



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106255685 B

(45)授权公告日 2019.08.20

(21)申请号 201580022719.8

P·伊耶

(22)申请日 2015.03.26

V·齐尔斯卡·萨姆班达穆尔斯

S·首拉普尔 S·那拉亚南

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106255685 A

(74)专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司 11283

(43)申请公布日 2016.12.21

代理人 刘依云 严政

(30)优先权数据

2142/CHE/2014 2014.04.28 IN

(51)Int.Cl.

C07D 401/14(2006.01)

C07D 403/14(2006.01)

A61K 31/506(2006.01)

A61P 33/06(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.10.27

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2015/056496 2015.03.26

(56)对比文件

WO 2004037814 A1,2004.05.06,

WO 2014058685 A1,2014.04.17,

CN 101031558 A,2007.09.05,

Xianming Deng.Discovery of novel 1H-imidazol-2-yl-pyrimidine-4,6-diamines as potential.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2010,第20卷(第14期),第4027-4031页.

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2015/165660 EN 2015.11.05

(73)专利权人 MMV疟疾药物投资公司

地址 瑞士日内瓦

审查员 熊潇瑜

(72)发明人 S·哈密德·皮尔·穆罕默德

V·帕蒂尔 K·穆鲁甘

E·维萨尔劳·贝拉乐

A·赖楚尔卡尔 S·兰德厄

J·朴图尔 N·罗伊·乔杜里

G·山布哈格 K·考史克

权利要求书4页 说明书48页

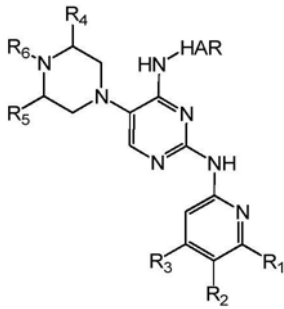
(54)发明名称

用于预防或治疗疟疾的三氨基嘧啶化合物

(57)摘要

本发明涉及三氨基嘧啶及其药学上可接受的盐、它们在治疗和/或预防由疟原虫物种引起的疟疾中的用途以及它们的制备方法。

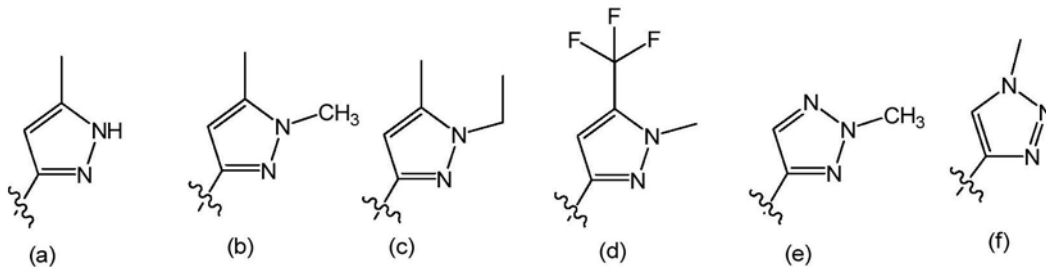
1. 一种如式 (I) 所示的化合物:



(I)

或其互变异构体、几何异构体、光学活性形式、外消旋混合物或药学上可接受的盐,其中:

HAR为选自以下的5元杂芳基环系统



R₁独立地选自H、C₁₋₆烷基、CF₃和C₃₋₅环烷基;

R₂独立地选自卤素、-CN和C₁₋₆烷基;

R₃选自H、C₁₋₆烷基、C₃₋₅环烷基和CF₃;

R₄独立地选自H和C₁₋₆烷基;

R₅独立地选自H和C₁₋₆烷基;和

R₆独立地选自H和C₁₋₆烷基。

2. 根据权利要求1所述的化合物,其中,C₁₋₆烷基为甲基。

3. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₂为卤素。

4. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₃为C₃₋₅环烷基。

5. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₃为环丁基或环丙基。

6. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₃为C₁₋₆烷基。

7. 根据权利要求1或2所述的化合物,R₄为C₁₋₆烷基。

8. 根据权利要求1或2所述的化合物,R₄为甲基。

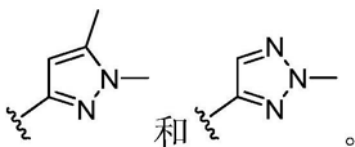
9. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₅为氢。

10. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₆为H。

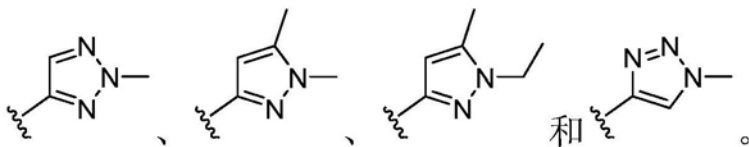
11. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₆为C₁₋₆烷基。

12. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,R₆为甲基。

13. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,HAR选自以下组:



14. 根据权利要求1所述的化合物,其中,R₁为甲基;R₂选自氟、氯和CN;R₃选自环丁基、乙基和环丙基;R₄选自氢和甲基;R₅为氢;R₆选自氢和甲基;和HAR选自



15. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,所述化合物选自以下组:

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基)-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1-乙基-5-甲基-吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

4-环丙基-6-[[4-[(1,5-二甲基吡唑-3-基)氨基]-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2-基]氨基]-2-甲基-吡啶-3-甲腈;

N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

N2-(4-环丁基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

N2-(5-氟-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)嘧啶-2,4-二胺;

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;和

N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;其药学上可接受的盐、互变异构体、外消旋混合物或光学活性形式。

16. 根据权利要求1所述的化合物,其中,所述化合物选自N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)嘧啶-2,4-二胺及其活性代谢物N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺。

17. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,所述化合物为N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺。

18. 根据权利要求1或2所述的化合物,其中,所述化合物为N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺。

19. 一种药物组合物,该组合物含有权利要求1-18中任意一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,以及药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。

20. 根据权利要求19所述的药物组合物,所述组合物还含有至少一种进一步的抗疟药。

21. 根据权利要求20所述的药物组合物,其中,所述进一步的抗疟药选自青蒿素或青蒿素衍生物;氯喹;甲氟喹;奎宁;阿托喹酮/氯胍;多西环素;羟氯喹;卤泛群;咯萘啶;本苄醇;乙胺嘧啶-磺胺多辛;哌喹;阿莫地喹;阿托伐醌;盐酸氯胍;

螺[3H-吡啶-3,1'-[1H]吡啶并[3,4-b]吡啶]-2(1H)-酮,5,7'-二氯-6'-氟-2',3',4',9'-四氢-3'-甲基-,(1'R,3'S)-];

硫磺,[4-[[2-(1,1-二氟乙基)-5-甲基[1,2,4]三唑并[1,5-a]嘧啶-7-基]氨基]苯基]五氟-];

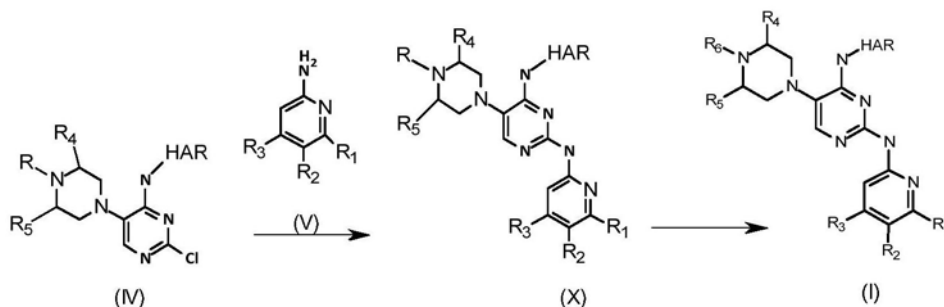
吗啉,4-[2-(4-顺式-二螺[环己烷-1,3'-[1,2,4]三氧戊环-5',2''-三环[3.3.1.1.3,7]癸烷]-4-基苯氧基)乙基]-];

奎纳克林、伯氨喹、他非诺喹、二茂铁氯喹和青蒿氧烷。

22. 根据权利要求21所述的药物组合物,其中,所述青蒿素或青蒿素衍生物为蒿甲醚或二氢青蒿素。

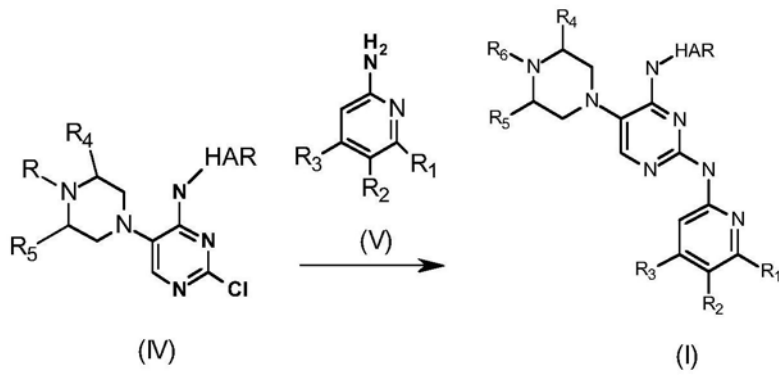
23. 权利要求1或2所述的化合物在制备用于治疗或预防由疟原虫物种引起的疟疾或寄生虫感染的药物中的应用。

24. 一种用于制备如式(I)所示的化合物的方法,该方法包括如下步骤:在钯催化的胺化条件下,将如式(IV)所示的衍生物与如式(V)所示的衍生物反应,以产生如式(X)所示的中间体,



其中,R₁-R₆和HAR如权利要求1所定义,R为保护基团。

25. 一种用于制备如式(I)所示的化合物的方法,该方法包括如下步骤:在钯催化的胺化条件下,将如式(IV)所示的衍生物与如式(V)所示的衍生物反应,以产生如式(I)所示的化合物,



其中, R₁-R₆和HAR如权利要求1所定义, R为R₆。

用于预防或治疗疟疾的三氨基嘧啶化合物

技术领域

[0001] 本发明涉及三氨基嘧啶化合物、其药物组合物及使用方法。此外，本发明还涉及用于治疗由疟原虫物种引起的寄生虫感染的治疗方法。

背景技术

[0002] 疟疾(malaria)是由感染和破坏红细胞的疟原虫(Plasmodium)属的原生动物寄生虫引起的,导致发烧、严重贫血、大脑疟疾,如果未经治疗,会导致死亡。恶性疟原虫(Plasmodium falciparum)为非洲亚撒哈拉沙漠的优势物种,每年引起约600,000例死亡。在5岁以下的非洲儿童和妊娠妇女中,疾病负担最重。间日疟原虫(Plasmodium vivax)造成25-40%的全球疟疾负担,特别是在南亚和东南亚以及中美洲和南美洲。已知感染人的另外三种主要物种是卵形疟原虫(Plasmodium ovale)、诺氏疟原虫(Plasmodium knowlesi)和三日疟原虫(Plasmodium malariae)。已知的引起疟疾的疟原虫物种(例如,恶性疟原虫(P.falciparum)和间日疟原虫(P.vivax))特别重要,因为一旦已建立感染,耐药菌株的发展难以被治疗并且难以从医院和社区环境根除。这样的菌株的实例为恶性疟原虫的氯喹耐药、乙胺嘧啶耐药、青蒿素耐药菌株。

[0003] 疟疾为在许多发展中国家中流行的疾病。约40%的世界人口居住在该疾病为地方性疾病的国家;每年约247,000,000人罹患该疾病。

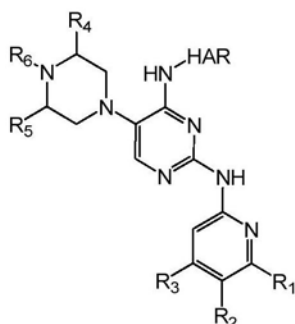
[0004] 因此,为了克服广泛分布的多药耐药寄生虫的威胁,急迫需要开发新的抗疟药,特别是具有新的作用机理和/或含有新的药效基团的药。

[0005] 本发明的目的是为了克服与管理 and 治疗疟疾相关领域中的这种缺陷。

发明内容

[0006] 根据本发明,本申请人因此发现了具有能够发挥抗疟药作用的化合物。

[0007] 本发明提供如式(I)所示的化合物:



[0008]

(I)

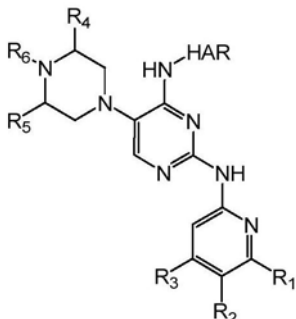
[0009] 及其药学上可接受的盐,其中,HAR、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵和R⁶定义如下。

[0010] 本发明还提供用于制备如式(I)所示的化合物的方法、含有所述化合物作为活性成分的药物组合物、它们作为药物的用途、使用所述化合物的方法以及它们在制备用于预防和/或治疗恒温动物(例如人)疟疾的药物中的用途。

[0011] 预期如式 (I) 所示的典型化合物具有有益的有效性、代谢、毒理学和/或药效学性质。

具体实施方式

[0012] 本发明提供了如式 (I) 所示的化合物：



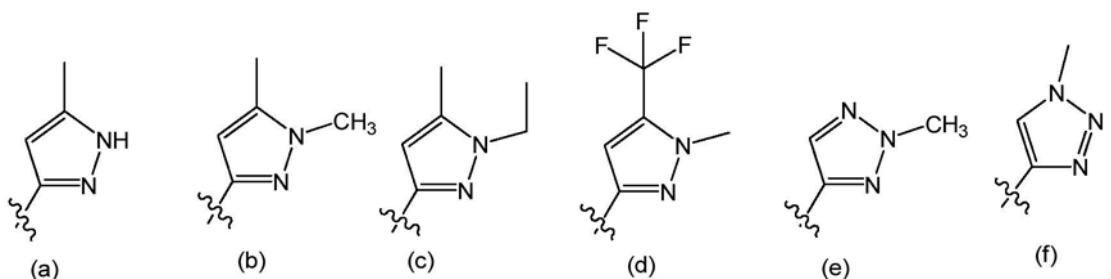
[0013]

(I)

[0014] 及其复合物、水合物、溶剂化物或多晶型物、互变异构体、几何异构体、光学活性形式和药学上可接受的盐，其中：

[0015] HAR为选自以下组的5元杂芳基环系统：

[0016]



[0017] R¹每次出现时独立地选自H、C₁₋₆烷基、CF₃和C₃₋₅环烷基；

[0018] R²每次出现时独立地选自卤素、-CN和C₁₋₆烷基；

[0019] R³每次出现时选自H、C₁₋₆烷基、C₃₋₅环烷基和CF₃；

[0020] R⁴每次出现时独立地选自H和C₁₋₆烷基；

[0021] R⁵每次出现时独立地选自H和C₁₋₆烷基；和

[0022] R⁶每次出现时独立地选自H和C₁₋₆烷基。

[0023] 在一些实施方式中，R¹为甲基。

[0024] 根据另一种实施方式，R²为卤素。

[0025] 在一些实施方式中，R²选自氟、氯和CN。

[0026] 根据进一步的实施方式，R²为F或Cl。

[0027] 根据另一种实施方式，R³为C₃₋₅环烷基，例如环丁基或环丙基。

[0028] 根据另一种实施方式，R³为环丙基。

[0029] 根据另一种实施方式，R³为C₁₋₆烷基，例如乙基。

[0030] 在一些实施方式中，R³选自环丁基、乙基和环丙基。

[0031] 根据另一种实施方式，R⁴为H。

[0032] 根据另一种实施方式, R^4 为 C_{1-6} 烷基, 例如甲基。

[0033] 在一些实施方式中, R^4 选自氢和甲基。

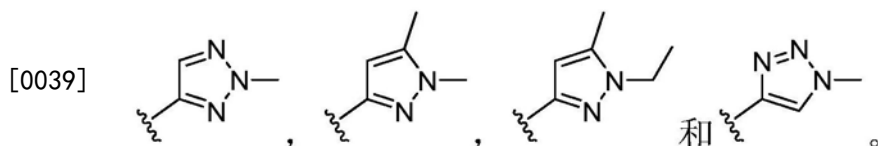
[0034] 在一些实施方式中, R^5 为氢。

[0035] 根据另一种实施方式, R^6 为H。

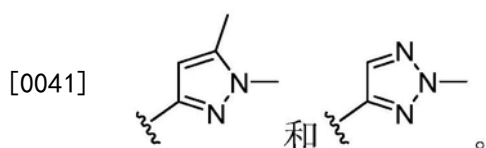
[0036] 根据另一种实施方式, R^6 为 C_{1-6} 烷基, 例如甲基。

[0037] 在一些实施方式中, R^6 选自氢和甲基。

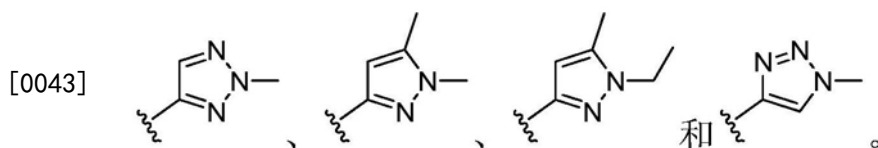
[0038] 在一些实施方式中, HAR选自以下组:



[0040] 根据另一种实施方式, HAR选自



[0042] 根据另一种具体的实施方式, 提供了如式(I)所示的化合物, 其中, R^1 为甲基; R^2 选自氟、氯和CN; R^3 选自环丁基、乙基和环丙基; R^4 选自氢和甲基; R^5 为氢; R^6 选自氢和甲基; 和 HAR选自以下组:



[0044] 在本说明书中, 用于术语例如 C_{x-y} 烷基等(其中 x 和 y 为整数)的前缀 C_{x-y} 是指存在于基团中的碳原子的数值范围; 例如, C_{1-6} 烷基包括 C_1 烷基(甲基)、 C_2 烷基(乙基)、 C_3 烷基(丙基和异丙基)和 C_4 烷基(丁基、1-甲基丙基、2-甲基丙基和叔丁基)。

[0045] 除非特别陈述, 否则基团的键合原子可为该基团的任何合适的原子; 例如, 丙基包括丙-1-基和丙-2-基。

[0046] 烷基—本文使用的术语“烷基”是指具有指定数量的碳原子的直连和支链饱和的烃基。涉及单一烷基基团例如“丙基”特指为仅直链形式, 涉及单一支链烷基基团例如“异丙基”特指为仅支链形式。在一方面, “ C_{1-6} 烷基”可以为甲基。

[0047] 环烷基—本文使用的术语“环烷基”是指饱和的、部分饱和的或不饱和的含有3-12个环原子的单环或双环碳环, 其中一个或多个 $-CH_2-$ 基团可以被相应数量的 $-C(O)-$ 基团任选取代。“环烷基”的说明性实例包括但不限于金刚烷基、环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、茛满基、萘基、氧代环戊基、1-氧代茛满基、苯基和四氢化萘基。

[0048] 3-元至6-元环烷基—在一方面, “环烷基”可以为“3-元至6-元环烷基”。本文使用的术语“3-元至6-元环烷基”是指含有3-6个环原子的饱和、部分饱和或不饱和的单环碳环, 其中一个或多个 $-CH_2-$ 基团可被相应数量的 $-C(O)-$ 基团任选取代。“3-元至6-元环烷基”的说明性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、氧代环戊基、环戊烯基、环己基和苯基。

[0049] 卤素—本文使用的术语“卤素”包括氟、氯、溴和碘。在一方面, 术语“卤素”可以指氟、氯和溴。在另一方面, 术语“卤素”可以指氟和氯。在另一方面, 术语“卤素”可以指氟。

