



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112739698 A

(43) 申请公布日 2021.04.30

(21) 申请号 201980060477.X

(22) 申请日 2019.08.23

(30) 优先权数据

10201807244X 2018.08.24 SG

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.03.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/072641 2019.08.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/039093 EN 2020.02.27

(71) 申请人 捷豹治疗有限公司

地址 新加坡,UE广场

(72) 发明人 A·梅特 J·R·希特轻丝

M·格雷厄姆 J·金安德伍德

P·V·索恩

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 张全信

(51) Int.Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

权利要求书5页 说明书54页

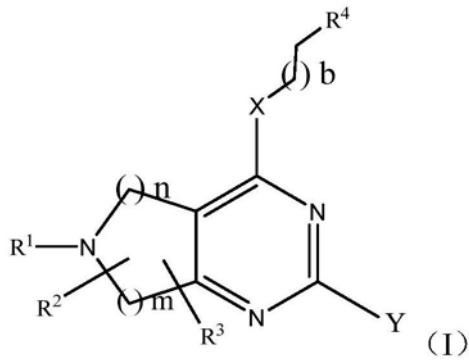
(54) 发明名称

作为AHR调节剂的四氢嘧啶衍生物

(57) 摘要

本公开涉及式(I)化合物,所述式(I)化合物适合作为AhR调节剂,具体地AhR抑制剂。本公开还涉及包括所述化合物的组合物以及所述化合物或组合物用于治疗,具体地治疗癌症的用途。本公开进一步涉及制备所述化合物的方法。

1. 一种式 (I) 化合物:



其中:

Y为任选地包括1个、2个或3个选自N、O和S的杂原子的5元或6元环,所述5元或6元环被R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>取代;

R<sup>1</sup>为H、C<sub>1-3</sub>烷基、(-CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>CN、-COC<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>Ph、-C(O)Z;

R<sup>2</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基;

R<sup>3</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基;

R<sup>4</sup>为具有至少一个选自N、O或S的杂原子的9元或10元杂芳基(吡啶-3-基或苯并咪唑-2-基),所述9元或10元杂芳基具有取代基R<sup>9</sup>和R<sup>10</sup>;

R<sup>5</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN或C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>;

R<sup>6</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN或C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>;

R<sup>7</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基,如-CH<sub>3</sub>;

R<sup>8</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基,如-CH<sub>3</sub>;

R<sup>9</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN或C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>;

R<sup>10</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN或C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>;

R<sup>11</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基,如-CH<sub>3</sub>;

X为NR<sup>11</sup>或O;

Z为5元或6元杂芳基(即具有至少一个选自N、O和S的杂原子,例如1个或2个氮),所述5元或6元杂芳基任选地具有一个或两个选自羟基、卤素(如F、Cl)、CN、C<sub>1-3</sub>烷基的取代基;

b为整数1或2;

n为整数1或2;

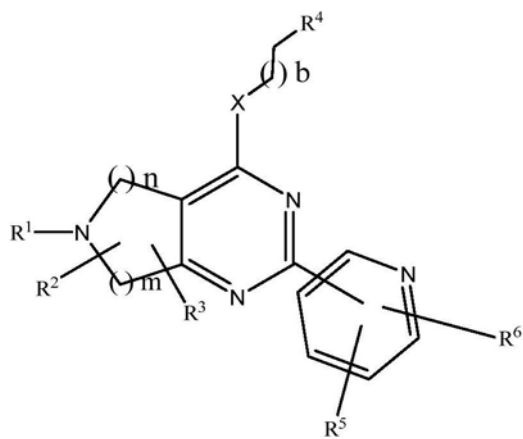
m为整数1或2;

p为整数1、2或3;

q为0、1、2或3;

或其药学上可接受的盐。

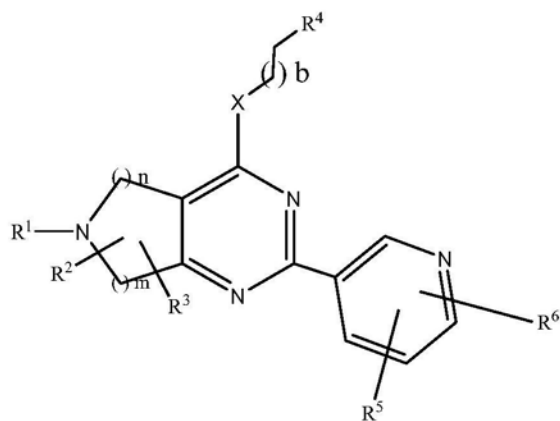
2. 一种式 (II) 化合物:



(II)

其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、b、n和m为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

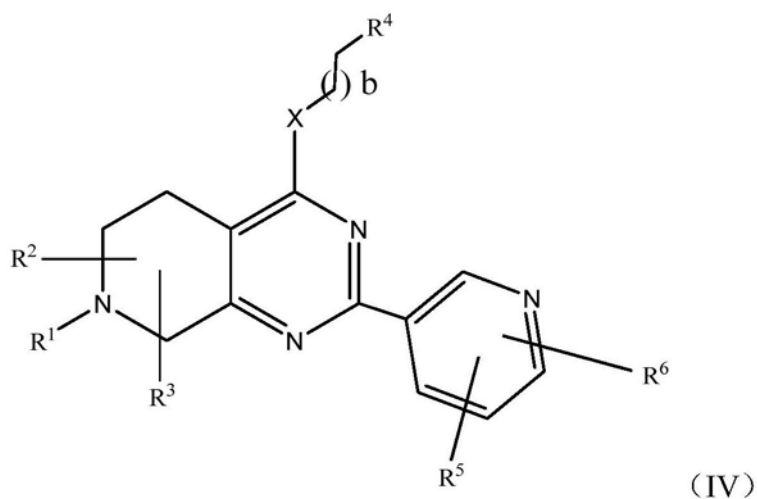
3. 一种式(III)化合物:



(III)

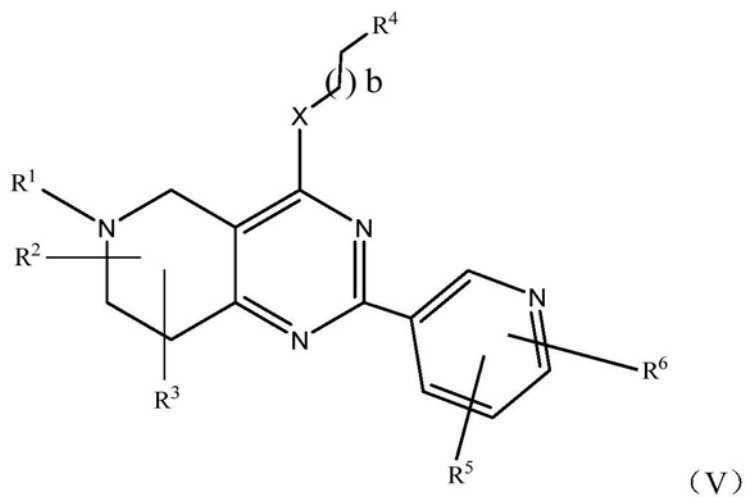
或其药学上可接受的盐,其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、b、n和m为以上针对式(I)化合物所定义的。

4. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其中n为2。
5. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其中n为1。
6. 根据权利要求1到5中任一项所述的化合物,其中m为2。
7. 根据权利要求1到5中任一项所述的化合物,其中m为1。
8. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其具有式(IV):



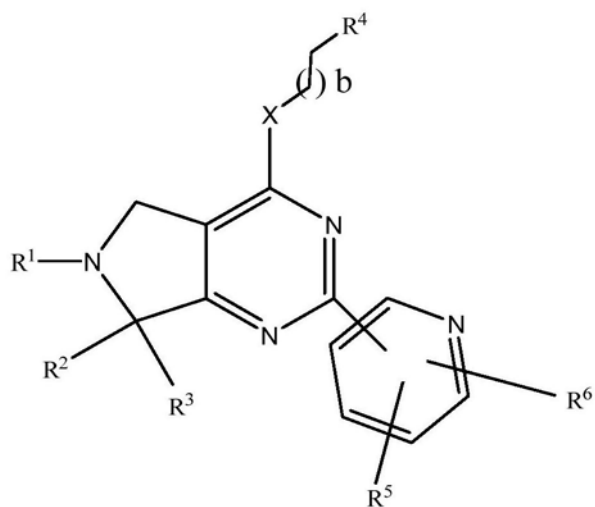
或其药学上可接受的盐,其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的。

9. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其具有式(V):



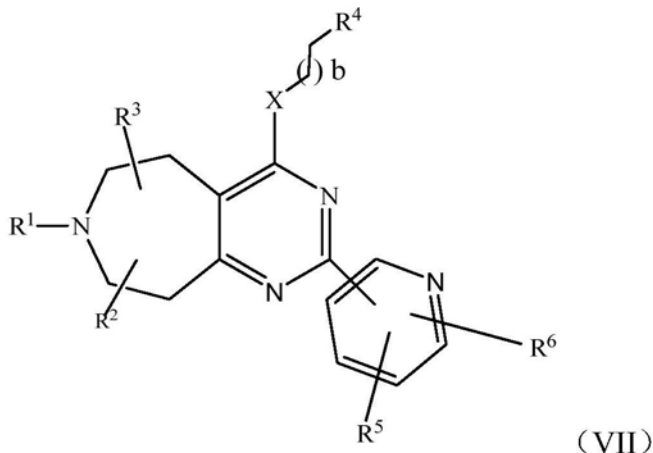
或其药学上可接受的盐,其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的。

10. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其具有式(VI):



或其药学上可接受的盐,其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的。

11. 根据权利要求1到3中任一项所述的化合物,其具有式(VII):



或其药学上可接受的盐,其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的。

12. 根据权利要求11所述的式(VII)化合物,其中R<sup>2</sup>为H。

13. 根据权利要求11或12所述的式(VII)化合物,其中R<sup>3</sup>为H。

14. 根据权利要求1到11中任一项所述的化合物,其中R<sup>1</sup>独立地选自H、CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NHCH<sub>3</sub>、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CN、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>Ph和-C(O)1-Me-吡唑-5-基。

15. 根据权利要求14所述的化合物,其中R<sup>1</sup>选自H、-CH<sub>2</sub>CN、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>和-C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

16. 根据权利要求1到15中任一项所述的化合物,其中R<sup>2</sup>为H或-CH<sub>3</sub>。

17. 根据权利要求16所述的化合物,其中R<sup>2</sup>为H。

18. 根据权利要求1到17中任一项所述的化合物,其中R<sup>3</sup>为H或-CH<sub>3</sub>。

19. 根据权利要求1到18中任一项所述的化合物,其中R<sup>4</sup>选自咪唑基(如咪唑-3-基)和苯并咪唑基(如苯并咪唑-2-基)。

20. 根据权利要求1到19中任一项所述的化合物,其中R<sup>5</sup>选自H、F1、Cl、CN和-CH<sub>3</sub>。

21. 根据权利要求1到20中任一项所述的化合物,其中R<sup>6</sup>为H、F1、Cl、CN和-CH<sub>3</sub>。

22. 根据权利要求1到21中任一项所述的化合物,其中R<sup>7</sup>选自H和-CH<sub>3</sub>。

23. 根据权利要求22所述的化合物,其中R<sup>7</sup>为-CH<sub>3</sub>。

24. 根据权利要求1到23中任一项所述的化合物,其中R<sup>8</sup>选自H和-CH<sub>3</sub>。

25. 根据权利要求24所述的化合物,其中R<sup>8</sup>为H。

26. 根据权利要求1到25中任一项所述的化合物,其中R<sup>11</sup>为H。

27. 一种药物组合物,其包括根据权利要求1到26中任一项所述的化合物以及赋形剂、稀释剂或载体。

28. 一种治疗患者的方法,所述方法包括施用治疗有效量的根据权利要求1到26中任一项所述的化合物或根据权利要求27所述的组合物。

29. 一种根据权利要求1到26中任一项所述的化合物或根据权利要求27所述的组合物

的用途,其用于制造用于治疗癌症的药物。

## 作为AHR调节剂的四氢嘧啶衍生物

[0001] 本发明涵盖如本文所述和定义的通式(I)化合物、用于制备所述化合物的方法、包括所述化合物的药物组合物和组合以及所述化合物和药物组合物的用途,所述化合物和药物组合物作为单独药剂或与其它活性成分组合,用于治疗或预防疾病,特别是癌症或免疫功能失调的病状或与异常AHR信号传导相关联的其它病状。此类化合物还可以用于扩增造血干细胞(HSC),以及在自体或同种异体移植中使用HSC来治疗患有遗传免疫疾病和自身免疫疾病以及各种造血病症的患者。

### 背景技术

[0002] 芳烃受体(AhR)是配体激活因子,其所属的家族为碱性螺旋-环-螺旋-Per/ARNT/Sim家族。在配体在细胞质中结合后,AhR与其复合物以及Hsp90和AhR相互作用蛋白XAP2解离,从而使连接的AhR易位到细胞核。在细胞核中,AhR与AhR核转位子(ARNT)二聚,然后与异型生物物质应答元件(XRE)结合,从而促进许多不同组织中的大量靶基因的上调或下调。AhR以与环境毒素结合并且诱导细胞色素P450家族各个成员,包含消除其所需的CYP1A1、CYP1A2和CYP1B1而闻名。异型生物物质对AhR的活化已经证明,此受体在一系列生理过程中发挥作用,所述生理过程包含胚胎发生、肿瘤发生和发炎(Esser和Rannug,《药物综述(Pharmacol Rev)》2015,67:259;Roman等人,《药物疗法(Pharmacol Ther)》2018,185:50)。

[0003] AhR在包含树突状细胞、巨噬细胞、T细胞、NK细胞和B细胞的许多免疫细胞类型中表达并且在免疫调节中发挥重要作用(Quintana和Sherr,《药物综述》,2013,65:1148;Nguyen等人,《免疫学前沿(Front Immunol)》,2014,5:551)。经典外源性AhR激动剂,如2,3,7,8-四氯二苯并-对-二噁英(TCDD)的毒性/不良作用是众所周知的并且包含深刻的免疫抑制和对恶性肿瘤的引发(Esser等人,《免疫学趋势(Trends Immunol)》,2009,30:447;Feng等人,《生物化学与生物物理学学报(Biochimica et Biophysica Acta)》,2013,1836:197)。AhR激动剂对免疫细胞的生理作用包含促进调节性T细胞(Treg)生成(Pot,《瑞士医学周刊(Swiss Med Wkly)》,2012,142:w13592)以及调节Th17细胞分化和活化(Baricza等人,《细胞和分子生命科学(Cell Mol Life Sci)》,2016,73:95)。AhR还调节抗原呈递细胞,如树突状细胞和巨噬细胞的功能。AhR活化会降低II类主要组织相容性复合体和共刺激分子的表达并且还会降低通过树突状细胞进行的Th1和Th17极化细胞因子的产生(Mezrich等人,《免疫学杂志(J Immunol)》,2010,185:3190;Nguyen等人,《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci USA)》,2010,107:19961;Quintana等人,2010《美国国家科学院院刊》,107:20768)。事实上,AhR活化会增强DC促进Treg分化的能力(Jurado-Manzano等人,2017,《免疫学快报(Immunol Lett)》,190:84)。

[0004] 除了异型生物物质外,AhR还可以结合色氨酸降解的代谢产物,包含犬尿氨酸(KYN)和犬尿酸(KYNA)。吡啶胺2,3双加氧酶1和2(IDO1/IDO2)以及色氨酸2,3-双加氧酶2(TDO2)催化KYN代谢途径的重要步骤并且在免疫细胞(IDO1)和一系列癌细胞(IDO1和TDO2)中表达(Pilotte等人,《美国国家科学院院刊》2012,109:2497)。作为刺激免疫系统识别和消除癌细胞的潜在新治疗,IDO1的抑制剂已经吸引了广泛兴趣(Cheong和Sun,《药理科学趋势

(Trends Pharmacol Sci)》,2018,39:307)。传统上,IDO1的免疫抑制作用主要归因于色氨酸的水平降低,所述色氨酸会活化激酶GCN2(一般性调控阻遏2)并且会抑制肿瘤引流淋巴结和肿瘤微环境两者中的T细胞增殖/活化。更最近地,很明显IDO抑制剂的功效中的一些功效可能是AhR激动剂的产生减少的结果。这些内源产生的AhR激动剂已经示出了会引发对免疫细胞的一系列影响,包含上调树突状细胞中的IDO1(Julliard等人,《免疫学前沿》,2014,5:458)、抑制人T细胞增殖(Frumento等人,《实验医学期刊(J Exp Med)》2002;196:459; Terness等人,《实验医学期刊》,2002;196:447;Opitz等人,《自然(Nature)》,2011,478:197)以及上调细胞毒性T淋巴细胞中PD-1表达(Liu等人,《癌症细胞(Cancer Cell)》,2018;33:480)。如上所突出的,IDO1不是内源性AhR激动剂的唯一来源。IDO2主要在肝脏中表达,但其在一些癌症中也会组成性地表达,显著地在恶性神经胶质瘤、肝细胞癌、黑色素瘤、膀胱癌、乳腺癌、肺癌和结肠直肠癌(Opitz等人,《自然(Nature)》,2011,478:197;Pilotte等人,《美国国家科学院院刊》,2012,109:2497;D'Amato等人,《癌症研究(Cancer Res)》,2015,75(21):4651;Hsu等人,《肿瘤靶标(Oncotarget)》,2016,7(19):27584;Chen等人,《疾病标志(Dis Markers)》,2016,2016:8169724)。此类数据表明,AhR拮抗剂可能比选择性IDO-1抑制剂具有更广泛的功效,因为无论其来源如何,其都会减弱内源性AhR激动剂信号传导。

[0005] 除了其对免疫细胞的影响之外,此类内源性激动剂还牵扯通过对肿瘤的直接影响的癌进展。例如,KYN增加人胶质母细胞瘤细胞存活和迁移(Opitz等人,《自然》,2011,478:197)。几项其它研究也牵扯癌症进展中的环境配体不存在的情况下的AhR。AhR阻遏物(AHRR)蛋白在几种人类癌症中充当肿瘤抑制基因(Zudaire等人,《临床研究杂志(J Clin Invest)》2008,118:640)。乳腺癌细胞中的AhR表达和“组成型”(内源性配体驱动的)活性与肿瘤侵袭性相关(Schlezingler等人,《生物化学(Biol Chem)》,2006,387:1175;Yang等人,《细胞生物化学杂志(J Cell Biochem)》,2008,104:402)并且控制与肿瘤侵袭相关联的基因的表达(Yang等人,《癌基因(Oncogene)》,2005,24:7869)。非恶性人乳腺上皮细胞中的异位AhR表达会诱导上皮到间充质的转化以及细胞生长速率的>50%增加(Brooks和Eltom,《癌症药靶研究最新进展(Curr Cancer Drug Targets)》,2011,11:654),并且AhR敲低诱导的基因在与到侵袭性较低的表型的间充质到上皮细胞逆转一致的人乳腺癌细胞系中会改变(Narasimhan等人,《国际分子科学杂志(Int J Mol Sci)》,2018,19:1388)。AhR拮抗剂或AhR敲低已经示出会降低人乳腺癌细胞在培养物中的增殖、存活、侵袭和迁移(Parks等人,《分子药理学(Molecular Pharmacology)》2014,86:593;D'Amato等人,《癌症研究(Cancer Res)》,2015,75(21):4651;Narasimhan等人,《国际分子科学杂志》,2018,19:1388)并且会降低胶质母细胞瘤细胞的存活(Gramatzki等人,《癌基因》,2009,28:2593;Opitz等人,《自然》,2011,478:197;Guastella等人,《神经肿瘤学杂志(J Neuro-oncol)》,2018,印刷中)。最后,AhR拮抗剂阻断肿瘤球的形成(Stanford等人,《分子癌症研究(Mol Cancer Res)》,2016,14:696),所述肿瘤球是由癌症干细胞(CSC)形成的,所述癌症干细胞是驱动肿瘤的启动、进展和转移的肿瘤细胞的子集。

[0006] 因此,从免疫细胞和肿瘤细胞释放的AhR激动剂以自分泌和旁分泌方式起作用以促进肿瘤生长。因此,减少或阻断这些作用的药剂可用于治疗癌症和/或免疫功能失调的病症。

[0007] W02017/202816涉及用于治疗或预防癌症或免疫应答失调的病状或与异常AhR信号转导相关联的其它病症的化合物和组合物。具体地，W02017/202816尤其涉及能够抑制AhR功能的杂环化合物。

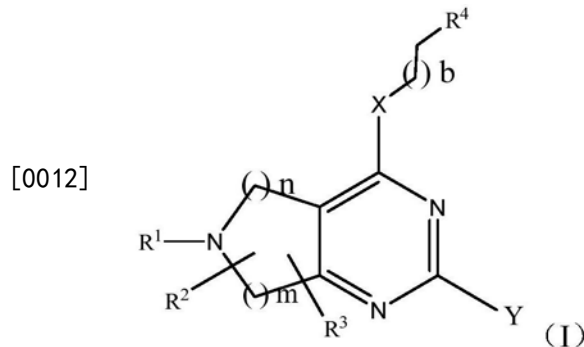
[0008] W02010/059401涉及用于扩大CD34+细胞的数量以用于移植的化合物和组合物。具体地，W02010/059401尤其涉及能够下调AhR的活性和/或表达的杂环化合物。

[0009] W02012/015914涉及用于调节AhR活性的组合物和方法。具体地，W02012/015914尤其涉及调节AhR活性以用于在治疗组合物中使用以抑制癌细胞增殖以及肿瘤细胞侵袭和转移的杂环化合物。

## 发明内容

[0010] 本公开提供了通式(I)的嘧啶化合物，所述嘧啶化合物抑制AhR。本公开在以下段落中进行了概括：

[0011] 1. 一种式(I)化合物：



[0013] 其中：

[0014] Y为任选地包括1个、2个或3个选自N、O和S的杂原子的5元或6元环，所述5元或6元环被R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>取代；

[0015] R<sup>1</sup>为H、C<sub>1-3</sub>烷基、(-CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>CN、-COC<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>Ph、-C(O)Z；

[0016] R<sup>2</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基；

[0017] R<sup>3</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基；

[0018] R<sup>4</sup>为具有至少一个选自N、O或S的杂原子的9元或10元杂芳基(如吡啶-3-基或苯并咪唑-2-基)，所述9元或10元杂芳基具有取代基R<sup>9</sup>和R<sup>10</sup>；

[0019] R<sup>5</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN、C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>；

[0020] R<sup>6</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN、C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>；

[0021] R<sup>7</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基，如-CH<sub>3</sub>；

[0022] R<sup>8</sup>为H或C<sub>1-3</sub>烷基，如-CH<sub>3</sub>；

[0023] R<sup>9</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN或C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>；

[0024] R<sup>10</sup>为H、羟基、卤素(如F、Cl)、CN、C<sub>1-3</sub>烷基、-CO(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1-3</sub>烷基、-SO<sub>2</sub>

$\text{NR}^7\text{R}^8$ ;

[0025]  $\text{R}^{11}$ 为H或 $\text{C}_{1-3}$ 烷基(如 $-\text{CH}_3$ );

[0026] X为 $\text{NR}^{11}$ 或O;

[0027] Z为具有至少一个选自N、O和S的杂原子,例如1个或2个氮的5元或6元杂芳基,其中所述杂芳基任选地具有一个或两个选自羟基、卤素(如F、Cl)、CN、 $\text{C}_{1-3}$ 烷基的取代基;

[0028] b为整数1或2(例如1);

[0029] n为整数1或2;

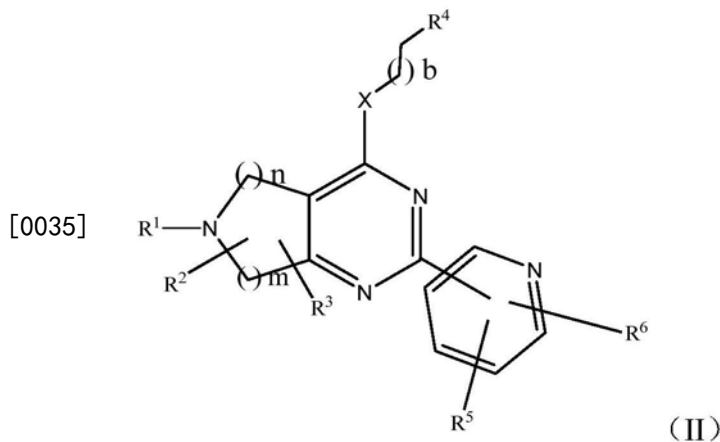
[0030] m为整数1或2;

[0031] p为整数1、2或3(如1);

[0032] q为0、1、2或3(如0或1),

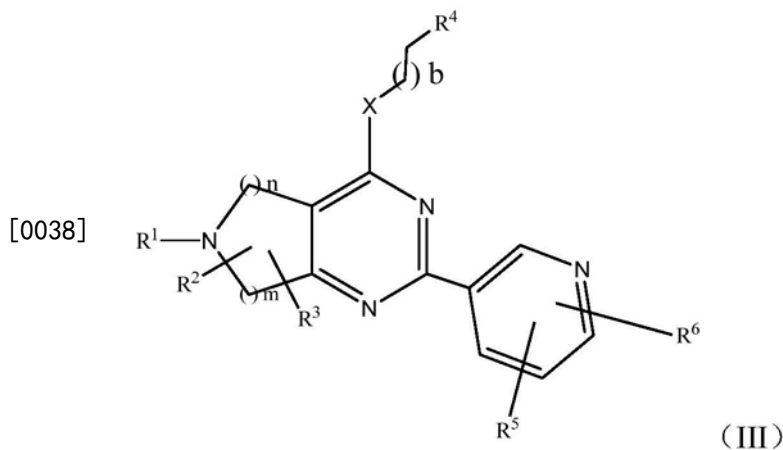
[0033] 或其药学上可接受的盐。

[0034] 2. 一种式(II)化合物:



[0036] 其中X、 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、b、m和n为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

[0037] 3. 一种式(III)化合物:



[0039] 其中X、 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$ 、 $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、b、m和n为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

