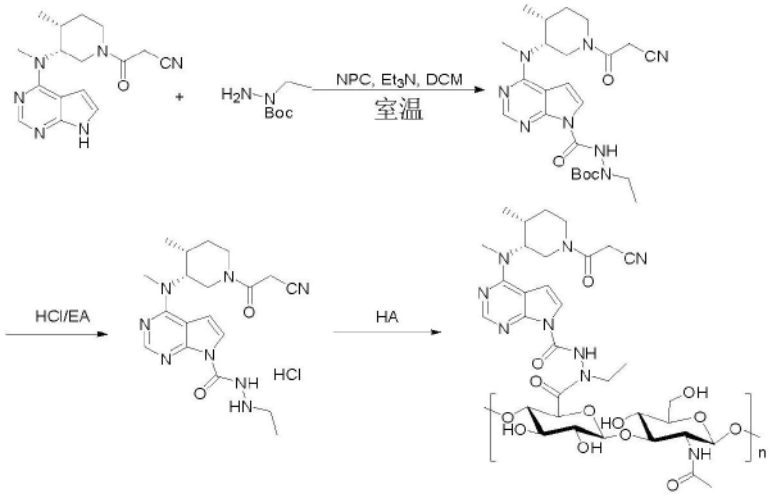
[0554] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.161g,0.4mmol,1当量)和N-(2-氨基环己基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.4mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:59%,DSR=18%);^{1}H-NMR(400MHz,D2O)δppm 8.62-7.85(m,0.18H),7.82-7.41(m,0.18H),

6.86-6.70(m,0.18H),4.7-4.2(m,2H),4.23-2.54(m,12.16H),2.42(br,0.18H),2.00(s,3H),1.50-1.2(m,0.86H),1.22-0.87(m,1.05H).

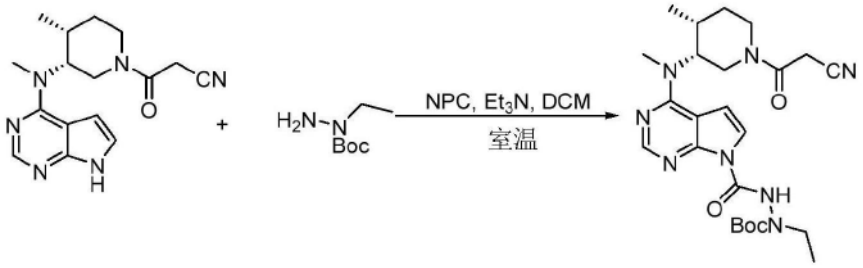
[0555] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.224g,产率:67%,DSR=7%)。

[0556] 实施例20

[0557] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-乙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

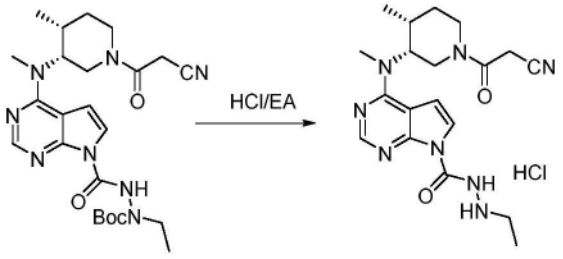
[0558] 

[0559] 步骤1:2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-1-乙基肼-1-甲酸叔丁酯的制备

[0560] 

[0561] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(2.5g,8.114mmol,1当量)和1-乙基肼-1-甲酸叔丁酯(1.3g,8.114mmol,1当量)产生标题产物(1.745g,产率:43%);MS(m/z):$C_{24}H_{34}N_8O_4$的[M+H]+计算值,499.27;实验值,499.2。

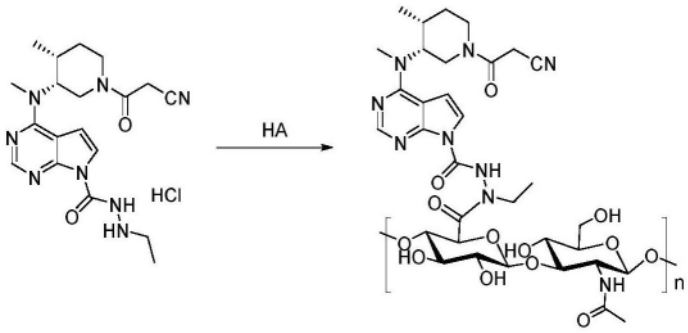
[0562] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-乙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐的制备

[0563] 

[0564] 遵循实施例1中的步骤2,2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-1-乙基肼-1-甲酸叔丁酯(1.4g,2.8mmol,1

当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1g,产率:82%);MS(m/z):$C_{19}H_{26}N_8O_2$的[M+H]+计算值,399.22;实验值,399.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.45(d,J=4.8Hz,1H),7.81(d,J=3.6Hz,1H),7.00(s,1H),4.76-4.67(m,1H),4.19-3.79(m,3H),3.72-3.31(m,8H),2.56(br,1H),2.06-1.70(m,2H),1.35(br,3H),1.14(dd,J=15.2,7.1Hz,3H)

[0565] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-乙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

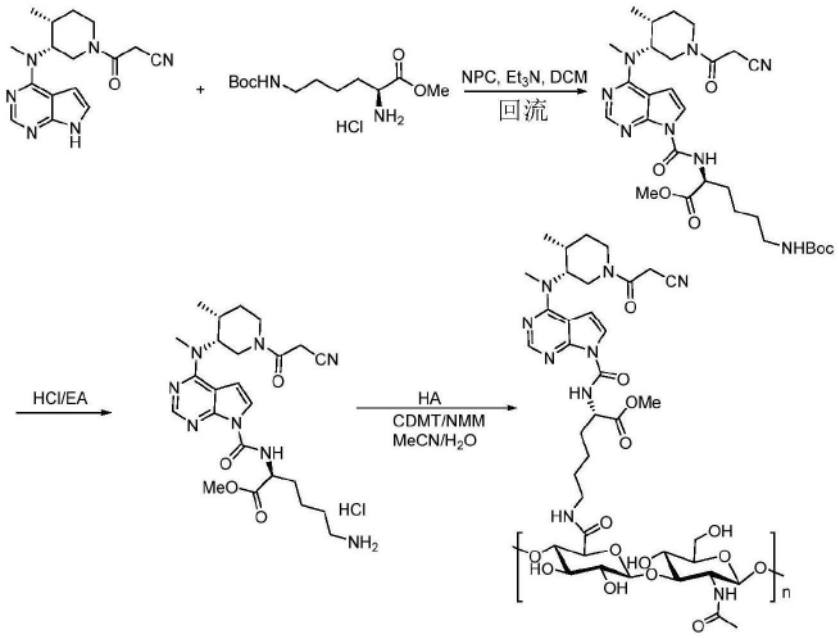
[0566] 

[0567] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.186g,0.46mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-乙基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(0.2g,0.46mmol,1当量)提供标题化合物(0.12g,产率:34%,DSR=9%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.4-8.3(m,0.09H),7.69(d,J=23.0Hz,0.09H),6.95(d,J=10.7Hz,0.09H),4.60-4.41(m,2.08H),3.84 -3.34(m,10H),2.47(m,0.09H),2.01(s,3H),1.82-1.74(m,0.19H),1.31(br,0.27H),1.07(br,0.27H).

[0568] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.198g,产率:55.3%,DSR=5%)。

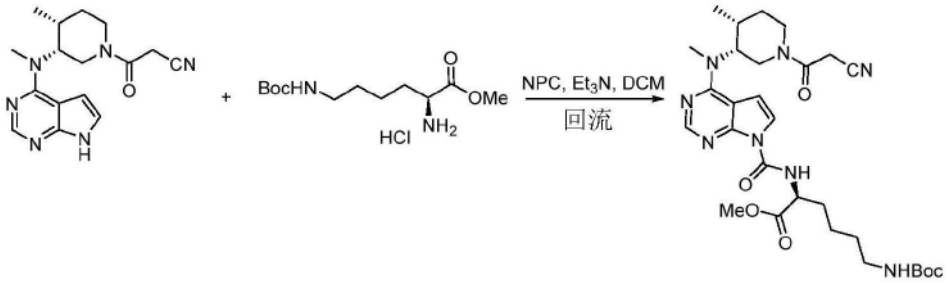
[0569] 实施例21

[0570] (4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

[0571] 

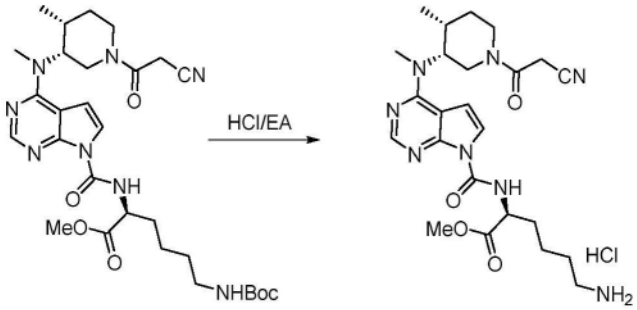
[0572] 步骤1:N6-(叔丁氧基羰基)-N2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-

3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯的制备

[0573] 

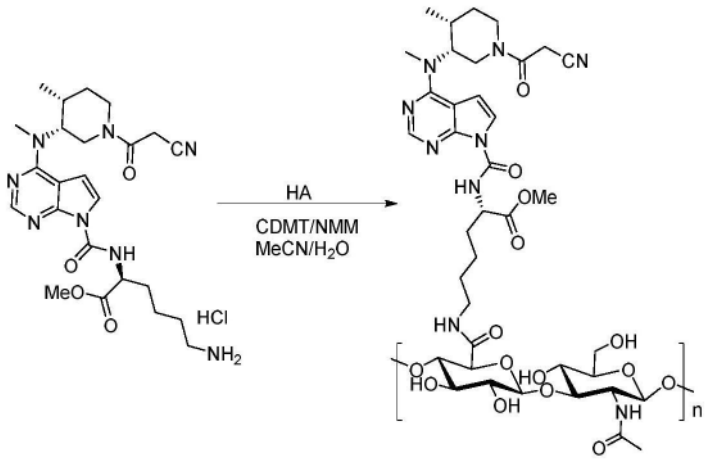
[0574] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)和N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(1.9g,6.4mmol,1当量)产生标题产物(2.2g,产率:57.4%);MS(m/z):$C_{29}H_{42}N_8O_6$的[M+H]+计算值,599.32;实验值,599.2。

[0575] 步骤2:(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐的制备

[0576] 

[0577] 遵循实施例1中的步骤2,N6-(叔丁氧基羰基)-N2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯(1.5g,2.5mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.34g,产率:100%);MS(m/z):$C_{24}H_{34}N_8O_4$的[M+H]+计算值,499.27;实验值,499.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.41(d,J=4.4Hz,1H),7.79(dd,J=9.0,4.1Hz,1H),6.88(dd,J=6.7,2.3Hz,1H),4.70-4.54(m,2H),4.26-3.80(m,8H),3.67-3.37(m,5H),3.00(t,J=7.6Hz,3H),2.67-2.41(m,1H),2.05-1.93(m,2H),1.89-1.62(m,4H),1.62-1.41(m,3H),1.15(dd,J=15.9,7.1Hz,3H).

[0578] 步骤3:(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

[0579] 

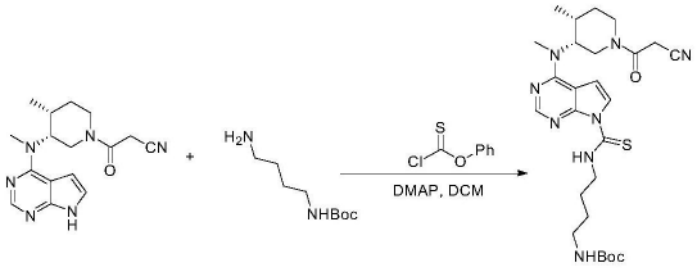
[0580] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.151g,0.374mmol,1当量)和(4-

(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(0.2g,0.374mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:61%,DSR=19%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.25(m,0.2H),7.56(m,0.2H),6.72(m,0.2H),4.72-2.85(m,15.2H),2.45(m,0.4H),2.02(s,3H),1.56(m,1.2H),1.31(m,0.2H),1.11(m,0.6H).^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.5-7.9(m,0.2H),7.8-7.1(m,0.2H),7.1-6.1(m,0.2H),4.72-2.85(m,15.2H),2.45(br,0.4H),2.02(s,3H),1.8-1.4(m,1.2H),1.31(br,0.2H),1.2-0.95(m,0.6H).

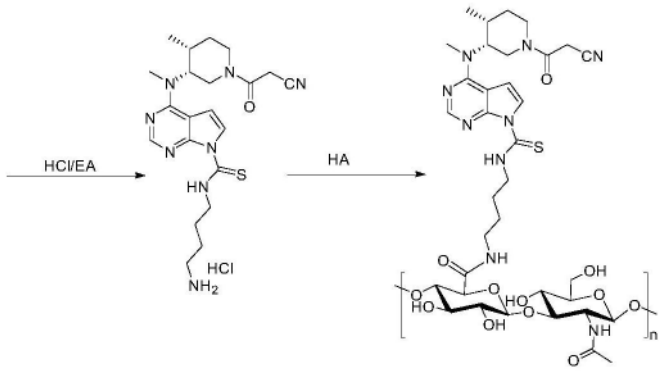
[0581] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.2g,产率:61%,DSR=23.2%)。

[0582] 实施例22

[0583] N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

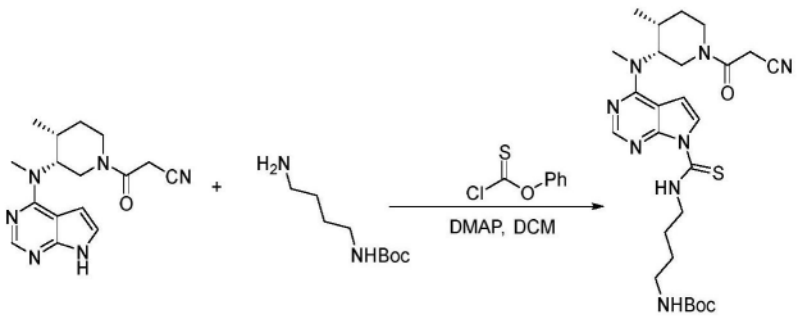


[0584]



[0585] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

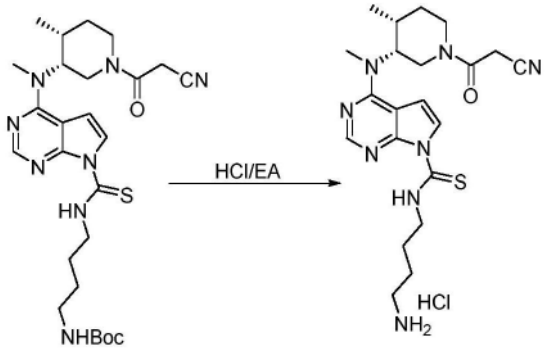
[0586]



[0587] 在N_2下将N,N-二甲基吡啶-4-胺(2.15g,17.6mmol,2.5当量)添加到托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)和O-苯基氯硫代甲酸酯(2.14g,7.04mmol,1.1当量)于二氯甲烷(40mL)中的混合物中。将反应混合物加热至回流持续3小时。然后添加(4-氨基丁基)氨基甲酸叔丁酯

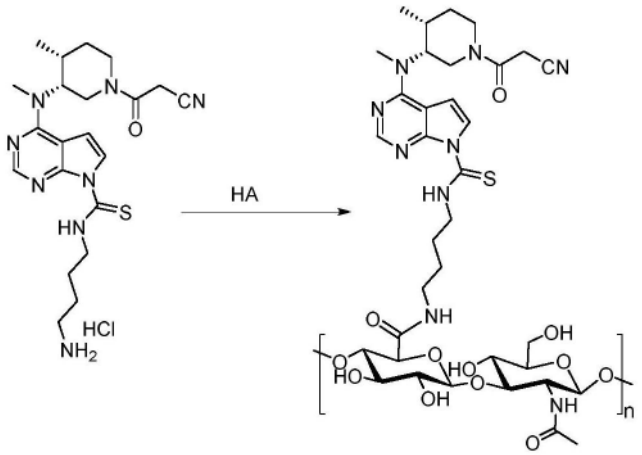
(1.2g,6.4mmol,1当量),并使混合物回流持续另外12小时。在大部分托法替尼被消耗后,在减压下去除溶剂,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(1.16g,产率:33.4%);MS(m/z):$C_{26}H_{38}N_8O_3S$的[M+H]+计算值,543.28;实验值,543.2。

[0588] 步骤2:N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐的制备

[0589] 

[0590] 遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲硫代酰胺)丁基)氨基甲酸叔丁酯(1.16g,2.14mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1g,产率:100%);MS(m/z):$C_{21}H_{30}N_8OS$的[M+H]+计算值,443.23;实验值,443.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.36(d,J=36.1Hz,2H),6.92(s,1H),4.63(d,J=1.2Hz,1H),4.1-3.75(m,4H),3.39(s,3H),3.23(s,4H),2.96(t,J=7.5Hz,3H),2.47(s,1H),2.0-1.6(m,5H),1.23-1.06(m,4H).

[0591] 步骤3:N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

[0592] 

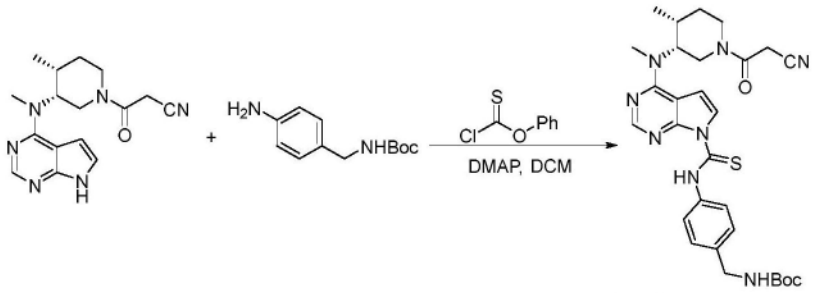
[0593] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.170g,0.42mmol,1当量)和N-(4-氨基丁基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐(0.2g,0.42mmol,1当量)提供标题化合物(0.18g,产率:53%,DSR=20%);^{1}H-NMR(400MHz,D2O)δppm 8.8-7.4(m,0.48H),7.0-6.0(m,0.12H),4.7-4.25(m,2H),4.18-3.03(m,12.8H),2.47(br,0.2H),2.03(s,3H),1.83(br,1H),1.30(br,0.2H),1.15-1.0(m,0.6H).

[0594] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.196g,产率:56.8%,DSR=30%)

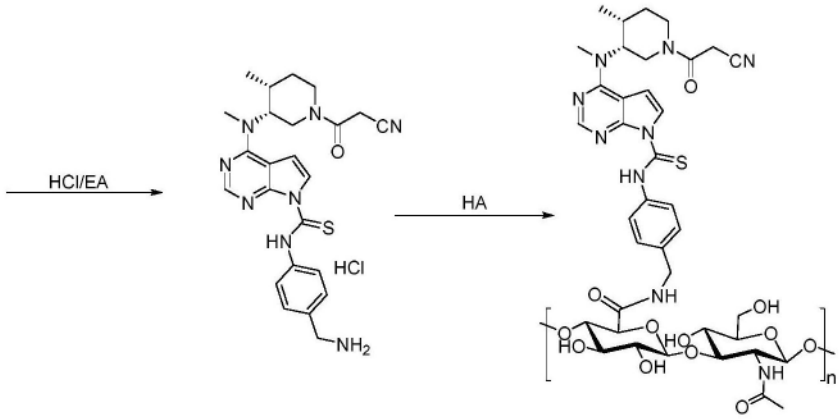
[0595] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.203g,产率:58.8%,DSR=8%)。

[0596] 实施例23

[0597] N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

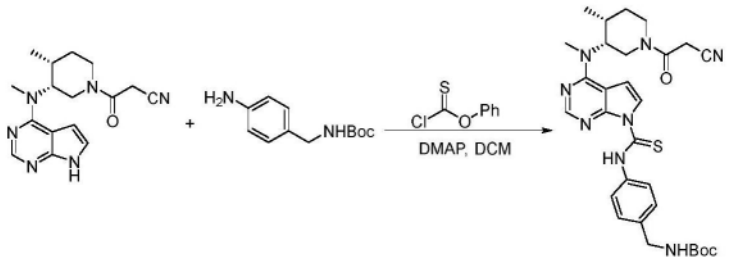


[0598]



[0599] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺)苄基)氨基甲酸叔丁酯的制备

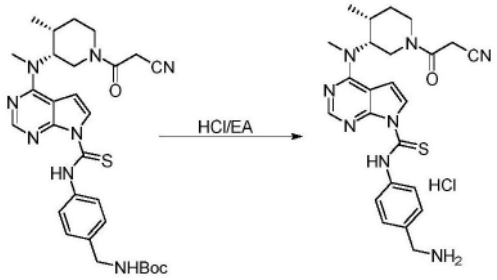
[0600]



[0601] 遵循实施例22中的步骤1,托法替尼(3g,9.6mmol,1当量)和(4-氨基苄基)氨基甲酸叔丁酯(2.134g,9.6mmol,1当量)产生标题产物(0.3g,产率:5.5%);MS(m/z):$C_{29}H_{36}N_8O_3S$的[M+H]+计算值,577.26;实验值,577.2。

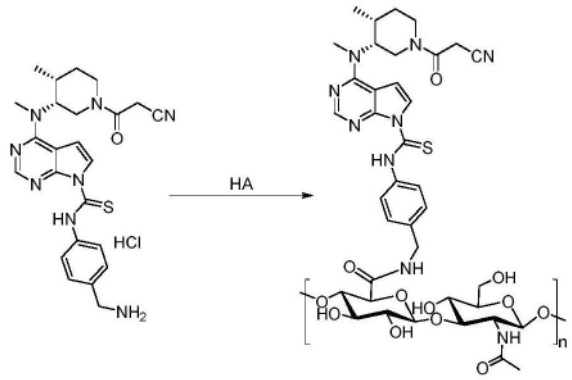
[0602] 步骤2:N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐的制备

[0603]



[0604] 遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺)苄基)氨基甲酸叔丁酯(0.375g,0.65mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.26g,产率:78.8%);MS(m/z):$C_{24}H_{28}N_8OS$的[M+H]+计算值,477.21;实验值,477.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.43-8.30(m,2H),7.85(d,J=8.1Hz,2H),7.51(d,J=8.1Hz,2H),6.94(s,1H),4.1-3.65(m,6H),3.63-3.25(m,6H),2.47(s,1H),1.93-1.56(m,2H),1.15-1.05(m,3H).

[0605] 步骤3:N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

[0606] 

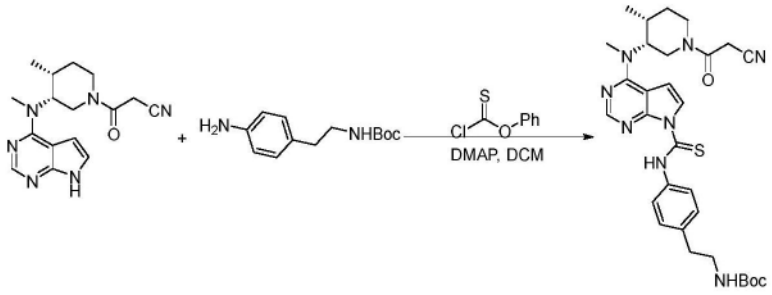
[0607] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.157g,0.39mmol,1当量)和N-(4-(氨基甲基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐(0.2g,0.39mmol,1当量)提供标题化合物(0.18g,产率:55%,DSR=12%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.5-6.75(m,0.91H),4.52(m,3H),4.24-2.85(m,10.45H),2.55-2.42(m,0.12H),2.03(s,3H),1.30(m,0.24H),1.13(m,0.36H).

[0608] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.166g,产率:49.8%,DSR=24.3%)。

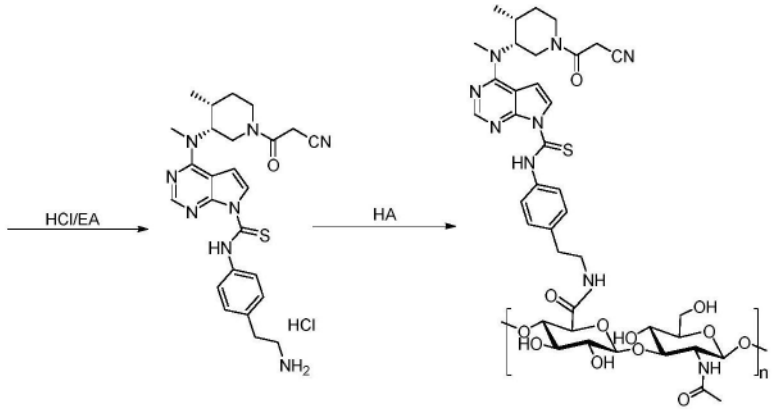
[0609] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.132g,产率:39.7%,DSR=14.7%)。

[0610] 实施例24

[0611] N-(4-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

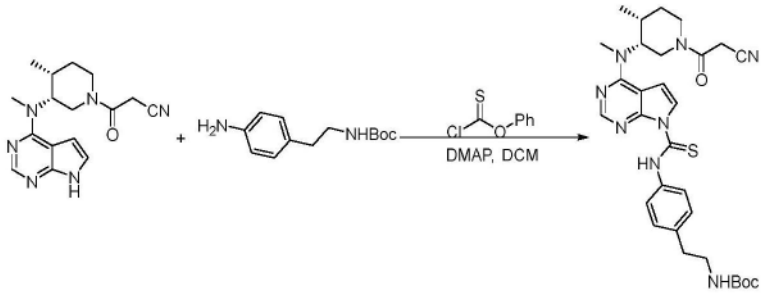


[0612]



[0613] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

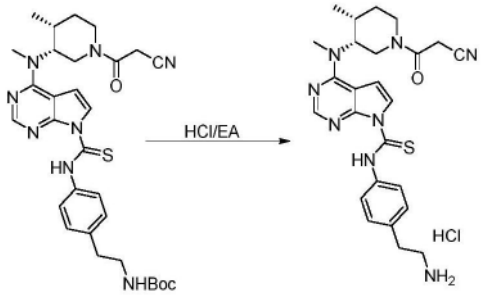
[0614]



[0615] 遵循实施例22中的步骤1,托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)和(4-氨基苯乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.512g,6.4mmol,1当量)产生标题产物(0.78g,产率:20.6%);MS(m/z):$C_{30}H_{38}N_8O_3S$的[M+H]+计算值,591.28;实验值,591.2。

[0616] 步骤2:N-(4-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐的制备

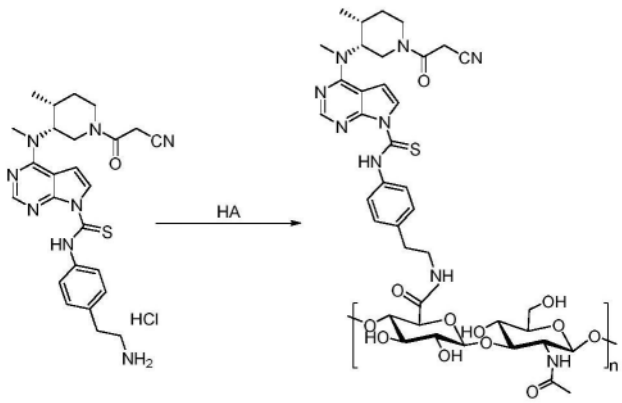
[0617]



[0618] 遵循实施例1中的步骤2,(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯(0.55g,0.931mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.49g,产率:100%);MS(m/z):$C_{25}H_{30}N_8OS$的[M+H]+计算值,491.23;实验值,491.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.43-8.30(m,2H),7.73

(d,J＝7.7Hz,2H),7.34(d,J＝7.9Hz,2H),6.95(s,1H),4.69(s,1H),3.97-3.71(m,3H),3.61-3.37(m,4H),3.23-3.04(m,4H),2.95(t,2H),2.48(s,1H),1.92-1.62(m,2H),1.12(dd,J＝13.9,6.0Hz,3H).

[0619] 步骤3:N-(4-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

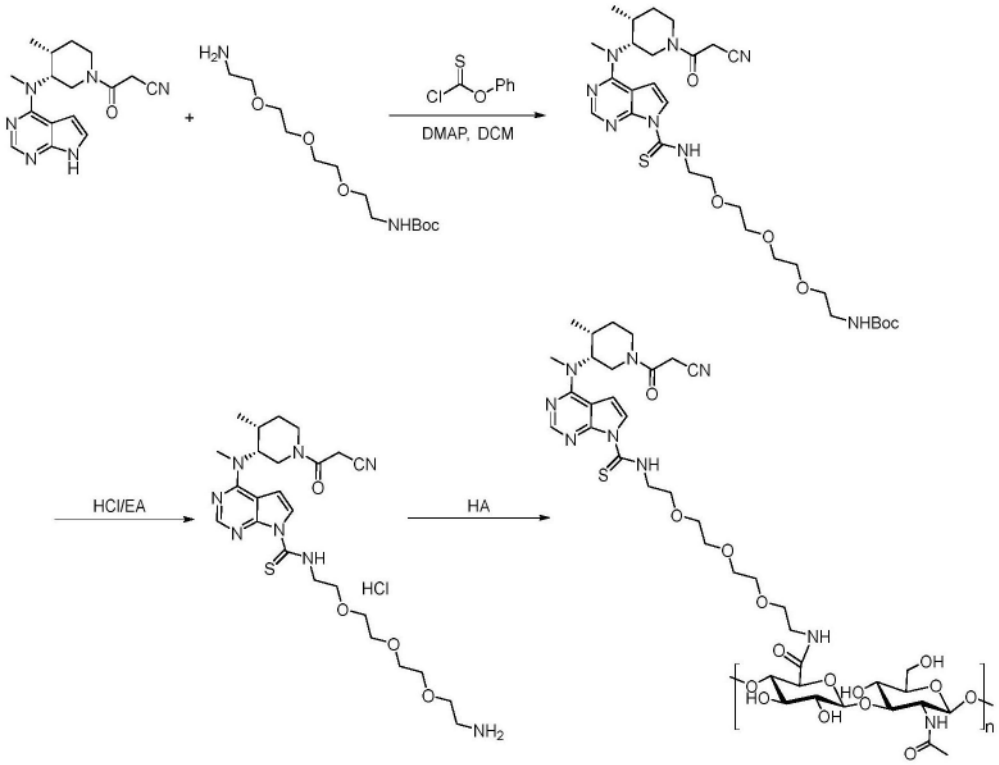
[0620] 

[0621] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.153g,0.38mmol,1当量)和N-(4-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐(0.2g,0.38mmol,1当量)提供标题化合物(0.18g,产率:55%,DSR＝14%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.27-6.85(m,0.98H),4.46(br,2H),3.97-3.15(m,11.96H),2.50-2.35(m,0.14H),1.98(s,3H),1.3-1.2(m,0.14H),1.1-0.95(m,0.42H).

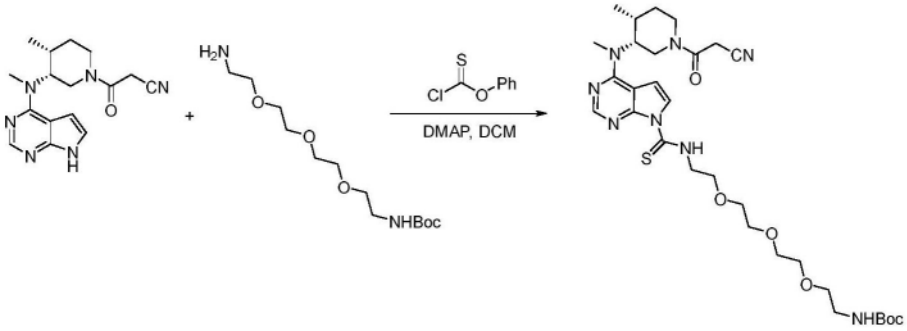
[0622] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.185g,产率:56%,DSR＝15%)。

[0623] 实施例25

[0624] N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

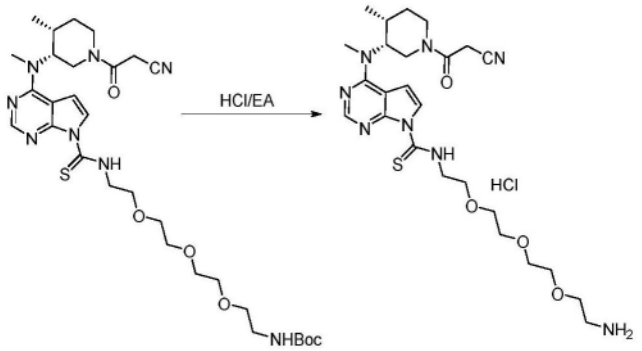
[0625] 

[0626] 步骤1:(1-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-硫代氧-5,8,11-三氧杂-2-氮杂三癸-13-基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[0627] 

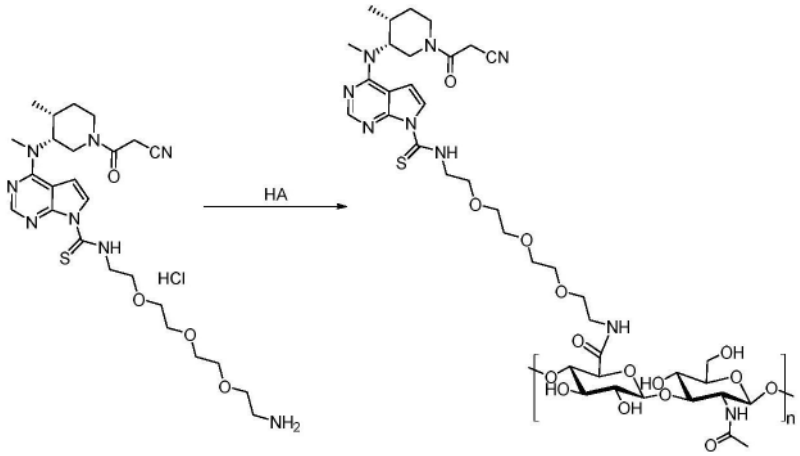
[0628] 遵循实施例22中的步骤1,托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)和(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(1.871g,6.4mmol,1当量)产生标题产物(1.12g,产率:27%);MS(m/z):$C_{30}H_{46}N_8O_6S$的[M+H]+计算值,647.33;实验值,647.2。

[0629] 步骤2:N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐的制备

[0630] 

[0631] 遵循实施例1中的步骤2,(1-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-硫代氧-5,8,11-三氧杂-2-氮杂三癸-13-基)氨基甲酸叔丁酯(1.1g,1.7mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.84g,产率:85%);MS(m/z):$C_{25}H_{38}N_8O_4S$的[M+H]+计算值,547.27;实验值,547.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm8.5-8.0(m,2H),6.61(s,1H),4.75-4.40(m,2H),4.05-3.5(m,18H),3.40-3.3(m,6H),2.45(br,1H),2.00-1.6(m,2H),1.17-1.04(m,3H).

[0632] 步骤3:N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺与HA的缀合物的制备

[0633] 

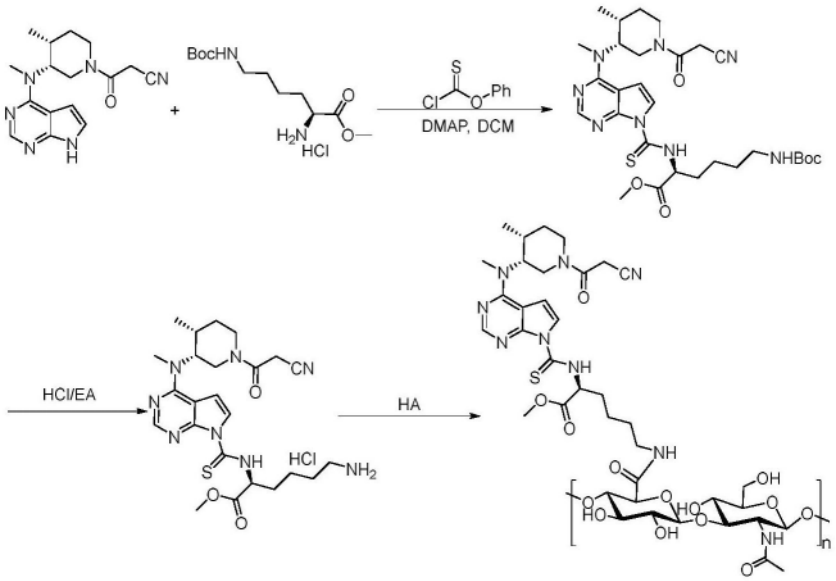
[0634] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.137g,0.34mmol,1当量)和N-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代酰胺盐酸盐(0.2g,0.34,1当量)提供标题化合物(0.17g,产率:55%,DSR=31%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.2-7.6(m,0.43H),7.4-6.8(m,0.21H),6.80-6.0(m,0.3H),4.65-4.1(m,4.96H),4.0-3.0(m,15H),3.25(m,3.09H),2.30(br,0.31H),1.93(s,3H),1.62-1.15(m,0.62H),1.10-0.75(m,0.93H)。在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.185g,产率:58.8%,DSR=25%)。

[0635] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.231g,产率:73.4%,DSR=30%)。

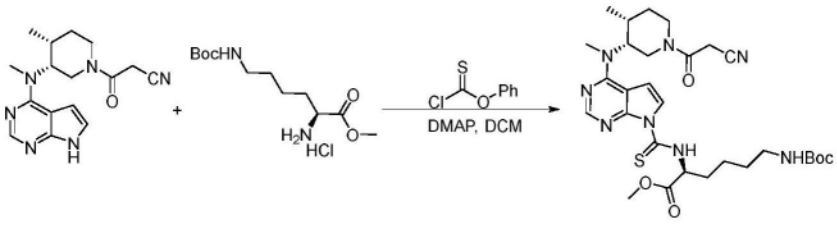
[0636] 实施例26

[0637] (4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并

[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)-L-赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

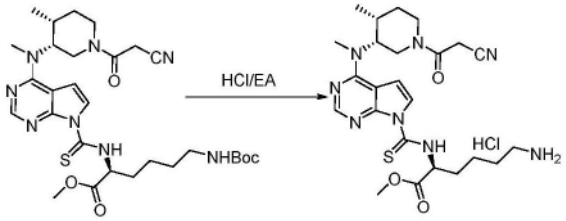
[0638] 

[0639] 步骤1:N6-(叔丁氧基羰基)-N2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)-L-赖氨酸甲酯的制备

[0640] 

[0641] 遵循实施例22中的步骤1,托法替尼(2g,6.4mmol,1当量)和N6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(1.9g,6.4mmol,1当量)产生标题产物(0.675g,产率:17.2%);MS(m/z):$C_{29}H_{42}N_8O_5S$的[M+H]+计算值,615.30;实验值,615.2。

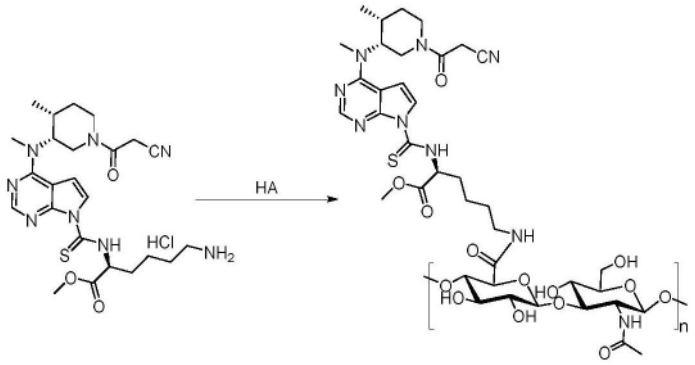
[0642] 步骤2:(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐的制备

[0643] 

[0644] 遵循实施例1中的步骤2,N6-(叔丁氧基羰基)-N2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)-L-赖氨酸甲酯(0.625g,1.017mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.56g,产率:100%);MS(m/z):$C_{24}H_{34}N_8O_3S$的[M+H]+计算值,515.25;实验值,515.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.45(s,1H),8.33(s,1H),6.92(s,1H),5.09(t,J=6.2Hz,1H),4.63(br,1H),3.95-3.67(m,5H),3.60-3.28(m,4H),3.23(s,3H),2.88(br,2H),2.47(s,1H),2.21-1.96(m,2H),1.92-1.42(m,6H),1.10(d,J=6.8Hz 3H).

[0645] 步骤3:(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡

咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)-L-赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

[0646] 

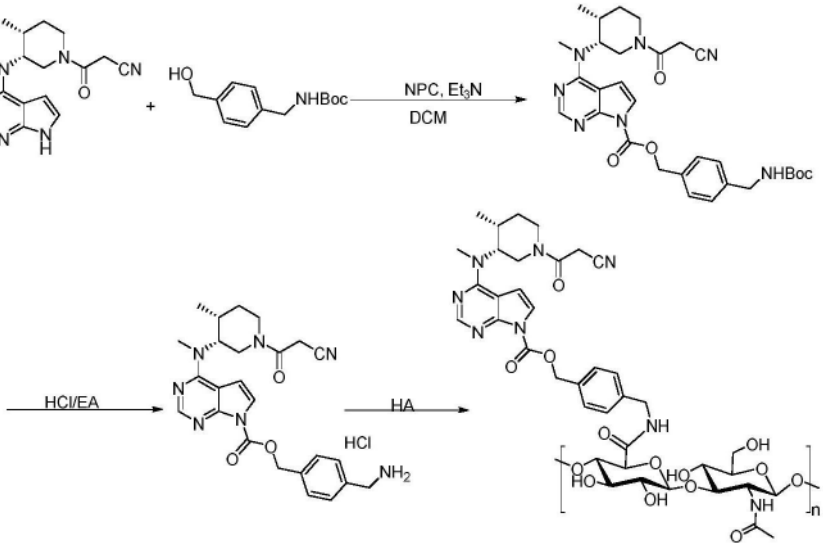
[0647] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.145g,0.36mmol,1当量)和(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(0.2g,0.36mmol,1当量)提供标题化合物(0.13g,产率:41%,DSR=10%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.75-7.5(m,0.27H),6.87(br,0.03H),5.25(m,0.14H),4.65-4.21(m,1.86H),4.0-2.8(m,11.6H),2.44(br,0.1H),2.00(s,3H),1.7-1.4(m,0.62H),1.28(t,0.1H),1.14-1.0(m,0.3H).

[0648] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.117g,产率:36.3%,DSR=10%)。

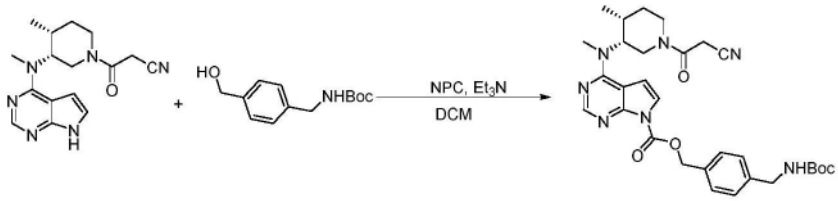
[0649] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.161g,产率:50%,DSR=5.7%)。

[0650] 实施例27

[0651] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(氨基甲基)苄酯与HA的缀合物的制备

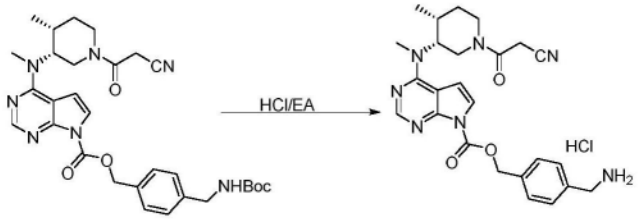
[0652] 

[0653] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(((叔丁氧基羰基)氨基)甲基)苄酯的制备

[0654] 

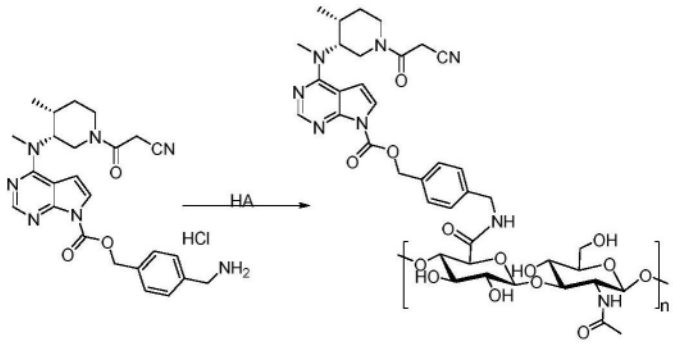
[0655] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.32g,4.214mmol,1当量)和(4-(羟甲基)苄基)氨基甲酸叔丁酯(2g,4.214mmol,1当量)产生标题产物(1.3g,产率:53.5%);MS(m/z):$C_{30}H_{37}N_7O_5$的[M+H]+计算值,576.29;实验值,576.2。

[0656] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(氨基甲基)苄酯盐酸盐的制备

[0657] 

[0658] 遵循实施例1中的步骤2,4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(((叔丁氧基羰基)氨基)甲基)苄酯(1.3g,2.25mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1g,产率:87%);MS(m/z):$C_{25}H_{29}N_7O_3$的[M+H]+计算值,476.23;实验值,476.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.30(dd,J=36.1,9.5Hz,1H),7.75-7.23(m,5H),6.84(d,J=15.6Hz,1H),4.70(br,3H),4.35-3.71(m,6H),3.71-3.23(m,5H),2.50(d,J=33.4Hz,1H),2.03-1.62(m,2H),1.17-0.99(m,3H).

[0659] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(氨基甲基)苄酯与HA的缀合物的制备

[0660] 

[0661] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.157g,0.39mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(氨基甲基)苄酯盐酸盐(0.2g,0.39mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:60%,DSR=22%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.37-7.89(m,0.18H),7.75-7.22(m,1.36H),4.71-4.32(m,2.75H),4.29-3.20(m,12.02H),3.14(br,0.34H),2.32(br,0.22H),2.02(s,3H),1.31(br,0.45H),1.06(br,0.65H).

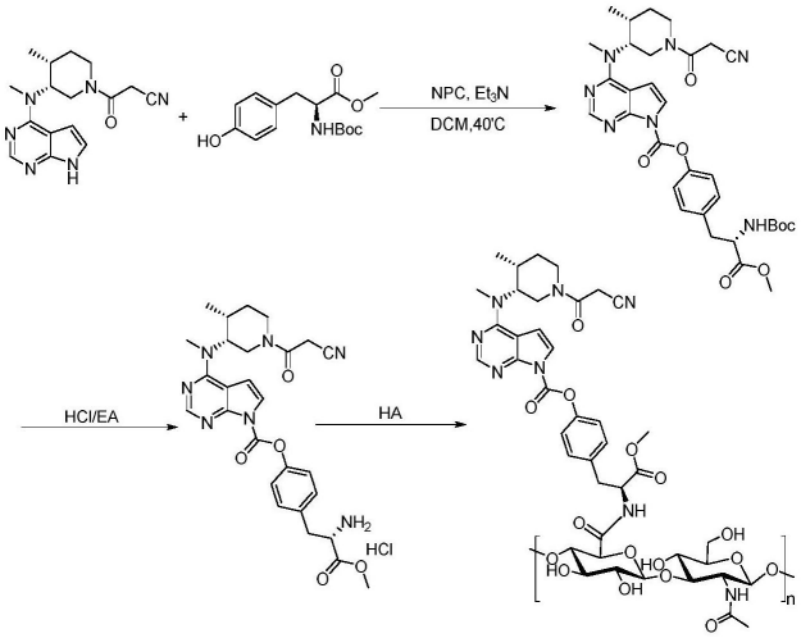
[0662] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.2g,产率:60%,DSR=43.6%)。

[0663] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产

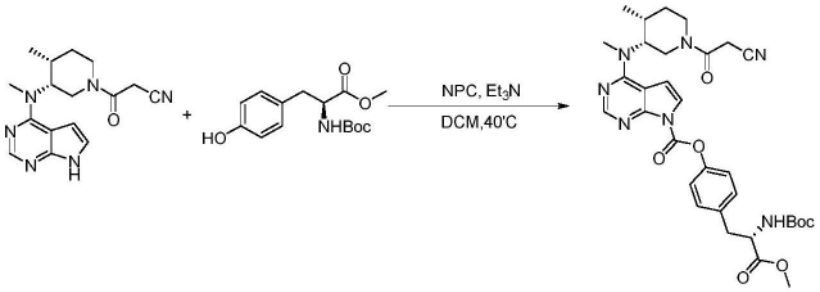
物(0.175g,产率:52.6%,DSR=35.3%)。

[0664] 实施例28

[0665] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-((S)-2-氨基-3-甲氧基-3-氧代丙基)苯酯与HA的缀合物的制备

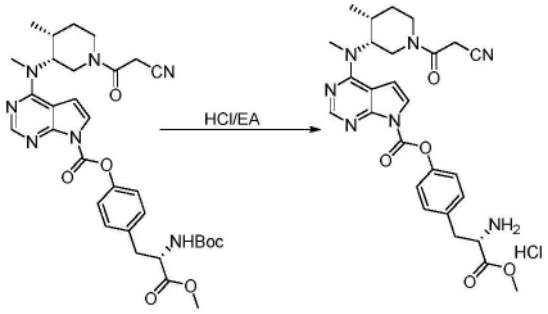
[0666] 

[0667] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲氧基-3-氧代丙基)苯酯的制备

[0668] 

[0669] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(3g,9.62mmol,1当量)产生标题产物(1.7g,产率:28%);MS(m/z):$C_{32}H_{39}N_7O_7$的[M+H]+计算值,634.29;实验值,634.2。

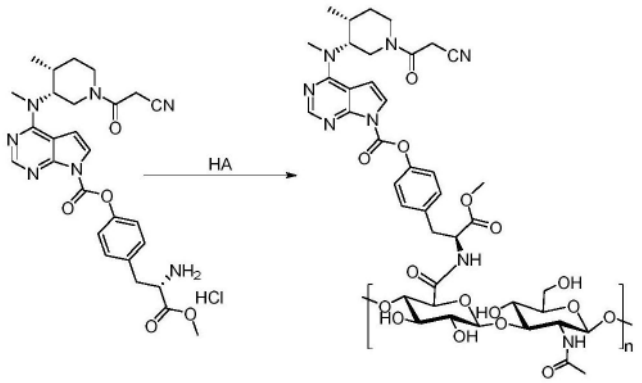
[0670] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-((S)-2-氨基-3-甲氧基-3-氧代丙基)苯酯盐酸盐的制备

[0671] 

[0672] 遵循实施例1中的步骤2,4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲

基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-((S)-2-((叔丁氧基羰基)氨基)-3-甲氧基-3-氧代丙基)苯酯(1g,1.578mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.9g,产率:100%);MS(m/z):$C_{27}H_{31}N_7O_5$的[M+H]+计算值,534.24;实验值,534.2。^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD)δppm8.55-8.34(m,1H),7.52-7.42(m,3H),7.41-6.74(m,3H),5.28(s,1H),4.46-4.21(m,1H),4.09-3.85(m,5H),3.82(d,J=4.2Hz,3H),3.76-3.39(m,5H),3.26-3.03(m,1H),2.55(br,1H),2.0-1.65(m,2H),1.16(dd,J=13.2,5.2Hz,3H).

[0673] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-((S)-2-氨基-3-甲氧基-3-氧代丙基)苯酯与HA的缀合物的制备

[0674] 

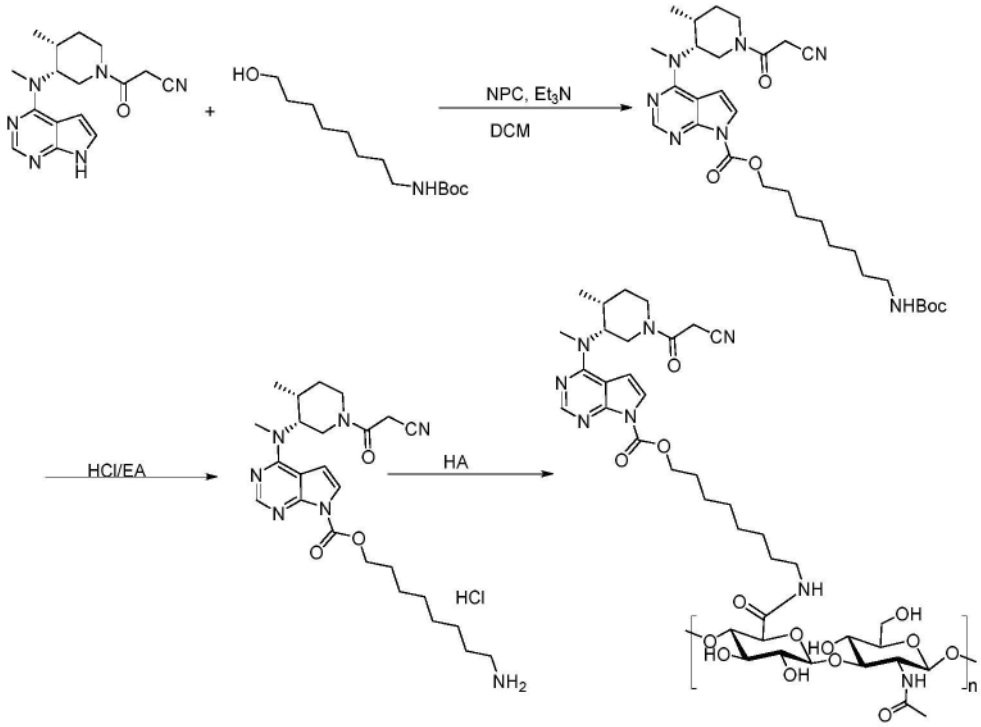
[0675] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.141g,0.35mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-((S)-2-氨基-3-甲氧基-3-氧代丙基)苯酯盐酸盐(0.2g,0.35mmol,1当量)提供标题化合物(0.2g,产率:32%,DSR=20%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 7.87-6.43(m,1.4H),4.51(m,2H),3.70(m,14.35H),2.48(m,0.2H),1.99(s,3H),1.81-1.67(m,0.2H),1.29(m,0.2H),1.06(m,0.6H).

[0676] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.16g,产率:50%,DSR=22%)。

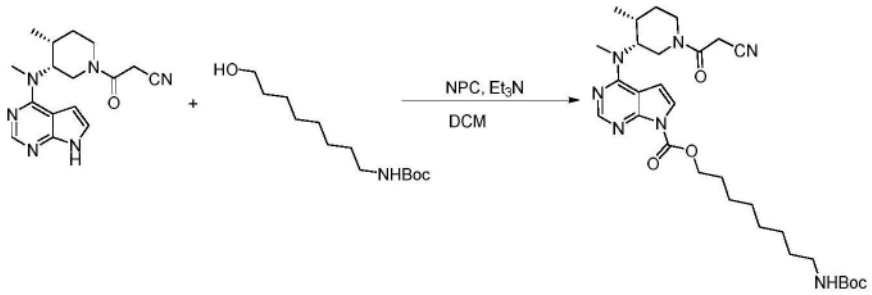
[0677] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.238g,产率:74.5%,DSR=22%)。

[0678] 实施例29

[0679] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸8-氨基辛酯与HA的缀合物的制备

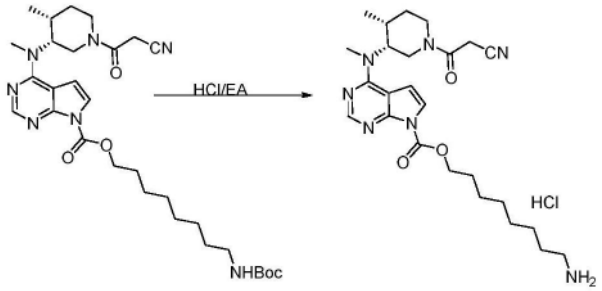
[0680] 

[0681] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸8-((叔丁氧基羰基)氨基)辛酯的制备

[0682] 

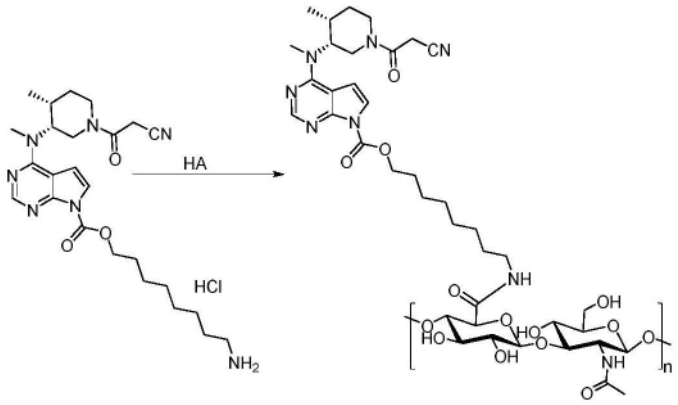
[0683] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1.15g,3.67mmol,1当量)和(8-羟基辛基)氨基甲酸叔丁酯(0.9g,3.668mmol,1当量)产生标题产物(0.7g,产率:33%);MS(m/z):$C_{30}H_{45}N_7O_5$的[M+H]+计算值,584.35;实验值,584.3。^{1}H-NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 8.46(d,J=8.8Hz,1H),7.46(dd,J=10.6,4.2Hz,1H),6.63(d,J=4.1Hz,1H),5.13(s,1H),4.65-4.33(m,2H),4.16-3.99(m,1H),3.89-3.74(m,1H),3.69-3.43(m,4H),3.37(d,J=18.7Hz,2H),3.10(d,J=6.4Hz,2H),2.62-2.41(m,1H),2.02-1.70(m,4H),1.45-1.3(m,12H),1.08(dd,J=14.0,7.1Hz,3H).

[0684] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸8-氨基辛酯盐酸盐的制备

[0685] 

[0686] 遵循实施例1中的步骤2,4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸8-((叔丁氧基羰基)氨基)辛酯(0.7g,1.2mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.6g,产率:96%);MS(m/z):$C_{25}H_{37}N_7O_3$的[M+H]+计算值,484.30;实验值,484.2。

[0687] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸8-氨基辛酯与HA的缀合物的制备

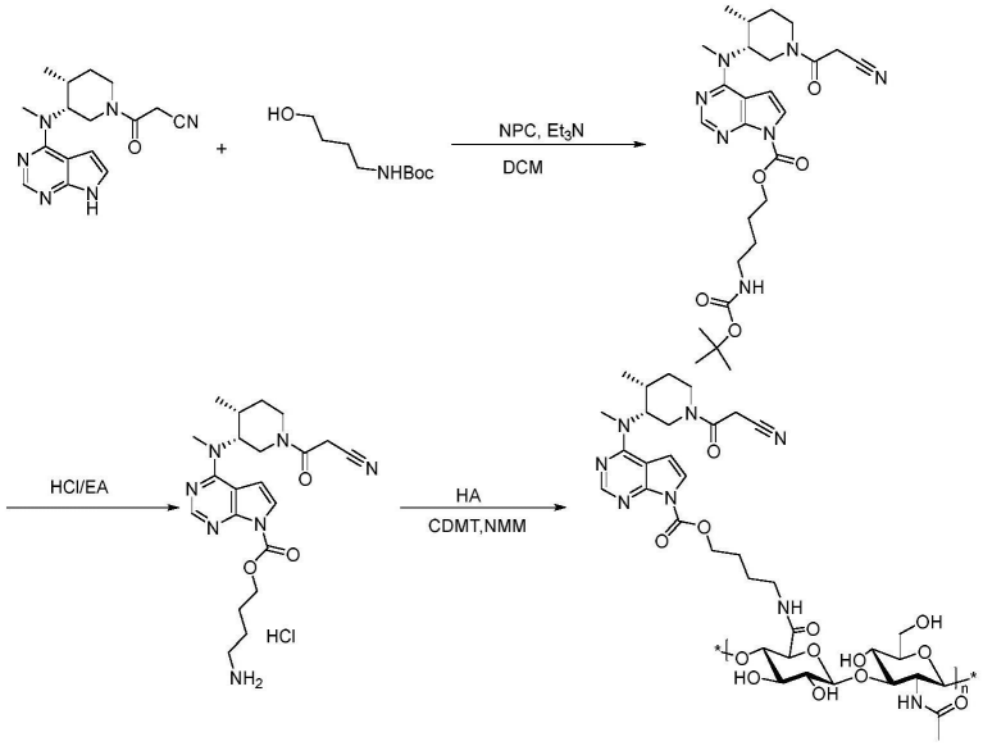
[0688] 

[0689] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.153g,0.38mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸8-氨基辛酯盐酸盐(0.2g,0.38mmol,1当量)提供标题化合物(0.19g,产率:54%,DSR=14%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.39(m,0.14H),7.67(m,0.14H),6.95(m,0.14H),4.53(m,2H),3.73(m,12H),2.51(m,0.24H),2.04(s,3H),1.87(m,0.82H),1.48(m,0.92H),1.11(m,0.57H).