[0050] 有效量—本文章使用的短语“有效量”是指足以显著和积极改变待治疗的症状和/或状况(例如,提供积极的临床效应)的化合物或组合物的量。用于药物组合物的活性成分的有效量将根据待治疗的具体状况、状况的严重性、治疗的持续时间、同步治疗的性质、采用的具体活性成分、利用的具体的药学上可接受的赋形剂/载体、给药途径和在主治医师的知识和专业内的类似的类似的因素而变。

[0051] 药学上可接受的—本文章使用的术语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断的范围内,适用于与人和动物的组织接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,匹配合理的收益/风险比的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0052] 在本发明的上下文中,包括本发明的化合物的药学上可接受的盐、复合物、水合物、溶剂化物或多晶型物、互变异构体、几何异构体、光学活性形式和药学活性衍生物。除非另有说明,否则本发明包括所有这些可能的非对映异构体以及它们的外消旋混合物、它们的基本上纯的拆分的对映异构体、所有可能的几何异构体及其药学上可接受的盐。还包括立体异构体,以及分离的特定的立体异构体的混合物。在用于制备这些化合物的合成程序的过程中,或在使用本领域技术人员公知的外消旋化或差向异构方法中,这样的方法得到的产物可以为立体异构体的混合物。

[0053] 术语“疟疾”包括与疟原虫感染相关的疾病和状况。

[0054] 本文使用的“治疗(treatment)”和“治疗(treating)”等通常是指得到期望的药理学和生理学效果。该效果关于预防或部分预防疾病、其症状或状况可以为预防性的,和/或对部分或完全治愈疾病、状况、症状或由该疾病引起的不良反应可以为治疗性的。本文使用的术语“治疗”涵盖了对哺乳动物(特别是人)的疾病的任何治疗,并且包括:(a) 预防在可能易于患上该疾病但是还未诊断出患有该疾病的受试者身上出现该疾病;(b) 抑制疾病,即,遏制其发展;或减轻疾病,即,引起疾病和/或其症状或状况退化。

[0055] 术语“有效量”包括“预防-有效量”以及“治疗-有效量”。

[0056] 术语“预防-有效量”是指当在感染前,即,在疟疾寄生虫暴露阶段之前、期间或稍后给药时,有效抑制、降低由疟疾寄生虫引起疾病的可能性,或预防疟疾感染或预防由疟疾寄生虫引起的疾病的延迟发病的本发明的化合物的浓度。

[0057] 术语“预防”包括病因性预防,即,包括预防寄生虫的红血球前期发展的抗疟活性;抑制性预防,即,包括抑制血液阶段感染的发展的抗疟活性;和终末预防,即,包括抑制肝内阶段感染发展的抗疟活性。该术语包括在疟疾寄生虫暴露阶段之前、期间或之后进行抗疟化合物给药的初级预防(即,预防初始感染)和在疟疾寄生虫暴露阶段结束和/或稍后但是在临床症状之前进行抗疟化合物给药的终末预防(即,预防疟疾的临床症状的复发或延迟发病)。通常,针对恶性疟原虫感染,使用抑制性预防,而针对间日疟原虫或恶性疟原虫和间日疟原虫的组合,使用终末预防。

[0058] 同样,术语“治疗-有效量”是指有效治疗疟疾感染的化合物的浓度,例如,在已发生感染之后给药,显微镜检查发现血液中的寄生虫数量减少。

[0059] 本文使用的术语“受试者”是指哺乳动物。例如,本发明预期的哺乳动物包括人等。在许多情况下,本文讨论的化合物可能已命名和/或通过ACD/Labs®的ACD/命名和/或CambridgeSoft®的电子实验室手册检验过。

[0060] 式(I)所示的化合物可以形成稳定的药学上可接受的酸或碱式盐,在这种情况下,

化合物以盐的形式给药是合适的。酸加成盐的实例包括乙酸盐、己二酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、胆碱、柠檬酸盐、环己基氨基磺酸盐、哌嗪 (diethylenediamine)、乙磺酸盐、富马酸盐、谷氨酸盐、羟乙酸盐、半硫酸盐、2-羟基乙基磺酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴化物、氢碘化物、羟基马来酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、葡甲胺、2-萘磺酸盐、硝酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、过硫酸盐、苯乙酸盐、磷酸盐、二磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、奎尼酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、氨基磺酸盐、磺胺酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐 (对甲苯磺酸盐)、三氟乙酸盐和十一烷酸盐。碱式盐的实例包括铵盐；碱金属盐，例如钠、锂和钾盐；碱土金属盐，例如铝、钙和镁盐；与有机碱的盐，例如二环己基胺盐和N-甲基-D-葡糖胺；与氨基酸的盐，例如精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸等等。另外，碱性含氮基团可以与这样的试剂发生季铵化，例如：低级烷基卤化物，例如甲基、乙基、丙基、和丁基卤化物；二烷基硫酸酯，例如二甲基、二乙基、二丁基、二戊基硫酸酯；长链卤化物，例如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基卤化物；芳基烷基卤化物，例如苄基溴及其它。优选无毒性的生理学上可接受的盐，虽然其它盐可以是有用的，例如分离或纯化产物。

[0061] 盐可以通过常规的手段形成，例如通过将产物的游离碱形式与一个或多个当量的适当的酸在其中盐不溶的溶剂或介质中或在例如水的溶剂中反应，将溶剂真空除去或通过冷冻干燥或通过合适的离子交换树脂上将现有盐的阴离子交换为另一个阴离子。

[0062] 式 (I) 所示的化合物具有一个或多个手性中心和/或几何异构中心，应该理解的是，本发明包括所有的这样的光学、非对映异构体和几何异构体。本发明还涉及如式 (I) 所示的化合物的任何和所有的互变异构形式。

[0063] 还应该理解的是，式 (I) 所示的某些化合物可以以溶剂化的以及非溶剂化的形式存在，例如，水合的形式。应该理解的是，本发明包括所有这样的溶剂化的形式。

[0064] 本发明的另外的实施方式如下所示。这些另外的实施方式涉及如式 (I) 所示的化合物及其药学上可接受的盐。适当地，这样的具体的取代基可以与前文或下文定义的任何定义、权利要求或实施方式一起使用。

[0065] 根据一个具体的方面，提供了选自以下组的本发明的化合物：

[0066] 在另一方面，本发明提供了选自以下的化合物：

[0067] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基)-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺；

[0068] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺；

[0069] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1-乙基-5-甲基-吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺；

[0070] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺；

[0071] N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡唑-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺；

[0072] 4-环丙基-6-[[4-[(1,5-二甲基吡唑-3-基)氨基]-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2-基]氨基]-2-甲基-吡啶-3-甲腈；

[0073] N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0074] N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0075] N2-(4-环丁基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0076] N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0077] N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0078] N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3-甲基哌嗪-1-基)-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺];

[0079] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0080] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;和

[0081] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;以及其药学上可接受的盐、复合物、水合物、溶剂化物、互变异构体、多晶型物、外消旋混合物、光学活性形式和药学活性衍生物。

[0082] 根据一个具体的方面,本发明的化合物作为R对映异构体提供。

[0083] 根据一个具体的方面,本发明的化合物作为S对映异构体或作为外消旋混合物提供。

[0084] 在另一方面,本发明提供了选自以下的化合物:

[0085] 实施例1:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基)-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0086] 实施例2:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0087] 实施例3:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1-乙基-5-甲基-吡啶-3-基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0088] 实施例4:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0089] 实施例5:N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0090] 实施例6:4-环丙基-6-[[4-[(1,5-二甲基吡啶-3-基)氨基]-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2-基]氨基]-2-甲基-吡啶-3-甲腈;

[0091] 实施例7:N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0092] 实施例8:N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3S)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0093] 实施例9:N2-(4-环丁基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺;

[0094] 实施例10:N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0095] 实施例11:N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0096] 实施例12:N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0097] 实施例13:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)嘧啶-2,4-二胺;

[0098] 实施例14:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;和

[0099] 实施例15:N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[(3R)-3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺;以及其药学上可接受的盐、复合物、水合物、溶剂化物、互变异构体、多晶型物、外消旋混合物、光学活性形式和药学活性衍生物。

[0100] 根据进一步具体的实施方式,本发明提供了选自N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3,4-二甲基哌嗪-1-基]-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)嘧啶-2,4-二胺及其活性代谢物N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺的化合物。

[0101] 根据另一个进一步具体的实施方式,本发明提供了化合物N4-(1,5-二甲基吡啶-3-基)-N2-(4-乙基-5-氟-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]嘧啶-2,4-二胺。

[0102] 根据另一个进一步具体的实施方式,本发明提供了化合物N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基-2-吡啶基)-5-[3-甲基哌嗪-1-基]-N4-(2-甲基三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺。

[0103] 因此,一方面,提供了式(I)所示的化合物或其药学上可接受的盐,作为药物的用途。

[0104] 因此,根据本发明的化合物可以用于制备药物,特别是用于抑制寄生虫生长的药物。

[0105] 因此,根据其另一方面,本发明的目的是提供含有如式(I)所示的化合物或如式(I)所示的化合物与药学上可接受的酸或碱的加成盐的药物。

[0106] 发现这些药物在治疗中的用途,尤其是在治疗由所有疟原虫物种(例如恶性疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫、卵形疟原虫和诺氏疟原虫)引起的疟疾中的用途。

[0107] 因此,一方面,提供了如式(I)所示的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗恒温动物(例如人)的由疟原虫物种引起的寄生虫感染的药物中的用途。

[0108] 另一方面,提供了如式(I)所示的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于在恒温动物(例如人)中产生抗疟效果的药物中的用途。

[0109] 另一方面,提供了用于治疗恒温动物(例如人)的由疟原虫物种引起的寄生虫感染的方法,所述方法包括将有效量的如式(I)所示的化合物或其药学上可接受的盐给药至所述动物。

[0110] 另一方面,提供了用于在恒温动物(例如人)中产生抗疟效果的方法,所述方法包

括将有效量的如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐给药至所述动物。

[0111] 另一方面,提供了如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐,在治疗和/或预防恒温动物(例如人)的疟疾中的用途。

[0112] 用于治疗性和预防性治疗哺乳动物(包括人)(特别是用于治疗由疟原虫物种引起的疟疾)的如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐通常根据标准药物实践配制成为药物组合物。

[0113] 因此,一方面,提供了一种药物组合物,所述组合物包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐和至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0114] 另一方面,提供了包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物在制备用于治疗恒温动物(例如人)的由疟原虫物种引起的寄生虫感染的药物中的用途。

[0115] 另一方面,提供了包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物在制备用于在恒温动物(例如人)中产生抗疟效果的药物中的用途。

[0116] 另一方面,提供了用于治疗恒温动物(例如人)的由疟原虫物种引起的疟疾的方法,所述方法包括将有效量的包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物给药至所述动物。

[0117] 另一方面,提供了用于在恒温动物(例如人)中产生抗疟效果的方法,所述方法包括将有效量的包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物给药至所述动物。

[0118] 另一方面,提供了包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物在治疗恒温动物(例如人)的由疟原虫物种引起的疟疾中的用途。

[0119] 另一方面,提供了包括如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物在恒温动物(例如人)中产生抗疟效果中的用途。

[0120] 药物组合物

[0121] 在一些方面,本发明提供了一种药物组合物,所述药物组合物含有如式 (I) 所示的化合物或其药学上可接受的盐和药学上可接受的稀释剂或载体。

[0122] 用语“药学上可接受的”包括在合理的医学判断的范围内,适用于与人和动物的组织接触而没有过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,匹配合理的收益/风险比的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0123] 式 (I) 所示的化合物可以形成稳定的药学上可接受的酸或碱式盐,在这种情况下,化合物以盐的形式给药是合适的。酸加成盐的实例包括乙酸盐、己二酸盐、抗坏血酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐、硫酸氢盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、胆碱、柠檬酸盐、环己基氨基磺酸盐、哌嗪、乙磺酸盐、富马酸盐、谷氨酸盐、羟乙酸盐、半硫酸盐、2-羟基乙基磺酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴化物、氢碘化物、羟基马来酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、葡甲胺、2-萘磺酸盐、硝酸盐、草酸盐、双羟萘酸盐、过硫酸盐、苯乙酸盐、磷酸盐、二磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、奎尼酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、氨基磺酸盐、磺胺酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐(对甲苯磺酸盐)、三氟乙酸盐和十一烷酸盐。碱式盐的实例包括铵盐;碱金属盐,例如钠、锂和钾盐;碱土金属盐,例如铝、钙和镁盐;与有机碱的盐,例如二环己基胺盐和N-甲基-D-葡萄糖胺;和与氨基酸的盐,例如精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸等等。另外,碱性含氮基团可以与这样的试剂发生季铵化,例如:低级烷基卤

化物,例如甲基、乙基、丙基、和丁基卤化物;二烷基硫酸酯,例如二甲基、二乙基、二丁基、二戊基硫酸酯;长链卤化物,例如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基卤化物;芳基烷基卤化物,例如苄基溴及其它。优选无毒性的生理学上可接受的盐,虽然其它盐可以是有用的,例如分离或纯化产物。

[0124] 盐可以通过常规的手段形成,例如通过将产物的游离碱形式与一个或多个当量的适当的酸在其中盐不溶的溶剂或介质中或在例如水的溶剂中反应,将溶剂真空除去或通过冷冻干燥或通过合适的离子交换树脂上将现有盐的阴离子交换为另一个阴离子。

[0125] 本发明的组合物可为适用于以下的形式:口服使用(例如作为片剂、锭剂、硬或软胶囊剂、水性或油性混悬剂(suspensions)、乳剂、可分散的散剂或颗粒剂、糖浆剂或酞剂)、用于局部使用(例如作为霜剂、软膏、凝胶或水性或油性溶液剂或混悬剂)、通过吸入给药(例如作为细碎的散剂或液体气溶胶)、通过吹入给药(例如作为细碎的散剂)或用于肠胃外给药(例如作为无菌水性或油性溶液用于静脉内、皮下、肌内或肌内给药或作为栓剂用于直肠给药)。

[0126] 本发明的组合物可以使用本领域公知的常规的药物赋形剂通过常规的方法得到。因此,旨在口服使用的组合物可以含有例如一种或多种着色剂、甜味剂、矫味剂和/或防腐剂。

[0127] 用于片剂制剂的合适的药学上可接受的赋形剂包括,例如,惰性稀释剂,例如乳糖、碳酸钠、磷酸钙或碳酸钙;成粒剂和崩解剂,例如玉米淀粉或海藻酸、马铃薯淀粉或淀粉乙醇酸钠;粘合剂,例如淀粉;润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石、聚乙二醇和二氧化硅;防腐剂,例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸丙酯;和抗氧化剂,例如抗坏血酸。片剂制剂可以是无包衣的,或者是有包衣的,以改变活性成分在胃肠道内的崩解和随后的吸收,或者改进它们的稳定性和/或外观,在任一种情况下,使用常规的包衣剂和本领域公知的方法。

[0128] 例如,用于口服给药的片剂和胶囊剂还可以含有常规的赋形剂,包括但不限于填料、崩解剂和湿润剂。填料包括但不限于乳糖、糖、微晶纤维素、玉米淀粉、磷酸钙和山梨糖醇。

[0129] 粘合剂包括但不限于糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨糖醇、黄芪胶(tragacanth)、淀粉的胶浆和聚乙烯吡咯烷酮。

[0130] 片剂可根据本领域公知的方法包衣。例如,用于口服给药的片剂和胶囊剂可以含有常规的赋形剂,包括但不限于粘合剂、填料、润滑剂、崩解剂和湿润剂。

[0131] 用于口服使用的组合物可以为硬明胶胶囊剂的形式,其中将活性成分与惰性固体稀释剂(例如,碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合,或作为软明胶胶囊剂,其中将活性成分与水或油(例如,花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。

[0132] 水性混悬剂通常含有细粉末形式的或者纳米或微粒化的颗粒形式的活性成分以及一种或多种悬浮剂(suspending agents),例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄芪胶和阿拉伯胶;分散剂或湿润剂,例如卵磷脂或氧化烯与脂肪酸的缩合产物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯),或环氧乙烷与长链脂族醇的缩合产物,例如十七乙氧基鲸蜡醇(heptadecaethyleneoxycetanol),或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物,例如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯,或环氧乙烷与长链脂

族醇的缩合产物,例如十七烷基氧基鲸蜡醇,或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物,例如聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯,或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酸酐的偏酯的缩合产物,例如聚乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。水性混悬剂还可以含有一种或多种防腐剂,例如对羟基苯甲酸乙酯和对羟基苯甲酸丙酯;抗氧化剂,例如抗坏血酸;着色剂;矫味剂;和/或甜味剂,例如蔗糖、糖精或阿斯巴甜 (aspartame)。

[0133] 油性混悬剂可以通过将活性成分悬浮于植物油 (例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰油) 或矿物油 (例如液体石蜡) 中而配制。油性混悬剂还可以含有增稠剂,例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以加入甜味剂 (例如如上所述) 和矫味剂,以提供可口的口服制备物。这些组合物可以通过加入抗氧化剂 (例如抗坏血酸) 进行保存。

[0134] 适用于通过加入水制备水性混悬剂的可分散的散剂和颗粒剂通常含有活性成分以及分散剂或湿润剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂。合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂已经通过如上所述进行举例说明。还可以存在进一步的赋形剂,例如甜味剂、矫味剂和着色剂。

[0135] 本发明的药物组合物还可以为水包油型乳剂的形式。油相可以为植物油,例如橄榄油或花生油,或矿物油,例如例如液体石蜡或这些的任一种的混合物。合适的乳化剂可以为例如天然存在的胶例如阿拉伯胶或黄芪胶,天然存在的磷脂例如大豆、卵磷脂,衍生自脂肪酸和己糖醇酸酐的酯或偏酯 (例如脱水山梨糖醇单油酸酯) 和所述偏酯与环氧乙烷的缩合产物,例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。乳剂还可以含有甜味剂、矫味剂和防腐剂。

[0136] 糖浆剂和酏剂可以使用甜味剂配制,例如甘油、丙二醇、山梨糖醇、阿斯巴甜或蔗糖,并且还可以含有缓和剂 (demulcent)、防腐剂、矫味剂和/或着色剂。

[0137] 药物组合物还可以为无菌可注射的水性或油性混悬剂的形式,其可以根据已知的方法使用一种或多种如上所述的合适的分散剂或湿润剂和悬浮剂进行配制。无菌可注射的制备物还可以为无菌可注射的溶液或悬浮于无毒性的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中,例如1,3-丁二醇溶液。

[0138] 用于通过吸入给药的组合物可以为常规的加压气溶胶的形式,其被排列以将活性成分分配为含有相互分离的细碎的固体或液滴的任一气溶胶。可以使用常规的气溶胶推进剂 (aerosol propellants), 例如挥发性氟化烃或烃,并且气溶胶装置方便排列以分配计量的活性成分。

[0139] 用于给药的组合物还可以以制备脂质体 (liposome) 的方式进行制剂。脂质体制备物可以含有脂质体,其渗透兴趣细胞或角质层,并且与细胞膜融合,导致将脂质体的内含物递送至细胞中。进一步的合适的制剂可以采用囊泡 (niosomes)。囊泡为与脂质体类似的脂囊,其中膜主要由非离子脂质组成,其中一些形式有益于将化合物转运跨过角质层。

[0140] 用于给药的组合物还可以以制备贮库 (depot) 的方式进行制剂,其可以通过植入或通过肌肉注射给药。组合物可以与合适的聚合或疏水材料 (作为在可接受的油中的乳液)、离子交换树脂或微溶衍生物一起制剂。