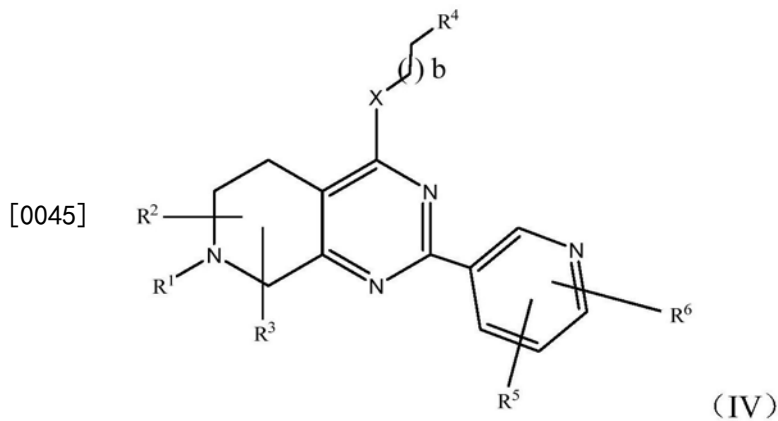
[0040] 4. 根据段落1到3中任一项所述的化合物,其中n为2。

[0041] 5. 根据段落1到3中任一项所述的化合物,其中n为1。

[0042] 6. 根据段落1到5中任一项所述的化合物,其中m为2。

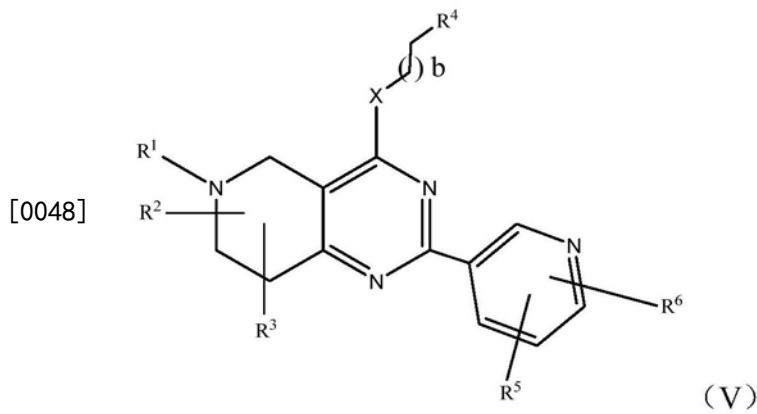
[0043] 7. 根据段落1到5中任一项所述的化合物,其中m为1。

[0044] 8. 根据段落1到3中任一项所述的化合物,其具有式(IV):



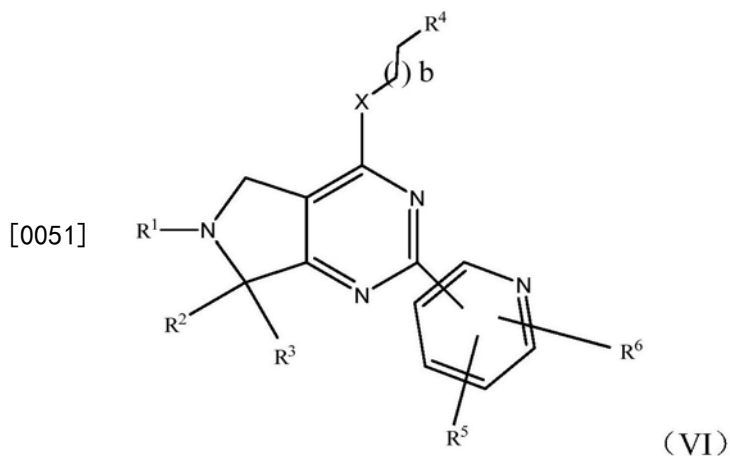
[0046] 其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

[0047] 9. 根据段落1到3中任一项所述的化合物,其具有式(V):



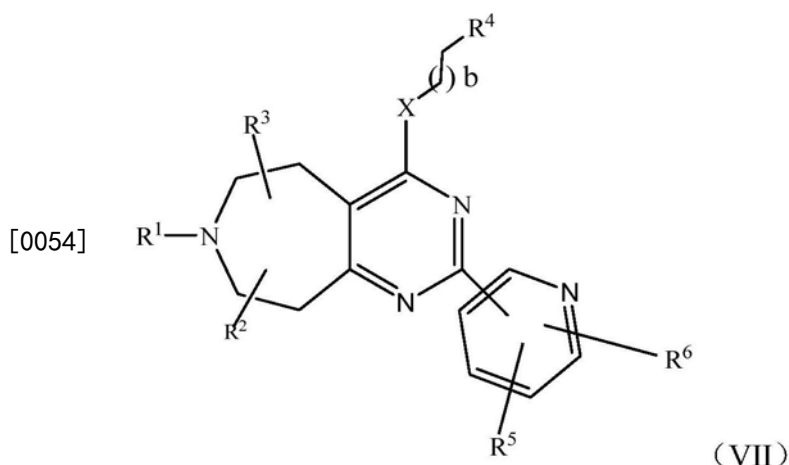
[0049] 其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

[0050] 10. 根据段落1到3中任一项所述的化合物,其具有式(VI):



[0052] 其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

[0053] 11. 根据段落1到3中任一项所述的化合物,其具有式(VII):



[0055] 其中X、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>和b为以上针对式(I)化合物所定义的,或其药学上可接受的盐。

[0056] 12. 根据段落1到11中任一项所述的化合物,其中R<sup>1</sup>独立地选自H、CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(O)CH<sub>3</sub>、C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NHCH<sub>3</sub>、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CN、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>Ph、-C(O)1-Me-吡唑-5-基。

[0057] 13. 根据段落1到11中任一项所述的化合物,其中R<sup>1</sup>独立地选自H、CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)NHCH<sub>3</sub>、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CN、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>Ph、-C(O)1-Me-吡唑-5-基。

[0058] 14. 根据段落14所述的化合物,其中R<sup>1</sup>选自H、-CH<sub>2</sub>CN、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-C(O)N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0059] 15. 根据段落13或14所述的化合物,其中R<sup>1</sup>为H。

[0060] 16. 根据段落1到11中任一项所述的化合物,其中R<sup>1</sup>为C<sub>1-3</sub>烷基。

[0061] 17. 根据段落1到16中任一项所述的化合物,其中R<sup>2</sup>为H或-CH<sub>3</sub>。

[0062] 18. 根据权利要求17所述的化合物,其中R<sup>2</sup>为H。

[0063] 19. 根据段落1到18中任一项所述的化合物,其中R<sup>3</sup>为H或-CH<sub>3</sub>。

[0064] 20. 根据段落19所述的化合物,其中R<sup>3</sup>为H。

[0065] 21. 根据段落1到18中任一项所述的化合物,其中R<sup>4</sup>选自各自独立地具有R<sup>9</sup>和R<sup>10</sup>的吡啶基(如吡啶-3-基,具体地5-氟-1H-吡啶-3-基)和苯并咪唑基(如苯并咪唑-2-基)。

[0066] 22. 根据段落1到21中任一项所述的化合物,其中R<sup>5</sup>选自H、F、Cl、CN和-CH<sub>3</sub>。

[0067] 23. 根据段落22所述的化合物,其中R<sup>5</sup>为H。

[0068] 24. 根据段落22所述的化合物,其中R<sup>5</sup>为F。

[0069] 25. 根据段落1到24中任一项所述的化合物,其中R<sup>6</sup>为H、F、Cl、CN或-CH<sub>3</sub>。

[0070] 26. 根据段落25所述的化合物,其中R<sup>6</sup>为H。

[0071] 27. 根据段落1到26中任一项所述的化合物,其中R<sup>7</sup>选自H和-CH<sub>3</sub>;

[0072] 28. 根据段落27所述的化合物,其中R<sup>7</sup>为-CH<sub>3</sub>。

[0073] 29. 根据段落27所述的化合物,其中R<sup>7</sup>为H。

[0074] 30. 根据段落1到29中任一项所述的化合物,其中R<sup>8</sup>选自H和-CH<sub>3</sub>。

[0075] 31. 根据段落30所述的化合物,其中R<sup>8</sup>为H。

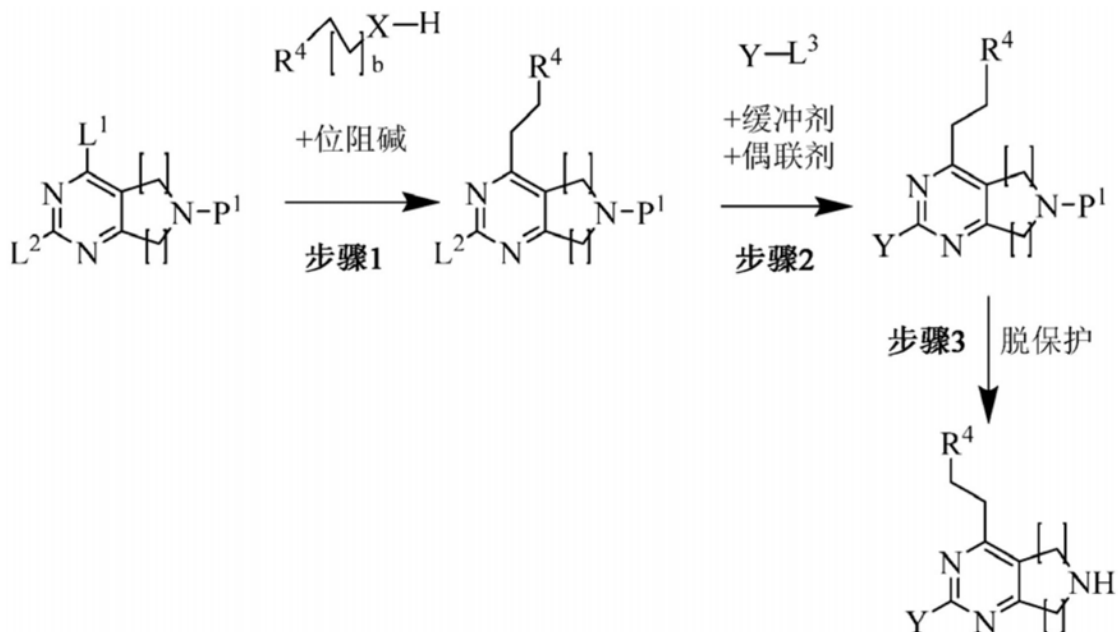
[0076] 32. 根据段落30所述的化合物,其中R<sup>8</sup>为-CH<sub>3</sub>。

- [0077] 33. 根据段落1到32中任一项所述的化合物,其中R<sup>9</sup>为H或F。
- [0078] 34. 根据段落33所述的化合物,其中R<sup>9</sup>为H。
- [0079] 35. 根据段落33所述的化合物,其中R<sup>9</sup>为F。
- [0080] 36. 根据段落1到35中任一项所述的化合物,其中R<sup>10</sup>为H。
- [0081] 37. 根据段落1到36中任一项所述的化合物,其中R<sup>11</sup>为H。
- [0082] 38. 根据段落1到37中任一项所述的化合物,其中b为1。
- [0083] 39. 根据段落1到38中任一项所述的化合物,其中p为1。
- [0084] 40. 根据段落1到39中任一项所述的化合物,其中q为1。
- [0085] 41. 根据段落1到39中任一项所述的化合物,其中q为0。
- [0086] 42. 一种药物组合物,其包括根据段落1到41中任一项所述的化合物以及赋形剂、稀释剂或载体。
- [0087] 43. 一种根据权利要求1到41中任一项所述化合物或一种根据段落42所述的药物组合物,其用于治疗。
- [0088] 44. 一种用于根据段落43使用的化合物或组合物,其用于治疗癌症。
- [0089] 45. 一种治疗患者的方法,所述方法包括施用治疗有效量的根据段落1到41中任一项所述的化合物或根据段落42所述的组合物。
- [0090] 46. 根据段落1到41中任一项所述化合物或根据段落42所述的组合物的用途,其用于制造用于治疗癌症的药品。
- [0091] 在一个实施例中,m为1,并且n为1。在一个实施例中,m为1,并且n为2。在一个实施例中,m为2,并且n为1。在一个实施例中,m为2,并且n为2。
- [0092] 在一个实施例中,Y为嘧啶,包含被R<sup>5</sup>和R<sup>6</sup>取代的嘧啶。
- [0093] 在一个实施例中,Z是未经取代的。
- [0094] 具体地,令人惊讶地发现本发明的化合物可有效抑制AhR。所述化合物可用于治疗或预防其中外源性和内源性AhR配体诱导免疫应答失调的病状,例如:不受控的细胞生长、肿瘤细胞的增殖和/或存活、免疫抑制。此失调可以在癌症、不适当的细胞免疫反应和不适当的细胞炎症反应的上下文中观察到。
- [0095] 在一个实施例中,本公开的化合物可用于治疗癌症(例如液体和/或实体瘤)和/或其转移。癌症的实例包含头颈癌(如脑瘤和脑转移)、胸癌(包含非小细胞和小细胞肺癌)、胃肠癌(包含胃、食管、结肠和结直肠)、胆道癌、胰腺癌、肝癌、内分泌癌、乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌、肾癌、前列腺癌、骨癌和皮肤癌。
- [0096] 在一个实施例中,癌症是上皮癌。在一个实施例中,癌症是肉瘤。在一个实施例中,癌症是转移性的。

### 具体实施方式

[0097] 如任选地包括1个、2个或3个选自氮、氧和硫的杂原子的5元或6元环是指含有5个或6个原子的饱和、部分饱和或芳香族环,包含其中所有原子均为碳或其中存在1个、2个或3个独立地选自氮、氧和硫的杂原子,例如环戊二烯、苯基、噻吩、呋喃、吡咯、吡唑、咪唑、噁唑、噻唑、异噻唑、三唑、吡啶、吡嗪、三嗪、噻嗪、噁嗪、环戊烷、环己烷、吡咯烷、吡咯啉、吡唑烷、咪唑啉、四氢呋喃、四氢噻吩、哌啶、哌嗪、四氢吡喃、噻烷、噻喃、吗啉或硫代吗啉。

- [0098] 在一个实施例中,环是5元的。
- [0099] 在一个实施例中,环是6元的。
- [0100] 在一个实施例中,5元或6元环是不饱和的或芳香族的。
- [0101] 在一个实施例中,5元或6元环选自环戊二烯、苯基、吡啶和吡嗪,如苯基和吡啶。
- [0102] 如本文所采用的C<sub>1-3</sub>烷基是指直链或支链烷基,例如甲基、乙基、丙基或异丙基。
- [0103] 如本文所采用的卤素包含氟、氯、溴或碘。
- [0104] CO代表羰基。
- [0105] 如本文所采用的9元或10元杂芳基是指含有9个或10个原子的双环系统,其中至少一个环为芳香族,并且至少一个环含有杂原子,例如含有1个、2个、3个或4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子,如二氢吲哚、吲哚、异吲哚、吲哚嗪、吲唑、苯并咪唑、氮杂吲哚、吡唑并嘧啶、嘌呤、苯并呋喃、异苯并呋喃、苯并噻吩、苯并异噻唑、苯并噻唑、苯并噻二唑、腺嘌呤、鸟嘌呤、四氢喹啉、二氢异喹啉、喹啉、异喹啉、喹嗪、喹啉啉、酞嗪、噌啉、茶啉、吡啶并嘧啶、吡咯并吡嗪、吡咯并吡嗪、蝶啶、色烯、异色烯、色酮、苯并噻嗪、喹啉酮和异喹啉酮。
- [0106] 在一个实施例中,9元或10元杂芳基选自吲哚基和苯并咪唑基,如吲哚-3-基或苯并咪唑-2-基。
- [0107] 如本文采用的5元或6元杂芳基是含有5个或6个原子的环,其中至少一个原子是杂原子,例如选自氮、氧或硫的杂原子,如吡咯、吡唑、咪唑、噻吩、噁唑、异噻唑、噻唑、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、三嗪、噻喃、噁嗪和噻嗪,如吡咯、吡唑和吡啶以及嘧啶。
- [0108] 本公开的化合物可以通过本文描述的方法制备。
- [0109] 可以采用一般途径1来制备本公开的某些化合物:

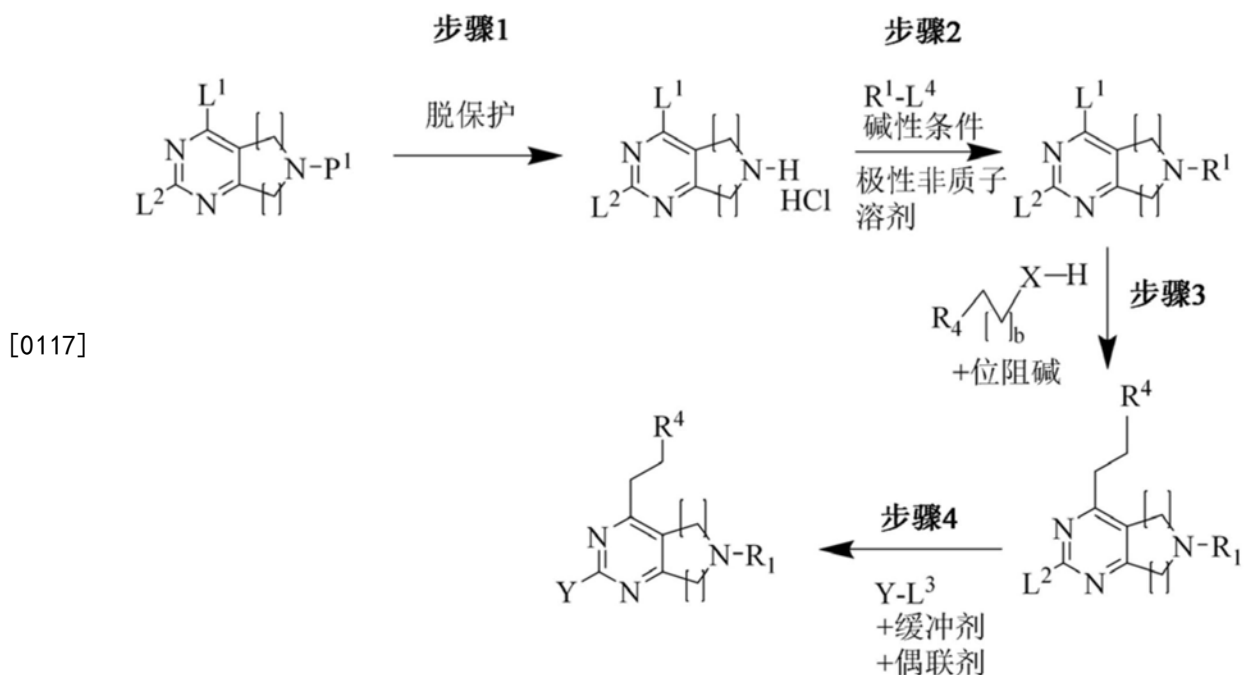


[0110]

- [0111] 其中
- [0112] L<sup>1</sup>和L<sup>2</sup>为离去基团,例如卤素,如氯;
- [0113] L<sup>3</sup>为离去基团,例如硼酸;
- [0114] P<sup>1</sup>为保护基团,例如Boc;并且

[0115]  $R^4$ 和 $Y$ 为以上针对式(I)化合物所定义的。

[0116] 可以采用一般途径2来制备本公开的某些化合物：



[0118]  $L^1$ 和 $L^2$ 为离去基团,例如卤素,如氯;

[0119]  $L^3$ 为离去基团,例如硼酸;

[0120]  $L^4$ 为离去基团,例如卤素,如溴;

[0121]  $P^1$ 为保护基团,例如Boc;并且

[0122]  $R^1$ 、 $R^4$ 和 $Y$ 为以上针对式(I)化合物所定义的。

[0123] 位阻碱的实例是三乙胺,其在方案1的步骤1和方案2的步骤3中可以与色胺一起使用。

[0124] 方案1的步骤2中的合适缓冲剂是例如于如二噁烷和水等溶剂中的芳基硼酸和碳酸钾。

[0125] 偶联剂可能需要在氮下执行反应。方案1的步骤2和方案2的步骤4中的合适偶联剂包含双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钨(II)二氯。

[0126] 可以使用例如TFA,具体地于二氯甲烷中进行方案1的步骤3和方案2的步骤1中的脱保护。

[0127] 可以在位阻有机碱,如三乙胺的存在下进行方案2的步骤2。用于反应的合适的极性非质子溶剂是二氯甲烷。

[0128] 在上述一个或多个反应期间,可能需要保护基团来保护化学敏感性基团,以确保过程有效。因此,如果需要或必要,可以通过使用常规保护基团来保护中间体化合物。保护基团和用于去除所述保护基团的方法描述于Theodora W.Greene和Peter G.M.Wuts的“有机合成中的保护基团(Protective Groups in Organic Synthesis)”,约翰威利父子出版公司(John Wiley&Sons Inc);第4修订版,2006,ISBN-10:0471697540。

[0129] 本公开的化合物的盐的实例包含所有药学上可接受的盐,如但不限于强矿物酸的酸加成盐,如HCl和HBr盐,以及强有机酸的加成盐,例如甲磺酸盐。

[0130] 本公开扩展到本文公开的化合物的溶剂化物。溶剂化物的实例包含水合物。

[0131] 新型中间体是本发明的方面。

[0132] 本公开的另外的方面是制备本文公开的化合物的方法。

[0133] 本文还提供了药物组合物,所述药物组合物包括根据本公开的化合物和赋形剂、稀释剂或载体。对药学上可接受的载体的透彻讨论可见于《雷明顿氏药物科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)》(新泽西州马克出版公司 (Mack Publishing Company, N.J.), 1991)。

[0134] 本公开的药物组合物可以通过任何数量的途径施用,包括但不限于口服、静脉内、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、心室内、透皮、经皮(例如,参见W098/20734)、皮下、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下、阴道内或直肠途径。也可以使用无针注射器来施用本发明的药物组合物。

[0135] 在一个实施例中,治疗组合物可以以注射剂形式制备,无论是液体溶液还是悬浮液形式。也可以制备适于在注射之前溶解或悬浮在液体媒剂中的固体形式。用于重组此类固体形式(包含冻干的固体)的合适液体可以选自水性溶液,例如盐水、右旋糖或注射用水等。在一个实施例中,重组的液体调配物是等渗的。

[0136] 在一个实施例中,根据本公开的药物组合物以用于口服施用的片剂或胶囊剂的形式提供。

[0137] 治疗

[0138] 本公开还扩展到治疗患者的方法,所述方法包括施用例如用于治疗癌症的治疗有效量的本公开的化合物(或包括所述化合物的药物组合物)。

[0139] 还提供了一种用于治疗,例如用于治疗癌症的根据本公开的化合物(或包括所述化合物的药物组合物)。

[0140] 在另外的方面,提供了一种用于制造用于治疗癌症的药物的本公开的化合物(或包括所述化合物的药物组合物)。

[0141] 在一个实施例中,癌症是上皮癌,例如选自肝癌(如肝细胞癌)、胆道癌、乳腺癌(如无ER+乳腺癌)、前列腺癌、结肠直肠癌、卵巢癌、宫颈癌、肺癌、胃癌、胰腺癌、骨癌、膀胱癌、头颈癌、甲状腺癌、皮肤癌、肾癌和食道癌(例如胃癌)。

[0142] 在一个实施例中,癌症选自包括以下的组:肝细胞癌、胆道癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠直肠癌、卵巢癌、肺癌、胃癌、胰腺癌和食道癌。

[0143] 在一个实施例中,胆管癌处于选自以下的位置中:肝内胆管、左肝管、右肝管、肝总管、胆囊管、胆总管、乏特氏壶腹(Ampulla of Vater)以及其组合。

[0144] 在一个实施例中,胆管癌在肝内胆管中。在一个实施例中,胆管癌在左肝管中。在一个实施例中,胆管癌在右肝管中。在一个实施例中,胆管癌在肝总管中。在一个实施例中,胆管癌在胆囊管中。在一个实施例中,胆管癌在胆总管中。在一个实施例中,胆管癌在乏特氏壶腹中。在一个实施例中,上皮癌是癌。

[0145] 在一个实施例中,根据本公开的治疗是辅助疗法,如外科手术之后。

[0146] 在一个实施例中,根据本公开的疗法是新辅助治疗,例如用于在外科手术之前缩小肿瘤。

[0147] 在一个实施例中,肿瘤是实体瘤。在一个实施例中,癌症是原发性、继发性、转移或其组合。在一个实施例中,根据本公开的治疗适合于治疗继发性肿瘤。在一个实施例中,癌

症是转移性癌症。在一个实施例中,根据本公开的治疗适合于治疗原发性癌症和转移。在一个实施例中,根据本公开的治疗适合于治疗继发性癌症和转移。在一个实施例中,根据本公开的治疗适合于治疗原发性癌症、继发性癌症和转移。

[0148] 在一个实施例中,根据本公开的治疗适合于治疗淋巴结中的癌细胞。

[0149] 在一个实施例中,肝癌是原发性肝癌。在一个实施例中,肝癌是继发性肝癌。在一个实施例中,肝癌是1期、2期、3A期、3B期、3C期、4A期或4B期。

[0150] 在一个实施例中,胃癌是0期、I期、II期、III期或IV期。

[0151] 对人类受试者的精确治疗有效量将取决于疾病状态的严重度、受试者的一般健康、受试者的年龄、体重和性别、饮食、施用的时间和频率、一种或多种药物组合、反应敏感性和对疗法的耐受性/反应。此量可以通过常规实验确定,并且在临床医生的判断内。通常,治疗有效量将为0.01mg/kg到1000mg/kg,例如0.1mg/kg到500mg/kg。药物组合可以方便地以单位剂量形式呈现,所述单位剂量形式每剂量含有预定量的本发明的活性剂。