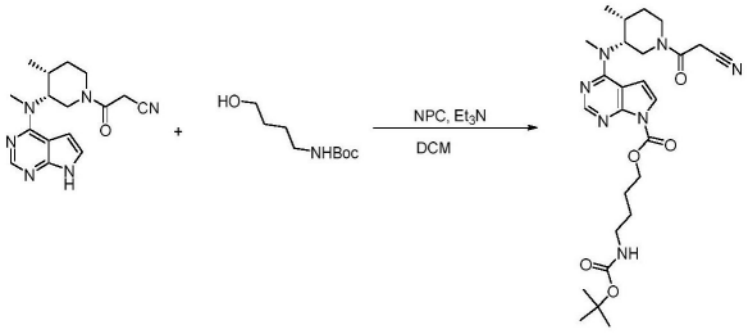
[0690] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.191g,产率:58.23%,DSR=5.3%)。

[0691] 实施例30

[0692] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-氨基丁酯与HA的缀合物的制备

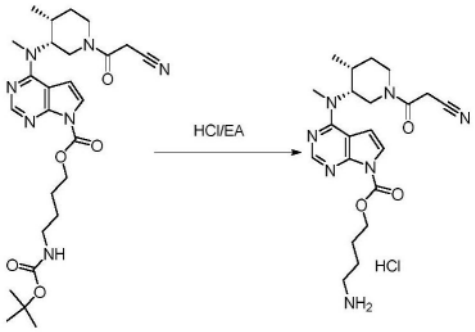
[0693] 

[0694] 步骤1:4-[[(3S,4S)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(叔丁氧基羰基氨基)丁酯的制备

[0695] 

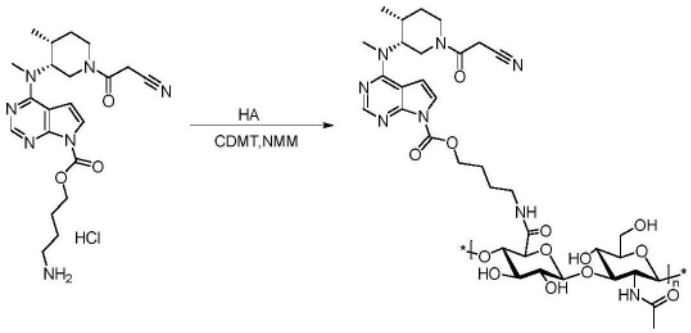
[0696] 将三乙胺(2.7mL,19.2mmol)添加到托法替尼(3000mg,9.6mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(3.22mg,10.6mmol)于二氯甲烷(60mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并在此温度下搅拌5小时。然后将反应混合物冷却到室温。添加4-(叔丁氧基羰基氨基)-1-丁醇(2000mg,10.6mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。用二氯甲烷稀释溶液并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(乙酸乙酯:己烷=1:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(2.64g,产率:52.1%)。MS(m/z):$C_{26}H_{37}N_7O_5$的[M+H]+计算值,528.28;实验值,528.2。

[0697] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-氨基丁酯盐酸盐的制备

[0698] 

[0699] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-(叔丁氧基羰基氨基)丁酯(2.955g,5.6mmol)提供呈白色固体的标题化合物(2.59g,产率:100%)。MS(m/z):$C_{21}H_{29}N_7O_3$的[M+H]+计算值,428.23;实验值,428.2。^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.39(d,J=6.9Hz,1H),7.63(d,J=3.8Hz,1H),6.96(s,1H),5.04(s,1H),4.53(t,J=6.2Hz,2H),4.01-3.70(m,4H),3.67-3.54(m,1H),3.41(d,J=30.2Hz,4H),3.02(dd,J=17.9,10.6Hz,2H),2.46(s,1H),1.97-1.59(m,6H),1.12-0.96(m,3H).

[0700] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-氨基丁酯与HA的缀合物的制备

[0701] 

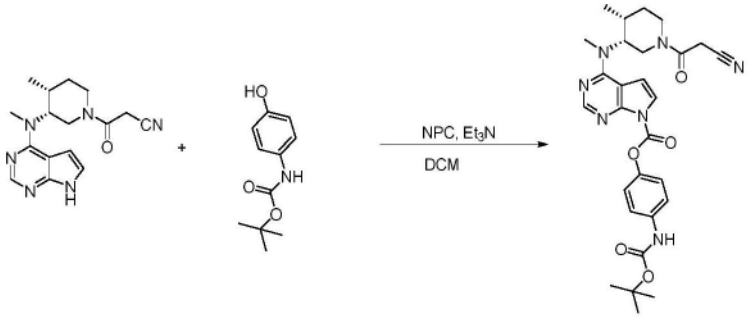
[0702] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,161.2mg,0.399mmol)、4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-氨基丁酯盐酸盐(200mg,0.399mmol)提供标题化合物(0.13g,产率:36.7%,DSR=12%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.20-8.02(m,0.12H),7.53-7.25(m,0.12H),6.82-6.62(m,0.12H),4.53-4.15(m,2.12H),3.93-2.89(m,11.56H),2.02-1.44(m,3.6H),1.18-1.09(m,0.12H),1.01-0.82(m,0.36H).

[0703] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.125g,产率:35.3%,DSR=37%)。

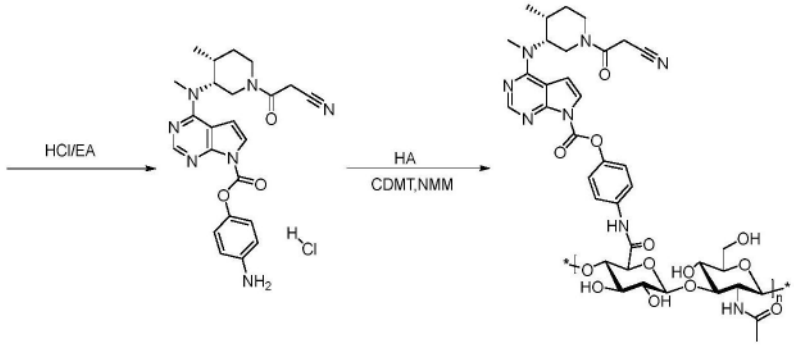
[0704] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.134g,产率:37.8%,DSR=32%)。

[0705] 实施例31

[0706] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基苯基)酯与HA的缀合物的制备

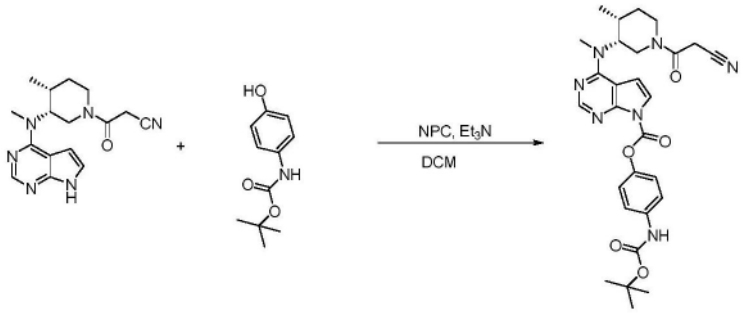


[0707]



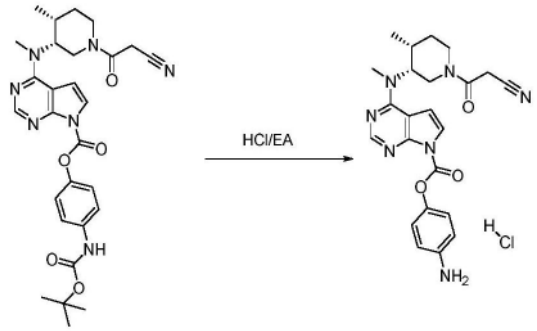
[0708] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸[4-(叔丁氧基羰基氨基)苯酯]的制备

[0709]



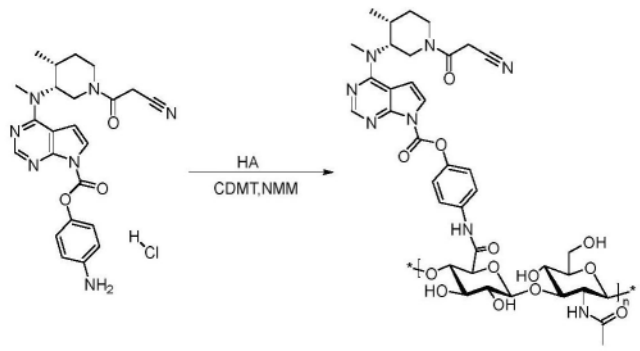
[0710] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1562mg,5mmol)和(4-羟基苯基)氨基甲酸叔丁酯(1256mg,6mmol)提供标题化合物(1.1g,产率:40%)。MS(m/z):$C_{28}H_{33}N_7O_5$的[M+H]+计算值,548.25;实验值,548.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 8.48(d,J=8.0Hz,1H),8.14-8.05(m,1H),7.61(dd,J=8.0,4.2Hz,1H),7.42(m,1H),7.23(d,J=8.9Hz,2H),6.89-6.74(m,1H),6.58(s,1H),5.15(d,J=3.9Hz,1H),4.11-4.01(m,1H),3.88-3.78(m,1H),3.67-3.45(m,4H),3.43-3.31(m,3H),2.59-2.44(m,1H),1.94(tdd,J=23.2,8.8,4.5Hz,1H),1.83-1.69(m,1H),1.51(m,9H),1.15-1.03(m,3H).

[0711] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基苯基)酯盐酸盐的制备

[0712] 

[0713] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸[4-(叔丁氧基羰基氨基)苯酯](0.8g,1.46mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.52g,产率:73.6%);MS(m/z):$C_{23}H_{25}N_7O_3$的[M+H]+计算值,448.20;实验值,448.3。

[0714] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基苯基)酯与HA的缀合物的制备

[0715] 

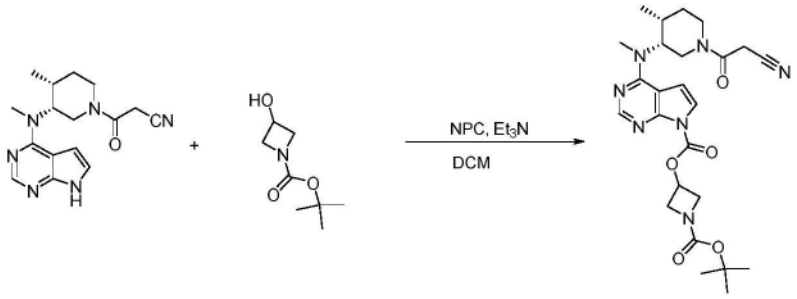
[0716] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,116mg,0.288mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基苯基)酯盐酸盐(150mg,0.288mmol)提供标题化合物(0.126g,产率:48.3%,DSR:10%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.17(m,0.1H),7.72-7.51(m,0.2H),7.38-7.11(m,0.3H),6.90-6.78(m,0.1H),4.53-4.25(m,2.1H),4.07-3.09(m,10.9H),2.49-2.34(m,0.1H),2.12-1.78(m,3.1H),1.61-1.50(m,0.1H),1.26-0.92(m,0.3H).

[0717] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.123g,产率:47.1%,DSR:24%)。

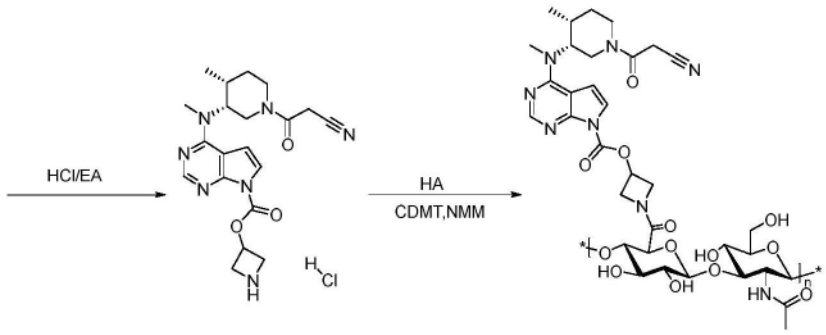
[0718] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.138g,产率:52.9%,DSR:8%)。

[0719] 实施例32

[0720] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环丁烷-3-基酯与HA的缀合物的制备

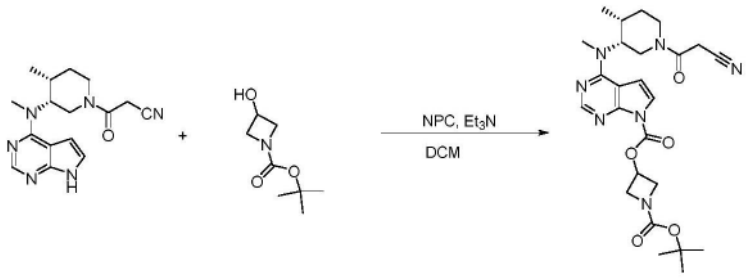


[0721]



[0722] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(1-叔丁氧基羰基氨基-3-基)酯的制备

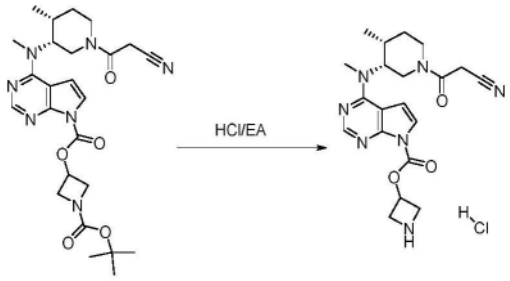
[0723]



[0724] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1249.5mg,4mmol)和3-羟基氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(831.4mg,4.8mmol)提供标题化合物(0.48g,产率:23.4%)。MS(m/z):$C_{25}H_{33}N_7O_5$的[M+H]+计算值,512.25;实验值,512.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 8.47(d,J=8.4Hz,1H),7.45(dd,J=11.6,4.2Hz,1H),6.65(dd,J=15.6,4.0Hz,1H),5.14(d,J=3.0Hz,1H),4.38(dd,J=10.0,7.0Hz,2H),4.11-3.75(m,3H),3.67-3.45(m,5H),3.41-3.33(m,3H),2.59-2.41(m,1H),2.02-1.84(m,1H),1.76(ddd,J=23.8,13.5,8.5Hz,2H),1.45(d,J=6.8Hz,9H),1.11-1.02(m,3H).

[0725] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环丁烷-3-基酯盐酸盐的制备

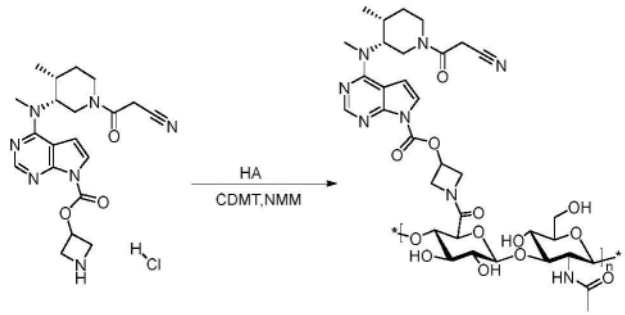
[0726]



[0727] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲

基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(1-叔丁氧基羰基氮杂环丁烷-3-基)酯(0.44g,0.86mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.366g,产率:95%)。MS(m/z):$C_{20}H_{25}N_7O_3$的[M+H]+计算值,412.20;实验值,412.3。

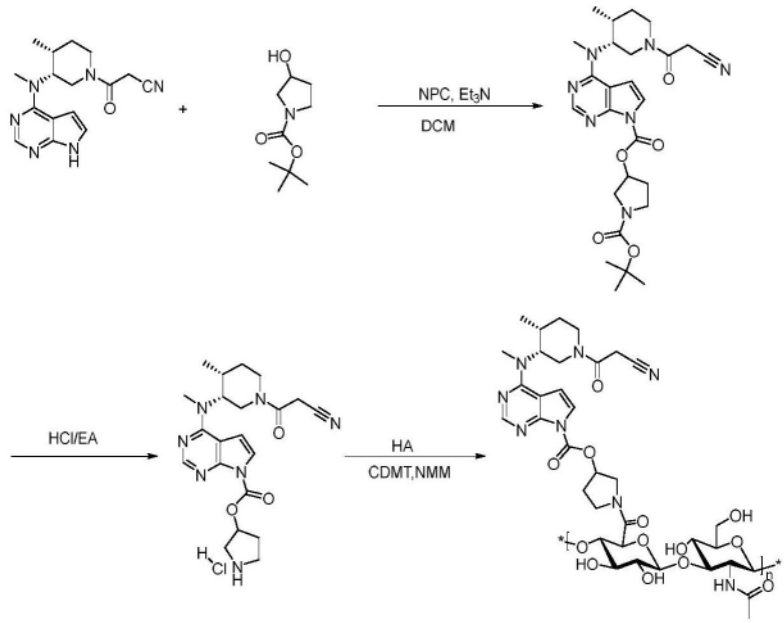
[0728] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环丁烷-3-基酯与HA的缀合物的制备

[0729] 

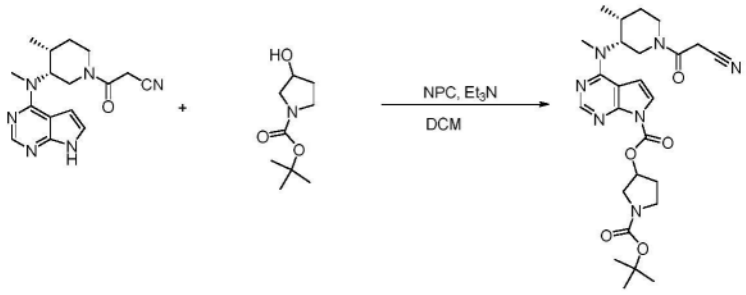
[0730] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,83.2mg,0.207mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环丁烷-3-基酯盐酸盐(100mg,0.207mmol)提供标题化合物(0.078g,产率:43.4%,DSR:12%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.27-8.17(s,0.12H),7.63-7.50(m,0.12H),6.92-6.78(m,0.12H),4.58-4.26(m,7.0Hz,2.12H),4.07-3.05(m,11.56H),2.45-2.35(m,0.12H),2.13-1.55(m,3.24H),1.23(m,0.12H),1.11-0.89(m,0.36H).

[0731] 实施例33

[0732] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸吡咯烷-3-基酯与HA的缀合物的制备

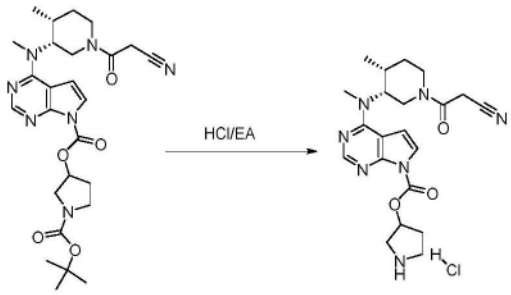
[0733] 

[0734] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(1-叔丁氧羰基吡咯烷-3-基)酯的制备

[0735] 

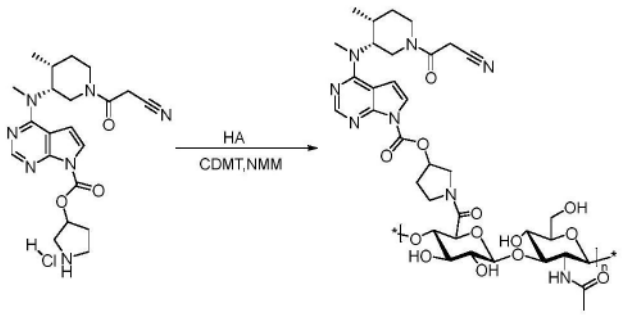
[0736] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1249.5mg,4mmol)和3-羟基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(898.8mg,4.8mmol)提供标题化合物(0.94g,产率:44.7%)。MS(m/z):$C_{26}H_{35}N_7O_5$的[M+H]+计算值,526.26;实验值,526.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 8.47(d,J=6.3Hz,1H),7.38(dd,J=11.2,4.1Hz,1H),6.63(d,J=4.1Hz,1H),5.11(t,J=11.8Hz,1H),4.08-3.77(m,2H),3.73-3.47(m,8H),3.36(d,J=17.7Hz,3H),2.58-2.42(m,1H),2.37-2.18(m,2H),1.93(dddd,J=23.5,18.7,9.0,4.5Hz,1H),1.82-1.72(m,2H),1.47(s,9H),1.08(dd,J=14.4,7.0Hz,3H).

[0737] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸吡咯烷-3-基酯盐酸盐的制备

[0738] 

[0739] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(1-叔丁氧羰基吡咯烷-3-基)酯(0.6g,1.14mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.526g,产率:100%)。MS(m/z):$C_{21}H_{27}N_7O_3$的[M+H]+计算值,426.21;实验值,426.3。

[0740] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸吡咯烷-3-基酯与HA的缀合物的制备

[0741] 

[0742] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,161.6mg,0.401mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸吡咯烷-3-基酯盐酸盐(200mg,0.401mmol)提供标题化合物(0.178g,产率:50%,DSR:20%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.34-8.18(m,0.2H),7.66-7.38(m,0.2H),6.87-6.68(m,0.2H),

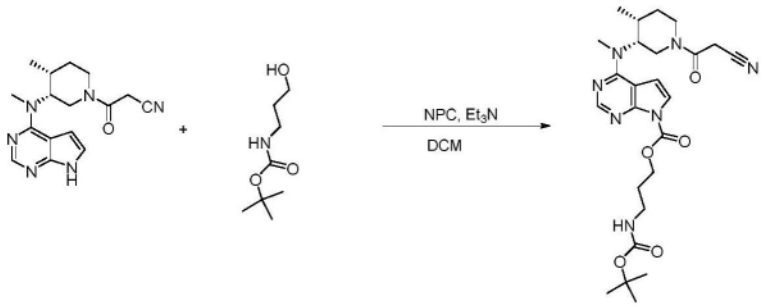
4.58-4.26(m,2.2H),4.07-3.07(m,12.6H),2.53-2.19(m,0.6H),2.10-1.60(m,3.4H),1.29-1.18(m,0.2H),1.15-0.86(m,0.6H).

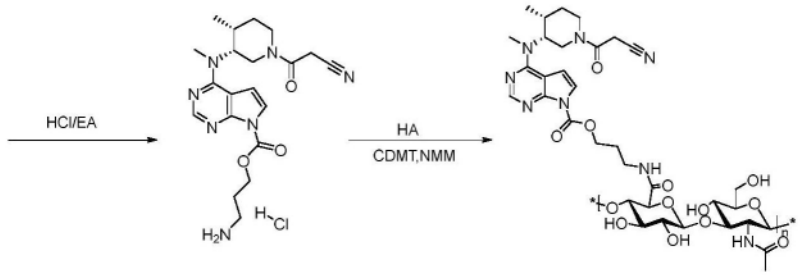
[0743] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.185g,产率:52.2%,DSR:33%)。

[0744] 实施例34

[0745] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基丙酯与HA的缀合物的制备

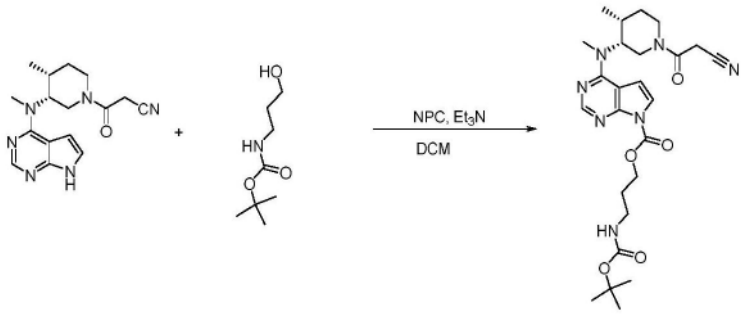
[0746]





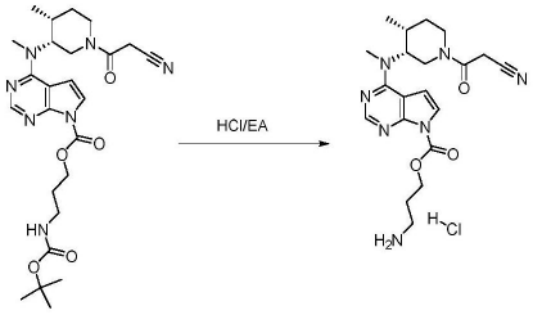
[0747] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-(叔丁氧基羰基氨基)丙酯的制备

[0748]



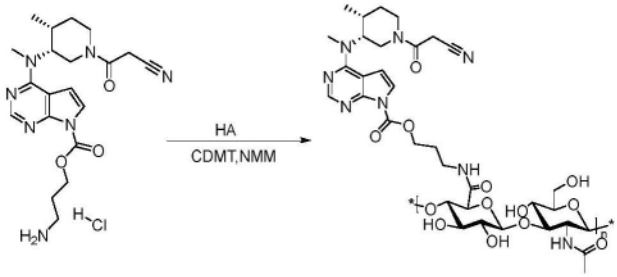
[0749] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1249.5mg,4mmol)和3-(Boc-氨基)-1-丙醇(841.1mg,4.8mmol)提供标题化合物(1.03g,产率:50%)。MS(m/z):$C_{25}H_{35}N_7O_5$的[M+H]+计算值,514.26;实验值,514.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 8.53(d,J=10.4Hz,1H),7.53(dd,J=10.8,4.0Hz,1H),7.15(s,1H),6.67(d,J=4.1Hz,1H),5.12(d,J=30.4Hz,1H),4.57(dd,J=14.1,8.5Hz,2H),4.06-3.78(m,2H),3.67-3.48(m,4H),3.47-3.41(m,2H),3.41-3.33(m,3H),2.56-2.36(m,1H),2.09-2.01(m,1H),1.93(tdd,J=22.0,8.8,4.5Hz,1H),1.83-1.65(m,2H),1.45(s,9H),1.07(dd,J=16.9,7.1Hz,3H).

[0750] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基丙酯盐酸盐的制备

[0751] 

[0752] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-(叔丁氧基羰基氨基)丙酯(1.03g,2mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.9g,100%)。MS(m/z):$C_{20}H_{27}N_7O_3$的[M+H]+计算值,414.21;实验值,414.3。

[0753] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基丙酯与HA的缀合物的制备

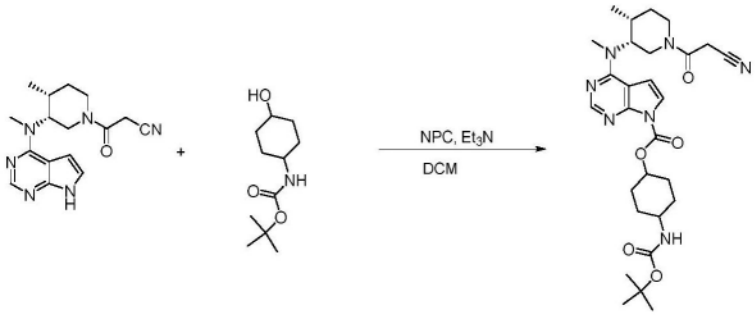
[0754] 

[0755] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,165.6mg,0.411mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基丙基酯盐酸盐(200mg,0.411mmol)提供标题化合物(0.162g,产率:45.2%,DSR:15%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.34-8.20(m,0.15H),7.63-7.50(m,0.15H),6.91-6.78(m,0.15H),4.49-4.31(m,2.15H),4.06-3.07(m,11.95H),2.44-2.35(m,0.15H),2.16-1.56(m,3.3H),1.21(t,J=7.0Hz,0.15H),1.05-0.90(m,0.45H).

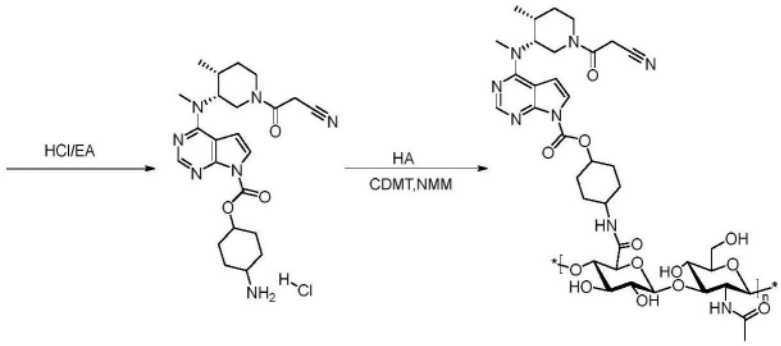
[0756] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.161g,产率:44.9%,DSR:17%)。

[0757] 实施例35

[0758] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基环已基)酯与HA的缀合物的制备

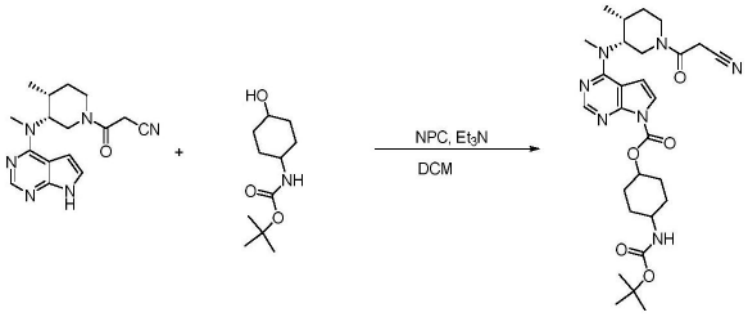


[0759]



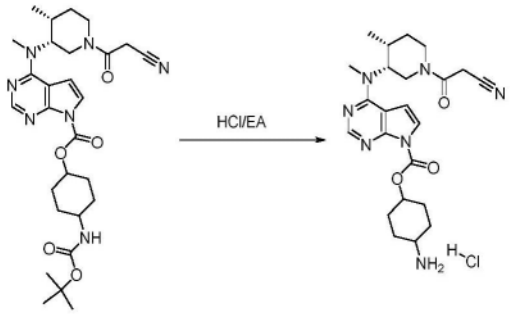
[0760] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸[4-(叔丁氧基羰基氨基)环己酯]的制备

[0761]



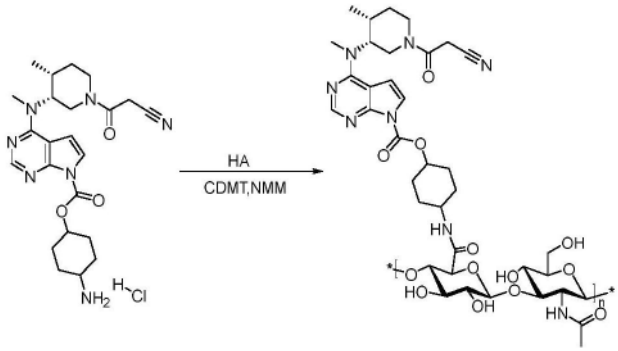
[0762] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1249.5mg,4mmol)和(4-羟基环己基)氨基甲酸叔丁酯(1033.4mg,4.8mmol)提供标题化合物(0.851g,产率:45%)。MS(m/z):$C_{28}H_{39}N_7O_5$的[M+H]+计算值,554.30;实验值,554.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 8.46(d,J=5.8Hz,1H),7.42(dd,J=9.5,4.2Hz,1H),6.61(d,J=4.1Hz,1H),5.19-5.04(m,1H),5.03-4.89(m,1H),4.45(s,1H),4.08-3.76(m,2H),3.63-3.46(m,4H),3.36(d,J=16.4Hz,3H),2.49(ddd,J=24.3,11.9,6.4Hz,1H),2.26-2.06(m,4H),1.93(dddd,J=18.5,13.7,8.9,4.4Hz,1H),1.82-1.59(m,4H),1.45(s,9H),1.34(td,J=13.3,2.7Hz,2H),1.15-0.99(m,3H).

[0763] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基环己基)酯盐酸盐的制备

[0764] 

[0765] 遵循实施例1中的步骤2,[4-(叔丁氧基羰基氨基)环己基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(0.62g,1.12mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.55g,产率:100%)。MS(m/z):$C_{23}H_{31}N_7O_3$的[M+H]+计算值,454.24;实验值,454.3。

[0766] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基环己基)酯与HA的缀合物的制备

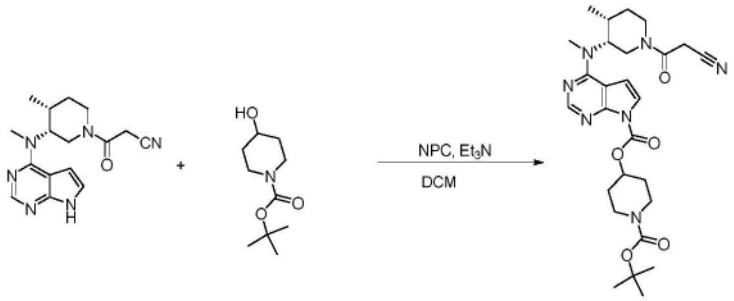
[0767] 

[0768] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,153mg,0.38mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(4-氨基环己基)酯盐酸盐(200mg,0.38mmol)提供标题化合物(0.173g,产率:49.9%,DSR:11%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.24-8.02(m,0.11H),7.57-7.37(m,0.11H),6.80-6.64(m,0.11H),4.96-4.86(m,0.11H),4.57-4.27(m,2H),4.07-3.04(m,10.99H),2.46-2.30(m,0.11H),2.27-1.76(m,3.77H),1.74-1.33(m,0.66H),1.22(d,J=6.9Hz,0.11H),1.09-0.85(m,0.33H).

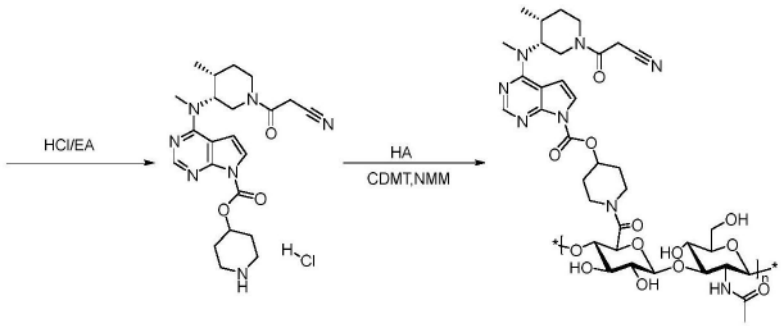
[0769] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.162g,产率:46.7%,DSR:27%)。

[0770] 实施例36

[0771] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-哌啶酯与HA的缀合物的制备

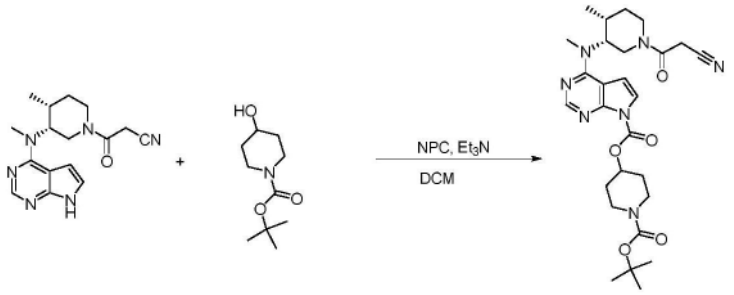


[0772]



[0773] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(1-叔丁氧基羰基-4-哌啶基)酯的制备

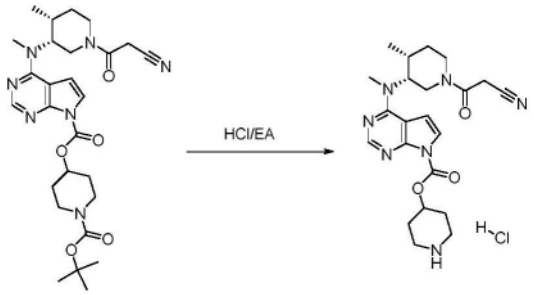
[0774]



[0775] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(1249.5mg,4mmol)和4-羟基哌啶-1-甲酸叔丁酯(966mg,4.8mmol)提供标题化合物(0.537g,产率:24.9%)。MS(m/z):$C_{27}H_{37}N_7O_5$的[M+H]+计算值,540.28;实验值,540.2。

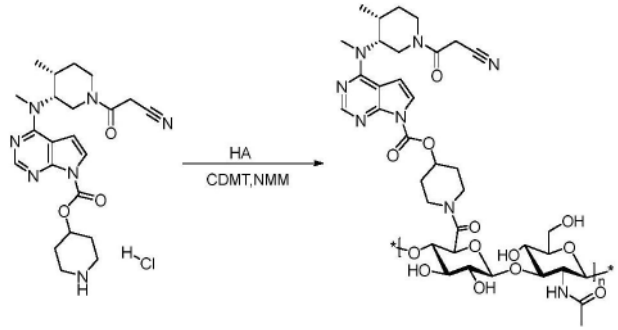
[0776] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-哌啶酯盐酸盐的制备

[0777]



[0778] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸(1-叔丁氧基羰基-4-哌啶基)酯(0.47g,0.87mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.25g,产率:58%)。MS(m/z):$C_{22}H_{29}N_7O_3$的[M+H]+计算值,440.23;实验值,440.3。

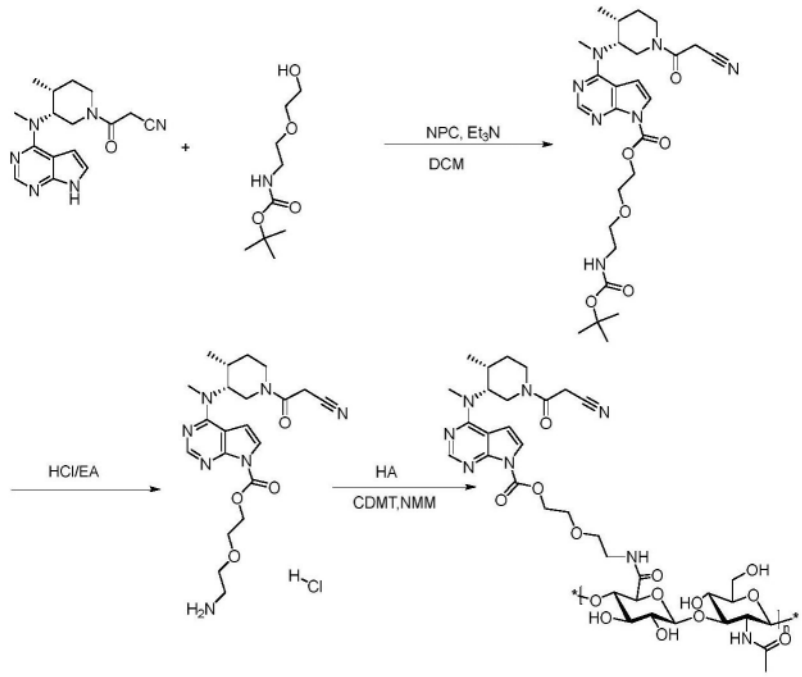
[0779] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-哌啶酯与HA的缀合物的制备

[0780] 

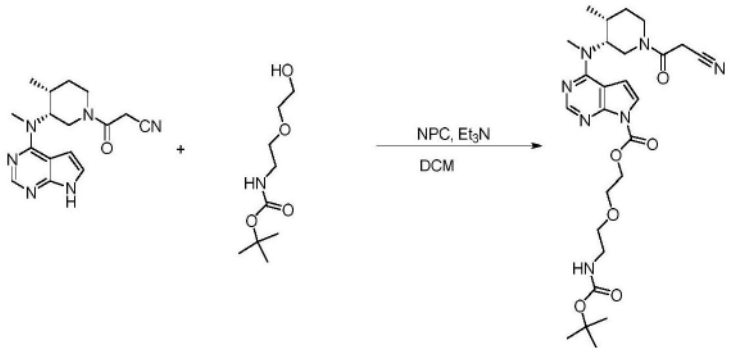
[0781] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,169.7mg,0.421mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸4-哌啶基酯盐酸盐(200mg,0.421mmol)提供标题化合物0.161g,产率:44.4%,DSR:11%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.27-8.04(m,0.11H),7.61-7.38(m,0.1 1H),6.84-6.68(m,0.11H),4.61-4.28(m,2.11H),4.12-3.05(m,11.43H),2.41-2.30(m,0.11H),2.19-1.58(m,3.66H),1.20(t,J=6.9Hz,0.11H),1.08-0.85(m,0.33H).

[0782] 实施例37

[0783] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-(2-氨基乙氧基)乙酯与HA的缀合物的制备

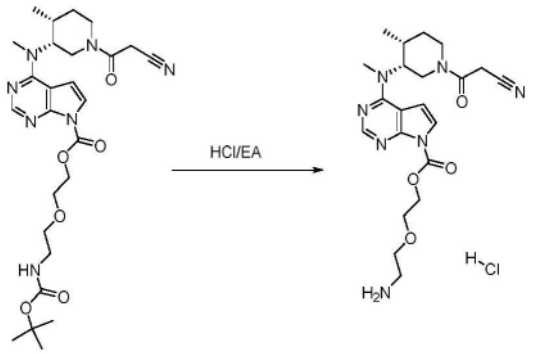
[0784] 

[0785] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-[2-(叔丁氧基羰基氨基)乙氧基]乙酯的制备

[0786] 

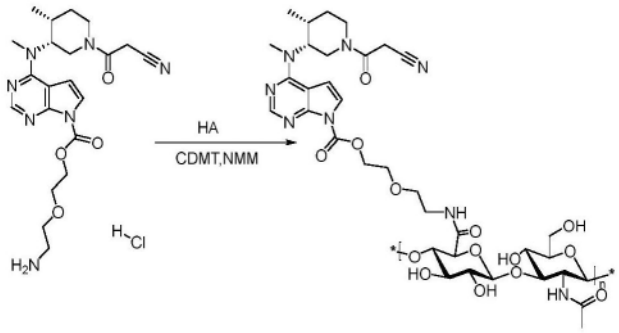
[0787] 将三乙胺(1.1mL,8mmol)添加到托法替尼(1250mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于二氯甲烷(40mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。添加(2-(2-羟基乙氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(985.2mg,4.8mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。用二氯甲烷稀释溶液并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并且然后在减压下浓缩以提供标题化合物(1.3g,产率:59.8%)。MS(m/z):$C_{26}H_{37}N_7O_6$的[M+H]+计算值,544.28;实验值,544.2。

[0788] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-(2-氨基乙氧基)乙酯盐酸盐的制备

[0789] 

[0790] 遵循实施例1中的步骤2,4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-[2-(叔丁氧基羰基氨基)乙氧基]乙酯(1.3g,2.39mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1.1g,产率:95.9%)。MS(m/z):$C_{21}H_{29}N_7O_4$的[M+H]+计算值,444.22;实验值,444.2。

[0791] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-(2-氨基乙氧基)乙酯与HA的缀合物的制备

[0792] 

[0793] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,156.4mg,0.388mmol)和4-[[(3R,

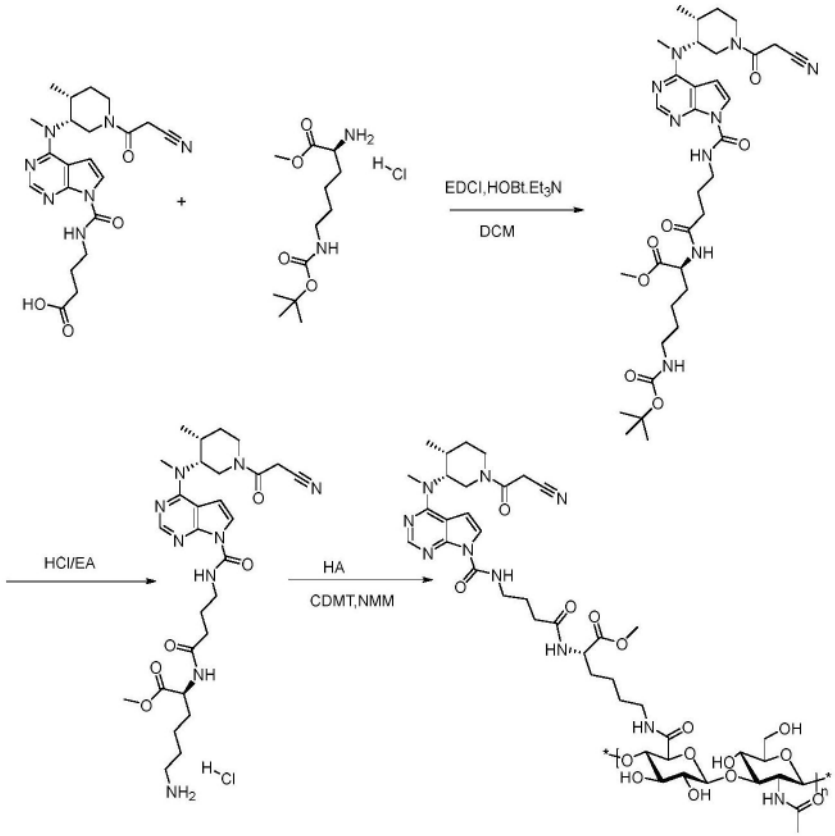
4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-(2-氨基乙氧基)乙酯盐酸盐(200mg,0.388mmol)提供标题化合物(0.175g,产率:50%,DSR:15%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.23-8.09(m,0.15H),7.58-7.39(m,0.15H),6.86-6.65(m,0.15H),4.58-4.25(m,2.15H),4.02-2.94(m,12.55H),2.43-2.28(m,0.15H),2.16-1.56(m,3.3H),1.10-0.89(m,0.45H).

[0794] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.182g,产率:52%,DSR:17%)。

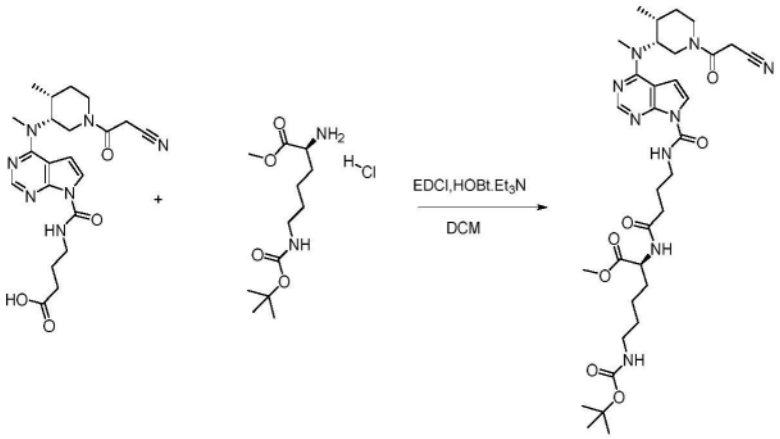
[0795] 实施例38

[0796] (2S)-6-氨基-2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]己酸甲酯的缀合物的制备

[0797]

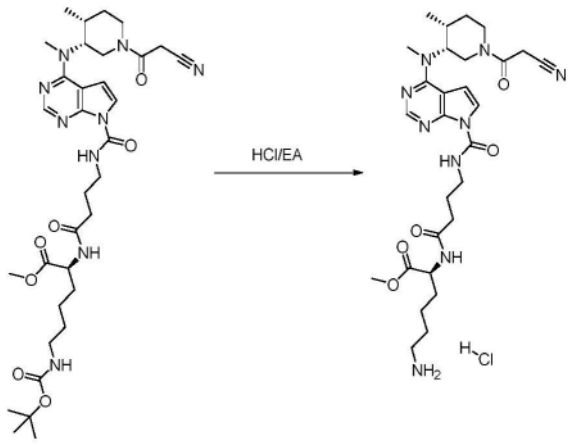


[0798] 步骤1:(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]己酸甲酯的制备

[0799] 

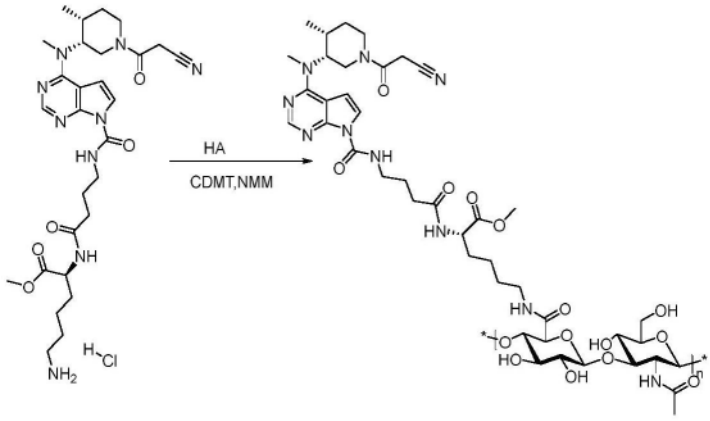
[0800] 将4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(1323mg,3mmol)、6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(1336mg,4.5mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,863mg,4.5mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,608mg,4.5mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)中并且添加三乙胺(2.08mL,15mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:150~1:80)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.726g,产率:83.3%)。MS(m/z):$C_{33}H_{49}N_9O_7$的[M+H]+计算值,684.37;实验值,684.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm9.89(dd,J=13.5,7.5Hz,1H),8.29(d,J=9.0Hz,1H),7.72(dd,J=11.9,4.0Hz,1H),6.75-6.50(m,2H),5.14(s,1H),4.75-4.48(m,2H),4.12-3.76(m,2H),3.73-3.32(m,9H),3.11(d,J=5.4Hz,2H),2.58-2.42(m,1H),2.41-2.25(m,2H),2.09-1.65(m,6H),1.54-1.32(m,15H),1.10(dd,J=12.7,7.1Hz,3H).

[0801] 步骤2:(2S)-6-氨基-2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[0802] 

[0803] 遵循实施例1中的步骤2,(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]己酸甲酯(1.5g,2.137mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1.426g,产率:99.6%)。MS(m/z):$C_{28}H_{41}N_9O_5$的[M+H]+计算值,584.32;实验值,584.1。

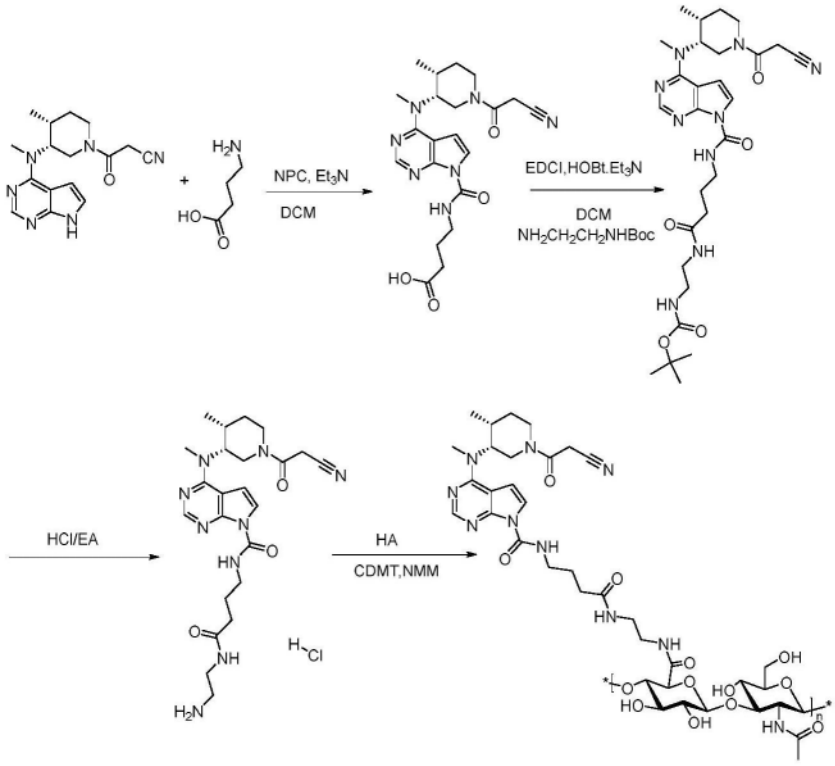
[0804] 步骤3:(2S)-6-氨基-2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]己酸甲酯的缀合物的制备

[0805] 

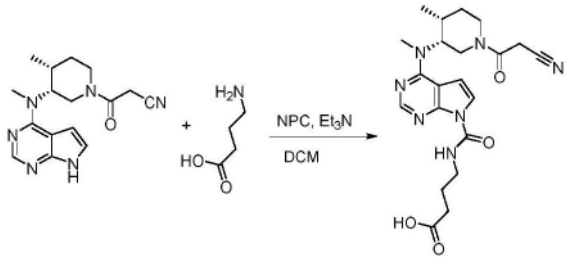
[0806] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,123mg,0.305mmol)和(2S)-6-氨基-2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]己酸甲酯盐酸盐(200mg,0.36mmol)提供标题化合物(0.13g,产率:45%,DSR:5%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.29-8.16(m,0.05H),7.64-7.51(m,0.05H),6.82-6.65(m,0.05H),4.57-4.22(m,2.05H),3.99-2.89(m,10.75H),2.42-2.29(m,0.1H),2.14-1.55(m,3.3H),1.47-1.35(m,0.3H),1.24-1.11(m,0.15H).

[0807] 实施例39

[0808] N-[4-(2-氨基乙基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

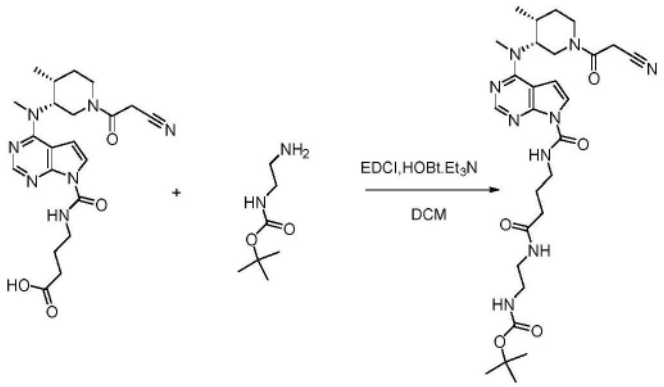
[0809] 

[0810] 步骤1:4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸的制备

[0811] 

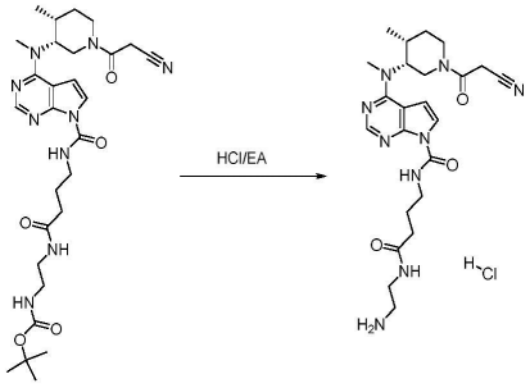
[0812] 将三乙胺(33.9g,336.3mmol)添加到托法替尼(30g,96.1mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(43.3g,142.4mmol)于二氯甲烷(300mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并在此温度下搅拌16小时。然后将反应混合物冷却到0～10℃。添加300mL的4-氨基丁酸(19.8g,192.2mmol)、三乙胺(19.4g,192.2mmol)和四丁基溴化铵(0.3g)的水溶液。将反应混合物在0～10℃下搅拌16小时,使用20％柠檬酸水溶液将反应混合物的pH值调整到3-4,并用10％柠檬酸水溶液、水和饱和盐水溶液洗涤有机层。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷＝1:100～1:50)纯化粗残余物,以提供标题化合物(10.3g,24％)。MS(m/z):$C_{21}H_{27}N_7O_4$的[M+H]+计算值,442.2;实验值,442.3。

[0813] 步骤2:N-[2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0814] 

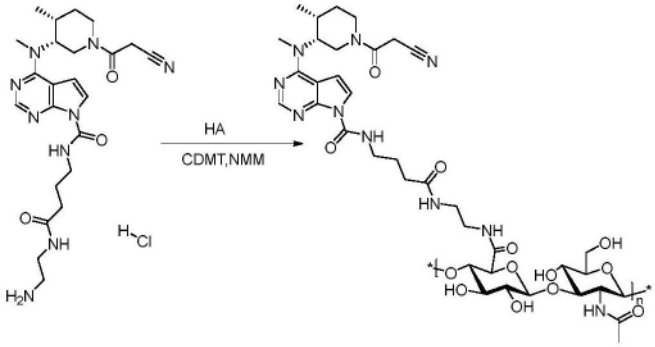
[0815] 将4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(1323mg,3mmol)、N-Boc-乙二胺(721mg,4.5mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,863mg,4.5mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,607.5mg,4.5mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)中并且添加三乙胺(1.25mL,9mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷＝1:100～1:50)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.58g,产率:90％)。MS(m/z):$C_{28}H_{41}N_9O_5$的[M+H]+计算值,584.32;实验值,584.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.02-9.67(m,1H),8.29(d,J＝8.9Hz,1H),7.72(dd,J＝10.5,4.0Hz,1H),6.58(dd,J＝14.2,10.2Hz,2H),5.32(d,J＝17.1Hz,1H),5.13(s,1H),4.20-3.70(m,2H),3.69-3.44(m,6H),3.39-3.14(m,7H),2.60-2.40(m,1H),2.26(dt,J＝15.3,7.4Hz,2H),2.11-1.83(m,3H),1.83-1.70(m,1H),1.41(d,J＝28.2Hz,9H),1.09(dd,J＝12.6,7.1Hz,3H).

[0816] 步骤3:N-[4-(2-氨基乙基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0817] 

[0818] 遵循实施例1中的步骤2,N-[2-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]丁酰基氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(1.18g,2mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1.04g,产率:100%)。MS(m/z):$C_{23}H_{33}N_9O_3$的[M+H]+计算值,484.27;实验值,484.3。

[0819] 步骤4:N-[4-(2-氨基乙基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0820] 

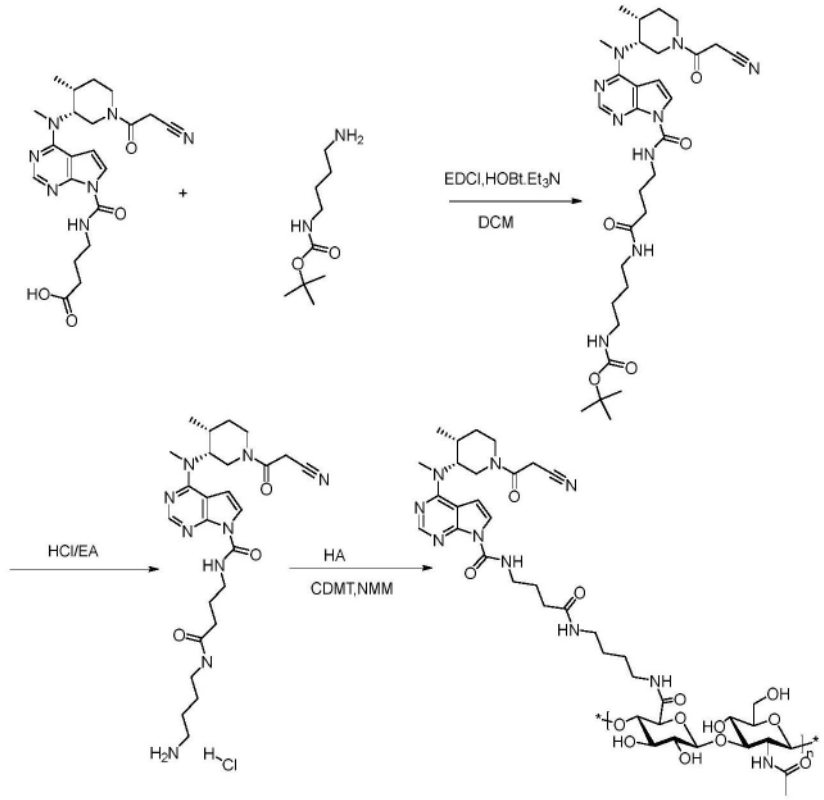
[0821] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,145mg,0.36mmol)和N-[4-(2-氨基乙基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.36mmol)提供标题化合物(0.174g,产率:51.4%,DSR:30%);^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.24-8.13(m,0.2H),7.61-7.47(m,0.2H),6.79-6.61(m,0.2H),4.58-4.16(m,2.2H),4.10-2.77(m,13H),2.42-2.18(m,0.6H),2.04-1.55(m,4H),1.06-0.85(m,0.6H).