[0141] 本发明的化合物还可以以持续释放的形式给药或由持续释放药物递送系统给药。

[0142] 关于制剂、药物递送以及加工技术的进一步信息,读者可以参考 Remington's Pharmaceutical Sciences (第21版,2005,University of the sciences in Philadelphia,Lippincott William&Wilkins或The Science and Practice of Pharmacy (Remington:The Science&Practice of Pharmacy),第22版,2012,Lloyd,编辑Allen,

Pharmaceutical Press,其通过引用结合到本文中)。

[0143] 与一种或多种赋形剂组合以产生单一剂型的活性成分的量必然根据治疗的主体和具体的给药途径而变化。例如,旨在用于人口服给药的制剂通常含有例如0.5mg至4g的活性剂,其与适当的且方便的量的赋形剂(赋形剂的量可以在组合物总量的约5至约98重量%之间变化)混配。剂量单位形式通常含有约1mg至约500mg的活性成分。关于给药途径和剂量方案的进一步信息,读者可以参考Comprehensive Medicinal Chemistry的第5卷第25.3章(Corwin Hansch;编委会主席),Pergamon Press 1990和以上Remington's Pharmaceutical Sciences。

[0144] 如上所述,用于治疗性或预防性治疗的具体疾病状态的剂量大小必然根据治疗的主体、给药途径和待治疗的疾病的严重程度而变化。优选采用1-25mg/kg范围的日剂量。因此,最佳剂量可以由正在对任何具体的患者进行治疗的专业人员来确定。

[0145] 在本文提及的任何药物组合物、过程、方法、用途、药物和制备特性中,本文描述的本发明的化合物的任何可选的方面也适用。

[0146] 给药途径

[0147] 本发明的组合物可以采用任何方式给药,包括但不限于口服、肠胃外、舌下、经皮、阴道、直肠、经粘膜、局部、经由吸入、经由颊或鼻内给药,或它们的组合。本发明的组合物还可以以植入物的形式给药,其允许组合物的缓慢释放以及缓慢受控的静脉内输液。在一种优选的实施方式中,根据本发明的三氨基嘧啶衍生物口服给药。

[0148] 在一种具体的实施方式中,本发明的化合物以约1-1,500mg的剂量给药至人,例如约200-700mg。在进一步的具体的实施方式中,本发明的化合物以小于600mg(例如,约260mg至约520mg)的剂量给药。

[0149] 通过以下实施例来进一步说明本发明,这些实施例不旨在以任何方式限制本发明的范围。

[0150] 单次或多次给药至个体的剂量将取决于多种因素,包括药代动力学性质、患者状况和特性(性别、年龄、体重、健康、尺寸)、症状的程度、治疗的同步治疗频率和期望的效果。

[0151] 联用

[0152] 本文描述的本发明的化合物可以以单一疗法施用,或者除了本发明的化合物以外,还可以涉及一种或多种其它物质和/或治疗。这样的共同治疗可以通过治疗的单个组分的同时、顺序或单独给药的方式而实现。当顺序或单独给药时,第二种组分延迟给药不应该例如失去联用的有益效果。

[0153] 根据本发明的一种具体的实施方式,本发明的化合物及其药物制剂可以与可用于治疗疟疾的活性助剂联合给药。

[0154] 合适的类别和物质包括一种或多种可用于治疗和预防疟疾的抗疟药,例如,青蒿素或青蒿素衍生物(例如蒿甲醚或二氢青蒿素)、氯喹、甲氟喹、奎宁、阿托喹酮(atoquone)/氯胍、多西环素、羟氯喹、卤泛群、咯萘啶、本苄醇、乙胺嘧啶-磺胺多辛和哌喹。

[0155] 还包括阿莫地喹、阿托伐醌、盐酸氯胍、螺[3H-吡啶-3,1'-[1H]吡啶并[3,4-b]吡啶]-2(1H)-酮(CAS登记号:1193314-23-6)、5,7'-二氯-6'-氟-2',3',4',9'-四氢-3'-甲基-,(1'R,3'S)-、硫磺、[4-[[2-(1,1-二氟乙基)-5-甲基[1,2,4]三唑并[1,5-a]嘧啶-7-基]氨基]苯基]五氟-] (CAS登记号:1282041-94-4)、吗啉和4-[2-(4-顺式-二螺[环己烷-1,

3'-[1,2,4]三氧戊环-5',2"-三环[3.3.1.1^{3,7}]癸烷]-4-基苯氧基)乙基]-) (CAS登记号: 1029939-86-3)。

[0156] 可用于本发明上下文的进一步活性助剂选自奎纳克林、伯氨喹、他非诺喹、多西环素、二茂铁氯喹和青蒿氧烷。

[0157] 本发明包括至少一种根据本发明的化合物的或其药物制剂的给药,其中,在可用于治疗疟疾的进一步治疗方案或活性助剂(例如,多种药物方案)之前、同时或顺序,将有效量的本发明的化合物或其药物制剂给药至个体。与所述活性助剂同时给药的本发明的化合物或其药物制剂可以在相同或不同的组合物中和通过相同或不同的给药途径给药。

[0158] 患者

[0159] 在一种实施方式中,根据本发明的患者正遭受疟疾的患者。

[0160] 在另一种实施方式中,根据本发明的患者为具有被疟原虫感染的高风险的患者。

[0161] 在另一种实施方式中,根据本发明的患者为具有被恶性疟原虫感染的高风险的患者。

[0162] 在另一种实施方式中,根据本发明的患者为具有被间日疟原虫感染的高风险的患者。

[0163] 根据本发明的用途

[0164] 在一种实施方式中,本发明提供了本文描述的如式(I)所示的化合物以及其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、多晶型物、互变异构体、几何异构体或光学活性形式用于制备用于治疗或预防疟疾的药物组合物中的用途。

[0165] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于预防或治疗患者的疟疾的方法。所述方法包括将有效量的根据本发明的化合物,或药学上可接受的盐或其药学活性衍生物或其药物制剂给药至有需要的患者。

[0166] 在另一种实施方式中,本发明提供了根据本发明的化合物以及药学上可接受的盐或其药学活性衍生物或其药物制剂在治疗或预防疟疾中的用途。

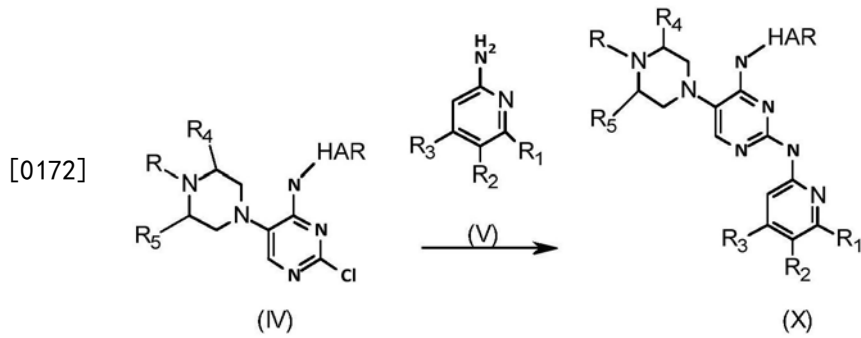
[0167] 在另一种实施方式中,本发明提供了本发明的化合物的用途或根据本发明的方法,其中,本发明的化合物待与在疟疾治疗中有用的活性助剂联合给药。

[0168] 在另一种实施方式中,本发明提供一种药物组合物,所述药物组合物含有根据本发明的化合物的与在疟疾治疗中有用的活性助剂的联合给药。

[0169] 本发明的化合物和组合物可用于使细胞的寄生虫感染失活的方法,所述方法包括将细胞与有效量的至少一种根据本发明的化合物接触的步骤。根据一个具体的方面,细胞为灵长类动物细胞,例如红细胞,例如人细胞。

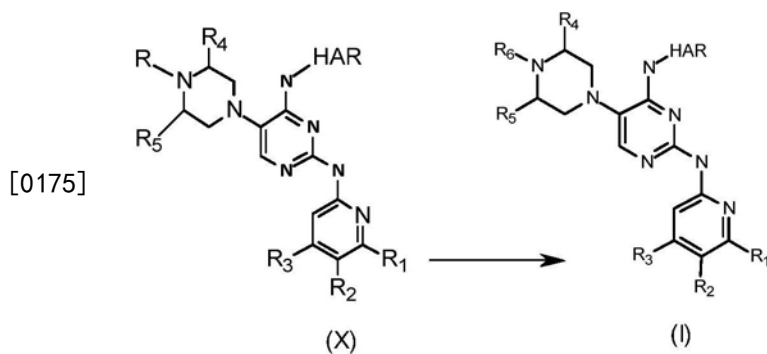
[0170] 方法

[0171] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于制备如式(I)所示的化合物的方法,所述方法包括如下在钯催化的胺化条件(例如,使用9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦基)氧杂蒽(9,9-Dimethyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthene)和三(二苄叉基丙酮)二钯(Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium)作为催化剂)下,将如式(IV)所示的衍生物与如式(V)所示的衍生物反应,以产生如式(X)所示的中间体的步骤:



[0173] 其中,R为保护基团(例如,Boc)。

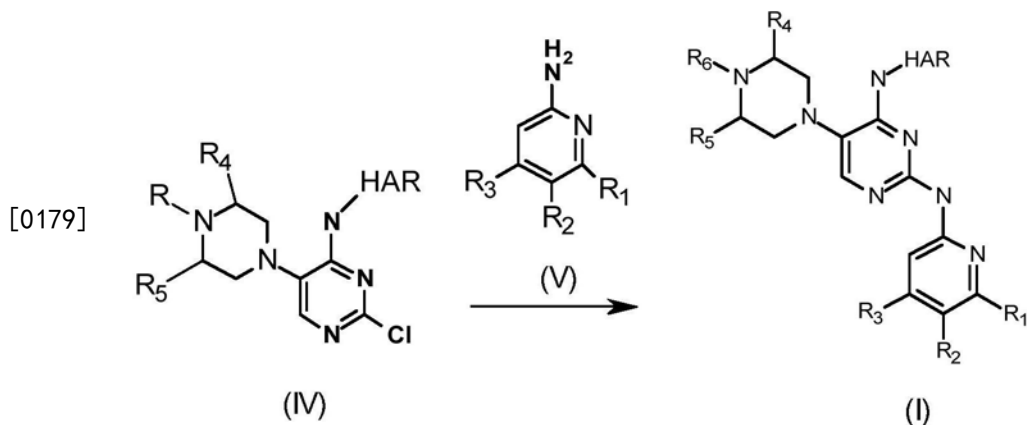
[0174] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于制备如式(I)所示的化合物的方法,所述方法包括如下在酸性条件(例如,4N盐酸或三氟乙酸)下,如式(X)所示的衍生物发生反应,以产生如式(I)所示的化合物的步骤。



[0176] 其中,R为保护基团(例如,Boc)。

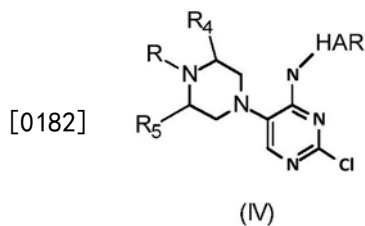
[0177] 在进一步任意的步骤中,在还原性胺化条件下,将其中 $R_6=H$ 的如式(I)所示的化合物进一步转化为其中 $R_6=$ 烷基的如式(I)所示的进一步的化合物。

[0178] 在另一种实施方式中,本发明提供了用于制备如式(I)所示的化合物的方法,所述方法包括如下在钯催化的胺化条件(例如,使用9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦基)氧杂蒽和三(二苄叉基丙酮)二钯作为催化剂)下,将如式(IV)所示的衍生物与如式(V)所示的衍生物反应,以产生如式(X)所示的中间体的步骤:



[0180] 其中,R为 R^6 , R^6 为烷基。

[0181] 在另一种实施方式中,本发明提供了如式(IV)所示的中间体,其中, R^4 、 R^5 和HAR如本文所定义,并且R选自保护基团(例如,Boc)和 R^6 :



[0183] 在另一种实施方式中,本发明提供了选自以下组的如式 (IV) 所示的中间体:

[0184] 4-(2-氯-4-((1,5-二甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

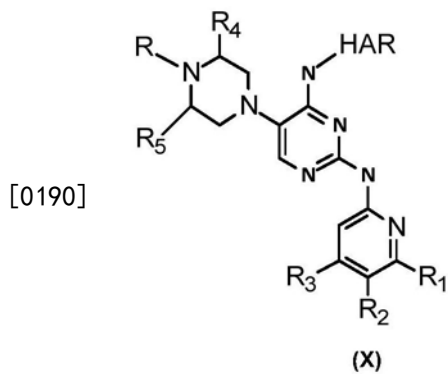
[0185] 4-(2-氯-4-((1-乙基-5-甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0186] 4-(2-氯-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0187] 4-(2-氯-4-((1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;和

[0188] 2-氯-N-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-4-胺。

[0189] 在另一种实施方式中,本发明提供了如式 (X) 所示的中间体,其中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 和 HAR 如本文所定义,并且 R 为保护基团 (例如, Boc) :



[0191] 在另一种实施方式中,本发明提供选自以下组的式 (X) 的中间体:

[0192] 4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0193] 4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1-乙基-5-甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0194] 4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0195] 4-(2-((5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0196] 4-(2-((5-氰基-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0197] 4-(4-((1,5-二甲基-1H-吡啶-3-基)氨基)-2-((4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0198] 4-(4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-2-((4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0199] 4-(2-((4-环丁基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0200] 4-(2-((5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;

[0201] 4-(2-((5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯;和

[0202] 4-(2-((3-环丙基-4-氟-5-甲基苯基)氨基)-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸叔丁酯。

[0203] 如果不是市售可得的,方法所需的原料(例如如本文所述)可以通过选自标准有机化学技术的方法、与合成已知的结构上类似的化合物类似的技术或与所描述的方法或在实施例中描述的方法类似的技术来制备。

[0204] 值得注意的是,用于本文所述的合成方法的许多原料为市售可得的和/或在科学文献中广泛报道的,或者可以由市售可得的化合物使用在科学文献中报道的方法的改编来制备。关于反应条件和试剂的常规指导,读者进一步参考Advanced Organic Chemistry(高等有机化学),第5版, Jerry March和Michael Smith,由John Wiley&Sons出版,2001。

[0205] 还将理解的是,在本文所述的一些反应中,可能需要/期望保护化合物中的任何敏感基团。其中需要或期望保护的实例是本领域技术人员已知的,因为它们是由于这种保护的合适的方法。可以根据标准实践(其说明参见T.W.Greene,Protective Groups in Organic Synthesis(有机合成中的保护基团),John Wiley and Sons出版,1991)和如上文所述的使用的常规保护基团。

[0206] 实施例

[0207] 现在通过但不限于以下实施例来说明本发明,除非另外说明,否则:

[0208] (i) 通过真空旋转蒸发进行蒸发,并且在通过过滤除去残余的固体后,进行后处理过程;

[0209] (ii) 温度以 $^{\circ}\text{C}$ 表示;操作在室温下进行,通常在 $18\text{--}26^{\circ}\text{C}$ 范围,除非另外说明,否则没有排除空气,或者除非专业技术人员另外在惰性气氛下工作;

[0210] (iii) 除非另外说明,否则柱层析法(通过快速方法)被用于纯化化合物,并且在Merck Kieselgel二氧化硅(Art.9385)上实施;

[0211] (iv) 总的来说,反应过程通过TLC、HPLC或LC/MS跟踪,并且给出反应时间仅用于说明;给出收率仅用于说明,并且不一定达到最大值;

[0212] (v) 本发明的终产物的结构通常通过NMR和质谱技术进行证实。除非另外说明,否则质子磁共振光谱通常在DMSO- d_6 中测定,使用Bruker DRX-300光谱仪或Bruker DRX-400光谱仪,分别在300MHz或400MHz的场强度下操作。在其中NMR光谱复杂的情况下,仅报道诊断的信号。化学位移通过以四甲基硅烷作为外标(δ 标度)的低磁场的ppm报道,因此显示峰值多重性:s,单峰;d,双重峰;dd,双重峰的双重峰;dt,三重峰的双重峰;dm,多重峰的双重峰;t,三重峰,m,多重峰;br,宽。快速原子轰击(FAB)质谱数据通常使用以电喷运行的Platform光谱仪(由Micromass供应)得到,在适当的情况下,收集正离子数据或负离子数

据,或使用配备Sedex 75ELSD的Agilent 1100系列LC/MS,在适当的情况下,收集正离子数据或负离子数据。对于其中同位素分裂导致多个质谱峰(例如当存在氯时)的分子,报道最低质量主要离子。使用YMC Pack ODS-AQ (100×20mm内径,5- μ 粒径,12nm孔尺寸),在Agilent仪器上进行反相HPLC;

[0213] (vi) 将每一个中间体纯化至随后的阶段所需的标准,并且足够详细地表征,以证实指定的结构是正确的;纯度通过HPLC、TLC或NMR测定,在适当的情况下,同一性通过红外光谱(IR)、质谱或NMR光谱测定;和

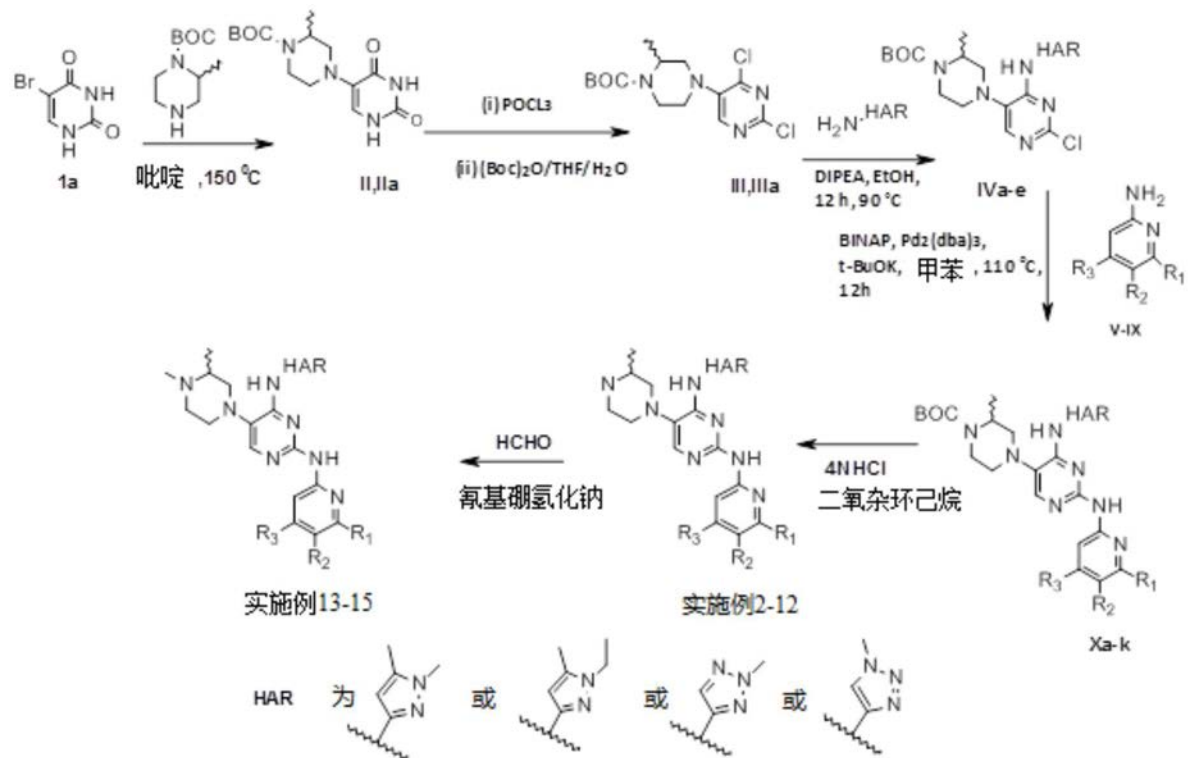
[0214] (vii) 可以使用以下缩写:

[0215] ACN—乙腈;TLC—薄层层析法;HPLC—高压液相色谱法;MPLC—中等压力液相色谱法;NMR—核磁共振光谱法;DMA—二甲基乙酰胺;DMSO—二甲基亚砜;CDCl₃—氘化的氯仿;MeOD—氘化的甲醇,即,D₃COD;MS—质谱法;ESP(或ES)—电喷;HBSS—Hank平衡盐溶液;EI—电子冲击;APCI—大气压化学电离;THF—四氢呋喃;DCM—二氯甲烷;HPMC—羟丙基甲基纤维素;MeOH—甲醇;DMF—二甲基甲酰胺;EtOAc—乙酸乙酯;LC/MS—液相色谱法/质谱法;h—小时;min为分钟;d—天;MTBD—N-甲基-1,5,7-三氮杂双环[4.4.0]癸-5-烯;NADPH—烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐—还原的形式;PEG—聚乙二醇;RT—室温;TEER—跨膜电阻(Trans epithelial electric resistance);TFA—三氟乙酸;v/v—体积/体积比;Boc表示叔丁氧基羰基;Cbz表示苄氧基羰基;Bz表示苯甲酰基;atm表示大气压;rt表示室温;mg表示毫克;g表示克; μ L表示微升;mL表示毫升;L表示升; μ M表示微摩尔当量;mM表示毫摩尔当量;M表示摩尔当量;N表示标准;nm表示纳米。

[0216] 根据本发明,通式(I)所示的化合物可以根据以下方法制备。中间体(II-Xk)和通式(I)所示的化合物的合成在流程1、2和3中描述。

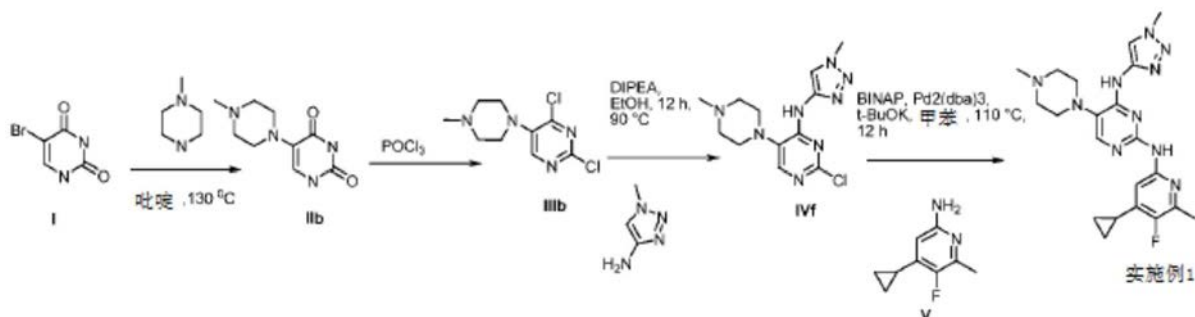
[0217] 合成流程1

[0218]

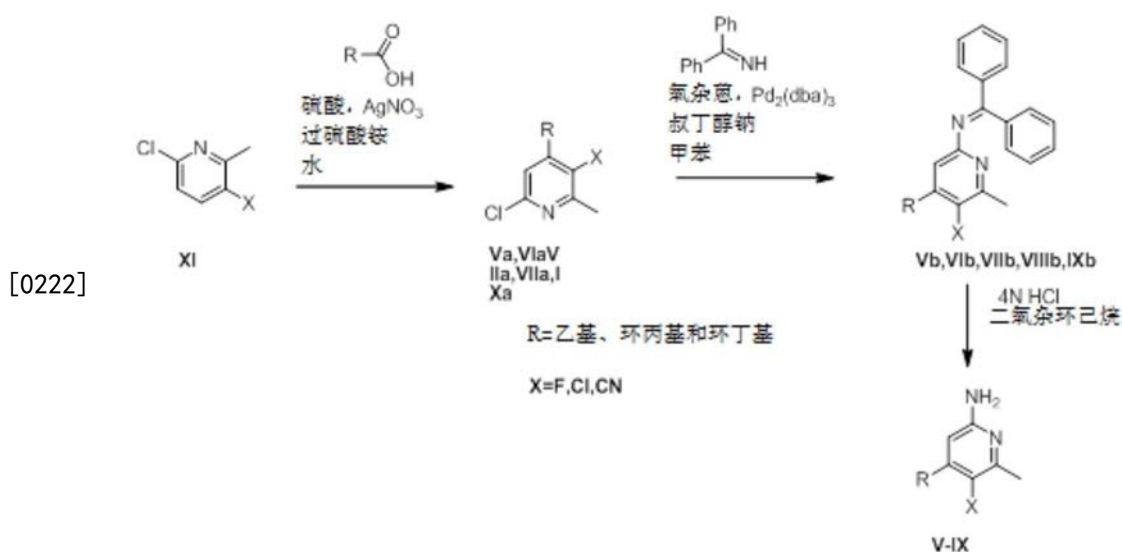


[0219] 合成流程2

[0220]



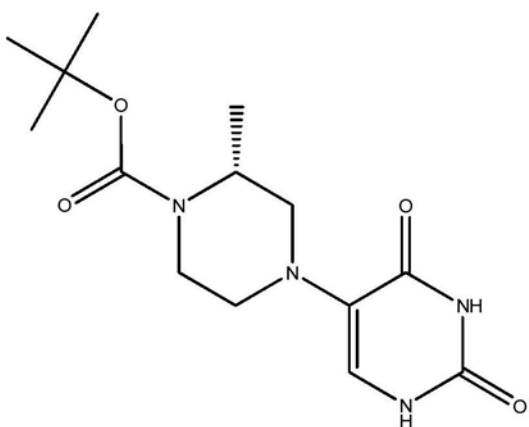
[0221] 合成流程3



[0223] 中间体II

[0224] (R)-叔丁基-4-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0225]



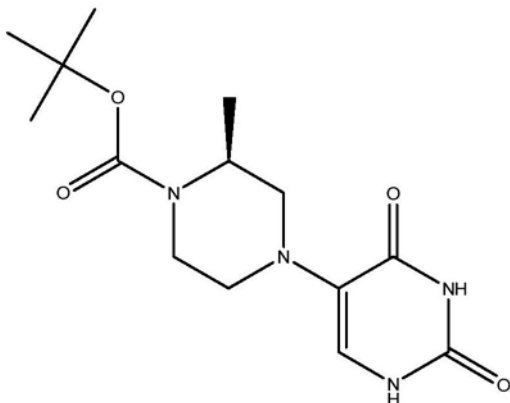
[0226] 在Biotage微波小瓶中,将5-溴嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(Ia)(24g,125.67mmol,Aldrich)和(R)-叔丁基-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(37.8g,188.50mmol,Activate Scientific)放在吡啶(12mL)中,在150°C下照射90min。真空除去吡啶,将残余物倒入水中,以得到混悬液,将其过滤,真空干燥,以得到固体(R)-叔丁基-4-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(22.00g,56.4%)。注意:反应在12个批次中进行,每次2g。合并所有,并且进行后处理。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 1.19(d,J=6.78Hz,3H) 1.40(s,9H)

2.30 (d, $J=2.83\text{Hz}$, 1H) 2.42 (dd, $J=11.30, 3.58\text{Hz}$, 1H) 2.93–3.22 (m, 3H) 3.72 (d, $J=13.19\text{Hz}$, 1H) 4.12 (br. s., 1H) 6.73 (d, $J=4.71\text{Hz}$, 1H) 10.51 (br. s., 1H) 11.10 (s, 1H) MS (ES⁺), $(M+H)^+=310.09$, $C_{14}H_{22}N_4O_4$ 。

[0227] 中间体IIa

[0228] (S)-叔丁基-4-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0229]

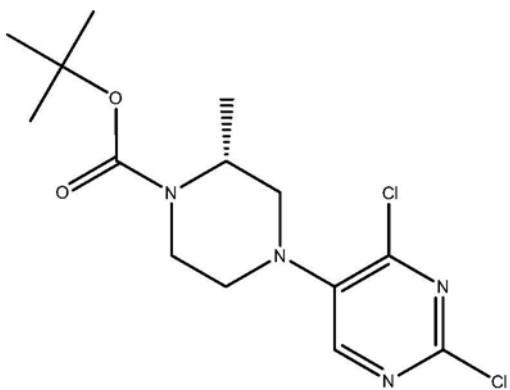


[0230] 使用与中间体II类似的方法,中间体IIa由5-溴嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(Aldrich)和(S)-叔丁基2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(Activate Scientific)制备。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1.19 (d, $J=6.78\text{Hz}$, 3H) 1.40 (s, 9H) 2.30 (d, $J=2.83\text{Hz}$, 1H) 2.42 (dd, $J=11.30, 3.58\text{Hz}$, 1H) 2.93–3.22 (m, 3H) 3.72 (d, $J=13.19\text{Hz}$, 1H) 4.12 (br. s., 1H) 6.73 (d, $J=4.71\text{Hz}$, 1H) 10.51 (br. s., 1H) 11.10 (s, 1H) MS (ES⁺), $(M+H)^+=310.09$, $C_{14}H_{22}N_4O_4$ 。

[0231] 中间体III

[0232] (R)-叔丁基4-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0233]



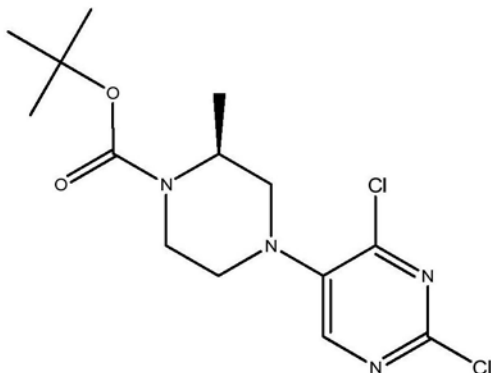
[0234] 在2L圆底烧瓶中,将(R)-叔丁基4-(2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(22g, 70.89mmol, 中间体II)放在三氯氧磷(793ml, 8506.56mmol)中,以得到褐色混悬液。将反应混合物回流5-6小时,通过LCMS监测反应,鉴定必需质量(required mass)。减压蒸除三氯氧磷,剩余的油用THF(250mL)和碎冰(400g)稀释,将反应混合物碱化至pH 8。将二碳酸二叔丁酯(22.17ml, 96.41mmol, Aldrich)加入到混合物,在室温下搅拌16h。反应混合物用甲醇稀释,滤除,以除去过量的盐。真空除去溶剂,残余物用水(50mL)稀释,用乙酸乙酯(500mL×3)萃取。有机层经硫酸钠干燥,减压除去溶剂。将残余物负载于硅胶上,纯化,以得到固体(R)-叔丁基4-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(23.00g, 93%)。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ ppm 1.31 (d, $J=6.78\text{Hz}$, 3H) 1.37–1.47 (m, 9H) 2.70–2.93 (m, 2H) 3.15–3.29 (m, 3H) 3.94 (d, $J=13.94\text{Hz}$, 1H) 4.33 (br. s., 1H) 8.11 (s, 1H) MS

(ES⁺), (M+H)⁺=349, C₁₄H₂₀Cl₂N₄O₂。

[0235] 中间体IIIa

[0236] (S)-叔丁基4-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0237]

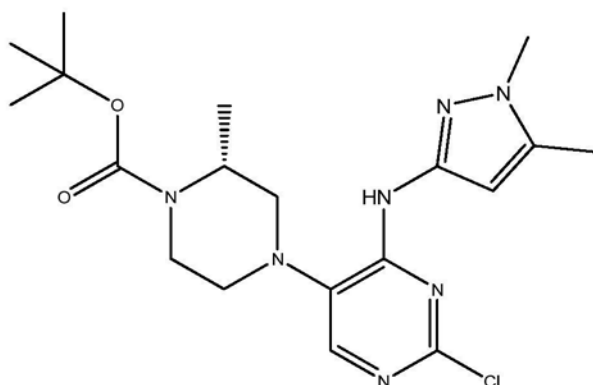


[0238] 使用与中间体III类似的方法,由IIa制备中间体IIIa。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δppm 1.31 (d, J=6.78Hz, 3H) 1.37-1.47 (m, 9H) 2.70-2.93 (m, 2H) 3.15-3.29 (m, 3H) 3.94 (d, J=13.94Hz, 1H) 4.33 (br. s., 1H) 8.11 (s, 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=349, C₁₄H₂₀Cl₂N₄O₂。

[0239] 中间体IVa

[0240] (R)-叔丁基4-(2-氯-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0241]

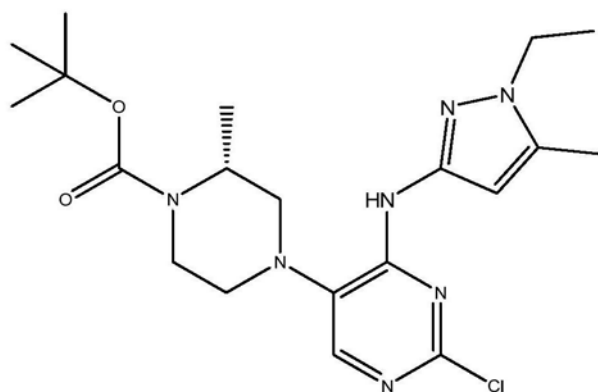


[0242] 在25mL Biotage微波小瓶中,将(R)-叔丁基4-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(500mg, 1.44mmol, 中间体III)和1,5-二甲基-1H-吡唑-3-胺(160mg, 1.44mmol, Princeton Bio.)放在乙醇(10mL)中。加入N,N-二异丙基乙胺(0.754mL, 4.32mmol),反应物料经历在120℃下微波照射4小时。通过LCMS监测反应,鉴定必需质量。将反应物料冷却,蒸发至干,残余物随后在二氧化硅上经EtOAc/己烷进行层析色谱分析,以得到纯固体(R)-叔丁基4-(2-氯-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(300mg, 49.4%) MS (ES⁺), (M+H)⁺=422.20, C₁₉H₂₈ClN₇O₂。

[0243] 中间体IVb

[0244] (R)-叔丁基4-(2-氯-4-((1-乙基-5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0245]

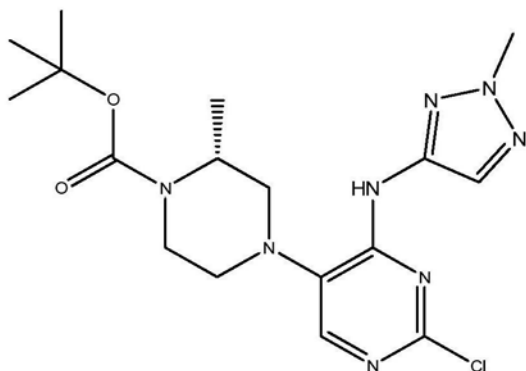


[0246] 使用与中间体IVa类似的方法,由1-乙基,5-甲基-1H-吡唑-3-胺(ChemCollect)和中间体III制备中间体IVb。收率:63.7%,MS(ES⁺), (M+H)⁺=436.38, C₂₀H₃₀ClN₇O₂。

[0247] 中间体IVc

[0248] (R)-叔丁基4-(2-氯-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0249]

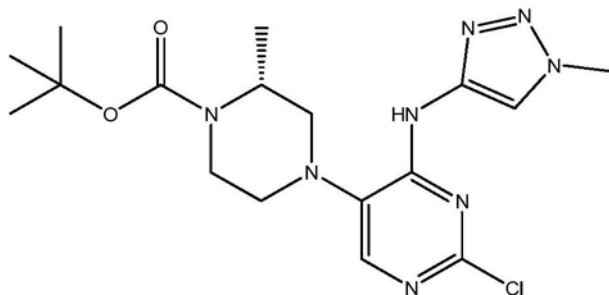


[0250] 在50ml圆底烧瓶中,将2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-胺盐酸盐(388mg,2.88mmol, ChemBridge)放在DCM(2mL)中,在冰冷却下,加入三乙胺(200mL,1.44mmol),搅拌5min。完全蒸发至干。将残余物溶解于DMF(10mL)中,使用冰浴冷却。加入氢氧化钠(173mg,4.32mmol),冷搅拌15min,加入(R)-叔丁基4-(2,4-二氯嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(500mg, 1.44mmol, 中间体III)。将所得到的反应混合物在室温下搅拌过夜。反应通过LCMS跟踪,鉴定必需质量。将DMF蒸发,混悬液随后在水和乙酸乙酯之间分配。合并有机层,经硫酸钠干燥,浓缩至干,在combiflash上纯化,以得到(R)-叔丁基4-(2-氯-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(180mg,30.6%)。MS(ES⁺), (M+H)⁺=409.36, C₁₇H₂₅ClN₈O₂。

[0251] 中间体IVd

[0252] (R)-叔丁基4-(2-氯-4-((1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0253]

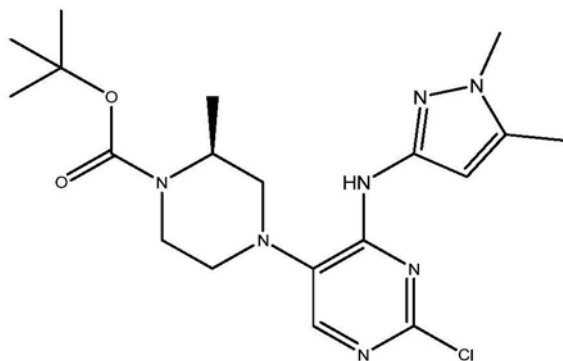


[0254] 使用与中间体IVc类似的方法,由1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-胺盐酸盐(ChemBridge)和中间体III制备中间体IVd。收率:51%。MS(ES⁺), (M+H)⁺=409.32, C₁₇H₂₅ClN₈O₂。

[0255] 中间体IVe

[0256] (S)-叔丁基4-(2-氯-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0257]

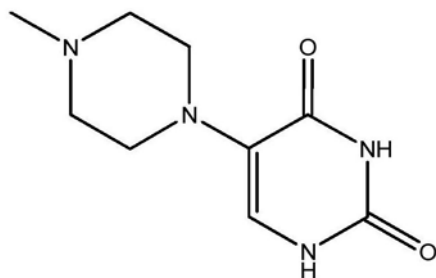


[0258] 使用与中间体IVa类似的方法,由1,5-二甲基-1H-吡唑-3-胺(160mg,1.44mmol, Princeton Bio.)和中间体IIIa制备中间体IVe。收率:49%,MS(ES⁺), (M+H)⁺=422.20, C₁₉H₂₈ClN₇O₂。

[0259] 中间体IIb

[0260] 5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

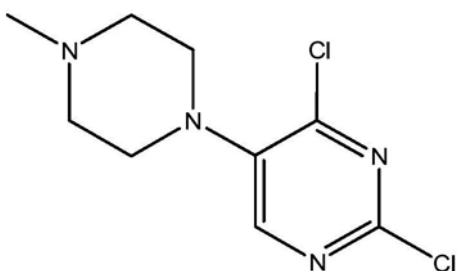
[0261]