[0152] 组合疗法

[0153] 在一个实施例中,本公开的化合物用于例如其中另外的疗法是抗癌疗法的组合疗法。

[0154] 在一个实施例中,抗癌疗法是化学疗法。

[0155] 化学治疗剂和化学疗法或细胞毒性剂在本文中可互换使用,除非上下文另外指出。

[0156] 如本文采用的化学疗法旨在指代“选择性地”破坏恶性细胞和组织的特异性抗肿瘤化学药剂或药物,例如烷化剂、抗代谢药(包含胸苷酸合酶抑制剂)、蒽环类药物、抗微管剂(包含植物生物碱)、拓扑异构酶抑制剂、parp抑制剂和其它抗肿瘤剂。选择性地在此上下文中被宽松地使用,因为当然这些药剂中的许多药剂都具有严重的副作用。

[0157] 优选的剂量可以由医师基于所治疗的癌症的性质来选择。

[0158] 本公开的方法中可以采用的烷化剂的实例包含:烷化剂,所述烷化剂选自:氮芥、亚硝基脲、四嗪、氮丙啶、铂类和衍生物;以及非经典烷化剂。

[0159] 含有铂的化学治疗剂(也被称为铂类)包含例如顺铂、卡铂、奥沙利铂、沙铂、吡铂、奈达铂、三铂(triplatin)和脂铂(lipoplatin)(顺铂的脂质体形式),具体地顺铂、卡铂和奥沙利铂。

[0160] 顺铂的剂量范围为约20mg/m<sup>2</sup>到约270mg/m<sup>2</sup>,这取决于确切癌症。通常剂量的范围为约70mg/m<sup>2</sup>到约100mg/m<sup>2</sup>。

[0161] 氮芥包含二氯甲基二乙胺(、环磷酰胺、美法仑、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺和白消安。

[0162] 亚硝基脲包含N-亚硝基-N-甲基脲(MNU)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)和司莫司汀(MeCCNU)、福莫司汀和链脲霉素。四嗪包含达卡巴嗪、米托唑胺和替莫唑胺。

[0163] 氮丙啶包含噻替派、丝裂霉素和亚丝醌(AZQ)。

[0164] 本公开的方法中可以采用的抗代谢药的实例包含抗叶酸剂(例如,氨甲蝶呤(methotrexate)和培美曲塞(pemetrexed))、嘌呤类似物(例如,硫嘌呤(thiopurine),如硫唑嘌呤(azathiopurine)、巯嘌呤(mercaptopurine)、硫嘌呤、氟达拉滨(fludarabine)(包含磷酸盐形式)、喷司他丁(pentostatin)和克拉屈滨(cladribine))、嘧啶类似物(例如,氟

嘧啶 (fluoropyrimidine), 如5-氟尿嘧啶 (fluorouracil) 和其前药, 如卡培他滨 (capecitabine) [Xeloda®]、氟尿苷 (floxuridine)、吉西他滨 (gemcitabine)、阿糖胞苷 (cytarabine)、地西他滨 (decitabine)、雷替曲塞 (raltitrexed) (拓优得 (tomudex)) 盐酸盐、克拉屈滨和6-氮尿嘧啶。

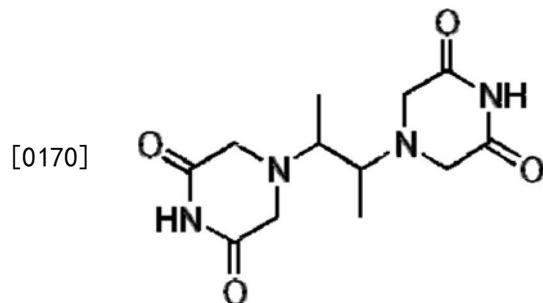
[0165] 本公开的方法中可以采用的蒽环类药物的实例包含柔红霉素 (daunorubicin) (道诺霉素 (Daunomycin))、柔红霉素 (脂质体)、多柔比星 (doxorubicin) (亚德里亚霉素 (Adriamycin))、多柔比星 (脂质体)、表柔比星 (epirubicin)、伊达比星 (idarubicin)、戊柔比星 (valrubicin) (目前仅用于治疗膀胱癌) 和米托蒽醌 (mitoxantrone)、蒽环类类似物, 具体地多柔比星。

[0166] 本公开的方法中可以采用的抗微管剂的实例包含长春花生物碱和紫杉烷。

[0167] 长春花生物碱包含完全天然的化学品, 例如长春新碱和长春碱并且还包含半合成长春花生物碱, 例如长春瑞滨、长春地辛和长春氟宁。

[0168] 紫杉烷包含紫杉醇、多西他赛、白蛋白结合型紫杉醇、卡巴他赛 (carbazitaxel) 和其衍生物。本文所采用的紫杉烷的衍生物包含如紫杉醇 (taxol) 等紫杉烷的再调配物, 例如在胶束调配物中, 衍生物还包含其中采用合成化学来修饰作为紫杉烷的起始材料的化学衍生物。

[0169] 本公开的方法中可以采用的拓扑异构酶抑制剂包含I型拓扑异构酶抑制剂、II型拓扑异构酶抑制剂和II型拓扑异构酶毒剂。I型抑制剂包含拓朴替康 (topotecan)、伊立替康 (irinotecan)、吡啶替康 (indotecan) 和因帝米替康 (indimitecan)。II型抑制剂包含染料木素和ICRF 193, 其具有以下结构:



[0171] II型毒剂包含安吡啶 (amsacrine)、依托泊苷 (etoposide)、磷酸依托泊苷、替尼泊苷 (teniposide) 和多柔比星以及氟喹诺酮 (fluoroquinolones)。

[0172] 在一个实施例中, 所采用的化学治疗剂的组合是例如铂和5-FU或其前药, 例如顺铂或奥沙利铂以及卡培他滨或吉西他滨, 如FOLFOLX。

[0173] 在一个实施例中, 化学疗法包括化学治疗剂, 具体地细胞毒性化学治疗剂的组合。

[0174] 在一个实施例中, 化学疗法组合包括铂, 如顺铂和氟尿嘧啶或卡培他滨。

[0175] 在一个实施例中, 卡培他滨和奥沙利铂 (Xelox) 中的化学疗法组合。

[0176] 在一个实施例中, 化学疗法是亚叶酸和5-FU的组合, 任选地与奥沙利铂的组合。

[0177] 在一个实施例中, 化学疗法是亚叶酸、5-FU和伊立替康 (FOLFIRI) 的组合, 任选地与奥沙利铂 (FOLFIRINOX) 组合。方案由以下组成: 伊立替康 (90分钟内180mg/m<sup>2</sup> IV) 与亚叶酸 (120分钟内400mg/m<sup>2</sup> [或2×250mg/m<sup>2</sup>] IV) 同时; 之后氟尿嘧啶 (400-500mg/m<sup>2</sup> IV团注), 然后氟尿嘧啶 (46小时内2400-3000mg/m<sup>2</sup> 静脉内输注)。此周期典型地每两周重复一次。以

上示出的剂量可能因周期而不同。

[0178] 在一个实施例中,化学疗法组合采用微管抑制剂,例如硫酸长春新碱、埃博霉素A、N-[2-[ (4-羟苯基)氨基]-3-吡啶基]-4-甲氧基苯磺酰胺 (ABT-751)、紫杉醇衍生的化学治疗剂,例如太平洋紫杉醇、白蛋白结合型紫杉醇或多西他赛或其组合。

[0179] 在一个实施例中,化学疗法组合包括抗代谢药,如卡培他滨(希罗达(xeloda))、磷酸氟达拉滨、氟达拉滨(氟达拉(fludara))、地西他滨、雷替曲塞(拓优得(tomodex))、盐酸吉西他滨和克拉屈滨。

[0180] 在一个实施例中,抗癌症疗法治组合采用mTor抑制剂。mTor抑制剂的实例包含:依维莫司(everolimus) (RAD001)、WYE-354、KU-0063794、雷帕霉素(papamycin) (西罗莫司(Sirolimus))、替西罗莫司(Temsirolimus)、地磷莫司(Deforolimus) (MK-8669)、AZD8055和BEZ235 (NVP-BEZ235)。

[0181] 在一个实施例中抗癌症疗法治组合采用MEK抑制剂。MEK抑制剂的实例包含:AS703026、CI-1040 (PD184352)、AZD6244 (司美替尼 (Selumetinib))、PD318088、PD0325901、AZD8330、PD98059、U0126-EtOH、BIX 02189或BIX 02188。

[0182] 在一个实施例中,化学疗法治组合采用AKT抑制剂。AKT抑制剂的实例包含:MK-2206和AT7867。

[0183] 在一个实施例中,抗癌症疗法采用极光激酶抑制剂。极光激酶抑制剂的实例包含:极光A抑制剂I、VX-680、AZD1152-HQPA (巴拉塞替 (Barasertib))、SNS-314甲磺酸、PHA-680632、ZM-447439、CCT129202和橙皮苷 (Hesperadin)。

[0184] 在一个实施例中,化学疗法组合采用例如W02010/038086中公开的p38抑制剂,如N-[4-({4-[3-(3-叔丁基-1-p-甲基-1H-吡唑-5-基)脲基]萘乙酰胺-1-基氧基}甲基)吡啶-2-基]-2-甲氧基乙酰胺基。

[0185] 在一个实施例中,组合采用Bcl-2抑制剂。Bcl-2抑制剂的实例包含:奥巴克拉甲磺酸酯 (obatoclax mesylate)、ABT-737、ABT-263 (纳威托克斯 (navitoclax) 和TW-37。

[0186] 在一个实施例中,化学疗法组合包括更昔洛韦 (ganciclovir),其可以协助控制免疫反应和/或肿瘤血管形成。

[0187] 在一个实施例中,抗癌症疗法包含PARP抑制剂。

[0188] 在一个实施例中,抗癌症疗法包含具有对DHODH酶的活性的特异性抑制的癌症代谢抑制剂。

[0189] 在一个实施例中,本文方法中采用的一个或多个疗法是有节奏的,即低剂量的抗癌药物的连续或频繁治疗,通常条件是伴随有其它疗法方法。

[0190] 在一个实施例中,提供了使用多个周期的治疗(如化学疗法),例如2个、3个、4个、5个、6个、7个或8个。

[0191] “包括”在本说明书的上下文中旨在意指“包含”。在技术上适当的情况下,可以组合本发明的实施例。

[0192] 实施例在本文中描述为包括某些特征/要素。本公开还延伸到由所述特征/要素组成或基本上由所述特征/要素组成的单独实施例。

[0193] 如专利和申请等技术参考通过引用并入本文。

[0194] 本文具体和明确叙述的任何实施例可以单独或与一个或多个另外的实施例组合

形成免责声明的基础。

[0195] 本申请要求于2018年8月24日提交的并且通过引用并入本文的SG10201807244X的优先权。此应用可以用作进行更正的基础。

[0196] 现将参考以下实例来描述本发明,这些实例仅是说明性的并且不应以被解释为限制本发明的范围。

[0197] 实例

[0198] 通用方法A(色胺)

[0199] 向合适的圆底烧瓶或反应小瓶装入芳基卤(1当量)、色胺(1.1当量)、IPA(10mL/mmol)和三乙胺(2当量),并且在100°C下加热,持续3小时(反应通过UPLC分析监测)。一旦冷却,就将反应混合物蒸发至干燥,在乙酸乙酯与水之间分配所得残余物。分离有机相,并依序用饱和碳酸氢盐溶液、水、盐水进行洗涤,然后经硫酸钠干燥,过滤并蒸发。如果期望,通过色谱或研磨执行纯化。

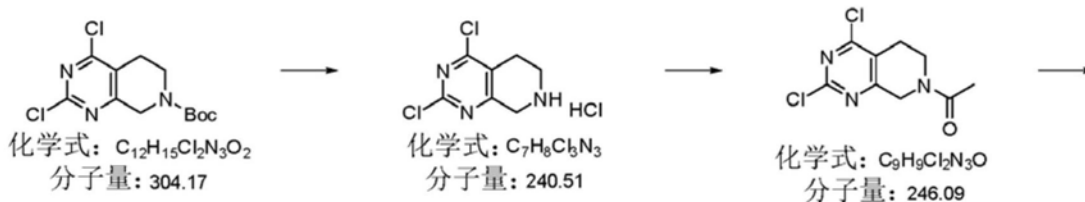
[0200] 通用方法B(铃木(Suzuki))

[0201] 向合适的圆底烧瓶或反应小瓶装入芳基卤(1当量)、芳基硼酸(1.5-2.0当量)、碳酸钾(1.5-2.0当量)、二噁烷/水([5:1]约60体积)。用氮气对顶部空间进行冲洗,然后添加[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯化钯(II)二氯(0.2-0.3当量)。在氮气下将反应混合物于100°C下加热2-24小时,直到如通过UPLC分析确定的完成为止。将反应混合物蒸发至干燥,并且以于DCM中的浆液形式施加到硅胶柱上;或者将其预先吸附到硅藻土上,然后将其装载到干式装载单元中并且与硅胶盒串联放置。用一定梯度的乙酸乙酯/己烷对所期望的产物进行洗脱,有时可能需要极性更大的甲醇(0-10%)/乙酸乙酯洗脱液。可能需要在用含7M氨的甲醇(0-10%)/DCM洗脱的硅胶上进行进一步色谱。用二乙醚研磨,并且随后进行过滤,以得到所期望的产物。

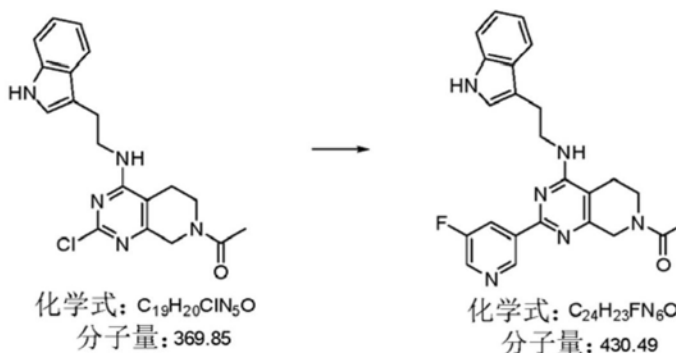
[0202] 通用方法C(TFA deBOC)

[0203] 向BOC化合物(20-200mg)于DCM(3-10mL)的溶液中添加TFA(0.2-0.5mL)。一旦如通过UPLC判断的完成,就将反应混合物装载到SCX树脂盒(0.5g或1.0g)上。用甲醇(10mL)对盒进行彻底洗涤。将产物以游离碱形式进行洗脱,用含7M氨的甲醇(10mL)进行洗脱。对游离碱物质进行蒸发,用乙醚进行研磨,并且通过过滤收集。在<10mbar的干燥器中进行干燥。

[0204] 实例1 1-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙-1-酮的制备



[0205]



[0206] 步骤1 2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐

[0207] 向2,4-二氯-5,6-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(8H)甲酸叔丁酯(5.2g)于DCM(10mL)中的溶液添加HCl(含4N HCl的二噁烷)(4mL)。在环境温度下搅动反应混合物。完成之后(反应通过TLC监测),在减压下对溶剂进行蒸发。然后相继用乙酸乙酯、之后用二乙醚对获得的固体进行研磨并且进行干燥,以得到呈米色固体形式的期望的产物(3.5g,85%)

[0208] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 0.79分钟,m/z 204/206/208[M-H]<sup>-</sup>

[0209] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 3.00(t,J=6.15Hz,2H) 3.43(t,J=6.16Hz,2H) 4.35(s,2H) 10.08(br s,2H)

[0210] 步骤2(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙-1-酮

[0211] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(50mg,1当量)于DCM(500μL)中的悬浮液添加三乙胺(60μL,2当量)。在搅动几分钟后,添加乙酸酐(30μL,1.5当量)。混合物变得混浊。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对分离的有机相进行干燥、过滤并且蒸发,以得到如固体一样粗的期望的产物(46mg,90%)。

[0212] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.75分钟,m/z 246/248/250[M+H]<sup>+</sup>

[0213] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δppm 2.15-2.21(m,3H) 2.80-2.86(m,1H) 2.87-2.94(m,1H) 3.73-3.80(m,1H) 3.86-3.94(m,1H) 4.62-4.69(m,1H) 4.76-4.83(m,1H)(所有峰由于旋转异构体的存在而一分为二)

[0214] 步骤3 1-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙-1-酮

[0215] 根据通用方法A,使用1-(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙-1-酮(46mg)制备,以得到与橘色固体一样粗的期望的产物(69mg,100%)

[0216] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.92分钟,m/z 370/371[M+H]<sup>+</sup>

[0217] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d+甲醇滴-d<sub>4</sub>) δppm 7.48-7.60(m,1H), 7.30-7.36(m,1H), 7.08-7.16(m,1H), 6.98-7.07(m,2H), 4.26-4.55(m,2H), 3.60-3.72(m,2H), 3.30-3.34(m,2H), 2.94-3.07(m,2H), 2.08-2.16(m,2H), 1.93-2.08(m,3H)

[0218] 步骤4 1-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡

啉[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙-1-酮

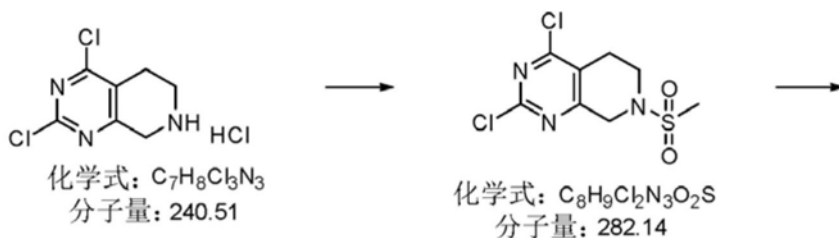
[0219] 根据通用方法B,使用1-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啉[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙-1-酮(84mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(80mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(45mg,46%)。

[0220] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.40分钟,m/z 431.2[M+H]<sup>+</sup>

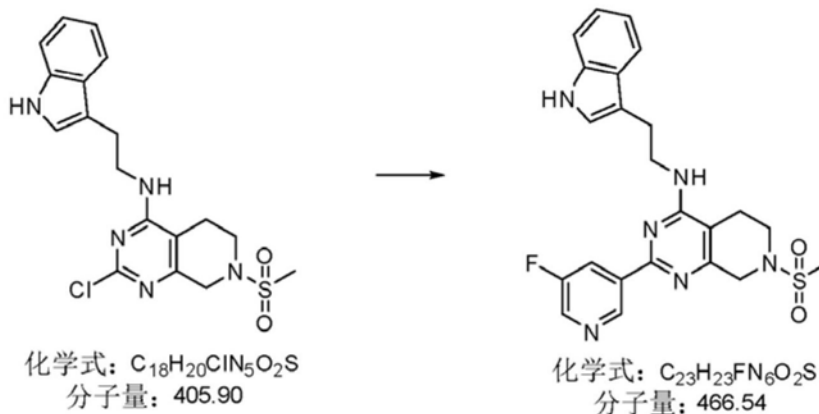
[0221] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.64质子去偶

[0222] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83(br s,1H),9.34(t,J=1.8Hz,1H),8.68(t,J=2.4Hz,1H),8.26-8.45(m,1H),7.60(d,J=8.0Hz,1H),7.33-7.37(m,1H),7.29-7.32(m,1H),7.22(d,J=2.0Hz,1H),7.04-7.11(m,1H),6.98(ddd,J=7.8,7.0,1.0Hz,1H),4.53(br d,J=13.8Hz,2H),3.77-3.85(m,2H),3.73-3.78(m,2H),3.04(br t,J=7.5Hz,2H),2.53(br s,1H),2.42(br t,J=5.5Hz,1H),2.12(d,J=6.5Hz,3H)。

[0223] 实例2N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7-(甲基磺酰基)-5,6,7,8-四氢吡啉[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0224]



[0225] 步骤1 2,4-二氯-7-(甲基磺酰基)-5,6,7,8-四氢吡啉[3,4-d]嘧啶

[0226] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啉[3,4-d]嘧啶盐酸盐(50mg,1当量)于DCM(500μL)中的悬浮液添加三乙胺(60μL,2当量)。在搅动几分钟后,添加甲基磺酰氯(25μL,1.5当量)。混合物变得混浊。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并且蒸发,以得到呈固体形式的期望的产物(57mg,98%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.83分钟,m/z 282/284[M+H]<sup>+</sup>

[0227] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δppm 4.36-4.60(m,2H),3.70-3.70(m,1H),3.57-3.67(m,2H),2.94-3.01(m,2H)

[0228] 步骤2N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-氯-7-(甲基磺酰基)-5,6,7,8-四氢吡啉[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0229] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-7-(甲基磺酰基)-5,6,7,8-四氢吡啉[3,4-d]嘧啶

(57mg) 制备,以得到与橘色固体一样粗的期望的产物(78mg,95%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.97分钟,m/z 406/408[M+H]<sup>+</sup>

[0230] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d<sub>4</sub>+甲醇滴-d<sub>4</sub>) δppm 7.51-7.63(m,1H),7.32-7.39(m,1H),7.12-7.20(m,1H),7.04-7.10(m,1H),6.99-7.03(m,1H),3.61-3.82(m,2H),3.37-3.54(m,2H),2.98-3.10(m,2H),2.82-2.84(m,2H),2.78-2.81(m,3H),2.15-2.25(m,2H)。

[0231] 步骤3N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7-(甲基磺酰基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

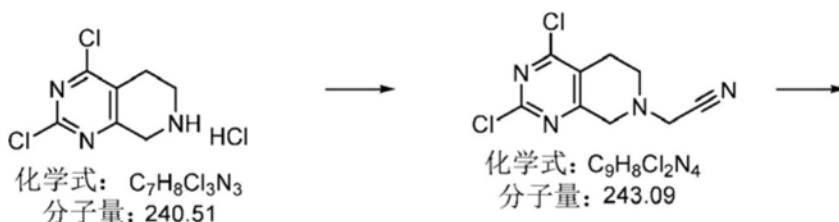
[0232] 根据通用方法B,使用N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-氯-7-(甲基磺酰基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(78mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(60mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(58mg,62%)。

[0233] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.58分钟,m/z 467.1[M+H]<sup>+</sup>

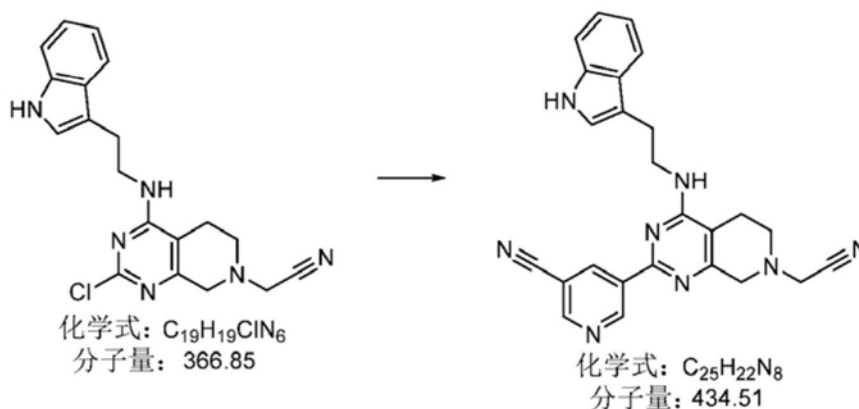
[0234] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.59质子去偶

[0235] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83(br d,J=1.3Hz,1H),9.33(t,J=1.8Hz,1H),8.69(d,J=2.8Hz,1H),8.30-8.35(m,1H),7.61(d,J=7.5Hz,1H),7.38(t,J=5.9Hz,1H),7.34(dt,J=8.1,1.0Hz,1H),7.22(d,J=2.3Hz,1H),7.07(ddd,J=8.1,6.8,1.1Hz,1H),6.98(ddd,J=7.8,7.0,1.0Hz,1H),4.27(s,1H),3.75-3.89(m,2H),3.52(t,J=5.9Hz,1H),2.97-3.13(m,5H),2.58(br t,J=5.9Hz,1H)。

[0236] 实例3 5-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-7-(氰甲基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2-基)烟碱甲腈的制备



[0237]



[0238] 步骤1 2-(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈

[0239] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(0.99g,1当量)于DCM(500μL)中的悬浮液添加三乙胺(1.4mL,2.5当量)。在搅动几分钟后,添加溴乙腈(315μL,1.5当量)。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并蒸发,以得到粘性油。在二氧化硅上进行纯化,用一定梯度的0-5%甲醇/DCM进行

洗脱,以得到呈泡沫形式的所期望的不纯产物(540mg)。

[0240] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.86分钟,m/z 243[M+H]<sup>+</sup>

[0241] 在此阶段运行<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δppm No <sup>1</sup>H NMR。

[0242] 步骤2 2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈

[0243] 根据通用方法A,使用2-(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈(500mg)制备。在二氧化硅上纯化(Telos 20g柱盒),用一定梯度的0-5%甲醇/DCM进行洗脱,以得到呈淡黄色固体形式的期望的产物(249mg)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.98分钟,m/z 367[M+H]<sup>+</sup>

[0244] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d+甲醇滴-d<sub>4</sub>) δppm 8.04-8.21(m,1H),7.57-7.70(m,1H),7.35-7.44(m,1H),7.20-7.26(m,1H),7.11-7.18(m,1H),7.04-7.09(m,1H),4.74-4.94(m,1H),3.81-3.90(m,2H),3.68-3.68(m,1H),3.64-3.69(m,1H),3.58-3.62(m,2H),3.06-3.14(m,2H),2.78-2.84(m,2H),2.13-2.27(m,2H)。

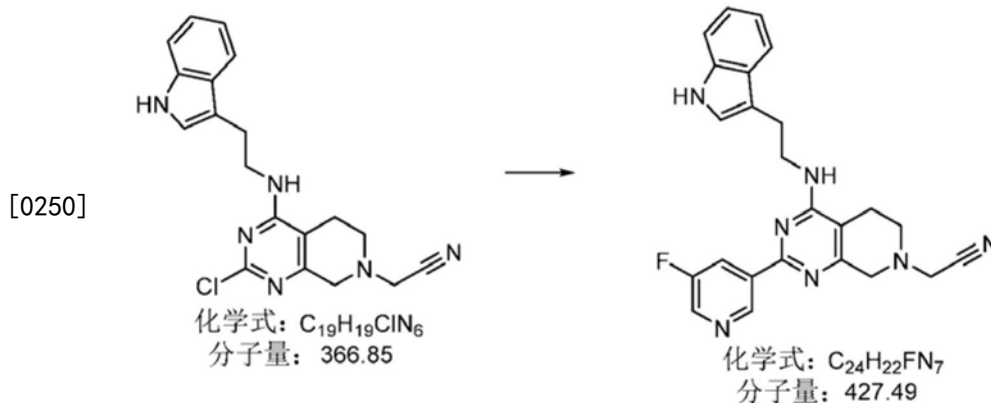
[0245] 步骤3 5-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-7-(氰甲基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2-基)烟碱甲腈

[0246] 根据通用方法B,使用2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈(120mg)和5-氰基-3-吡啶基硼酸(70mg)制备,以得到呈米色固体形式的期望的产物(57mg,40%)。

[0247] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.47分钟,m/z 428[M+H]<sup>+</sup>

[0248] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.70-10.95(m,1H),9.20-9.39(m,1H),8.61-8.82(m,1H),8.23-8.38(m,1H),7.53-7.68(m,1H),7.28-7.47(m,2H),7.16-7.24(m,1H),7.02-7.11(m,1H),6.92-7.01(m,1H),3.92-4.05(m,2H),3.73-3.85(m,2H),3.56-3.65(m,2H),2.99-3.10(m,2H),2.78-2.90(m,2H)。

[0249] 实例4 2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈的制备



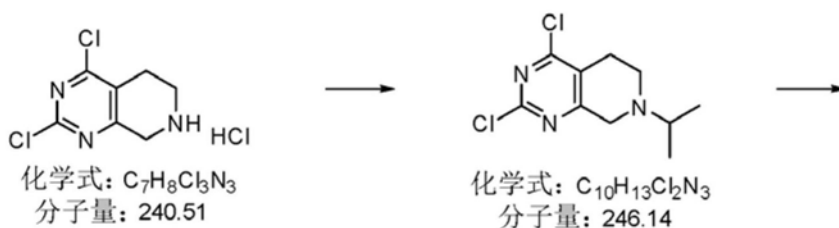
[0251] 步骤3 2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈

[0252] 根据通用方法B,使用2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)乙腈(120mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(70mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(10mg,7%)。

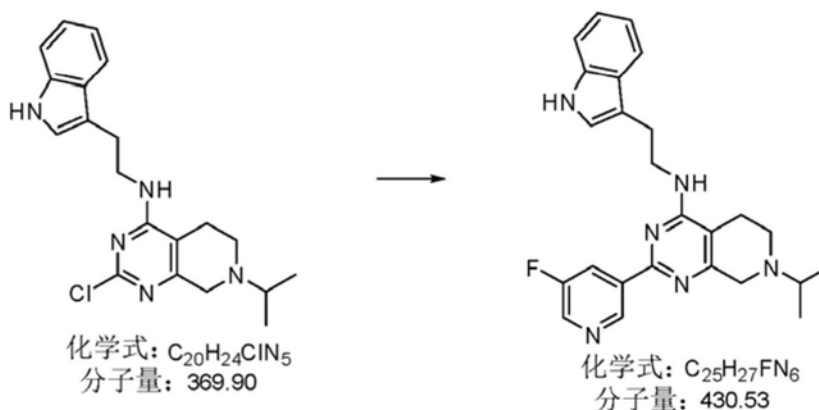
[0253] UPLC-MS (酸性方法, 4分钟): rt 1.55分钟, m/z 435 [M+H]<sup>+</sup>

[0254] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δppm 8.68-8.87 (m, 1H), 8.05-8.16 (m, 1H), 7.90-8.01 (m, 1H), 6.71-6.82 (m, 1H), 6.41-6.52 (m, 1H), 6.19-6.30 (m, 3H), 3.06-3.14 (m, 4H), 2.82-2.89 (m, 2H), 2.63-2.75 (m, 3H), 2.27-2.35 (m, 2H), 2.05-2.16 (m, 2H), 1.65-1.76 (m, 2H).