[0822] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.186g,产率:54.9%,DSR:39%)。

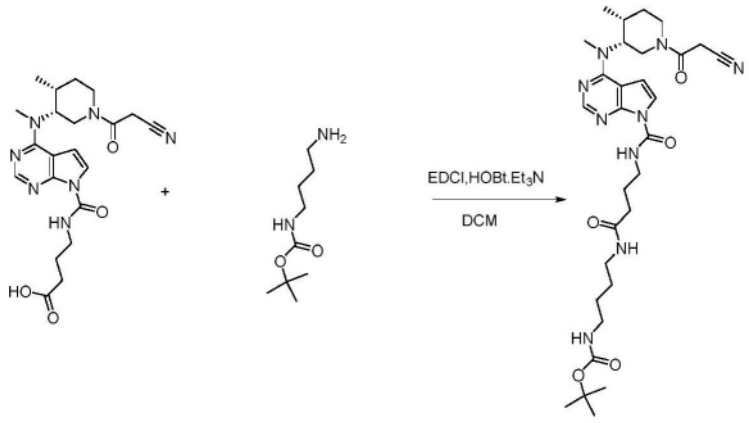
[0823] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.189g,产率:55.8%,DSR:30%)。

[0824] 实施例40

[0825] N-[4-(4-氨基丁基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

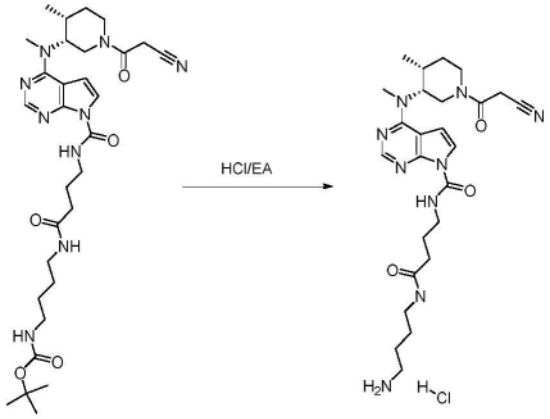
[0826] 

[0827] 步骤1:N-[4-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0828] 

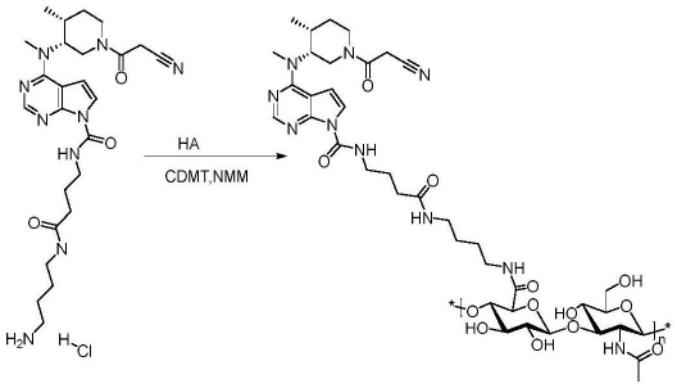
[0829] 将4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(886mg,2mmol)、N-Boc-1,4-丁二胺(564mg,3mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,575.1mg,3mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,405mg,3mmol)溶解于二氯甲烷(30mL)中并且添加三乙胺(0.84mL,6mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100~1:50)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.52g,产率:42.5%)。MS(m/z):$C_{30}H_{45}N_9O_5$的[M+H]+计算值,612.35;实验值,612.1。^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 9.62(s,1H),8.29(t,J=14.4Hz,1H),7.77(s,1H),7.61(d,J=22.9Hz,1H),6.77(d,J=28.6Hz,2H),4.86(s,1H),4.22-3.61(m,5H),3.43-3.33(m,3H),3.27(s,3H),2.94(d,J=25.8Hz,2H),2.86(s,2H),2.37(s,1H),2.13(t,J=7.0Hz,2H),1.91-1.39(m,5H),1.33(s,12H),0.97(t,J=14.9Hz,3H).

[0830] 步骤2:N-[4-(4-氨基丁基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0831] 

[0832] 遵循实施例1中的步骤2,N-[4-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯(0.5g,0.818mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.32g,产率:83%)。MS(m/z):$C_{25}H_{37}N_9O_3$的[M+H]+计算值,512.30;实验值,512.3。

[0833] 步骤3:N-[4-(4-氨基丁基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0834] 

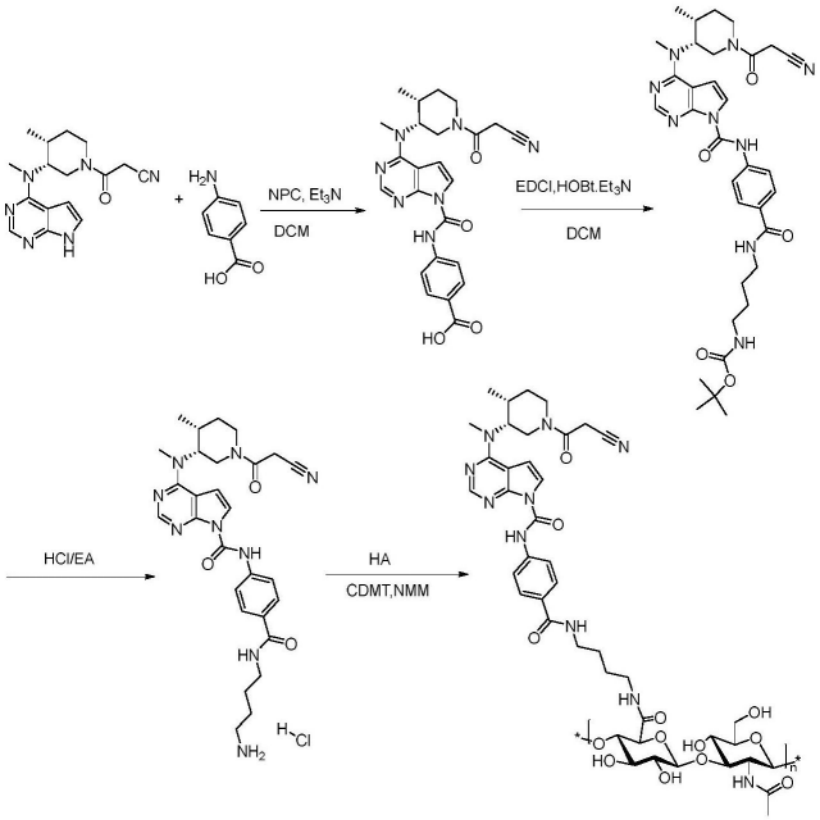
[0835] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,147.2mg,0.365mmol)和N-[4-(4-氨基丁基氨基)-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.365mmol)提供标题化合物(0.162g,产率:47.5%,DSR:33%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-7.86(m Hz,0.33H),7.64-7.18(m,0.33H),6.81-6.32(m,0.33H),4.52-4.28(m,2.33H),4.06-2.81(m,14.95H),2.41-2.21(m,0.99H),1.99-1.63(m,4.32H),1.47-1.26(m,1.32H),1.11-0.91(m,0.99H).

[0836] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.243g,产率:71.3%,DSR:18%)。

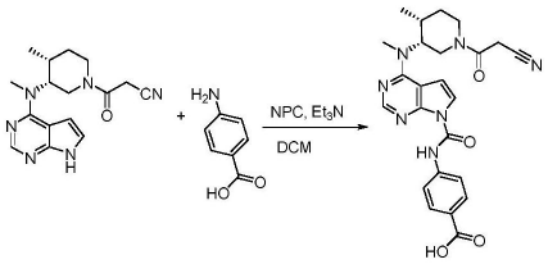
[0837] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.168g,产率:49.3%,DSR:20%)。

[0838] 实施例41

[0839] N-[4-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

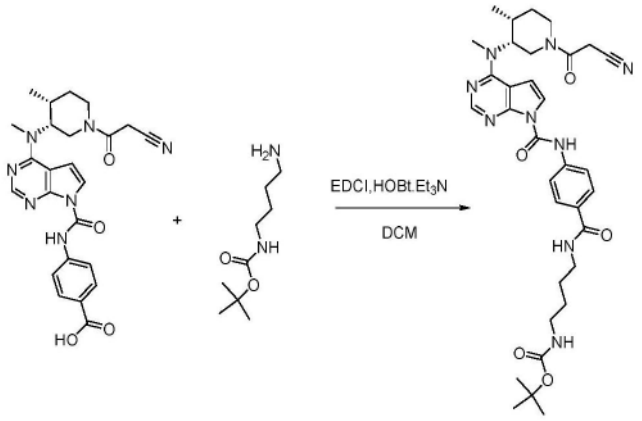
[0840] 

[0841] 步骤1:4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]苯甲酸的制备

[0842] 

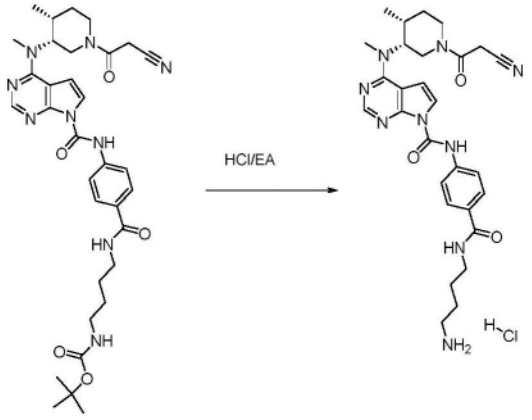
[0843] 遵循实施例1中的步骤1,托法替尼(10g,32mmol)和4-氨基苯甲酸(8.7g,64mmol)提供标题化合物(9.5g,产率:62.5%)。MS(m/z):$C_{24}H_{25}N_7O_4$的[M+H]+计算值,476.1;实验值,476.3。

[0844] 步骤2:N-[4-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]苯甲酰基]氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0845] 

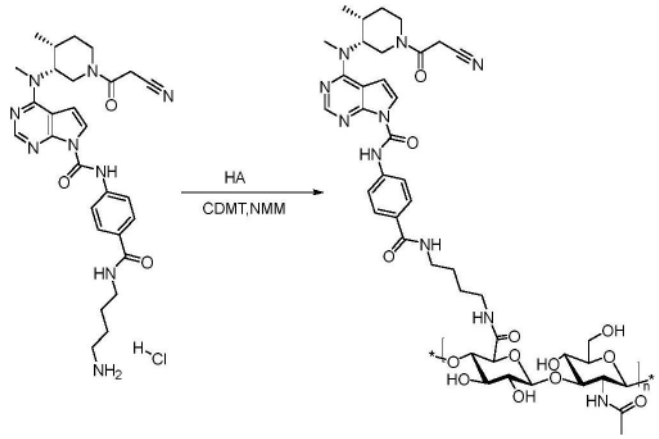
[0846] 将4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(950mg,2mmol)、N-Boc-1,4-丁二胺(564mg,3mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,575.1mg,3mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,405mg,3mmol)溶解于二氯甲烷(24mL)中并且添加三乙胺(0.84mL,6mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(乙酸乙酯:已烷=10:100~50:100)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.89g,产率:69%)。MS(m/z):$C_{33}H_{43}N_9O_5$的[M+H]+计算值,646.33;实验值,646.1。^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm12.21(s,1H),8.42(s,2H),7.89(d,J=7.6Hz,2H),7.73(d,J=7.8Hz,3H),6.84(d,J=55.3Hz,2H),4.89(s,1H),4.18-3.60(m,4H),3.47-3.32(m,2H),3.23(s,5H),2.92(s,2H),2.42-2.33(m,1H),1.90-1.17(m,15H),1.01(d,J=5.2Hz,3H).

[0847] 步骤3:N-[4-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0848] 

[0849] 遵循实施例1中的步骤2,N-[4-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯(0.87g,1.35mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1g,产率:83%)。MS(m/z):$C_{28}H_{35}N_9O_3$的[M+H]+计算值,546.28;实验值,546.3。

[0850] 步骤4:N-[4-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0851] 

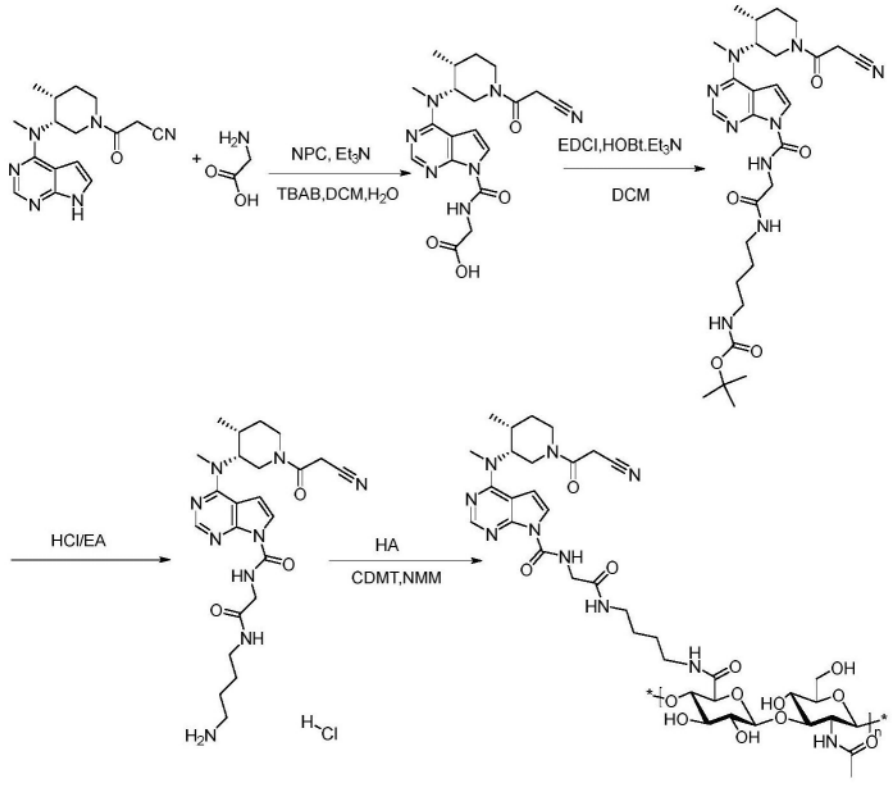
[0852] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,138.6mg,0.344mmol)和N-[4-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.344mmol)提供标题化合物(0.26g,产率:93.9%,DSR:23%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.32-8.12(m,0.23H),7.88-7.23(m,1.15H),6.80-6.64(m,0.23H),4.54-4.30(m,2.23H),3.99-2.81(m,12.99H),2.06-1.37(m,4.61H),1.04-0.87(m,0.69H).

[0853] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.145g,产率:52.4%,DSR:15%)。

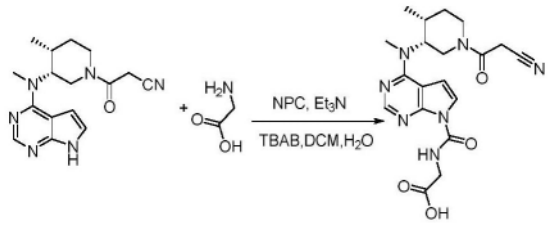
[0854] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.104g,产率:37.5%,DSR:33%)。

[0855] 实施例42

[0856] N-[2-(4-氨基丁基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

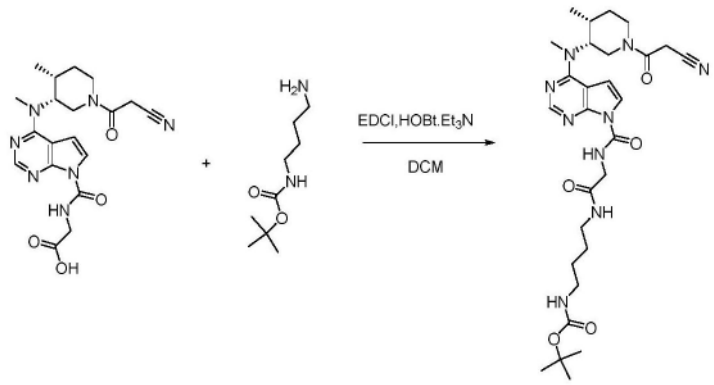
[0857] 

[0858] 步骤1:2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]乙酸的制备

[0859] 

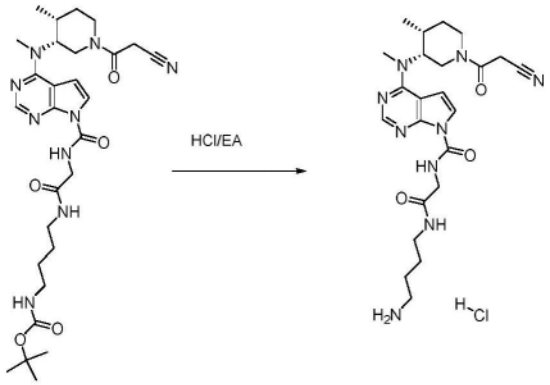
[0860] 将三乙胺(97.2g,960.3mmol)添加到托法替尼(100g,320.1mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(146g,480.1mmol)于二氯甲烷(2000mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并在此温度下搅拌16小时。然后将反应混合物冷却到0～10℃。添加300mL的甘氨酸(48.1g,640.2mmol)、三乙胺(32g,316.8mmol)和四丁基溴化铵(10.3g)的水溶液。将反应混合物在0～10℃下搅拌16小时,使用乙酸将反应混合物的pH值调整到3-4,并用0.5N盐酸溶液、水和饱和盐水溶液洗涤有机层。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:50～1:10)纯化粗残余物,以提供标题化合物(89.8g,产率:67.8%)。MS(m/z):$C_{19}H_{23}N_7O_4$的[M+H]+计算值,414.1;实验值,414.5。

[0861] 步骤2:N-[4-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]乙酰基]氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0862] 

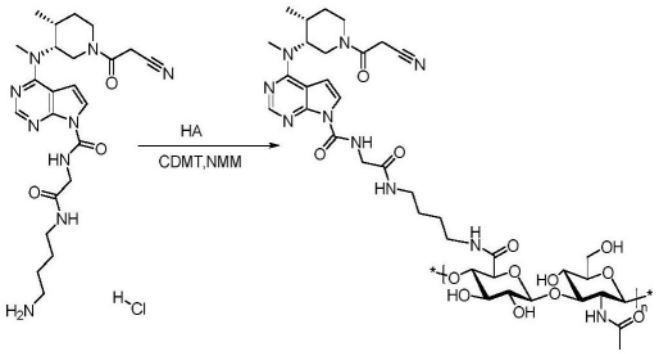
[0863] 将2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]乙酸(619.5mg,1.5mmol)、N-Boc-1,4-丁二胺(423mg,2.25mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,431.3mg,2.25mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,303.7mg,2.25mmol)溶解于二氯甲烷(10mL)中并且添加三乙胺(0.62mL,4.5mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100～1:40)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.65g,产率:74%)。MS(m/z):$C_{28}H_{41}N_9O_5$的[M+H]+计算值,584.32;实验值,584.2。^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 9.92(t,J=5.2Hz,1H),8.32(d,J=5.8Hz,1H),8.07(t,J=5.4Hz,1H),7.63(d,J=4.0Hz,1H),6.79(d,J=26.3Hz,2H),4.86(s,1H),4.16-3.89(m,4H),3.86-3.54(m,2H),3.43-3.33(m,2H),3.28(s,3H),3.03(t,J=19.0Hz,2H),2.88(d,J=5.7Hz,2H),2.38(s,1H),1.72(dt,J=78.7,27.2Hz,3H),1.45-1.18(m,12H),1.00(d,J=7.1Hz,3H).

[0864] 步骤3:N-[2-(4-氨基丁基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0865] 

[0866] 遵循实施例1中的步骤2,N-[4-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯(0.3g,0.51mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.26g,产率:98%)。MS(m/z):$C_{23}H_{33}N_9O_3$的[M+H]+计算值,484.27;实验值,484.3。^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 9.90(s,1H),8.34(d,J=6.7Hz,1H),8.21(s,1H),7.91(s,2H),7.66(s,1H),6.84(s,1H),4.85(s,1H),4.13-3.66(m,7H),3.39(s,1H),3.28(s,1H),3.10(d,J=5.3Hz,2H),2.70(d,J=37.4Hz,2H),2.34(d,J=27.1Hz,2H),1.77(d,J=41.2Hz,1H),1.55-1.39(m,4H),1.15(t,J=7.1Hz,2H),1.00(d,J=6.5Hz,3H).

[0867] 步骤4:N-[2-(4-氨基丁基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0868] 

[0869] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,101mg,0.25mmol)和N-[2-(4-氨基丁基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(130mg,0.25mmol)提供标题化合物(0.102g,产率:45%,DSR:40%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-7.85(m,0.4H),7.63-7.18(m,0.4H),6.83-6.31(m,0.4H),4.58-4.28(m,2.4H),4.15-2.90(m,16H),2.43-2.10(m,0.8H),2.06-1.69(m,4.4H),1.59-1.37(m,1.2H),1.19-0.87(m,0.8H).

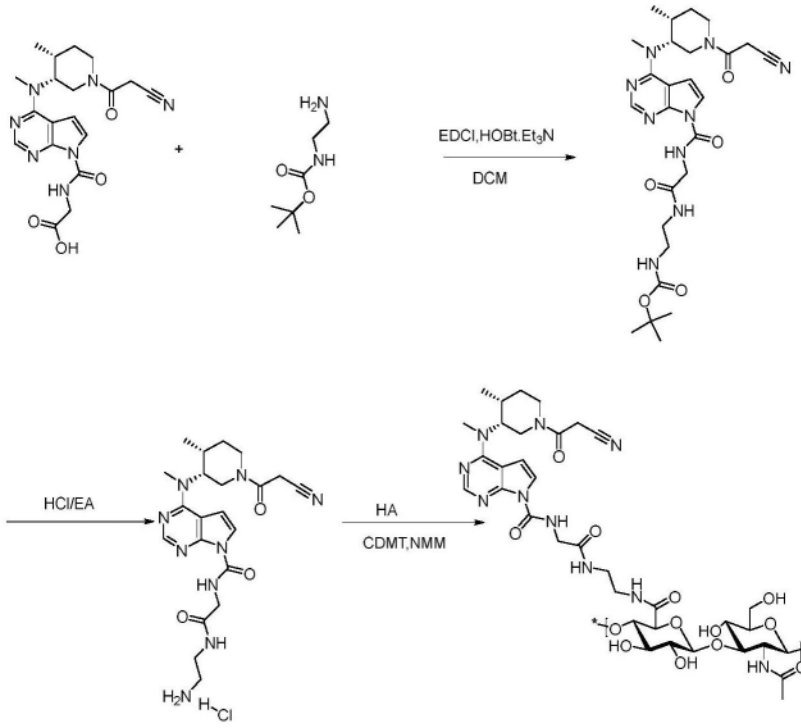
[0870] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.092g,产率:40.6%,DSR:26%)。

[0871] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.143g,产率:63%,DSR:21%)。

[0872] 实施例43

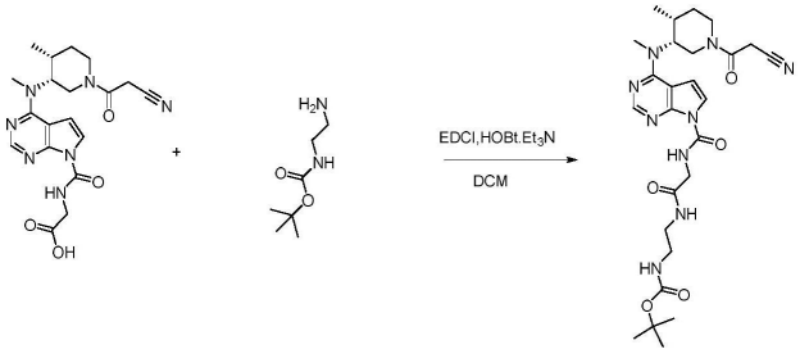
[0873] N-[2-(2-氨基乙基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0874]



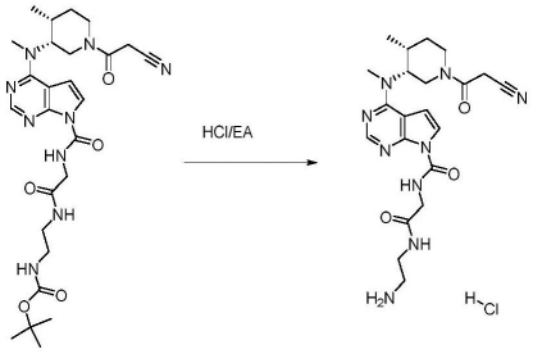
[0875] 步骤1:N-[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0876]



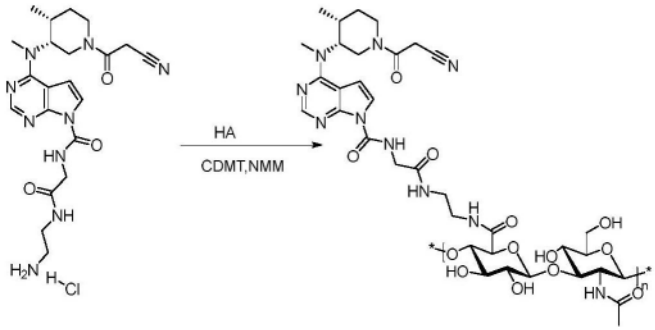
[0877] 将2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(1239mg,3mmol)、N-Boc-乙二胺(721mg,4.5mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,863mg,4.5mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,607.5mg,4.5mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)中并且添加三乙胺(1.25mL,9mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100~1:60)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.1g,产率:66%)。MS(m/z):$C_{26}H_{37}N_9O_5$的[M+H]+计算值,556.29;实验值,556.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.37-10.14(m,1H),8.31(d,J=6.3Hz,1H),7.76-7.54(m,1H),7.03(t,J=18.4Hz,1H),6.59(d,J=3.9Hz,1H),5.13(s,1H),5.01(s,1H),4.26-4.11(m,2H),4.09-3.72(m,2H),3.67-3.46(m,4H),3.42-3.33(m,5H),3.28(dd,J=10.8,5.5Hz,2H),2.50(ddd,J=18.5,12.3,6.0Hz,1H),2.09-1.84(m,1H),1.83-1.72(m,1H),1.54-1.30(m,9H),1.09(dd,J=11.8,7.1Hz,3H).

[0878] 步骤2:N-[2-(2-氨基乙基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0879] 

[0880] 遵循实施例1中的步骤2,N-[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(0.89g,1.6mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.78g,产率:99%)。MS(m/z):$C_{21}H_{29}N_9O_3$的[M+H]+计算值,456.23;实验值,456.2。

[0881] 步骤3:N-[2-(2-氨基乙基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0882] 

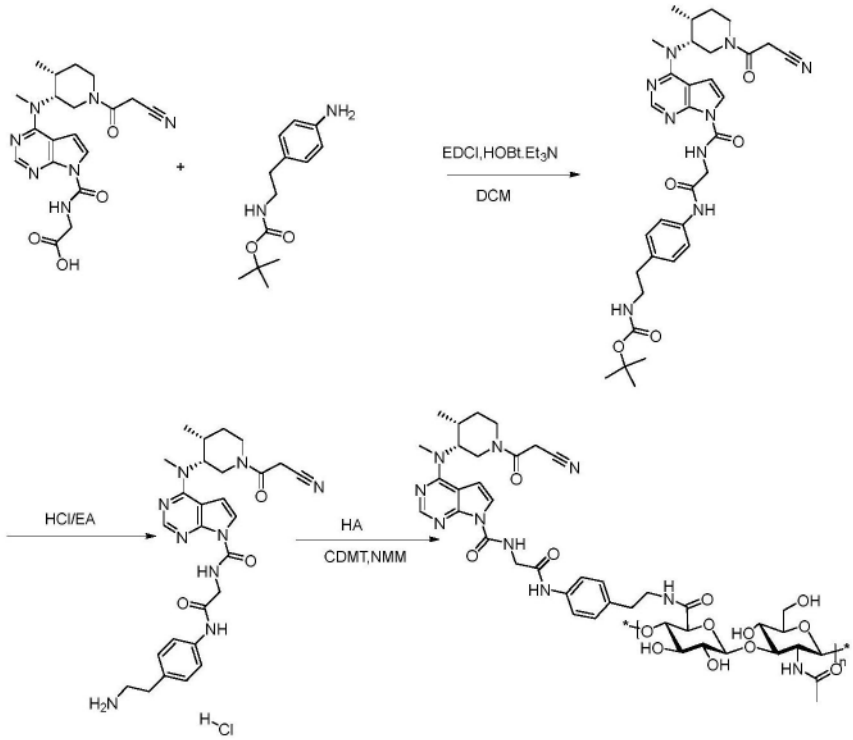
[0883] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,152.7mg,0.379mmol)和N-[2-(2-氨基乙基氨基)-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.379mmol)提供标题化合物(0.165g,产率:47.7%,DSR:40%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-7.82(m,0.4H),7.60-7.26(m,0.4H),6.77-6.26(m,0.4H),4.60-4.21(m,2.4H),4.08-2.99(m,16H),2.42-2.18(m,0.4H),2.04-1.55(m,3.8H),1.06-0.85(m,1.2H).

[0884] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.173g,产率:50%,DSR:28%)。

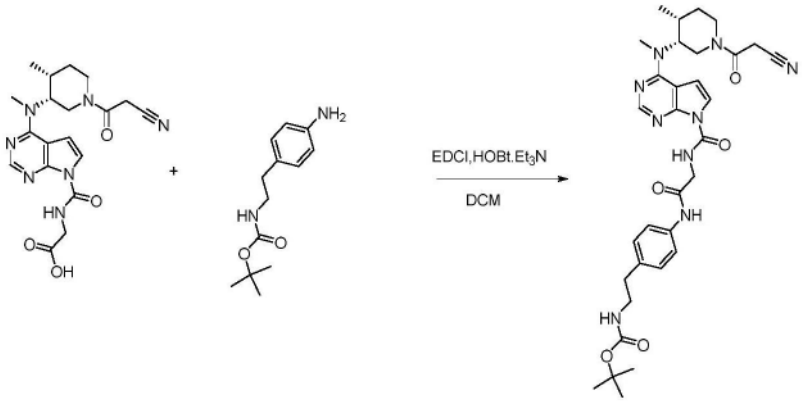
[0885] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.18g,产率:52%,DSR:40%)。

[0886] 实施例44

[0887] N-[2-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0888] 

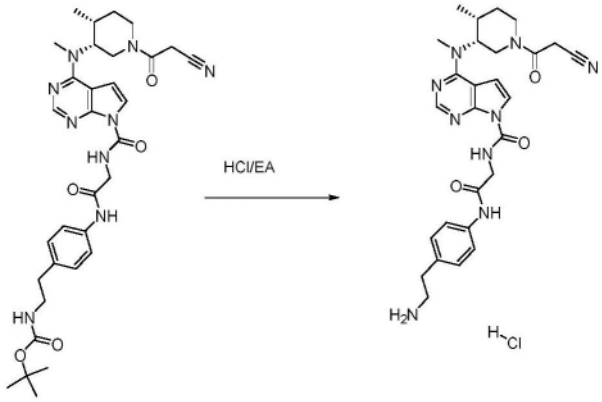
[0889] 步骤1:N-[2-[4-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]苯基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0890] 

[0891] 将2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(1652mg,4mmol)、4-氨基苯乙基氨基甲酸叔丁酯(1418mg,6mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,1151mg,6mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,810mg,6mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)中并且添加三乙胺(1.665mL,12mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:150~1:100)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.77g,产率:70%)。MS(m/z):$C_{32}H_{41}N_9O_5$的[M+H]+计算值,632.32;实验值,632.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.59-10.19(m,1H),8.30(dd,J=17.1,7.1Hz,2H),7.67(dd,J=13.2,4.0Hz,1H),7.49(t,J=11.3Hz,2H),7.13(d,J=8.2Hz,2H),6.61(t,J=4.7Hz,1H),5.13(s,1H),4.54(s,1H),4.38-4.23(m,2H),4.13-3.72(m,2H),3.68-3.44(m,4H),3.42-3.24(m,5H),2.75(t,J=6.8Hz,2H),2.50(ddd,J=

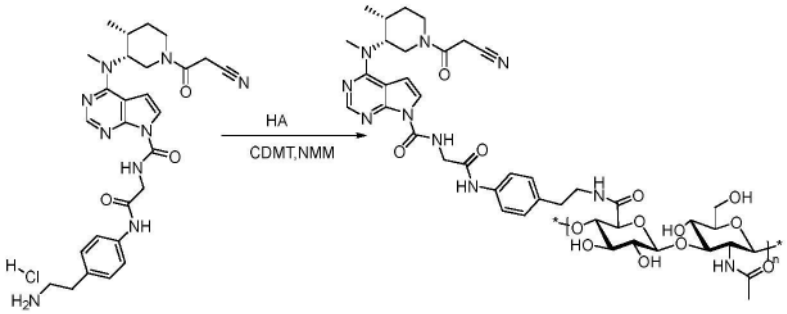
19.1,11.9,5.6Hz,1H),2.08-1.83(m,1H),1.83-1.64(m,1H),1.43(s,9H),1.09(t,J＝8.2Hz,3H).

[0892] 步骤2:N-[2-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0893] 

[0894] 遵循实施例1中的步骤2,N-[2-[4-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]苯基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(1.48g,2.345mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1.3g,产率:97.7%).MS(m/z):$C_{27}H_{33}N_9O_3$的[M+H]+计算值,532.27;实验值,532.2。

[0895] 步骤3:N-[2-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0896] 

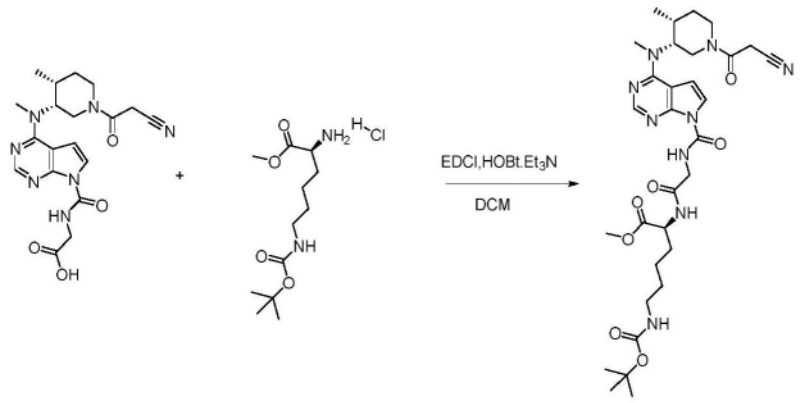
[0897] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,133.4mg,0.331mmol)和N-[2-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-2-氧代-乙基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.331mmol)提供标题化合物(0.136g,产率:41.5%,DSR:20%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.33-8.06(m,0.2H),7.68-7.50(m,0.2H),7.48-7.13(m,0.8H),6.85-6.67(m,0.2H),4.59-4.23(m,2.2H),4.07-2.84(m,12.8H),2.46-2.22(m,0.4H),2.05-1.70(m,3.2H),1.21-1.25(mz,0.2H),1.07-0.90(m,0.6H).

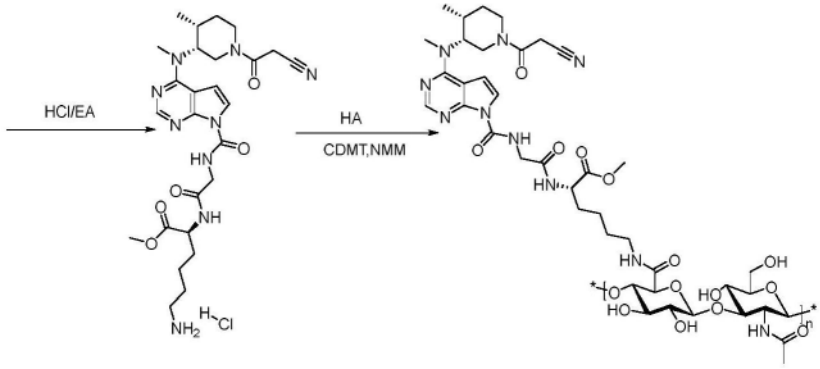
[0898] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.158g,产率:48.2%,DSR:22%)。

[0899] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.146g,产率:44.5%,DSR:16%)。

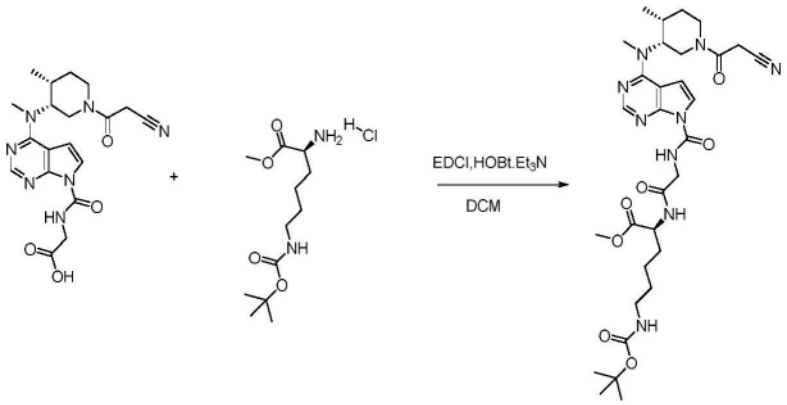
[0900] 实施例45

[0901] (2S)-6-氨基-2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯与HA的缀合物的制备

[0902] 



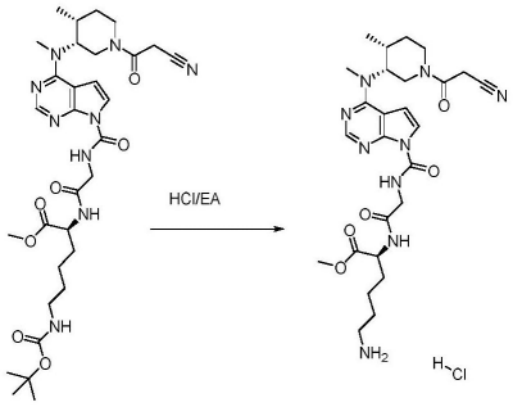
[0903] 步骤1:(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯的制备

[0904] 

[0905] 将2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(1239mg,3mmol)、6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(1336mg,4.5mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,863mg,4.5mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,608mg,4.5mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)中并且添加三乙胺(2.1mL,15mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:150~1:80)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.638g,产率:83.3%)。MS(m/z):$C_{31}H_{45}N_9O_7$的[M+H]+计算值,656.34;实验值,656.1。^{1}H NMR(400MHz,

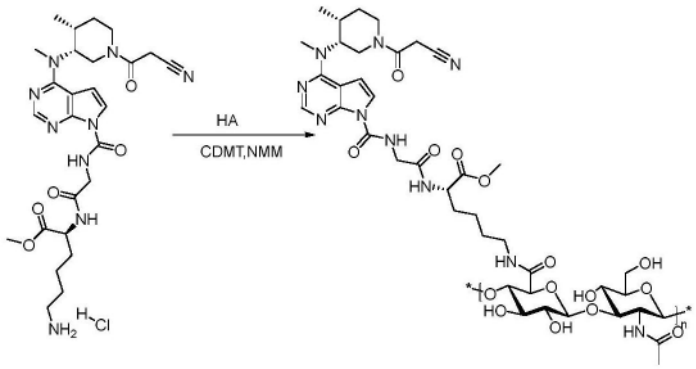
$CDCl_3$)δppm 10.36(dd,J＝12.6,7.1Hz,1H),8.33(d,J＝9.1Hz,1H),7.72(dd,J＝12.9,4.0Hz,1H),6.72(d,J＝7.8Hz,1H),6.61(t,J＝4.2Hz,1H),5.14(s,1H),4.63(dt,J＝33.6,16.8Hz,2H),4.19(t,J＝14.2Hz,2H),4.11-3.76(m,2H),3.73(s,3H),3.66-3.57(m,1H),3.55-3.39(m,3H),3.36(s,2H),3.17-2.98(m,2H),2.59-2.41(m,1H),2.03-1.84(m,2H),1.83-1.68(m,2H),1.53-1.39(m,11H),1.39-1.26(m,3H),1.09(dd,J＝12.3,7.1Hz,3H).

[0906] 步骤2:(2S)-6-氨基-2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[0907] 

[0908] 遵循实施例1中的步骤2,(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯(1.4g,2.137mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1.26g,产率:99.6%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{26}H_{37}N_9O_5$的[M+H]+计算值,556.29;实验值,556.2。

[0909] 步骤3:(2S)-6-氨基-2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯与HA的缀合物的制备

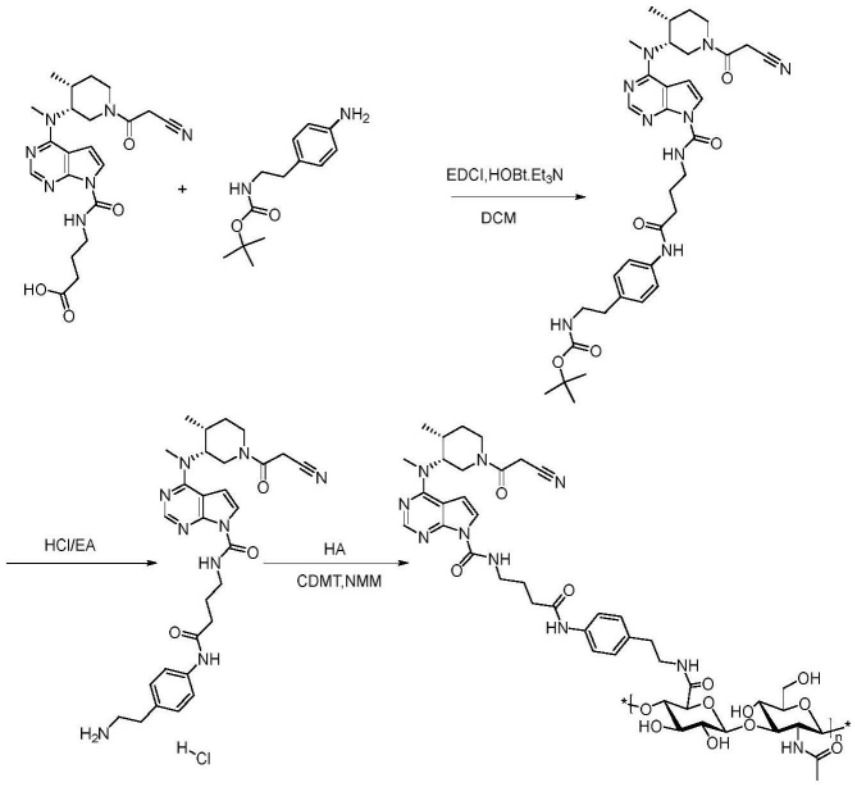
[0910] 

[0911] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,128.2mg,0.318mmol)和(2S)-6-氨基-2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐(200mg,0.318mmol)提供标题化合物(0.131g,产率:40.6%,DSR:30%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.27-7.99(m,0.3H),7.64-7.33(m,0.3H),6.82-6.51(m,0.3H),4.58-4.30(d,J＝28.8Hz,2.3H),4.10-2.99(m,14.5H),2.41-2.27(m,0.3H),2.09-1.58(m,4.8H),1.53-1.29(m,0.9H),1.25-0.93(m,0.9H).

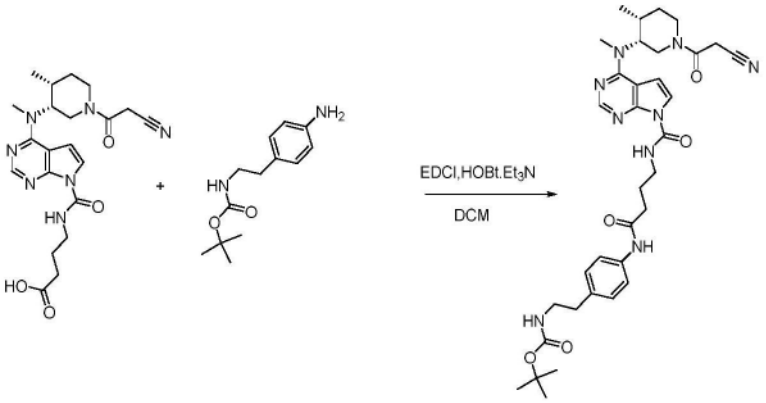
[0912] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.134g,产率:41.5%,DSR:20%)。

[0913] 实施例46

[0914] N-[4-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0915] 

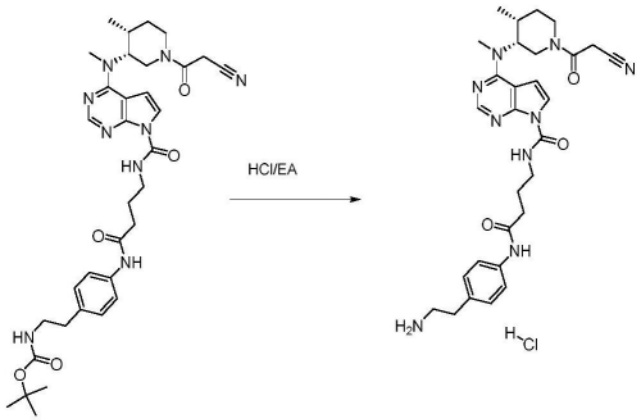
[0916] 步骤1:N-[2-[4-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]苯基]乙基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[0917] 

[0918] 将4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(1764mg,4mmol)、4-氨基苯乙基氨基甲酸叔丁酯(1418mg,6mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,1151mg,6mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,810mg,6mmol)溶解于二氯甲烷(40mL)中并且添加三乙胺(1.66mL,12mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将

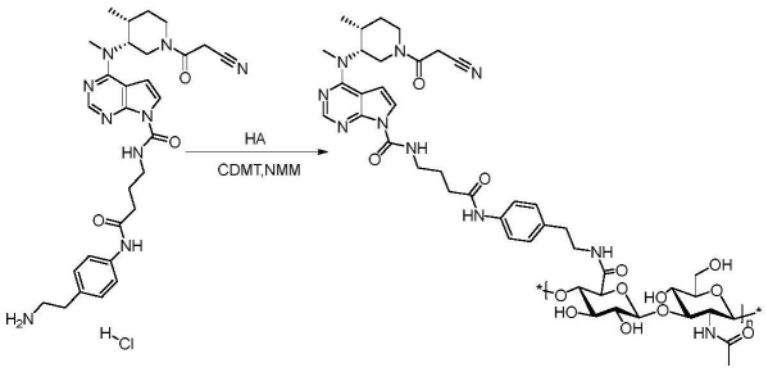
有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:150~1:100)纯化粗残余物,以提供标题化合物(2.02g,产率:76.6%)。MS(m/z):$C_{34}H_{45}N_9O_5$的[M+H]+计算值,660.35;实验值,660.3。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm10.00(dd,J=14.1,8.0Hz,1H),8.48(d,J=26.6Hz,1H),8.28(d,J=9.5Hz,1H),7.73(dd,J=10.8,4.0Hz,1H),7.54(d,J=8.3Hz,2H),7.13(d,J=8.1Hz,2H),6.60(t,J=4.6Hz,1H),5.14(s,1H),4.56(s,1H),4.12-3.71(m,2H),3.62(t,J=9.0Hz,3H),3.48(s,3H),3.35(d,J=8.6Hz,5H),2.76(t,J=6.8Hz,2H),2.60-2.35(m,3H),2.14-2.04(m,2H),2.02-1.84(m,1H),1.84-1.68(m,1H),1.43(s,9H),1.10(dd,J=12.0,7.1Hz,3H).

[0919] 步骤2:N-[4-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0920] 

[0921] 遵循实施例1中的步骤2,N-[2-[4-[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酰基氨基]苯基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(1.73g,2.625mmol)提供呈白色固体的标题化合物(1.56g,产率:99.8%)。MS(m/z):$C_{29}H_{37}N_9O_3$的[M+H]+计算值,560.30;实验值,560.1。

[0922] 步骤3:N-[4-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0923] 

[0924] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,127.3mg,0.316mmol)和N-[4-[4-(2-氨基乙基)苯胺基]-4-氧代-丁基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.316mmol)提供标题化合物(0.154g,产率:47.8%,DSR:33%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.10-7.85(m,0.33H),7.54-7.32(m,0.33H),7.24-6.81(m,1.32H),6.68-6.42(m,0.33H),4.59-4.21(m,2.33H),4.04-

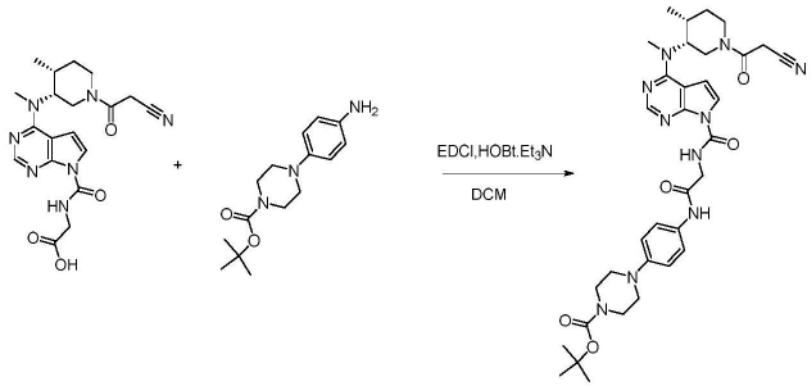
2.92(m,14.29H),2.73-2.63(m,0.66H),2.50-2.23(m,0.99H),2.11-1.56(m,3.99H),1.30-1.16(m,0.33H),1.13-0.87(m,0.99H).

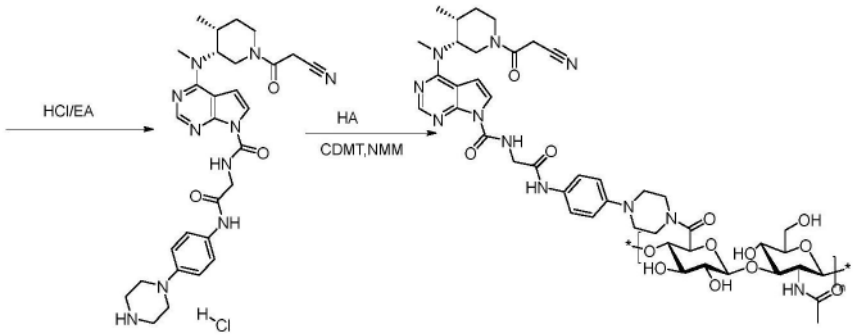
[0925] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.136g,产率:42.2%,DSR:18%)。

[0926] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.158g,产率:49.1%,DSR:17%)。

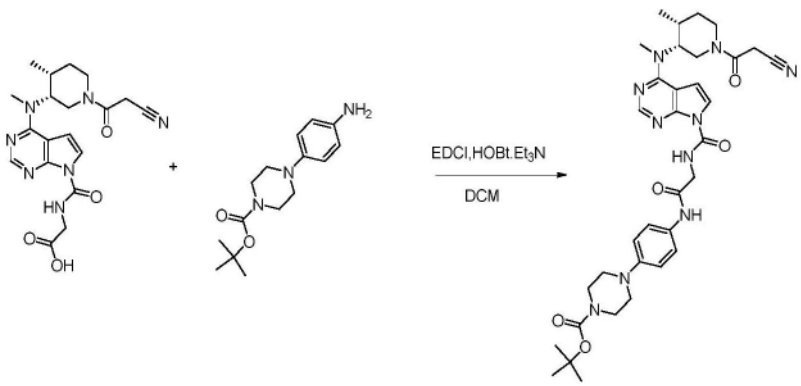
[0927] 实施例47

[0928] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-(4-哌嗪-1-基苯胺基)乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0929] 



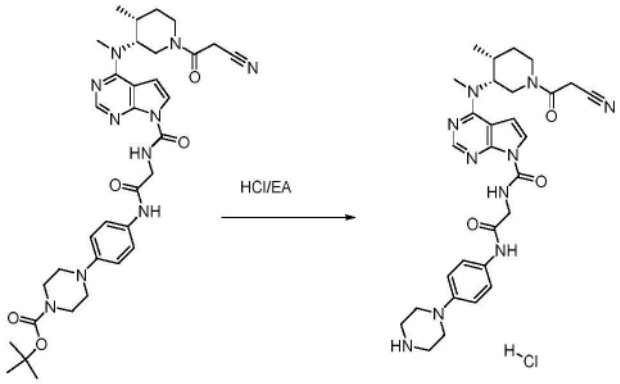
[0930] 步骤1:4-[4-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]苯基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯的制备

[0931] 

[0932] 将2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(619.5mg,1.5mmol)、4-(4-氨基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(624mg,2.25mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,431.3mg,2.25mmol)

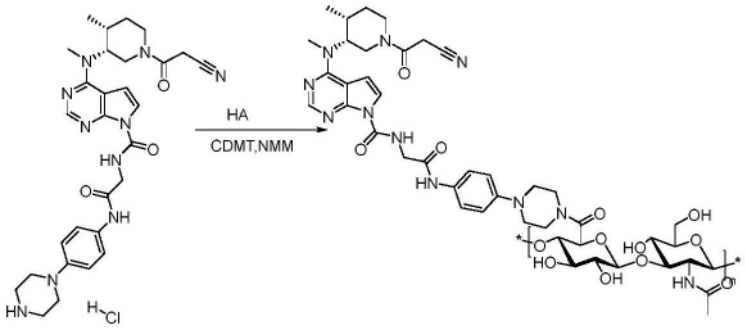
和1-羟基苯并三唑(HOBt,304mg,2.25mmol)溶解于二氯甲烷(20mL)中并且添加三乙胺(0.624mL,4.5mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100～1:50)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.55g,产率:54.5%)。MS(m/z):$C_{34}H_{44}N_{10}O_5$的[M+H]+计算值,673.34;实验值,673.3。MS(m/z):$C_{34}H_{44}N_{10}O_5$的[M+H]+计算值,673.34;实验值,673.3。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.45(dd,J=13.6,7.8Hz,1H),8.33(d,J=9.1Hz,1H),8.07(d,J=10.2Hz,1H),7.69(dd,J=12.1,4.0Hz,1H),7.43(d,J=8.9Hz,2H),6.88(d,J=8.9Hz,2H),6.62(t,J=4.3Hz,1H),5.14(s,1H),4.30(d,J=5.8Hz,2H),4.11-3.74(m,2H),3.68-3.43(m,8H),3.38(d,J=20.1Hz,3H),3.10(dd,J=28.1,23.2Hz,4H),2.60-2.39(m,1H),2.01-1.84(m,1H),1.83-1.66(m,1H),1.48(s,9H),1.09(t,J=8.5Hz,3H).

[0933] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-(4-哌嗪-1-基苯胺基)乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0934] 

[0935] 遵循实施例1中的步骤2,4-[4-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]苯基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.48g,0.714mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.43g,产率:99%)。MS(m/z):$C_{29}H_{36}N_{10}O_{31}$的[M+H]+计算值,573.29;实验值,573.2。

[0936] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-(4-哌嗪-1-基苯胺基)乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[0937] 

[0938] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,99.54mg,0.247mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-(4-哌嗪-1-基苯胺基)乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(150mg,0.247mmol)提供标题化合物(0.121g,产率:49%,DSR:25%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.27-8.09(m,0.25H),7.62-

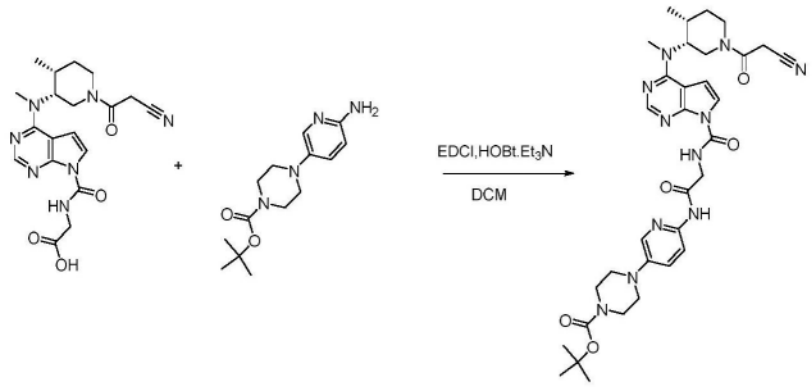
6.96(m,0.25H),6.79-6.64(m,0.25H),4.57-4.24(m,2.15H),4.09-2.77(m,14.25H),2.41-2.31(m,0.25H),2.16-1.45(m,4.25H),1.24-1.12(m,0.25H),1.07-0.78(m,0.75H).