[0262] 在20mL Biotage微波小瓶中,将5-溴尿嘧啶(3g,15.71mmol,Aldrich)和N-甲基哌嗪(2.61mL,23.56mmol,Aldrich)放在吡啶(15mL)中,以得到白色混悬液。小瓶随后加盖,经历在150℃下微波照射45min。通过LCMS监测反应,鉴定必需质量。真空除去吡啶,残余物随后与乙酸乙酯一起研磨,混悬液经过滤,真空干燥,以得到暗灰色固体状的5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(3.30g,100%)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 2.07(s,3H) 2.43-2.49(m,4H) 2.98-3.09(m,4H) 7.21(s,1H) 10.84(br.s.,1H) MS(ES⁺), (M+H)⁺=211.09, C₉H₁₄N₄O₂。

[0263] 中间体IIIb[0264] 2,4-二氯-5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶

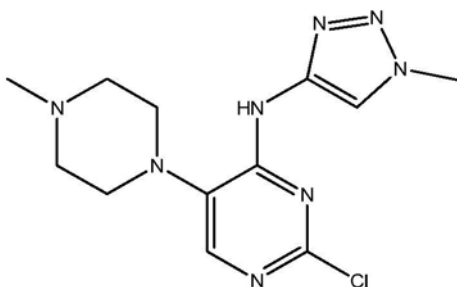
[0265]



[0266] 在250mL两颈圆底烧瓶中,将5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(3.30g,15.70mmol,中间体IIb)放在三氯氧磷(200ml,2145.67mmol)中,以得到褐色混悬液。随后将反应物料加热至120℃达4小时。通过LCMS监测反应,鉴定必需质量。真空蒸发三氯氧磷,以得到稠的暗色残余物。将冰加入其中,冷却下用碳酸氢钠中和至pH 8。混悬液随后用10%甲醇/二氯甲烷萃取。有机层经硫酸钠干燥,真空除去溶剂,以得到残余物,在combiflash上用甲醇和二氯甲烷纯化,以得到固体2,4-二氯-5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶(1.100g,28.4%)。¹H NMR(300MHz,CDCl₃) δppm 2.34-2.38(s,3H) 2.52-2.63(m,4H) 3.13(br.s.,4H) 8.64(s,1H) MS(ES⁺), (M+H)⁺=247, C₉H₁₂Cl₂N₄。

[0267] 中间体IVf[0268] 2-氯-N-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-4-胺

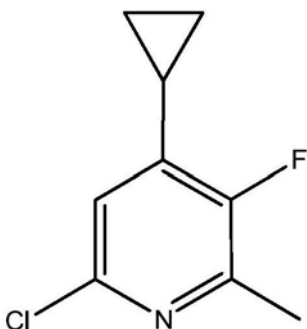
[0269]



[0270] 使用与中间体IVc类似的方法,由1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-胺盐酸盐(ChemBridge)和中间体IIIb制备中间体IVf。收率:29.5%。MS(ES⁺), (M+H)⁺=309.32, C₁₂H₁₅ClN₈。

[0271] 中间体Va[0272] 6-氯-4-环丙基-3-氟-2-甲基吡啶

[0273]



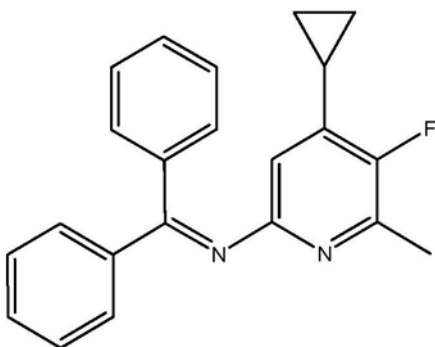
[0274] 在配备冷凝器和温度计的100ml三颈圆底烧瓶中,放入硫酸(1.318mL,24.73mmol)的水(45mL)溶液,向其中加入环丙烷甲酸(2.129g,24.73mmol,Aldrich)、硝酸银(1.260g,

7.42mmol)。向所得到的悬浮液加入6-氯-3-氟-2-甲基吡啶(1.8g,12.37mmol,Matrix Scientific),以得到白色混悬液。将混合物加热至70℃,随后逐滴加入新制备的过硫酸铵(8.47g,37.10mmol)的水(35mL)溶液达20min。加入完成后,除去热源,保持二氧化碳排放。反应通过TLC监测。随后将混合物冷却,用碳酸氢钠后处理至中性pH,化合物在乙醚(3×50ml)中萃取。将有机层蒸发,以得到粗样品2.1g。将粗样品在硅胶上使用DCM-己烷纯化,以得到6-氯-4-环丙基-3-氟-2-甲基吡啶(0.540g,23.53%)¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 0.87-0.95(m,2H) 1.05-1.15(m,2H) 2.00-2.12(m,1H) 2.38(d,J=3.20Hz,3H) 6.96(d,J=4.71Hz,1H) MS(ES⁺), (M+H)⁺=186.05,C₉H₉ClFN。

[0275] 中间体Vb

[0276] 4-环丙基-N-(二苯基亚甲基)-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺

[0277]

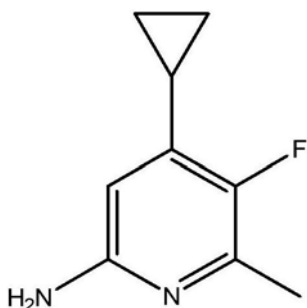


[0278] 将6-氯-4-环丙基-3-氟-2-甲基吡啶(中间体Va,532mg,2.87mmol)放在25ml热反应器中,溶解于甲苯(10mL)中。将α-苯基-苯甲亚胺(0.721mL,4.30mmol,Aldrich)、外消旋-2,2'-双(二苯基膦基)-1,1'-联萘(71.4mg,0.11mmol,Aldrich)、乙酸钡(II)(25.7mg,0.11mmol,Aldrich)和碳酸铯(1401mg,4.30mmol)加入其中,在氮气下,将所得到的混合物在120℃下回流过夜。使用LCMS监测反应,显示产物形成。将所得到的物料浓缩,经combiflash,接着经gilson HPLC纯化,以得到纯黄色胶4-环丙基-N-(二苯基亚甲基)-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺(350mg,37.0%)¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 0.44-0.55(m,2H) 0.82-1.02(m,2H) 1.81-1.96(m,1H) 2.25(d,J=3.20Hz,3H) 5.98(d,J=4.90Hz,1H) 7.10(dd,J=6.59,2.83Hz,2H) 7.28-7.37(m,3H) 7.44-7.60(m,3H) 7.62-7.71(m,2H) MS(ES⁺), (M+H)⁺=331.40,C₂₂H₁₉FN₂。

[0279] 中间体V

[0280] 4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺盐酸盐

[0281]



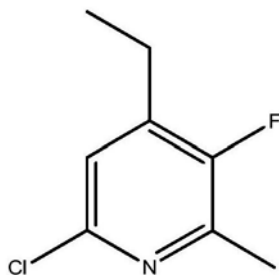
[0282] 在50mL圆底烧瓶中,将4-环丙基-N-(二苯基亚甲基)-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺(350mg,1.06mmol)放在1,4-二氧杂环己烷(10mL)无色溶液中。在室温下缓慢加入HCl/二氧

杂环己烷 (4ml, 16.00mmol)。将反应物料在室温下搅拌2小时,通过LCMS证实反应完全。将反应物料浓缩,用乙腈研磨,以得到白色固体4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺 (200mg, 93%),作为盐酸盐。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 0.77-0.92 (m, 2H) 1.14-1.27 (m, 2H) 1.97-2.18 (m, 1H) 2.37 (d, J=3.01Hz, 3H) 6.33 (d, J=5.84Hz, 1H) 7.49 (br. s., 2H) 14.19 (br. s., 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=167.12, C₉H₁₁FN₂。

[0283] 中间体VIa

[0284] 6-氯-4-乙基-3-氟-2-甲基吡啶

[0285]

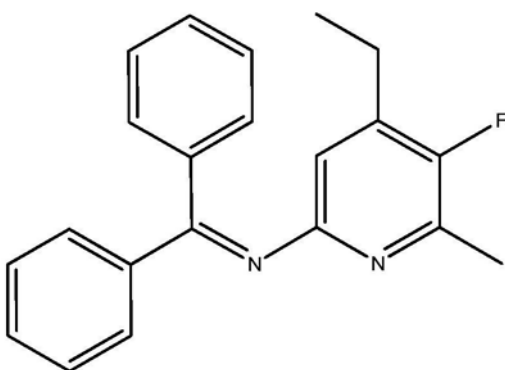


[0286] 使用与中间体Va类似的方法,由6-氯-3-氟-2-甲基吡啶 (Matrix Scientific) 和丙酸制备中间体VIa。收率:50.5% ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.18 (t, J=7.54Hz, 3H) 2.26 (d, J=1.13Hz, 3H) 2.63-2.81 (m, 2H) 7.36 (d, J=4.71Hz, 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=174.12, C₈H₉ClFN。

[0287] 中间体VIb

[0288] N-(二苯基亚甲基)-4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺

[0289]

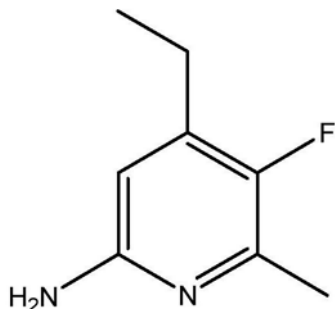


[0290] 使用与中间体Vb类似的方法,由中间体VIa制备中间体VIb。收率:28% ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.18 (t, J=7.54Hz, 3H) 2.26 (d, J=1.13Hz, 3H) 2.63-2.81 (m, 2H) 5.98 (d, J=4.90Hz, 1H) 7.10 (dd, J=6.59, 2.83Hz, 2H) 7.28-7.37 (m, 3H) 7.44-7.60 (m, 3H) 7.62-7.71 (m, 2H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=319.12, C₂₁H₁₉FN₂。

[0291] 中间体VI

[0292] 4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺盐酸盐

[0293]

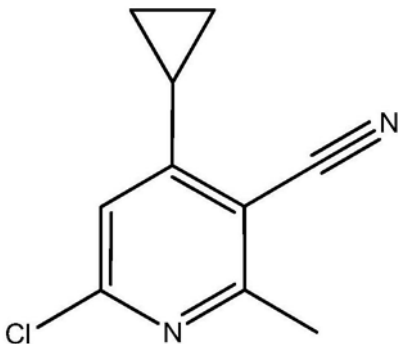


[0294] 使用与中间体V类似的方法,由中间体VIb制备中间体VI。收率:94%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.18 (t, J=7.54Hz, 3H) 2.26 (d, J=1.13Hz, 3H) 2.63-2.81 (m, 2H) 7.36 (d, J=4.71Hz, 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=155.06, C₈H₁₁FN₂。

[0295] 中间体VIIa

[0296] 6-氯-4-环丙基-2-甲基烟腈 (6-chloro-4-cyclopropyl-2-methylnicotinonitrile)

[0297]

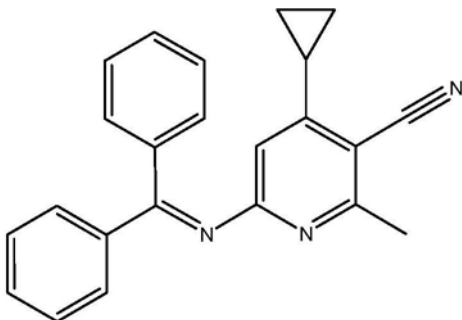


[0298] 使用与中间体Va类似的方法,由6-氯-2-甲基烟腈 (Manchester organics) 和丙酸制备中间体VIIa。收率:14% MS (ES⁺), (M+H)⁺=193.10, C₁₀H₉ClN₂。

[0299] 中间体VIIb

[0300] 4-环丙基-6-((二苯基亚甲基)氨基)-2-甲基烟腈

[0301]

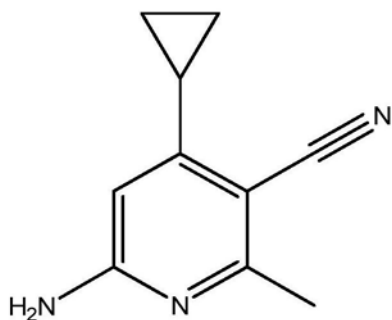


[0302] 使用与中间体Vb类似的方法,由中间体VIIa制备中间体VIIb。收率:81% MS (ES⁺), (M+H)⁺=338.40, C₂₃H₁₉N₃。

[0303] 中间体VII

[0304] 6-氨基-4-环丙基-2-甲基烟腈盐酸盐

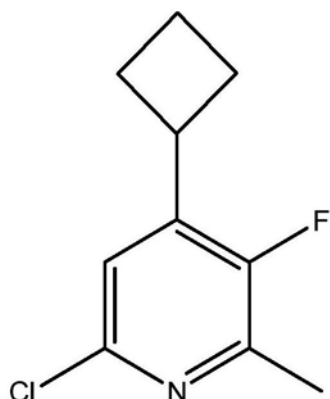
[0305]



[0306] 使用与中间体V类似的方法,由中间体VIIb制备中间体VII。收率:38.6%MS (ES⁺), (M+H)⁺=174.14, C₁₀H₁₁N₃。

[0307] 中间体VIIIa[0308] 6-氯-4-环丁基-3-氟-2-甲基吡啶

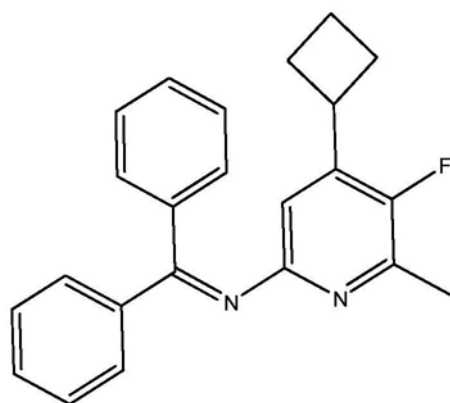
[0309]



[0310] 使用与中间体Va类似的方法,由6-氯-3-氟-2-甲基吡啶 (Matrix Scientific) 和环丁烷甲酸制备中间体VIIIa。收率:21%MS (ES⁺), (M+H)⁺=200, C₁₀H₁₁ClFN。

[0311] 中间体VIIIb[0312] 4-环丁基-N-(二苯基亚甲基)-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺

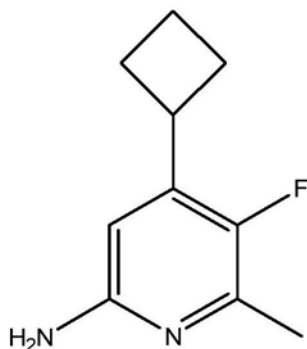
[0313]



[0314] 使用与中间体Vb类似的方法,由中间体VIIIa制备中间体VIIIb。收率:40%MS (ES⁺), (M+H)⁺=346, C₂₃H₂₁FN₂。

[0315] 中间体VIII[0316] 4-环丁基-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺盐酸盐

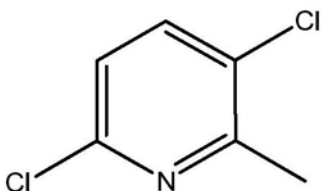
[0317]



[0318] 使用与中间体V类似的方法,由中间体VIIIb制备中间体VIII。收率:88% ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ_{ppm} 1.73-1.92 (m, 1H) 1.98-2.17 (m, 3H) 2.21-2.33 (m, 2H) 2.33-2.38 (m, 3H) 3.58-3.75 (m, 1H) 6.72 (d, $J=5.65\text{Hz}$, 1H) 7.74 (br. s., 1H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+=167.12$, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FN}_2$ 。

[0319] 中间体IXc[0320] 3,6-二氯-2-甲基吡啶

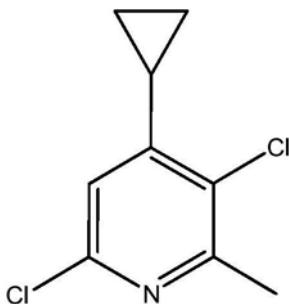
[0321]



[0322] 向5-氯-6-甲基吡啶-2-胺 (7.5g, 52.60mmol, Combi-Blocks) 的DCM (200mL) 混悬液中加入氯化铜(II) (9.19g, 68.38mmol), 搅拌10min。加入亚硝酸叔丁酯 (12.50mL, 105.20mmol), 在室温下继续搅拌另外的30min。颜色变为深蓝色。通过LCMS监测反应。LCMS显示反应完成。反应混合物经水、盐水溶液洗涤, 有机层经硫酸钠干燥, 真空浓缩, 以得到粗品。产物通过柱层析法使用5%乙酸乙酯:己烷混合物纯化, 以得到黄色液体状的3,6-二氯-2-甲基吡啶 (3.80g, 44.6%)。MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+=162.15$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_2\text{N}$ 。

[0323] 中间体IXa[0324] 3,6-二氯-4-环丙基-2-甲基吡啶

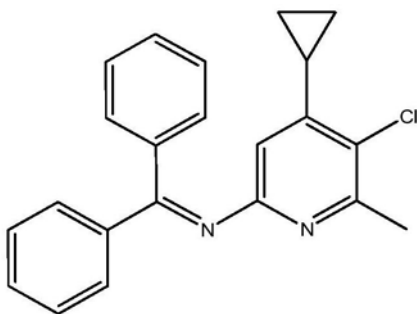
[0325]



[0326] 使用与中间体Va类似的方法,由中间体IXc制备中间体IXa。收率:23% MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+=202.24$, $\text{C}_9\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}$ 。

[0327] 中间体IXb[0328] 5-氯-4-环丙基-N-(二苯基亚甲基)-6-甲基吡啶-2-胺

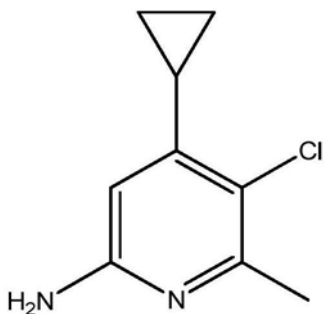
[0329]



[0330] 在100ml圆底烧瓶中,将3,6-二氯-4-环丙基-2-甲基吡啶 (250mg, 1.24mmol)、 α -苯基-苯甲烷亚胺 (0.228mL, 1.36mmol) 和9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦基)氧杂蒽 (57.3mg, 0.10mmol) 放在甲苯 (6mL) 中,将反应混合物脱气5min。随后加入三(二苄叉基丙酮)二钯 (0) (45.3mg, 0.05mmol) 和叔丁醇钠 (357mg, 3.71mmol)。随后将反应物料在氮气下于110°C下加热3h。通过LCMS监测反应,鉴定必需质量。在硅藻土床上滤除反应物料。将乙酸 (40 μ L, 2eq) 加入到滤液中。随后将滤液吸附在二氧化硅上,经乙酸乙酯/己烷层析色谱分析,以得到固体状的5-氯-4-环丙基-N-(二苯基亚甲基)-6-甲基吡啶-2-胺 (300mg, 69.9%)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=347.59, C₂₂H₉ClN₂。

[0331] 中间体IX[0332] 5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-胺盐酸盐

[0333]