[0255] 实例5 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7-异丙基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0256]



[0257] 步骤1 2,4-二氯-7-异丙基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶

[0258] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(0.9g, 1当量)于DCM(20mL)中的悬浮液添加三乙胺(1mL, 2当量)。在环境温度下搅动10-15分钟后,添加乙酸(630μL, 3当量),然后添加丙酮(540μL)。搅动继续10分钟,然后添加三乙酰氧基硼氢化钠(1.24g, 1.6当量)。1天后,用DCM对反应混合物进行稀释,并且用饱和碳酸氢钠溶液进行洗涤。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并蒸发,以得到棕色油。在二氧化硅上纯化(Telos 40g盒),用一定梯度的0%到50%乙酸乙酯/乙烷进行洗脱,得到呈黄色油形式的期望的产物(536mg, 54%)。

[0259] UPLC-MS (碱性方法, 2分钟): rt 1.01分钟, m/z 246/248 [M+H]<sup>+</sup>

[0260] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δppm 3.73-3.78 (m, 2H), 2.90-3.03 (m, 1H), 2.80-2.85 (m, 4H), 1.08-1.16 (m, 6H).

[0261] 步骤2 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-氯-7-异丙基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0262] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-7-异丙基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶(150mg)之别。在二氧化硅上纯化(Telos 4g盒),用一定梯度的0%到5%MeOH/DCM进行洗脱,得到呈米色泡沫形式的所期望的产物(160mg, 90%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 0.72分钟, m/z 370/372 [M+H]<sup>+</sup>

[0263] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d+甲醇滴-d<sub>4</sub>) δppm 7.98-8.10 (m, 1H), 7.63-7.68 (m, 1H),

7.38-7.43 (m, 1H), 7.21-7.26 (m, 1H), 7.12-7.18 (m, 1H), 7.03-7.06 (m, 1H), 4.71-4.79 (m, 1H), 3.81-3.88 (m, 2H), 3.55-3.59 (m, 2H), 3.06-3.13 (m, 2H), 2.84-2.92 (m, 1H), 2.70-2.75 (m, 2H), 2.14-2.20 (m, 2H), 1.08-1.12 (m, 6H)

[0264] 步骤3 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7-异丙基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

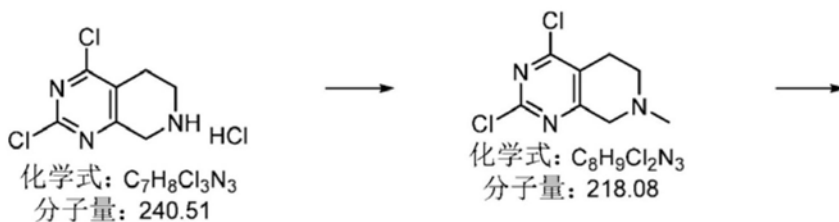
[0265] 根据通用方法B,使用N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-氯-7-异丙基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(65mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(60mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(50mg,66%)。

[0266] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.07分钟,m/z 431.2[M+H]<sup>+</sup>

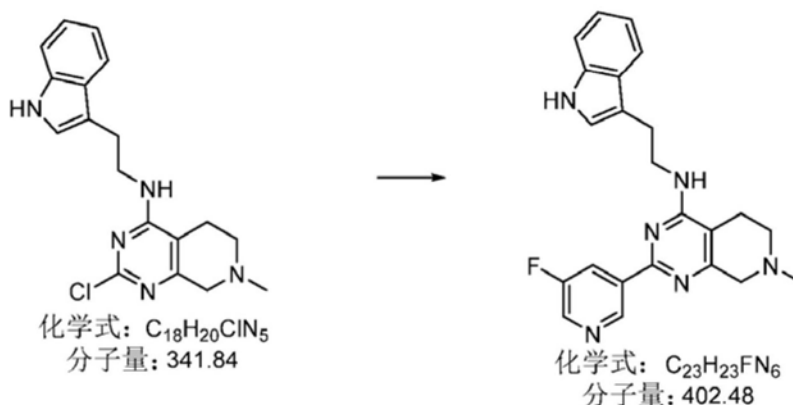
[0267] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.79质子去偶

[0268] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83 (br d, J=1.5Hz, 1H), 9.32 (t, J=1.8Hz, 1H), 8.66 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.24-8.37 (m, 1H), 7.61 (d, J=7.3Hz, 1H), 7.35 (dt, J=8.0, 0.9Hz, 1H), 7.21 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.14 (br t, J=5.8Hz, 1H), 7.08 (ddd, J=8.1, 7.0, 1.3Hz, 1H), 6.98 (ddd, J=8.0, 7.0, 1.1Hz, 1H), 3.72-3.83 (m, 1H), 3.54 (s, 1H), 2.99-3.09 (m, 1H), 2.91 (dt, J=13.1, 6.4Hz, 1H), 2.76 (br t, J=5.6Hz, 1H), 2.42 (br t, J=5.5Hz, 1H), 1.08 (d, J=6.5Hz, 1H)。

[0269] 实例6 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0270]



[0271] 步骤1 2,4-二氯-7-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶

[0272] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(1.0g,1当量)于DCM(20mL)中的悬浮液添加三乙胺(1.1mL,2当量)。在环境温度下搅动10-15分钟后,添加乙酸(720μL,3当量),然后添加甲醛溶液(含37wt%的H<sub>2</sub>O)(720μL)。搅动继续10分钟,然后添加三乙酰氧基硼氢化钠(1.41g,1.6当量)。3小时后,用DCM对反应混合物进行稀释,并且用饱和碳酸氢钠溶液进行洗涤。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并蒸发,以得到棕色油(1.08g)。在

二氧化硅上纯化 (Telos 40g盒), 用一定梯度的5%到100%乙酸乙酯/乙烷进行洗脱, 得到呈黄色油形式的期望的产物 (677mg, 68%)。

[0273] UPLC-MS (碱性方法, 2分钟): rt 0.83分钟, m/z 218/220/222 [M+H]<sup>+</sup>

[0274] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δppm 3.60-3.63 (m, 2H), 2.83-2.88 (m, 2H), 2.73-2.78 (m, 2H), 2.47-2.51 (m, 3H)。

[0275] 步骤2 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-氯-7-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0276] 根据通用方法A, 使用2,4-二氯-7-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶 (150mg) 制备。在二氧化硅上进行纯化 (Telos 4g盒), 用一定梯度的5%到10%MeOH/DCM进行洗脱, 得到呈米色泡沫形式的期望的产物 (175mg, 74%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 0.71分钟, m/z 342/344 [M+H]<sup>+</sup>

[0277] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d+甲醇滴-d<sub>4</sub>) δppm 7.61-7.68 (m, 1H), 7.36-7.44 (m, 1H), 7.21-7.26 (m, 1H), 7.12-7.18 (m, 1H), 7.03-7.06 (m, 1H), 4.72-4.80 (m, 1H), 3.81-3.88 (m, 2H), 3.41-3.44 (m, 2H), 3.07-3.13 (m, 2H), 2.61-2.67 (m, 2H), 2.41-2.45 (m, 3H), 2.15-2.21 (m, 2H)。

[0278] 步骤3 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

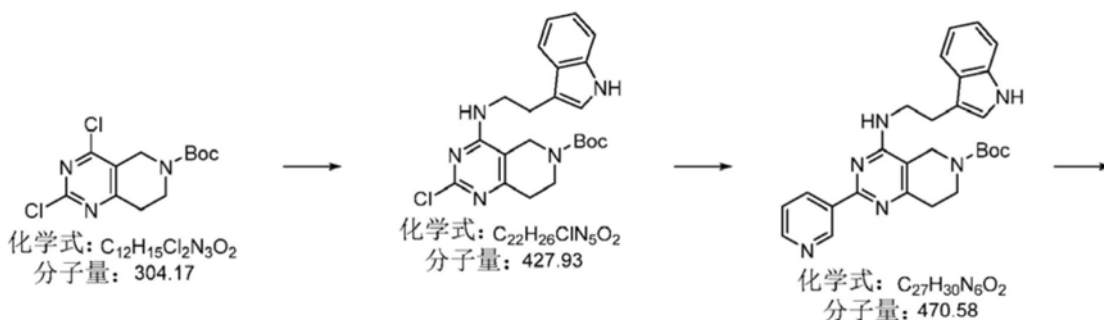
[0279] 根据通用方法B, 使用N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-氯-7-甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺 (70mg) 和5-氟吡啶-3-硼酸 (70mg) 制备, 以得到呈浅黄色固体形式的期望的产物 (50mg, 60%)。

[0280] UPLC-MS (酸性方法, 4分钟): rt 1.04分钟, m/z 403.2 [M+H]<sup>+</sup>

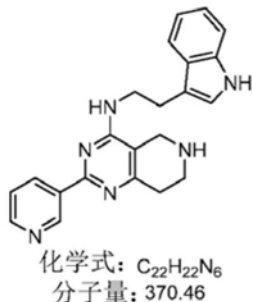
[0281] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.76 质子去偶

[0282] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83 (br s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.66 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.27-8.38 (m, 1H), 7.61 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.35 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.21 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.17 (br t, J=5.5Hz, 1H), 7.07 (t, J=7.2Hz, 1H), 6.94-7.01 (m, 1H), 3.69-3.87 (m, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.04 (br t, J=7.5Hz, 2H), 2.64-2.69 (m, 2H), 2.43-2.48 (m, 2H), 2.37 (s, 3H)。

[0283] 实例7 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺的制备



[0284]



[0285] 步骤1 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0286] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(410mg)制备,以得到呈固体形式的期望的产物(630mg,>100%)。

[0287] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.21分钟,m/z 428/430[M+H]<sup>+</sup>

[0288] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 7.97-8.18(m,1H),7.59-7.68(m,1H),7.34-7.44(m,1H),7.19-7.26(m,1H),7.11-7.18(m,1H),7.05-7.09(m,1H),4.09-4.17(m,2H),3.79-3.90(m,2H),3.59-3.68(m,2H),3.04-3.15(m,2H),2.70-2.80(m,2H),1.46-1.52(m,9H)。

[0289] 步骤2 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0290] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(200mg)和吡啶-3-硼酸(80mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(70mg,30%)。

[0291] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.21分钟,m/z 471.2[M+H]<sup>+</sup>

[0292] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d)δppm 9.64(d,J=1.8Hz,1H),8.61-8.72(m,2H),8.12(br s,1H),7.65(d,J=8.0Hz,1H),7.35-7.45(m,2H),7.21-7.27(m,1H),7.16(td,J=7.5,1.0Hz,1H),7.06-7.14(m,1H),4.55-4.64(m,1H),4.06-4.18(m,2H),3.95-4.05(m,2H),3.69-3.75(m,2H),3.18(br t,J=5.9Hz,2H),2.84-2.92(m,2H),1.48-1.55(m,9H)。最佳解释

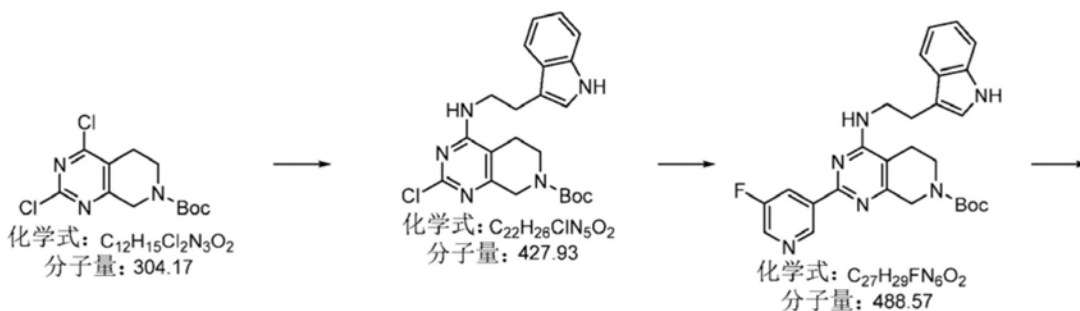
[0293] 步骤3 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺

[0294] 向4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(70mg)于DCM(10mL)中的溶液添加含5N HCl的IPA(2mL)。形成瞬时固体,并且反应混合物的颜色变深。18小时后,对DCM进行蒸发,并且用甲醇/水[1:1](2mL)对IPA残余进行稀释。将混合物装载到0.5g SCX盒中并且用甲醇/水[1:1](10mL),然后用甲醇(2×10mL)进行彻底洗涤。将产物以游离碱形式进行洗脱,用含7M氨的甲醇(10mL)进行洗

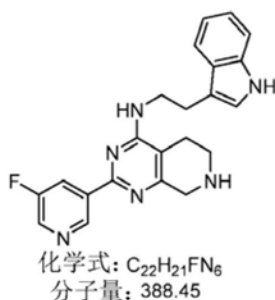
脱。对游离碱物质进行蒸发,然后在二氧化硅上进行纯化,用一定梯度的含7M氨的甲醇(1-10%)/DCM中进行洗脱,以得到呈白色固体形式的期望的产物(30mg,54%)。UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 0.95分钟,m/z 371.2[M+H]<sup>+</sup>

[0295] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83(br s,1H),9.47(dd,J=2.1,0.9Hz,1H),8.64(dd,J=4.8,1.8Hz,1H),8.57(dt,J=8.1,1.9Hz,1H),7.61(d,J=8.0Hz,1H),7.48(ddd,J=7.9,4.8,0.9Hz,1H),7.35(dt,J=8.0,0.9Hz,1H),7.21(d,J=2.3Hz,1H),7.08(ddd,J=8.1,7.1,1.1Hz,1H),6.99(ddd,J=7.9,6.9,1.0Hz,1H),6.91(t,J=5.6Hz,1H),3.71-3.82(m,1H),3.57(s,1H),3.02-3.07(m,2H),2.99(t,J=5.6Hz,2H),2.64(br t,J=5.6Hz,2H)。

[0296] 实例8 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0297]



[0298] 步骤1 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0299] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(470mg)以及通过用DCM研磨进行的纯化制备,以得到呈米色固体形式的期望的产物(370mg,55%)。

[0300] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.22分钟,m/z 428.2/430.2[M+H]<sup>+</sup>

[0301] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.82(br s,1H),7.65(d,J=7.8Hz,1H),7.54(br s,1H),7.34(d,J=8.0Hz,1H),7.19(d,J=2.3Hz,1H),7.07(td,J=7.5,1.0Hz,1H),6.98(td,J=7.5,1.0Hz,1H),4.27(br s,2H),3.49-3.70(m,4H),2.95(t,J=13.8Hz,2H),2.36(br t,J=5.8Hz,2H),1.39-1.49(m,9H)。

[0302] 步骤2 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0303] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(160mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(90mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(85mg,46%)。

[0304] UPLC-MS (酸性方法, 4分钟) :rt 2.16分钟, m/z 489.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0305] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83 (s, 1H), 9.33 (t, J=1.5Hz, 1H), 8.68 (d, J=2.8Hz, 1H), 8.24-8.38 (m, 1H), 7.60 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.34 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.30 (br s, 1H), 7.21 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.07 (td, J=7.5, 1.0Hz, 1H), 6.92-7.00 (m, 1H), 4.41 (s, 2H), 3.74-3.87 (m, 2H), 3.65 (br t, J=5.4Hz, 2H), 3.04 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.45 (br t, J=5.5Hz, 2H), 1.35-1.54 (m, 9H).

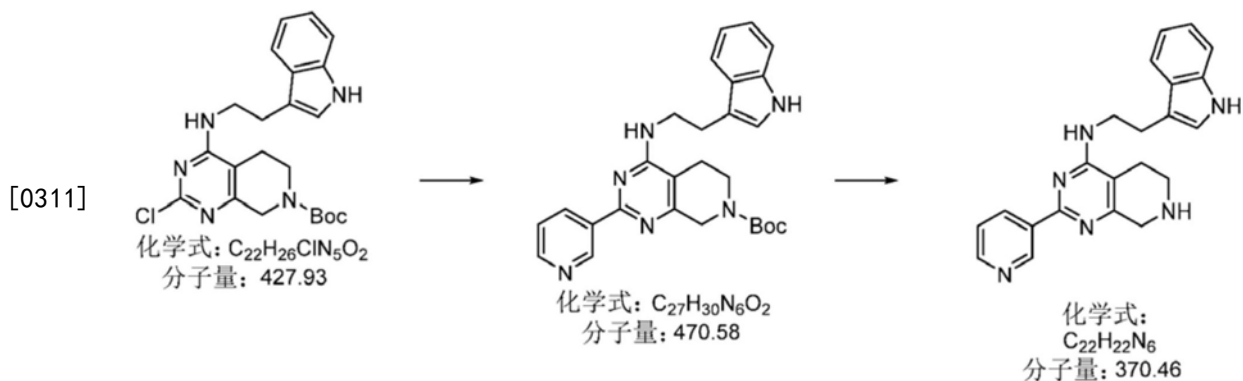
[0306] 步骤3 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0307] 向4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(80mg)于甲醇(5mL)中的溶液添加含5N HCl的IPA(5mL)。反应混合物的颜色变深。18小时后,对反应混合物进行蒸发。添加松散的SCX树脂(1g),然后加水(5mL)和甲醇(5mL)。旋转以混合约10分钟,然后装载到烧管中并且允许排干。用甲醇/水[1:1](10mL),然后用甲醇(2×10mL)对如此形成的SCX盒进行彻底洗涤。将产物以游离碱形式进行洗脱,用含7M氨的甲醇(20mL)进行洗脱。对游离碱物质进行蒸发,然后用二乙醚进行研磨并且过滤,以得到呈棕色固体形式的期望的产物(35mg, 54%)。UPLC-MS (碱性方法, 4分钟) :rt 1.61分钟, m/z 389.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0308] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.75 质子去偶

[0309] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.86 (s, 1H), 9.32 (t, J=1.5Hz, 1H), 8.67 (d, J=3.0Hz, 1H), 8.26-8.39 (m, 1H), 7.62 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.35 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.22 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.15 (br t, J=5.6Hz, 1H), 7.05-7.10 (m, 1H), 6.91-7.01 (m, 1H), 3.74-3.85 (m, 2H), 3.72 (s, 2H), 2.90-3.09 (m, 4H), 2.75-2.85 (m, 1H), 2.33 (br t, J=5.5Hz, 2H).

[0310] 实例9 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0312] 步骤1 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0313] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(200mg)和吡啶-3-硼酸(100mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(110mg, 46%)。

[0314] UPLC-MS (酸性方法, 2分钟) :rt 1.15分钟, m/z 471.2 [M+H]<sup>+</sup>

[0315] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83 (s, 1H), 9.36-9.53 (m, 1H), 8.65 (dd, J=4.8, 1.8Hz, 1H), 8.57 (dt, J=8.0, 1.9Hz, 1H), 7.60 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.45-7.53 (m, 1H), 7.35

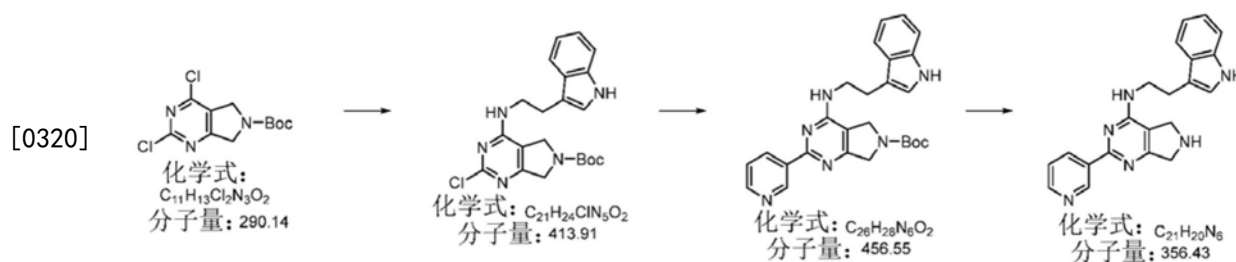
(d, J=8.3Hz, 1H), 7.22 (d, J=2.3Hz, 2H), 7.04-7.13 (m, 1H), 6.89-7.01 (m, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.76-3.85 (m, 2H), 3.65 (br t, J=5.1Hz, 2H), 3.05 (br t, J=7.5Hz, 2H), 2.45 (br t, J=5.5Hz, 2H), 1.37-1.53 (m, 9H).

[0316] 步骤2 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0317] 向4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(100mg)于甲醇(1mL)中的溶液添加含5N HCl的IPA(3mL)。反应混合物的颜色变深。18小时后,对反应混合物进行蒸发。添加松散的SCX树脂(1g),然后添加水(5mL)和甲醇(10mL)。旋转以混合约10分钟,然后装载到烧管中并且允许排干。用甲醇/水[1:1](10mL),然后用甲醇(2×10mL)对如此形成的SCX盒进行彻底洗涤。将产物以游离碱形式进行洗脱,用含7M氨的甲醇(20mL)进行洗脱。对游离碱物质进行蒸发,然后用二乙醚研磨并且过滤,以得到呈白色固体形式的期望的产物(41mg,52%)。UPLC-MS(酸性方法,4分钟): rt 1.46分钟, m/z 371.2[M+H]<sup>+</sup>

[0318] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.86 (s, 1H), 9.46 (dd, J=2.0, 0.8Hz, 1H), 8.64 (dd, J=4.8, 1.8Hz, 1H), 8.56 (dt, J=8.0, 1.9Hz, 1H), 7.61 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.48 (ddd, J=8.0, 4.8, 0.8Hz, 1H), 7.35 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.22 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.04-7.11 (m, 2H), 6.99 (td, J=7.5, 0.9Hz, 1H), 3.74-3.84 (m, 2H), 3.72 (s, 2H), 2.95-3.09 (m, 5H), 2.33 (br t, J=4.6Hz, 2H).

[0319] 实例10 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0321] 步骤1 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

[0322] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(630mg)以及激发蒸发、用水进行研磨、通过过滤收集并且在干燥器中进行干燥进行制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(900mg,定量)。Agilent LC-MS(耐酸性4分钟之后): rt 2.26分钟, m/z 414.2/416.2[M+H]<sup>+</sup>

[0323] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, 氯仿-d) δppm 8.05-8.33 (m, 1H), 7.64 (dd, J=7.9, 3.1Hz, 1H), 7.35-7.50 (m, 1H), 7.25 (q, J=6.9Hz, 1H), 7.12-7.20 (m, 1H), 7.06 (dd, J=15.2, 2.1Hz, 1H), 4.74-4.87 (m, 1H), 4.42-4.57 (m, 2H), 4.18-4.33 (m, 2H), 3.73-3.92 (m, 2H), 3.05-3.15 (m, 2H), 1.51 (d, J=1.8Hz, 9H).