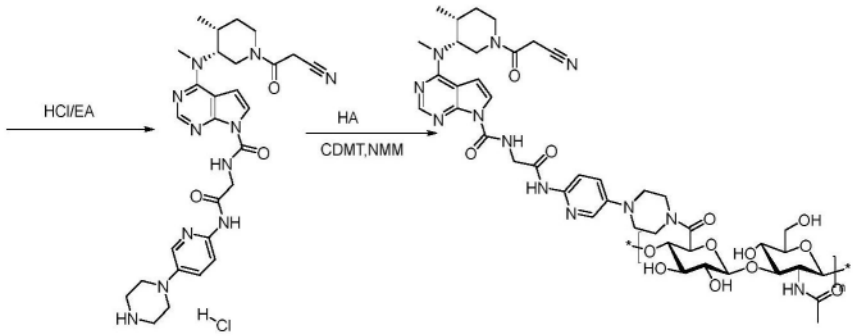
[0939] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.107g,产率:43.6%,DSR:35%)。

[0940] 实施例48

[0941] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-[(5-哌嗪-1-基-2-吡啶基)氨基]乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

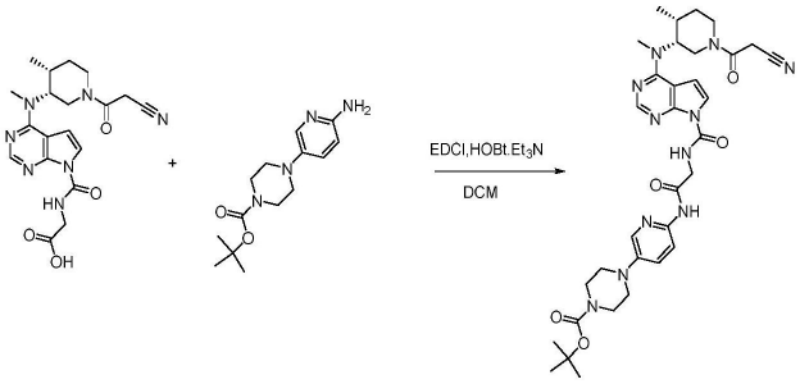
[0942]





[0943] 步骤1:4-[6-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]-3-吡啶基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯的制备

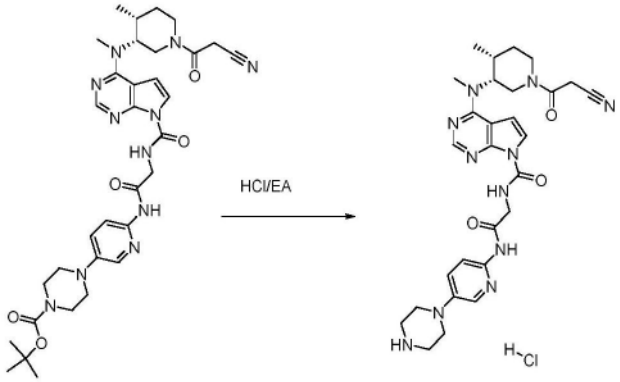
[0944]



[0945] 将2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(619.5mg,1.5mmol)、4-(6-氨基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(626mg,2.25mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,431.3mg,2.25mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,304mg,2.25mmol)溶解于二氯甲烷(20mL)中并且添加三乙胺(0.624mL,4.5mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用二氯甲烷稀释并

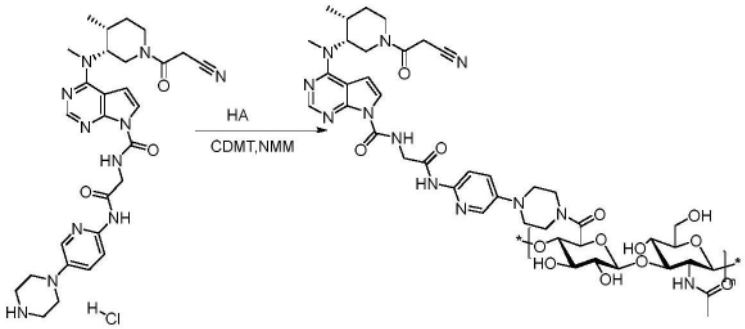
且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100～1:50)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.4g,产率:39.6%)。MS(m/z):$C_{33}H_{43}N_{11}O_5$的[M+H]+计算值,674.34;实验值,674.3。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.54-10.40(m,1H),8.55(d,J=20.7Hz,1H),8.34(d,J=14.9Hz,1H),8.12(t,J=8.1Hz,1H),7.93(d,J=2.8Hz,1H),7.70(d,J=4.1Hz,1H),7.33-7.28(m,1H),6.62(d,J=3.7Hz,1H),5.15(s,1H),4.33(d,J=17.0Hz,2H),4.14-3.77(m,2H),3.73-3.45(m,8H),3.39(d,J=18.0Hz,3H),3.18-2.99(m,4H),2.52(dd,J=16.9,10.4Hz,1H),2.01-1.85(m,1H),1.83-1.69(m,1H),1.48(s,9H),1.10(dd,J=12.7,7.1Hz,3H).

[0946] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-[(5-哌嗪-1-基-2-吡啶基)氨基]乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[0947] 

[0948] 遵循实施例1中的步骤2,4-[6-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]-3-吡啶基]哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.36g,0.535mmol)提供呈白色固体的标题化合物(0.32g,产率:98%)。MS(m/z):$C_{28}H_{35}N_{11}O_3$的[M+H]+计算值,574.29;实验值,574.3。

[0949] 步骤3:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-[(5-哌嗪-1-基-2-吡啶基)氨基]乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

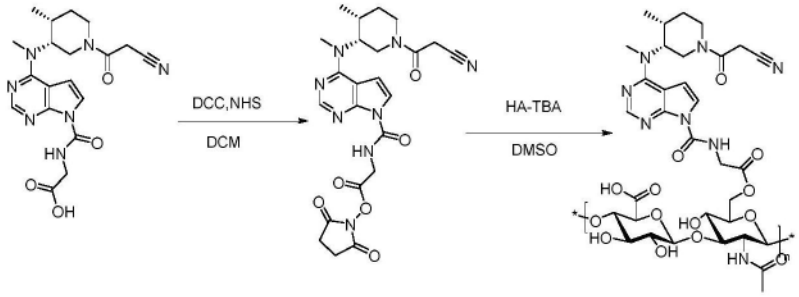
[0950] 

[0951] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,99.14mg,0.246mmol)和4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]-N-[2-氧代-2-[(5-哌嗪-1-基-2-吡啶基)氨基]乙基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(150mg,0.246mmol)提供标题化合物(0.126g,产率:52.5%,DSR:22%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.07(m,0.22H),8.01-7.82(m,0.22H),7.71-7.40(m,0.44H),6.81-6.57(m,0.22H),4.64-4.28(m,2.22H),4.20-2.73(m,13.74H),2.42-2.32(m,0.22H),2.20-1.54(m,3.44H),1.09-0.78(m,0.66H).

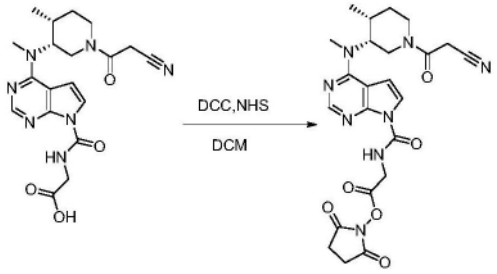
[0952] 在实施例1中的步骤3的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.116g,产率:48.3%,DSR:26%)。

[0953] 实施例49

[0954] 2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸与HA的缀合物的制备

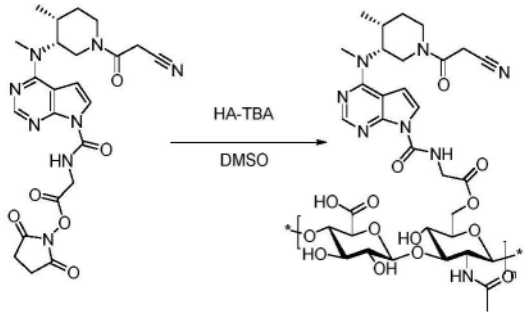
[0955] 

[0956] 步骤1:2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(2,5-二氧吡咯烷-1-基)酯的制备

[0957] 

[0958] 将N,N-二环己基碳二亚胺(494.4mg,2.4mmol)于二氯甲烷(20mL)中的溶液在冰浴下缓慢添加到2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(826mg,2mmol)和1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(276mg,2.4mmol)于二氯甲烷(20mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物过滤并且然后在减压下浓缩以提供标题化合物(1g,产率:98%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{23}H_{26}N_8O_6$的[M+H]+计算值,511.19;实验值,511.1。

[0959] 步骤2:2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸与HA的缀合物的制备

[0960] 

[0961] 将透明质酸钠转化为TBA透明质酸。将强酸性离子交换树脂Amberlite 732添加到透明质酸钠水溶液中并且在室温下搅拌混合物持续8小时。将溶液过滤,并且随后用四丁基氢氧化铵(TBA-OH)水溶液中和滤液。将所得水溶液立即冷冻并且冻干成透明质酸的TBA盐(HA-TBA)。

[0962] 在0～15℃下将三乙胺(0.12mL,0.875mmol)缓慢添加到透明质酸的TBA盐(HA-TBA,331mg,0.5mmol)于无水DMSO(20mL)中的搅拌混合物中。然后在0～15℃将含2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酸(2,5-二氧吡咯烷-1-基)酯(255mg,0.5mmol)的无水DMSO(20mL)添加到反应混合物中。在室温下搅拌反应混合物持续16小时。然后将2.5wt％氯化钠溶液(7mL)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(250mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V＝3:1)。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(MW截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。透明质酸钠MW 10kDa MW 0.17g,产率:43.9％,DSR:20％);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.12(m,0.2H),7.62-7.46(m,0.2H),6.80-6.67(m,0.2H),4.54-4.18(m,2.2H),4.09-2.94(m,12.2H),2.41-2.38(m,0.2H),2.12-1.58(m,3.4H),1.09-0.87(m,0.6H).

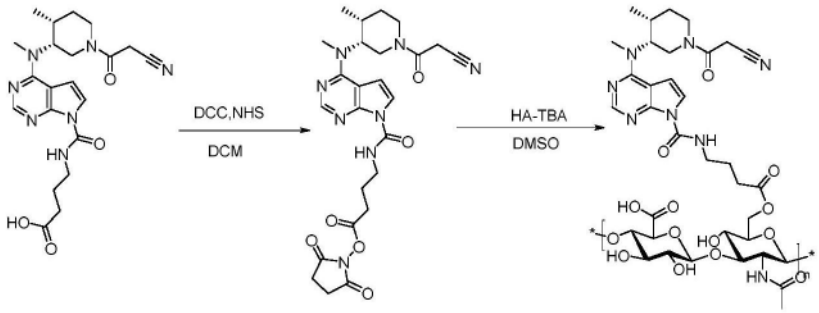
[0963] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 50KDa)的反应提供了对应的产物(0.245g,产率:613.3％,DSR:6％)。

[0964] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.274g,产率:70.8％,DSR:23％)。

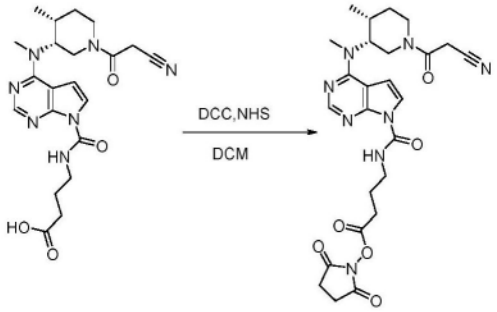
[0965] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.237g,产率:61.2％,DSR:24％)。

[0966] 实施例50

[0967] 4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸与HA的缀合物的制备

[0968] 

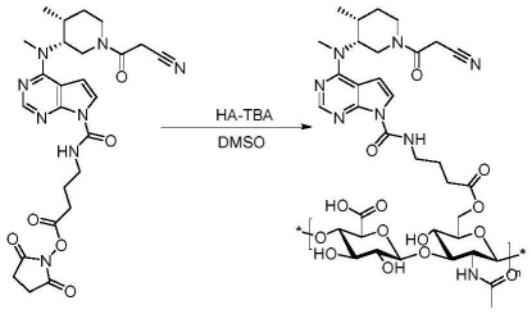
[0969] 步骤1:4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(2,5-二氧吡咯烷-1-基)酯的制备

[0970] 

[0971] 将N,N-二环已基碳二亚胺(494.4mg,2.4mmol)于二氯甲烷(15mL)中的溶液在冰浴下缓慢添加到4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(882mg,2mmol)和1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(276mg,

2.4mmol)于二氯甲烷(25mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物过滤并且然后在减压下浓缩以提供标题化合物(1g,产率:93%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{25}H_{30}N_8O_6$的[M+H]+计算值,538.22;实验值,538.1。

[0972] 步骤2:4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸与HA的缀合物的制备

[0973] 

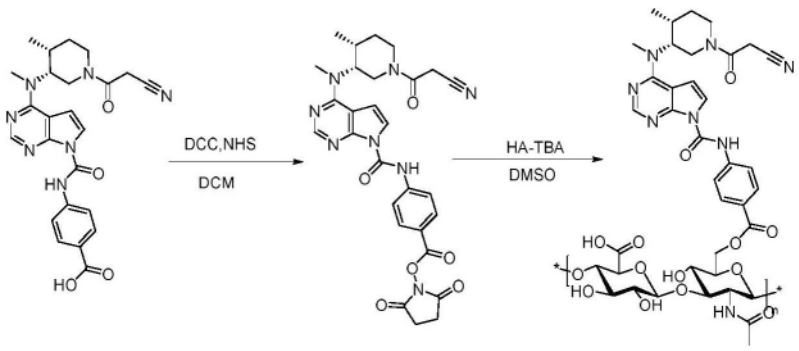
[0974] 在0～15℃将三乙胺(0.12mL,0.875mmol)缓慢添加到透明质酸的TBA盐(HA-TBA,331mg,0.5mmol)于无水DMSO(20mL)中的搅拌混合物中。然后在0～15℃将含4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]丁酸(2,5-二氧吡咯烷-1-基)酯(269mg,0.5mmol)的无水DMSO(20mL)添加到反应混合物中。在室温下搅拌反应混合物持续16小时。然后将7mL的2.5wt%氯化钠溶液添加到反应混合物中,将反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(250mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(MW截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。透明质酸钠MW 10kDa,0.166g,产率:41.3%,DSR:10%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.09(m,0.1H),7.61-7.44(m,0.1H),6.78-6.65(m,0.1H),4.60-4.22(m,2.1H),4.06-2.94(m,11.1H),2.55-2.31(m,0.3H),2.15-1.57(m,3.4.H),1.11-0.86(m,0.3H).透明质酸钠MW 50kDa,0.181g,产率:45.1%,DSR:14%。

[0975] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.263g,产率:65.5%,DSR:5%)。

[0976] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.17g,产率:42.3%,DSR:7%)。

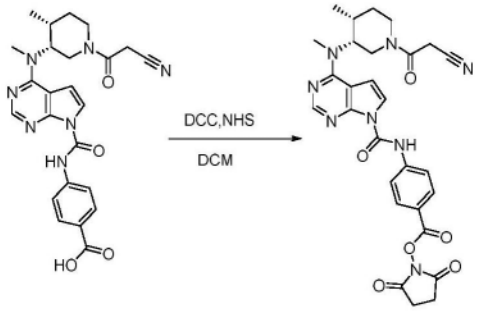
[0977] 实施例51

[0978] 4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸与HA的缀合物的制备

[0979] 

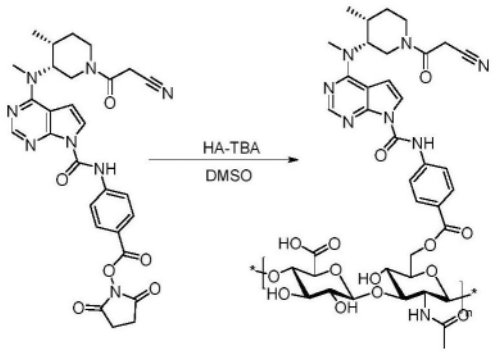
[0980] 步骤1:4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡

咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(2,5-二氧吡咯烷-1-基)酯的制备

[0981] 

[0982] 将N,N-二环已基碳二亚胺(494.4mg,2.4mmol)于二氯甲烷(20mL)中的溶液在冰浴下缓慢添加到4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(950mg,2mmol)和1-羟基吡咯烷-2,5-二酮(276mg,2.4mmol)于二氯甲烷(40mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物在室温下搅拌16小时。将反应混合物过滤并且然后在减压下浓缩以提供标题化合物(1.1g,产率:96%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{28}H_{28}N_8O_6$的[M+H]+计算值,573.21;实验值,573.1。

[0983] 步骤2:4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸与HA的缀合物的制备

[0984] 

[0985] 在0～15℃将三乙胺(0.12mL,0.875mmol)缓慢添加到透明质酸的TBA盐(HA-TBA,331mg,0.5mmol)于无水DMSO(20mL)中的搅拌混合物中。然后在0～15℃将含4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(2,5-二氧吡咯烷-1-基)酯(286mg,0.5mmol)的无水DMSO(20mL)添加到反应混合物中。在室温下搅拌反应混合物持续16小时。然后将7mL的2.5wt%氯化钠溶液添加到反应混合物中,将反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(250mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(MW截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。透明质酸钠MW 10kDa,0.177:42.3%,DSR:10%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.09-7.92(m,0.2H),7.86-7.69(m,0.2H),7.54-7.32(m,0.3H),6.83-6.74(m,0.1H),4.58-4.22(m,2.1H),4.05-3.05(m,10.9H),2.39-2.27(m,0.1H),2.12-1.65(m,3.2H),1.11-0.92(m,0.3H).透明质酸钠MW 50kDa,0.2g,产率:47.8%,DSR:6%。

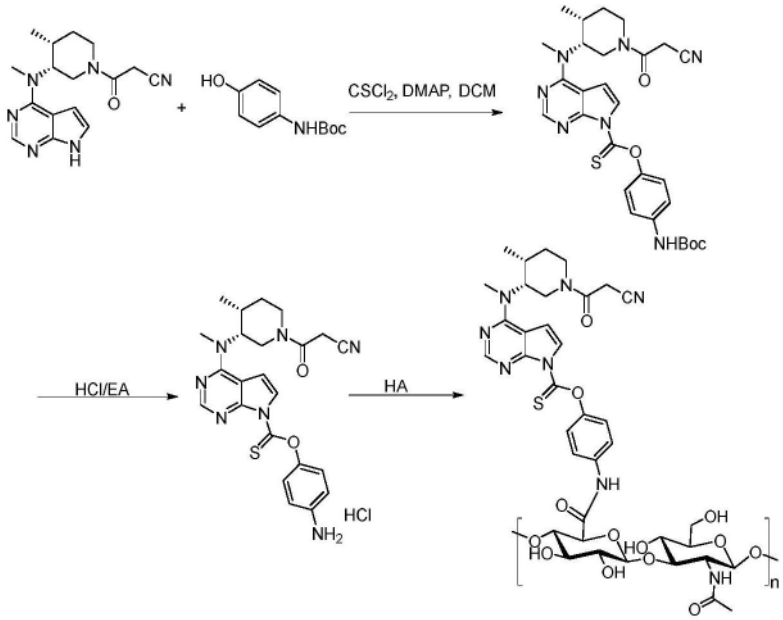
[0986] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 500KDa)的反应提供了对应的产物(0.187g,产率:44.7%,DSR:5%)。

[0987] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.1g,

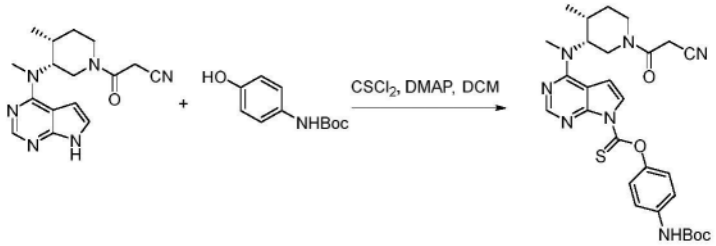
产率:23.9%,DSR:2%)。

[0988] 实施例52

[0989] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(4-氨基苯基)酯与HA的缀合物的制备

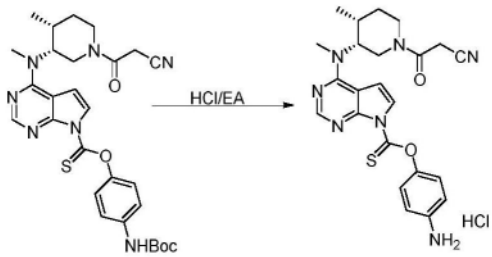
[0990] 

[0991] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)苯基)酯的制备

[0992] 

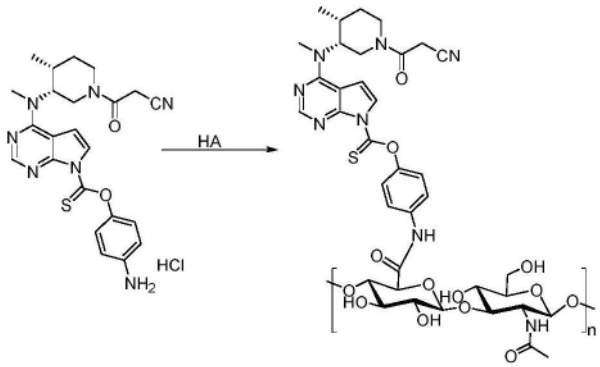
[0993] 在N_2下将硫光气(1.21g,10.5mmol,1.1当量)添加到(4-羟基苯基)氨基甲酸叔丁酯(2g,9.56mmol,1当量)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(2.92g,23.9mmol,2.5当量)于二氯甲烷(40mL,20V)中的混合物中,在室温下将反应混合物搅拌0.5小时。然后向其中添加托法替尼(2.99g,9.56mmol,1当量),在室温下将所得混合物搅拌另外12小时。在大部分托法替尼被消耗后,在减压下去除溶剂,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(1.827g,产率:34%);MS(m/z):$C_{28}H_{33}N_7O_4S$的[M+H]+计算值,564.23;实验值,564.1。

[0994] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(4-氨基苯基)酯盐酸盐的制备

[0995] 

[0996] 遵循实施例1中的步骤2,4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(4-((叔丁氧基羰基)氨基)苯基)酯(1.5g,2.661mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(1.33g,产率:100%);MS(m/z):$C_{23}H_{25}N_7O_2S$的[M+H]+计算值,64.18;实验值,464.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.45-8.30(m,1H),7.66 -7.44(m,2H),7.44-7.22(m,2H),7.09-6.74(m,2H),4.73(s,1H),4.06-3.94(m,3H),3.71-3.17(m,6H),2.56(s,1H),2.03-1.70(m,2H),1.13(dd,J=14.8,6.8Hz,3H).

[0997] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(4-氨基苯基)酯与HA的缀合物的制备

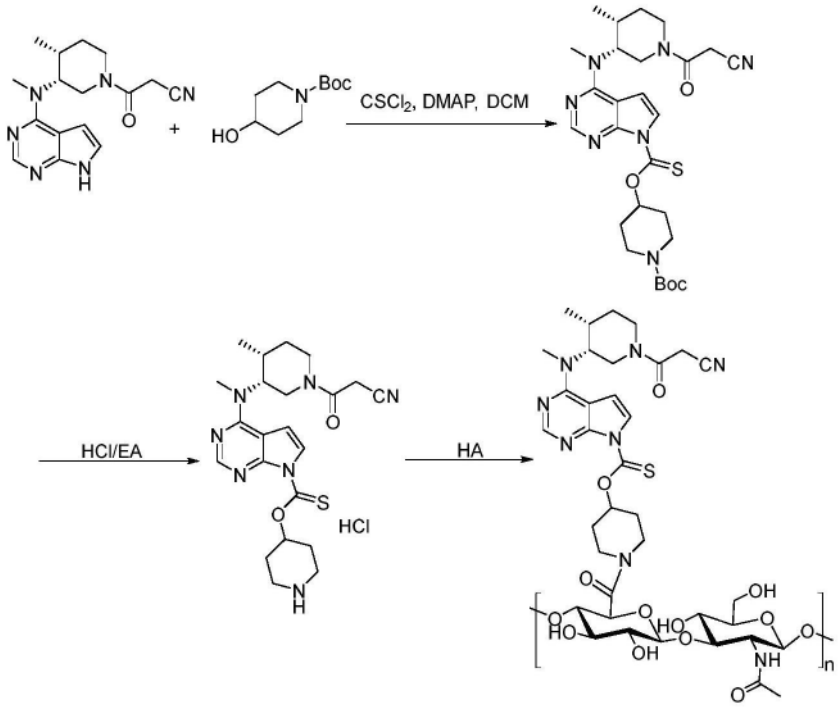
[0998] 

[0999] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.161g,0.4mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(4-氨基苯基)酯盐酸盐(0.2g,0.4mmol,1当量)提供标题化合物(0.15g,产率:45%,DSR=14.3%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 7.7-7.55(m,0.5H),7.35-7.2(m,0.5H),4.6-4.45(m,1.43H),3.85-3.4(m,12H),2.46-2.43(m,0.14H),2.00(s,3.0H),1.9-1.45(m,2.86H),1.3-1.25(m,0.43H).

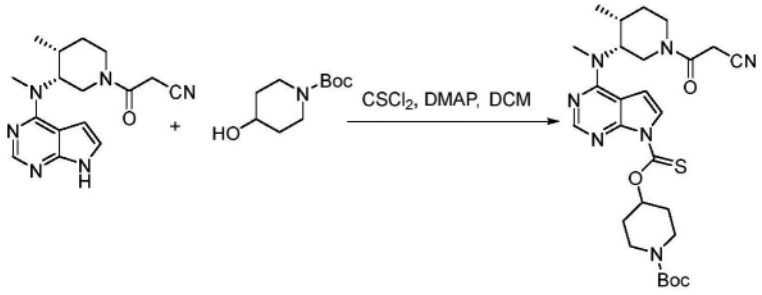
[1000] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.175g,产率:52%,DSR=4.6%)。

[1001] 实施例53

[1002] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(哌啶-4-基)酯与HA的缀合物的制备

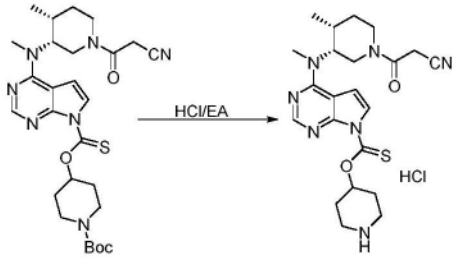
[1003] 

[1004] 步骤1:4-((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[1005] 

[1006] 在N_2下将硫光气(1.26g,10.934mmol,1.1当量)添加到4-羟基哌啶-1-甲酸叔丁酯(2g,9.94mmol,1当量)和N,N-二甲基吡啶-4-胺(3.03g,9.94mmol,2.5当量)于二氯甲烷(40mL,20V)中的混合物中,在室温下将反应混合物搅拌0.5小时。然后向其中添加托法替尼(3.1g,9.94mmol,1当量),在室温下将所得混合物搅拌另外12小时。在大部分托法替尼被消耗后,在减压下去除溶剂,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(1.2g,产率:22%);MS(m/z):$C_{27}H_{37}N_7O_4S$的[M+H]+计算值,556.26;实验值,556.2。

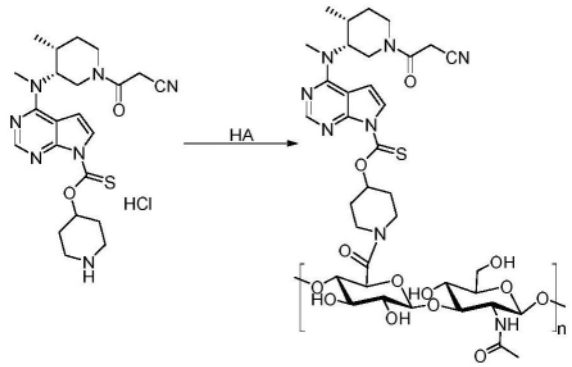
[1007] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(哌啶-4-基)酯盐酸盐的制备

[1008] 

[1009] 遵循实施例1中的步骤2,4-((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-

基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酰基)氧基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1g,1.8mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.885g,产率:100%);MS(m/z):$C_{22}H_{29}N_7O_2S$的[M+H]+计算值,456.21;实验值,456.1。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.49(d,J=9.7Hz,1H),8.00(s,1H),7.03(s,1H),5.93(br,1H),5.03(s,1H),4.15-4.0(m,1H),3.79 -3.31(m,11H),3.29-3.05(m,1H),2.52(br,1H),2.45-2.28(m,4H),2.0-1.7(m,3H),1.11(dd,J=17.1,7.1Hz,3H).

[1010] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(哌啶-4-基)酯与HA的缀合物的制备

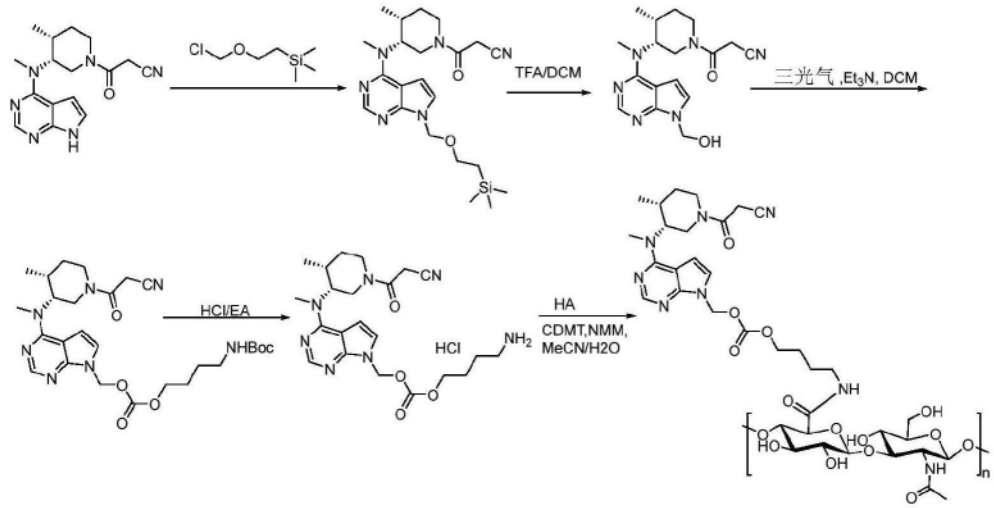
[1011] 

[1012] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.164g,0.406mmol,1当量)和4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-硫代碳酸O-(哌啶-4-基)酯盐酸盐(0.2g,0.406mmol,1当量)提供标题化合物(0.17g,产率:34%,DSR=12.6%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppmδ8.25-7.0(m,0.22H),7.0-6.5(m,0.08H),5.95-5.49(m,0.08H),4.45-4.25(m,1.26H),3.8-2.9(m,12.63H),2.33(br,0.13H),1.88(s,3H),1.81-1.72(m,0.51H),1.23-1.07(m,0.25H),0.99-0.82(m,0.38H).

[1013] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.192g,产率:56.6%,DSR=4.6%)。

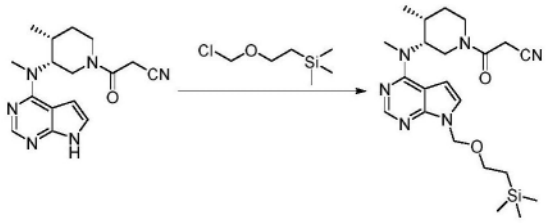
[1014] 实施例54

[1015] ((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基)碳酸4-氨基丁酯与HA的缀合物的制备

[1016] 

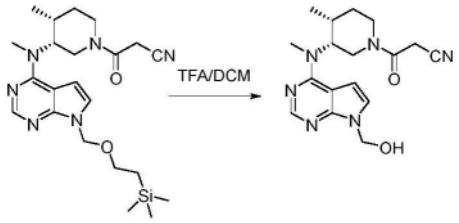
[1017] 步骤1:3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-

7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈的制备

[1018] 

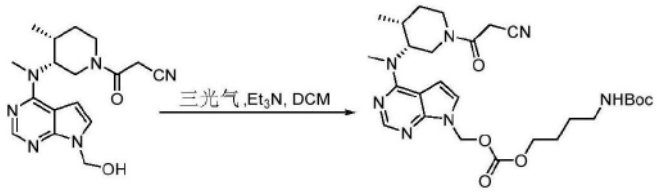
[1019] 在N_2下将DIP乙酸乙酯(3.745g,28.81mmol,1当量)添加到托法替尼(9g,28.81mmol,1当量)于二氯甲烷(180mL,20V)中的混合物中,在室温下将反应混合物搅拌0.5小时。然后向其中添加(2-(氯甲氧基)乙基)三甲基硅烷(4.8g,28.81mmol,1当量),在室温下将所得混合物搅拌过夜。在大部分托法替尼被消耗后,在减压下去除溶剂,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(9g,产率:71%);MS(m/z):$C_{22}H_{34}N_6O_2Si$的[M+H]+计算值,443.25;实验值,443.2。

[1020] 步骤2:3-((3R,4R)-3-((7-(羟甲基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈的制备

[1021] 

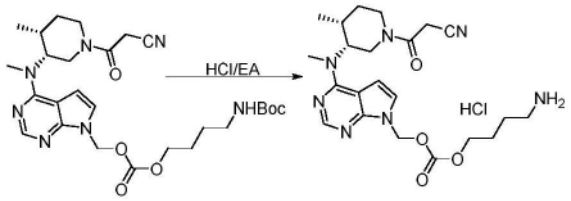
[1022] 在0℃下在N_2下将TFA(6.44g,56.5mmol,5当量)逐滴添加到3-((3R,4R)-4-甲基-3-(甲基(7-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基)哌啶-1-基)-3-氧代丙腈(5g,11.3mmol,1当量)于二氯甲烷(100mL,20V)中的混合物中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟,使其温热到室温,然后在此温度下搅拌24小时。在大部分S.M被消耗后,向上述溶液中添加$NaHCO_3$(饱和水溶液),以在0℃下将pH调整到8。然后将混合物倒入分液漏斗并分离。用NaCl(饱和水溶液)洗涤有机相,经Na_2SO_4干燥并且然后浓缩以得到标题产物(3.5g,产率:90%);MS(m/z):$C_{17}H_{22}N_6O_2$的[M+H]+计算值,343.18;实验值,343.1。

[1023] 步骤3:(4-((((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲氧基)羰基)氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1024] 

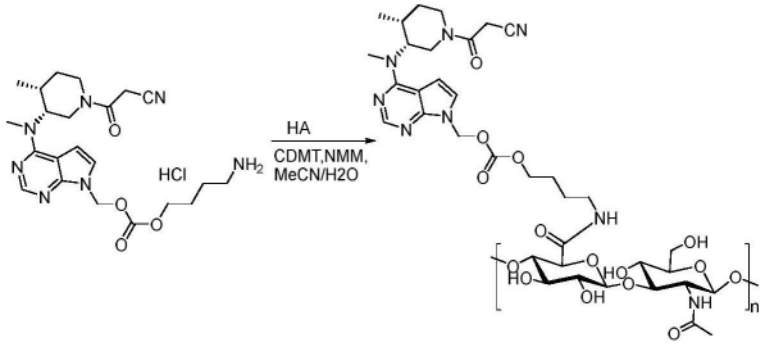
[1025] 遵循实施例1中的步骤1,3-((3R,4R)-3-((7-(羟甲基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈(1g,2.92mmol,1当量)和(4-羟丁基)氨基甲酸叔丁酯(1g,2.92mmol,1当量)产生标题产物(0.85g,产率:52%);MS(m/z):$C_{27}H_{39}N_7O_6$的[M+H]+计算值,558.30;实验值,558.2。

[1026] 步骤4:((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基)碳酸4-氨基丁酯盐酸盐的制备

[1027] 

[1028] 遵循实施例1中的步骤2,(4-((((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲氧基)羰基)氧基)丁基)氨基甲酸叔丁酯(0.85g,1.524mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.753mg,产率:100%);MS(m/z):$C_{22}H_{31}N_7O_4$的[M+H]+计算值,458.24;实验值,458.1。^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD)δppm 8.41(s,1H),7.64(d,J=3.7Hz,1H),7.01(d,J=3.4Hz,1H),6.28(s,2H),4.69(s,1H),4.21-3.40(m,11H),2.95(t,J=6.8Hz,1H),2.56(br,1H),2.05(br,1H),1.87 -1.66(m,5H),1.23-1.14(m,3H).

[1029] 步骤5:((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基)碳酸4-氨基丁酯与HA的缀合物的制备

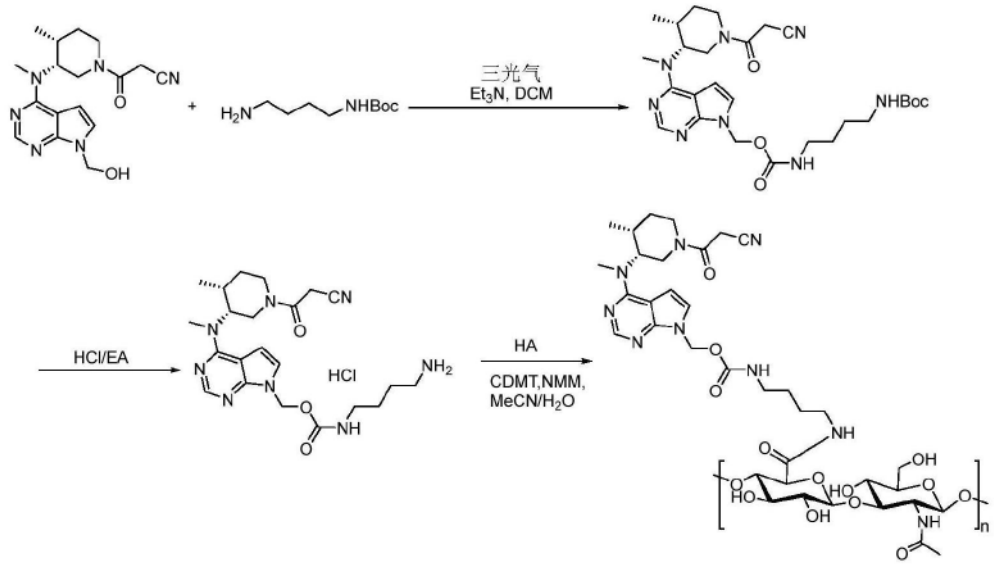
[1030] 

[1031] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.161g,0.4mmol,1当量)和((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基)碳酸4-氨基丁酯盐酸盐(0.2g,0.4mmol,1当量)提供标题化合物(0.18g,产率:56%,DSR=21%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.2-7.9(m,0.21H),7.3-7.0(m,0.21H),6.8-6.3(m,0.21H),6.1-5.1(m,0.42H),4.45(d,J=27.3Hz,2.84H),3.8-3.3(m,12H),2.40(br,0.21H),1.97(s,3H),1.65-1.45(m,0.94H),1.25(t,J=6.9Hz,0.21H),1.05-0.75(m,0.7H).

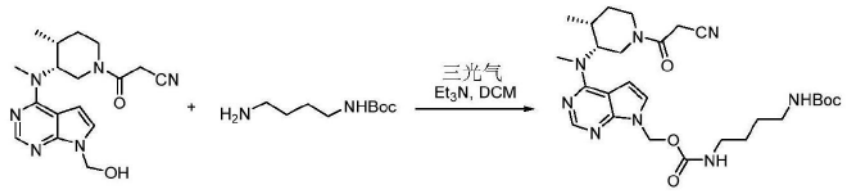
[1032] 在此步骤的情况下,TBA透明质酸(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.172g,产率:47.6%,DSR=14%)。

[1033] 实施例55

[1034] (4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基(4-氨基丁基)氨基甲酸酯与HA的缀合物的制备

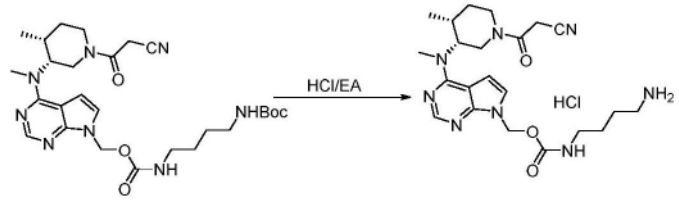
[1035] 

[1036] 步骤1:((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基)丁烷-1,4-二基二氨基甲酸叔丁酯的制备

[1037] 

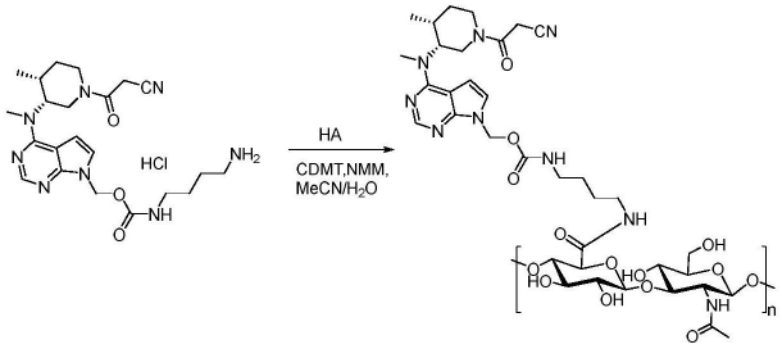
[1038] 遵循实施例1中的步骤1,3-((3R,4R)-3-((7-(羟甲基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈(0.6g,1.75mmol,1当量)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(0.587g,1.928mmol,1.1当量)和(4-氨基丁基)氨基甲酸叔丁酯(0.33g,1.75mmol,1当量)产生标题产物(0.878g,产率:90%);m/z(ESI):557.31[M+H]$^+$。MS(m/z):$C_{27}H_{40}N_8O_5$的[M+H]+计算值,557.31;实验值,557.2。

[1039] 步骤2:(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基(4-氨基丁基)氨基甲酸酯盐酸盐的制备

[1040] 

[1041] 遵循实施例1中的步骤2,((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基)丁烷-1,4-二基二氨基甲酸叔丁酯(0.8g,1.44mmol,1当量)产生呈HCl盐的所期望产物(0.7g,产率:100%);MS(m/z):$C_{22}H_{32}N_8O_3$的[M+H]+计算值,457.25;实验值,457.2。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.33(t,J=6.7Hz,1H),7.52(dd,J=17.0,3.7Hz,1H),6.88(d,J=9.3Hz,1H),6.17(d,J=24.8Hz,2H),4.58(s,1H),4.10-3.81(m,3H),3.68-3.16(m,5H),3.16-2.88(m,5H),2.56(br,1H),2.0-1.97(m,1H),1.83-1.72(m,1H),1.67-1.49(m,4H),1.13(dd,J=14.9,7.0Hz,3H).

[1042] 步骤3:(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基(4-氨基丁基)氨基甲酸酯与HA的缀合物的制备

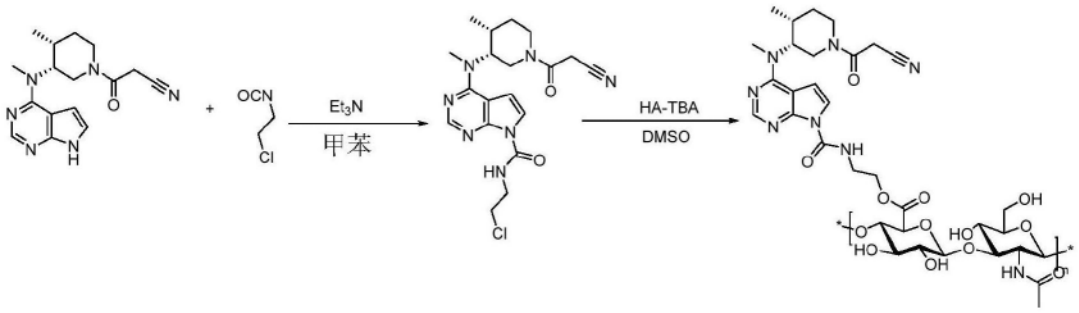
[1043] 

[1044] 遵循实施例1中的步骤3,透明质酸钠(MW 50KDa,0.161g,0.4mmol,1当量)和(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)甲基(4-氨基丁基)氨基甲酸4-氨基丁酯盐酸盐(0.2g,0.4mmol,1当量)提供标题化合物(0.17g,产率:50%,DSR=6%);^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.15-7.95(m,0.06H),7.27(br,0.06H),6.68(br,0.06H),6.1-5.9(m,0.12H),4.40(d,2H),3.93-3.11(m,10.8H),2.37(br,0.06H),2.01-1.79(s,3H),1.6-1.5(m,0.36H),1.0-0.9(m,0.18H).

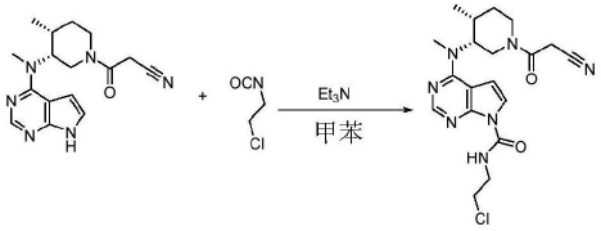
[1045] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.150g,产率:44.9%,DSR=8%)。

[1046] 实施例56

[1047] N-(2-氯乙基)-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1048] 

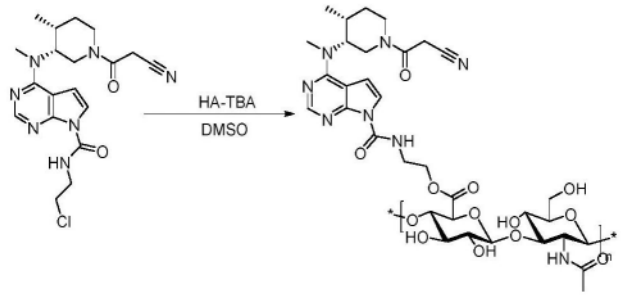
[1049] 步骤1:N-(2-氯乙基)-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺的制备

[1050] 

[1051] 将三乙胺(0.558mL,8mmol)添加到托法替尼(1.245g,4mmol)于甲苯(50mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到50℃。然后将2-氯乙基异氰酸酯(1688mg,16mmol)添加到反应混合物中。将反应混合物在室温下搅拌4小时。然后将反应混合物过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100~1:20)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.2g,71.9%)。MS(m/z):$C_{19}H_{24}ClN_7O_2$的[M+H]+计算值,418.16;实验值,418.1。

[1052] 步骤2:N-(2-氯乙基)-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲

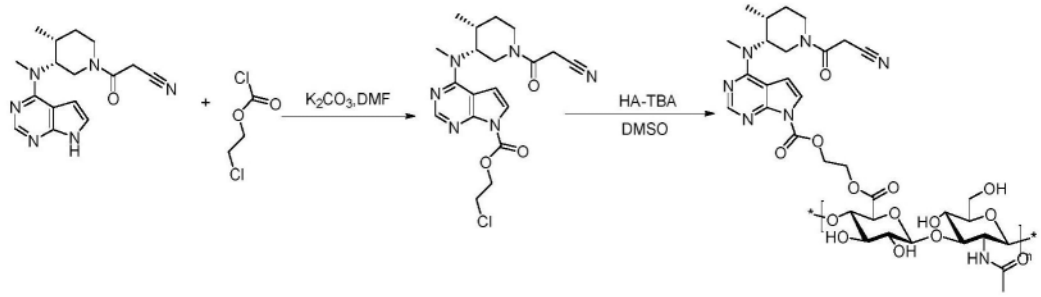
基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1053] 

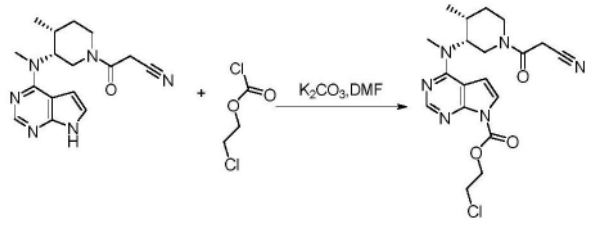
[1054] 将N-(2-氯乙基)-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺(209mg,0.5mmol)于无水DMSO(2mL)中的溶液缓慢添加到透明质酸的TBA盐(HA-TBA,331mg,0.5mmol,透明质酸钠MW 50kDa)于无水DMSO(20mL)中的搅拌混合物中。在室温下将反应混合物搅拌7天并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在40mL的去离子水中。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(MW截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。透明质酸钠MW 50kDa,0.177g,产率:42.3%,DSR:10%;^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 8.29-8.17(m,0.1H),7.68-7.54(m,0.1H),6.82-6.68(m,0.1H),4.63-4.28(m,2.1H),4.23-3.17(m,11.3H),2.44-2.33(m,0.1H),2.14-1.58(m,3.2H),1.47-1.36(m,0.1H),1.28-1.17(m,0.1H),1.11-0.89(m,0.3H).

[1055] 实施例57

[1056] 4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-氯乙酯与HA的缀合物的制备

[1057] 

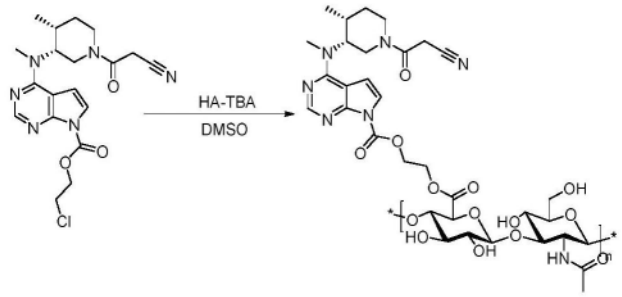
[1058] 步骤1:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-氯乙酯的制备

[1059] 

[1060] 将2-氯乙基氯甲酸酯(0.1mL,1mmol)添加到托法替尼(156mg,0.5mmol)和K_2CO_3(138mg,1mmol)于无水DMF(2mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物在室温下搅拌30分钟。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100~1:50)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.08g,40%)。MS(m/z):$C_{19}H_{23}ClN_6O_3$的[M+H]+计算值,419.15;实验值,419.3。

[1061] 步骤2:4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并

[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-氯乙酯与HA的缀合物的制备

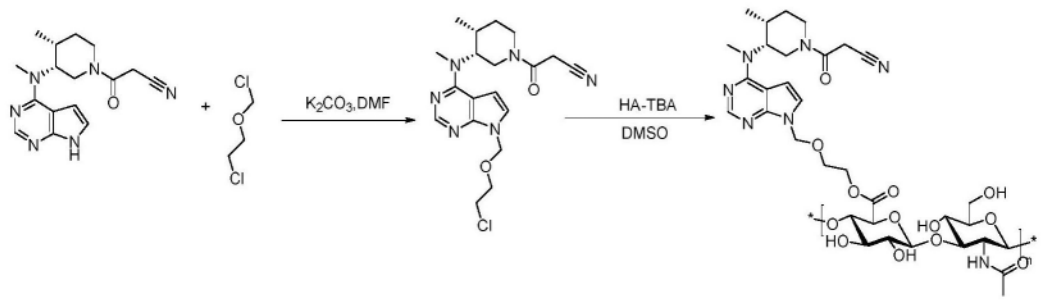
[1062] 

[1063] 将4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-氯乙酯(209mg,0.5mmol)于无水DMSO(2mL)中的溶液缓慢添加到透明质酸的TBA盐(HA-TBA,MW 500kDa;331mg,0.5mmol,透明质酸钠MW 50kDa)于无水DMSO(20mL)中的搅拌混合物中。在室温下将反应混合物搅拌7天并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在40mL的去离子水中。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(MW截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。0.28g,产率:73.5%,DSR:25%;^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.21-7.99(m,0.25H),7.57-7.10(m,0.25H),6.83-6.57(m,0.25H),4.54-4.31(m,2.25H),4.09-2.73(m,12.75H),2.39-2.23(m,0.25H),2.02-1.50(m,3.75H),1.32-1.21(m,0.25H),1.00-0.79(m,0.75H).

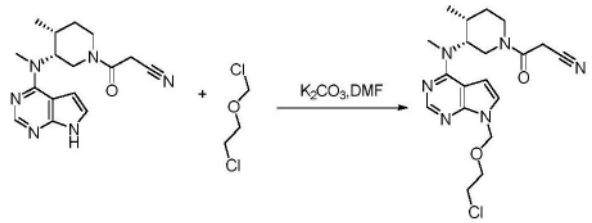
[1064] 在此步骤的情况下,HA-TBA(透明质酸钠MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.18g,产率:47.2%,DSR=20%)。^{1}H-NMR

[1065] 实施例58

[1066] 3-[(3R,4R)-3-[[7-(2-氯乙氧基甲基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]-4-甲基-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈与HA的缀合物的制备

[1067] 

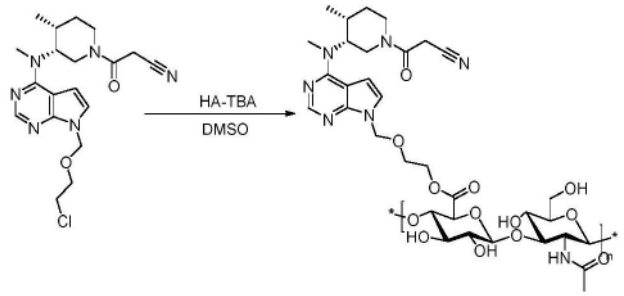
[1068] 步骤1:3-[(3R,4R)-3-[[7-(2-氯乙氧基甲基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]-4-甲基-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈的制备

[1069] 

[1070] 将2-氯甲氧基乙基氯化物(142mg,1.1mmol)添加到托法替尼(156mg,0.5mmol)和K_2CO_3(138mg,1mmol)于无水DMF(2mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物在室温下搅拌1小时。将溶液用二氯甲烷稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/二氯甲烷=1:100~1:50)纯化粗残余物,以提

供标题化合物(0.11g,55%)。MS(m/z):$C_{19}H_{25}ClN_6O_2$的[M+H]+计算值,405.17;实验值,405.3。

[1071] 步骤2:3-[(3R,4R)-3-[[7-(2-氯乙氧基甲基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]-4-甲基-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈与HA的缀合物的制备

[1072] 

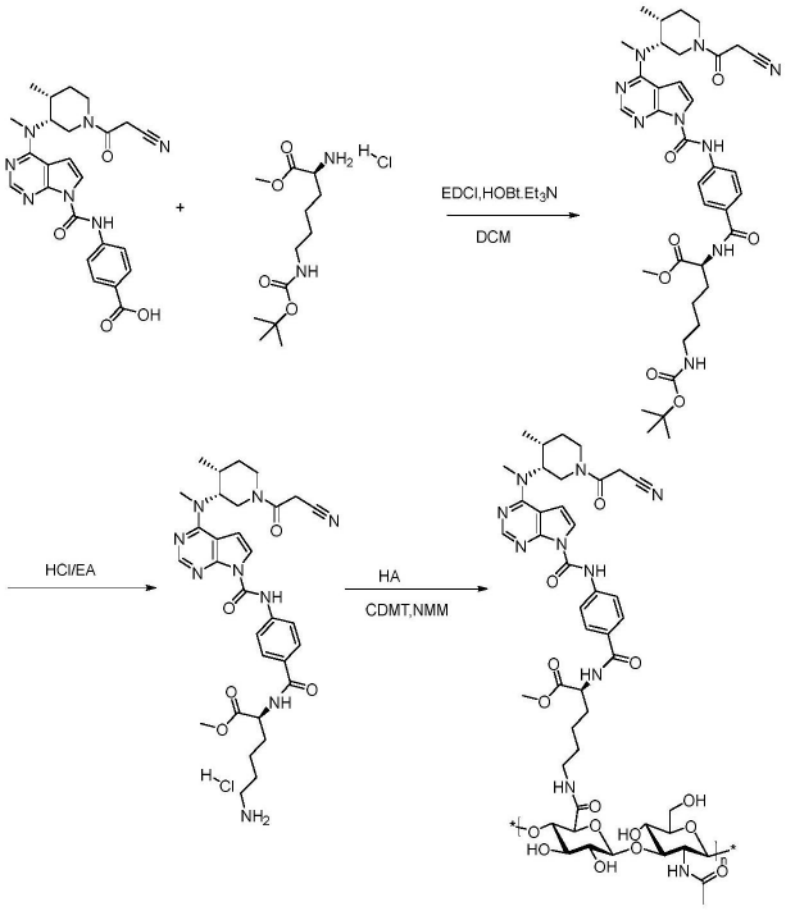
[1073] 将3-[(3R,4R)-3-[[7-(2-氯乙氧基甲基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]-4-甲基-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(202mg,0.5mmol)于无水DMSO(2mL)中的溶液缓慢添加到透明质酸的TBA盐(HA-TBA,331mg,0.5mmol,透明质酸钠MW 50kDa)于无水DMSO(20mL)中的搅拌混合物中。在室温下将反应混合物搅拌4天并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在40mL的去离子水中。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(MW截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。0.28g,产率:74.9%,DSR:10%;^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 8.28-8.14(m,0.1H),7.67-7.56(m,0.1H),6.82-6.68(m,0.1H),4.66-4.28(m,2.1H),4.23-3.17(m,11.3H),2.44-2.33(m,0.1H),2.19-1.55(m,3.2H),1.47-1.36(m,0.1H),1.28-1.17(m,0.1H),1.11-0.89(m,0.3H).

[1074] 在此步骤的情况下,HA-TBA(透明质酸钠MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.175g,产率:46.8%,DSR=35%)。

[1075] 实施例59

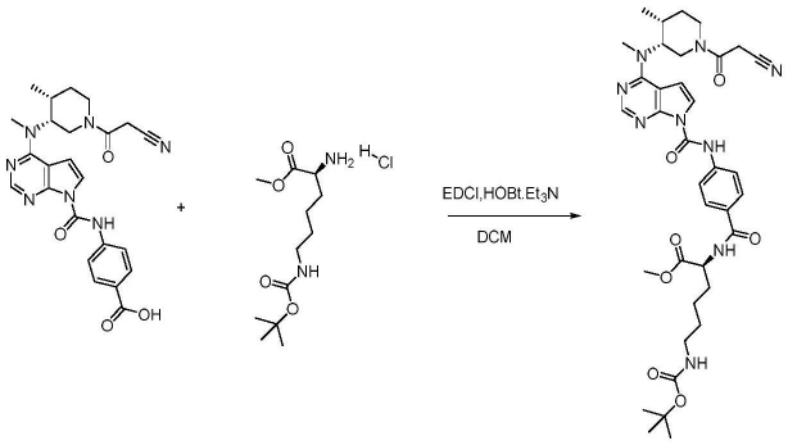
[1076] HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]-己酸甲酯之间的缀合物的制备

[1077]



[1078] 步骤1:(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]己酸甲酯的制备

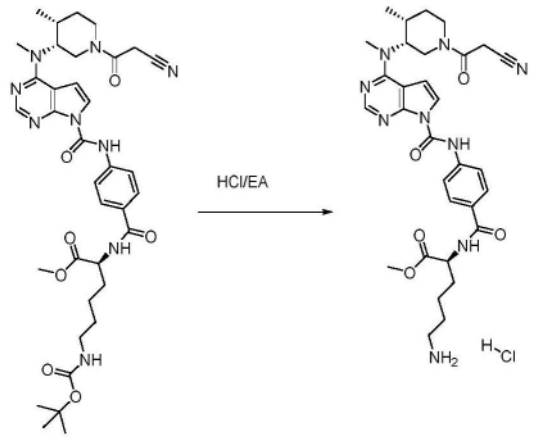
[1079]



[1080] 4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(950mg,2mmol)、6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(890mg,3mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,575mg,3mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,405mg,3mmol)溶解于DCM(40mL)中并且添加三乙胺(1.39mL,10mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/DCM=1:150~1:80)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.1g,产率:76.7%)。MS(m/z):$C_{36}H_{47}N_9O_7$的[M+

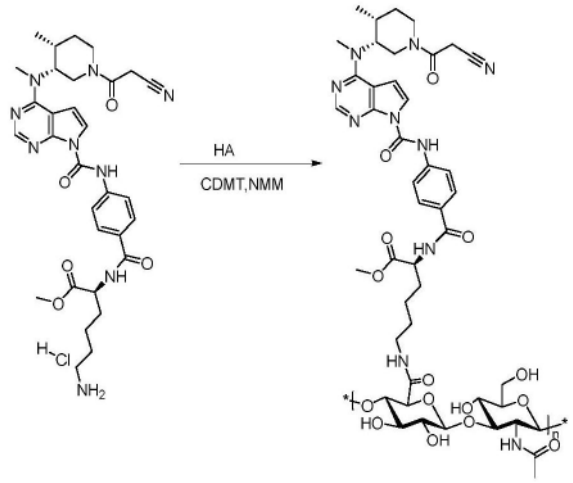
H]+计算值,718.35;实验值,718.3。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm12.29(d,J=30.5Hz,1H),8.39(d,J=8.5Hz,1H),7.87(d,J=8.6Hz,2H),7.78(dd,J=10.8,6.4Hz,3H),6.85-6.70(m,1H),6.66(d,J=3.7Hz,1H),5.11(d,J=23.2Hz,1H),4.89-4.74(m,1H),4.62(s,1H),4.09(dd,J=13.0,3.8Hz,1H),3.95-3.70(m,4H),3.66-3.45(m,4H),3.39(d,J=14.1Hz,3H),3.13(d,J=6.0Hz,2H),2.60-2.43(m,1H),2.06-1.91(m,2H),1.91-1.75(m,2H),1.59-1.49(m,2H),1.40(d,J=19.4Hz,11H),1.27(d,J=12.0Hz,1H),1.10(t,J=7.0Hz,3H).