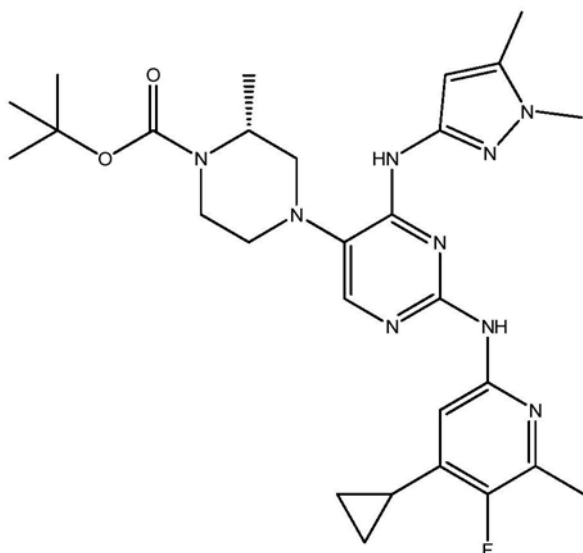


[0334] 使用与中间体V类似的方法,由中间体IXb制备中间体IX。收率:48% MS (ES⁺), (M+H)⁺=183.45, C₉H₁₁ClN₂。

[0335] 中间体Xa

[0336] (R)-叔丁基4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0337]

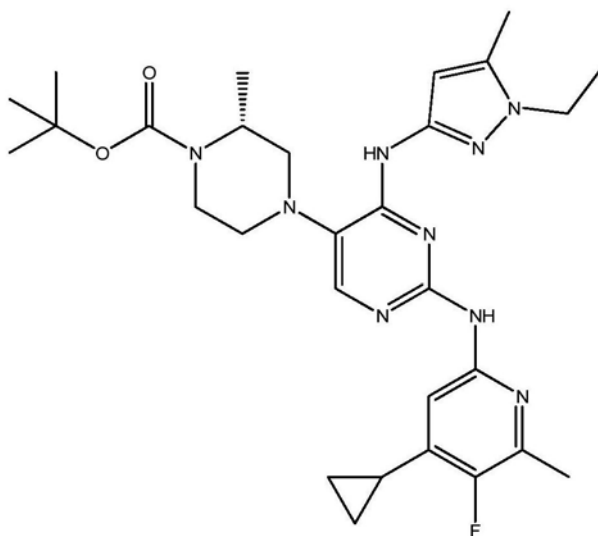


[0338] 将(R)-叔丁基4-(2-氯-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(185mg,0.44mmol,中间体IVa)放在50ml热反应器中,溶解于甲苯(10mL)中。将4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-胺盐酸盐(89mg,0.44mmol,中间体V)、9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦基)氧杂蒽(25.4mg,0.04mmol)、三(二苄叉基丙酮)二钯(0)(20.08mg,0.02mmol)和叔丁醇钠(84mg,0.88mmol)加入其中,在氮气下,将所得到的混合物在120℃下回流过夜。使用LCMS监测反应,鉴定必需质量。将反应混合物冷却,用甲醇稀释,通过硅藻土床过滤,将所得到的滤液浓缩,经combiflash,随后Gilson制备HPLC纯化,以得到纯白色固体(R)-叔丁基4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(60.0mg,24.81%)MS(ES⁺), (M+H)⁺=552.37, C₂₈H₃₈FN₉O₂。

[0339] 中间体Xb

[0340] (R)-叔丁基4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1-乙基-5-甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

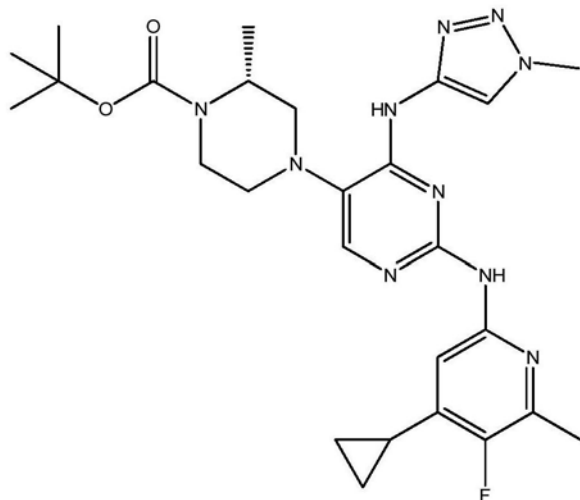
[0341]



[0342] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVb和中间体V制备。收率:23.12%MS(ES⁺), (M+H)⁺=567.60, C₂₉H₄₀FN₉O₂。

[0343] 中间体Xc

[0344] (R)-叔丁基4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

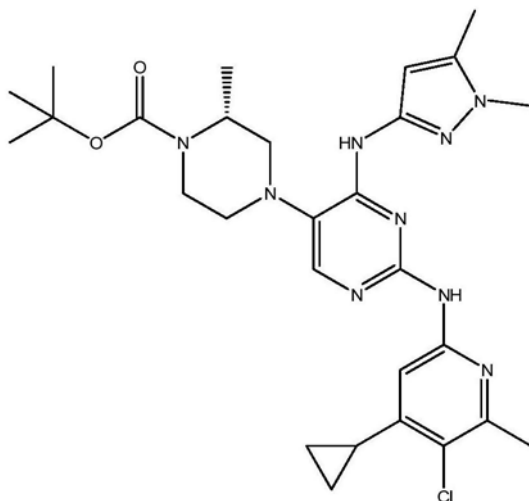


[0345]

[0346] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVd和中间体V制备。收率:45.5%MS (ES⁺), (M+H)⁺=539.44, C₂₆H₃₅FN₁₀O₂。

[0347] 中间体Xd

[0348] (R)-叔丁基4-(2-((5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯



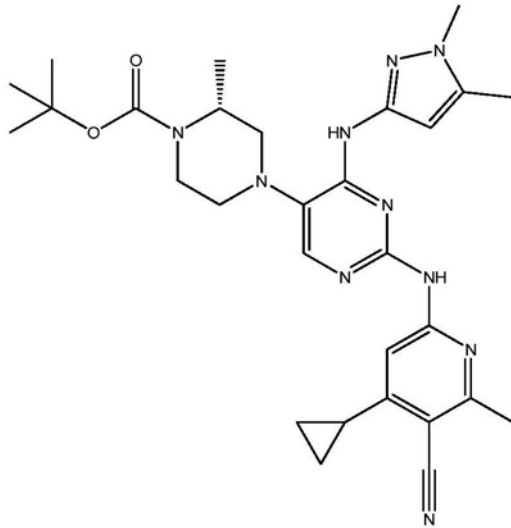
[0349]

[0350] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVa和中间体IX制备。收率:44.6%MS (ES⁺), (M+H)⁺=569.39, C₂₈H₃₈ClN₉O₂。

[0351] 中间体Xe

[0352] (R)-叔丁基4-(2-((5-氰基-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0353]

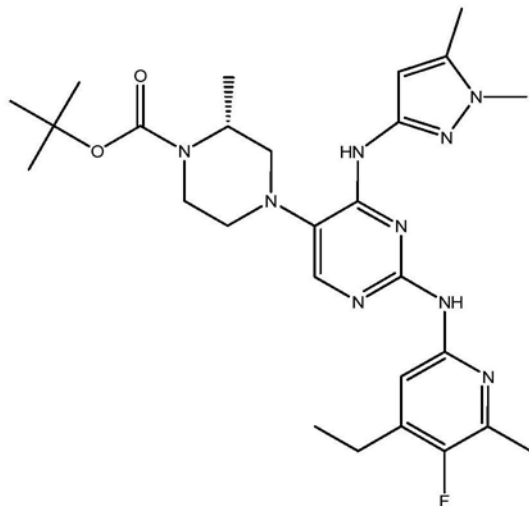


[0354] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVa和中间体VII制备。收率:35.5%MS (ES⁺), (M+H)⁺=559.35, C₂₉H₃₈N₁₀O₂。

[0355] 中间体Xf

[0356] (R)-叔丁基4-(4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-2-((4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0357]

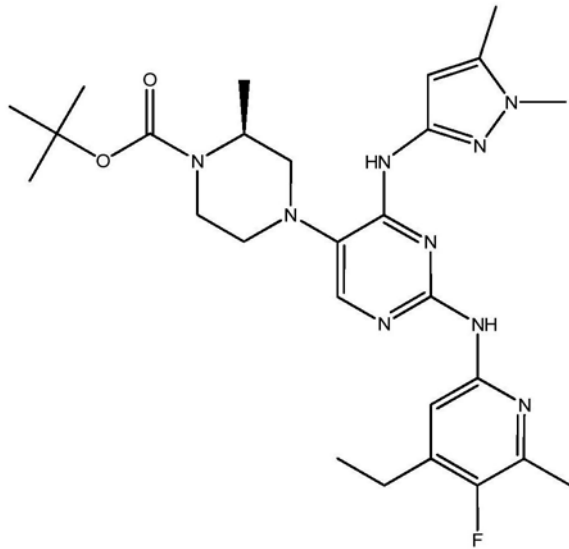


[0358] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVa和中间体VI制备。收率:57.9%MS (ES⁺), (M+H)⁺=540.21, C₂₇H₃₈FN₉O₂。

[0359] 中间体Xg

[0360] (S)-叔丁基4-(4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-2-((4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0361]

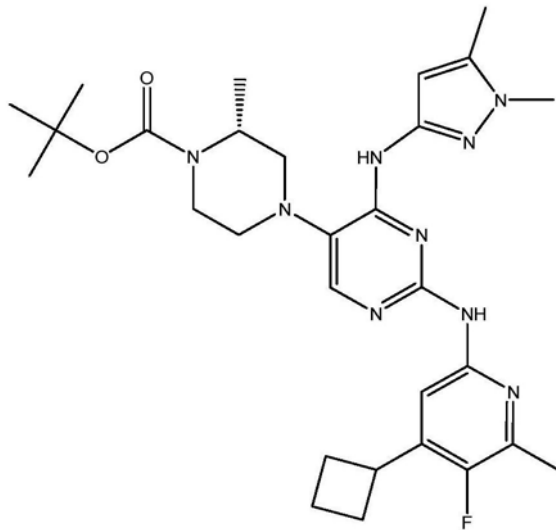


[0362] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVe和中间体VI制备。收率:57.9%MS (ES⁺), (M+H)⁺=540.21, C₂₇H₃₈FN₉O₂。

[0363] 中间体Xh

[0364] (R)-叔丁基4-(2-((4-环丁基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯 (72.0mg, 25.6%)。

[0365]

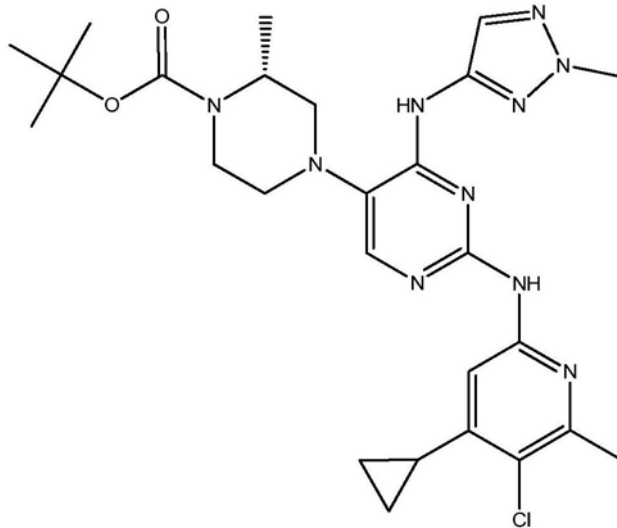


[0366] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVa和中间体VIII制备。收率:25.6%MS (ES⁺), (M+H)⁺=566.33, C₂₉H₄₀FN₉O₂。

[0367] 中间体Xi

[0368] (R)-叔丁基4-(2-((5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0369]

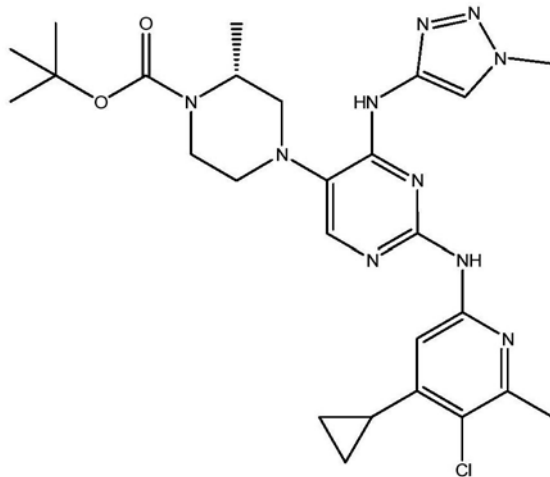


[0370] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVc和中间体IX制备。收率:46.0%MS (ES⁺), (M+H)⁺=555.26, C₂₆H₃₅ClN₁₀O₂。

[0371] 中间体Xj

[0372] (R)-叔丁基4-(2-((5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0373]

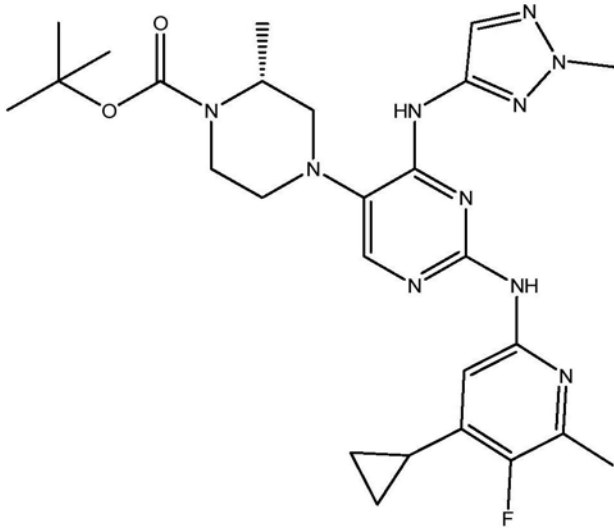


[0374] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVd和中间体IX制备。收率:14.75%MS (ES⁺), (M+H)⁺=555.26, C₂₆H₃₅ClN₁₀O₂。

[0375] 中间体Xk

[0376] (R)-叔丁基4-(2-((3-环丙基-4-氟-5-甲基苯基)氨基)-4-((2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯

[0377]

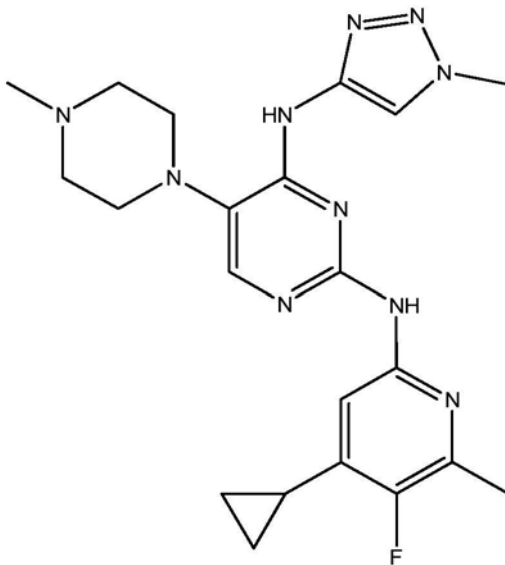


[0378] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVc和中间体V制备。收率:58.3%MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 539.29, C₂₆H₃₅FN₁₀O₂。

[0379] 实施例1

[0380] N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(4-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺

[0381]

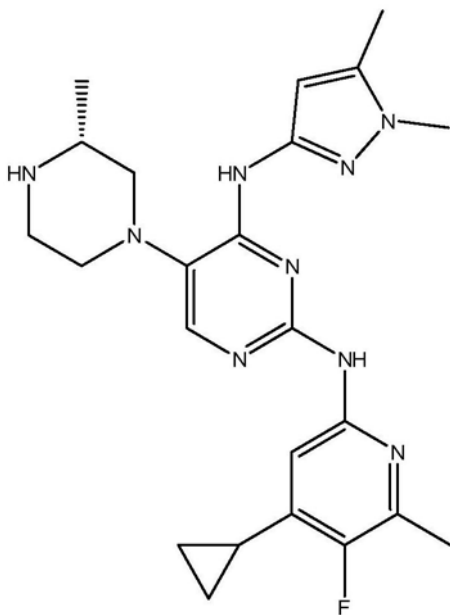


[0382] 如以上对于中间体Xa所描述的,由中间体IVf和中间体V制备。收率:21.28%, ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 0.70-0.82 (m, 2H) 1.04-1.15 (m, 2H) 1.99-2.14 (m, 1H) 2.26 (s, 3H) 2.36 (d, J = 3.01Hz, 3H) 2.87 (t, J = 4.43Hz, 4H) 4.05 (s, 3H) 6.55 (s, 1H) 7.85 (d, J = 5.09Hz, 1H) 8.07 (s, 1H) 8.51 (s, 1H) 8.94 (s, 1H) 9.62 (s, 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 439, C₂₁H₂₇FN₁₀。

[0383] 实施例2

[0384] (R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

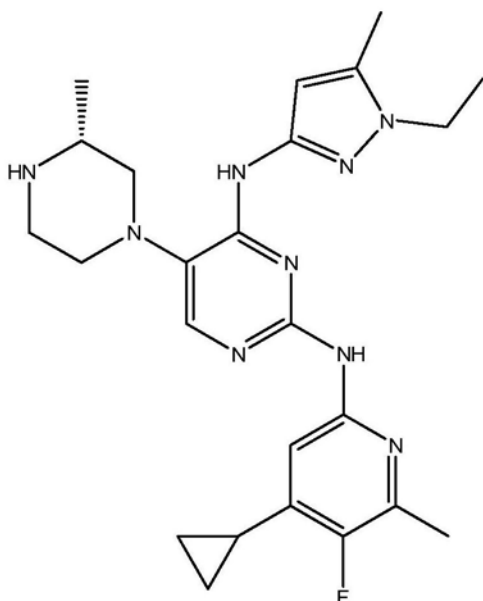
[0385]



[0386] 在50mL圆底烧瓶中,将(R)-叔丁基4-(2-((4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)氨基)-4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)嘧啶-5-基)-2-甲基哌嗪-1-甲酸酯(55mg, 0.10mmol, 中间体Xa)放在1,4-二氧杂环己烷(10mL)无色溶液中。在室温下缓慢加入4N HCl/二氧杂环己烷(4mL, 16.00mmol)。将反应物料在室温下搅拌2h,通过LCMS证实反应完全。将反应物料浓缩,与乙腈一起研磨,以得到白色固体(R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺(40.0mg, 76%) ^1H NMR(300MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.73-0.82(m, 2H) 1.15-1.22(m, 2H) 1.29(d, $J=6.22\text{Hz}$, 3H) 2.13(t, $J=4.71\text{Hz}$, 1H) 2.31(s, 3H) 2.54(d, $J=3.20\text{Hz}$, 3H) 2.76-2.89(m, 1H) 2.95-3.18(m, 3H) 3.25-3.38(m, 1H) 3.42(br. s., 1H) 3.56-3.80(m, 4H) 6.64-6.89(m, 2H) 8.12(s, 1H) 9.38(br. s., 1H) 9.81(br. s., 1H) 10.29(s, 1H) 11.39(br. s., 1H) 13.93(br. s., 1H) MS (ES^+), ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ =452.27, $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{FN}_9$ 。

[0387] 实施例3

[0388] (R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1-乙基-5-甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