[0324] 步骤2 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(吡啶-3-基)-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

[0325] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,7-二氢-6H-吡

咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(130mg)和吡啶-3-硼酸(90mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(100mg,68%)。

[0326] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.08分钟,m/z 457.2[M+H]<sup>+</sup>

[0327] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83(s,1H),9.46(s,1H),8.66(dd,J=4.8,1.5Hz,1H),8.56(ddt,J=7.9,3.9,2.0Hz,1H),7.63-7.72(m,1H),7.59(br d,J=7.8Hz,1H),7.45-7.52(m,1H),7.35(d,J=8.0Hz,1H),7.22(d,J=2.3Hz,1H),7.03-7.13(m,1H),6.99(td,J=7.4,1.0Hz,1H),4.45(br dd,J=19.2,12.9Hz,4H),3.79(q,J=6.4Hz,2H),3.05(t,J=7.4Hz,2H),1.44-1.56(m,9H)。

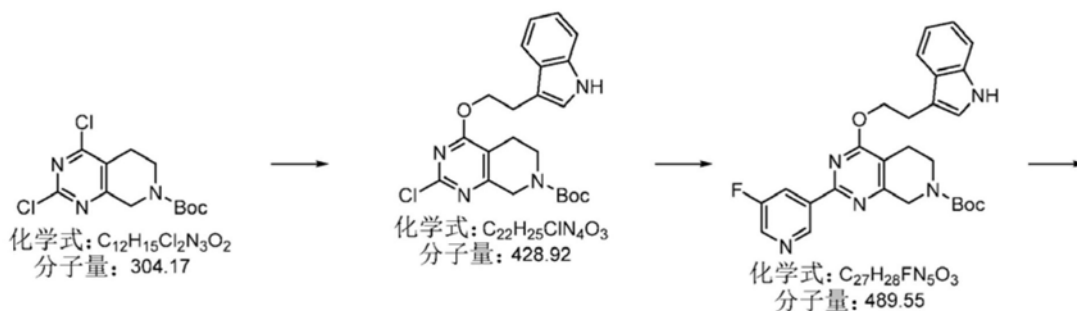
[0328] 步骤3 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0329] 向4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(吡啶-3-基)-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(70mg)于甲醇(3mL)中的溶液添加含5N HCl的IPA(5mL)。反应混合物的颜色变深,但仍不均匀。添加DCM(3mL)以帮助溶解。18小时后,对反应混合物进行蒸发,将其装载到含SCX树脂盒(1g)的甲醇/水[1:1]中。用甲醇/水[1:1](10mL),然后用甲醇(2×10mL)对SCX盒进行彻底洗涤。将产物以游离碱形式进行洗脱,用含7M氨的甲醇(20mL)进行洗脱。对游离碱物质进行蒸发,然后用二乙醚进行研磨并且过滤,以得到呈白色固体形式的期望的产物(30mg,55%)。

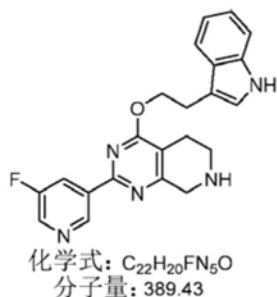
[0330] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.40分钟,m/z 357.2[M+H]<sup>+</sup>

[0331] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83(br s,1H),9.48(dd,J=2.3,0.8Hz,1H),8.65(dd,J=4.8,1.8Hz,1H),8.58(dt,J=8.2,1.8Hz,1H),7.61(d,J=7.8Hz,1H),7.49(ddd,J=7.8,4.8,0.9Hz,1H),7.30-7.41(m,2H),7.22(d,J=2.3Hz,1H),7.08(td,J=7.5,1.3Hz,1H),6.99(td,J=7.4,1.0Hz,1H),4.41-4.56(m,1H),3.92-4.07(m,4H),3.73-3.84(m,2H),3.05(t,J=7.5Hz,2H)。

[0332] 实例11 4-(2-(1H-吲哚-3-基)乙氧基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶的制备



[0333]



[0334] 步骤1 4-(2-(1H-吲哚-3-基)乙氧基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-

## 甲酸叔丁酯

[0335] 向色醇(210mg, 1.1当量)于THF(8mL)中的溶液添加含60%氢化钠的油(70mg, 1.6当量),观察到有气体逸出。10分钟后,添加2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(360mg)于THF(8mL)中的溶液。在环境温度下搅动2天。用水将反应混合物淬灭,并萃取到乙酸乙酯中。经硫酸钠对有机相进行干燥,并且然后进行蒸发,以得到浆液。使用Biotage(10g盒)进行纯化,用一定梯度的MeOH(0-5%)/DCM进行洗脱,以得到于与色醇的1:3混合物中的呈橙色树脂形式的期望的产物(140mg)。UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.33分钟,m/z 429/431[M+H]<sup>+</sup>

[0336] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 8.16(br s, 1H), 7.69(d, J=7.3Hz, 1H), 7.35-7.41(m, 1H), 7.20-7.25(m, 1H), 7.11-7.19(m, 1H), 7.05-7.10(m, 1H), 4.63-4.71(m, 2H), 4.48-4.55(m, 2H), 3.59-3.69(m, 2H), 3.22-3.31(m, 2H), 2.56-2.65(m, 2H), 1.50(s, 9H)。

[0337] 步骤2 4-(2-(1H-吡啶-3-基)乙氧基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0338] 根据通用方法B,使用4-(2-(1H-吡啶-3-基)乙氧基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯:色醇[1:3](140mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(80mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(20mg, 26%)。

[0339] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.38分钟,m/z 490.3[M+H]<sup>+</sup>

[0340] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm-125.54质子去偶

[0341] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 9.39(s, 1H), 8.57(d, J=2.5Hz, 1H), 8.53(br d, J=9.3Hz, 1H), 8.20(br s, 1H), 7.66(d, J=8.3Hz, 1H), 7.37-7.41(m, 1H), 7.21(td, J=7.5, 1.3Hz, 1H), 7.12-7.18(m, 2H), 4.81(t, J=6.8Hz, 2H), 4.61(s, 2H), 3.72(t, J=5.8Hz, 2H), 3.33(t, J=6.7Hz, 2H), 2.74(br t, J=5.5Hz, 2H), 1.54(s, 9H)。

[0342] 步骤3 4-(2-(1H-吡啶-3-基)乙氧基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶

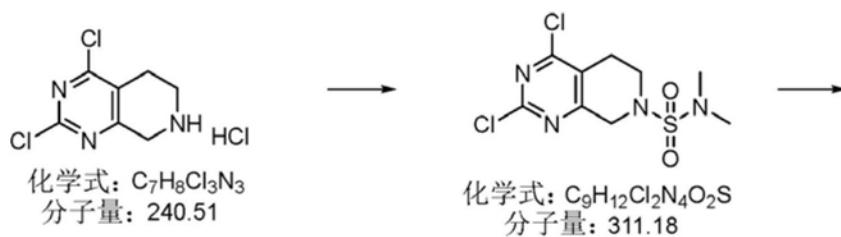
[0343] 根据通用方法C,使用4-(2-(1H-吡啶-3-基)乙氧基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(20mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(16mg, 100%)。

[0344] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.35分钟,m/z 390.2[M+H]<sup>+</sup>

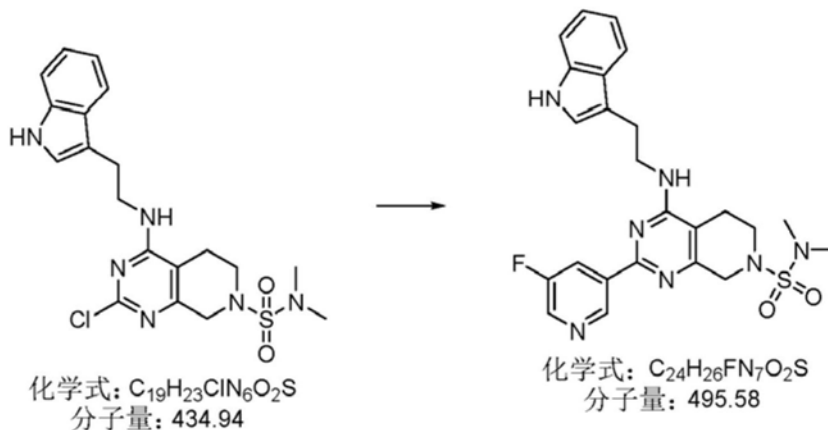
[0345] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.34质子去偶

[0346] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.88(br s, 1H), 9.31(t, J=1.6Hz, 1H), 8.70(d, J=2.9Hz, 1H), 8.29-8.41(m, 1H), 7.61(d, J=7.9Hz, 1H), 7.35(d, J=8.2Hz, 1H), 7.26(d, J=2.3Hz, 1H), 7.08(td, J=7.5, 1.1Hz, 1H), 6.99(td, J=7.5, 1.0Hz, 1H), 4.76(t, J=6.9Hz, 2H), 3.84(s, 2H), 3.22(t, J=6.9Hz, 2H), 2.97(t, J=5.8Hz, 2H), 2.53(br s, 2H)。未看到可交换的1H。

[0347] 实例12 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-磺酰胺的制备



[0348]



[0349] 步骤1 2,4-二氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-磺酰胺

[0350] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(100mg,1当量)于DCM(1mL)中的悬浮液添加三乙胺(115 $\mu$ L,2当量)。搅动几分钟后,添加二甲基氨磺酰氯(70 $\mu$ L,1.5当量)。混合物变得混浊。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并且蒸发,以得到呈固体形式的期望的产物(130mg,100%)。

[0351] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.93分钟,m/z 311/313[M+H]<sup>+</sup>

[0352] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d)  $\delta$ ppm 4.39(s,2H),3.57-3.64(m,2H),2.90-2.95(m,2H),2.86(s,6H)。

[0353] 步骤2 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-磺酰胺

[0354] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-磺酰胺(130mg)制备,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱10g,洗脱液己烷-EtOAc,5%到30%到50%)之后得到呈白色固体形式的期望的产物(107mg,59%)。

[0355] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.03分钟,m/z 435[M+H]<sup>+</sup>

[0356] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d)  $\delta$ ppm 8.04-8.22(m,1H),7.60-7.65(m,1H),7.38-7.44(m,1H),7.21-7.26(m,1H),7.11-7.17(m,1H),7.05-7.08(m,1H),4.79-4.88(m,1H),4.19(s,2H),3.81-3.89(m,2H),3.48-3.54(m,2H),3.07-3.14(m,2H),2.84(s,6H),2.17-2.25(m,2H)

[0357] 步骤3 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-磺酰胺

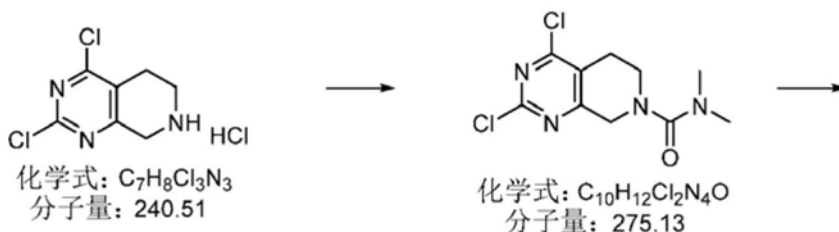
[0358] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-磺酰胺(105mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(60mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(66mg,62%)。

[0359] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.71分钟,m/z 496.2[M+H]<sup>+</sup>

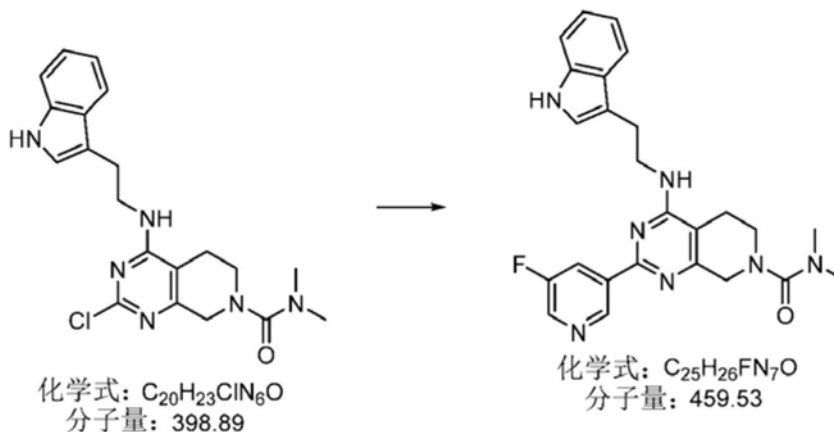
[0360]  $^{19}\text{F}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$ -127.63 质子去偶

[0361]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  10.83 (s, 1H), 9.33 (t,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H), 8.68 (d,  $J=2.9\text{Hz}$ , 1H), 8.26-8.44 (m, 1H), 7.60 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 7.29-7.41 (m, 2H), 7.22 (d,  $J=2.1\text{Hz}$ , 1H), 7.08 (td,  $J=7.6, 1.1\text{Hz}$ , 1H), 6.98 (td,  $J=7.4, 1.0\text{Hz}$ , 1H), 4.27 (s, 2H), 3.73-3.87 (m, 2H), 3.58 (t,  $J=5.8\text{Hz}$ , 2H), 3.05 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.77-2.86 (s, 6H), 2.52-2.56 (m, 2H)

[0362] 实例13 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺的制备



[0363]



[0364] 步骤1 2,4-二氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺

[0365] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(100mg, 1当量)于DCM(1mL)中的悬浮液添加三乙胺(115 $\mu\text{L}$ , 2当量)。搅动几分钟后,添加二甲基氨基甲酰氯(80 $\mu\text{L}$ , 1.5当量)。混合物变得混浊。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并且蒸发,以得到呈淡橙色油形式的期望的产物(115mg, 100%)。

[0366] UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): rt 0.84分钟,  $m/z$  275/277  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0367]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ -d)  $\delta_{\text{ppm}}$  4.42 (s, 2H), 3.53 (s, 2H), 2.88 (m, 8H) .

[0368] 步骤2 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺

[0369] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺(114mg)制备,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱4g,洗脱液己烷-EtOAc,50%到100%)之后得到呈泡沫形式的期望的产物(137mg, 83%)。

[0370] UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): rt 0.97分钟,  $m/z$  399/401  $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0371]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ -d)  $\delta_{\text{ppm}}$  7.99-8.20 (m, 1H), 7.61-7.67 (m, 1H), 7.36-7.43 (m, 1H), 7.19-7.26 (m, 1H), 7.10-7.17 (m, 1H), 7.03-7.08 (m, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.84 (d,  $J=$

5.8Hz, 1H), 3.58 (d, J=5.6Hz, 1H), 3.42-3.48 (m, 1H), 3.07-3.13 (m, 1H), 2.97-3.03 (m, 1H), 2.80-2.87 (m, 6H), 2.19-2.25 (m, 1H), 1.23-1.30 (m, 1H) .

[0372] 步骤3 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺

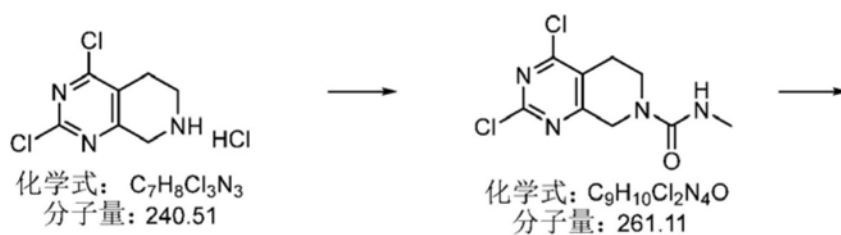
[0373] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-N,N-二甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺(135mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(60mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(30mg,20%)。

[0374] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.44分钟,m/z 460.3[M+H]<sup>+</sup>

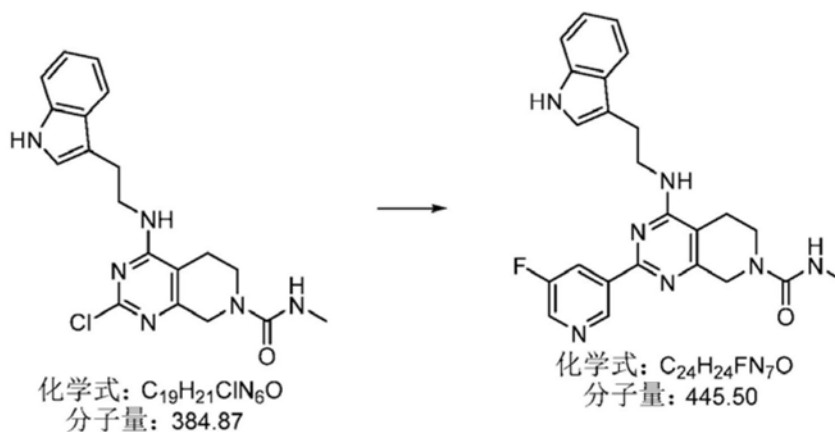
[0375] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.71质子去偶

[0376] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83 (s, 1H), 9.33 (t, J=1.6Hz, 1H), 8.67 (d, J=2.9Hz, 1H), 8.28-8.39 (m, 1H), 7.60 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.35 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.26 (t, J=5.7Hz, 1H), 7.22 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.07 (td, J=7.6, 1.1Hz, 1H), 6.94-7.03 (m, 1H), 4.22 (s, 2H), 3.75-3.87 (m, 2H), 3.46 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.04 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.81 (s, 6H) 2H在DMSO下。

[0377] 实例14 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-N-甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺的制备



[0378]



[0379] 步骤1 2,4-二氯-N-甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺

[0380] 向2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(100mg,1当量)于DCM(1mL)中的悬浮液添加三乙胺(120μL,2当量)。搅动几分钟后,添加N-甲基氨基甲酰氯(40mg,1.5当量)。混合物变得混浊。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并且蒸发,以得到呈淡黄色泡沫形式的期望的产物(98mg,91%)。

[0381] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.75分钟,m/z 261/263[M+H]<sup>+</sup>

[0382] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 4.69-4.80 (m, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.73 (s, 2H), 2.85

(d, J=4.5Hz, 5H) .

[0383] 步骤2 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-N-甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺

[0384] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-N-甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺(98mg)制备,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱10g,洗脱液DCM-MeOH,0%到5%到20%),然后于DCM中进行研磨之后得到呈固体形式的期望的产物(74mg,51%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.91分钟,m/z 385[M+H]<sup>+</sup>

[0385] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.74-10.87 (m, 1H), 7.61-7.68 (m, 1H), 7.45-7.54 (m, 1H), 7.31-7.36 (m, 1H), 7.14-7.21 (m, 1H), 7.02-7.10 (m, 1H), 6.94-7.01 (m, 1H), 6.58-6.68 (m, 1H), 4.18-4.30 (m, 2H), 3.49-3.66 (m, 4H), 2.89-3.00 (m, 2H), 2.56-2.63 (m, 3H), 2.27-2.36 (m, 2H) .

[0386] 步骤3 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-N-甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺

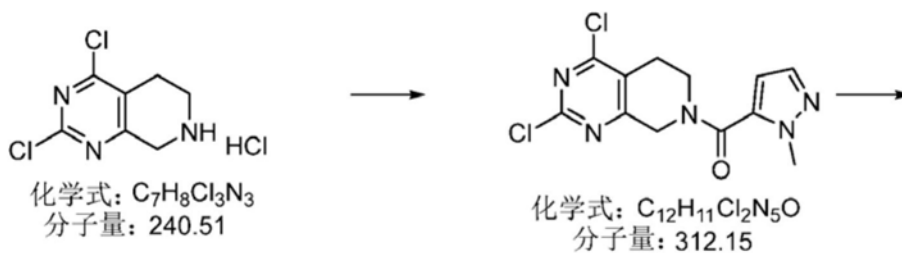
[0387] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-N-甲基-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酰胺(70mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(50mg)制备,以得到呈灰白色固体形式的期望的产物(48mg,62%)。

[0388] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.44分钟,m/z 446.3[M+H]<sup>+</sup>

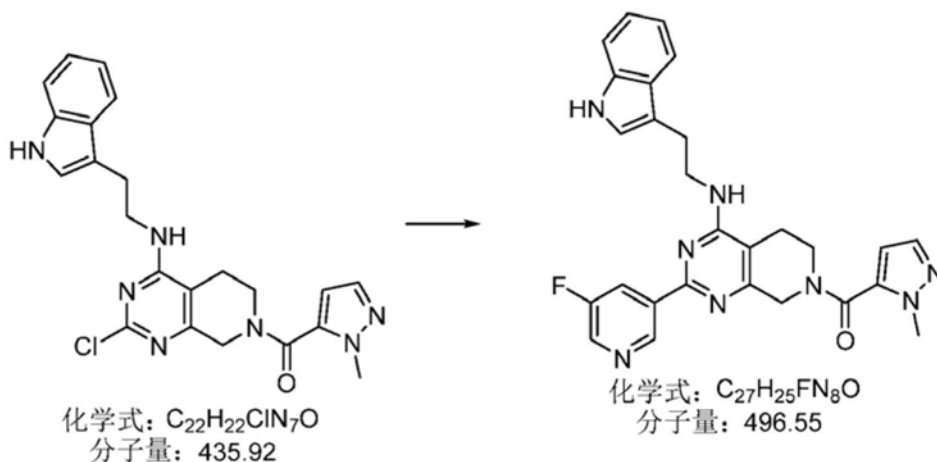
[0389] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.64质子去偶

[0390] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83 (s, 1H), 9.33 (t, J=1.6Hz, 1H), 8.68 (d, J=2.9Hz, 1H), 8.26-8.41 (m, 1H), 7.60 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.34 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.28 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.21 (d, J=2.3Hz, 1H), 7.07 (td, J=7.6, 1.1Hz, 1H), 6.97 (td, J=7.4, 1.0Hz, 1H), 6.68 (q, J=3.9Hz, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.73-3.87 (m, 2H), 3.63 (t, J=5.6Hz, 2H), 3.04 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.61 (d, J=4.4Hz, 3H), 2.42 (br t, J=5.5Hz, 2H) .