[1081] 步骤2:(2S)-6-氨基-2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[1082] 

[1083] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(4mL)在冰浴下缓慢添加到(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]己酸甲酯(1g,1.39mmol)于EtOAc(20mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.9g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{31}H_{39}N_9O_5$的[M+H]+计算值,618.30;实验值,618.1。

[1084] 步骤3:HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]-己酸甲酯之间的缀合物的制备

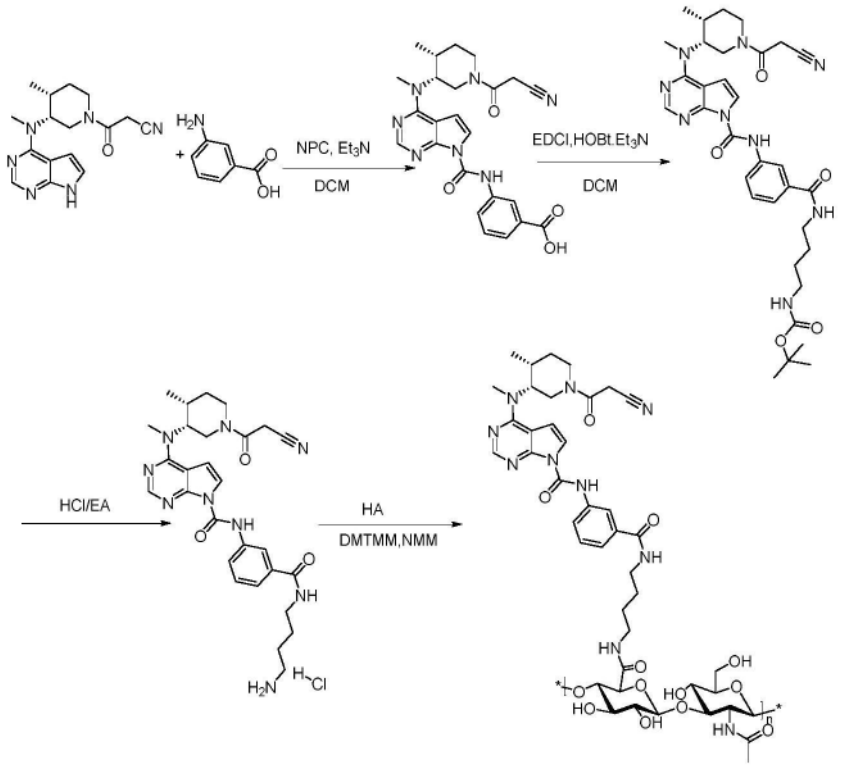
[1085] 

[1086] 将透明质酸钠(117mg,0.29mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的23.4mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加16mL的乙腈。将4-甲基吗啉(NMM,59mg,0.58mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。然后将溶液冷却到0℃,并且添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(51mg,0.29mmol)并且在室温下搅拌1小时。将溶液与(2S)-6-氨基-2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]苯甲酰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐(200mg,0.29mmol)混合并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(170mg,2.9mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(290mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(Mw截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。0.119g,产率:41.9%,DSR:20%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.35-8.23(m,0.2H),7.89-7.40(m,1H),6.83-6.71(m,0.2H),4.61-4.16(m,2.2H),4.13-2.47(m,13.4H),2.09-1.29(m,4.6H),1.23-1.16(m,0.2H),1.06-0.81(m,0.6H).

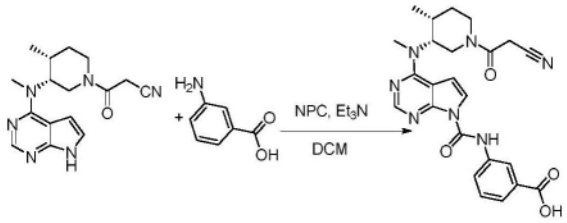
[1087] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.119g,产率:41.9%,DSR=21%)。

[1088] 实施例60

[1089] HA(透明质酸钠)与N-[3-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺之间的缀合物的制备

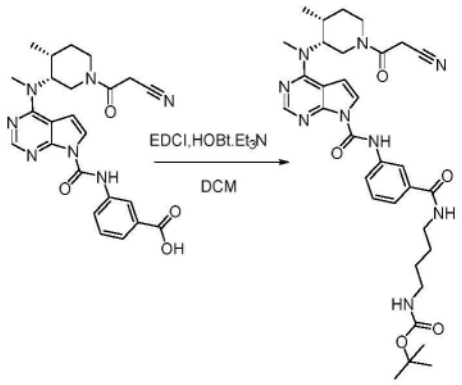
[1090] 

[1091] 步骤1:3-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]氨基]苯甲酸的制备

[1092] 

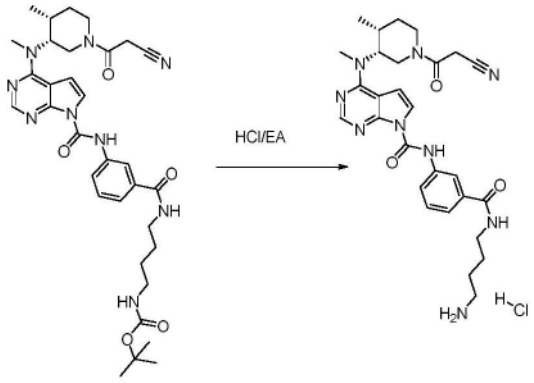
[1093] 将三乙胺(1.12mL,8mmol)添加到托法替尼(1248mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1459mg,4.8mmol)于DCM(40mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌5小时。然后将反应混合物冷却到室温。添加3-氨基苯甲酸(658mg,4.8mmol)。将反应混合物在45℃下搅拌16小时。过滤反应混合物。将滤液用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=20:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.8g,产率:94.7%)。MS(m/z):$C_{24}H_{25}N_7O_4$的[M+H]+计算值,476.19;实验值,476.1。

[1094] 步骤2:N-[4-[[3-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[1095] 

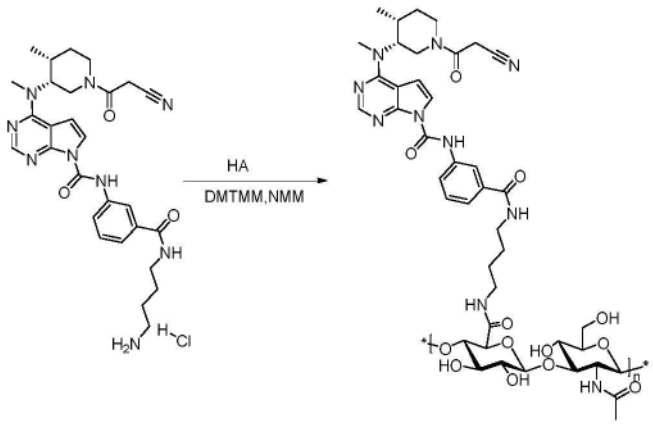
[1096] 将3-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(1188mg,2.5mmol)、N-Boc-1,4-丁二胺(705mg,3.75mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI、719mg,3.75mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,507mg,3.75mmol)溶解于DCM(40mL)中并且添加三乙胺(1.04mL,7.5mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/DCM=1:150~1:80)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1g,产率:62%)。MS(m/z):$C_{33}H_{43}N_9O_5$的[M+H]+计算值,646.33;实验值,646.3。

[1097] 步骤3:N-[3-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[1098] 

[1099] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到N-[4-[[3-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]丁基]氨基甲酸叔丁酯(0.6g,0.93mmol)于EtOAc(12mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.54g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{28}H_{35}N_9O_3$的[M+H]+计算值,546.28;实验值,546.3。

[1100] 步骤4:HA(透明质酸钠)与N-[3-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺之间的缀合物的制备

[1101] 

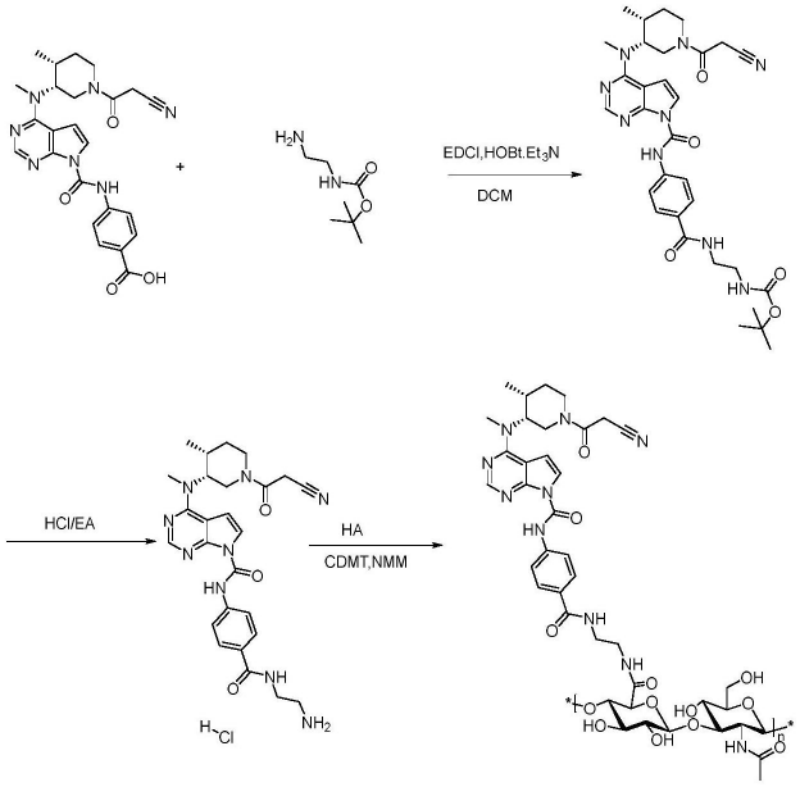
[1102] 将透明质酸钠(186mg,0.462mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中37.2mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加24.2mL的乙腈。在室温下将N-[3-(4-氨基丁基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.324mmol)和4-甲基吗啉(NMM,32mg,0.324mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,128mg,0.462mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(270mg,4.62mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(250mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(extentive dialysis)(Mw截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。0.209g,产率:49.9%,DSR:22%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.06-7.86(m,0.22H),7.56-7.41(m,1.1H),6.56-6.42(m,0.22H),4.63-4.18(m,2.22H),4.05-2.37(m,12.86H),2.13-1.70(m,3.66H),1.69-1.07(m,

1.54H).

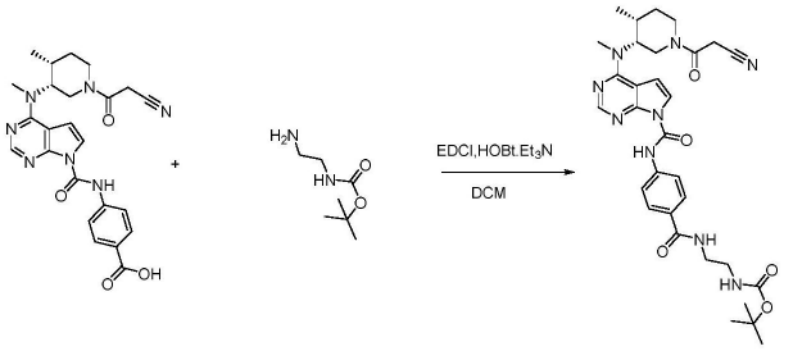
[1103] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.214g,产率:51.1%,DSR=18%)。

[1104] 实施例61

[1105] HA(透明质酸钠)与N-[4-(2-氨基乙基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺之间的缀合物的制备

[1106] 

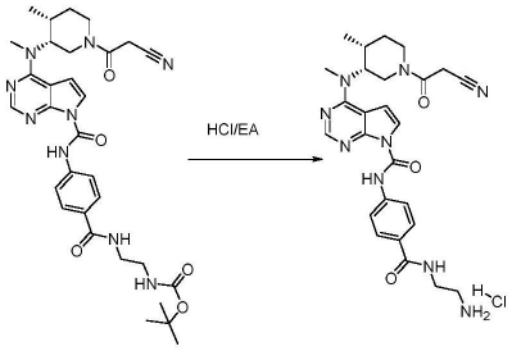
[1107] 步骤1:N-[2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[1108] 

[1109] 将4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酸(1425mg,3mmol)、N-Boc-乙二胺(721mg,4.5mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,863mg,4.5mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,607.5mg,4.5mmol)溶解于DCM(40mL)中并且添加三乙胺(1.25mL,9mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干

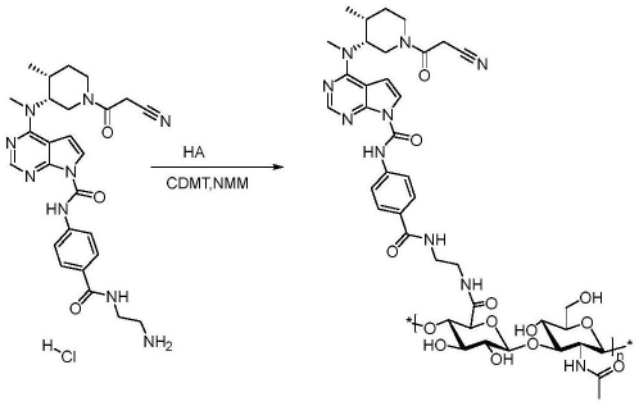
燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/DCM＝1:150～1:80)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.23g,产率:66.4%)。MS(m/z):$C_{31}H_{39}N_9O_5$的[M+H]+计算值,618.30;实验值,618.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 12.26(d,J＝23.3Hz,1H),8.38(d,J＝9.3Hz,1H),7.81(dd,J＝39.5,8.6Hz,5H),7.24(s,1H),6.65(d,J＝4.0Hz,1H),5.11(d,J＝33.0Hz,2H),4.13-3.74(m,2H),3.68-3.11(m,11H),2.62-2.45(m,1H),2.08-1.72(m,2H),1.44(s,9H),1.10(t,J＝8.6Hz,3H).

[1110] 步骤2:N-[4-(2-氨基乙基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[1111] 

[1112] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到N-[2-[[4-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]苯甲酰基]氨基]乙基]氨基甲酸叔丁酯(0.6g,0.97mmol)于EtOAc(6mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.5g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{26}H_{31}N_9O_3$的[M+H]+计算值,518.25;实验值,518.2。

[1113] 步骤3:HA(透明质酸钠)与N-[4-(2-氨基乙基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺之间的缀合物的制备

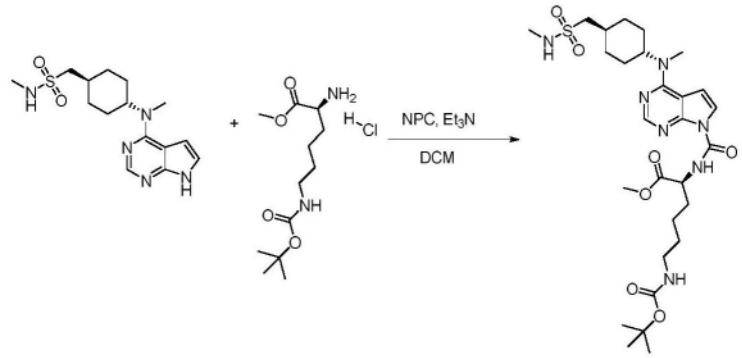
[1114] 

[1115] 将透明质酸钠(208mg,0.516mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中41.6mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加27mL的乙腈。在室温下将N-[4-(2-氨基乙基氨基甲酰基)苯基]-4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(200mg,0.361mmol)和4-甲基吗啉(NMM,36.5mg,0.361mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧

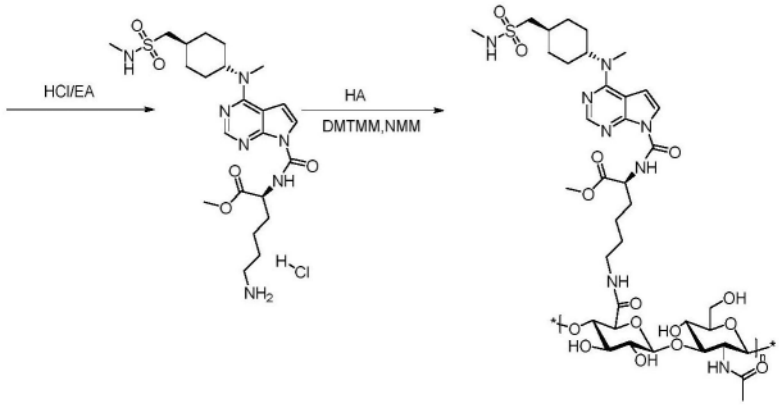
基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,142.8mg,0.516mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(303mg,5.16mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(250mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。针对去离子水对溶液进行的广泛透析(Mw截止值为3.5kDa)和冻干提供标题化合物。0.25g,产率:55.1%,DSR:22%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.36-8.18(m,0.22H),7.92-6.84(m,1.1H),6.68-6.55(m,0.22H),4.61-4.22(m,2.22H),4.13-2.65(m,12.86H),2.24-1.52(m,3.66H),1.30-1.09(m,0.66H).在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.24g,产率:52.9%,DSR=26%)。

[1116] 实施例62

[1117] HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

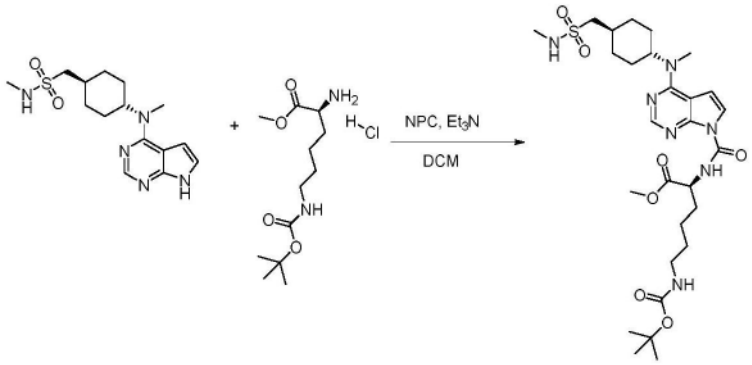


[1118]



[1119] 步骤1:(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯的制备

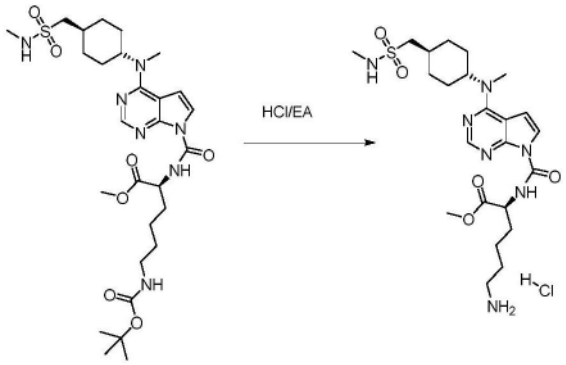
[1120]



[1121] 将三乙胺(1.25mL,9mmol)添加到反式-N-甲基-1-[4-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧

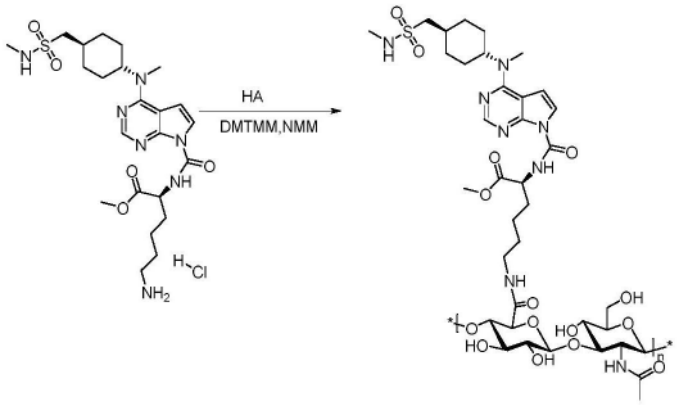
啶-4-基)氨基]环己基]甲磺酰胺(1012mg,3mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1094mg,3.6mmol)于DCM(40mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌5小时。然后将反应混合物冷却到室温。添加6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(1069mg,3.6mmol)。将反应混合物在45℃下搅拌16小时。过滤反应混合物。将滤液用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=100:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.66g,产率:35.3%)。MS(m/z):$C_{28}H_{45}N_7O_7S$的[M+H]+计算值,624.31;实验值,624.2。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.38(d,J=7.6Hz,1H),8.36(s,1H),7.67(d,J=4.1Hz,1H),6.59(d,J=4.0Hz,1H),4.78-4.69(m,2H),4.58(s,1H),4.22-4.05(m,1H),3.81(s,3H),3.24(s,3H),3.14(d,J=5.4Hz,2H),3.01(dd,J=15.2,5.9Hz,2H),2.86(d,J=5.3Hz,3H),2.21(d,J=11.6Hz,2H),2.07-1.87(m,5H),1.71(dd,J=23.8,11.5Hz,2H),1.59-1.48(m,4H),1.47-1.32(m,11H).

[1122] 步骤2:(2S)-6-氨基-2-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[1123] 

[1124] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯(0.61g,0.97mmol)于EtOAc(12mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到0℃并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.54g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{23}H_{37}N_7O_5$的[M+H]+计算值,524.25;实验值,524.2。

[1125] 步骤3:HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

[1126] 

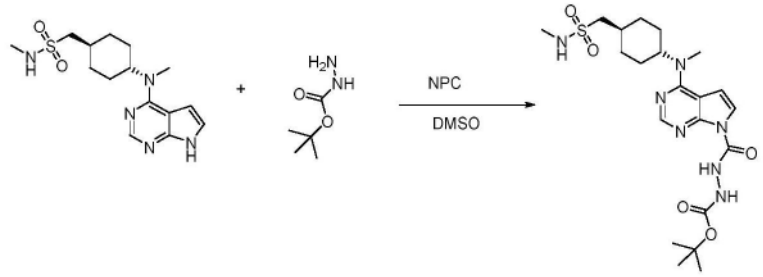
[1127] 将透明质酸钠(101.6mg,0.252mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的

21mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加13.2mL的乙腈。将4-甲基吗啉(NMM,51mg,0.504mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。然后将溶液冷却到0℃,并且添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(44.3mg,0.252mmol)并且在室温下搅拌1小时。将溶液与(2S)-6-氨基-2-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐(150mg,0.252mmol)混合并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(148mg,2.53mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(148mg,2.53mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.118g,产率:52.9%,DSR:16%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.29-8.17(m,0.16H),7.66-7.54(m,0.16H),6.84-6.70(m,0.16H),4.59-4.15(m,2.16H),4.11-2.37(m,12.24H),2.11-1.73(m,4.44H),1.71-1.11(m,0.96H).

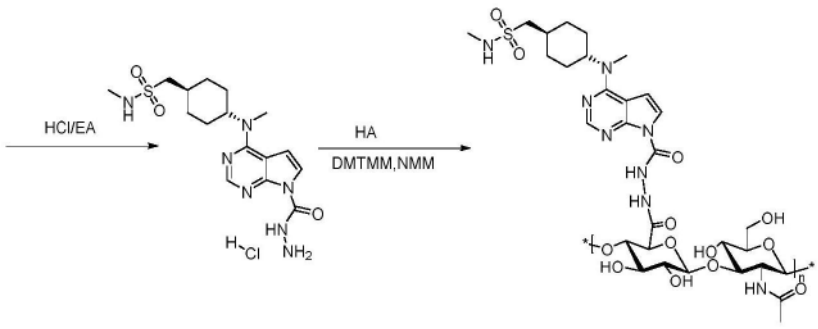
[1128] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.105g,产率:47.1%,DSR=20%)。

[1129] 实施例63

[1130] HA(透明质酸钠)与1-[4-[[7-(肼羰基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]环己基]-反式-N-甲基-甲磺酰胺之间的缀合物的制备

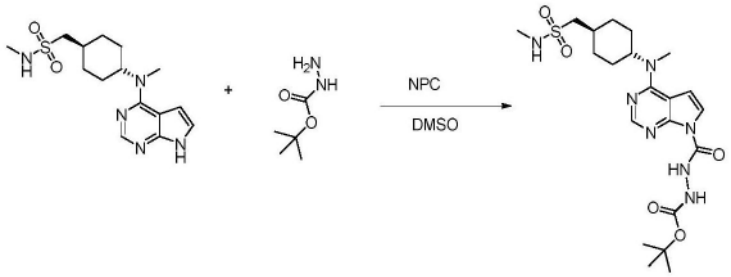


[1131]



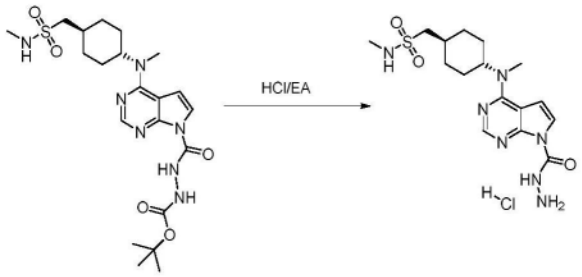
[1132] 步骤1:N-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[1133]



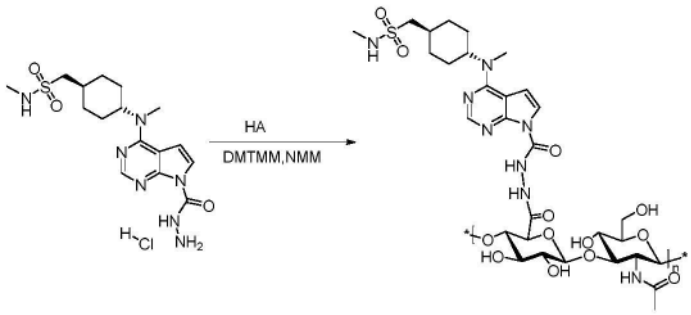
[1134] 在室温下将反式-N-甲基-1-[4-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]环己基]甲磺酰胺(1350mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1337.6mg,4.4mmol)于DMSO(14mL)中的混合物搅拌4小时。然后添加肼甲酸叔丁酯(634.4mg,4.8mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将反应混合物倒入饱和Na_2CO_3溶液中。将混合物过滤。用$NaHCO_3$溶液和水洗涤滤饼。然后将滤饼溶解在DCM中并且用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥,过滤并且然后在减压下浓缩以提供标题化合物(1.67g,产率:84.3%)。MS(m/z):$C_{21}H_{33}N_7O_5S$的[M+H]+计算值,496.22;实验值,496.1。^1H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm11.38(s,1H),8.30(s,1H),7.63(d,J=4.1Hz,1H),6.56(dd,J=25.8,3.5Hz,2H),4.75(s,1H),4.36(q,J=5.1Hz,1H),3.22(d,J=11.1Hz,3H),2.97(d,J=6.3Hz,2H),2.83(d,J=5.3Hz,3H),2.20(t,J=14.4Hz,2H),2.04-1.94(m,1H),1.87(d,J=10.8Hz,2H),1.74-1.62(m,2H),1.51(s,9H),1.43-1.32(m,2H).

[1135] 步骤2:1-[4-[[7-(肼羰基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]环己基]-反式-N-甲基-甲磺酰胺盐酸盐的制备

[1136] 

[1137] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到N-[[反式-4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]氨基甲酸叔丁酯(0.6g,1.21mmol)于EtOAc(12mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.52g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{16}H_{25}N_7O_3$的[M+H]+计算值,396.17;实验值,396.1。

[1138] 步骤3:HA(透明质酸钠)与1-[4-[[7-(肼羰基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]环己基]-反式-N-甲基-甲磺酰胺之间的缀合物的制备

[1139] 

[1140] 将透明质酸钠(246mg,0.61mmol甲酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的49.2mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加32mL的乙腈。将4-甲基吗啉(NMM,43mg,0.427mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。在室温下将1-[4-[[7-(肼羰基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]环己基]-反式-N-甲基-甲磺酰胺盐酸盐(200mg,0.427mmol)和4-甲基吗啉(NMM,43mg,0.427mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将

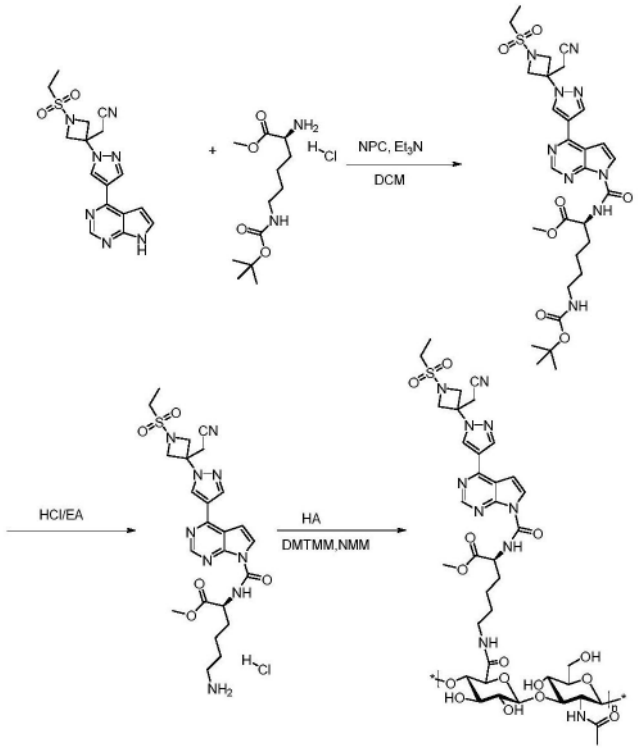
反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,169mg,0.61mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(357mg,6.1mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(400mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(357mg,6.1mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.29g,产率:62.8%,DSR:23%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.09(m,0.23H),7.63-7.52(m,0.23H),6.85-6.67(m,0.23H),4.70-4.28(m,2.23H),4.20-2.53(m,11.84H),2.23-1.40(mz,4.61H),1.34-1.06(m,0.46H).

[1141] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.305g,产率:66.1%,DSR=31%)。

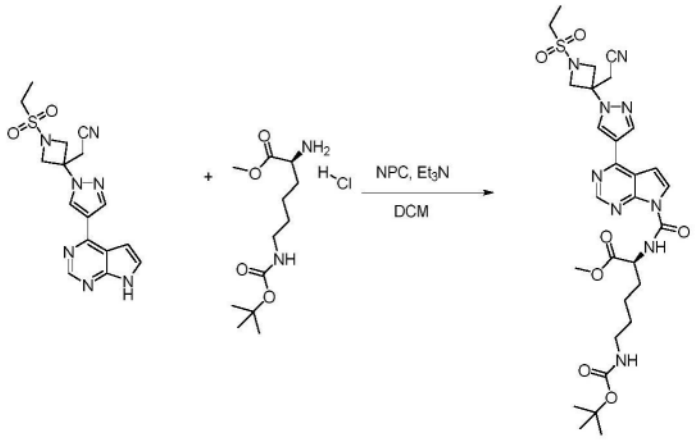
[1142] 实施例64

[1143] HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

[1144]

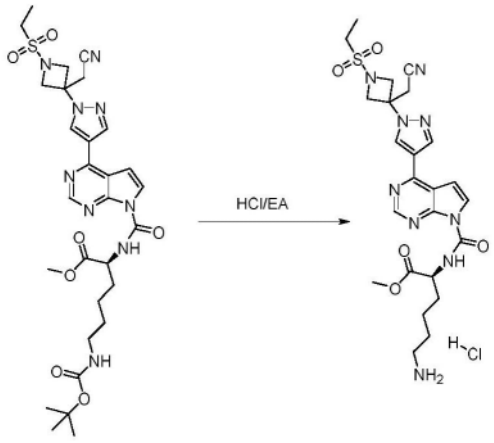


[1145] 步骤1:(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯的制备

[1146] 

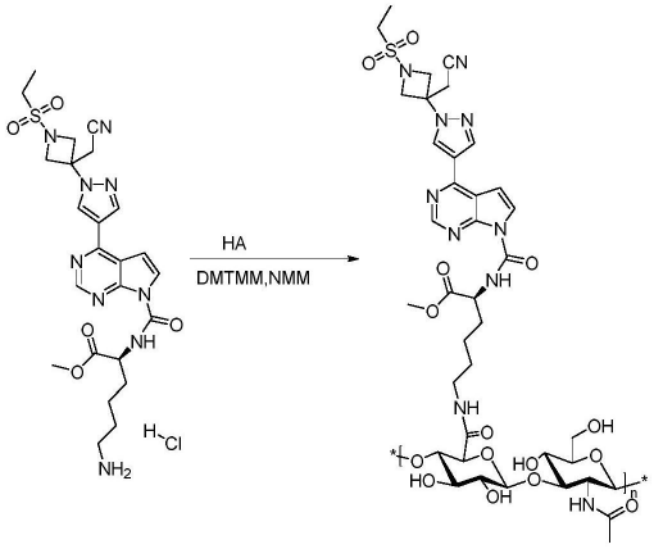
[1147] 将三乙胺(1.25mL,9mmol)添加到2-[1-乙基磺酰基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡唑-1-基]氮杂环丁烷-3-基]乙腈(1114mg,3mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1094mg,3.6mmol)于DCM(40mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌5小时。然后将反应混合物冷却到室温。添加6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(1069mg,3.6mmol)。将反应混合物在45℃下搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并且用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=100:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.3g,产率:65.9%)。MS(m/z):$C_{29}H_{39}N_9O_7S$的[M+H]+计算值,658.26;实验值,658.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm9.93(d,J=7.6Hz,1H),8.95(s,1H),8.50(s,1H),8.35(s,1H),8.04(d,J=4.0Hz,1H),6.85(d,J=4.1Hz,1H),5.45-5.34(m,1H),4.76-4.71(m,1H),4.66(d,J=9.4Hz,2H),4.63-4.56(m,1H),4.52-4.42(m,1H),4.28(d,J=9.6Hz,2H),3.84(s,3H),3.44(s,2H),3.20-3.07(m,2H),2.10-1.94(m,2H),1.88-1.76(m,1H),1.61-1.35(m,12H),1.27(s,3H).

[1148] 步骤2:(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[1149] 

[1150] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(4.92mL)在冰浴下缓慢添加到(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯(1.23g,1.87mmol)于EtOAc(25mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(1.1g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{24}H_{31}N_9O_5S$的[M+H]+计算值,558.21;实验值,558.1。

[1151] 步骤3:HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

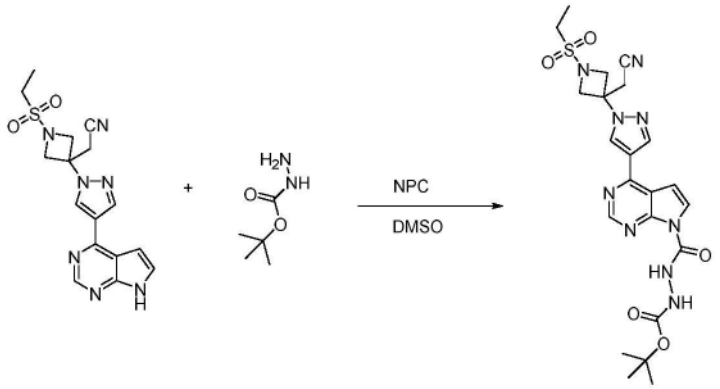
[1152] 

[1153] 将透明质酸钠(175mg,0.434mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的35mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加23mL的乙腈。在室温下将(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐(200mg,0.317mmol)和4-甲基吗啉(NMM,32mg,0.317mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,120mg,0.434mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(254mg,4.34mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(254mg,4.34mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.2g,产率:50.1%,DSR:20%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.72-8.57(m,0.2H),8.41-8.16(m,0.2H),7.96-7.82(m,0.2H),7.45-7.29(m,0.2H),7.02-6.87(m,0.2H),4.56-4.02(m,3.4H),3.97-2.84(m,11.4H),2.03-1.81(m,3.6H),1.43(m,1.2H).

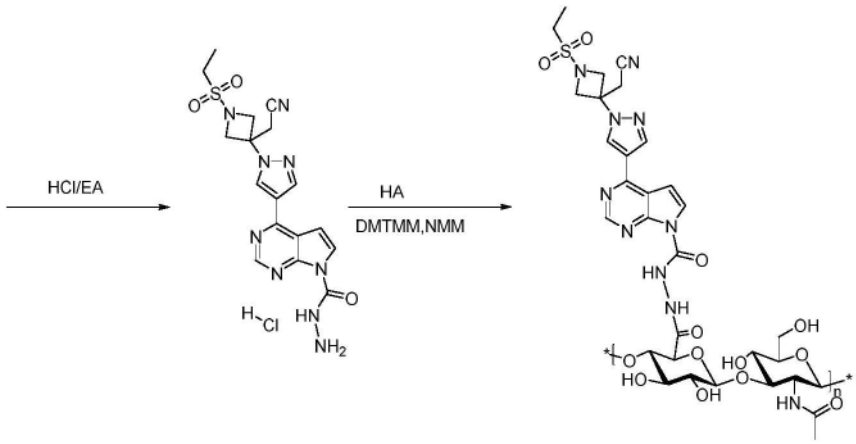
[1154] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.154g,产率:38.6%,DSR=30%)。

[1155] 实施例65

[1156] HA(透明质酸钠)与4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼之间的缀合物的制备

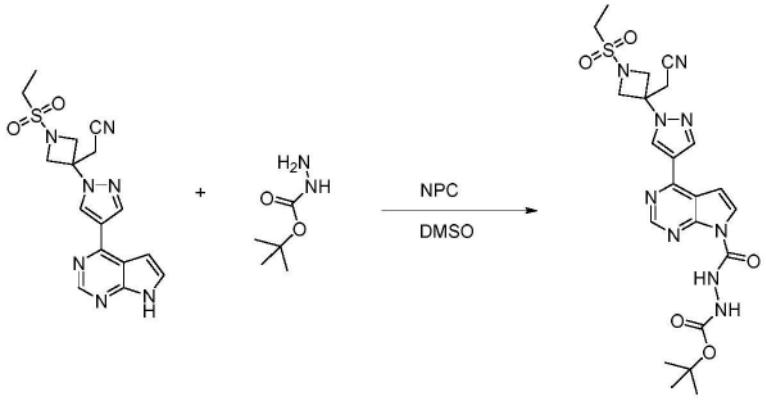


[1157]



[1158] 步骤1:N-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]氨基甲酸叔丁酯的制备

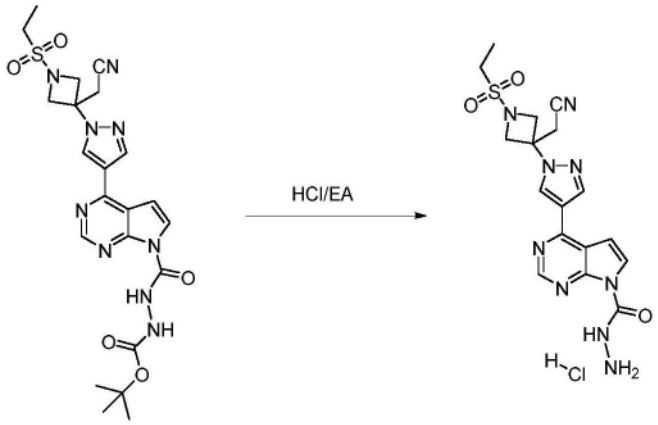
[1159]



[1160] 在室温下将2-[1-乙基磺酰基-3-[4(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡唑-1-基]氮杂环丁烷-3-基]乙腈(1486mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1337.6mg,4.4mmol)于DMSO(20mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加肼甲酸叔丁酯(634.4mg,4.8mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将反应混合物倒入饱和Na2CO3溶液中。将混合物过滤。用NaHCO3溶液和水洗涤滤饼。然后将滤饼溶解在DCM中并且用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=100:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.758g,产率:35.8%)。MS(m/z):$C_{22}H_{27}N_9O_5S$的[M+H]+计算值,530.18;实验值,530.1。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 10.93(d,J=1.8Hz,1H),8.87(s,1H),8.48(s,1H),8.32(s,1H),7.95(dd,J=28.4,4.1Hz,1H),6.82(t,J=17.0Hz,1H),6.70(s,1H),4.64(d,J=9.3Hz,2H),4.23(t,J=23.2Hz,2H),3.42(s,2H),3.09(q,J=7.4Hz,2H),1.52(s,9H),1.42(t,J=

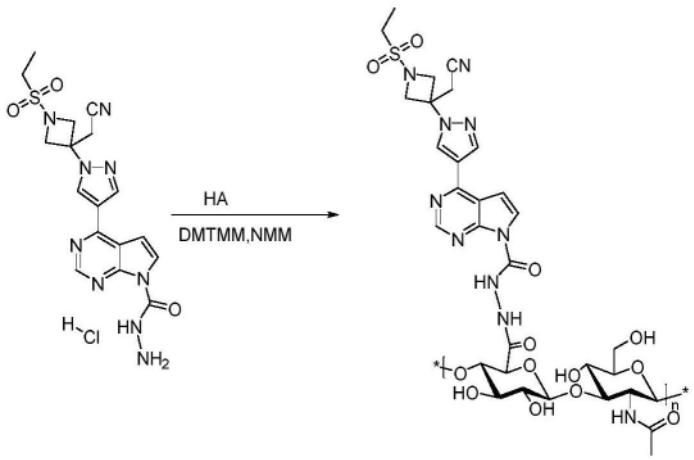
7.4Hz,3H).

[1161] 步骤2:4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼三氟乙酸酯的制备

[1162] 

[1163] 将三氟乙酸(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到N-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]氨基甲酸叔丁酯(0.6g,1.13mmol)于DCM(9.6mL)中的搅拌混合物中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.61g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{17}H_{19}N_9O_3$的[M+H]+计算值,430.13;实验值,430.0。

[1164] 步骤3:HA(透明质酸钠)与4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼之间的缀合物的制备

[1165] 

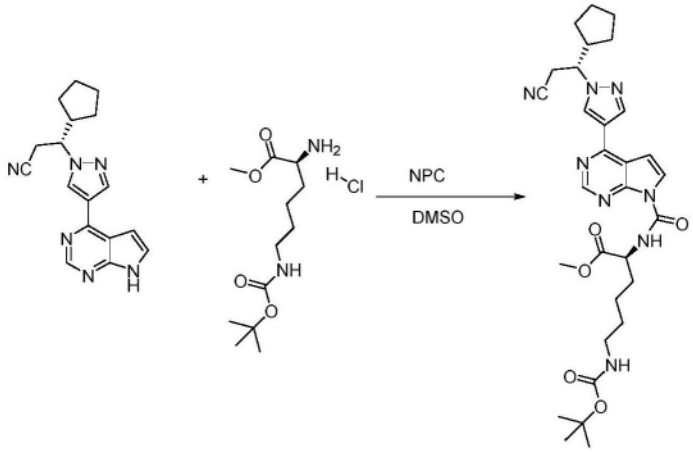
[1166] 将透明质酸钠(212mg,0.526mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的42.4mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加28mL的乙腈。在室温下将4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(200mg,0.368mmol)和4-甲基吗啉(NMM,37mg,0.368mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,146mg,0.526mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(308mg,5.26mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(308mg,5.26mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时

并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.2g,产率:48.1%,DSR:40%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.89-8.663(m,0.4H),8.49-8.17(m,0.4H),8.04-7.84(m,0.4H),7.05-6.91(m,0.4H),4.43(d,J=34.6Hz,3.6H),3.46(dd,J=86.0,63.7Hz,11.6H),1.93(s,3H),1.26(d,J=43.7Hz,1.2H).

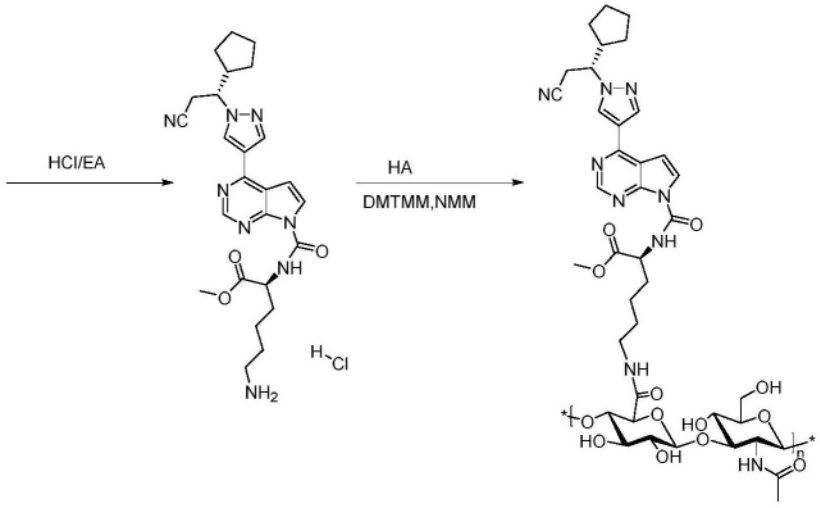
[1167] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.154g,产率:37%,DSR=40%)。

[1168] 实施例66

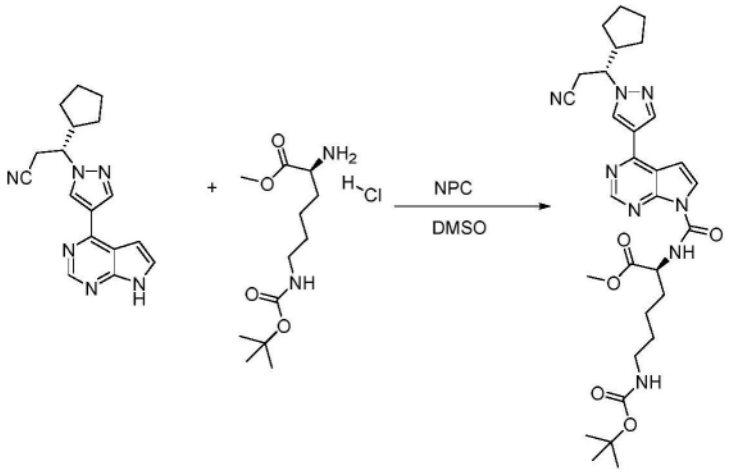
[1169] HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备



[1170]

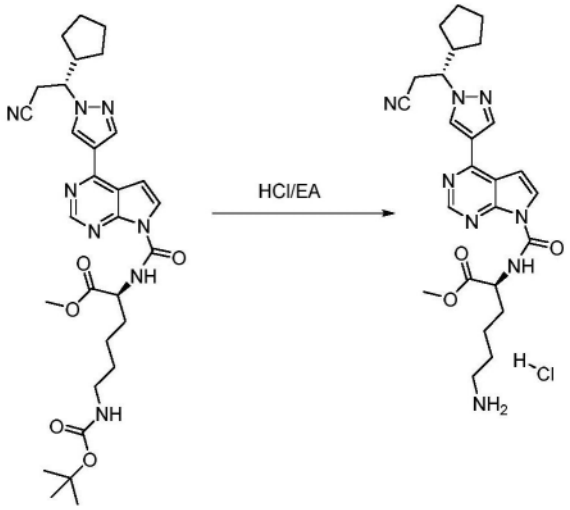


[1171] 步骤1:(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯的制备

[1172] 

[1173] 在室温下将(3R)-3-环戊基-3-[4(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡唑-1-基]丙腈(1486mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1141mg,3.754mmol)于DMSO(12mL)中的混合物搅拌7小时。添加6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(1448mg,4.88mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将反应混合物倒入饱和Na_2CO_3溶液中。将混合物过滤。用$NaHCO_3$溶液和水洗涤滤饼。然后将滤饼溶解在DCM中并且用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=150:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.828g,产率:34.9%)。MS(m/z):$C_{30}H_{40}N_8O_5$的[M+H]+计算值,593.31;实验值,593.2。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3)δppm 9.95(d,J=7.5Hz,1H),8.91(s,1H),8.32(d,J=11.9Hz,2H),7.99(d,J=4.0Hz,1H),6.82(d,J=4.0Hz,1H),4.76(dd,J=12.8,7.5Hz,1H),4.60(s,1H),4.28(td,J=9.9,3.8Hz,1H),3.81(s,3H),3.22-3.05(m,3H),2.97(dd,J=17.0,3.8Hz,1H),2.61(dt,J=16.5,8.4Hz,1H),2.13-1.88(m,3H),1.65-1.50(m,7H),1.44-1.35(m,9H),1.27(d,J=12.8Hz,4H).

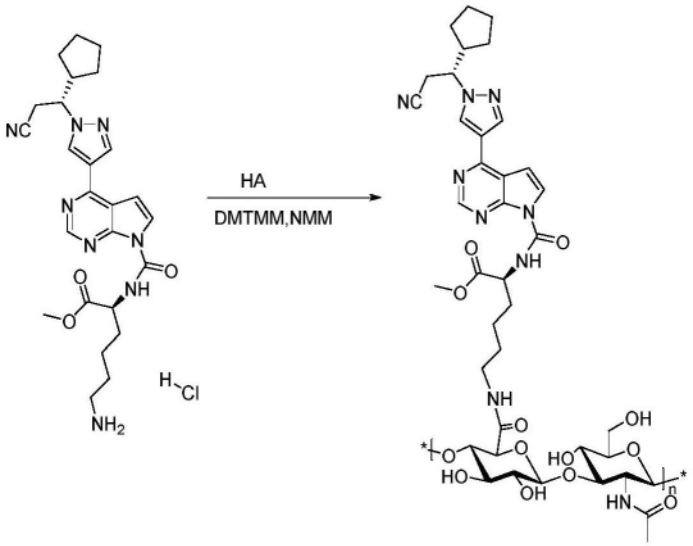
[1174] 步骤2:(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[1175] 

[1176] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到(2S)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯(0.6g,1.01mmol)于EtOAc(12mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提

供呈白色固体的标题化合物(0.53g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{25}H_{32}N_8O_3$的[M+H]+计算值,493.25;实验值,493.2。

[1177] 步骤3:HA(透明质酸钠)与(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

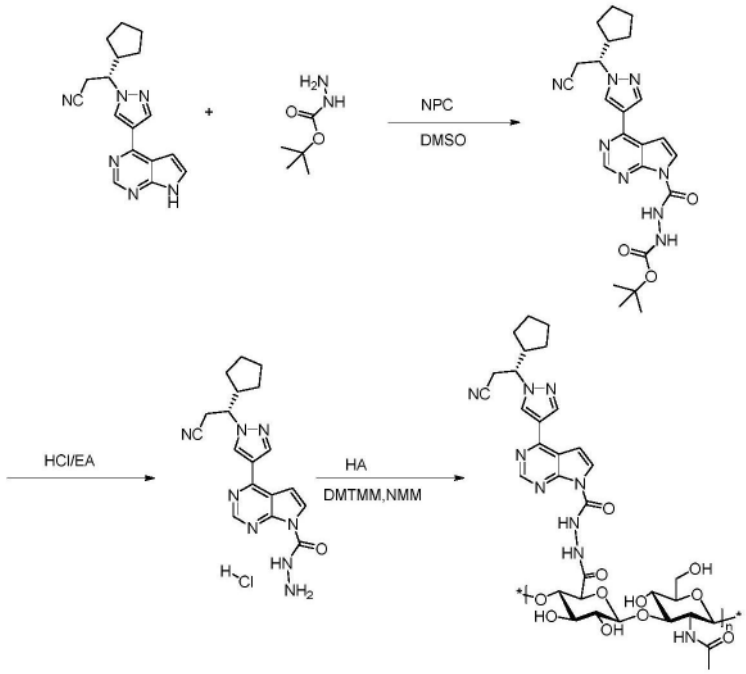
[1178] 

[1179] 将透明质酸钠(204mg,0.506mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的40.8mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加26.5mL的乙腈。在室温下将(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐(200mg,0.354mmol)和4-甲基吗啉(NMM,36mg,0.354mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,140mg,0.506mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(207mg,3.54mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(207mg,3.54mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.195g,产率:45.1%,DSR:27%;^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.59-8.45(m,0.27H),8.33-7.88(m,0.81H),6.91-6.80(m,0.27H),4.57-4.02(m,2.54H),3.97-2.72(m,11.89H),2.05-1.72(m,3.81H),1.70-0.99(m,2.97H).

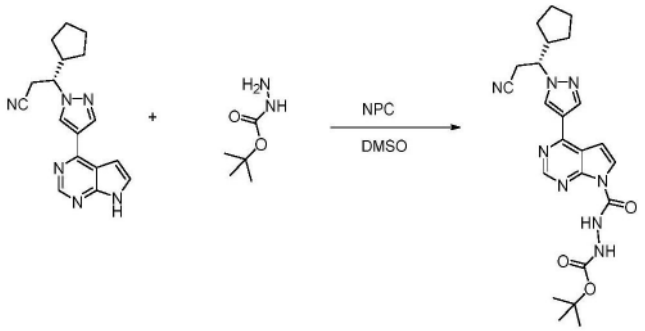
[1180] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.197g,产率:45.5%,DSR=16%)。

[1181] 实施例67

[1182] HA(透明质酸钠)与4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼之间的缀合物的制备

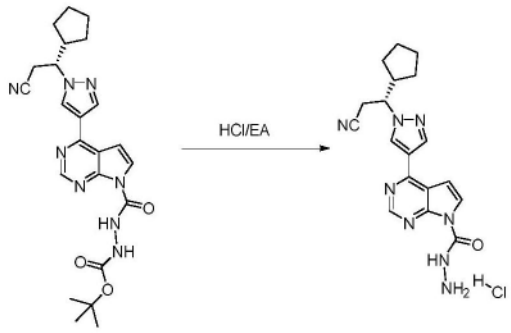
[1183] 

[1184] 步骤1:N-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]氨基甲酸叔丁酯的制备

[1185] 

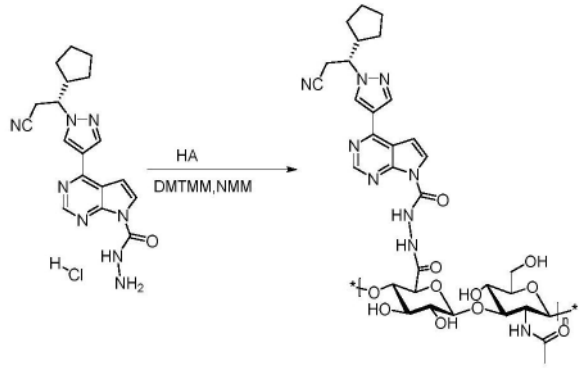
[1186] 在室温下将2-[1-乙基磺酰基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)吡唑-1-基]氮杂环丁烷-3-基]乙腈(1617mg,4mmol)、三乙胺(1.67mL,12mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1337.6mg,4.4mmol)于DMSO(20mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加肼甲酸叔丁酯(634.4mg,4.8mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将反应混合物倒入饱和Na_2CO_3溶液中。将混合物过滤。用$NaHCO_3$溶液和水洗涤滤饼。然后将滤饼溶解在DCM中并且用水洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=100:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.02g,产率:54.9%)。MS(m/z):$C_{23}H_{28}N_8O_3$的[M+H]+计算值,465.22;实验值,465.2。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3)δppm 10.97(d,J=1.9Hz,1H),8.86(s,1H),8.31(d,J=15.2Hz,2H),7.97(d,J=4.0Hz,1H),6.87-6.84(m,1H),6.62(s,1H),4.27(td,J=10.0,3.9Hz,1H),3.14(dd,J=17.0,8.6Hz,1H),2.97(dd,J=17.0,3.9Hz,1H),2.61(dt,J=17.0,8.6Hz,1H),2.04-1.92(m,1H),1.79-1.62(m,5H),1.54(d,J=13.3Hz,9H),1.35-1.19(m,3H).

[1187] 步骤2:4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐的制备

[1188] 

[1189] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(3mL)在冰浴下缓慢添加到N-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]氨基甲酸叔丁酯(0.75g,1.61mmol)于EtOAc(15mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.557g,产率:95%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{18}H_{20}N_8O$的[M+H]+计算值,365.17;实验值,365.1。

[1190] 步骤3:HA(透明质酸钠)与4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼之间的缀合物的制备

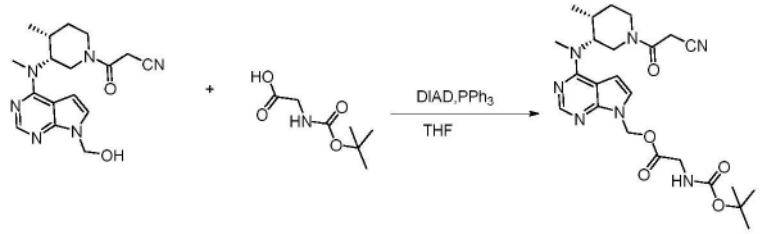
[1191] 

[1192] 将透明质酸钠(263.5mg,0.654mmol羧酸,MW 50KDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的53mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加34mL的乙腈。在室温下将4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(200mg,0.458mmol)和4-甲基吗啉(NMM,46mg,0.458mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,181mg,0.654mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(382mg,6.54mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(382mg,6.54mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.316g,产率:66.5%,DSR:33%;^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.88-8.65(m,0.33H),8.45-7.28(m,0.99H),7.07-6.82(m,0.33H),4.68-4.27(m,2.33H),4.21-2.62(m,10.66H),2.47-2.23(m,0.33H),2.15-1.32(m,4.32H),1.31-1.02(m,0.99H).

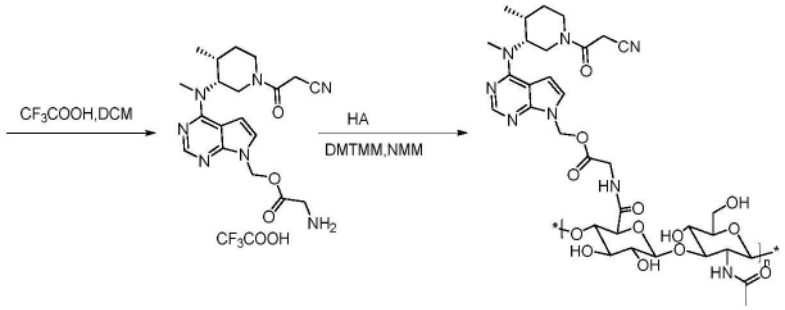
[1193] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.308g,产率:64.8%,DSR=21%)。

[1194] 实施例68

[1195] HA(透明质酸钠)与2-氨基乙酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯之间的缀合物的制备

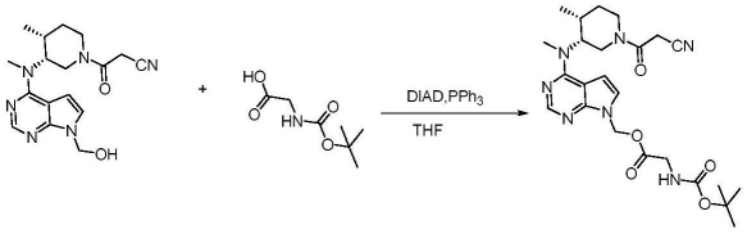


[1196]



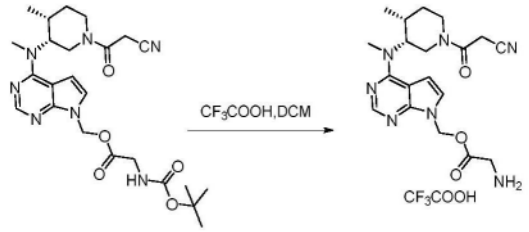
[1197] 步骤1:2-(叔丁氧基羰基氨基)乙酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯的制备

[1198]



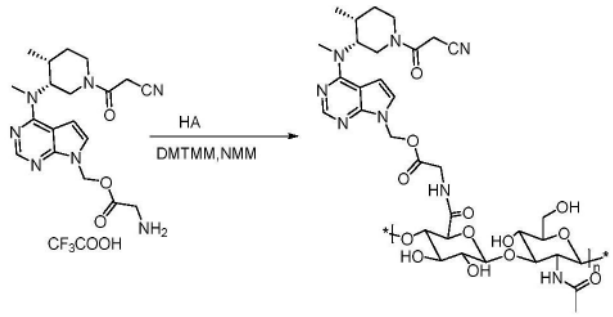
[1199] 在0℃～10℃将3-[(3R,4R)-3-[[7-(羟甲基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]-4-甲基-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(600mg,1.754mmol)、2-(叔丁氧基羰基氨基)乙酸(1.23mg,7.02mmol)和三苯基膦(1840mg,7.02mmol)于THF(120mL)中的混合物搅拌10分钟。然后逐滴添加偶氮二甲酸二异丙酯(1420mg,7.02mmol)。将反应混合物在此温度下搅拌16小时。在冰浴下将反应混合物倒入饱和$NaHCO_3$溶液中。将混合物用EtOAc稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:2)纯化粗残余物,以提供标题化合物(400mg,产率:45.7%)。MS(m/z):$C_{24}H_{33}N_7O_5$的[M+H]+计算值,500.25;实验值,500.1。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3)δppm 8.31(t,J=16.1Hz,1H),7.15(dd,J=13.4,3.7Hz,1H),6.56(t,J=3.9Hz,1H),6.23(d,J=2.8Hz,2H),5.14(s,1H),4.96(s,1H),4.10-3.98(m,1H),3.97-3.76(m,3H),3.68-3.45(m,4H),3.42-3.30(m,3H),2.57-2.43(m,1H),2.01-1.85(m,1H),1.82-1.69(m,1H),1.51-1.32(m,9H),1.27-1.24(m,2H),1.13-1.09(m,1H).