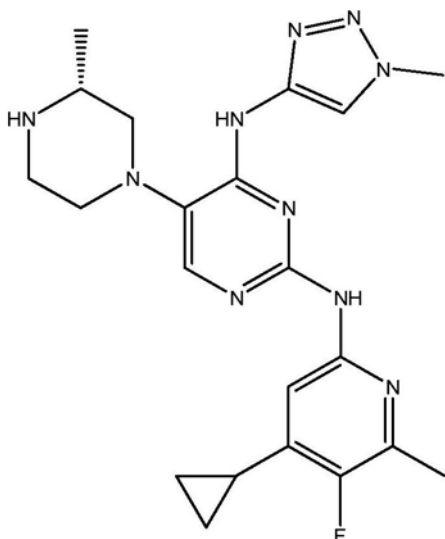


[0389]

[0390] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xb制备。收率:96%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 0.67-0.84 (m, 2H) 1.12-1.21 (m, 2H) 1.22-1.36 (m, 6H) 2.09-2.18 (m, 1H) 2.32 (s, 3H) 2.53 (d, J=3.20Hz, 3H) 2.76-2.86 (m, 1H) 3.00 (d, J=5.09Hz, 1H) 3.05-3.19 (m, 2H) 3.24-3.52 (m, 2H) 3.66 (br. s., 1H) 4.05 (q, J=7.03Hz, 2H) 6.68 (br. s., 1H) 6.76 (br. s., 1H) 8.09 (s, 1H) 9.16 (br. s., 1H) 9.58 (br. s., 1H) 10.31 (br. s., 1H) 11.31 (br. s., 1H) 13.90 (br. s., 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=466.29, C₂₄H₃₂FN₉。

[0391] 实施例4

[0392] (R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐



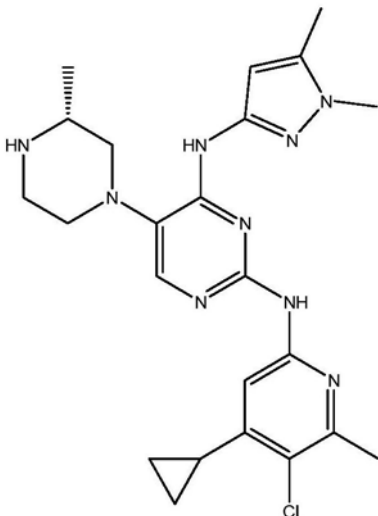
[0393]

[0394] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xc制备。收率:92%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 13.61-14.09 (m, 1H), 12.20 (br. s., 1H), 10.97 (s, 1H), 9.65 (br. s., 1H), 8.91-9.29 (m, 2H), 8.13 (s, 1H), 6.97 (d, J=4.90Hz, 1H), 3.67 (br. s., 1H), 3.27-3.56 (m, 3H), 2.98-3.27 (m, 3H), 2.68-2.94 (m, 1H), 2.03-2.28 (m, 2H), 1.07-1.38 (m, 6H), 0.69-0.84 (m, 2H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=439.37, C₂₁H₂₇FN₁₀。

[0395] 实施例5

[0396] (R)-N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

[0397]

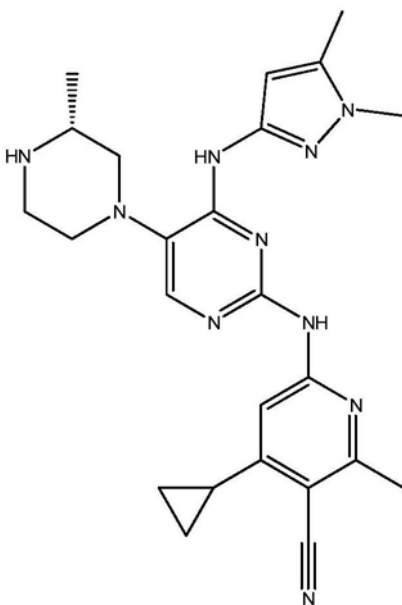


[0398] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xd制备。收率:92%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ9.39 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.92-8.01 (m, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.36-3.42 (m, 1H), 2.63-3.00 (m, 7H), 2.04-2.40 (m, 7H), 0.91-1.18 (m, 8H), 0.56-0.78 (m, 2H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=468.40, C₂₃H₃₀ClN₉。

[0399] 实施例6

[0400] (R)-4-环丙基-6-((4-((1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)氨基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2-基)氨基)-2-甲基烟腈二盐酸盐

[0401]



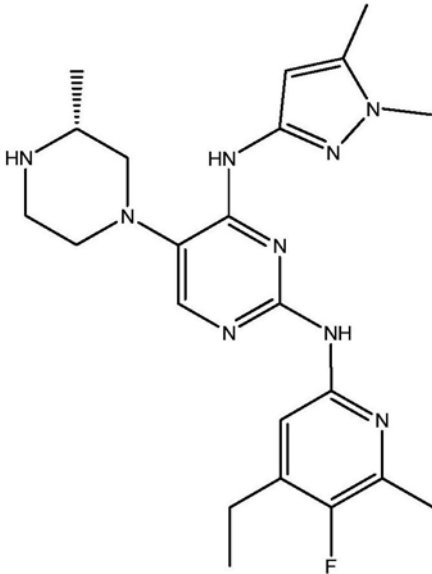
[0402] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xe制备。收率:91%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.19 (t, J=7.54Hz, 3H) 1.28 (d, J=6.22Hz, 3H) 2.31 (s, 3H) 2.54 (d, J=3.01Hz, 3H) 2.68 (d, J=7.54Hz, 2H) 2.77-2.87 (m, 1H) 3.12 (br. s., 2H) 3.27-3.39 (m, 1H) 3.44 (br. s., 1H) 3.64 (br. s., 1H) 3.73 (s, 3H) 6.72 (s, 1H) 7.17 (d, J=4.52Hz, 1H) 8.12 (s, 1H) 9.28 (br. s., 1H) 9.71 (br. s., 1H) 10.27 (s, 1H) 11.48 (s, 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=459.26,

C₂₄H₃₀N₁₀。

[0403] 实施例7

[0404] (R)-N₄-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-N₂-(4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

[0405]

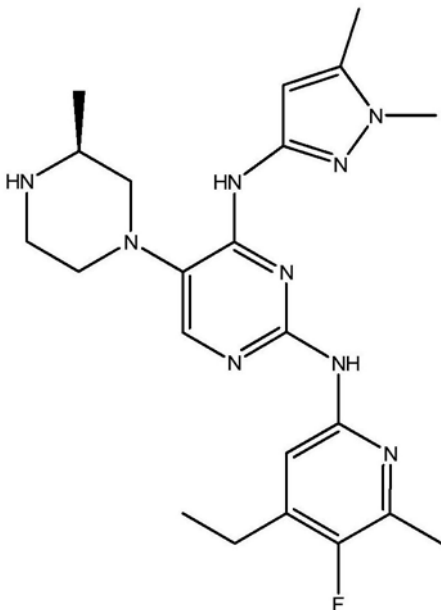


[0406] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xf制备。收率:75%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.15-1.24 (m, 3H) 1.29 (d, J=6.03Hz, 3H) 2.31 (s, 3H) 2.54 (d, J=3.01Hz, 3H) 2.67 (q, J=7.66Hz, 2H) 2.85 (d, J=11.49Hz, 1H) 2.96-3.22 (m, 3H) 3.24-3.54 (m, 4H) 3.60-3.76 (m, 4H) 6.74 (s, 1H) 7.18 (d, J=4.33Hz, 1H) 8.13 (s, 1H) 9.40 (br. s., 1H) 9.82 (br. s., 1H) 10.28 (s, 1H) 11.52 (br. s., 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=440.28, C₂₂H₃₀FN₉。

[0407] 实施例8

[0408] (S)-N₄-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-N₂-(4-乙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

[0409]

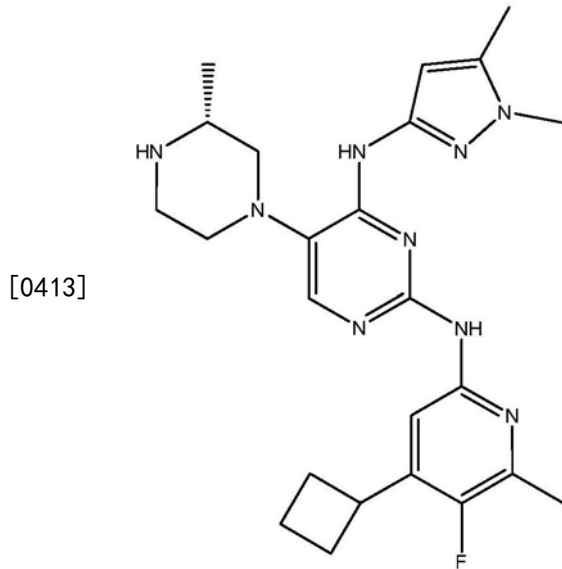


[0410] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xg制备。收率:75%,¹H NMR (300MHz,

DMSO-d₆) δppm 1.15-1.24 (m, 3H) 1.29 (d, J=6.03Hz, 3H) 2.31 (s, 3H) 2.54 (d, J=3.01Hz, 3H) 2.67 (q, J=7.66Hz, 2H) 2.85 (d, J=11.49Hz, 1H) 2.96-3.22 (m, 3H) 3.24-3.54 (m, 4H) 3.60-3.76 (m, 4H) 6.74 (s, 1H) 7.18 (d, J=4.33Hz, 1H) 8.13 (s, 1H) 9.40 (br. s., 1H) 9.82 (br. s., 1H) 10.28 (s, 1H) 11.52 (br. s., 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=440.28, C₂₂H₃₀FN₉。

[0411] 实施例9

[0412] (R)-N2-(4-环丁基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

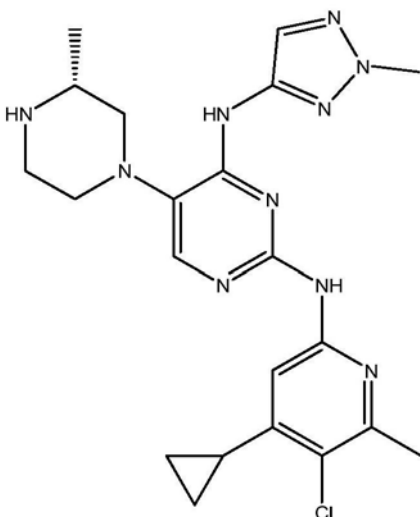


[0414] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xh制备。收率:99%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 1.29 (d, J=6.40Hz, 3H) 1.77-1.95 (m, 1H) 2.08-2.19 (m, 3H) 2.24-2.44 (m, 5H) 2.51-2.55 (m, 3H) 2.78-2.93 (m, 1H) 2.98-3.19 (m, 3H) 3.31 (br. s., 1H) 3.40 (d, J=10.74Hz, 1H) 3.57-3.80 (m, 5H) 6.78 (s, 1H) 7.22 (d, J=4.71Hz, 1H) 8.14 (s, 1H) 9.47 (d, J=9.23Hz, 1H) 9.92 (d, J=8.85Hz, 1H) 10.31 (s, 1H) 11.57 (s, 1H) 13.96 (br. s., 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=466, C₂₄H₃₂FN₉。

[0415] 实施例10

[0416] (R)-N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

[0417]

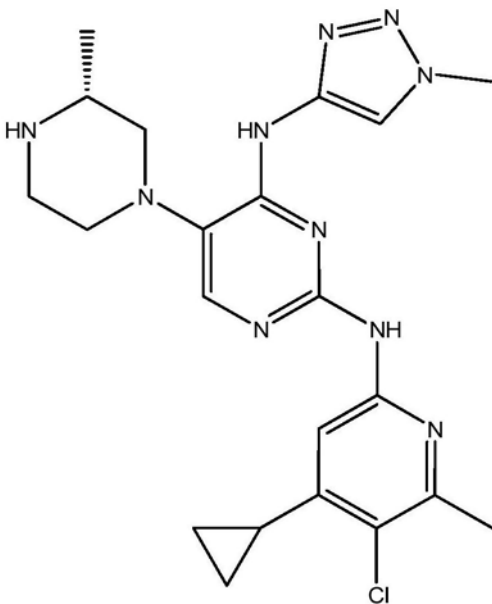


[0418] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xi制备。收率:99%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ0.63-0.88 (m, 2H) 1.14-1.37 (m, 6H), 2.19-2.34 (m, 1H), 2.68 (s, 4H), 2.83 (t, J=11.30Hz, 1H), 2.95-3.25 (m, 4H), 3.29-3.59 (m, 3H), 4.17 (s, 4H), 6.82 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.46-8.63 (m, 1H), 9.33 (br. s., 1H), 9.81 (br. s., 1H), 10.90 (br. s., 1H), 11.73 (br. s., 1H), MS (ES⁺), (M+H)⁺=455, C₂₁H₂₇ClN₁₀。

[0419] 实施例11

[0420] (R)-N2-(5-氯-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

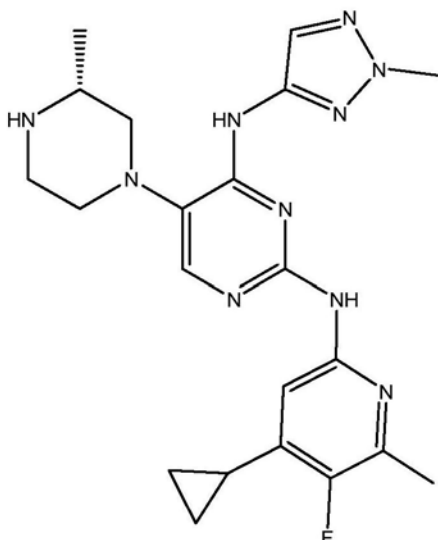
[0421]



[0422] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xj制备。收率:79%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ12.25 (br. s., 1H), 10.98 (br. s., 1H), 9.62 (br. s., 1H), 9.14 (br. s., 2H), 8.16 (s, 1H), 7.02 (br. s., 1H), 4.13 (s, 4H), 3.38 (s, 5H), 2.97-3.29 (m, 4H), 2.61-2.93 (m, 6H), 2.27 (br. s., 2H), 1.06-1.40 (m, 7H), 0.77 (br. s., 3H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=455, C₂₁H₂₇ClN₁₀。

[0423] 实施例12

[0424] (R)-N2-(5-氟-4-环丙基-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺二盐酸盐

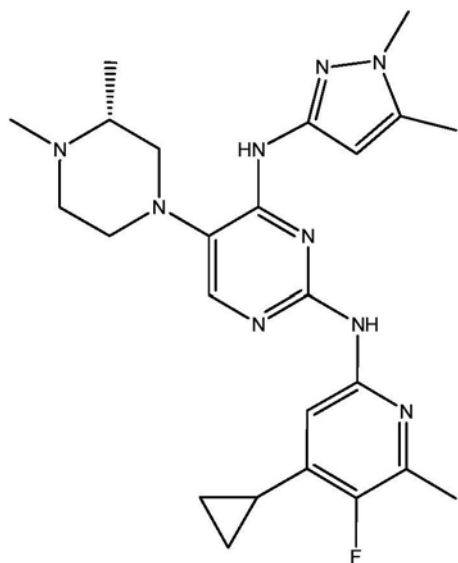


[0425]

[0426] 如以上对于实施例2所描述的,由中间体Xk制备。收率:92%MS (ES⁺), (M+H)⁺=438.36, C₂₂H₂₈FN₉。

[0427] 实施例13

[0428] (R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺



[0429]

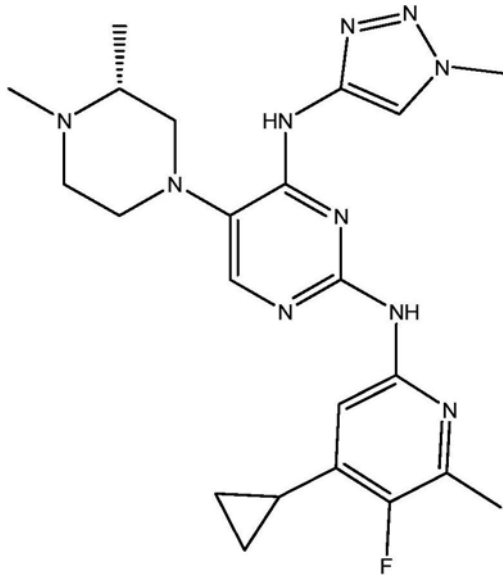
[0430] 在50mL圆底烧瓶中,将(R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3-甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺盐酸盐(190mg,0.42mmol,实施例2)放在DCM(2mL)中,以得到黄色混悬液。向其中加入Hunig碱(0.184mL,1.05mmol),混悬液变为澄清。10分钟后,其转变为白色悬浮液。另一个10分钟后,将混合物浓缩至干。将所得到的残余物溶解于乙醇(绝对,99.5%)(3mL)中,加入甲醛(0.042mL,0.63mmol),搅拌10分钟。白色混悬液缓慢澄清为黄色溶液。向该澄清的溶液中加入一份氰基硼氢化钠(26.4mg,0.42mmol),以得到白色混悬液。30分钟后,LCMS显示反应完成。将反应混合物浓缩,粗品通过反相HPLC GILSON仪器纯化,以得到纯固体(R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-N4-(1,5-二甲基-1H-吡唑-3-基)-5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)嘧啶-2,4-二胺(80mg,40.8%)。¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δppm 0.67-0.78(m,2H) 1.00(d,J=6.22Hz,3H) 1.02-

1.08 (m, 2H) 1.96-2.10 (m, 1H) 2.23 (s, 7H) 2.30-2.38 (m, 4H) 2.73-2.96 (m, 4H) 3.33 (s, 3H) 6.83 (s, 1H) 7.67 (d, J=5.09Hz, 1H) 8.00 (s, 1H) 8.03 (s, 1H) 9.26 (s, 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺=466.45, C₂₁H₃₂FN₉。

[0431] 实施例14

[0432] (R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)-N4-(1-甲基-1H-1,2,3-三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺

[0433]

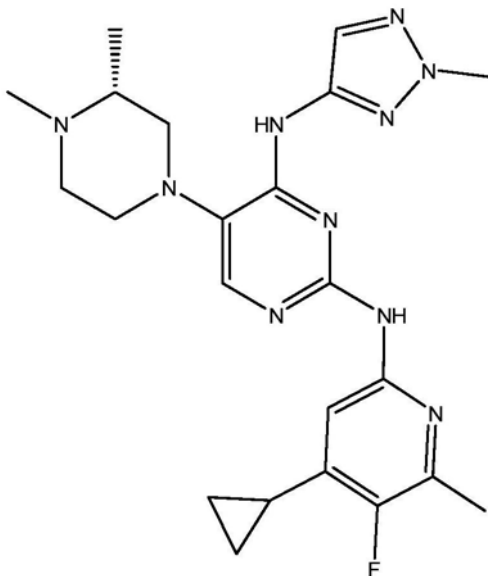


[0434] 如以上对于实施例13所描述的,由实施例4制备。收率:12%, ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δppm 0.71-0.81 (m, 2H) 0.81-0.90 (m, 1H) 1.01 (d, J=6.03Hz, 3H) 1.05-1.16 (m, 2H) 1.20-1.32 (m, 2H) 1.99-2.13 (m, 1H) 2.24 (s, 3H) 2.36 (d, J=3.01Hz, 4H) 2.69-2.98 (m, 5H) 2.69-2.98 (m, 5H) 4.05 (s, 3H) 7.76-7.94 (m, 1H) 8.05 (s, 1H) 8.40-8.60 (m, 1H) 8.92 (s, 1H) 9.47-9.71 (m, 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=453.25, C₂₂H₂₉FN₁₀。

[0435] 实施例15

[0436] (R)-N2-(4-环丙基-5-氟-6-甲基吡啶-2-基)-5-(3,4-二甲基哌嗪-1-基)-N4-(2-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-基)嘧啶-2,4-二胺

[0437]