[0391] 实例15 (4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)(1-甲基-1H-吡啶-5-基)甲酮的制备



[0392]



[0393] 步骤1 (2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基) (1-甲基-1H-吡唑-5-基) 甲酮

[0394] 在环境温度下在 $N_2$ 气氛下将2-甲基-2H-吡唑-3-甲酸(105mg, 1当量)、CDI(200mg, 1.5当量)于DCM(10mL)中的悬浮液搅动1小时。然后,添加2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(200mg, 1当量)和三乙基胺(175 $\mu$ L, 1.5当量),并且过夜搅动反应混合物。完成之后(反应通过UPLC分析监测),添加DCM,然后添加水。然后经硫酸钠对有机相进行干燥、过滤并且蒸发,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱10g, 洗脱液DCM-MeOH, 0%到5%)之后得到呈白色固体形式的期望的产物(208mg, 以粗产物形式呈现)。通过UPLC看到两个具有相同质量的峰。

[0395] UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): rt 0.84分钟和0.88分钟,  $m/z$  312/314[M+H]<sup>+</sup>

[0396] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,  $CDCl_3$ -d)  $\delta$ ppm

[0397] 步骤2 (4-((2-(1H-吡唑-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基) (1-甲基-1H-吡唑-5-基) 甲酮

[0398] 根据通用方法A, 使用(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基) (1-甲基-1H-吡唑-5-基) 甲酮(200mg)制备, 以在使用Biotage进行纯化(Telos柱10g, 洗脱液DCM-MeOH, 0%到5%)之后得到呈黄色泡沫形式的期望的产物(150mg, 以粗产物形式呈现)。UPLC-MS(酸性方法, 2分钟): rt 0.96分钟,  $m/z$  436[M+H]<sup>+</sup>

[0399] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,  $CDCl_3$ -d)  $\delta$ ppm 8.32(br s, 1H), 7.56-7.63(m, 1H), 7.44-7.52(m, 1H), 7.36-7.42(m, 1H), 7.18-7.25(m, 1H), 7.08-7.16(m, 1H), 7.04-7.08(m, 1H), 4.59-4.76(m, 2H), 3.75-4.05(m, 7H), 3.04-3.15(m, 2H), 2.12-2.37(m, 2H) 未看到可交换的2H

[0400] 步骤3 (4-((2-(1H-吡唑-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基) (1-甲基-1H-吡唑-5-基) 甲酮

[0401] 根据通用方法B, 使用(4-((2-(1H-吡唑-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶

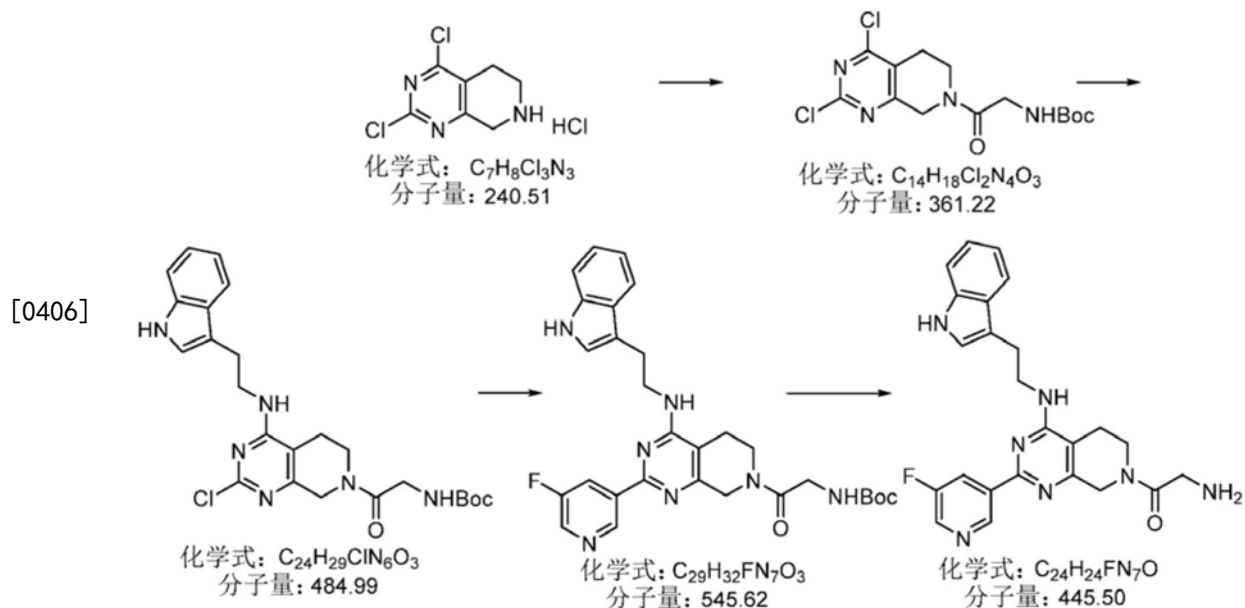
[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基(1-甲基-1H-吡唑-5-基)甲酮(150mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(90mg)制备。将其分离并放回3次以实现完全转化,以得到呈白色固体形式的期望的产物(6mg, 4%)。

[0402] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.69分钟,m/z 497.3[M+H]<sup>+</sup>

[0403] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.62质子去偶

[0404] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.84(s,1H),9.23-9.40(m,1H),8.68(br s,1H),8.25-8.42(m,1H),7.60(d,J=7.9Hz,1H),7.54(d,J=1.8Hz,1H),7.29-7.43(m,2H),7.23(d,J=2.3Hz,1H),7.04-7.10(m,1H),6.95-7.01(m,1H),6.54-6.68(m,1H),4.56-4.76(m,2H),3.71-4.01(m,7H),3.05(br t,J=7.5Hz,2H),2.56(br s,2H)。

[0405] 实例16 1-(4-((2-(1H-吡唑-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氨基乙-1-酮的制备



[0407] 步骤1 (2-(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯

[0408] 向反应小瓶装入2,4-二氯-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶盐酸盐(200mg,1当量)、BocGlyOH(146mg,1当量)、Et<sub>3</sub>N(120μL,1.1当量)和DCM(4mL)。向此悬浮液缓慢添加T3P(含50%的EtOAc)(500μL,2当量),并在40℃下对反应混合物加热。完成后(反应通过UPLC分析监测),添加EtOAc,然后添加水。然后用盐水对有机相进行洗涤,并且经硫酸钠进行干燥、过滤并且蒸发,以得到呈黄色泡沫形式的期望的产物(415mg,92%)。在下一阶段,产物在不进行进一步纯化的情况下使用。

[0409] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.03分钟,m/z 305/307(-tBu)261(-Boc)[M+H]<sup>+</sup>

[0410] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 5.34-5.52(m,1H),4.83(s,1H),4.61(s,1H),3.88-4.12(m,3H),3.67-3.81(m,1H),2.80-2.99(m,2H),1.44-1.48(m,9H)

[0411] 步骤2 (2-(4-((2-(1H-吡唑-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯

[0412] 根据通用方法A,使用(2-(2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯(415mg)制备,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱20g,洗脱液DCM-

MeOH,0%到5%)之后得到呈黄色泡沫形式的期望的产物(246mg)。还分离出含有产物和对应区域异构体(20%)的另一批(236)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.10分钟,m/z 485/487[M+H]<sup>+</sup>

[0413] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 8.11-8.27(m,1H),7.54-7.65(m,1H),7.40(br d,J=8.2Hz,1H),7.23(s,1H),7.09-7.17(m,1H),7.06(d,J=2.0Hz,1H),5.32-5.57(m,1H),4.72-4.94(m,1H),4.59(s,1H),4.35(s,1H),3.93-4.04(m,2H),3.74-3.90(m,3H),3.49-3.59(m,1H),3.10(s,2H),2.13(s,2H),1.46(s,9H)。

[0414] 步骤3(2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯

[0415] 根据通用方法B,使用(2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯(240mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(140mg)制备,以得到呈棕褐色固体形式的期望的产物(170mg,62%)。

[0416] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.83分钟,m/z 546.2[M+H]<sup>+</sup>

[0417] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.64质子去偶

[0418] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.78-10.87(m,1H),9.30-9.35(m,1H),8.64-8.70(m,1H),8.28-8.36(m,1H),7.58(s,1H),7.34(d,J=8.0Hz,2H),7.21(d,J=2.3Hz,1H),7.07(s,1H),6.93-7.00(m,1H),6.78-6.88(m,1H),4.51(br s,2H),3.86-3.98(m,2H),3.71-3.85(m,4H),3.34-3.44(m,2H),2.99-3.09(m,2H),1.39(s,9H)

[0419] 步骤4 1-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氨基乙-1-酮

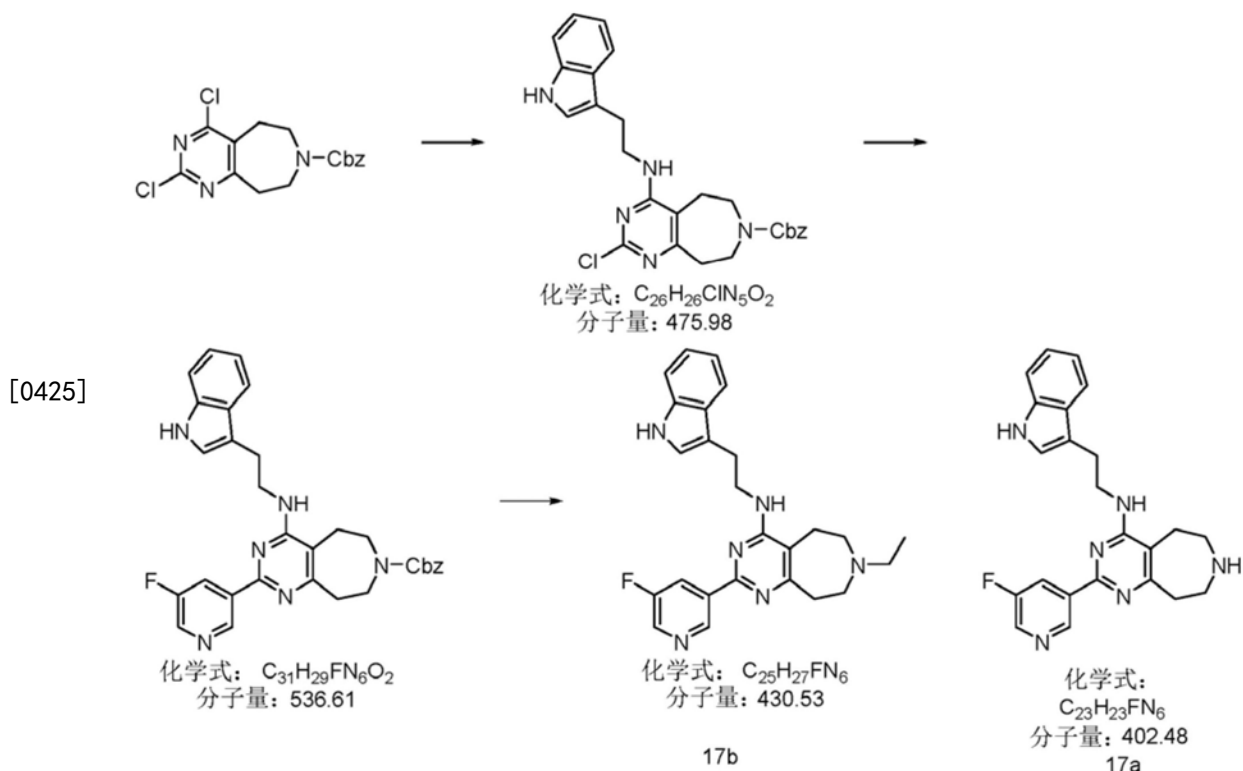
[0420] 根据通用方法C,使用(2-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-基)-2-氧乙基)氨基甲酸叔丁酯(160mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(58mg,50%)。

[0421] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.25分钟,m/z 446.3[M+H]<sup>+</sup>

[0422] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.64质子去偶

[0423] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.75-10.90(m,1H),9.28-9.38(m,1H),8.62-8.71(m,1H),8.27-8.38(m,1H),7.54-7.63(m,1H),7.26-7.39(m,2H),7.17-7.24(m,1H),7.02-7.11(m,1H),6.92-7.00(m,1H),4.53(br s,2H),3.62-3.85(m,4H),3.41-3.53(m,2H),2.98-3.08(m,2H),2.37-2.46(m,1H),1.64-1.94(m,2H)未看到可交换的1H。

[0424] 实例17 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺(实例17a)和N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-乙基-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺(实例17b)两者的制备



[0426] 步骤1 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,6,8,9-四氢-7H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-7-甲酸苄酯

[0427] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-5,6,8,9-四氢-7H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-7-甲酸苄酯(270mg)制备,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱10g,洗脱液己烷-EtOAc,10%到50%到70%)之后得到呈白色固体形式的期望的产物(227mg,以粗产物形式呈现)和对应区域异构体。

[0428] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.12(78%)分钟和1.19(21%)分钟,m/z 476/478 [M+H]<sup>+</sup>

[0429] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.72-10.86(m,1H),7.59-7.70(m,1H),7.42-7.54(m,1H),7.25-7.41(m,6H),7.13-7.20(m,1H),7.02-7.10(m,1H),6.93-7.02(m,1H),5.10(s,2H),3.46-3.69(m,6H),2.85-3.01(m,4H),2.62-2.73(m,2H)

[0430] 步骤2 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,8,9-四氢-7H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-7-甲酸苄酯

[0431] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,6,8,9-四氢-7H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-7-甲酸苄酯(227mg)制备,以得到呈干燥膜形式的期望的产物(80mg,30%)。UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.12分钟,m/z 537.2[M+H]<sup>+</sup>

[0432] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm:9.42(br s,1H),8.52-8.69(m,1H),8.14-9.00(m,3H),7.51-7.68(m,1H),7.31-7.47(m,7H),7.00-7.26(m,3H),5.06-5.29(m,2H),3.95-4.09(m,2H),3.76-3.93(m,2H),3.40-3.91(m,4H),3.12-3.30(m,2H),2.45-2.70(m,2H)

[0433] 步骤3 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-乙基-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺和N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺

[0434] 在氮气下,将含碳(20mg)的乙醇(2mL)上的10%的钯的浆液添加到4-((2-(1H-吡

啉-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,8,9-四氢-7H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-7-甲酸苄酯(60mg)于THF中(2mL)和乙醇(8mL)的溶液。在1个大气压下,对混合物进行氢化,持续24小时。通过硅藻土塞对催化剂进行过滤,并且用另外的乙醇彻底洗涤。将滤液蒸发至最小体积,并且在重力下将其直接装载到SCX盒(0.5g)上。用甲醇(10mL)对盒进行洗涤,并且然后用含7M氨的甲醇(10mL)对其进行洗脱。对洗脱的级分进行蒸发。在二氧化硅上进行纯化(4g盒),用一定梯度的含7M氨的甲醇(0-10%)/DCM进行洗脱,得到N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺(8mg,18%)和N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-乙基-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺(18mg,40%)。

[0435] N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺(实例17a)的数据

[0436] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.20分钟,m/z 403.3[M+H]<sup>+</sup>

[0437] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.80质子去偶

[0438] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm:10.83(br s,1H),9.34(t,J=1.6Hz,1H),8.66(d,J=2.9Hz,1H),8.26-8.41(m,1H),7.59(d,J=7.9Hz,1H),7.35(d,J=8.0Hz,1H),7.24(t,J=5.5Hz,1H),7.20(d,J=2.3Hz,1H),7.04-7.11(m,1H),6.92-7.02(m,1H),3.69-3.81(m,2H),2.99-3.09(m,2H),2.92-2.99(m,2H),2.82-2.89(m,2H),2.70-2.81(m,4H)(未看到可交换的1H)。

[0439] N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-乙基-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7,8,9-四氢-5H-嘧啶并[4,5-d]氮杂-4-胺(实例17b)的数据

[0440] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.25分钟,m/z 431.3[M+H]<sup>+</sup>

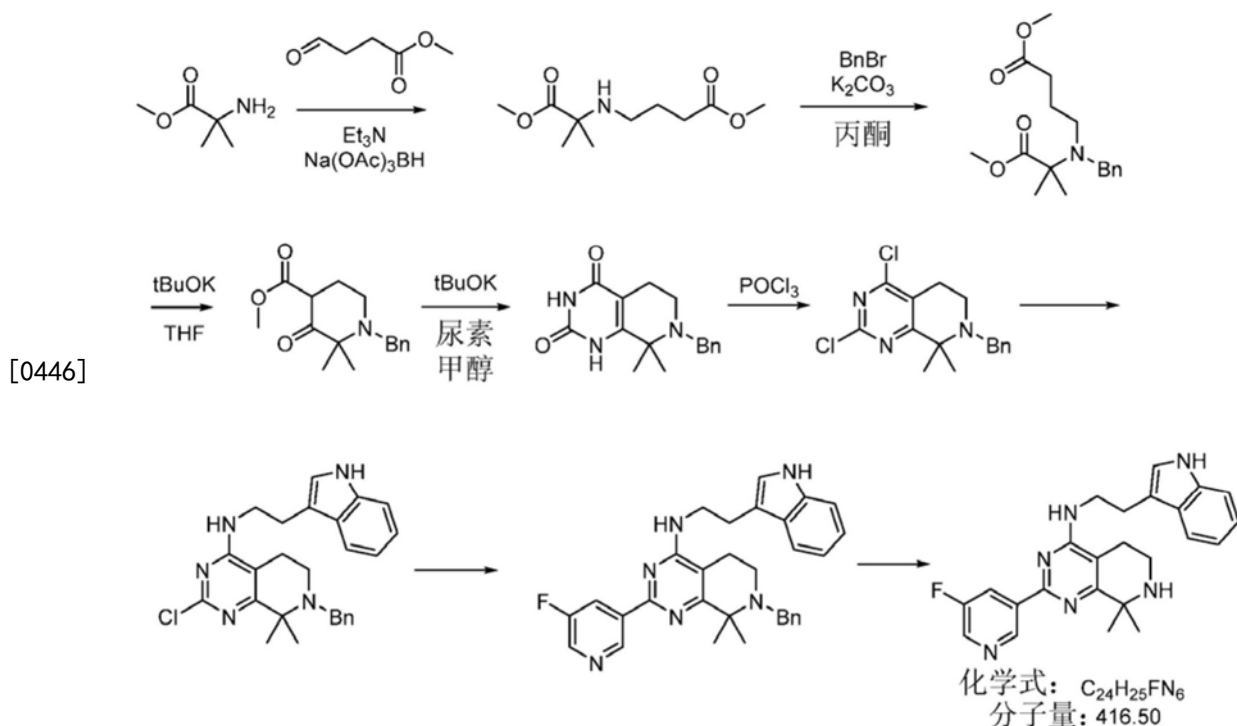
[0441] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.78质子去偶

[0442] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm:10.83(s,1H),9.34(t,J=1.6Hz,1H),8.66(d,J=2.9Hz,1H),8.26-8.39(m,1H),7.58(d,J=7.9Hz,1H),7.34(d,J=8.0Hz,1H),7.29(t,J=5.5Hz,1H),7.20(d,J=2.1Hz,1H),7.07(td,J=7.5,1.1Hz,1H),6.93-7.03(m,1H),3.66-3.85(m,2H),2.99-3.08(m,2H),2.91-2.99(m,2H),2.70-2.79(m,2H),2.57-2.66(m,2H),2.53(br d,J=3.4Hz,2H),2.49(br s,2H),1.03(t,J=7.2Hz,3H)

[0443] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>-d) δppm-127.82质子去偶

[0444] <sup>1</sup>H NMR(CDC1<sub>3</sub>-d) δppm:9.46(t,J=1.6Hz,1H),8.55(d,J=2.9Hz,1H),8.35-8.42(m,1H),8.22(br s,1H),7.60(d,J=7.9Hz,1H),7.42(d,J=8.2Hz,1H),7.23(td,J=7.6,1.1Hz,1H),7.05-7.16(m,2H),5.09(br s,1H),3.96(q,J=6.4Hz,2H),2.54-3.47(m,12H),1.23-1.51(m,3H)。

[0445] 实例18 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-(5-氟吡啶-3-基)-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(实例18a)和N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(实例18b)的制备。



[0447] 步骤1:4-((1-甲氧基-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基)丁酸甲酯

[0448] 在室温下搅动2-氨基-2-甲基丙酸甲酯(500mg, 3.25mmol)于二氯乙烷中的溶液,然后在 $N_2$ 下添加三乙基胺(1.6当量, 5.2mmol)、 $Na(OAc)_3BH$ (2.5当量, 8.1mmol)和4-氧代丁酸甲酯(0.9当量, 2.9mmol),并且在室温下搅动所产生的混合物,持续18小时。用 $NaHCO_3$ 溶液将反应混合物淬灭,持续30分钟,然后用DCM提取水性溶液两次。经 $Na_2SO_4$ 对有机溶液进行干燥,并且在减压下对其进行蒸发。使用含乙酸乙酯的己烷作为流动相,通过硅胶上柱色谱对粗产物进行纯化,以得到呈微黄色油形式的4-((1-甲氧基-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基)丁酸甲酯(0.466g, 74%)。UPLC-MS(碱性方法, 2分钟):rt 0.84分钟,  $m/z$  218.2  $[M+H]^+$

[0449]  $^1H$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm: 3.60 (s, 3H), 3.57 (s, 3H), 2.29-2.39 (m, 4H), 1.54-1.64 (m, 2H), 1.17 (t,  $J=7.0$ Hz, 6H)

[0450] 步骤2:4-(苄基(1-甲氧基-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基)丁酸甲酯

[0451] 在室温下在 $N_2$ 下搅动4-((1-甲氧基-2-甲基-1-氧代丙-2-基)氨基)丁酸甲酯(466mg, 2.15mmol)于丙酮中的溶液并且对其脱气,然后添加碳酸钾(1.2当量, 2.6mmol)和苄基溴(1.5当量, 3.2mmol),并且在70 $^\circ C$ 下搅动所产生的混合物,持续72小时。在减压下对溶剂进行蒸发,并在水中稀释残余物并且用EtOAc萃取两次。用盐水对有机溶液进行洗涤,经 $Na_2SO_4$ 进行干燥,并且在减压下进行蒸发。使用含乙酸乙酯的己烷作为流动相,通过硅胶上柱色谱对粗产物进行纯化,以得到呈微黄色油形式的4-(苄基(1-甲氧基-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基)丁酸甲酯(0.59g, 89%)。UPLC-MS(碱性方法, 2分钟):rt 1.26分钟,  $m/z$  308.1  $[M+H]^+$

[0452]  $^1H$  NMR(400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ ppm: 7.32-7.38 (m, 2H), 7.29 (t,  $J=7.6$ Hz, 2H), 7.18 (s, 1H), 3.74 (s, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 2.53-2.59 (m, 2H), 2.16 (t,  $J=7.2$ Hz, 2H), 1.39 (quin,  $J=7.3$ Hz, 2H), 1.28 (s, 6H)

[0453] 步骤3:1-苄基-2,2-二甲基-3-氧代哌啶-4-甲酸甲酯

[0454] 在室温下将4-(苄基(1-甲氧基-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氨基)丁酸甲酯(590mg, 1.92mmol)于THF中的溶液与叔丁醇钾(2.0当量, 3.84mmol)一起搅动,持续1小时。用NaHCO<sub>3</sub>溶液将反应混合物淬灭30分钟,并且用EtOAc萃取两次。用盐水对有机溶液进行洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>进行干燥,并且在减压下进行蒸发。使用含乙酸乙酯的己烷作为流动相,通过硅胶上柱色谱对粗产物进行纯化,以得到呈油形式的1-苄基-2,2-二甲基-3-氧代哌啶-4-甲酸甲酯(0.4g, 76%) (通过UPLCMS,纯度为85%)。

[0455] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.41分钟,m/z 276.2[M+H]<sup>+</sup>

[0456] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm:7.25-7.37(m, 6H), 3.71(s, 3H), 3.65(s, 1H), 2.44(s, 3H), 2.05-2.10(m, 2H), 1.33(s, 6H)

[0457] 步骤4:7-苄基-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮

[0458] 向1-苄基-2,2-二甲基-3-氧杂哌啶-4-甲酸甲酯(400mg, 1.45mmol)于乙醇中的溶液添加叔丁醇钾(2.5当量, 3.64mmol)和尿素(2.5当量, 3.64mmol),并且在回流下搅动所产生的混合物,持续18小时。用水淬灭反应混合物,并且在减压下对溶剂进行蒸发。在水中稀释残余物并且用EtOAc萃取两次。用盐水对有机溶液进行洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>进行干燥,并且在减压下进行蒸发。使用含乙酸乙酯的己烷作为流动相,通过硅胶上柱色谱对粗产物进行纯化,以得到呈油形式的7-苄基-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(0.2g, 48%) (通过UPLCMS,纯度80%)。UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 0.95分钟,m/z 286.2[M+H]<sup>+</sup>

[0459] 未报道有NMR。

[0460] 步骤5:7-苄基-2,4-二氯-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶

[0461] 在N<sub>2</sub>下在85°C下在催化性DMF的存在下搅动7-苄基-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(200mg, 0.7mmol)于POCl<sub>3</sub>中的溶液(30体积, 3.65mL),持续18小时。通过缓慢添加水淬灭反应混合物,并搅动15分钟。用EtOAc将水性溶液萃取3次,然后用NaHCO<sub>3</sub>溶液将有机溶液洗涤两次并且用盐水洗涤一次。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>对有机溶液进行干燥并且在减压下进行蒸发,以得到呈黄色油形式的7-苄基-2,4-二氯-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶(44mg, 20%) (通过UPLCMS,纯度87%)。

[0462] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.46分钟,m/z 322.1[M+H]<sup>+</sup>

[0463] 步骤6:N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-氯-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(通用方法A)

[0464] 根据通用方法A,使用7-苄基-2,4-二氯-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶(44mg)制备,以得到呈棕色树胶形式的N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-氯-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(48mg, 77%) (通过UPLCMS,纯度67%, 26%色胺仍存在)。

[0465] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.43分钟,m/z 446.2[M+H]<sup>+</sup>

[0466] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm:10.81(br s, 1H), 7.27-7.35(m, 6H), 6.92-7.09(m, 5H), 3.67(s, 2H), 3.53-3.63(m, 2H), 2.91-2.97(m, 2H), 2.84-2.91(m, 2H), 2.77-2.84(m, 2H), 1.39(s, 6H)

[0467] 步骤7:N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-(5-氟吡啶-3-基)-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(实例18a)

[0468] 根据通用方法B,使用N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-氯-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(48mg)制备,以得到呈泡沫形式的N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-(5-氟吡啶-3-基)-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(48mg,77%)。

[0469] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.39分钟,m/z 507.3[M+H]<sup>+</sup>

[0470] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.78质子去偶

[0471] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm:10.82(s,1H),9.39(t,J=1.6Hz,1H),8.67(d,J=2.9Hz,1H),8.36-8.41(m,1H),7.60(d,J=7.8Hz,1H),7.31-7.42(m,5H),7.18-7.31(m,2H),7.04-7.12(m,2H),6.91-7.04(m,1H),3.74-3.83(m,2H),3.72(s,2H),2.98-3.07(m,2H),1.51(s,6H)

[0472] 步骤8:N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(实例18b)

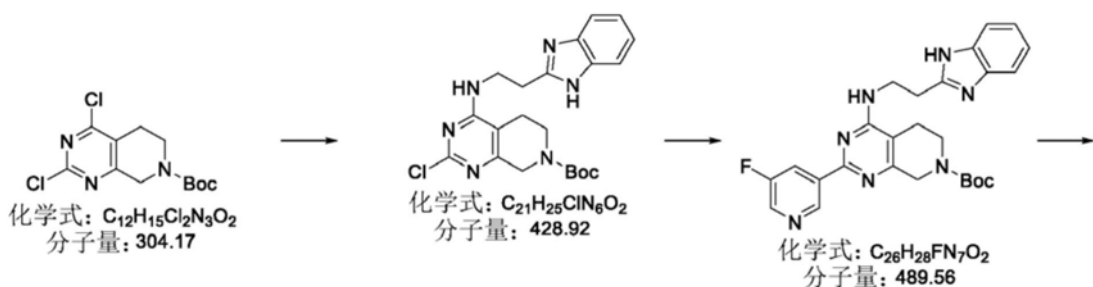
[0473] 在氮气下,将含碳(20mg)的乙醇(2mL)上的10%的钯的浆液添加到N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-7-苄基-2-(5-氟吡啶-3-基)-8,8-二甲基-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺(22mg)于THF(2mL)中和乙醇(8mL)的溶液。在1个大气压下,对混合物进行氢化,持续24小时。通过硅藻土塞对催化剂进行过滤,并且用另外的乙醇彻底洗涤。将滤液蒸发至干燥。在二氧化硅(4g盒)上进行纯化,用一定梯度的含7M氨的甲醇(0-5%)/DCM进行洗脱,得到呈无色玻璃形式的产物(8mg,44%)。

[0474] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.43分钟,m/z 417.3[M+H]<sup>+</sup>

[0475] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.84质子去偶

[0476] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm:10.83(s,1H),9.36(t,J=1.6Hz,1H),8.66(d,J=2.9Hz,1H),8.29-8.43(m,1H),7.62(d,J=7.9Hz,1H),7.35(d,J=8.0Hz,1H),7.22(d,J=2.3Hz,1H),7.02-7.12(m,2H),6.98(td,J=7.4,0.9Hz,1H),3.66-3.91(m,2H),3.01-3.08(m,2H),2.98(br t,J=5.7Hz,2H),2.30-2.40(m,2H),1.39(s,6H)(未看到可交换的1H)。

[0477] 实例19 N-(2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0478]



[0479] 步骤1 4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]咪啉-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0480] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]咪啉-7(6H)-甲酸叔丁酯(300mg)和2-(1H-2-苯甲咪唑基)-乙基胺(160mg,1当量)制备,以在使用Biotage进行纯化(Telos柱20g,洗脱液DCM-MeOH,0%到5%)之后得到呈黄色固体形式的期望的产物(226mg,53%)和对应区域异构体(8%)。