[1200] 步骤2:2-氨基乙酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯三氟乙酸酯的制备

[1201] 

[1202] 将三氟乙酸(2mL)在冰浴下缓慢添加到2-(叔丁氧基羰基氨基)乙酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯(0.35g,0.7mmol)于DCM(10mL)中的搅拌混合物中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.27g,产率:96.7%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{19}H_{25}N_7O_3$的[M+H]+计算值,400.20;实验值,400.1。

[1203] 步骤3:HA(透明质酸钠)与2-氨基乙酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯之间的缀合物的制备

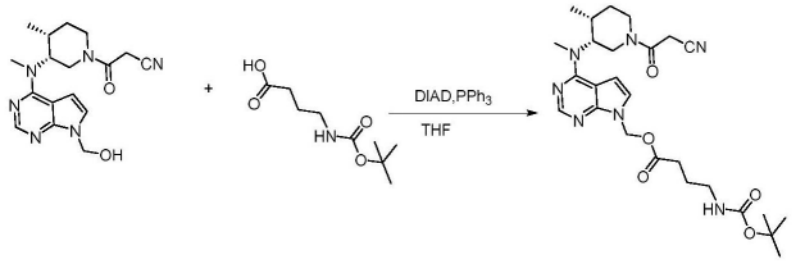
[1204] 

[1205] 将透明质酸钠(178mg,0.443mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的53mL的去离子水中。在室温下将2-氨基乙酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯三氟乙酸酯(150mg,0.443mmol)和4-甲基吗啉(NMM,44.8mg,0.443mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,122mg,0.443mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(259mg,4.43mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(259mg,4.43mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.15g,产率:44.5%,DSR:21%;^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.24-8.11(m,0.21H),7.40-7.27(m,0.21H),6.78-6.67(m,0.21H),6.31-6.07(m,0.42H),4.59-4.17(m,2.21H),4.11-2.95(m,12.31H),2.49-2.35(m,0.21H),2.00-1.61(m,3.42H),1.27-1.16(m,0.21H),1.07-0.90(m,0.42H).

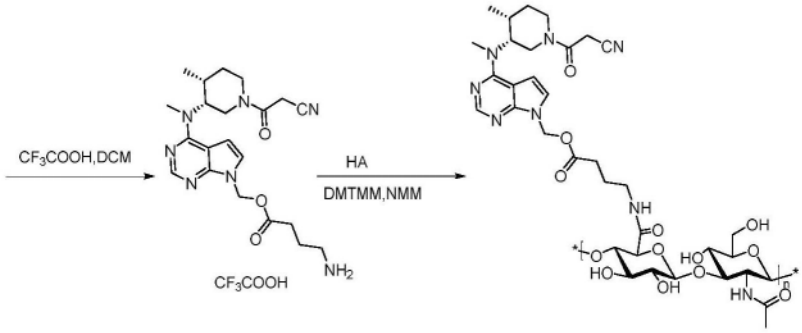
[1206] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.108g,产率:45.7%,DSR=19%)。

[1207] 实施例69

[1208] HA(透明质酸钠)与4-氨基丁酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯之间的缀合物的制备

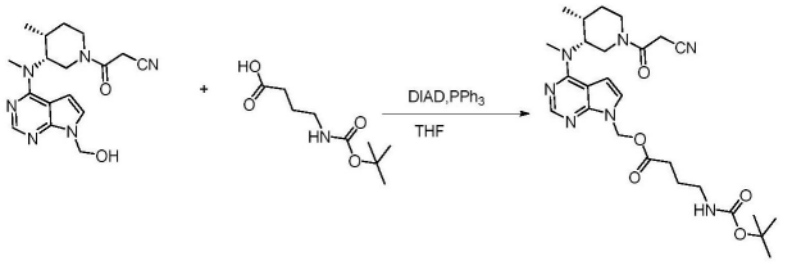


[1209]



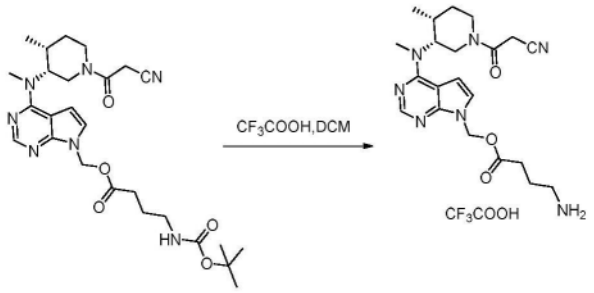
[1210] 步骤1:4-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸[5-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯的制备

[1211]



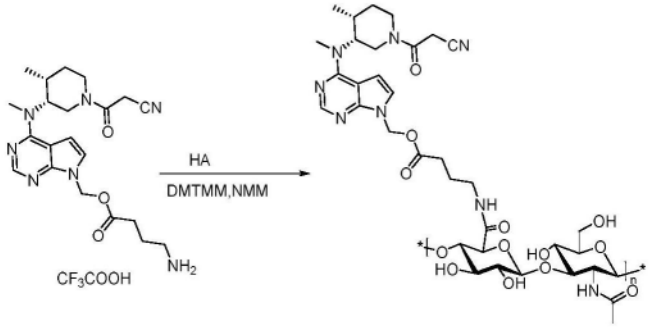
[1212] 在0℃～10℃将3-[(3R,4R)-3-[[7-(羟甲基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]-4-甲基-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(300mg,0.877mmol)、4-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸(713mg,3.51mmol)和三苯基膦(920mg,3.51mmol)于THF(60mL)中的混合物搅拌10分钟。然后逐滴添加偶氮二甲酸二异丙酯(709.5mg,3.51mmol)。将反应混合物在此温度下搅拌16小时。在冰浴下将反应混合物倒入饱和$NaHCO_3$溶液中。将混合物用EtOAc稀释并且用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:2)纯化粗残余物,以提供标题化合物(240mg,产率:51.9%)。MS(m/z):$C_{26}H_{37}N_7O_5$的[M+H]+计算值,528.28;实验值,528.1。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3)δppm 8.34(d,J=7.5Hz,1H),7.16(dd,J=13.8,3.7Hz,1H),6.55(t,J=4.1Hz,1H),6.17(d,J=3.4Hz,2H),5.14(s,1H),4.61(s,1H),4.09-3.99(m,1H),3.89-3.56(m,3H),3.54-3.31(m,5H),3.12(d,J=6.1Hz,2H),2.50(d,J=26.3Hz,1H),2.37(t,J=7.3Hz,2H),2.01-1.86(m,1H),1.78(dd,J=14.2,7.1Hz,2H),1.50-1.30(m,9H),1.31-1.21(m,3H),1.13-1.09(m,1H).

[1213] 步骤2:4-氨基丁酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯三氟乙酸酯的制备

[1214] 

[1215] 将三氟乙酸(0.5mL)在冰浴下缓慢添加到4-(叔丁氧基羰基氨基)丁酸[5-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯(0.12g,0.221mmol)于DCM(5mL)中的搅拌混合物中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.9g,产率:95%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{21}H_{29}N_7O_3$的[M+H]+计算值,428.23;实验值,428.1。

[1216] 步骤3:HA(透明质酸钠)与4-氨基丁酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯之间的缀合物的制备

[1217] 

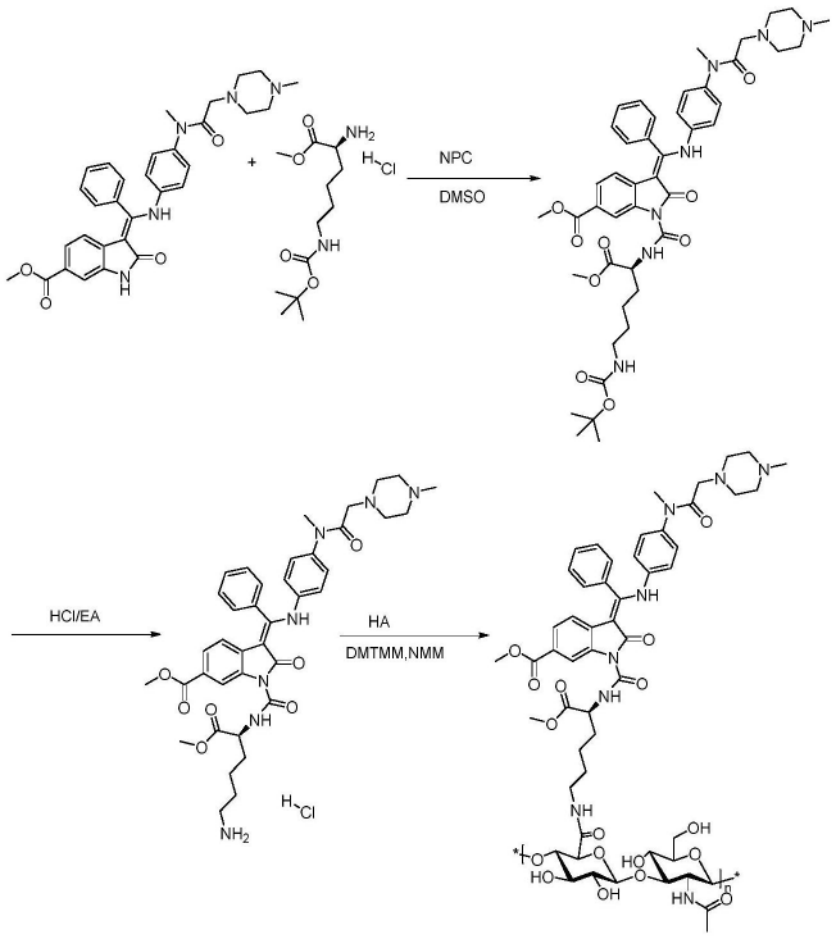
[1218] 将透明质酸钠(127mg,0.31mmol羧酸,MW 50kDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的53mL的去离子水中。在室温下将4-氨基丁酸[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基]甲酯三氟乙酸酯(119mg,0.22mmol)和4-甲基吗啉(NMM,22mg,0.22mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,85.7mg,0.31mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(181mg,3.1mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(181mg,3.1mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.119g,产率:48.7%,DSR:24%;^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.23-7.99(m,0.24H),7.41-7.09(m,0.24H),6.83-6.63(m,0.24H),6.18-5.89(m,0.48H),4.59-4.16(m,2.24H),4.24-2.66(m,12.64H),2.50-2.18(m,0.72H),2.04-1.48(m,3.72H),1.27-1.18(m,0.24H),1.12-0.76(m,0.72H).

[1219] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.109g,产率:44.6%,DSR=22%)。

[1220] 实施例70

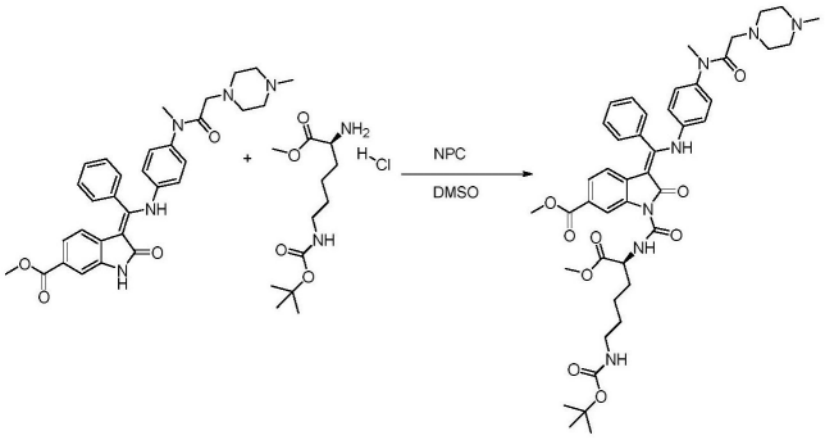
[1221] HA(透明质酸钠)与(3Z)-1-[[(1S)-5-氨基-1-甲氧基羰基-戊基]氨基甲酰基]-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]甲酯之间的缀合物的制备

[1222]



[1223] 步骤1:(3Z)-1-[[(1S)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲氧基羰基-戊基]氨基甲酰基]-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯的制备

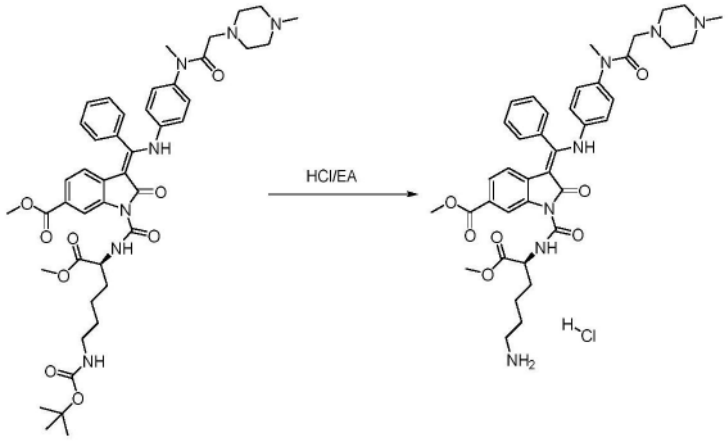
[1224]



[1225] 在室温下将(3Z)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(1079mg,2mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(668.8mg,2.2mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(593.6mg,2mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将反应

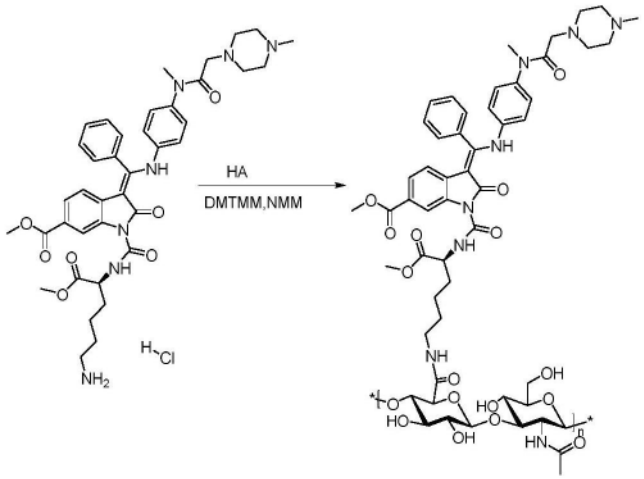
混合物倒入水中并且冻干。通过柱色谱法(DCM:甲醇＝5:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1g,产率:60.6%)。MS(m/z):$C_{44}H_{50}N_7O_9$的[M+H]+计算值,826.40;实验值,826.4。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 12.03(s,1H),9.60(d,J＝7.5Hz,1H),8.93(d,J＝1.3Hz,1H),7.63:1)以提供标题化合物(1g,己酸盐)(593.6mg,二甲苯磺酸盐(1079mg)),2.50-2.18(m,0.72H),dd,J＝12.7,7.4Hz,1H),3.83(d,J＝16.3Hz,6H),3.27-3.09(m,5H),2.80(s,2H),2.64-2.44(m,6H),2.37(s,3H),2.05-1.99(m,2H),1.91(dd,J＝13.9,8.9Hz,4H),1.54(dd,J＝18.8,7.6Hz,3H),1.42(s,9H).

[1226] 步骤2:(3Z)-1-[[(1S)-5-氨基-1-甲氧基羰基-戊基]氨基甲酰基]-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐的制备

[1227] 

[1228] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(2.4mL)在冰浴下缓慢添加到(3Z)-1-[[(1S)-5-(叔丁氧基羰基氨基)-1-甲氧基羰基-戊基]氨基甲酰基]-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(0.6g,0.686mmol)于EtOAc(12mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.51g,产率:97%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{39}H_{47}N_7O_7$的[M+H]+计算值,726.35;实验值,726.2。

[1229] 步骤3:HA(透明质酸钠)与(3Z)-1-[[(1S)-5-氨基-1-甲氧基羰基-戊基]氨基甲酰基]-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯之间的缀合物的制备

[1230] 

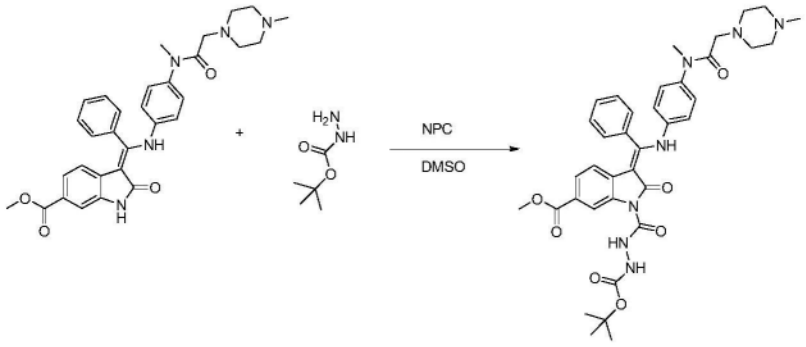
[1231] 将透明质酸钠(121mg,0.3mmol甲酸,MW 50KDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的24.2mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加15.7mL的乙腈。在室温下将(3Z)-1-[[(1S)-5-氨基-1-甲氧基羰基-戊基]氨基甲酰基]-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(160mg,0.21mmol)和4-甲基吗啉(NMM,21mg,0.21mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,83mg,0.3mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(123mg,2.1mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(123mg,2.1mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.142g,产率:43.5%,DSR:34%;^{1}H NMR(400MHz,D2O)δppm 8.44-8.37(m,0.34H),7.50-6.59(m,3.4H),6.13-6.04(m,0.34H),4.58-4.12(m,2.34H),4.10-2.51(m,17.48H),2.12-1.82(m,2.04H),1.74-1.00(m,4.02H).

[1232] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.13g,产率:39.9%)。

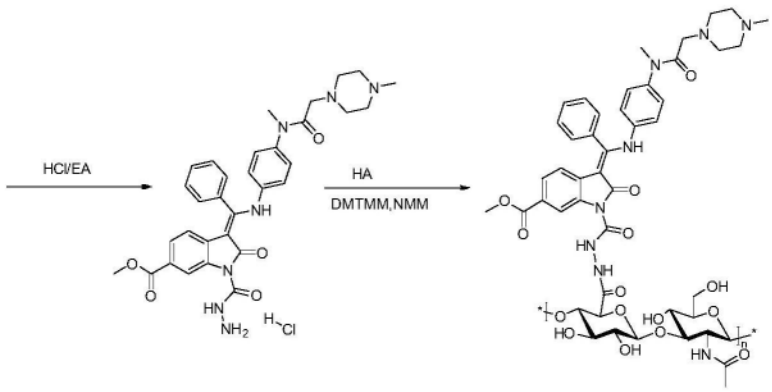
[1233] 实施例71

[1234] HA(透明质酸钠)与(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]

[1235] 苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯之间的缀合物的制备

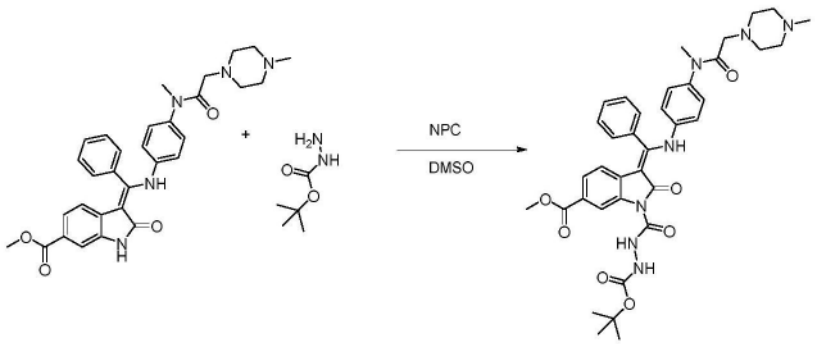


[1236]



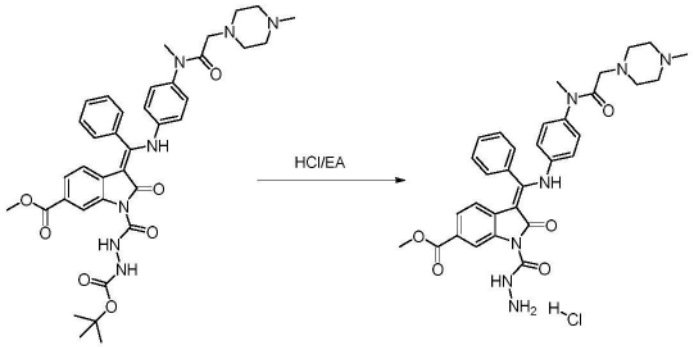
[1237] 步骤1:(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯的制备

[1238]



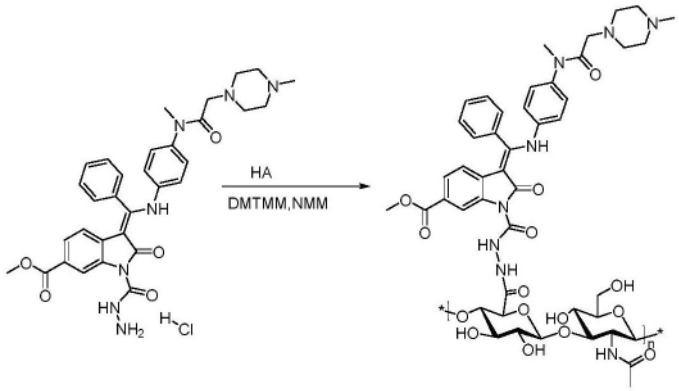
[1239] 在室温下将(3Z)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(1079mg,2mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(668.8mg,2.2mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加肼甲酸叔丁酯(264.3mg,2mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=8:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.5g,产率:35.8%)。MS(m/z):$C_{37}H_{43}N_7O_7$的[M+H]+计算值,698.32;实验值,698.1。^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm 11.79(s,1H),10.29(s,1H),9.26(s,1H),8.69(s,1H),7.76-7.33(m,6H),7.19(d,J=8.3Hz,2H),7.06(d,J=7.7Hz,2H),5.76(s,1H),3.80(s,3H),3.08(s,3H),2.74-2.53(m,2H),2.19(d,J=28.7Hz,10H),1.46(s,9H).

[1240] 步骤2:(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐的制备

[1241] 

[1242] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(1.6mL)在冰浴下缓慢添加到(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(0.4g,0.57mmol)于EtOAc(4mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.36g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{32}H_{35}N_7O_5$的[M+H]+计算值,598.26;实验值,598.1。

[1243] 步骤3:HA(透明质酸钠)与(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯之间的缀合物的制备

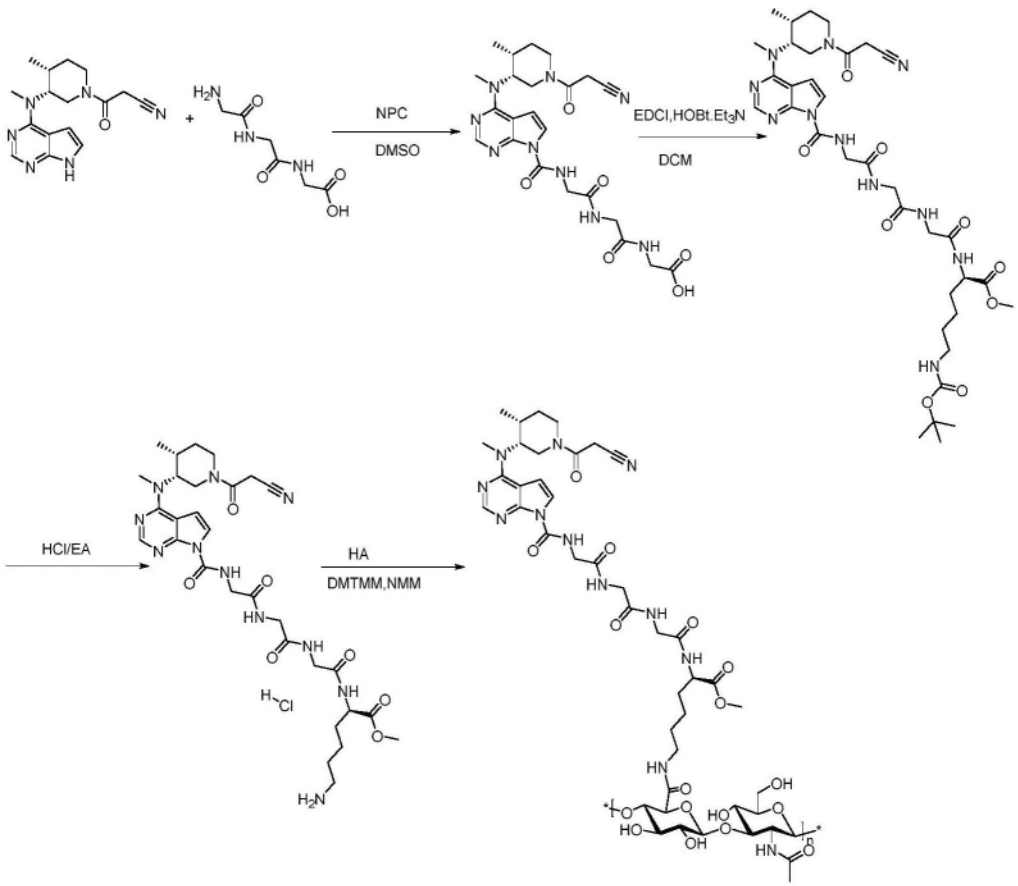
[1244] 

[1245] 将透明质酸钠(136mg,0.337mmol羧酸,MW 50KDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的30mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加19.5mL的乙腈。在室温下将(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐(150mg,0.236mmol)和4-甲基吗啉(NMM,23.9mg,0.236mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,93mg,0.337mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(197mg,3.37mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(197mg,3.37mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.153g,产率:47.3%,DSR:21%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.63-8.47(m,0.21H),7.75-6.81(m,2.1H),5.91-5.78(m,0.21H),4.66-4.34(m,2H),4.21-2.51(m,11.68H),2.44-1.63(m,5.31H).

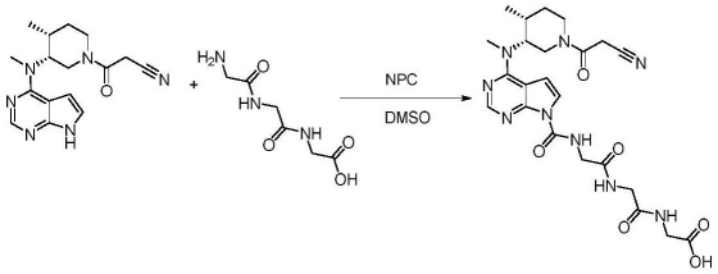
[1246] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物。

[1247] 实施例72

[1248] HA(透明质酸钠)与(2R)-6-氨基-2-[[2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

[1249] 

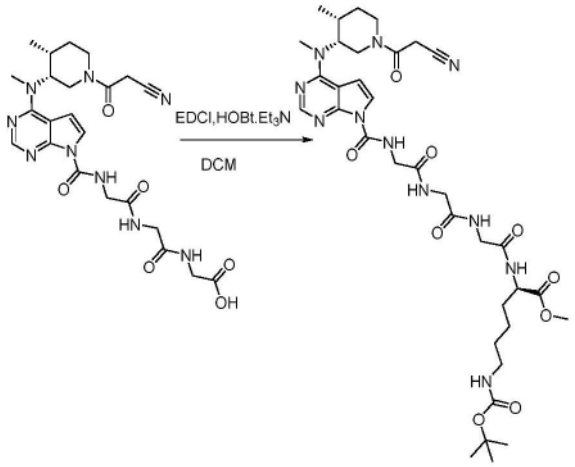
[1250] 步骤1:2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酸的制备

[1251] 

[1252] 在室温下将3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1248mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.337mg,4.4mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加甘氨酰基-甘氨酰基-甘氨酸(758.8mg,4mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且冻干。通过柱色谱法(DCM:甲醇=4:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.7g,产率:33.2%)。MS(m/z):$C_{23}H_{29}N_9O_6$的[M+H]+计算值,528.22;实验值,528.1。^{1}H NMR(400MHz,d-DMSO)δppm12.78-12.38(m,1H),9.98(t,J=5.3Hz,1H),8.46(d,J=5.7Hz,1H),8.35(d,J=5.7Hz,1H),8.21(s,1H),7.67(d,J=4.0Hz,1H),6.85(s,1H),4.87(s,1H),4.21-4.02(m,4H),4.01-3.60(m,8H),3.39(d,J=16.8Hz,3H),2.39(d,J=6.4Hz,1H),1.78(d,J=47.7Hz,1H),1.60(d,J=

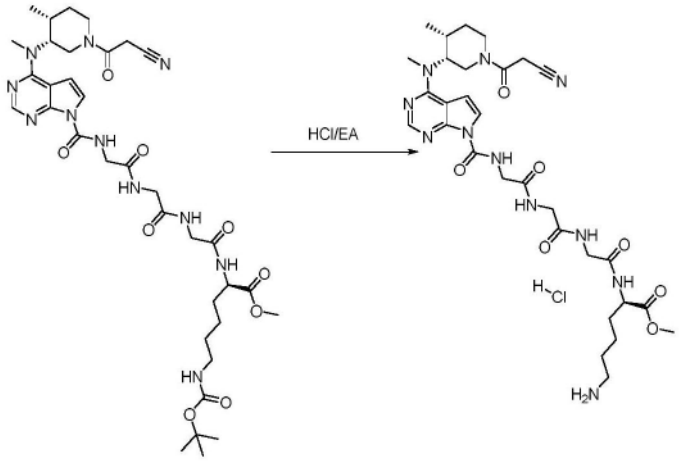
8.7Hz,1H),1.02(d,J＝7.1Hz,3H).

[1253] 步骤2:(2R)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯的制备

[1254] 

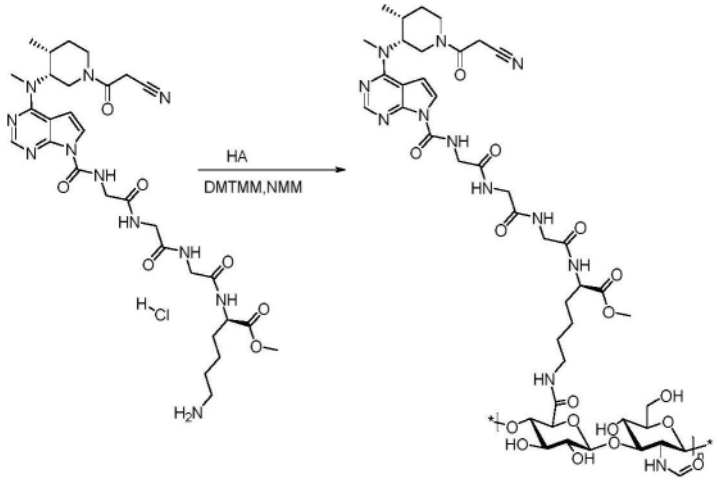
[1255] 将2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酸(768mg,1.46mmol)、6-氨基-2-((叔丁氧基羰基)-氨基)己酸(S)-甲酯(454mg,1.53mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,335mg,1.75mmol)和1-羟基苯并三唑(HOBt,236mg,1.75mmol)溶解于DCM(20mL),DMF(2mL)中并且添加三乙胺(368mg,3.64mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(甲醇/DCM＝1:150～1:80)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.66g,产率:76.7%)。MS(m/z):$C_{35}H_{51}N_{11}O_9$的[M+H]+计算值,770.38;实验值,770.2。^{1}H NMR(400MHz,CDCl3)δppm 10.41(s,1H),8.29(d,J＝8.0Hz,1H),7.63(dd,J＝20.0,3.8Hz,1H),7.41(s,1H),7.05-6.86(m,1H),6.60(dd,J＝12.6,4.0Hz,1H),5.12(s,1H),4.89(s,1H),4.51(s,1H),4.16(d,J＝36.3Hz,2H),4.13-3.80(m,5H),3.79-3.43(m,9H),3.42-3.28(m,3H),3.01(d,J＝26.8Hz,2H),2.51(d,J＝6.2Hz,1H),2.05-1.92(m,1H),1.86-1.76(m,1H),1.43(s,9H),1.38-1.16(m,6H),1.14-0.99(m,3H).

[1256] 步骤3:(2R)-6-氨基-2-[[2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐的制备

[1257] 

[1258] 将含4M HCl的乙酸乙酯(可商购获得)(8.5mL)在冰浴下缓慢添加到(2R)-6-(叔丁氧基羰基氨基)-2-[[2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯(0.51g,0.663mmol)于EtOAc(20mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.44g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{30}H_{43}N_{11}O_7$的[M+H]+计算值,670.33;实验值,670.1。

[1259] 步骤4:HA(透明质酸钠)与(2R)-6-氨基-2-[[2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯之间的缀合物的制备

[1260] 

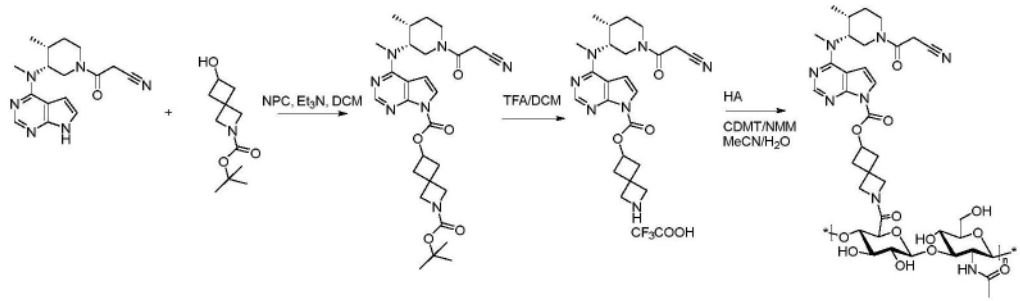
[1261] 将透明质酸钠(245mg,0.607mmol甲酸,MW 50KDa)溶解于100mL圆底烧瓶中的60mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加39mL的乙腈。在室温下将(2R)-6-氨基-2-[[2-[[2-[[2-[[4-[[(3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基-3-哌啶基]-甲基-氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]乙酰基]氨基]己酸甲酯盐酸盐(300mg,0.425mmol)和4-甲基吗啉(NMM,43mg,0.425mmol)添加到溶液中,从而使粘度暂时增加。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,168mg,0.607mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(355mg,6.07mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时

逐滴添加丙酮(400mL)。将混合物过滤。将滤饼溶解在80mL的去离子水和乙腈中(V/V=3:1)。然后将NaCl(355mg,6.07mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(400mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空中干燥以得到呈白色固体的标题化合物。0.25g,产率:41%,DSR:15%;^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.13(m,0.15H),7.60-7.47(m,0.15H),6.80-6.66(m,0.15H),4.66-4.28(m,2.15H),4.24-2.69(m,13.15H),2.41-2.24(m,0.15H),2.04-1.42(m,3.3H),1.37-0.89(m,1.35H).

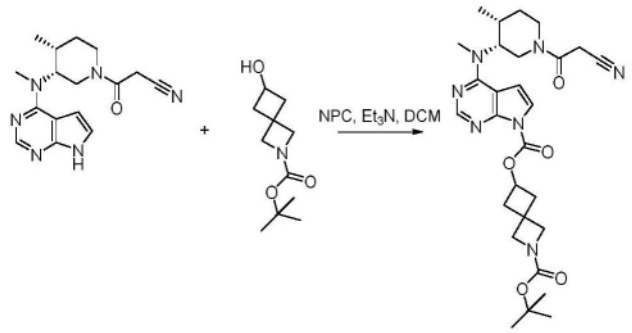
[1262] 在此步骤的情况下,透明质酸钠(MW 2000KDa)的反应提供了对应的产物(0.26g,产率:42.6%,DSR=14%)。^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.26-8.13(m,0.14H),7.59-7.48(m,0.14H),6.79-6.66(m,0.14H),4.66-4.28(m,2.14H),4.26-2.66(m,12.94H),2.40-2.24(m,0.14H),2.03-1.42(m,3.28H),1.35-0.89(m,1.26H).

[1263] 实施例73

[1264] 2-氮杂螺[3.3]庚-6-基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸与HA的缀合物的制备

[1265] 

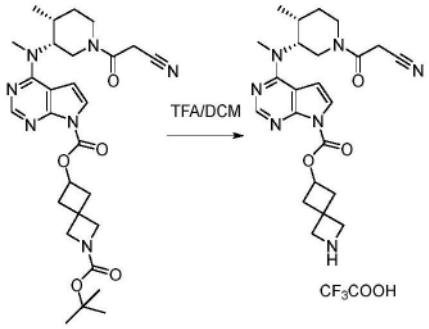
[1266] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-(叔丁氧基羰基)-2-氮杂螺[3.3]庚-6-基酯的制备

[1267] 

[1268] 将三乙胺(1.19mL,8.58mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(812mg,2.6mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(870mg,2.86mmol)于DCM(60mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加6-羟基-2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-甲酸叔丁酯(832mg,3.9mmol)。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=5:1~1:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.58g,产率:40%)。MS(m/z):$C_{28}H_{37}N_7O_5$的[M+H]+计算值,552.65;实验值,552.2。

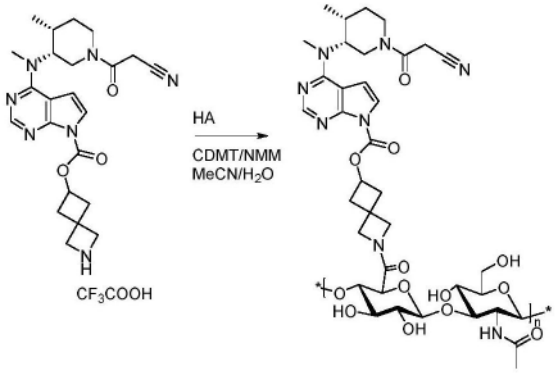
[1269] 步骤2:2-氮杂螺[3.3]庚-6-基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-

基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸三氟乙酸的制备

[1270] 

[1271] 将CF_3COOH(3.3mL)在冰浴下缓慢添加到4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-(叔丁氧基羰基)-2-氮杂螺[3.3]庚-6-基酯(166mg,0.3mmol)于DCM(16.5mL)中的溶液中。使反应混合物温热到室温并且然后在室温下搅拌3小时。将溶液用DCM稀释并且在减压下浓缩以提供呈棕色油状物的标题化合物(0.2g,产率:100%),所述标题化合物无需进一步纯化即可用于下一步骤。MS(m/z):$C_{23}H_{29}N_7O_3$的[M+H]+计算值,452.53;实验值,452.3。

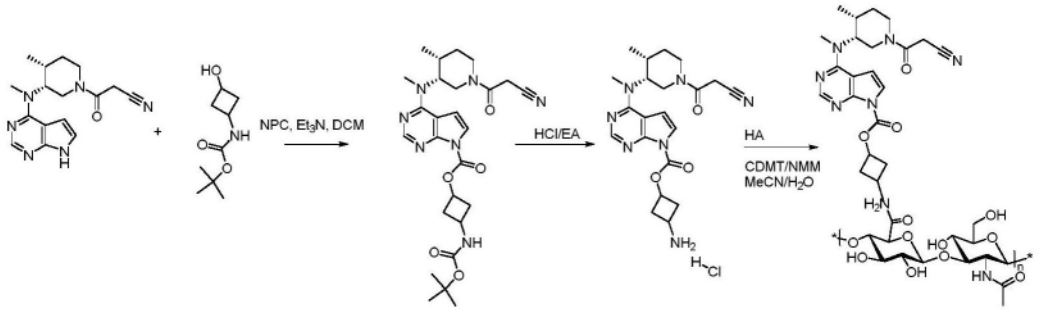
[1272] 步骤3:2-氮杂螺[3.3]庚-6-基-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸与HA的缀合物的制备

[1273] 

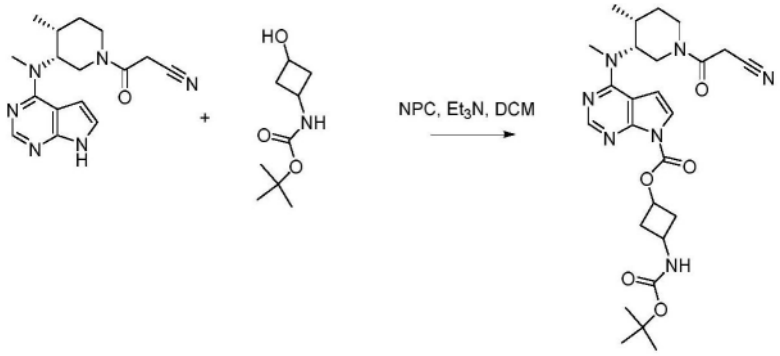
[1274] 将透明质酸溶液(161mg,0.4mmol)溶解于32mL的去离子水中,并且向20mL的乙腈中添加4-甲基吗啉(NMM,28mg,0.28mmol)并且然后将溶液冷却到0℃。添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(166mg,0.6mmol)并且在室温下搅拌1小时。然后添加4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸2-氮杂螺[3.3]庚-6-基酯盐酸盐(157mg,0.28mmol)水溶液(5ml)并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mg,4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 2000KDa,0.14g,产率:61.5%,DS:3%);^1H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.27-8.18(m,0.03H),7.63-7.51(m,0.03H),6.90-6.77(m,0.03H),5.29-5.16(m,0.03H),4.57-4.28(m,2.03H),4.11-2.87(m,10.39H),2.64-2.47(m,0.12H),2.30-1.46(m,3.06H),1.07-0.97(m,0.09H).

[1275] 实施例74

[1276] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基环丁酯与HA的缀合物的制备

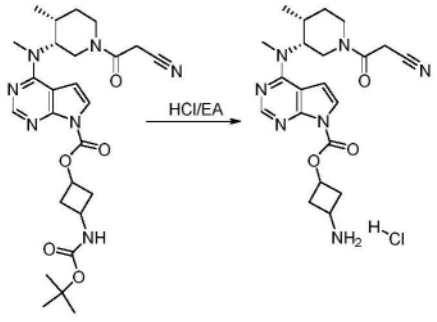
[1277] 

[1278] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯的制备

[1279] 

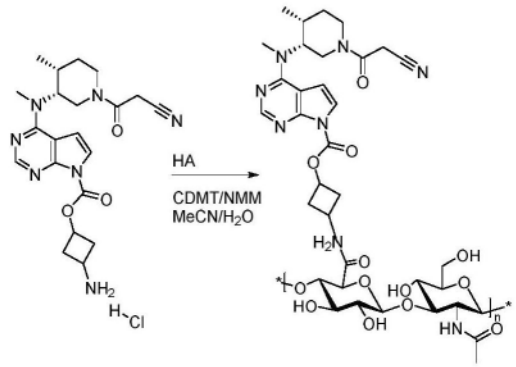
[1280] 将三乙胺(1012mg,1.39mL,10mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1249.5mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DCM(120mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加(3-羟基环丁基)氨基甲酸叔丁酯(1123mg,6mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:10~1:5)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.5g,产率:71.4%)。MS(m/z):$C_{26}H_{35}N_7O_5$的[M+H]+计算值,526.61;实验值,526.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 8.47(d,J=9.3Hz,1H),7.44(dd,J=11.3,4.2Hz,1H),6.64(d,J=4.2Hz,1H),5.19(d,J=33.2Hz,2H),5.05(t,J=6.8Hz,1H),4.04(dd,J=13.2,4.6Hz,1H),3.82(dd,J=13.7,7.4Hz,1H),3.69-3.57(m,1H),3.56-3.44(m,2H),3.37(d,J=18.8Hz,3H),3.09-2.95(m,2H),2.50(dt,J=14.1,6.3Hz,1H),2.18(d,J=10.0Hz,2H),2.01-1.86(m,1H),1.83-1.69(m,1H),1.68-1.53(m,2H),1.45(s,9H),1.08(dd,J=15.2,7.1Hz,3H).

[1281] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基环丁酯盐酸盐的制备

[1282] 

[1283] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(4mL,16mmol)逐滴添加到4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-((叔丁氧基羰基)氨基)环丁酯(0.525g,1mmol)于乙酸乙酯(20mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.46g,产率:99.6%)。MS(m/z):$C_{21}H_{27}N_7O_3$的[M+H]+计算值,426.49;实验值,426.2。

[1284] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基环丁酯与HA的缀合物的制备

[1285] 

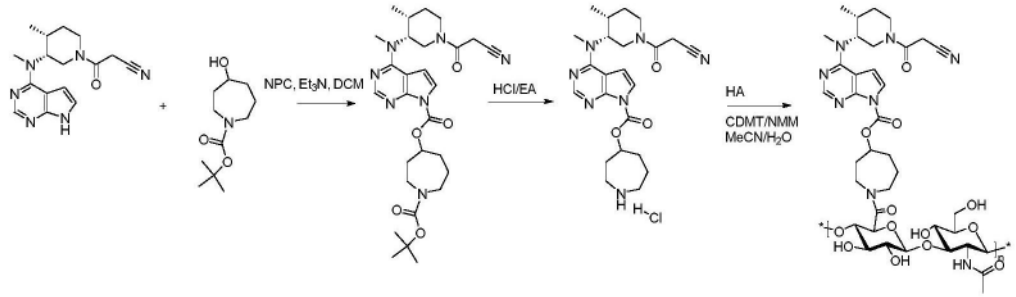
[1286] 将4-甲基吗啉(NMM,50mg,0.5mmol)添加到透明质酸(201mg,0.5mmol)于40mL的去离子水和20mL的乙腈中的溶液中并且然后将溶液冷却到0℃。添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(277.5mg,1mmol)并且然后在室温下搅拌1小时。添加4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸3-氨基环丁酯盐酸盐(231mg,0.5mmol)并且然后在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(439mg,7.5mmol)添加到反应混合物中并搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.31g,产率:78.8%,DS:33%);^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δppm 8.25-8.13(m,0.33H),7.60-7.47(m,0.33H),6.88-6.74(m,0.33H),5.12-4.95(m,0.66H),4.56-4.31(m,2H),4.15-2.88(m,13.3H),2.76-2.61(m,0.33H),2.43-2.19(m,0.66H),2.05-1.41(m,4.32H),1.09-0.80(m,0.99H).

[1287] (透明质酸钠MW 500KDa,0.22g,产率:55.9%,DS:41%)。^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δppm 8.19-8.04(m,0.41H),7.54-7.38(m,0.41H),6.85-6.61(m,0.41H),5.10-4.95(m,0.82H),4.56-4.20(m,2H),4.06-2.70(m,14.1H),2.69-2.49(m,0.41H),2.40-2.15(m,0.82H),2.10-1.44(m,4.64H),1.08-0.68(m,1.23H).

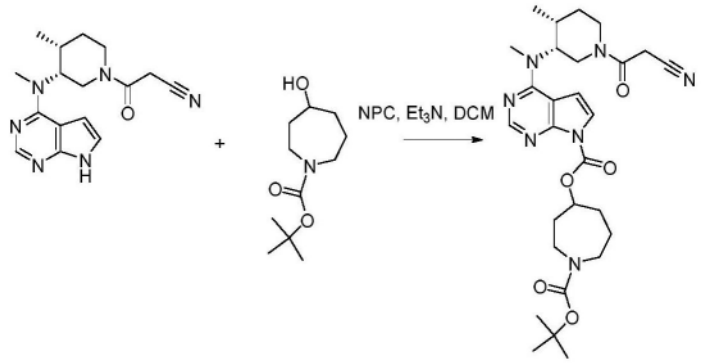
[1288] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.2g,产率:50.8%,DS:49%);^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δppm 8.20-7.89(m,0.49H),7.60-6.98(m,0.49H),6.61-6.54(m,0.49H),5.22-4.87(m,0.98H),4.64-4.26(m,2H),4.16-2.80(m,14.9H),2.78-2.63(m,0.49H),2.48-2.24(m,0.98H),2.07-1.47(m,4.96H),1.11-0.76(m,1.47H).

[1289] 实施例75

[1290] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环庚-4-基酯与HA的缀合物的制备

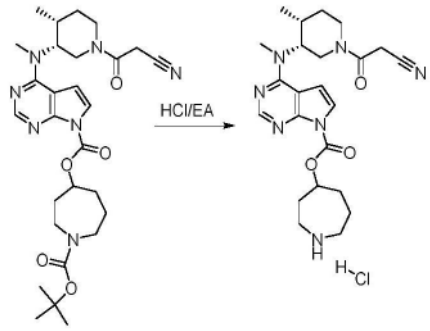
[1291] 

[1292] 步骤1:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸1-(叔丁氧基羰基)氮杂环庚-4-基酯的制备

[1293] 

[1294] 将三乙胺(2.78mL,20mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(937mg,3mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1094mg,3.6mmol)于DCM(30mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到40℃并且在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加4-羟基氮杂环庚烷-1-甲酸叔丁酯(775mg,3.6mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:1~4:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.93g,产率:56%)。MS(m/z):$C_{28}H_{39}N_7O_5$的[M+H]+计算值,554.66;实验值,554.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 8.45(d,J=8.3Hz,1H),7.44(dd,J=12.1,4.1Hz,1H),6.62(d,J=4.0Hz,1H),5.28(s,1H),5.14(s,1H),4.09-3.75(m,2H),3.69-3.28(m,11H),2.59-2.37(m,1H),2.14-1.84(m,6H),1.86-1.71(m,2H),1.48(s,9H),1.08(dd,J=15.2,7.1Hz,3H).

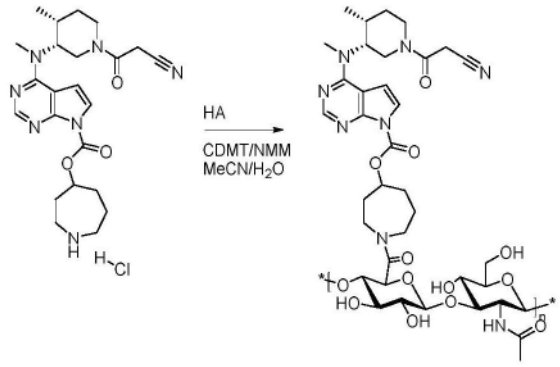
[1295] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环庚-4-基酯盐酸盐的制备

[1296] 

[1297] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(4mL,16mmol)逐滴添加到4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸

1-(叔丁氧基羰基)氮杂环庚-4-基酯(0.63g,1.14mmol,1当量)于乙酸乙酯(12mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.55g,产率:98.5%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{23}H_{31}N_7O_3$的[M+H]+计算值,454.55;实验值,454.2。

[1298] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环庚-4-基酯与HA的缀合物的制备

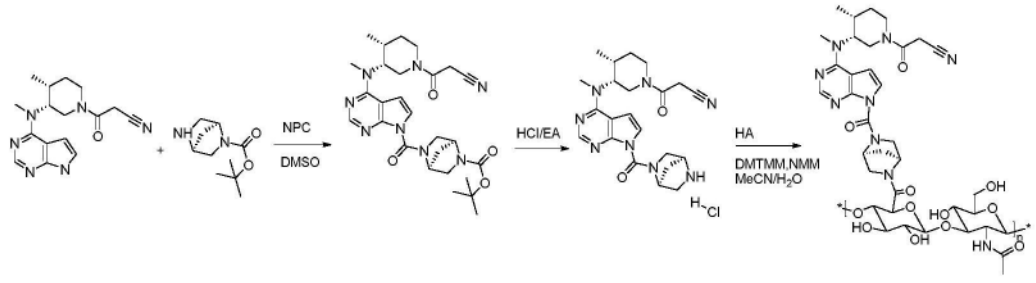
[1299] 

[1300] 将4-甲基吗啉(NMM,50mg,0.5mmol)添加到透明质酸(201mg,0.5mmol羧酸)于40mL的去离子水和20mL的乙腈中的溶液中并且然后将溶液冷却到0℃。添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(207.5mg,0.75mmol)并且在室温下搅拌1小时。将溶液与4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酸氮杂环庚-4-基酯盐酸盐(245mg,0.5mmol)混合并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(439mg,7.5mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.18g,产率:44.2%,DS:12%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ ppm 8.31-8.13(m,0.12H),7.59-7.42(m,0.12H),6.89-6.76(m,0.12H),5.28-5.16(m,0.24H),4.60-4.30(m,2H),4.14-3.04(m,11.56H),2.47-2.34(d,J=31.1Hz,0.12H),2.19-1.49(m,3.96H),1.10-0.91(m,0.36H).

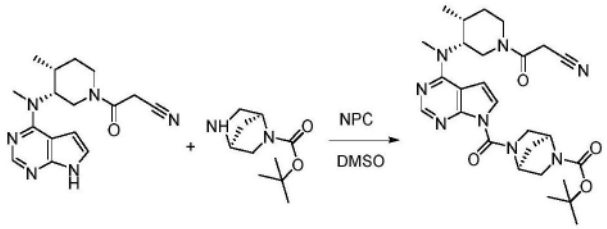
[1301] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.16g,产率:39.3%,DS:18%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ ppm 8.29-8.17(m,0.18H),7.57-7.41(m,0.18H),6.86-6.74(m,0.18H),5.29-5.16(m,0.36H),4.56-4.25(m,2H),4.13-2.77(m,12.34H),2.46-2.31(d,J=31.1Hz,0.18H),2.19-1.36(m,4.44H),1.08-0.82(m,0.54H).

[1302] 实施例76

[1303] 3-((3R,4R)-3-((7-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

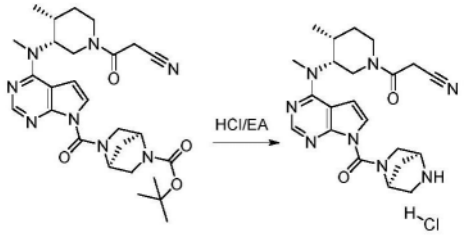
[1304] 

[1305] 步骤1:(1S,4S)-5-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯的制备

[1306] 

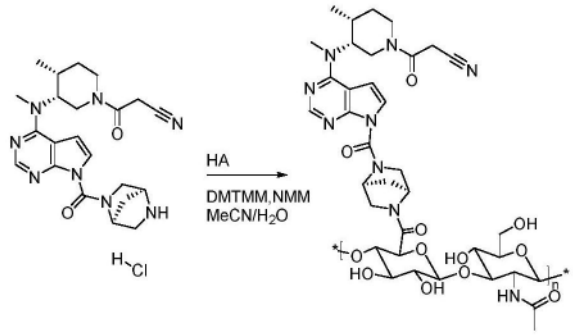
[1307] 在室温下将3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1250mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DMSO(25mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加(1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(992mg,5mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=50:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(2g,产率:93.1%)。MS(m/z):$C_{27}H_{36}N_8O_4$的[M+H]+计算值,537.64;实验值,537.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ8.30(d,J=5.9Hz,1H),7.30(d,J=9.4Hz,1H),6.74-6.52(m,1H),5.10(s,1H),4.68(d,J=124.9Hz,2H),4.17-4.02(m,1H),3.81(d,J=53.0Hz,3H),3.66-3.24(m,9H),2.59-2.45(m,1H),1.96(qd,J=11.8,9.6,7.0Hz,2H),1.77(s,2H),1.46(s,9H),1.11(dd,J=10.0,7.1Hz,3H).