[0438] 如以上对于实施例13所描述的,由实施例11制备。收率:28%,¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ_{ppm} 2.28 (s, 3H) 3.78-4.09 (m, 5H) 5.76 (s, 2H) 5.97-6.51 (m, 1H) 7.36 (t, J=7.82Hz, 1H) 7.71 (d, J=7.91Hz, 1H) 7.91 (d, J=7.54Hz, 1H) 8.41 (s, 1H) 8.57 (s, 1H) 10.05 (t, J=6.12Hz, 1H)。MS (ES⁺), (M+H)⁺=453.34, C₂₂H₂₉FN₁₀。

[0439] 实施例16生物学活性

[0440] 式(I)所示的化合物由于它们具有有效的抗疟效果而受到关注。使用基于下述方案的测定,通过测定关于本文公开的本发明的化合物抑制疟原虫物种(如恶性疟原虫)的生长能力,可以评价它们获得抗疟效果的能力。

[0441] 此外,还测试本发明的化合物(实施例2和13)抗恶性疟原虫和间日疟原虫疟疾的野外分离物的能力,以及如以下方案中所述的三种对照抗疟药。

[0442] 活性数据如表1所示。

[0443] 表1

[0444]

化合物	疟原虫野外分离物	
	恶性疟原虫 IC ₅₀ nM	间日疟原虫 IC ₅₀ nM
氯喹	60.8	40.2
哌喹	16.9	5.9
青蒿琥酯	15.1	4.79
实施例 13	74.6	85.6
实施例 2	63.6	81.0

[0445] 这些数据支持本发明的化合物对恶性疟原虫和间日疟原虫疟疾具有可比的活性的事实。

[0446] 体外测量抗疟原虫活性

[0447] 测试样品一式两份在两个单独的情况下针对恶性疟原虫的氯喹敏感的NF54 (MRA-1000, MR4, ATCC, Manassas, Virginia) 和氯喹耐药K1菌株进行测试。采用Trager和Jensen改进的方法以保持恶性疟原虫的无性血液阶段的连续体外培养(Trager等人, 1976, Science, 193, 673-675)。使用较早描述的SYBR I方法(Johnson等人, 2007, Antimicrob. Agents Chemother., 51, 1926-1933), 定量评价体外抗疟原虫的活性。

[0448] 针对药物浓度的对数, 绘制关于不含药物的对照物的抑制百分数。使用S形剂量-效应(可变斜率)公式, 通过非线性回归, 拟合生长抑制曲线, 以得到浓度-效应曲线。化合物的EC₅₀值定义为观察到50%抑制的最低浓度。在所有实验中, 氯喹二磷酸盐(CQ) (Sigma)、青蒿琥酯(Sigma)和乙胺嘧啶用作参比药物。

[0449] 在抗疟活性测试中评价根据本发明的如式(I)所示的化合物, 以测定它们对恶性疟原虫(NF54和k1菌株二者)的抑制活性, 并且结果在以下表2中示出:

[0450] 表2

[0451]

实施例	Pf IC ₅₀ _NF54 (nM)	Pf IC ₅₀ _K1 (nM)

1	15	24
2	14	19
3	17	14
4	33	51
5	23	48
6	31	45
7	27	45
8	35	44
9	25	48
10	13	19
11	30	50
12	39	82
13	9	15
14	33	69
15	17	37
氯喹	11	>150
乙胺嘧啶	64	7900

[0452] 在小鼠疟疾模型中的体内药效

[0453] 通过口服途径给药四天(每天一次)后,测量感染伯氏疟原虫的小鼠的血液阶段的体内药效。该四天抑制测试的详细方案如Fidock等人2004,Nature Reviews Drug Discovery (3),第509页所述。小鼠血液中寄生虫生长的抑制百分数如下表3所示。

[0454] 表3

[0455]

化合物	剂量(mg/kg)	抑制%
实施例 7	3	6
	10	28
	30	100
实施例 10	10	60
	15	75
	30	100
实施例 13	3	0
	10	42
	30	100

[0456] 实施例2和13针对耐药恶性疟原虫和间日疟原虫野外分离物的体外活性

[0457] 根据制造商说明,将标准抗疟药物氯喹(CQ)、阿莫地喹(AQ)、哌喹(PIP)、甲氟喹(MFQ)和青蒿琥酯(AS)以及本发明的化合物制备为在H₂O或二甲基亚砜(DMSO)中的1mg/mL储液。将在50%甲醇中稀释的化合物预给药至加药板中,然后进行冻干,并在4°C下储存。

[0458] 在Timika(Papua,印度尼西亚),从就诊的疟疾患者收集疟原虫分离物,该地区为间日疟原虫和恶性疟原虫的多药耐药菌株的特有地区。将送至门诊服务台的表现出疟疾症状的患者招募至该研究中,如果其单独感染恶性疟原虫或间日疟原虫,其中寄生虫为2,000 μl^{-1} -80,000 μl^{-1} ,并且大多数(>80%)寄生虫处在发育的循环阶段。通过静脉穿刺收集静脉

血(5mL),并且通过使用纤维素(Sigma-Aldrich,Australia)过滤,在除去宿主白细胞后,收集的被感染的红细胞(iRBC)被用于体外药物敏感性测定。

[0459] 使用如前所述的WHO微量测试(Marfurt等人,2011,Antimicrob Agents Chemother.,55(9):4461)的修订方案,测量间日疟原虫和恶性疟原虫分离物的药物敏感性。将由RPMI 1640培养基加上10%AB+人血清(恶性疟原虫)或McCoy's 5A培养基加上20%AB+人血清(间日疟原虫)组成的200 μ L血细胞比容为2%的血液培养基混合物(BMM)加入到含有11个系列浓度(2倍稀释)的抗疟药(最大浓度在括号中显示)CQ(2,992nM)、AQ(158nM)、PIP(1,029nM)、MFQ(338nM)、AS(49nM)、本发明的化合物(2,146nM)的预给药的加药板的每一个孔中。使用烛缸在37.0 $^{\circ}$ C下使寄生虫成熟35-56小时。在不含药物的对照孔中,当>40%的循环阶段寄生虫已达到成熟裂殖体阶段时,停止孵育。

[0460] 由每一个孔制成的厚血液膜用5%Giemsa溶液染色30分钟并进行显微镜检查。对于每一个药物浓度,测定每200个无性阶段寄生虫中裂殖体的数量,并且标准化为对照孔。使用非线性回归分析(WinNonLn 4.1,Pharsight Corporation)分析剂量-效应数据,使用抑制S形Emax模型得到IC₅₀值。当E_{max}和E₀分别在100和1的15%内时,仅使用预测曲线的体外IC₅₀数据。通过使用氯喹-耐药菌株K1和氯喹-敏感性菌株FC27进行裂殖体成熟测定(两个独立的实验),保证加药板的质量。

[0461] 对于显微镜载玻片读取QC,由第二个显微镜工作者读取每一种分离物的两个随机选择的药物。如果由两个显微镜工作者得到的原始数据导致所选药物的IC₅₀估计值显著漂移,则整个测定(即,所有标准药物和实验化合物)由第二个读取者再次读取,并且将结果相比较。如果需要,由专家显微镜工作者通过第三次读取来决定矛盾的结果。

[0462] 代谢稳定性测定(大鼠/人肝细胞Clint)

[0463] 使用台盼蓝测定低温保存的肝细胞的活力,使用Leibovitz L-15缓冲液,将细胞浓度调节至10⁶个细胞/mL。在NUNC板中,将500 μ L肝细胞(1 \times 10⁶个细胞/mL)与1 μ M化合物(在乙腈;0.01%DMSO中)共孵育。在不同的时间点(0、5、15、30、60、90和120min),通过向100 μ L的反应混合物中加入3体积的冷冻的乙腈,并且在4 $^{\circ}$ C下离心15min以终止反应。使用LC-MS/MS分析上清液的底物消耗。

[0464] 血液测定:血浆(BP)比

[0465] 将孵育板和狗的血液/血浆在37 $^{\circ}$ C下预热10分钟。将2 μ L每一种化合物的工作液加入到398 μ L狗参比血浆或血液中,以获得10 μ M的终浓度。将板在37 $^{\circ}$ C下振荡孵育30min。孵育后,将血液样品以4,000rpm(37 $^{\circ}$ C)旋转10min并且将血浆样品于37 $^{\circ}$ C下储存。将从离心的全血样品分离得到的血浆的等分试样(100 μ L)和参比血浆样品转移至96孔板中。加入400 μ L冷乙腈,以沉淀蛋白质和释放化合物。涡旋10min后,将板以4,000rpm离心30分钟。将250 μ L上清液转移至新的96-孔板中,再次以4,000rpm离心30min。100 μ L上清液用于通过LC-MS/MS分析。

[0466] 血浆蛋白结合测定

[0467] 使用平衡渗析技术测量蛋白结合。将化合物加入到10%血浆中,得到20 μ M的浓度,使用等渗缓冲液在37 $^{\circ}$ C下透析18小时。使用常规的LCUVMS分析血浆和缓冲溶液,得到化合物的第一表观结合常数。该结合常数随后用于确定在100%血浆中的游离%。

[0468] 人药代动力学(PK)参数的预测

[0469] 使用人肝细胞C₁int和在人血浆中的游离分数(fu),将充分搅拌的模型用于预测人CL。肝血液流速、肝重量、肝细胞构成(hepatocellularity)和常规使用的体外体内相关性/外推(IVIVC/E)模板(Smith等人,Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design, Methods and Principles in Medicinal Chemistry(在药物化学中,在药物设计、方法和原则中的药代动力学和代谢),第13卷,2004,Wiley-VCH,Weinheim,德国)被用于预测。

[0470] 药代动力学研究

[0471] 所有体内研究由规定的动物伦理委员会批准。在雄性Wistar大鼠或公Beagle犬中测定化合物静脉团注(IVPK)或口服给药(POPK)后的药代动力学。对于在大鼠中的IVPK,实施例7和实施例10以在20%DMA,80%磷酸盐缓冲的生理盐水中的溶液的形式进行给药,而实施例13以在10%v/v NMP,20%v/v DMA生理盐水中的溶液的形式进行给药。对于POPK,实施例7、实施例10以在20%DMA,80%磷酸盐缓冲的生理盐水中的混悬液的形式进行给药,而实施例13以在0.5%HPMC和0.1%Tween 80中的混悬液的形式通过口服灌胃给药。对于ICPK,实施例13以在10%乙醇、30%PEG 400、60%生理盐水中的溶液的形式给药至狗,对于POPK,以在0.5%HPMC和0.1%Tween 80中的混悬液的形式给药。对于实施例7和10,用于大鼠和狗PK的剂量为0.5mg/kg,或对于实施例13(IVPK),剂量为2mg/kg。对于实施例7和10,在PO PK期间使用5mg/kg的剂量。对于实施例13,在PO PK研究期间,使用10mg/kg的剂量。在给药后8-13个时间点(对于狗IVPK:0、0.0833、0.25、0.283、0.333、0.417、0.75、1.25、3.25、6.25、12.25、24.25h;对于狗POPK:0、0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、8、12、24、32、48h;对于大鼠IVPK:0.083、0.25、0.5、1、2、4、7、24h;对于大鼠POPK:0.25、1、3、6、12、24、36、48h),收集血液样品。通过LC-MS/MS分析血液(大鼠)或血浆(狗)样品。在Phoenix®中通过非间隔分析以估算PK参数。

[0472] 感染的Pf/SCID小鼠的血液药代动力学:在不同的时间(0.25、0.5、1、2、4、6、8和23小时)取外周血液样品(25μl),与25μl H₂O mili Q混合,并且立即在干冰上冷冻。将冷冻的样品在-80℃下储存,直至分析。溶剂处理的小鼠采用相同的血液-取样方案。通过将10μl稀释的血液与180μl AcN:MeOH(80:20;v:v)混合物混合,采用液-液萃取处理血液样品。使用UPLC(Waters)和Sciex API4000进行LC/MSMS的定量分析。在该测定中,定量的下限(LLQ)为0.005μg/ml。

[0473] CYP抑制的测定

[0474] 使用5种主要的人CYP同工酶的特异性底物进行该研究。这些底物以等同于它们的相应的K_m值的浓度以混合物(cocktail)的形式(分别主要被CYP 1A2、2C9、2C19、2D6和3A4/5代谢的非那西丁、双氯芬酸、S-美芬妥英、丁呋洛尔和咪达唑仑)使用。LC-MS-MS(MRM模式)用于跟踪CYP特异性代谢物的形成。代谢物形成的峰面积相对于溶剂对照的减少量被用于计算IC₅₀值。此外,作为阳性对照,孵育对于单个CYP(分别特异性抑制CYP 1A2、2C9、2C19、2D6和3A4/5的α-萘黄酮、磺胺苯吡唑、N-3-苄基尼凡诺、奎尼丁和酮康唑)特异性的五种标准抑制剂的混合物。以6种不同浓度(30、10、3、1、0.3、0.1μM)的测试化合物以估算IC₅₀。

[0475] 在96深孔板中进行孵育。将180μL 20mg/mL HLM和90μL底物混合溶液加入到15840μL磷酸盐缓冲液中,在每一个孔中,将179μL该混合物与1μL测试化合物、抑制剂混合溶液或溶剂混合。在测定混合物中DMSO:CAN的终浓度为0.3:0.7%v/v。将孵育板置于水浴中,并且在37℃下预热5min,随后通过在磷酸盐缓冲液中加入20μL 10mmol/L NADPH溶液,开始反

应。在加入NADPH后,将孵育板在37℃下进一步孵育5min。通过加入1体积(200μL)的含有3%甲酸和40nmol/L维拉帕米的冷CAN,淬灭反应。将板在冰上保持20min,随后以4000rpm离心30min,以沉淀蛋白。将上清液180μL转移至分析板,用于LC/MS/MS分析。

[0476] Caco2渗透性的测定

[0477] 在Caco2单层中以10μM测定渗透性。Caco-2细胞单层用HBSS洗涤一次。在进行所有转运实验之前和之后测量TEER。在顶端A到基底侧B方向,测量P_{app}。800μL转运缓冲液(HBSS,pH 7.4)首先被分配至单层的基底侧。随后通过将200μL化合物溶液(所有测试化合物在HBSS中稀释,pH 6.5,以1%DMSO作为辅助溶剂)加入至顶端侧以开始测定。在加入测试化合物之前和之后45和120min,分别从顶端供体小室和基底侧受体小室取出2μL和200μL样品。在孵育器内在480rpm振荡器上于37℃下孵育跨孔板(transwell plates)。立即通过LC-MS/MS分析所有样品。使用化学抑制剂奎尼丁(P-gp)、柳氮磺吡啶(BCRP)和苯溴马隆(MRP2)的混合物,在Caco-2细胞中,通过完全化学抑制三种主要外排转运体ABCB1(P-gp)、ABCG2(BCRP)和ABCC2(MRP2)来测定被动渗透性。

[0478] 根据以下等式计算表观渗透性系数(P_{app}):

$$P_{app} = (\Delta Q / \Delta t) / (A \times C_D) \text{ [cm/s]} \quad (1)$$

[0480] 其中(ΔQ/Δt)[cm/s]为测试化合物随时间转运至基底(受体)侧的累积量,A为单层膜的表面积(cm²),C_D为经测定(ΔQ/Δt)的时间段在供体小室中的平均药物浓度。HepClint、PPB、BP比率和预测的/观察到的药代动力学性质如下表4所示:

[0481] 表4

[0482]

化合物	物种	肝细胞 Clint	BP 比	Fup	预测的 CLh 血液	CL 血液	Vss 血液	口服 “F”	½生命 (POPK)
		(μl/min/1E6)			(ml/min/kg)	(ml/min/kg)	(L/kg)	(%)	(h)
实施例 10	大鼠	8.3	1.7	0.04	16.10	22.5	9.7	17	30
实施例 13		11.3	1.06	0.04	18.80	9.8	7.9	80	10
实施例 7		5.6	2.2	0.06	24.20	26.6	12	31	10
实施例 10	狗	5.1	1.7	0.04	12.70	ND	ND	ND	ND
实施例 13		9.3	1.35	0.04	20.80	19.0	16.0	82	9
实施例 7		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
实施例 10	人	1.8	1.8	0.04	3.10	ND	ND	ND	ND
实施例 13		3.1	1.1	0.03	4.80	ND	ND	ND	ND
实施例 7		2.7	1.3	0.03	3.30	ND	ND	ND	ND

[0483] ND-未测定。

[0484] 由于较快降低血液寄生虫负担对于提供快速缓解临床症状和最小化出现耐药性的风险是必要的,因此进一步评价本发明的化合物的体外PK/药效学性质:

[0485] 当在体外寄生虫减少比率(PRR)测定(Le Manach等人,2013,Malar J.,16,424-430)中被测试时,实施例13在暴露48小时后产生>4-log杀灭,该作用与在相同的测定中氯喹的作用相似。

[0486] 在上述Pf/SCID模型¹中,通过口服途径每日给药20mg/kg剂量治疗4天后,实施例

13清除了Pf寄生虫至低于检测限。在40mg/kg下观察到最大杀灭速率。在该剂量下观察到的血液 C_{min} (0.04 μ M) 被认为是对于人用预测剂量的最小杀灭寄生虫的浓度 (MPC)。

[0487] CYP抑制

[0488] 实施例7、10和13对人CYP 3A4、2D6、2C9、2C19或1A2无抑制。 $IC_{50}>30\mu$ M。在时间依赖性抑制测定中, $IC_{50}>56\mu$ M。

[0489] Caco2渗透性 (pH 6.5/7.4)

[0490] 数据如下表5所示:

[0491] 表5

[0492]

化合物	Papp A至B (1E-6cm/s)	Papp A至B(被动) (1E-6cm/s)
实施例10	3.8	15.6
实施例13	19.5	36.0
实施例7	5.0	19.9

[0493] 体内代谢物的鉴定

[0494] 使用以下模型在体外和体内鉴定实施例13的代谢物:

[0495] -体外:在2mM NADPH存在下,以10 μ M的终浓度,将人 (HLM) 或大鼠 (RLM) 肝微粒体 (1mg/ml蛋白浓度,在100mM磷酸盐缓冲液,pH 7.4中) 与实施例13的化合物共孵育。通过在反应混合物中包括2mM谷胱甘肽 (GSH) 或N-乙酰基半胱氨酸 (NAC),捕获反应性中间体。

[0496] -体内,在胆管插管的大鼠中:对于对照 (n=3) 或BDC大鼠 (n=2),分别以2mg/kg或4mg/kg体重的剂量,实施例13通过颈静脉以团注的方式静脉注射 (IV) 给药。在0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8和24h通过颈动脉收集血液样品,以0-2h、2-4h、4-6h、6-8h和8-24h间隔收集胆汁样品,以0-8h和8-24h间隔收集尿样品。分析胆汁和尿样品中存在的母体和代谢物,分析血液样品中存在的母体。数据如下表6所示。

[0497] 表6

[0498]

存在	峰	Rt (分钟)	拟代谢物 (m/z)	大鼠	人	小鼠
肝微粒体或肝细胞	实施例 2	22.7	N-去甲基化(452)	√	√	√

[0499] 这些研究支持了实施例2的化合物为实施例13的化合物的活性代谢物并且其在体外和体内均形成的事实。活性代谢物的转化百分数在小鼠中最高,其次是大鼠,随后是人肝微粒体。

[0500] 重要的是,在HLM或Hu肝细胞存在下,未鉴定出特殊的代谢物。无GSH或NAC加合物形成。因此,在体外未形成反应性代谢物。