[0481] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.86分钟,m/z 429/431[M+H]<sup>+</sup>

[0482] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 7.48-7.65(m,2H),7.22-7.27(m,2H),4.37-4.47(m,2H),3.99-4.10(m,2H),3.63-3.73(m,2H),3.19-3.27(m,2H),2.34-2.47(m,2H),1.41-1.49(m,9H)(未看到可交换的2H)。

[0483] 步骤2 4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]咪啉-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0484] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]咪啉-7(6H)-甲酸叔丁酯(220mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(140mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(130mg,50%)。

[0485] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.90分钟,m/z 490.2[M+H]<sup>+</sup>

[0486] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.69质子去偶

[0487] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 12.23-12.31(m,1H),9.29-9.36(m,1H),8.63-8.69(m,1H),8.35-8.44(m,1H),7.49-7.57(m,1H),7.31-7.43(m,2H),7.04-7.15(m,2H),4.35-4.46(m,2H),3.91-4.02(m,2H),3.59-3.70(m,2H),3.18-3.22(m,2H),2.40-2.47(m,2H),1.41-1.49(m,9H)

[0488] 步骤3 N-(2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]咪啉-4-胺

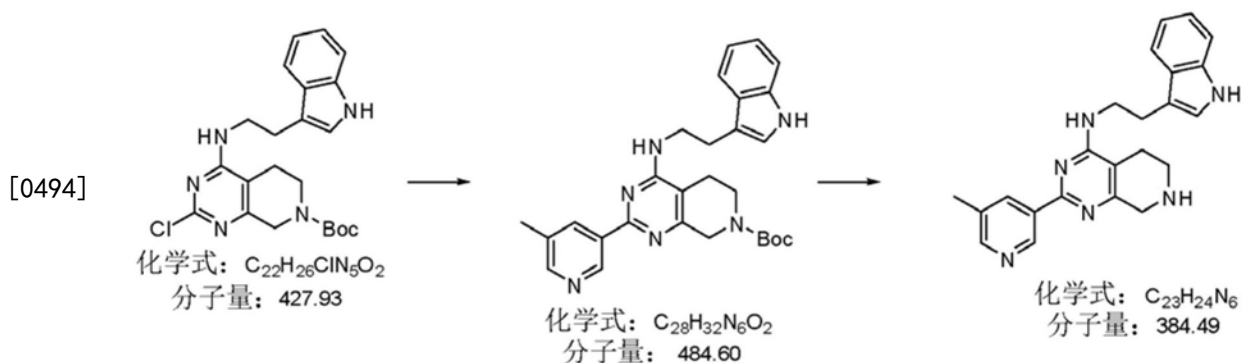
[0489] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]咪啉-7(6H)-甲酸叔丁酯(120mg)制备,以得到期望的产物(70mg,73%)。

[0490] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.22分钟,m/z 390.2[M+H]<sup>+</sup>

[0491] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.81质子去偶

[0492] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 12.17-12.35(m,1H),9.28-9.37(m,1H),8.61-8.67(m,1H),8.33-8.42(m,1H),7.47-7.59(m,1H),7.33-7.45(m,1H),7.15-7.23(m,1H),7.05-7.14(m,2H),3.96(br d,J=5.9Hz,2H),3.71(s,2H),3.19(t,J=7.2Hz,2H),2.98(t,J=5.7Hz,2H),2.68-2.92(m,1H),2.28-2.38(m,2H)。

[0493] 实例20 N-(2-(1H-咪唑-3-基)乙基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]咪啉-4-胺的制备



[0495] 步骤1 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0496] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(180mg)和5-甲基吡啶-3-硼酸(100mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(60mg,30%)。

[0497] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.66分钟,m/z 485.3[M+H]<sup>+</sup>

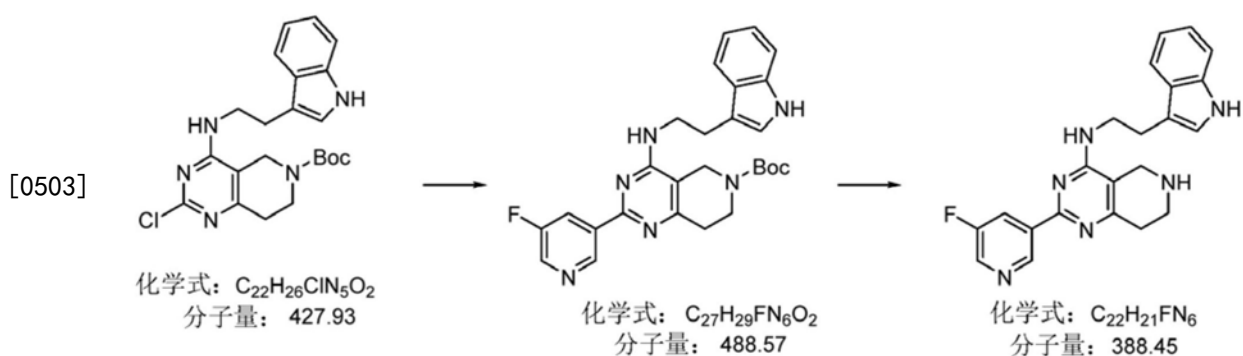
[0498] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.80-10.88(m,1H),9.24-9.32(m,1H),8.46-8.52(m,1H),8.36-8.43(m,1H),7.57-7.63(m,1H),7.32-7.38(m,1H),7.21(d,J=2.1Hz,2H),7.03-7.11(m,1H),6.93-7.00(m,1H),4.34-4.45(m,2H),3.73-3.85(m,2H),3.60-3.69(m,2H),3.00-3.09(m,2H),2.41-2.46(m,2H),2.35-2.39(m,3H),1.44(s,9H)

[0499] 步骤2 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0500] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(50mg)制备,以得到期望的产物(22mg,50%)。UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.55分钟,m/z 385.2[M+H]<sup>+</sup>

[0501] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.78-10.89(m,1H),9.22-9.31(m,1H),8.43-8.53(m,1H),8.34-8.43(m,1H),7.58-7.65(m,1H),7.31-7.39(m,1H),7.18-7.23(m,1H),6.93-7.12(m,3H),3.73(br s,4H),2.89-3.15(m,4H),2.26-2.43(m,5H)(未看到可交换的1H)。

[0502] 实例21 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺的制备



[0504] 步骤1 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0505] 根据通用方法B,4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]

嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(230mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(90mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(130mg,49%)。

[0506] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.29分钟,m/z 489[M+H]<sup>+</sup>

[0507] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.96质子去偶

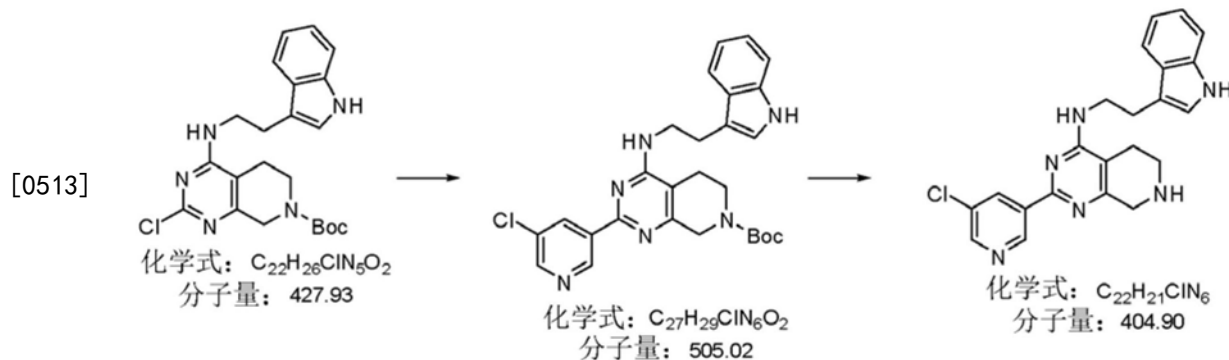
[0508] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>-d) δppm 9.41-9.47(m,1H),8.50-8.55(m,1H),8.33-8.41(m,1H),8.05-8.14(m,1H),7.60-7.65(m,1H),7.37-7.42(m,1H),7.20-7.26(m,1H),7.12-7.18(m,1H),7.07-7.11(m,1H),4.52-4.66(m,1H),4.07-4.18(m,2H),3.93-4.02(m,2H),3.66-3.75(m,2H),3.10-3.21(m,2H),2.81-2.90(m,2H),1.50(s,9H)

[0509] 步骤2 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺

[0510] 向4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(130mg)于DCM(5mL)中的溶液添加含5N HCl的IPA(2mL)。反应混合物的颜色变深。7小时后,对反应混合物进行蒸发。添加疏松的SCX树脂(0.5g),然后添加水/甲醇/乙腈。旋转以混合约10分钟,然后装载到烧管中并且允许排干。用甲醇(10mL)对如此形成的SCX盒进行洗涤。以游离碱形式对产物进行洗脱,用含7M氨的甲醇(10mL)然后用DCM:含7M氨的甲醇洗脱。对游离碱物质进行蒸发,然后用二乙醚进行研磨并且过滤,以得到呈白色固体形式的期望的产物(55mg,53%)。UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.61分钟,m/z 389[M+H]<sup>+</sup>

[0511] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>+D2O) δppm 9.21(s,1H),8.59(d,J=2.8Hz,1H),8.21-8.30(m,1H),7.53-7.61(m,1H),7.28-7.36(m,1H),7.15(s,1H),7.00-7.09(m,1H),6.91-6.99(m,1H),3.70-3.79(m,2H),3.59(s,2H),2.94-3.08(m,4H),2.64-2.73(m,2H)

[0512] 实例22 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0514] 步骤1 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0515] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(180mg)和5-氯吡啶-3-硼酸(110mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(90mg,40%)。

[0516] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 2.27分钟,m/z 505.2/507.2[M+H]<sup>+</sup>

[0517] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.79-10.89(m,1H),9.34-9.41(m,1H),8.69-8.75(m,1H),8.55-8.61(m,1H),7.57-7.63(m,1H),7.27-7.38(m,2H),7.18-7.24(m,1H),7.03-

7.11 (m, 1H), 6.95-7.02 (m, 1H), 4.36-4.44 (m, 2H), 3.74-3.83 (m, 2H), 3.60-3.68 (m, 2H), 3.00-3.09 (m, 2H), 2.41-2.47 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)

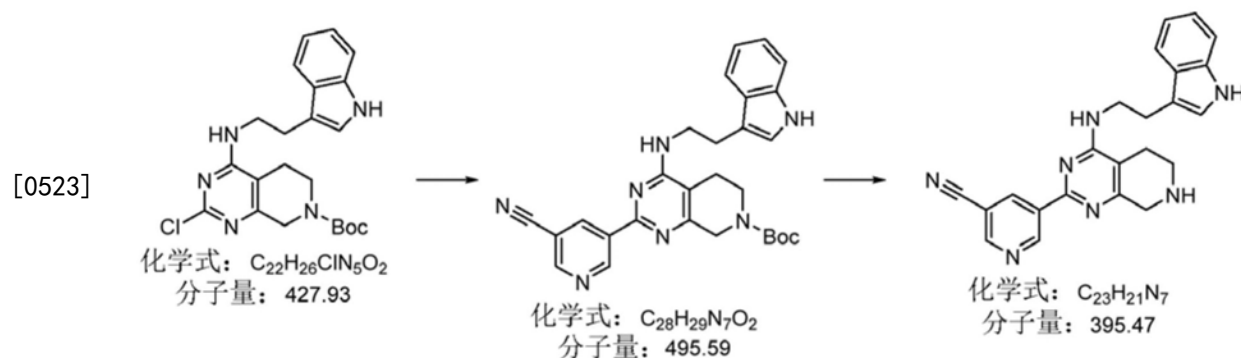
[0518] 步骤2 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

[0519] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(85mg)制备,以得到期望的产物(45mg,65%)。

[0520] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.73分钟,m/z 405.2/407.2[M+H]<sup>+</sup>

[0521] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.79-10.88 (m, 1H), 9.37 (d, J=1.4Hz, 1H), 8.67-8.74 (m, 1H), 8.54-8.61 (m, 1H), 7.58-7.66 (m, 1H), 7.31-7.38 (m, 1H), 7.20 (d, J=1.6Hz, 1H), 7.04-7.14 (m, 2H), 6.96-7.03 (m, 1H), 3.71 (s, 4H), 2.96-3.09 (m, 4H), 2.71-2.91 (m, 1H), 2.28-2.38 (m, 2H)

[0522] 实例23 5-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2-基)烟碱甲腈的制备



[0524] 步骤1 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氰基吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0525] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(180mg)和5-氰基吡啶-3-硼酸(105mg)制备,以得到呈残余物形式的期望的产物(100mg,50%)。

[0526] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 2.12分钟,m/z 496.3[M+H]<sup>+</sup>

[0527] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.76-10.85 (m, 1H), 9.63 (d, J=2.0Hz, 1H), 9.10 (d, J=2.1Hz, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.56-7.62 (m, 1H), 7.32 (s, 2H), 7.18-7.22 (m, 1H), 7.03-7.09 (m, 1H), 6.96-7.02 (m, 1H), 4.35-4.45 (m, 2H), 3.75-3.85 (m, 2H), 3.59-3.69 (m, 2H), 2.99-3.07 (m, 2H), 2.40-2.48 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)

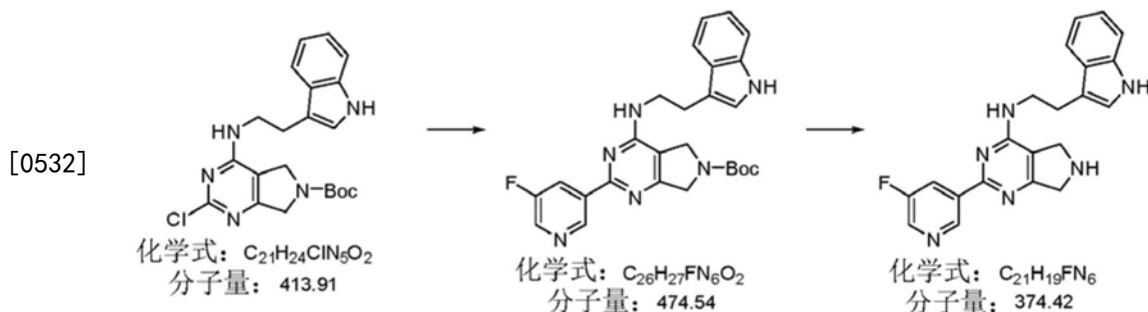
[0528] 步骤2 5-(4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-2-基)烟碱甲腈

[0529] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氰基吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(90mg)制备,以得到期望的产物(33mg,45%)。UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.57分钟,m/z 396.2[M+H]<sup>+</sup>

[0530] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.79-10.85 (m, 1H), 9.61-9.67 (m, 1H), 9.06-9.12 (m, 1H), 8.83-8.90 (m, 1H), 7.57-7.65 (m, 1H), 7.30-7.37 (m, 1H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.11-7.17 (m, 1H), 7.03-7.10 (m, 1H), 6.96-7.03 (m, 1H), 3.75-3.85 (m, 2H), 3.72 (s, 2H), 2.96-

3.07 (m, 4H), 2.68-2.85 (m, 1H), 2.30-2.37 (m, 2H)

[0531] 实例24 N-(2-(1H-吡咯-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺



[0533] 步骤1 4-((2-(1H-吡咯-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯

[0534] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡咯-3-基)乙基)氨基)-2-氯-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(520mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(400mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(550mg,90%)。

[0535] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 2.00分钟,m/z 475.2[M+H]<sup>+</sup>

[0536] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm-127.18-127.56(1F,d)质子去耦(旋转子)

[0537] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm:10.82(s,1H),9.31(d,J=1.6Hz,1H),8.68(d,J=2.8Hz,1H),8.31(ddt,J=8.4,3.3,1.6Hz,1H),7.72(br d,J=3.3Hz,1H),7.59(br d,J=7.9Hz,1H),7.34(d,J=8.0Hz,1H),7.21(d,J=2.3Hz,1H),7.03-7.11(m,1H),6.94-7.02(m,1H),4.71-4.81(m,1H),4.37-4.53(m,4H),3.78(q,J=6.4Hz,2H),3.03(br t,J=7.5Hz,2H),1.48(d,J=4.8Hz,9H).(旋转子)

[0538] 步骤2 N-(2-(1H-吡咯-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺

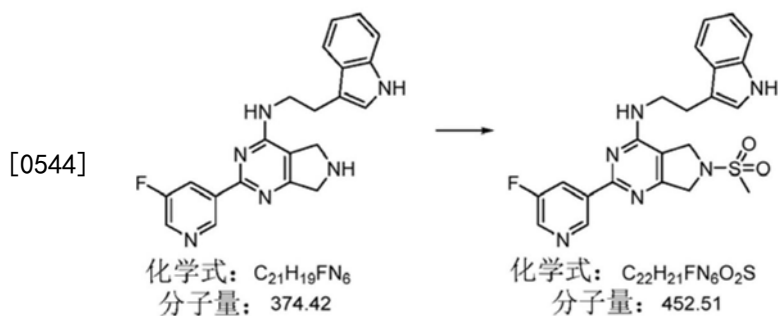
[0539] 向4-((2-(1H-吡咯-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,7-二氢-6H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-6-甲酸叔丁酯(540mg)于DCM(20mL)中的溶液添加TFA(3.0mL)。一旦通过UPLC判断完成后,对反应混合物进行蒸发,然后在10%水性氨与乙酸乙酯之间进行分配。分离有机相并对其进行蒸发。对游离碱物质进行蒸发,然后依序用二乙醚、然后DCM进行研磨并且过滤,以得到呈白色固体形式的期望的产物(270mg,62%)。

[0540] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.02分钟,m/z 375.2[M+H]<sup>+</sup>

[0541] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm-127.72质子去耦

[0542] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm 10.83(br s,1H),9.34(s,1H),8.67(d,J=2.9Hz,1H),8.30-8.41(m,1H),7.61(d,J=7.8Hz,1H),7.43(br t,J=5.6Hz,1H),7.35(d,J=8.0Hz,1H),7.21(d,J=1.9Hz,1H),7.08(t,J=7.3Hz,1H),6.94-7.03(m,1H),3.98(br d,J=5.6Hz,4H),3.71-3.87(m,2H),2.99-3.10(m,2H).未看到可交换的1H

[0543] 实例25 N-(2-(1H-吡咯-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6-(甲基磺酰基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺



[0545] 步骤1 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺

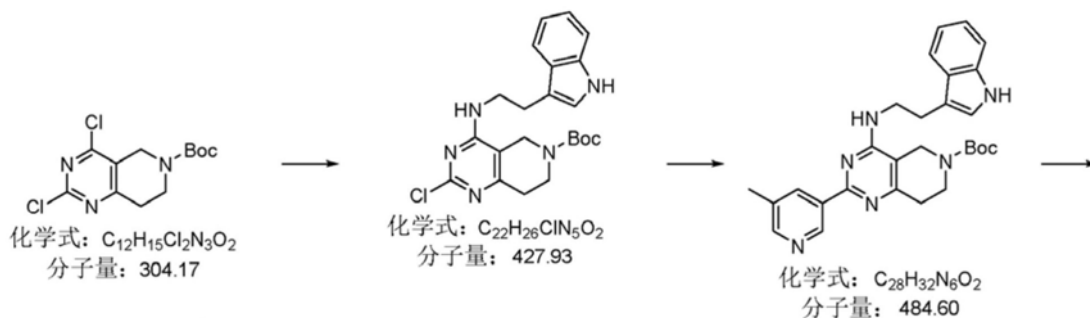
[0546] 向N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-6,7-二氢-5H-吡咯并[3,4-d]嘧啶-4-胺(90mg)于DCM(10mL)中的悬浮液添加甲烷磺酰基氯(50 $\mu$ L)与三乙基胺(300 $\mu$ L)。2小时后,添加33%水性氨(1mL)。对反应混合物进行蒸发并且在硅胶盒上进行纯化,用一定梯度的甲醇(0-2%)/DCM进行洗脱。在硅胶盒上对产物进行进一步纯化,用一定梯度的乙酸乙酯(10-80%)/己烷对其进行洗脱。在乙醚中进行研磨并且过滤,以得到呈白色固体形式的期望的产物(50mg,45%)。

[0547] UPLC-MS(酸性方法,4分钟):rt 1.61分钟, $m/z$  453.2[M+H]<sup>+</sup>

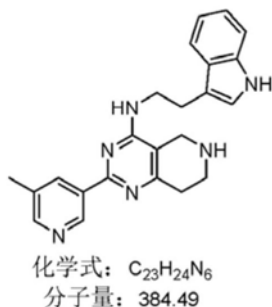
[0548] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm-127.45质子去偶

[0549] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ ppm 10.84(br s,1H),9.33(t,J=1.5Hz,1H),8.70(d,J=2.9Hz,1H),8.30-8.37(m,1H),7.74-7.78(m,1H),7.59(d,J=7.9Hz,1H),7.34(d,J=8.0Hz,1H),7.24(d,J=2.3Hz,1H),7.04-7.11(m,1H),6.94-7.02(m,1H),4.44-4.63(m,4H),3.77-3.84(m,2H),2.99-3.11(m,5H)。

[0550] 实例26 N-(2-(1H-吲哚-3-基)乙基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺



[0551]



[0552] 步骤1 4-((2-(1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0553] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

(410mg) 制备,以得到呈固体形式的期望的产物(630mg,>100%)。

[0554] UPLC-MS (酸性方法,2分钟):rt 1.21分钟,m/z 428/430 [M+H]<sup>+</sup>

[0555] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 7.97-8.18 (m,1H),7.59-7.68 (m,1H),7.34-7.44 (m,1H),7.19-7.26 (m,1H),7.11-7.18 (m,1H),7.05-7.09 (m,1H),4.09-4.17 (m,2H),3.79-3.90 (m,2H),3.59-3.68 (m,2H),3.04-3.15 (m,2H),2.70-2.80 (m,2H),1.46-1.52 (m,9H)。

[0556] 步骤2 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0557] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(180mg)和5-甲基吡啶-3-硼酸(100mg)制备,以得到呈乳状泡沫形式的期望的产物(100mg,49%)。

[0558] UPLC-MS (酸性方法,2分钟):rt 1.04分钟,m/z 485 [M+H]<sup>+</sup>

[0559] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,CDCl<sub>3</sub>-d) δppm 9.35-9.39 (m,1H),8.81-8.88 (m,1H),8.50-8.54 (m,1H),8.26-8.37 (m,1H),7.56-7.62 (m,1H),7.35-7.41 (m,1H),7.16-7.23 (m,1H),7.08-7.15 (m,2H),4.12-4.19 (m,2H),3.93-4.02 (m,2H),3.67-3.75 (m,2H),3.11-3.22 (m,2H),2.86-2.94 (m,2H),2.53 (s,3H),1.50 (s,9H) (未看到可交换的2H)。

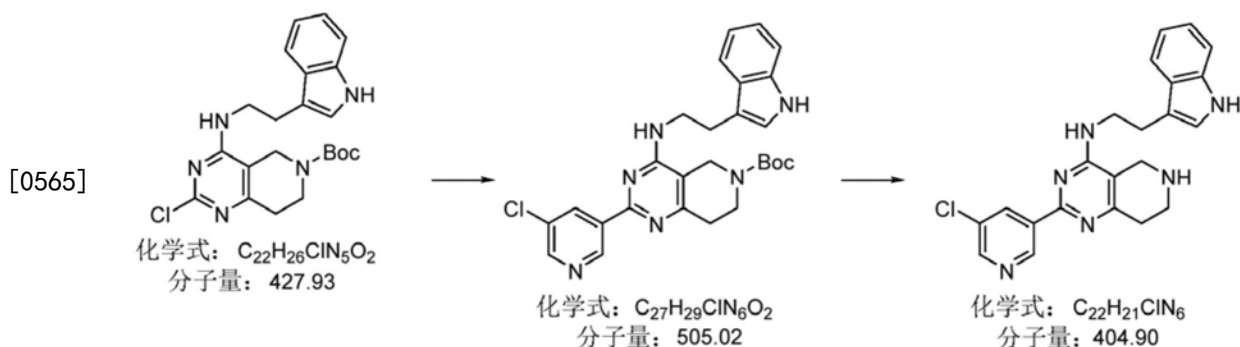
[0560] 步骤3 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺

[0561] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-甲基吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(100mg)制备,以得到呈白色固体形式的产物(26mg,56%)。

[0562] UPLC-MS (碱性方法,4分钟):rt 1.53分钟,m/z 385 [M+H]<sup>+</sup>

[0563] <sup>1</sup>H NMR (400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.78-10.90 (m,1H),9.23-9.32 (m,1H),8.44-8.51 (m,1H),8.35-8.44 (m,1H),7.56-7.67 (m,1H),7.30-7.41 (m,1H),7.16-7.25 (m,1H),7.02-7.13 (m,1H),6.94-7.01 (m,1H),6.84-6.93 (m,1H),3.70-3.83 (m,2H),3.56 (s,2H),3.00-3.09 (m,2H),2.93-3.00 (m,2H),2.63 (br s,2H),2.37 (s,3H) (未看到可交换的1H)。

[0564] 实例27 N-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺的制备



[0566] 步骤1 4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0567] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(180mg)和5-氯吡啶-3-硼酸(100mg)制备,以得到呈残余物形

式的期望的产物(130mg,53%)。

[0568] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.21分钟,m/z 505/507[M+H]<sup>+</sup>

[0569] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDC1<sub>3</sub>-d) δppm 9.44-9.46(m,1H),8.61-8.65(m,1H),7.59-7.65(m,1H),7.35-7.43(m,3H),7.08-7.08(m,1H),6.89(s,1H),6.62-6.69(m,1H),6.11-6.20(m,1H),4.12-4.15(m,2H),3.99-4.02(m,2H),3.69-3.72(m,2H),3.14-3.18(m,2H),2.95-2.98(m,2H),1.49-1.50(m,9H)