[1308] 步骤2:3-((3R,4R)-3-((7-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈盐酸盐的制备

[1309] 

[1310] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(2mL,8mmol)逐滴添加到(1S,4S)-5-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(0.52g,0.97mmol)于乙酸乙酯(10mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.45g,产率:98.2%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{22}H_{28}N_8O_2$的[M+H]+计算值,437.52;实验值,437.3。

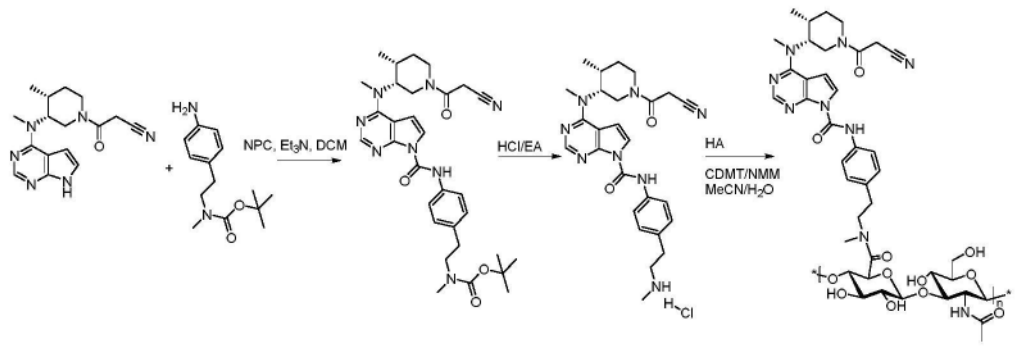
[1311] 步骤3:3-((3R,4R)-3-((7-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

[1312] 

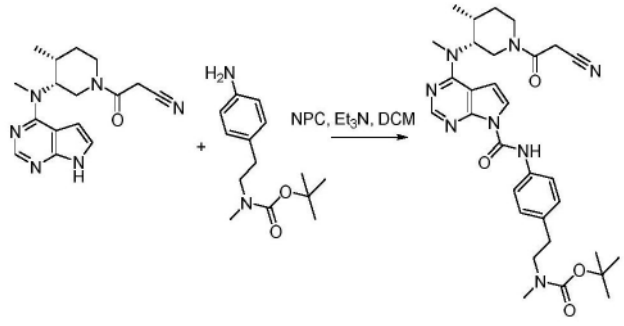
[1313] 将透明质酸钠(161mg,0.4mmol)溶解于100mL圆底烧瓶中的32mL的去离子水中,随后在搅拌时逐滴添加21mL的乙腈。在室温下将3-((3R,4R)-3-((7-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈盐酸盐(132mg,0.28mmol)和4-甲基吗啉(NMM,28mg,0.28mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mg,4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 2000KDa,0.19g,产率:59.5%,DS:29%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.23-8.08(m,0.29H),7.36-7.21(m,0.29H),6.85-6.73(m,0.29H),4.65-4.30(m,2.29H),4.10-2.72(m,14.35H),2.47-2.33(m,0.29H),2.03-1.44(m,2.58H),1.14-0.86(m,0.87H)

[1314] 实施例77

[1315] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(2-(甲基氨基)乙基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

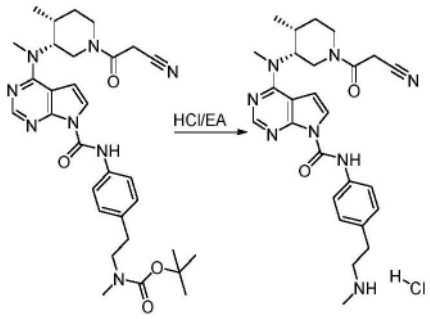
[1316] 

[1317] 步骤1:(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1318] 

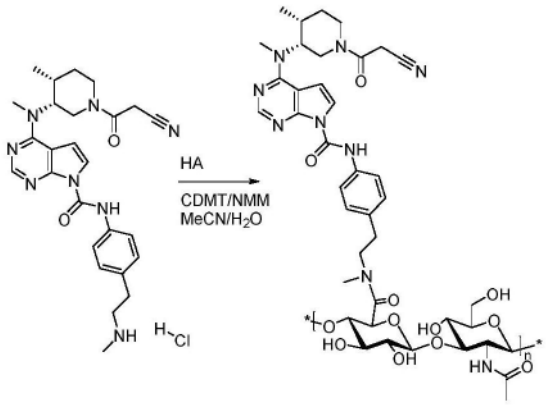
[1319] 将三乙胺(2330mg,3.2mL,23mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(3442mg,11mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(3352mg,11mmol)于DCM(103mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加(4-氨基苯乙基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(2300mg,9.19mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:2~4:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(2.9g,产率:53.7%)。MS(m/z):$C_{31}H_{40}N_8O_4$的[M+H]+计算值,589.71;实验值,589.2。

[1320] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(2-(甲基氨基)乙基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[1321] 

[1322] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(8mL,32mmol)逐滴添加到(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)(甲基)氨基甲酸叔丁酯(0.588g,1mmol,1当量)于乙酸乙酯(20mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.48g,产率:98.3%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{26}H_{32}N_8O_2$的[M+H]+计算值,489.60;实验值,489.3。

[1323] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(2-(甲基氨基)乙基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1324] 

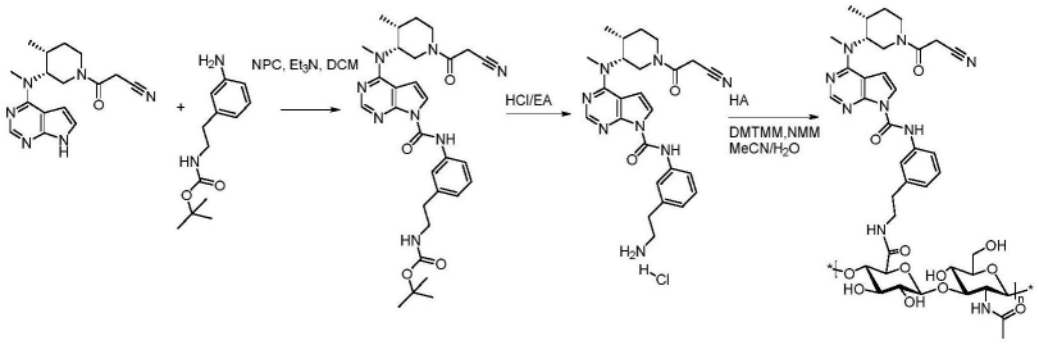
[1325] 将4-甲基吗啉(NMM,21mg,0.21mmol)添加到透明质酸(121mg,0.3mmol)于24mL的去离子水和14mL的乙腈中的溶液中并且然后将溶液冷却到0℃。添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(83mg,0.3mmol)并且在室温下搅拌1小时。添加4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(2-(甲基氨基)乙基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]

嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(110mg,0.21mmol)并且在室温下搅拌72小时。将NaCl(175.5mg,3mmol)添加到反应混合物中并且搅拌1小时。在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)并且然后将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.22g,产率:86.3%,DS:30%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.04-7.93(m,0.3H),7.65-7.09(m,1.20H),6.87-6.63(m,0.60H),4.54-4.28(m,2.30H),4.04-2.64(m,14.8H),2.32-2.14(m,0.30H),2.04-1.41(m,3.60H),1.07-0.82(m,0.90H)

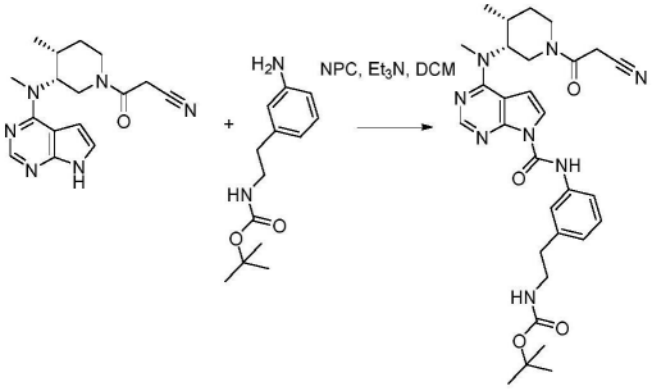
[1326] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.13g,产率:51%,DS:15%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.02-7.87(m,0.15H),7.34-6.88(m,0.60H),6.79-6.36(m,0.30H),4.55-4.14(m,2.15H),4.07-2.51(m,12.4H),2.36-2.22(m,0.15H),1.87(s,3H),1.47-1.37(m,0.30H),1.05-0.80(m,0.45H)

[1327] 实施例78

[1328] N-(3-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

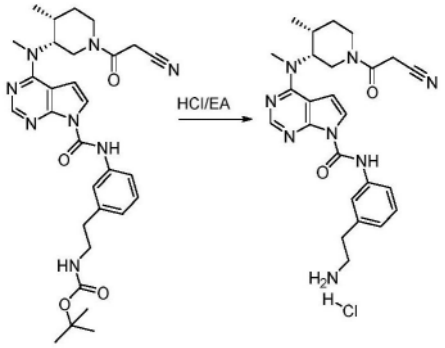
[1329] 

[1330] 步骤1:(3-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1331] 

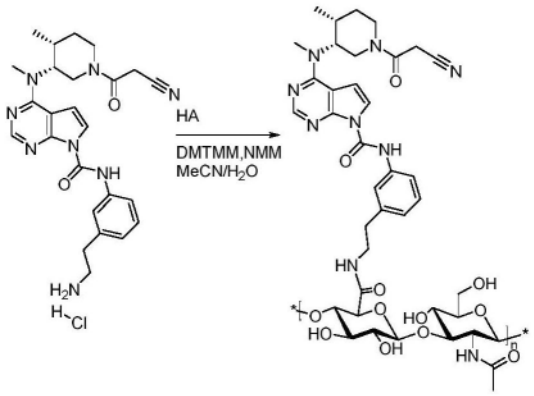
[1332] 将三乙胺(1.3mL,9.5mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1190mg,3.81mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1390mg,4.57mmol)于DCM(24mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌6小时。将反应混合物冷却到室温并且添加(3-氨基苯乙基)氨基甲酸叔丁酯(900mg,3.81mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将混合物用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:2~4:5)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.687g,产率:31.4%)。MS(m/z):$C_{30}H_{38}N_8O_4$的[M+H]+计算值,575.69;实验值,575.2.

[1333] 步骤2:N-(3-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[1334] 

[1335] 将含4M HCl的乙酸乙酯(2.64mL)在冰浴下缓慢添加到N-(3-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺叔丁酯盐酸盐(0.66g,1.15mmol)于EtOAc(13.2mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物温热到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.55g,产率:93.5%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{25}H_{30}N_8O_2$的[M+H]+计算值,475.57;实验值,475.2。

[1336] 步骤3:N-(3-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1337] 

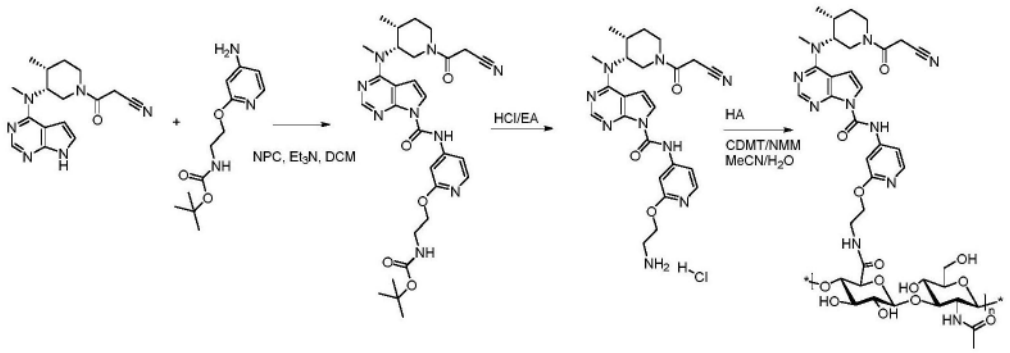
[1338] 在室温下将N-(3-(2-氨基乙基)苯基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(143mg,0.28mmol)和4-甲基吗啉(NMM、28mg,0.28mmol)添加到透明质酸钠(161mg,0.4mmol,MW 50KDa)于32mL的去离子水和21mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mg,4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.234g,产率:70%,DS:50%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ7.99-7.85(m,0.50H),7.22-6.88(m,2H),6.66-6.42(m,1H),4.53-4.25(m,2.5H),4.09-2.44(m,16.5H),2.31-2.22(m,0.5H),2.02-1.70(m,3H),1.67-1.36(m,1H),0.99-0.83(m,1.5H).

[1339] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.229g,产率:68.5%,DSR:40%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ7.98-7.83(m,0.40H),7.22-6.89(m,1.6H),6.67-6.38(m,0.8H),4.51-4.23(m,2.40H),

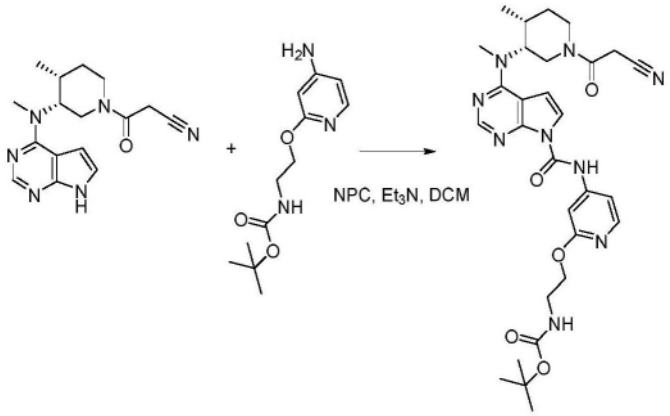
4.08-2.42(m,15.2H),2.31-2.15(m,0.40H),2.01-1.70(m,3H),1.65-1.35(m,0.80H),0.96-0.80(m,1.20H).

[1340] 实施例79

[1341] N-(2-(2-氨基乙氧基)吡啶-4-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

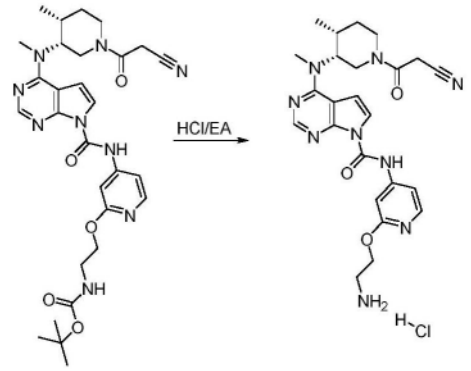
[1342] 

[1343] 步骤1:(2-((4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)吡啶-2-基)氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1344] 

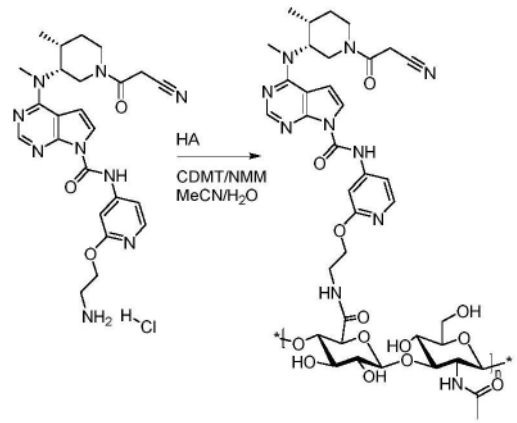
[1345] 将三乙胺(1.3mL,9.5mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1190mg,3.81mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1390mg,4.57mmol)于DCM(24mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加(2-((4-氨基吡啶-2-基)氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(964mg,3.81mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:2~4:5)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.45g,产率:19.9%)。MS(m/z):$C_{29}H_{37}N_9O_5$的[M+H]+计算值,592.67;实验值,592.3。

[1346] 步骤2:N-(2-(2-氨基乙氧基)吡啶-4-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[1347] 

[1348] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(1.8mL,7.2mmol)逐滴添加到(2-((4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)吡啶-2-基)氧基)乙基)氨基甲酸叔丁酯(450mg,0.76mmol)于乙酸乙酯(9mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.4g,产率:99.7%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{24}H_{29}N_9O_3$的[M+H]+计算值,492.56;实验值,492.3。

[1349] 步骤3:N-(2-(2-氨基乙氧基)吡啶-4-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1350] 

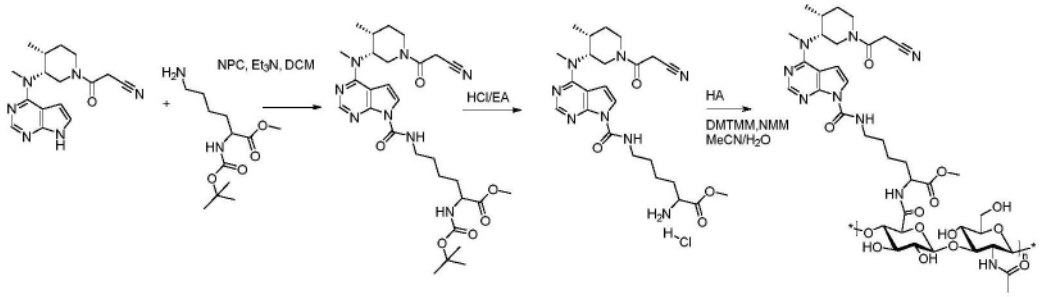
[1351] 在0℃下将4-甲基吗啉(0.058g,0.38mmol,1.5当量)和2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(0.067g,0.38mmol,1当量)添加到透明质酸钠(0.153g,0.38mmol,1当量)于乙腈(22mL)和H_2O(30mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌1小时。将N-(2-(2-氨基乙氧基)吡啶-4-基)-4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.2g,0.38mmol)添加到反应混合物中并且然后用4-甲基吗啉将反应混合物的pH调整到6.5至7。将所得反应混合物在室温下搅拌3天。将含NaCl(222mg,10当量)的H_2O(2mL)添加到上述反应混合物中并搅拌0.5小时。然后将丙酮(350mL)逐滴添加到上述混合物中,同时形成沉淀物。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.167g,产率:51.6%,DSR:18%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.52-8.19(m,0.18H),7.87-7.34(m,0.54H),7.08-6.68(m,0.36H),4.63-4.31(m,2.18H),4.13-2.93(m,12.34H),2.50-2.29(m,0.18H),2.22-1.52(m,3.36H),1.14-0.86(m,0.54H).

[1352] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.137g,产率:42.3%,DSR:30%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ

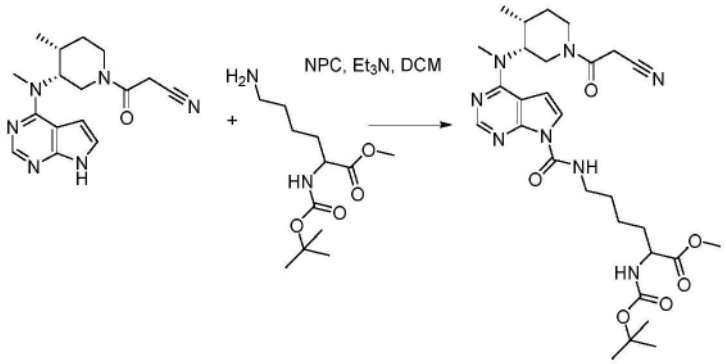
8.42-8.28(m,0.30H),7.86-7.45(m,0.90H),7.12-6.77(m,0.60H),4.59-4.29(m,2.30H),4.13-2.82(m,13.90H),2.47-2.29(m,0.30H),2.03-1.47(m,3.60H),1.06-0.85(m,0.90H).

[1353] 实施例80

[1354] N^6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

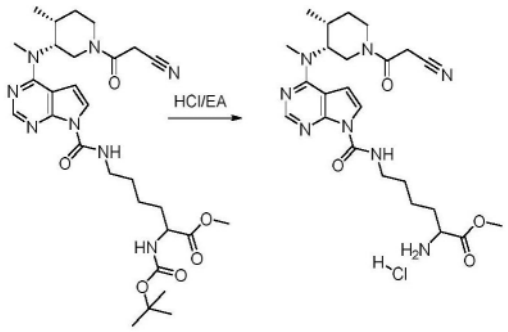
[1355] 

[1356] 步骤1:N^2-(叔丁氧基羰基)-N^6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)赖氨酸甲酯的制备

[1357] 

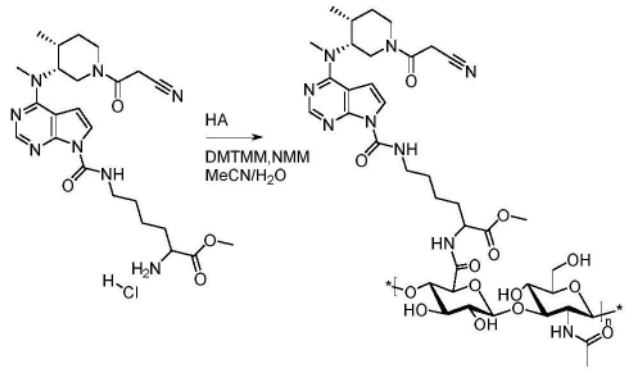
[1358] 将三乙胺(1265mg,1.7mL,12.5mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1561mg,5mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1824mg,6mmol)于DCM(46mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌16小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加(叔丁氧基羰基)赖氨酸甲酯(1300mg,5mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:已烷=1:5~3:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.6g,产率:20%)。MS(m/z):$C_{29}H_{42}N_8O_6$的[M+H]+计算值,599.71;实验值,599.2。

[1359] 步骤2:N^6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)赖氨酸甲酯盐酸盐的制备

[1360] 

[1361] 将含4M HCl的乙酸乙酯(2.7mL)在冰浴下缓慢添加到N^2-(叔丁氧基羰基)-N6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)赖氨酸(0.6g,1mmol)于EtOAc(30mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物温热到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.528g,产率:98.8%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{24}H_{34}N_8O_4$的[M+H]+计算值,499.59;实验值,499.2。

[1362] 步骤3:N^6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

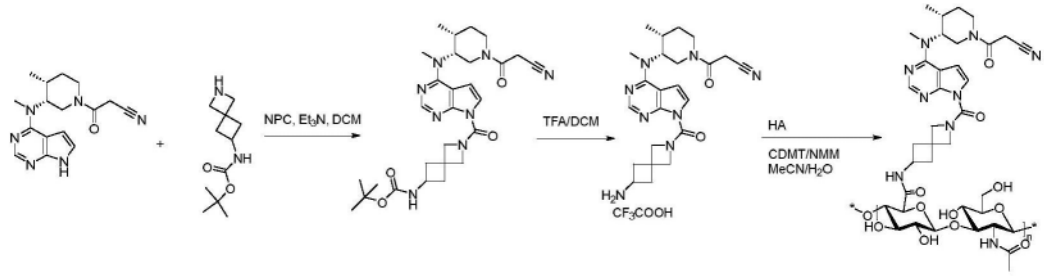
[1363] 

[1364] 在室温下将N^6-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)赖氨酸甲酯盐酸盐(150mg,0.28mmol)和4-甲基吗啉(NMM,28mg,0.28mmol)添加到透明质酸钠(161mg,0.4mmol)于32mL和21mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mg,4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.21g,产率:61.1%,DS:29%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.00-7.43(m,0.29H),7.29-6.64(m,0.29H),6.44-5.78(m,0.29H),4.63-4.22(m,2.29H),4.12-2.67(m,14.35H),2.44-1.29(m,4.32H),1.12-0.81(m,0.87H).

[1365] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.19g,产率:55.2%,DSR:52%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.00-7.53(m,0.52H),7.31-6.67(m,0.52H),6.43-5.87(m,0.52H),4.62-4.18(m,2.52H),4.10-2.52(m,17.80H),2.41-1.29(m,7.16H),1.11-0.78(m,1.56H).

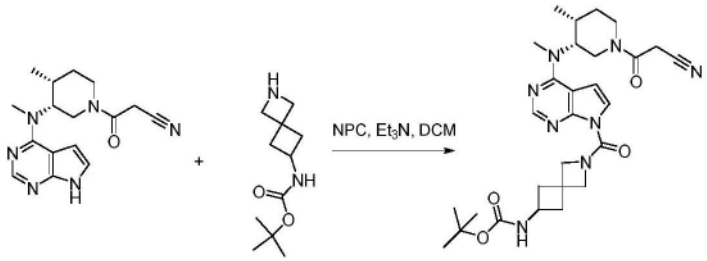
[1366] 实施例81

[1367] 3-((3R,4R)-3-((7-(6-氨基-2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

[1368] 

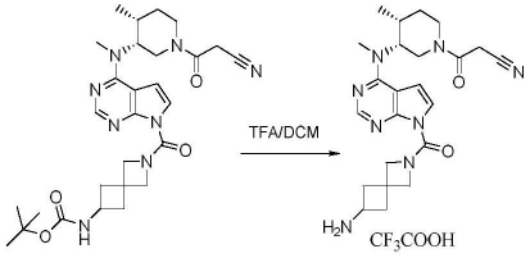
[1369] 步骤1:(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-

7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-2-氮杂螺[3.3]庚-6-基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1370] 

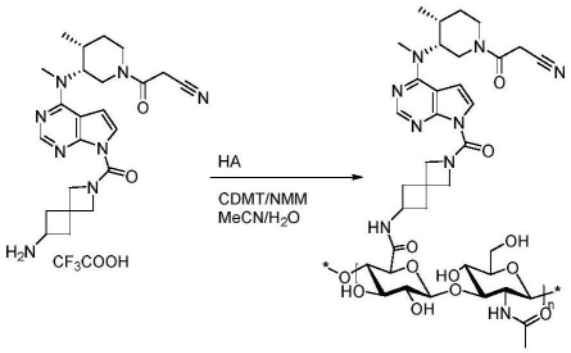
[1371] 将三乙胺(1012mg,1.39mL,10mmol)添加到3-[(3R,4R)-4-甲基-3-[甲基(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)氨基]-1-哌啶基]-3-氧代-丙腈(1249.5mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DCM(120mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌6小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加(2-氮杂螺[3.3]庚-6-基)氨基甲酸叔丁酯(938mg,4.4mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(EtOAc:己烷=1:20～1:7)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.5g,产率:68.1%)。MS(m/z):$C_{28}H_{38}N_8O_4$的[M+H]+计算值,551.66;实验值,551.2。

[1372] 步骤2:3-((3R,4R)-3-((7-(6-氨基-2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈三氟乙酸的制备

[1373] 

[1374] 将CF_3COOH(2mL)在冰浴下缓慢添加到(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-2-氮杂螺[3.3]庚-6-基)氨基甲酸叔丁酯(275mg,0.5mmol)于DCM(10mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物冷却到室温并且然后在室温下搅拌4小时。将溶液用DCM稀释并且在减压下浓缩以提供呈棕色油状物的标题化合物(0.26g,产率:78%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{23}H_{30}N_8O_2$的[M+H]+计算值,451.55;实验值,451.3。

[1375] 步骤3:3-((3R,4R)-3-((7-(6-氨基-2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈与HA的缀合物的制备

[1376] 

[1377] 将4-甲基吗啉(NMM,36mg,0.35mmol)添加到透明质酸(201mg,0.5mmol)于40mL的

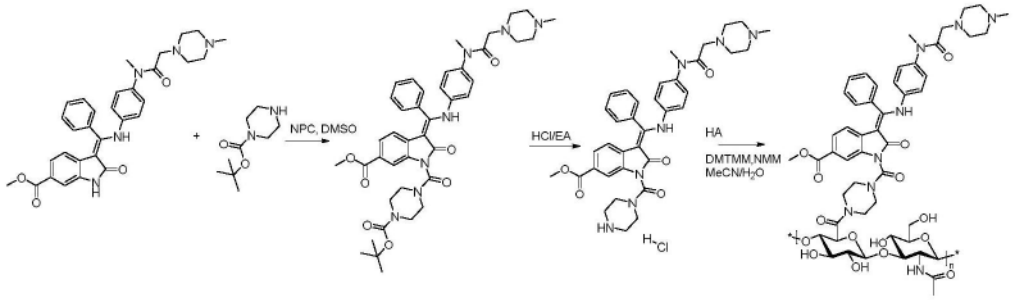
去离子水和ACN(17ml)中的溶液中。然后将溶液冷却到0℃,并且添加2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(201mg,0.5mmol)并且在室温下搅拌1小时。将溶液与3-((3R,4R)-3-((7-(6-氨基-2-氮杂螺[3.3]庚烷-2-羰基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)(甲基)氨基)-4-甲基哌啶-1-基)-3-氧代丙腈三氟乙酸(197mg,0.35mmol)混合并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(292.5mg,5mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(300mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。

[1378] (透明质酸钠,MW 50KDa,0.21g,产率:51.7%,DS:15%);^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δ8.24-8.15(m,0.15H),7.35-7.22(m,0.15H),6.90-6.71(m,0.15H),4.61-4.37(m,2.15H),4.33-3.11(m,12.1H),2.77-2.51(m,0.30H),2.48-2.30(m,0.15H),2.11-1.60(m,3.6H),1.09-0.87(m,0.45H).

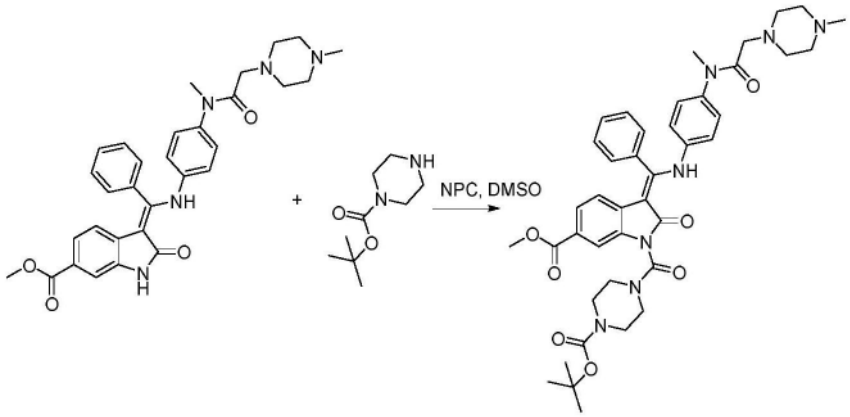
[1379] (透明质酸钠MW 2000KDa,0.2g,产率:49.3%,DSR:11%);^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δ8.26-7.99(m,0.11H),7.36-7.17(m,0.11H),6.88-5.73(m,0.11H),4.62-4.35(m,2.11H),4.34-3.04(m,11.54H),2.73-2.52(m,0.22H),2.46-2.29(m,0.11H),2.12-1.54(m,3.44H),1.11-0.81(m,0.33H).

[1380] 实施例82

[1381] (Z)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-6-甲酸甲酯与HA的缀合物的制备

[1382] 

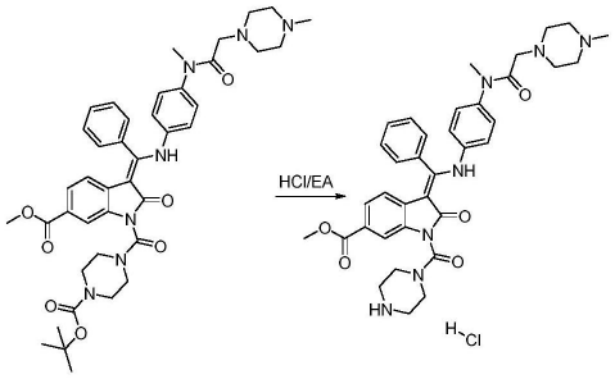
[1383] 步骤1:(Z)-1-(4-(叔丁氧基羰基)哌嗪-1-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯的制备

[1384] 

[1385] 在室温下将(3Z)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(1079mg,2mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(668.8mg,2.2mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加肼甲酸叔丁酯

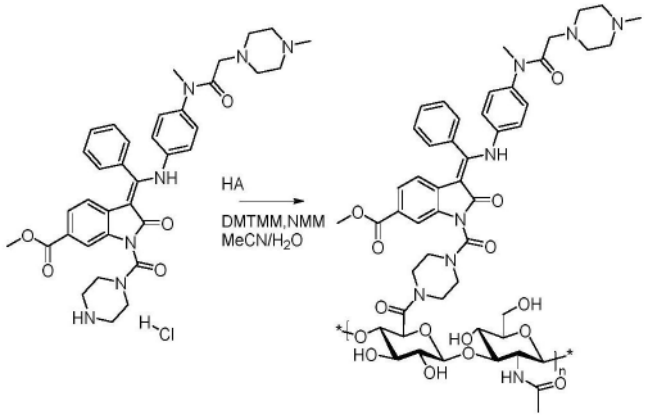
(264.3mg,2mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=8:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.5g,产率:35.8%)。MS(m/z):$C_{41}H_{49}N_7O_7$的[M+H]+计算值,752.89;实验值,752.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 12.08(s,1H),7.58(dt,J=14.8,7.2Hz,3H),7.45(dd,J=13.8,6.9Hz,3H),6.98(d,J=8.2Hz,2H),6.80(d,J=8.2Hz,2H),5.97(d,J=8.3Hz,1H),3.85(s,12H),3.18(s,3H),2.85(d,J=36.9Hz,4H),2.51(d,J=21.2Hz,8H),1.49(s,9H).

[1386] 步骤2:(Z)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐的制备

[1387] 

[1388] 将含4M HCl的乙酸乙酯(1.6mL)在冰浴下缓慢添加到(Z)-1-(4-(叔丁氧基羰基)哌嗪-1-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯(0.4g,0.57mmol)于EtOAc(4mL)中的搅拌溶液中。使反应混合物温热到室温并且然后在室温下搅拌16小时。将溶液用EtOAc稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.36g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{36}H_{41}N_7O_5$的[M+H]+计算值,652.77;实验值,652.2。

[1389] 步骤3:(Z)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-6-甲酸甲酯与HA的缀合物的制备

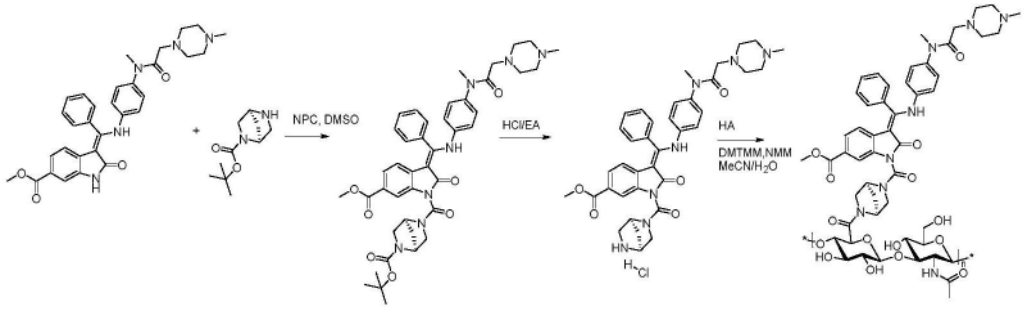
[1390] 

[1391] 在室温下将(3Z)-1-(肼羰基)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐(150mg,0.236mmol)和4-甲基吗啉(NMM,23.9mg,0.236mmol)添加到透明质酸钠(136mg,0.337mmol)于30mL的去离子水和19.5mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。添加4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,93mg,0.337mmol)并且在室温下搅拌72小

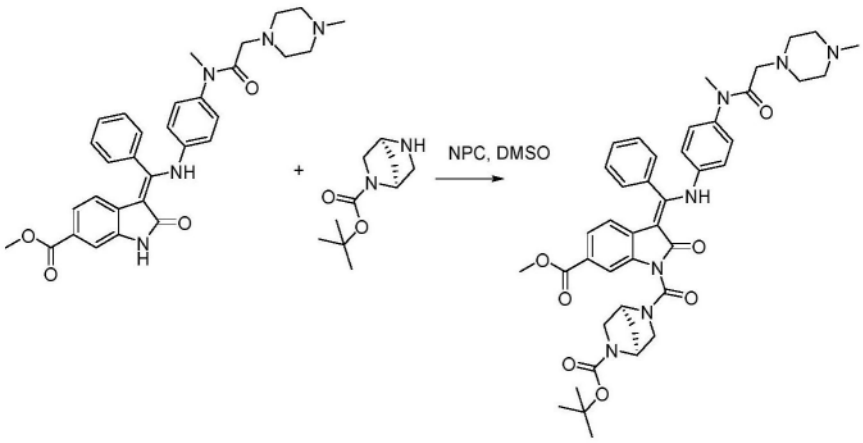
时。然后将NaCl(197mg,3.37mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。透明质酸钠MW 50KDa,0.153g,产率:44.8%,DS:12%;^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δ7.70-7.18(m,0.84H),7.10-6.79(m,0.36H),5.99-5.76(m,0.12H),4.59-4.30(m,2H),4.06-2.62(m,12.28H),2.34-2.12(m,0.96H),2.07-1.67(m,3H).

[1392] 实施例83

[1393] (Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯与HA的缀合物的制备

[1394] 

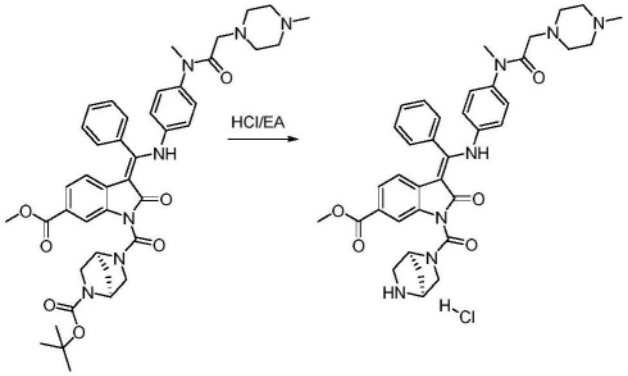
[1395] 步骤1:(Z)-1-((1S,4S)-5-(叔丁氧基羰基)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯的制备

[1396] 

[1397] 在室温下将(3Z)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(1349mg,2.5mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(912mg,3mmol)于DMSO(27mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加(1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(620mg,3.125mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=20:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.15g,产率:60.3%)。MS(m/z):$C_{42}H_{49}N_7O_7$的[M+H]+计算值,764.90;实验值,764.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ12.08(s,1H),7.91(d,J=15.4Hz,1H),7.65-7.51(m,3H),7.42(dt,J=24.9,7.1Hz,3H),6.99(dd,J=8.2,4.9Hz,2H),6.79(t,J=7.8Hz,2H),5.96(dd,J=8.3,5.2Hz,1H),4.93(s,1H),4.61(s,1H),3.81(d,J=38.8Hz,5H),3.51(s,2H),3.18(s,3H),2.78(s,2H),

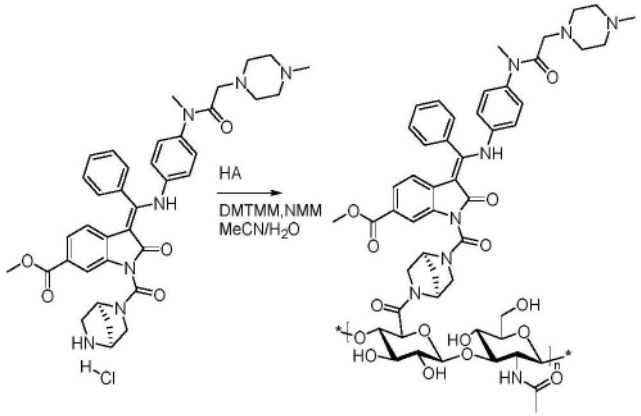
2.41(s,7H),2.12-1.88(m,5H),1.49(m,9H).

[1398] 步骤2:(Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐的制备

[1399] 

[1400] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(2.4mL,9.6mmol)逐滴添加到(Z)-1-((1S,4S)-5-(叔丁氧基羰基)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯(600mg,0.786mmol)于乙酸乙酯(12mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(540mg,产率:98%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{37}H_{41}N_7O_5$的[M+H]+计算值,664.32;实验值,664.3。

[1401] 步骤3:(Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯与HA的缀合物的制备

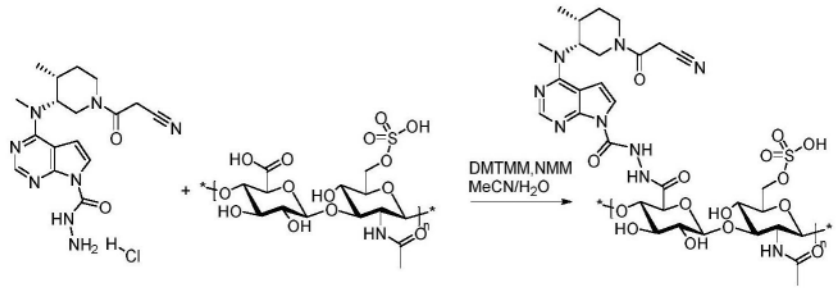
[1402] 

[1403] 在室温下将(Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐(56mg,0.08mmol)和4-甲基吗啉(NMM,8mg,0.08mmol)添加到透明质酸钠(161mg,0.4mmol)于32mL的去离子水和21mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mg,4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤。收集滤饼,用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW

50KDa,0.169g,产率:41.2%,DSR:14%);^{1}H NMR(400MHz,氧化氘)δ7.69-7.22(m,0.84H),7.21-6.78(m,0.56H),5.93-5.82(m,0.14H),4.96-4.79(m,0.14H),4.50-4.16(m,2.14H),4.00-2.49(m,12.66H),2.30-2.16(m,0.7H),2.00-1.52(m,3H).

[1404] 实施例84

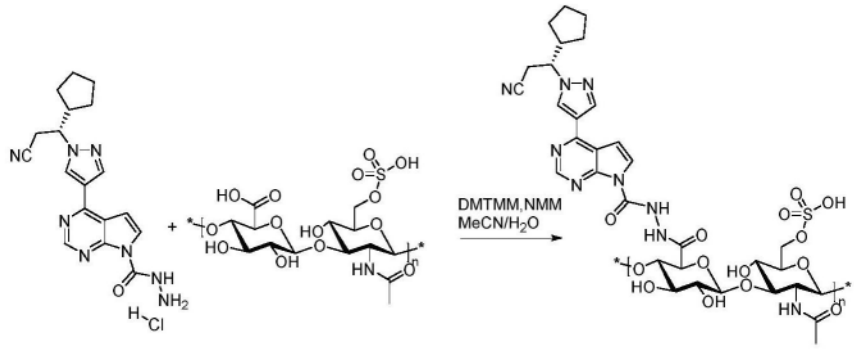
[1405] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与硫酸软骨素的缀合物的制备

[1406] 

[1407] 将硫酸软骨素(231.5mg,0.5mmol)溶解于40mL的去离子和26mL的乙腈中。在室温下将4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼(129.5mg,0.35mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,138mg,0.5mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(293mg,5mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.23g,产率:55.5%,DSR:19%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm 8.32 -8.24(m,0.19H),7.67-7.58(m,0.19H),6.89-6.79(m,0.19H),4.64 -4.33(m,2.19H),4.26-3.19(m,11.71H),2.05-1.44(m,3.57H),1.16-0.83(m,0.57H).

[1408] 实施例85

[1409] 4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与硫酸软骨素的缀合物的制备

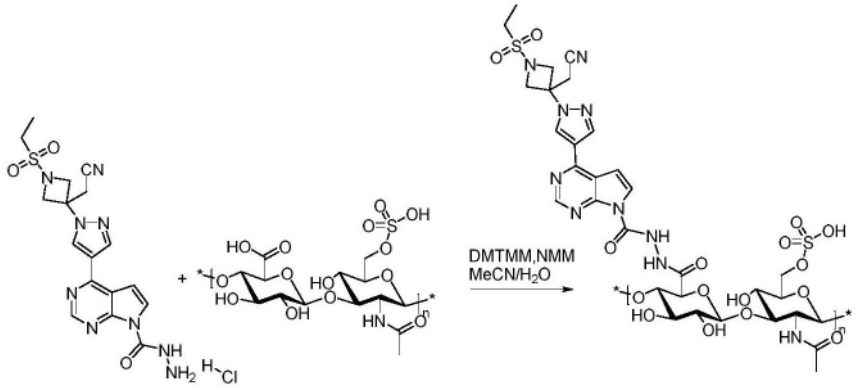
[1410] 

[1411] 将硫酸软骨素(266mg,0.58mmol)溶解于50mL的去离子水和25mL的乙腈中。在室温下将4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼(230mg,0.58mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,189mg,0.68mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(339mg,5.8mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒

精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.135g,产率:28.9%,DSR:7%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm 8.94 -8.57(m,0.14H),8.44 -8.34(m,0.07H),8.03-7.88(m,0.07H),7.39-7.29(m,0.07H),4.67 -4.34(m,2.07H),4.33-3.04(m,10.14H),2.23-1.78(m,3.14H),1.77-1.26(m,0.56H).

[1412] 实施例86

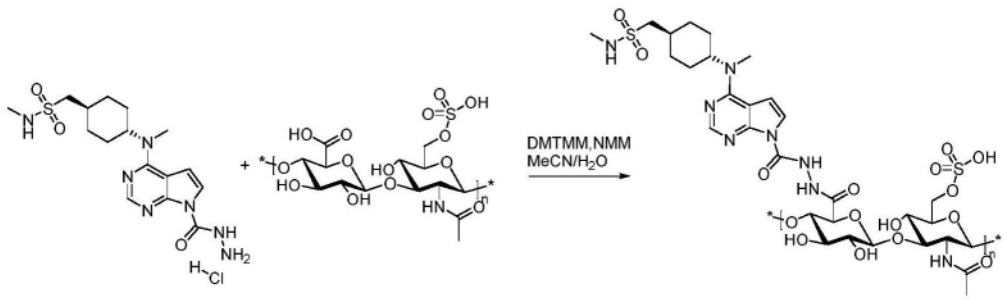
[1413] 4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与硫酸软骨素的缀合物的制备

[1414] 

[1415] 将硫酸软骨素(200mg,0.43mmol)溶解于40mL的去离子水和20mL的乙腈中。在室温下将4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼(200mg,0.43mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,141mg,0.51mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(252mg,4.3mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.177g,产率:47.3%,DSR:3%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm 9.06 -8.86(m,0.06H),8.50 -8.42(m,0.03H),8.14-8.06(m,0.03H),7.51-7.31(m,0.03H),4.62 -4.28(m,2.12H),4.24-3.05(m,10.12H),2.55-1.57(m,3.09H).

[1416] 实施例87

[1417] 1-[4-[[7-(肼羰基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]环己基]-N-甲基-甲磺酰胺与硫酸软骨素的缀合物的制备

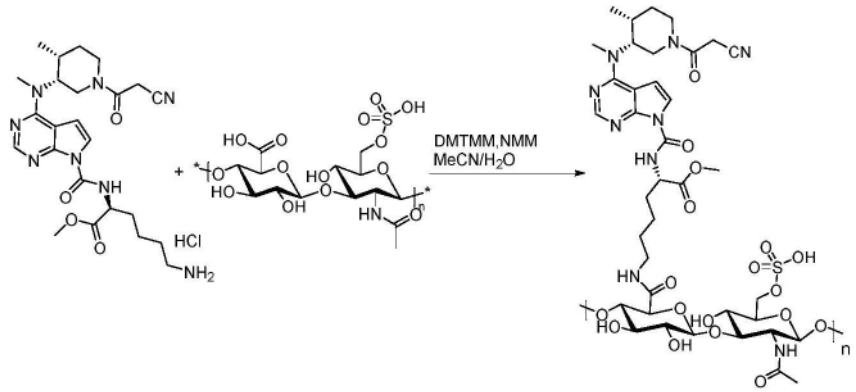
[1418] 

[1419] 在搅拌时将硫酸软骨素(250mg,0.54mmol)溶解于50mL的去离子水和25mL的乙腈中。在室温下将1-[4-[[7-(肼羰基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基]-甲基-氨基]环己基]-N-甲基-甲磺酰胺(230mg,0.54mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,175mg,0.54mmol)添加到

溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(316mg,5.4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.314g,产率:69.5%,DSR:16%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm 8.44 -8.35(m,0.16H),7.91-7.80(m,0.16H),7.04-6.92(m,0.16H),4.64 -4.36(m,2H),4.35-3.05(m,10.48H),3.03-2.92(m,0.32H),2.77-2.60(m,0.48H),2.56-2.39(m,0.16H),2.20-1.58(m,3.8H),1.49-1.30(m,0.64H).

[1420] 实施例88

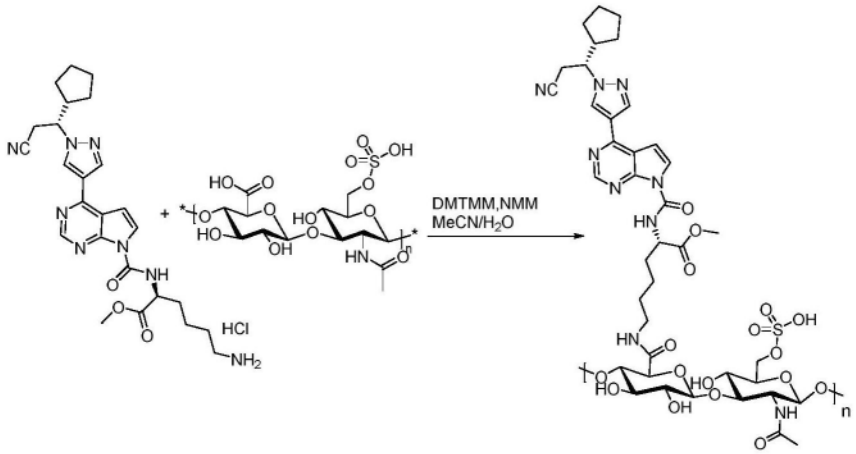
[1421] (4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯与硫酸软骨素的缀合物的制备

[1422] 

[1423] 在搅拌时将硫酸软骨素(231.5mg,0.5mmol)溶解于46mL的去离子水和23mL的乙腈中。在室温下将(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)-L-赖氨酸甲酯(187mg,0.35mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,145mg,0.53mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(293mg,5mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.23g,产率:48.1%,DSR:35%)。^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.20-7.68(m,0.35H),7.33-6.95(m,0.35H),6.47-6.02(m,0.35H),4.80-4.18(m,2.35H),4.11-2.78(m,15.25H),2.33-1.16(m,5.8H),1.11-0.78(m,1.05H).

[1424] 实施例89

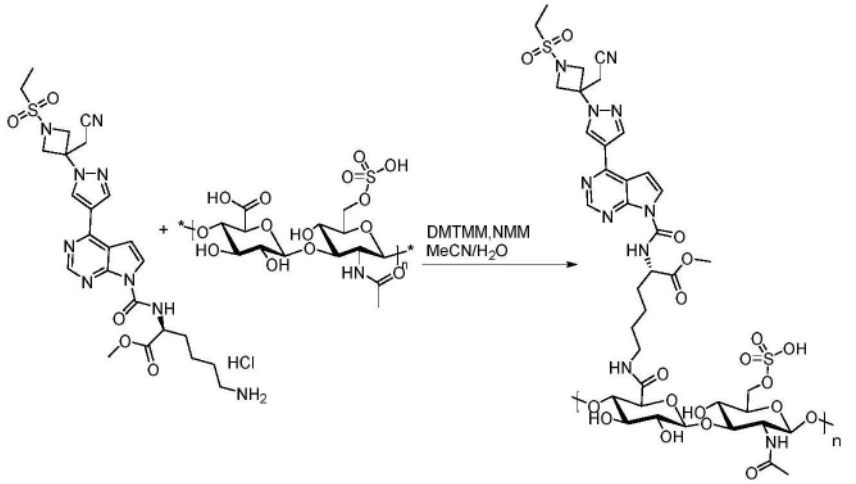
[1425] (2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯与硫酸软骨素的缀合物的制备

[1426] 

[1427] 在搅拌时将硫酸软骨素(184mg,0.4mmol)溶解于42mL的去离子水和21mL的乙腈中。在室温下将(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[(1R)-2-氰基-1-环戊基-乙基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯(210mg,0.4mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,130mg,0.47mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mg,4mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(0.153g,产率:39%,DS:5%)^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm 8.96 -8.8(m,0.1H),8.44 -8.34(m,0.05H),8.05-7.92(m,0.05H),7.40-7.27(m,0.05H),4.62 -4.36(m,2.1H),4.29-3.03(m,10.25H),3.02-2.9(m,0.1H),2.47-2.25(m,0.05H),2.20-1.81(m,3.15H),1.72-1.24(m,0.55H).

[1428] 实施例90

[1429] (2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯与硫酸软骨素的缀合物的制备

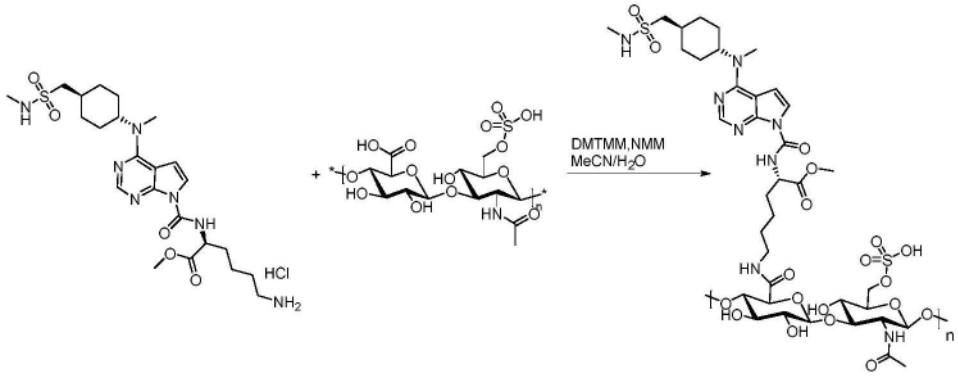
[1430] 

[1431] 在搅拌时将硫酸软骨素(117mg,0.25mmol)溶解于35mL的去离子水和20mL的乙腈中。在室温下将(2S)-6-氨基-2-[[4-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯(150mg,0.25mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉

鎓氯化物(DMTMM,83mg,0.3mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(146mg,2.5mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.123g,产率:%,DS:4%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm 9.04 -8.96(m,0.08H),8.49 -8.41(m,0.04H),8.12-8.03(m,0.04H),7.49-7.33(m,0.04H),4.62-4.29(m,2.16H),4.25-3.05(m,10.32H),3.03-2.84(m,0.08H),2.55-1.50(m,3.08H),1.47-1.19(m,0.28H).

[1432] 实施例91

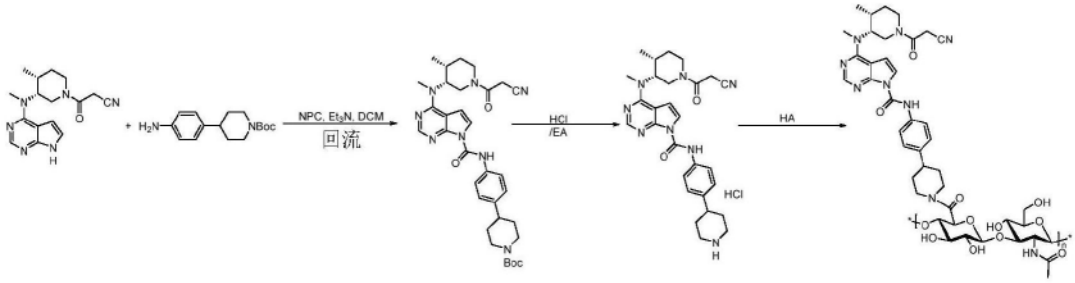
[1433] (2S)-6-氨基-2-[[4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯与硫酸软骨素的缀合物的制备

[1434] 

[1435] 在搅拌时将硫酸软骨素(331mg,0.72mmol)溶解于35mL的去离子水和20mL的乙腈中。在室温下将(2S)-6-氨基-2-[[4-[甲基-[4-(甲基氨磺酰基甲基)环己基]氨基]吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基]氨基]己酸甲酯(400mg,0.72mmol)添加到溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,235mg,0.85mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(421mg,7.2mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加无水酒精(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用无水酒精洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物(0.255g,产率:35%,DSR:5%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O):δppm8.44 -8.34(m,0.05H),7.91-7.79(m,0.05H),7.02-6.92(m,0.05H),4.64 -4.39(m,2.05H),4.31-3.06(m,10.5H),3.03-2.90(m,0.1H),2.52-2.35(m,0.15H),2.34-1.54(m,3.4H),1.48-1.24(m,0.35H).

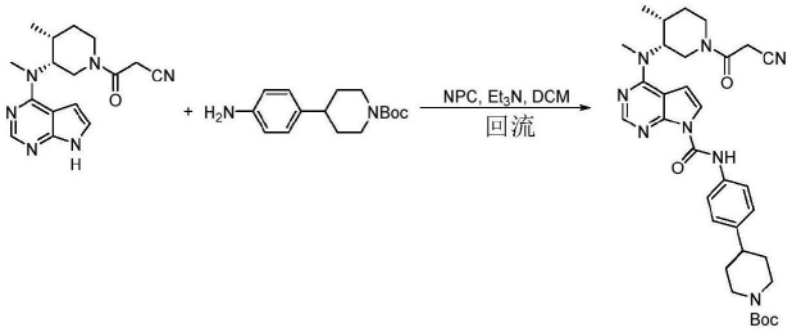
[1436] 实施例92

[1437] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌啶-4-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1438] 

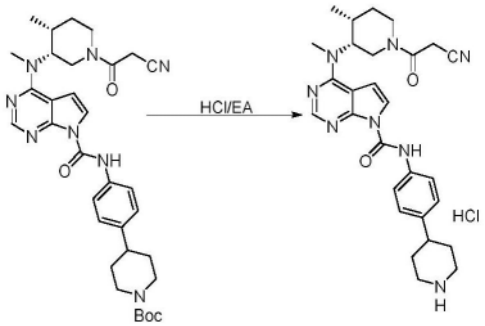
[1439] 步骤1:4-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-

7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯的制备

[1440] 

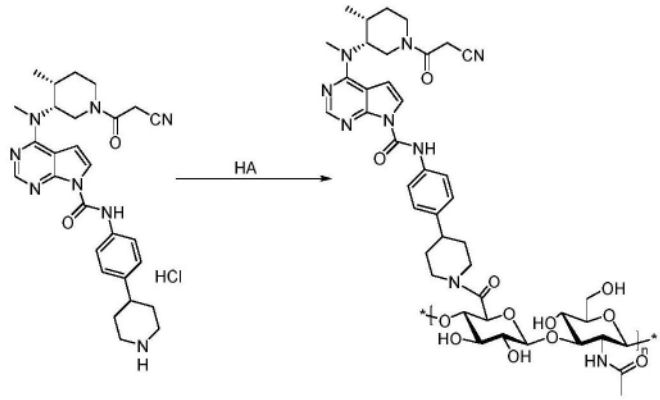
[1441] 在N_2下将三乙胺(1.46g,14.4mmol,2.5当量)添加到托法替尼(1.8g,5.76mmol,1当量)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1.93g,6.34mmol,1.1当量)于DCM(30mL)中的混合物中并且将反应混合物加热至回流持续3小时。然后添加4-(4-氨基苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.591g,5.76mmol,1当量)并且使所得混合物回流持续12小时。在减压下去除溶剂并且通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(1.25g,产率:35.3%);MS(m/z):$C_{33}H_{42}N_8O_4$的[M+H]+计算值,615.33;实验值,615.3。

[1442] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌啶-4-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐的制备

[1443] 

[1444] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(4mL,16mmol)逐滴添加到4-(4-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1g,3.18mmol)于乙酸乙酯(10mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌2天。在减压下去除溶剂后,将所得固体在乙酸乙酯(24mL)中搅拌0.5小时,然后过滤以得到呈固体的所期望产物(0.9g,产率:100%);MS(m/z):$C_{28}H_{34}N_8O_2$的[M+H]+计算值,515.28;实验值,515.3。

[1445] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌啶-4-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺与HA的缀合物的制备

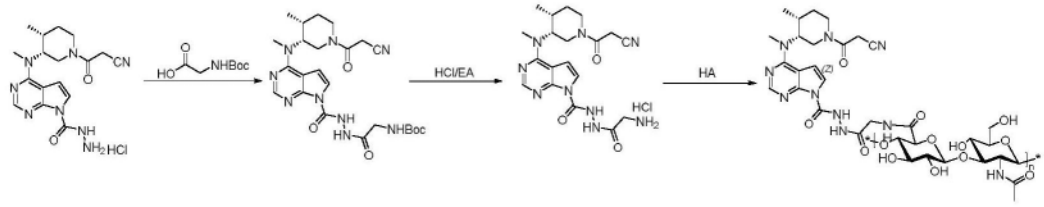
[1446] 

[1447] 将透明质酸钠(0.174g,0.432mmol)溶解于MeCN(22ml)和H_2O(35mL)中。然后在0℃下将4-甲基吗啉(0.066g,0.65mmol)和2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(0.076g,0.432mmol)添加到上述溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟,然后温热到室温并搅拌1小时。然后将4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N-(4-(哌啶-4-基)苯基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-甲酰胺盐酸盐(0.238g,0.432mmol)添加到上述溶液中,并且将所得溶液在室温下搅拌3天。将含NaCl(253mg,4.32mmol)的H_2O(1ml)添加到上述反应混合物中并且搅拌0.5小时。然后将丙酮(350ml)逐滴添加到上述混合物中,同时形成沉淀物。将混合物过滤并且用丙酮洗涤滤饼。将固体溶解于MeCN(20ml)和H_2O(40ml)中以形成均匀溶液并且在3.5kDa Mw截止膜上对去离子水进行透析,并且然后冻干以提供标题化合物(0.15g,产率:43.2%,DS:7.6%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 7.49-7.29(m,0.53H),4.70-4.20(m,2H),4.00-3.23(m,9.14H),2.50-2.30(m,0.19H),1.99(d,3H),1.60-1.40(m,0.51H),1.3-1.15(m,0.2H),1.15-0.85(m,0.2H).

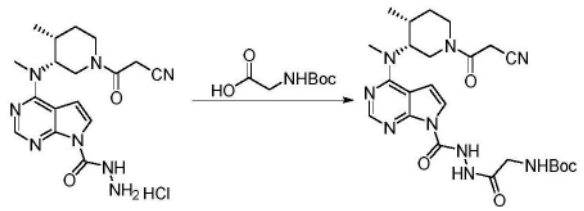
[1448] 在步骤3反应条件的情况下,透明质酸钠(0.174g MW 2000KDa)提供了对应的产物(0.16g,产率:46%,DS=2.3%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 7.75-7.15(m,0.16H),4.50-4.25(m,2H),4.15-2.90(m,10.34H),2.45-2.35(m,0.09H),1.99(s,3H),1.25-1.15(m,0.05H),1.05-0.95(m,0.1H).

[1449] 实施例93

[1450] 4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甘氨酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

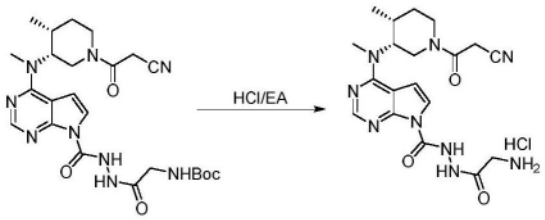
[1451] 

[1452] 步骤1:(2-(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)肼基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1453] 

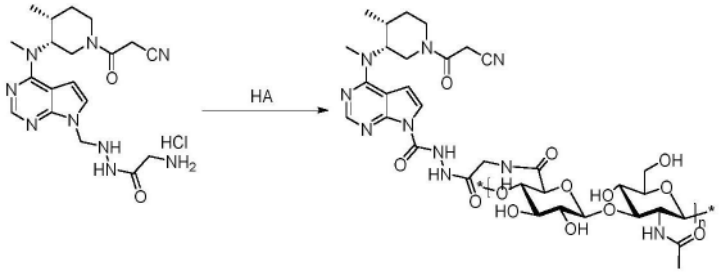
[1454] 在室温下将HATU(0.898g,2.364mmol)、DIPEA(0.512g,3.94mmol)添加到(叔丁氧基羰基)甘氨酸(0.414g,2.364mmol)于MeCN(10mL)中的溶液中。将所得反应混合物在室温下搅拌30分钟,然后将4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(0.8g,1.97mmol,1当量)添加到上述溶液中。在室温下将所得溶液搅拌10小时,然后在减压下去除溶剂,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(0.642g,产率:62%);MS(m/z):$C_{24}H_{33}N_9O_5$的[M+H]+计算值,528.26;实验值,528.3。

[1455] 步骤2:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甘氨酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐的制备

[1456] 

[1457] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(4mL,16mmol)逐滴添加到(2-(2-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-羰基)肼基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯(0.642g,1.217mmol)于乙酸乙酯(10mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌2天。在减压下去除溶剂,将所得固体在乙酸乙酯(10mL)中搅拌0.5小时,然后过滤以得到呈固体的所期望产物(0.56g,产率:100%);MS(m/z):$C_{19}H_{25}N_9O_3$的[M+H]+计算值,428.21;实验值,428.2。

[1458] 步骤3:4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甘氨酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼与HA的缀合物的制备

[1459] 

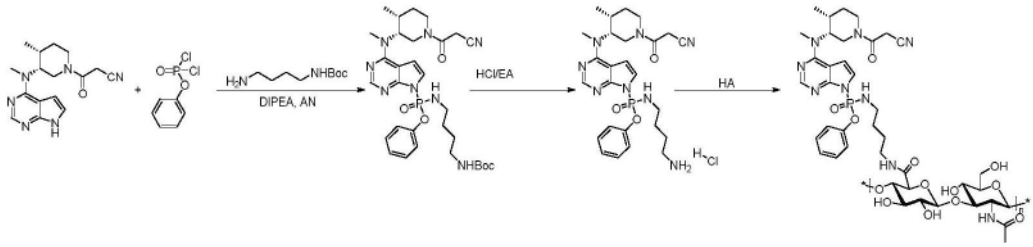
[1460] 在0℃下将4-甲基吗啉(0.066g,0.65mmol)和2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(0.076g,0.431mmol)添加到透明质酸钠(0.174g,0.431mmol)于在MeCN(22ml)和H_2O(35ml)中的混合物中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌1小时。然后将4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-N'-甘氨酰基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-碳酰肼盐酸盐(0.2g,0.431mmol)添加到上述溶液中,并且将所得溶液在室温下搅拌3天。添加含NaCl(253mg)的H_2O(2mL)并搅拌0.5小时。将丙酮(350mL)逐滴添加到上述混合物中,同时形成沉淀物。将混合物过滤,用丙酮洗涤滤饼并且然后将其溶解于MeCN(20mL)和H_2O(40mL)中以形成均匀溶液。在溶液的3.5kDa Mw截止膜上对去离子水进行透析,并且然后冻干,提供标题化合物(0.183g,产率:49%,DS:11%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δ ppm 8.90-7.40(m,0.11H),7.75-7.35(m,0.11H),6.95-6.50(m,0.11H),4.75-4.20(m,2H),4.00-3.23(m,11.36H),2.60-2.40(m,0.11H),1.99(s,3H),1.80-1.65(m,0.22H),1.15-

0.85(m,0.33H).

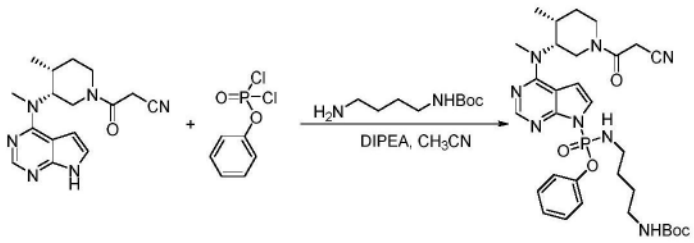
[1461] 在步骤3反应条件的情况下,透明质酸钠(0.174g MW 2000KDa)提供了对应的产物(0.19g,产率:51%,DS=11%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.30-7.90(m,0.11H),7.65-7.20(m,0.11H),6.9-6.30(m,0.11H),4.60-4.20(m,2H),4.00-3.00(m,11.36H),2.50-2.30(m,0.11H),1.99(s,3H),1.70-1.60(m,0.22H),1.10-0.85(m,0.33H).

[1462] 实施例94

[1463] N-(4-氨基丁基)-P-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)磷酰胺苯酯与HA的缀合物的制备

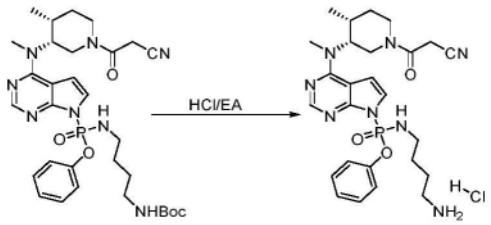
[1464] 

[1465] 步骤1:(4-(((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1466] 

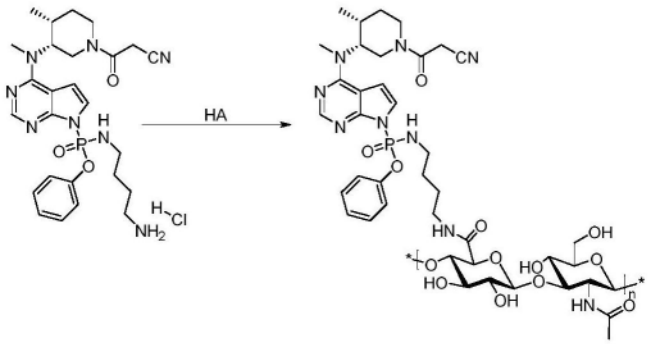
[1467] 在N_2下将N,N-二异丙基乙胺(1.45g,16mmol)添加到托法替尼(1g,3.2mmol)、(4-氨基丁基)氨基甲酸叔丁酯(603mg,3.2mmol)和二氯磷酸苯酯(675mg,3.2mmol)于MeCN(20ml)中的混合物中,将反应混合物加热至回流持续16小时。在减压下去除溶剂后,通过硅胶色谱法纯化残余物以得到标题产物(400mg,产率:19.6%);MS(m/z):$C_{31}H_{43}N_8O_5P$的[M+H]+计算值,639.31;实验值,639.3。

[1468] 步骤2:N-(4-氨基丁基)-P-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)磷酰胺苯酯盐酸盐的制备

[1469] 

[1470] 在0℃下在N_2下将含4.5M HCl的EA(0.9ml,4.5mmol)逐滴添加到(4-(((4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)(苯氧基)磷酰基)氨基)丁基)氨基甲酸叔丁酯(200mg,0.313mmol)于EA(10ml)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌持续2天。在减压下去除溶剂后,将所得固体在EA(20ml)中搅拌0.5小时,然后过滤以得到所期望产物(150mg,产率:83.4%);MS(m/z):$C_{26}H_{35}N_8O_3P$的[M+H]+计算值,539.26;实验值,539.3。

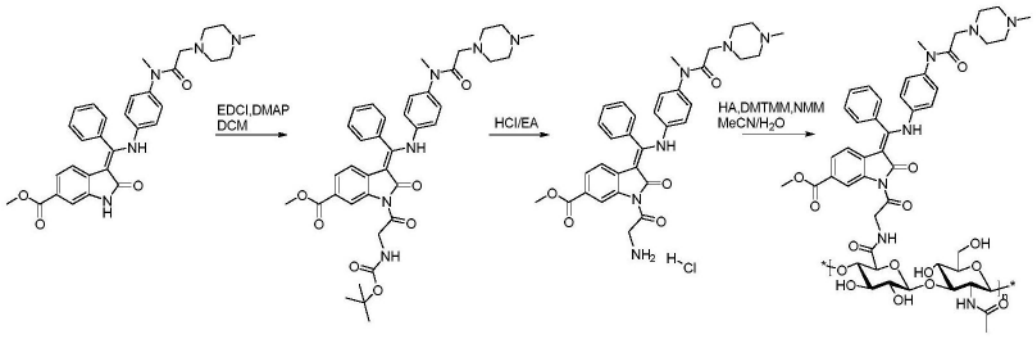
[1471] 步骤3:N-(4-氨基丁基)-P-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)磷酰胺苯酯与HA的缀合物的制备

[1472] 

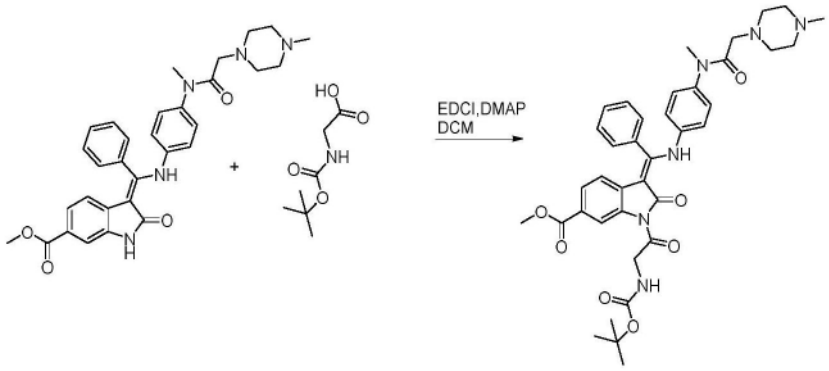
[1473] 在0℃下将4-甲基吗啉(31.8mg,0.31mmol)、2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(36.6mg,0.21mmol)添加到透明质酸钠(84mg,0.21mmol)于MeCN(15.6ml)和H_2O(24ml)中的混合物中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟,并且在室温下搅拌1小时。然后将N-(4-氨基丁基)-P-(4-(((3R,4R)-1-(2-氰基乙酰基)-4-甲基哌啶-3-基)(甲基)氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-7-基)磷酰胺苯酯盐酸盐(120mg,0.21mmol)添加到溶液中,并且用NMM将反应混合物的pH值调整在6.5至7之间。将所得溶液在室温下搅拌3天。添加含NaCl(122mg)的H_2O(1mL)并搅拌0.5小时。然后逐滴添加丙酮(168mL)并且过滤所得混合物用丙酮洗涤滤饼并且将其溶解于MeCN(8.4mL)和H_2O(16.8mL)中以形成均匀溶液。溶液对去离子水透析3次,然后冻干以提供标题化合物(82mg,产率:43.2%,DS=31%)。^{1}H-NMR(400MHz,D_2O)δ8.35-8.25(m,0.28H),7.55-7.35(m,0.86H),7.30-7.15(m,0.94H),6.90-6.80(m,0.42H),4.60-4.20(m,2H),4.10-3.20(m,15.37H),2.65-2.55(m,0.53H),1.99(s,3H),1.75-1.40(m,2H),1.20-1.15(m,0.95H).

[1474] 实施例95

[1475] (Z)-1-甘氨酰基-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯与HA的缀合物的制备

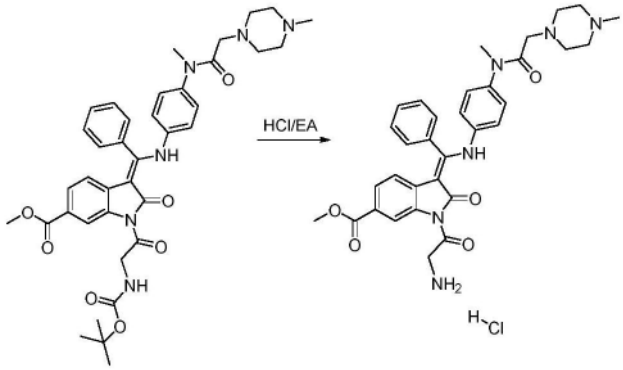
[1476] 

[1477] 步骤1:(Z)-1-((叔丁氧基羰基)甘氨酰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯的制备

[1478] 

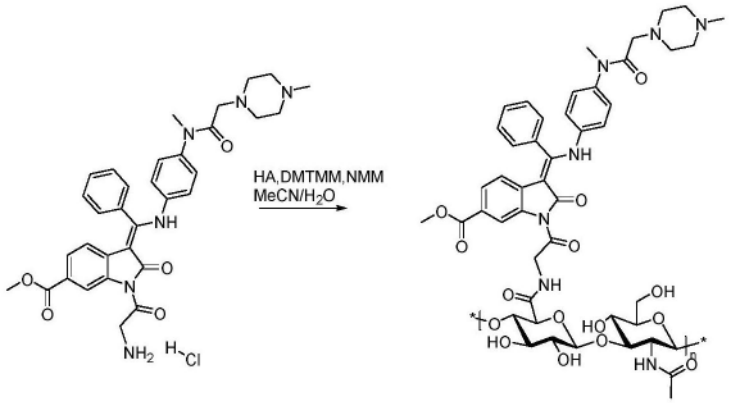
[1479] 将(3Z)-3-[[4-[甲基-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰基]氨基]苯胺基]-苯基-亚甲基]-2-氧代-吲哚-6-甲酸甲酯(1079mg,2mmol)、(叔丁氧基羰基)甘氨酸(701mg,4mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,864.5mg,4.5mmol)、N,N-二甲基吡啶-4-胺(DMAP,1098mg,9mmol)溶解于DCM(80mL)中。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM/MeOH=50:1~20:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(700mg,产率:50.2%)。MS(m/z):$C_{38}H_{44}N_6O_7$的[M+H]+计算值,697.81;实验值,697.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ12.11(s,1H),8.91(d,J=1.7Hz,1H),7.64-7.50(m,4H),7.42-7.37(m,2H),7.06-7.00(m,2H),6.82(d,J=8.4Hz,2H),5.92(d,J=8.3Hz,1H),5.45(s,1H),4.83(d,J=5.4Hz,2H),3.87(s,3H),3.19(s,3H),2.96(q,J=7.3Hz,2H),2.79(s,2H),2.56-2.34(m,6H),2.28(s,3H),1.50(s,9H).

[1480] 步骤2:(Z)-1-甘氨酰基-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯盐酸盐的制备

[1481] 

[1482] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(2mL,8mmol)逐滴添加到(Z)-1-((叔丁氧基羰基)甘氨酰基)-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯(139mg,0.2mmol)于乙酸乙酯(10mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(83mg,产率:70%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{33}H_{36}N_6O_5$的[M+H]+计算值,597.69;实验值,597.2。

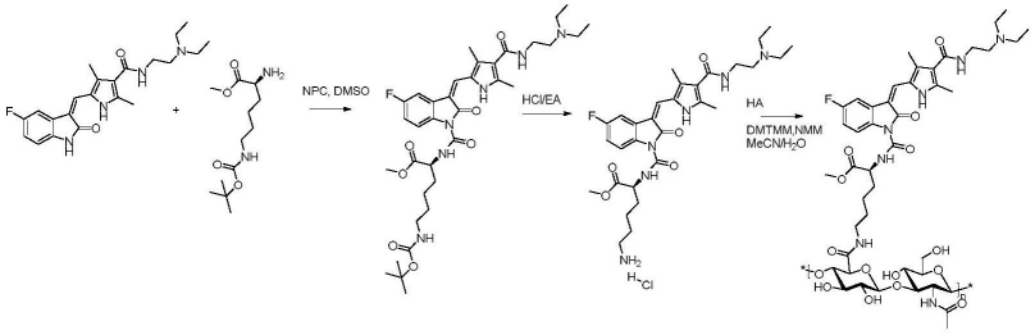
[1483] 步骤3:(Z)-1-甘氨酰基-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯与HA的缀合物的制备

[1484] 

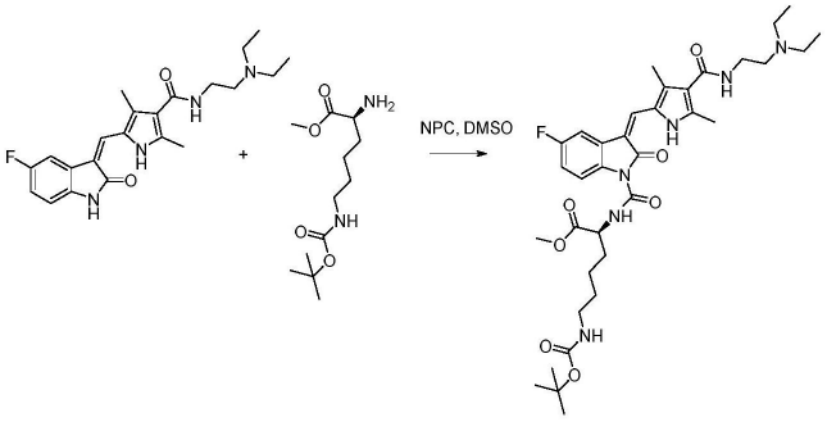
[1485] 在室温下将(Z)-1-甘氨酰基-3-(((4-(N-甲基-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺基)苯基)氨基)(苯基)亚甲基)-2-氧代吲哚-6-甲酸甲酯(149mg,0.25mmol)和4-甲基吗啉(NMM,25mg,0.25mmol)添加到透明质酸钠(201mg,0.5mmol)于去离子水(40ml)和乙腈(26ml)中的溶液中。在室温下将反应混合物搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,104mg,0.75mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。将NaCl(293mg)添加到反应混合物中并且搅拌1小时,并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(250mg,产率:52.2%,DS=17%)。^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ8.58-8.40(m,0.17H),7.65-7.15(m,1.02H),7.07-6.75(m,0.68H),4.52-4.21(m,2H),4.01-2.50(m,12.89H),2.33-2.13(m,0.51H),2.00-1.59(m,3H)

[1486] 实施例96

[1487] (Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-(肼羰基)-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

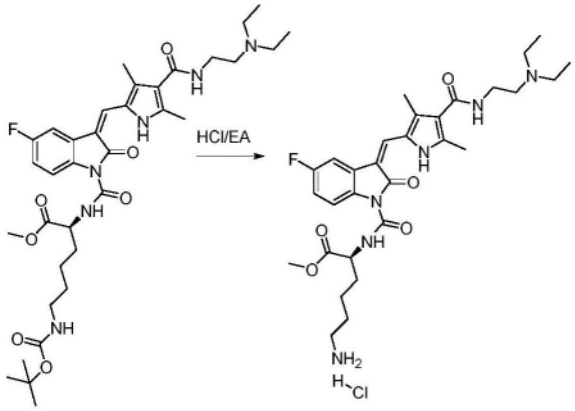
[1488] 

[1489] 步骤1:(Z)-N^6-(叔丁氧基羰基)-N2-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-L-赖氨酸甲酯的制备

[1490] 

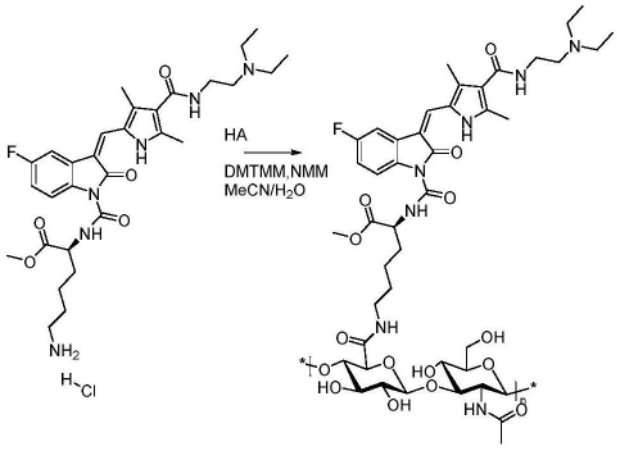
[1491] 在室温下将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(1594mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加N^6-(叔丁氧基羰基)-L-赖氨酸甲酯(1250mg,4.8mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=20:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.77g,产率:28.1%)。MS(m/z):$C_{35}H_{49}FN_6O_7$的[M+H]+计算值,685.81;实验值,685.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 12.75(s,1H),9.31(d,J=7.6Hz,1H),8.17(d,J=4.7Hz,1H),7.42(s,1H),7.17(dd,J=8.4,2.5Hz,1H),6.91(td,J=9.0,2.6Hz,1H),6.63(s,1H),4.75-4.64(m,1H),4.60(s,1H),3.80(d,J=6.4Hz,3H),3.52(dd,J=10.9,5.2Hz,2H),3.14(d,J=5.5Hz,2H),2.76-2.46(m,12H),2.08-1.79(m,2H),1.60-1.37(m,13H),1.06(t,J=7.1Hz,6H).

[1492] 步骤2:(Z)-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐的制备

[1493] 

[1494] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(3.6mL,14.4mmol)逐滴添加到(Z)-N^6-(叔丁氧基羰基)-N2-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-L-赖氨酸甲酯(600mg,0.877mmol)于乙酸乙酯(18mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈固体的标题化合物(498mg,产率:91.5%)。MS(m/z):$C_{30}H_{41}FN_6O_5$的[M+H]+计算值,585.69;实验值,585.2。

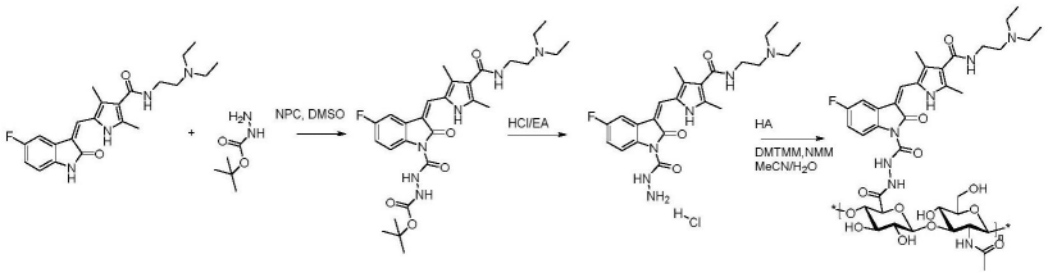
[1495] 步骤3:(Z)-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-L-赖氨酸甲酯与HA的缀合物的制备

[1496] 

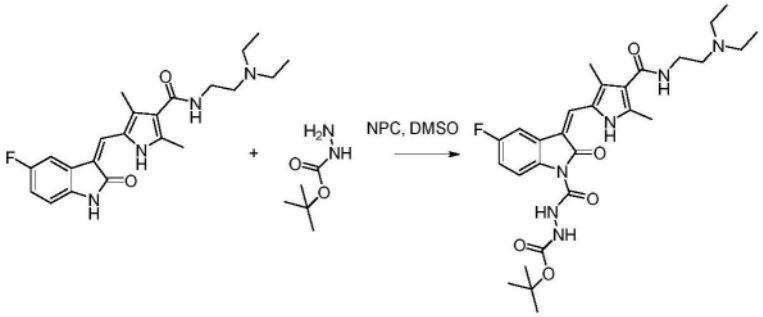
[1497] 在室温下将(Z)-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-L-赖氨酸甲酯盐酸盐(130mg,0.21mmol)和4-甲基吗啉(NMM,21mg,0.21mmol)添加到透明质酸钠(130mg,0.21mmol)于去离子水(24mL)和乙腈(16mL)中的溶液中。在室温下将反应混合物搅拌2小时。另外,添加4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,83mg,0.3mmol)并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(176mg)添加到反应混合物中并且搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤并且用丙酮洗涤滤饼,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.19g,产率:95.7%,DS:6%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ7.82-7.62(m,0.06H),7.38-7.13(m,0.06H),6.97-6.72(m,0.12H),4.55-4.27(m,2.06H),4.06-2.75(m,10.42H),2.53-1.48(m,4.08H),1.39-1.26(m,0.06H).

[1498] 实施例97

[1499] (Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-(肼羰基)-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1500] 

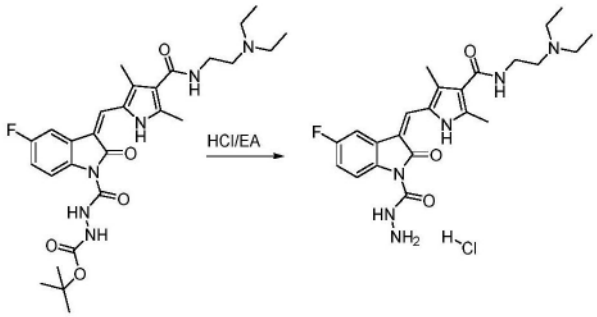
[1501] 步骤1:(Z)-2-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)肼-1-甲酸叔丁酯的制备

[1502] 

[1503] 在室温下将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲

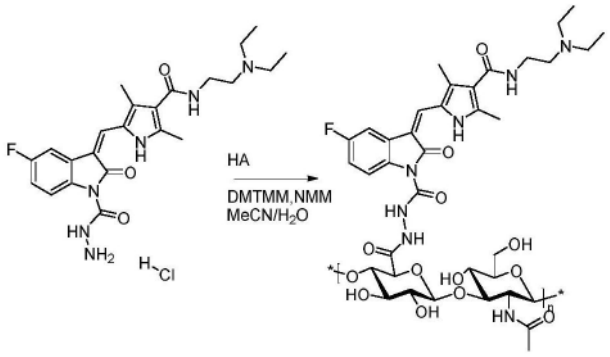
基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(1594mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加肼甲酸叔丁酯(635mg,4.8mmol)并且将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=40:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.06g,产率:47.6%)。MS(m/z):$C_{28}H_{37}FN_6O_5$的[M+H]+计算值,557.64;实验值,557.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 12.62(s,1H),10.16(s,1H),8.07(s,1H),7.25(d,J=10.1Hz,2H),7.07(d,J=8.2Hz,1H),6.87(t,J=8.5Hz,1H),6.57(s,1H),3.51(q,J=5.3Hz,2H),2.68(t,J=5.9Hz,2H),2.60(dd,J=15.2,8.0Hz,7H),2.43(s,3H),1.53(s,9H),1.05(t,J=7.1Hz,6H).

[1504] 步骤2:(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-(肼羰基)-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐的制备

[1505] 

[1506] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(8mL,32mmol)逐滴添加到(Z)-2-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)肼-1-甲酸叔丁酯(1000mg,1.8mmol)于乙酸乙酯(40mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(410mg,产率:82.8%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{23}H_{29}FN_6O_3$的[M+H]+计算值,457.52;实验值,457.2。

[1507] 步骤3:(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-(肼羰基)-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

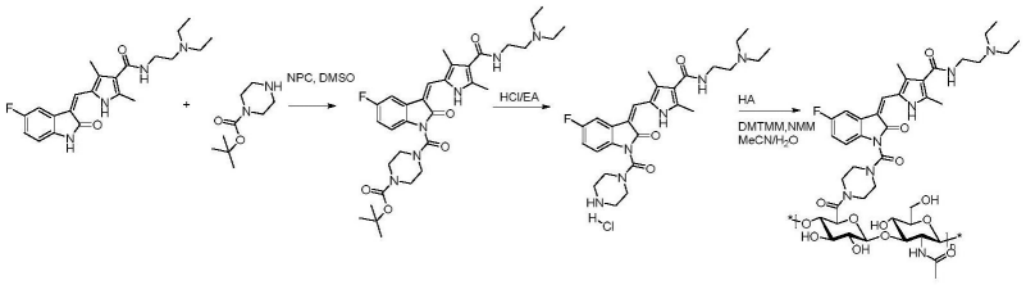
[1508] 

[1509] 在室温下将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-(肼羰基)-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐(138mg,0.28mmol)和4-甲基吗啉(NMM,28mg,0.28mmol)添加到透明质酸钠(161mg,0.4mmol)于去离子水(32mL)和乙腈(21mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌2小时并且然后添加4-(4,6-二甲氧基-1,

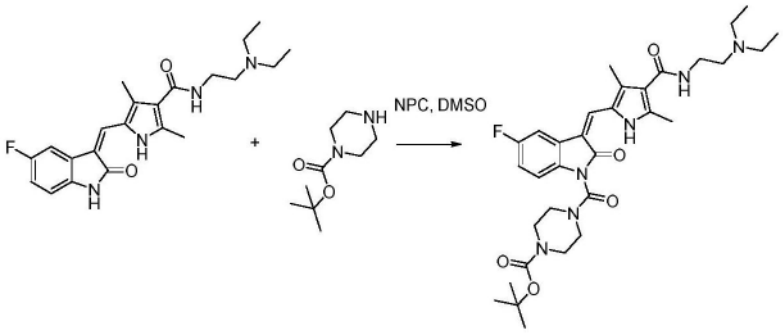
3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)并且在室温下搅拌72小时。将NaCl(234mg)添加到反应混合物中并搅拌1小时并且然后随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤并且用丙酮洗涤滤饼,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.185g,产率:56.6%,DS:10%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ 7.76-7.19(m,0.20H),7.08-6.66(m,0.20H),4.56-4.24(m,2H),4.07-2.88(m,10.20H),2.54-1.55(m,4.20H),1.41-1.22(m,0.60H).

[1510] 实施例98

[1511] (Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

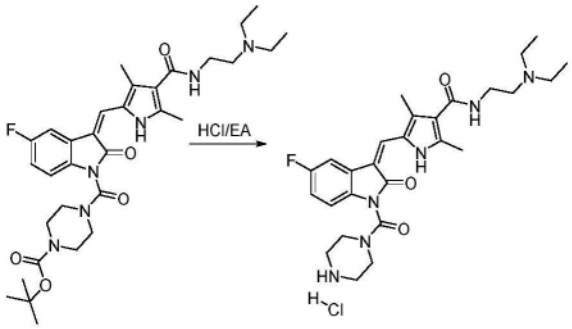
[1512] 

[1513] 步骤1:(Z)-4-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯的制备

[1514] 

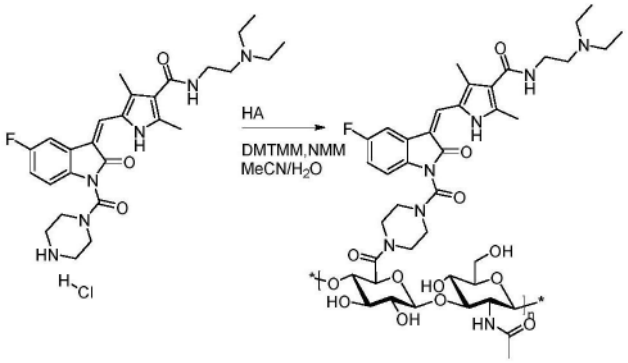
[1515] 在室温下将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(1594mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加哌嗪-1-甲酸叔丁酯(894mg,4.8mmol)并且在40℃下搅拌反应混合物持续16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=40:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.5g,产率:61.4%)。MS(m/z):$C_{32}H_{43}FN_6O_5$的[M+H]+计算值,611.73;实验值,611.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 13.05(s,1H),7.39(s,1H),7.19(dd,J=8.6,2.5Hz,1H),7.11(dd,J=8.7,4.3Hz,1H),6.90(td,J=8.9,2.5Hz,1H),6.66(s,1H),3.89-3.30(m,10H),2.71(t,J=5.9Hz,2H),2.68-2.57(m,7H),2.51(s,3H),1.49(s,9H),1.07(t,J=7.1Hz,6H).

[1516] 步骤2:(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐的制备

[1517] 

[1518] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(8mL,32mmol)逐滴添加到(Z)-4-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1000mg,1.64mmol)于乙酸乙酯(50mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(890mg,产率:99%)。MS(m/z):$C_{27}H_{35}FN_6O_3$的[M+H]+计算值,511.61;实验值,511.2。

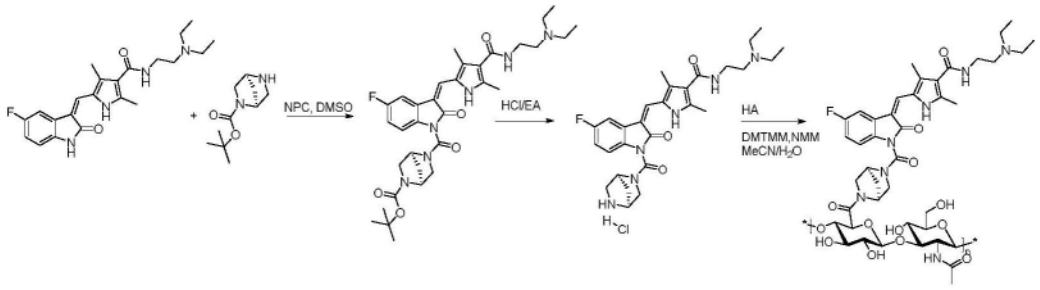
[1519] 步骤3:(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1520] 

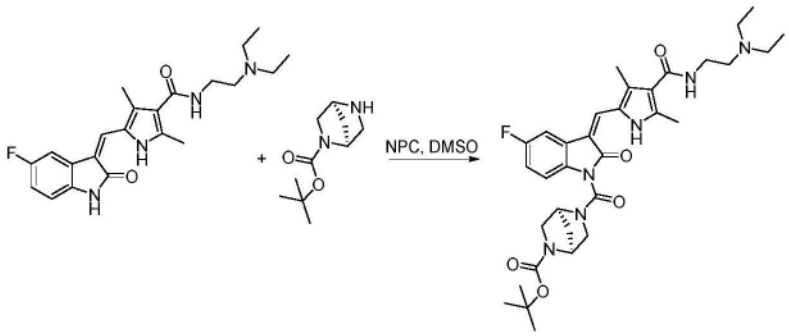
[1521] 在室温下在搅拌时将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代-1-(哌嗪-1-羰基)吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐(109mg,0.2mmol)和4-甲基吗啉(NMM,20mg,0.2mmol)添加到透明质酸钠(161mg,0.4mmol)于32mL的去离子水和22mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌2小时并且添加4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤并且用丙酮洗涤滤饼,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.197g,产率:56.5%,DS:10%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ7.64-7.46(m,0.10H),7.41-7.21(m,0.10H),7.04-6.71(m,0.20H),4.53-4.27(m,2H),4.06-2.97(m,11H),2.51-1.64(m,4.20H),1.39-1.24(m,0.60H).

[1522] 实施例99

[1523] 5-(((Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

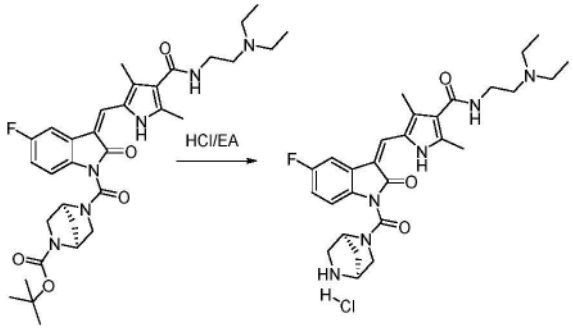
[1524] 

[1525] 步骤1:(1S,4S)-5-((Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯的制备

[1526] 

[1527] 在室温下将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(1594mg,4mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(1460mg,4.8mmol)于DMSO(30mL)中的混合物搅拌7小时。然后添加(1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(992mg,5mmol)。将反应混合物在40℃下搅拌16小时。将反应混合物倒入水中并且用EtOAc萃取。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=8:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(1.3g,产率:52%)。MS(m/z):$C_{33}H_{43}FN_6O_5$的[M+H]+计算值,623.74;实验值,623.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm13.07(s,1H),7.39(d,J=9.9Hz,1H),7.18(h,J=6.6,5.5Hz,2H),6.91(td,J=8.6,2.7Hz,1H),6.57(s,1H),4.98-4.43(m,2H),3.70(d,J=14.5Hz,2H),3.58-3.34(m,4H),2.68(t,J=5.9Hz,2H),2.64-2.56(m,7H),2.51(d,J=3.1Hz,3H),2.03(dd,J=32.4,7.3Hz,2H),1.47(dd,J=20.0,8.9Hz,9H),1.05(t,J=7.1Hz,6H).

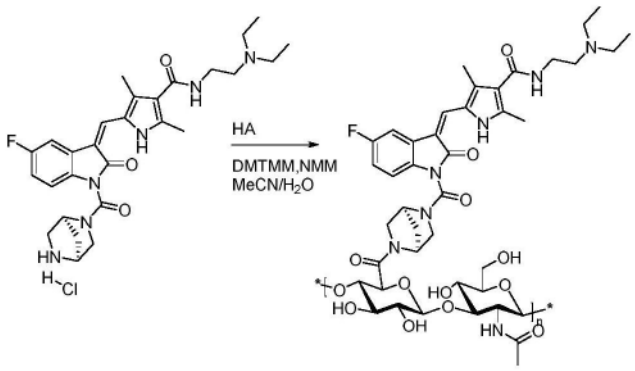
[1528] 步骤2:5-(((Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐的制备

[1529] 

[1530] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(2.9mL,11.6mmol)逐滴添加到(1S,

4S)-5-((Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-羰基)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-甲酸叔丁酯(730mg,1.17mmol,1当量)于乙酸乙酯(15mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.65g,产率:99%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{28}H_{35}FN_6O_3$的[M+H]+计算值,523.63;实验值,522.3。

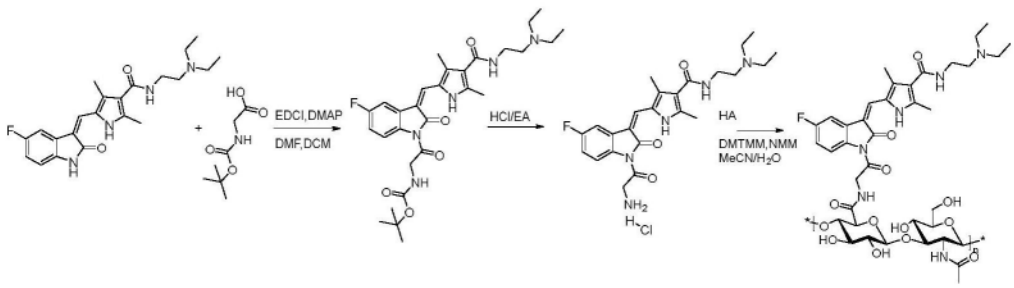
[1531] 步骤3:5-(((Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1532] 

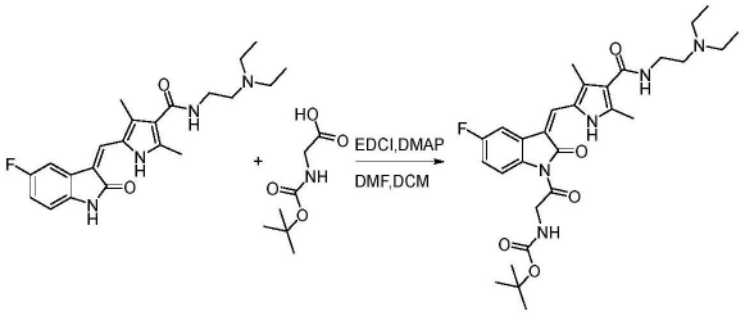
[1533] 在室温下将5-(((Z)-1-((1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚烷-2-羰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐(45mg,0.08mmol)和4-甲基吗啉(NMM,8.1mg,0.08mmol)添加到透明质酸钠(161mg,0.4mmol)于32mL的去离子水和22mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,111mg,0.4mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(234mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.17g,产率:48.1%,DS:12%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ7.61-6.69(m,0.48H),4.59-4.29(m,2.24H),4.20-2.93(m,10.72H),2.54-1.58(m,4.68H),1.41-1.23(m,0.72H).

[1534] 实施例100

[1535] (Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-甘氨酰基-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

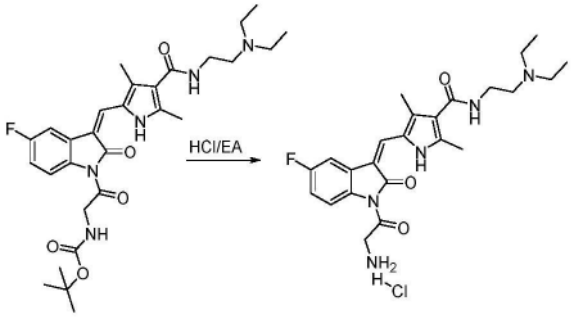
[1536] 

[1537] 步骤1:(Z)-(2-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1538] 

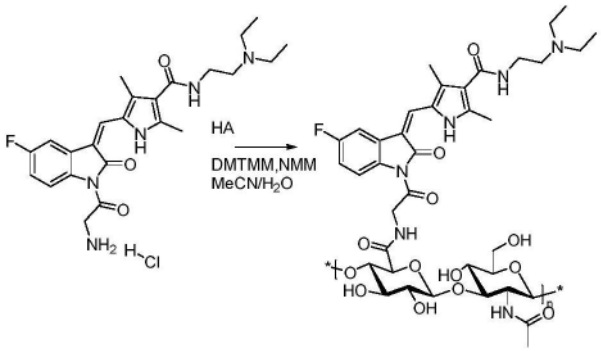
[1539] 将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(996mg,2.5mmol)、(叔丁氧基羰基)甘氨酸(876mg,5mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,1081mg,5.625mmol)、N,N-二甲基吡啶-4-胺(DMAP,1372mg,11.25mmol)溶解于DCM(48mL)和DMF(12mL)中。在室温下将反应混合物搅拌18小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM/甲醇=50:1~20:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(440mg,产率:31.7%)。MS(m/z):$C_{29}H_{38}FN_5O_5$的[M+H]+计算值,556.65;实验值,556.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 12.93(s,1H),7.81(dd,J=8.9,4.5Hz,2H),7.38(s,1H),7.18(dd,J=8.4,2.6Hz,1H),6.97-6.91(m,1H),4.72(s,1H),3.81(s,2H),3.28-3.00(m,8H),2.65(s,3H),2.58(s,3H),1.40(d,J=28.3Hz,15H).

[1540] 步骤2:(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-甘氨酰基-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐的制备

[1541] 

[1542] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(3mL,12mmol)逐滴添加到(Z)-(2-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-基)-2-氧代乙基)氨基甲酸叔丁酯(222mg,0.4mmol)于乙酸乙酯(20mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.14g,产率:71.2%)。MS(m/z):$C_{24}H_{30}FN_5O_3$的[M+H]+计算值,456.53;实验值,456.2。

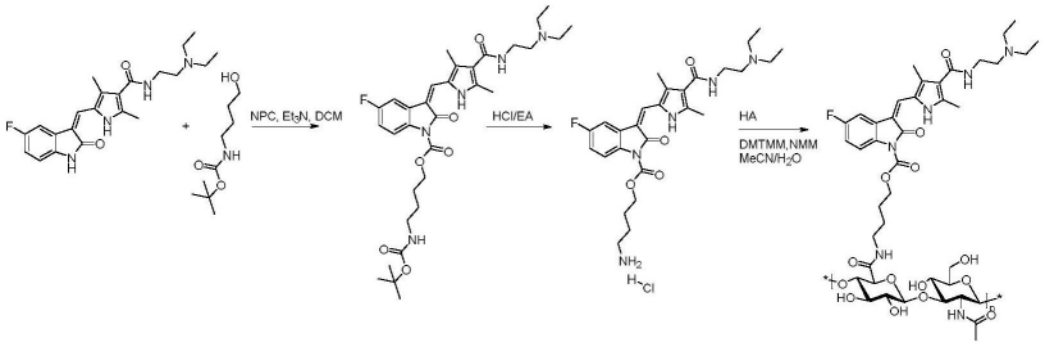
[1543] 步骤3:(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-甘氨酰基-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1544] 

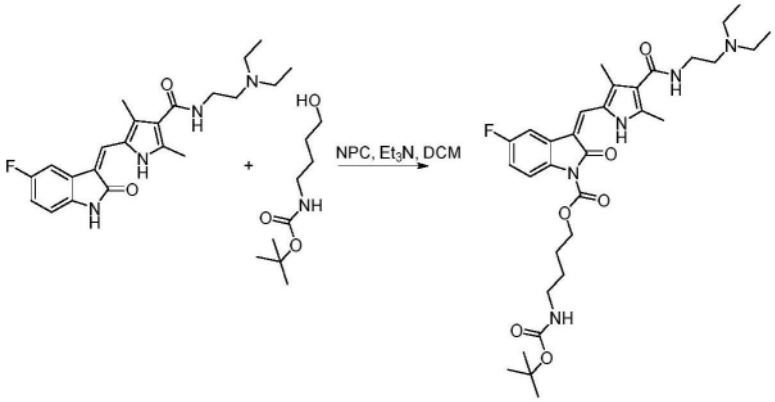
[1545] 在室温下将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-1-甘氨酰基-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐(56mg,0.1mmol)和4-甲基吗啉(NMM,10mg,0.1mmol)添加到透明质酸钠(201mg,0.5mmol)于40mL的去离子水和26mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时并且添加4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,28mg,0.1mmol)并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(197mg,3.37mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤并且用丙酮洗涤滤饼,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.2g,产率:49%,DS:9%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δppm 8.03-7.80(m,0.09H),7.51-7.21(m,0.18H),6.99-6.73(m,0.09H),4.43-4.25(m,2.18H),4.11-2.81(m,10.90H),2.51-1.60(m,3.54H),1.40-1.22(m,0.54H).

[1546] 实施例101

[1547] (Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-甲酸4-氨基丁酯与HA的缀合物的制备

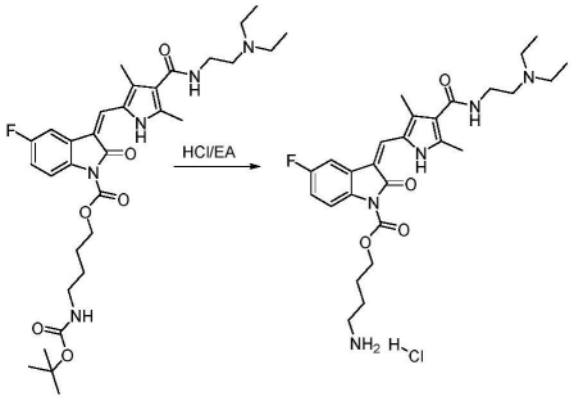
[1548] 

[1549] 步骤1:(Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-甲酸4-((叔丁氧基羰基)氨基)丁酯的制备

[1550] 

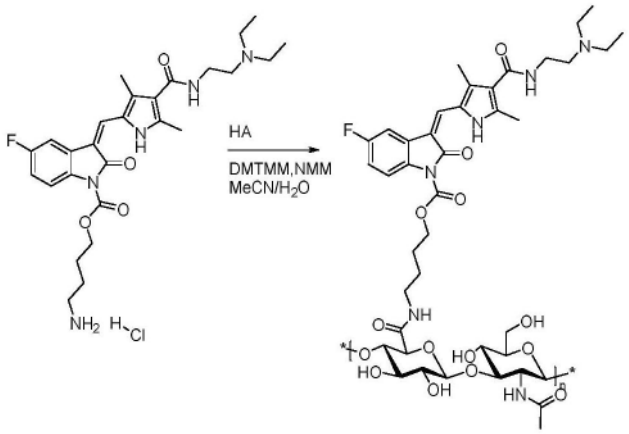
[1551] 将三乙胺(379.5mg,3.75mmol)添加到(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(598mg,1.5mmol)和双(4-硝基苯基)碳酸酯(548mg,1.8mmol)于DCM(30mL)中的搅拌混合物中。将反应混合物加热到45℃并且在此温度下搅拌20小时。然后将反应混合物冷却到室温。然后添加(4-羟基丁基)氨基甲酸叔丁酯(426mg,2.25mmol)。在室温下将反应混合物搅拌22小时。将溶液用DCM稀释并且用饱和$NaHCO_3$溶液、水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM:甲醇=20:1~10:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(0.6g,产率:65.2%)。MS(m/z):$C_{32}H_{44}FN_5O_6$的[M+H]+计算值,614.73;实验值,614.3。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ12.93(s,1H),7.81(dd,J=8.9,4.5Hz,1H),7.38(s,1H),7.28(s,1H),7.18(dd,J=8.4,2.6Hz,1H),6.93(td,J=9.0,2.6Hz,1H),4.72(s,1H),4.49(t,J=6.6Hz,2H),3.81(s,2H),3.27-3.03(m,8H),2.65(s,3H),2.58(s,3H),1.90(t,J=7.5Hz,2H),1.71(q,J=7.3Hz,2H),1.44(s,9H),1.38(d,J=9.3Hz,6H).

[1552] 步骤2:(Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-甲酸4-氨基丁酯盐酸盐的制备

[1553] 

[1554] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(3mL,12mmol)逐滴添加到4-((叔丁氧基羰基)氨基)丁基-(Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-甲酸(184mg,0.3mmol)于乙酸乙酯(15mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.12g,产率:72.7%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{27}H_{36}FN_5O_4$的[M+H]+计算值,514.61;实验值,514.2。

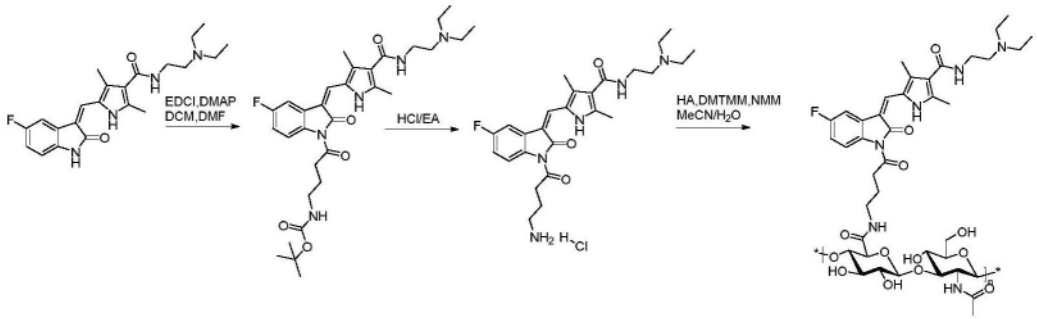
[1555] 步骤3:(Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-甲酸4-氨基丁酯与HA的缀合物的制备

[1556] 

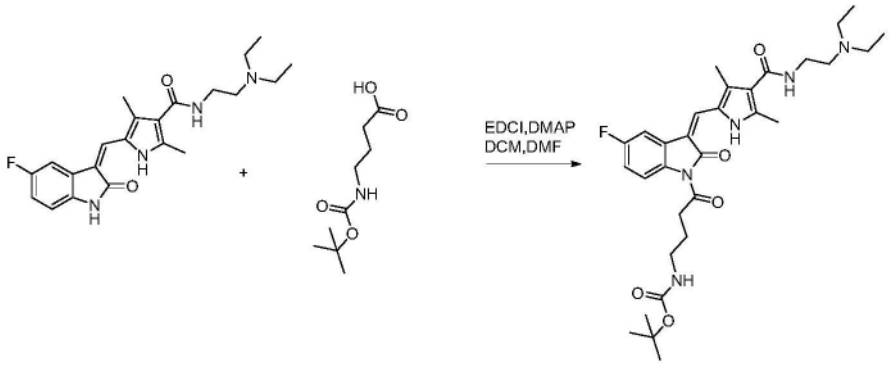
[1557] 在室温下将(Z)-3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-甲酸4-氨基丁酯盐酸盐(55mg,0.1mmol)和4-甲基吗啉(NMM,10mg,0.1mmol)添加到透明质酸钠(201mg,0.5mmol)于40mL的去离子水和26mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,42mg,0.15mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(197mg,3.37mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后在搅拌时逐滴添加丙酮(40mL)。将混合物过滤。将滤饼用丙酮洗涤,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(透明质酸钠MW 50KDa,0.2g,产率:45.7%,DS:28%);^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ7.48-6.42(m,1.12H),4.57-4.18(m,2.56H),4.04-2.60(m,12.80H),2.41-1.58(m,4.8H),1.43-1.17(m,0.84H).

[1558] 实施例102

[1559] (Z)-5-((1-(4-氨基丁酰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

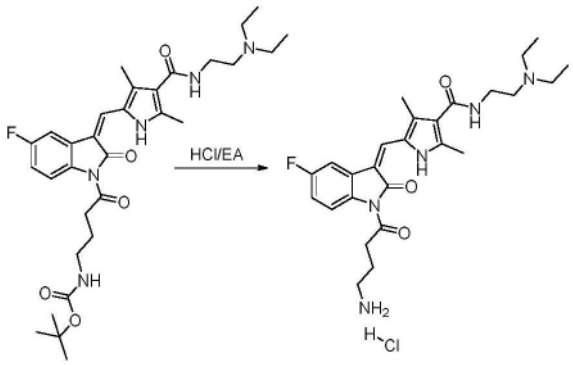
[1560] 

[1561] 步骤1:(Z)-(4-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-基)-4-氧代丁基)氨基甲酸叔丁酯的制备

[1562] 

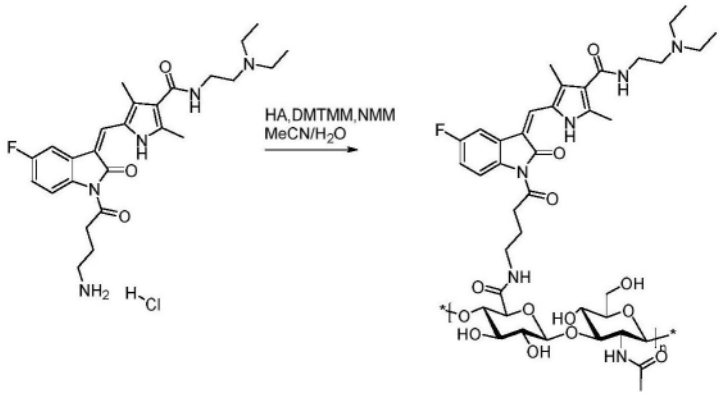
[1563] 将(Z)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-5-((5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(797mg,2mmol)、4-((叔丁氧基羰基)氨基)丁酸(813mg,4mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺(EDCI,864.5mg,4.5mmol)、N,N-二甲基吡啶-4-胺(DMAP,1098mg,9mmol)和DIPEA(1034mg,8mmoL)溶解于DCM(48mL)和DMF(12mL)中。在室温下将反应混合物搅拌16小时。将溶液用DCM稀释并用水和饱和盐水溶液洗涤。将有机层经硫酸钠干燥、过滤并且然后在减压下浓缩。通过柱色谱法(DCM/MeOH=50:1~10:1)纯化粗残余物,以提供标题化合物(560mg,产率:48%)。MS(m/z):$C_{31}H_{42}FN_5O_5$的[M+H]+计算值,584.71;实验值,584.2。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 12.85(s,1H),8.21(dd,J=9.0,4.7Hz,1H),7.98(s,1H),7.37(s,1H),7.16(dd,J=8.5,2.7Hz,1H),6.92(td,J=9.0,2.6Hz,1H),4.73(s,1H),3.86(s,2H),3.33-3.19(m,5H),3.14(d,J=7.6Hz,3H),2.69(s,3H),2.58(s,3H),1.98(q,J=7.1Hz,2H),1.47-1.36(m,11H),1.35-1.18(m,6H).

[1564] 步骤2:(Z)-5-((1-(4-氨基丁酰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺盐酸盐的制备

[1565] 

[1566] 在0℃下在N_2下将含4M HCl的乙酸乙酯溶液(3mL,12mmol)逐滴添加到(Z)-(4-(3-((4-((2-(二乙基氨基)乙基)氨基甲酰基)-3,5-二甲基-1H-吡咯-2-基)亚甲基)-5-氟-2-氧代吲哚-1-基)-4-氧代丁基)氨基甲酸叔丁酯(204mg,0.35mmol)于乙酸乙酯(15mL)中的溶液中。将所得反应混合物在0℃下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌20小时。将溶液用乙酸乙酯(20mL)稀释并且在减压下浓缩以提供呈白色固体的标题化合物(0.16g,产率:94.6%),所述标题化合物无需进一步纯化即可使用。MS(m/z):$C_{26}H_{34}FN_5O_3$的[M+H]+计算值,484.59;实验值,484.2。

[1567] 步骤3:(Z)-5-((1-(4-氨基丁酰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺与HA的缀合物的制备

[1568] 

[1569] 在室温下将(Z)-5-((1-(4-氨基丁酰基)-5-氟-2-氧代吲哚-3-亚基)甲基)-N-(2-(二乙基氨基)乙基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺(150mg,0.236mmol)和4-甲基吗啉(NMM,23.9mg,0.236mmol)添加到透明质酸钠(136mg,0.337mmol)于30mL的去离子水和19.5mL的乙腈中的溶液中。将反应混合物在此温度下搅拌2小时。将4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基吗啉鎓氯化物(DMTMM,93mg,0.337mmol)添加到溶液中并且在室温下搅拌72小时。然后将NaCl(197mg,3.37mmol)添加到反应混合物中,将所述反应混合物搅拌1小时并且随后逐滴添加丙酮(200mL)。将混合物过滤并且用丙酮洗涤滤饼,并且在真空下干燥以得到呈白色固体的标题化合物。(153mg,产率:53%,DS=10%)。^{1}H NMR(400MHz,D_2O)δ ppm 8.03-7.89(m,0.1H),7.47-7.25(m,0.2H),7.02-6.87(m,0.1H),4.58-4.17(m,2H),4.12-2.92(m,11H),2.56-2.45(m,0.6H),2.12-1.70(m,3.2H),1.58-1.46(m,0.2H),1.42-1.25(m,0.6H).

[1570] 实施例103

[1571] 药物递送系统的药物释放

[1572] 方法

[1573] 使用测试化合物进行药物释放和稳定性实验。在Millipore Amicon®Ultra-0.5ml 30k超滤离心管中用10mM PBS缓冲液(pH=7.4)制备约2.5±1.0mg/mL(关于缀合物)的每种测试化合物的溶液。溶液在室温下保持膨胀持续1小时并且然后在37℃下以100rpm放置在振荡器中进行连续实验。在每天的同一时间点,将样品以10000rpm离心1小时。将等分试样转移到HPLC小瓶中以进行分析。向离心管中添加0.4mL的10mM PBS缓冲液并继续实验。

[1574] 对于每个时间点的HPLC分析,获取色谱图中所有相关峰的峰面积并计算游离药物的浓度。基于游离药物的总量和实验天数计算游离药物的平均释放。计算方程如下。

[1575] $$\text{游离药物平均释放（微克/毫升/天）} = \frac{\text{游离药物总量（μg/mL）}}{\text{实验天数（天）}}$$

[1576] 样品降解率是基于缀合药物的浓度和取代度(NMR)计算的,与实验的初始起点有关(在t=0时)。计算方程如下。

[1577] $$\text{缀合物释放速率（%/天）} = \frac{\text{游离药物平均释放（微克/毫升/天）}}{\text{浓度（mg/mL）} * \text{取代度（NMR）} * 1000}$$

[1578] 结果

[1579] 表1示出了本公开的示例性药物递送系统的药物释放的结果。

[1580] 表1

[1581]

实施例编号	释放率（%/天）
实施例 2	0.26%
实施例 3	0.26%
实施例 6	1.62%
实施例 9	0.09%
实施例 10	0.32%
实施例 11	0.75%
实施例 13	0.75%
实施例 17	0.14%
实施例 21	0.07%
实施例 23	1.01%
实施例 24	1.39%
实施例 26	0.22%
实施例 27	4.69%
实施例 28	2.02%

[1582]

实施例 29	5.05%
实施例 30	6.00%
实施例 31	18.37%
实施例 33	6.00%
实施例 34	3.85%
实施例 35	1.78%
实施例 36	2.60%
实施例 39	0.02%
实施例 41	0.43%
实施例 42	0.01%
实施例 43	0.06%
实施例 48	0.07%
实施例 52	1.42%
实施例 53	11.18%
实施例 54	22.08%
实施例 57	9.28%
实施例 59	0.51%
实施例 61	0.18%
实施例 68	10.81%
实施例 69	16.47%
实施例 73	1.90%
实施例 74	4.81%
实施例 75	7.14%
实施例 76	0.03%
实施例 77	0.13%
实施例 78	0.08%
实施例 79	1.21%
实施例 80	0.02%
实施例 81	0.28%
实施例 82	0.07%
实施例 83	<0.01%
实施例 84	0.42%
实施例 85	7.66%
实施例 86	0.62%
实施例 87	0.93%
实施例 88	0.05%
实施例 89	<0.01%
实施例 90	<0.01%
实施例 91	<0.01%
实施例 92	0.62%
实施例 93	0.35%
实施例 94	1.03%
实施例 95	60.56%

[1583]

实施例 96	0.15%
实施例 97	3.4%
实施例 98	<0.01%
实施例 99	<0.01%
实施例 100	8.53%
实施例 101	0.42%
实施例 102	13.6%

[1584] 前述说明书被认为仅是对本公开的原理的说明。进一步地,由于许多修改和变化对于本领域技术人员来说将显而易见,所以并不期望将本发明限于如上文所描述的所示确切构造和过程。因此,所有合适的修改和等效物可以被视为落入由本申请限定的本发明的范围内。