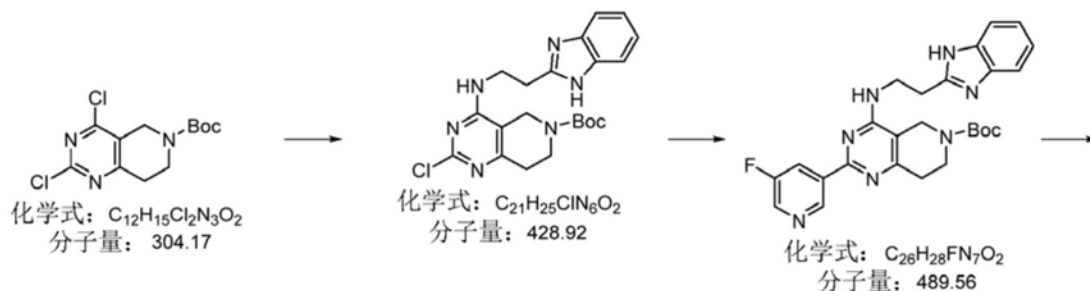
[0570] 步骤2四氢吡啶[4,3-d]咪啉-4-胺

[0571] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-咪啉-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氯吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]咪啉-6(5H)-甲酸叔丁酯(130mg)制备,以得到呈白色固体形式的产物(50mg,48%)。

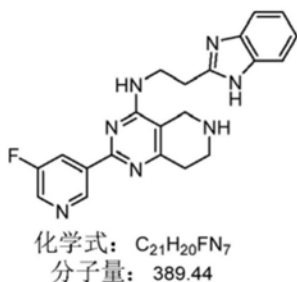
[0572] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.73分钟,m/z 405/407[M+H]<sup>+</sup>

[0573] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.77-10.90(m,1H),9.34-9.42(m,1H),8.68-8.73(m,1H),8.56-8.61(m,1H),7.57-7.65(m,1H),7.31-7.38(m,1H),7.17-7.23(m,1H),7.03-7.12(m,1H),6.94-7.03(m,2H),3.71-3.82(m,2H),3.55(s,2H),2.92-3.08(m,4H),2.59-2.65(m,2H)(未看到可交换的1H)。

[0574] 实例28 N-(2-(1H-苯甲[d]咪啉-2-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]咪啉-4-胺的制备



[0575]



[0576] 步骤1 4-((2-(1H-苯甲[d]咪啉-2-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]咪啉-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0577] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]咪啉-6(5H)-甲酸叔丁酯(200mg)和2-(1H-2-苯甲咪啉基)-乙基胺(105mg,1当量)制备,以在过滤之后得到呈白色固体形式的期望的产物(105mg,37%)的DCM树脂。

[0578] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.85分钟,m/z 429/431[M+H]<sup>+</sup>

[0579] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 7.50-7.67(m,2H),7.37-7.45(m,1H),7.05-7.18(m,2H),4.16(s,2H),3.74-3.87(m,2H),3.57(s,2H),3.07-3.17(m,2H),2.56-2.65(m,2H),1.41(s,9H)(未看到可交换的1H)。

[0580] 步骤2 4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0581] 根据通用方法B,使用4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(100mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(70mg)制备,以得到期望的产物(60mg,75%)。

[0582] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 0.90分钟,m/z 490[M+H]<sup>+</sup>

[0583] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.69质子去偶

[0584] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 12.21-12.31(m,1H),9.31-9.36(m,1H),8.66(d,J=2.9Hz,1H),8.35-8.43(m,1H),7.50-7.57(m,1H),7.33-7.42(m,2H),7.07-7.13(m,2H),4.25(s,2H),3.93-4.02(m,2H),3.60-3.68(m,2H),3.16-3.24(m,2H),2.69-2.77(m,2H),1.43(s,9H)

[0585] 步骤3 N-(2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺

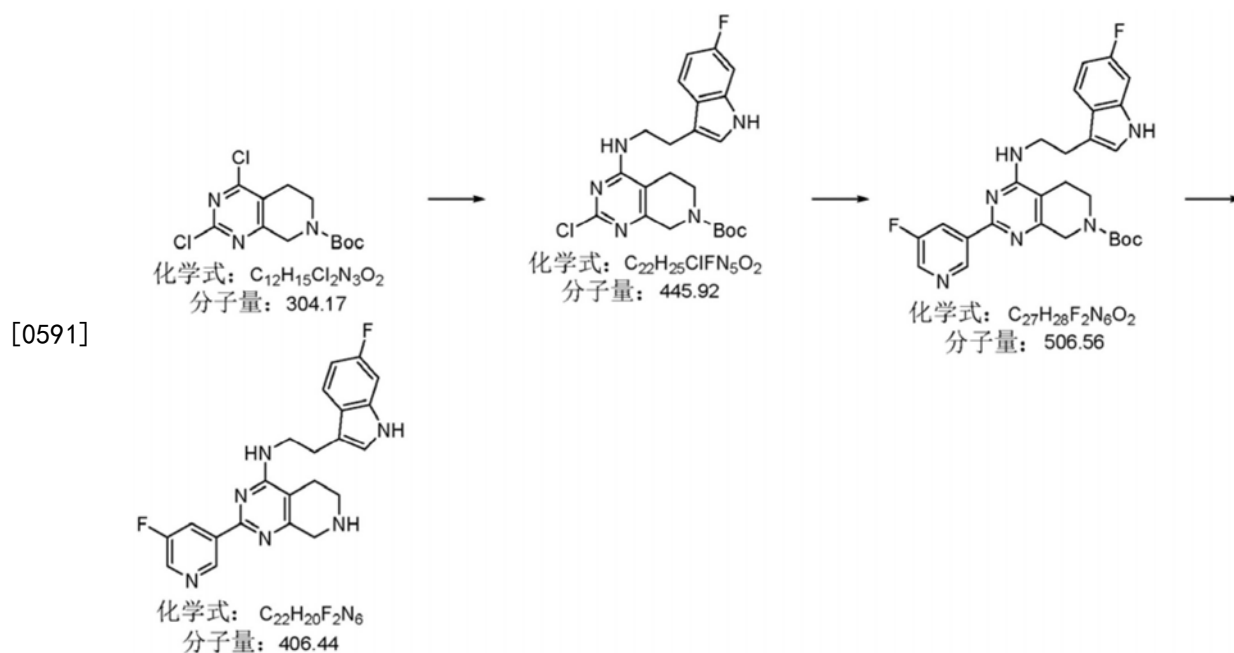
[0586] 根据通用方法C,使用4-((2-(1H-苯甲[d]咪唑-2-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(55mg)制备,以得到呈灰白色固体形式的期望的产物(25mg,58%)。

[0587] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.22分钟,m/z 390[M+H]<sup>+</sup>

[0588] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-127.82质子去偶

[0589] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 12.17-12.36(m,1H),9.33(s,1H),8.64(d,J=2.9Hz,1H),8.32-8.45(m,1H),7.47-7.58(m,1H),7.36-7.44(m,1H),7.01-7.16(m,3H),3.88-4.02(m,2H),3.55(s,2H),3.12-3.26(m,2H),2.89-3.03(m,2H),2.59-2.67(m,2H)(未看到可交换的1H)。

[0590] 实例29 N-(2-(6-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺的制备



[0592] 步骤1 2-氯-4-((2-(6-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶

啉-7 (6H) -甲酸叔丁酯

[0593] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-5,6-二氢吡啶[3,4-d]啉-7 (8H) -甲酸叔丁酯 (250mg) 和2-(6-氟-1H-吡啶-3-基) 乙胺盐酸盐 (176mg, 1当量) 制备。通过用DCM研磨进行的纯化得到呈白色固体形式的期望的产物 (110mg, 30%)。UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 1.23分钟, m/z 446/448 [M+H]<sup>+</sup>

[0594] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-122.42质子去偶

[0595] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.84-10.93 (m, 1H), 7.60-7.67 (m, 1H), 7.49-7.58 (m, 1H), 7.15-7.20 (m, 1H), 7.06-7.13 (m, 1H), 6.79-6.87 (m, 1H), 4.26 (br s, 2H), 3.53-3.65 (m, 4H), 2.89-2.96 (m, 2H), 2.30-2.40 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)

[0596] 步骤2 4-((2-(6-氟-1H-吡啶-3-基) 乙基) 氨基) -2-(5-氟吡啶-3-基) -5,8-二氢吡啶[3,4-d]啉-7 (6H) -甲酸叔丁酯

[0597] 根据通用方法B,使用2-氯-4-((2-(6-氟-1H-吡啶-3-基) 乙基) 氨基) -5,8-二氢吡啶[3,4-d]啉-7 (6H) -甲酸叔丁酯 (105mg) 和5-氟吡啶-3-硼酸 (65mg) 制备,以得到呈固体形式的期望的产物 (55mg, 74%)。

[0598] UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 1.26分钟, m/z 507 [M+H]<sup>+</sup>

[0599] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-122.49/-127.68质子去偶

[0600] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.86-10.93 (m, 1H), 9.26-9.33 (m, 1H), 8.64-8.70 (m, 1H), 8.25-8.32 (m, 1H), 7.52-7.58 (m, 2H), 7.18-7.22 (m, 1H), 7.06-7.13 (m, 1H), 6.77-6.85 (m, 1H), 4.37-4.44 (m, 2H), 3.74-3.83 (m, 2H), 3.60-3.68 (m, 2H), 2.98-3.06 (m, 2H), 2.39-2.46 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)

[0601] 步骤3 1N-(2-(6-氟-1H-吡啶-3-基) 乙基) -2-(5-氟吡啶-3-基) -5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]啉-4-胺

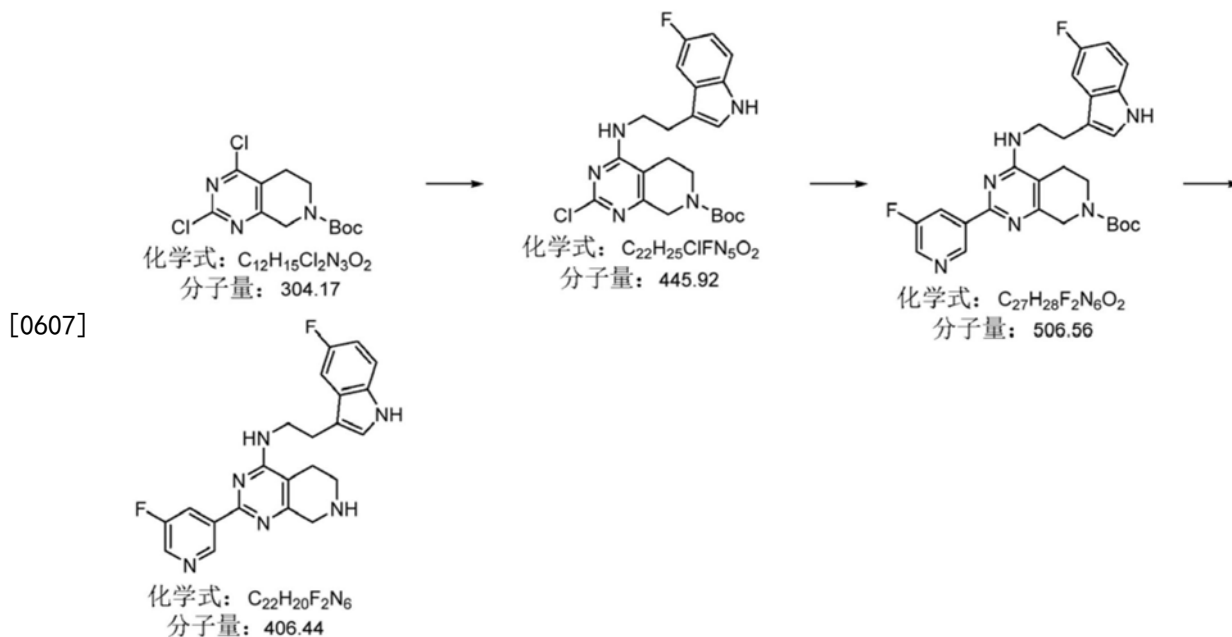
[0602] 根据通用方法C,使用4-((2-(6-氟-1H-吡啶-3-基) 乙基) 氨基) -2-(5-氟吡啶-3-基) -5,8-二氢吡啶[3,4-d]啉-7 (6H) -甲酸叔丁酯 (55mg) 制备,以得到呈棕色固体形式的期望的产物 (14mg, 32%)。

[0603] UPLC-MS (碱性方法, 4分钟): rt 1.65分钟, m/z 407 [M+H]<sup>+</sup>

[0604] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-122.48, -127.80质子去偶

[0605] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.83-10.95 (m, 1H), 9.24-9.33 (m, 1H), 8.60-8.68 (m, 1H), 8.21-8.32 (m, 1H), 7.53-7.62 (m, 1H), 7.17-7.23 (m, 1H), 7.04-7.14 (m, 2H), 6.76-6.87 (m, 1H), 3.67-3.85 (m, 4H), 2.95-3.08 (m, 4H), 2.28-2.40 (m, 2H) (未看到可交换的1H)。

[0606] 实例30 N-(2-(5-氟-1H-吡啶-3-基) 乙基) -2-(5-氟吡啶-3-基) -5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]啉-4-胺的制备



[0608] 步骤1 2-氯-4-((2-(5-氟-1H-咪唑-3-基)乙基)氨基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0609] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(250mg)和2-(5-氟-1H-咪唑-3-基)乙胺盐酸盐(176mg,1当量)制备。通过用DCM研磨进行的纯化得到呈白色固体形式的期望的产物(157mg,43%)。

[0610] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.22分钟,m/z 446/448[M+H]<sup>+</sup>

[0611] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-125.70质子去偶

[0612] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.88-10.97(m,1H),7.49-7.65(m,1H),7.38-7.46(m,1H),7.38-7.46(m,1H),7.29-7.35(m,1H),7.23-7.29(m,1H),6.85-6.95(m,1H),4.19-4.31(m,2H),3.57(br d,J=5.9Hz,4H),2.85-2.98(m,2H),2.30-2.41(m,2H),1.42(s,9H)

[0613] 步骤2 4-((2-(5-氟-1H-咪唑-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯

[0614] 根据通用方法B,使用2-氯-4-((2-(5-氟-1H-咪唑-3-基)乙基)氨基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(150mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(120mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(100mg,59%)。

[0615] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.29分钟,m/z 507[M+H]<sup>+</sup>

[0616] <sup>19</sup>F NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-125.66/-127.62质子去偶

[0617] <sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.89-10.96(m,1H),9.25-9.31(m,1H),8.63-8.69(m,1H),8.24-8.32(m,1H),7.24-7.34(m,4H),6.84-6.93(m,1H),4.35-4.43(m,2H),3.72-3.84(m,2H),3.60-3.68(m,2H),2.95-3.04(m,2H),2.41-2.46(m,2H),1.44(s,9H)

[0618] 步骤3 N-(2-(5-氟-1H-咪唑-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[3,4-d]嘧啶-4-胺

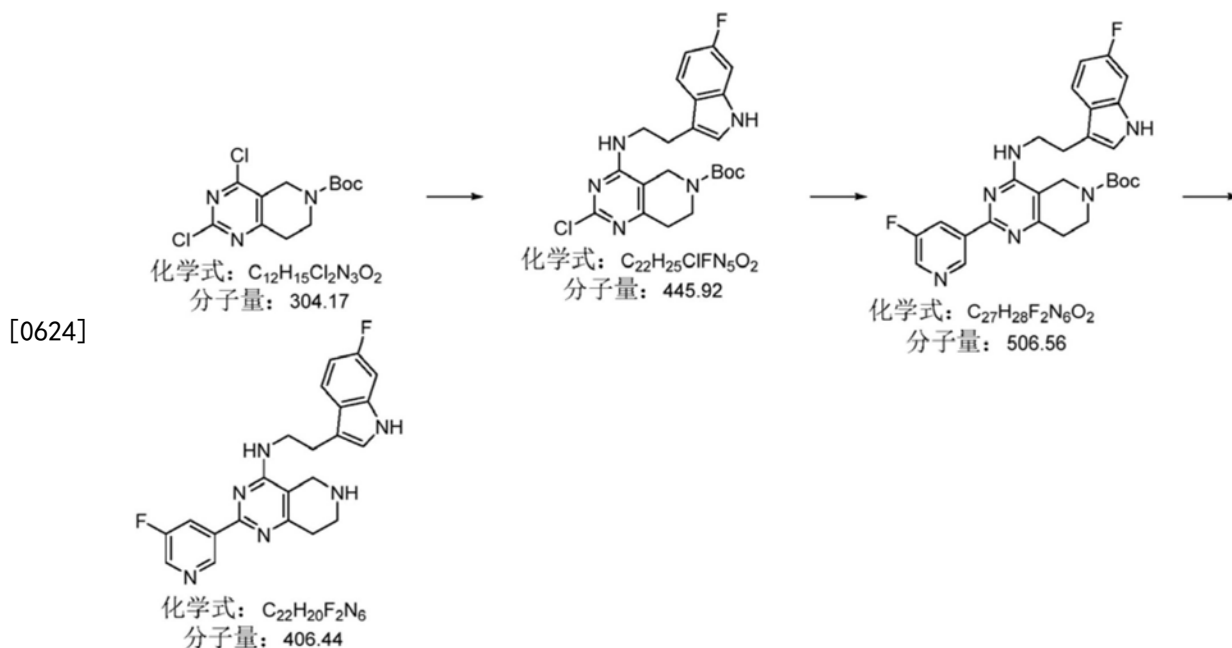
[0619] 根据通用方法C,使用4-((2-(5-氟-1H-咪唑-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,8-二氢吡啶[3,4-d]嘧啶-7(6H)-甲酸叔丁酯(100mg)制备,以得到呈白色固体形式的产物(23mg,28%)。

[0620] UPLC-MS (碱性方法, 4分钟): rt 1.63分钟, m/z 407 [M+H]<sup>+</sup>

[0621] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-125.66/-127.78 质子去偶

[0622] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.92 (br s, 1H), 9.28 (s, 1H), 8.64 (d, J=2.9Hz, 1H), 8.22-8.32 (m, 1H), 7.26-7.34 (m, 3H), 7.06 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 3.77 (br d, J=7.0Hz, 2H), 3.64-3.73 (m, 2H), 3.17 (d, J=5.1Hz, 3H), 2.88-3.10 (m, 6H), 2.32 (br s, 4H)

[0623] 实例31 N-(2-(6-氟-1H-吡咯-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺的制备



[0625] 步骤1 2-氯-4-((2-(6-氟-1H-吡咯-3-基)乙基)氨基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0626] 根据通用方法A, 使用2,4-二氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯 (250mg) 和2-(6-氟-1H-吡咯-3-基)乙胺盐酸盐 (176mg, 1当量) 制备。使用Biotage进行的纯化(Telos 12g, 洗脱液DCM/MeOH, 0%到5%) 得到了呈米色泡沫形式的期望的产物 (346mg, 94%) (含有10%的区域异构体)。

[0627] UPLC-MS (酸性方法, 2分钟): rt 1.22分钟, m/z 446/448 [M+H]<sup>+</sup>

[0628] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-122.41 质子去偶

[0629] <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 10.84-10.93 (m, 1H), 7.61-7.68 (m, 1H), 7.48-7.58 (m, 1H), 7.16-7.20 (m, 1H), 7.07-7.14 (m, 1H), 6.84 (br dd, J=2.3, 1.1Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.52-3.64 (m, 4H), 2.88-2.98 (m, 2H), 2.55-2.65 (m, 2H), 1.43 (s, 9H)

[0630] 步骤2 4-((2-(6-氟-1H-吡咯-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0631] 根据通用方法B, 使用2-氯-4-((2-(6-氟-1H-吡咯-3-基)乙基)氨基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯 (160mg) 和5-氟吡啶-3-硼酸 (120mg) 制备, 以得到呈白色固体形式的期望的产物 (160mg, 88%)。

[0632] UPLC-MS (碱性方法, 2分钟): rt 1.30分钟, m/z 507 [M+H]<sup>+</sup>

[0633] <sup>19</sup>F NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm-122.48, -127.66 质子去偶

[0634]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  10.85-10.96 (m, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.62-8.70 (m, 1H), 8.24-8.33 (m, 1H), 7.51-7.60 (m, 1H), 7.25-7.38 (m, 1H), 7.17-7.24 (m, 1H), 7.06-7.13 (m, 1H), 6.75-6.87 (m, 1H), 4.25 (s, 2H), 3.72-3.85 (m, 2H), 3.59-3.69 (m, 2H), 2.98-3.09 (m, 2H), 2.68-2.77 (m, 2H), 1.45 (s, 9H)

[0635] 步骤3 N-(2-(6-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺

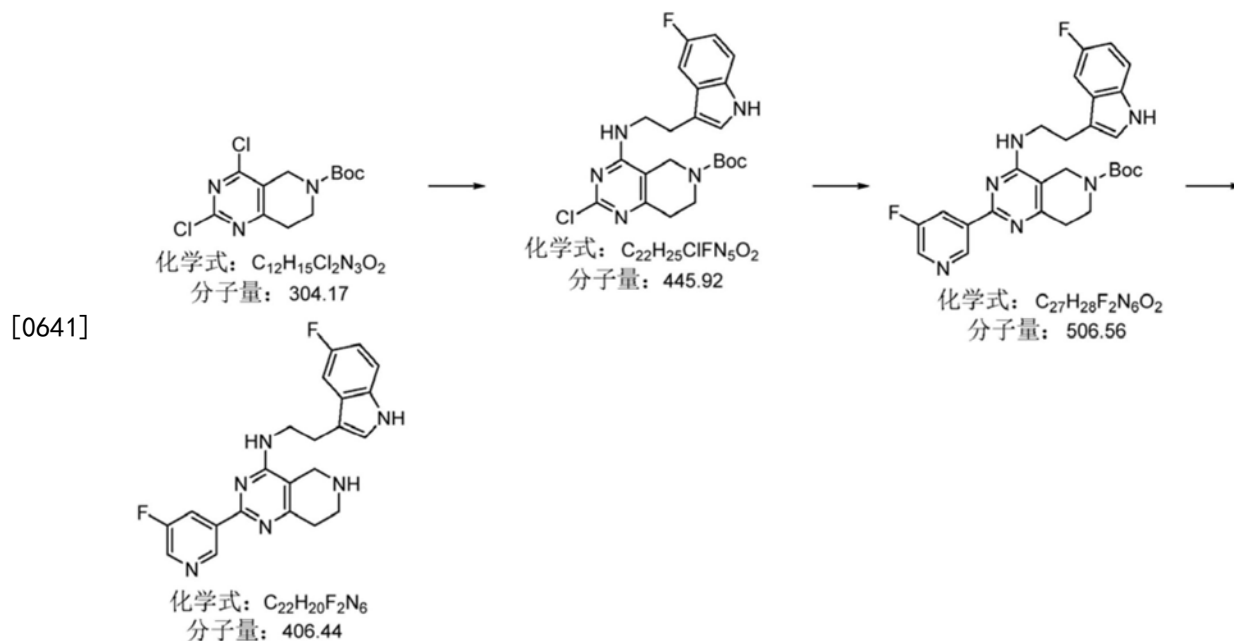
[0636] 根据通用方法C,使用4-((2-(6-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(160mg)制备,以得到呈白色固体形式的产物(17mg,14%)。

[0637] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.63分钟,m/z 407[M+H] $^+$

[0638]  $^{19}\text{F}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$ -122.50/-127.82质子去偶

[0639]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  10.89 (br s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.65 (d, J=2.9Hz, 1H), 8.23-8.32 (m, 1H), 7.51-7.61 (m, 1H), 7.20 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.10 (dd, J=10.2, 2.3Hz, 1H), 6.97 (t, J=5.5Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 3.76 (br d, J=7.3Hz, 2H), 3.55 (s, 2H), 2.88-3.06 (m, 5H), 2.61-2.68 (m, 2H)。

[0640] 实例32 N-(2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺



[0642] 步骤1 2-氯-4-((2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0643] 根据通用方法A,使用2,4-二氯-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(250mg)和2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙胺盐酸盐(176mg,1当量)制备。使用Biotage进行的纯化(Telos 12g,洗脱液DCM/MeOH,0%到5%)提供了呈米色泡沫形式的期望的产物(348mg,95%) (含有10%的区域异构体)。

[0644] UPLC-MS(酸性方法,2分钟):rt 1.21分钟,m/z 446/448[M+H] $^+$

[0645]  $^{19}\text{F}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$ -125.67质子去偶

[0646]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  10.88-10.96 (m, 1H), 7.48-7.63 (m, 1H), 7.39-7.46 (m, 1H), 7.30-7.35 (m, 1H), 7.26 (d,  $J=2.3\text{Hz}$ , 1H), 6.86-6.94 (m, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.58 (br d,  $J=5.9\text{Hz}$ , 4H), 2.86-2.95 (m, 2H), 2.56-2.64 (m, 2H), 1.40-1.46 (m, 9H)

[0647] 步骤2 4-((2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯

[0648] 根据通用方法B,使用2-氯-4-((2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(160mg)和5-氟吡啶-3-硼酸(120mg)制备,以得到呈白色固体形式的期望的产物(150mg,82%)。

[0649] UPLC-MS(碱性方法,2分钟):rt 1.29分钟,m/z 507[M+H]<sup>+</sup>

[0650]  $^{19}\text{F}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$ -125.64, -127.61质子去偶

[0651]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  10.89-10.97 (m, 1H), 9.26-9.32 (m, 1H), 8.63-8.68 (m, 1H), 8.24-8.32 (m, 1H), 7.22-7.36 (m, 4H), 6.83-6.94 (m, 1H), 4.19-4.30 (m, 2H), 3.72-3.84 (m, 2H), 3.58-3.69 (m, 2H), 2.97-3.05 (m, 2H), 2.69-2.78 (m, 2H), 1.45 (s, 9H)

[0652] 步骤3 N-(2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-5,6,7,8-四氢吡啶[4,3-d]嘧啶-4-胺

[0653] 根据通用方法C,使用4-((2-(5-氟-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)-2-(5-氟吡啶-3-基)-7,8-二氢吡啶[4,3-d]嘧啶-6(5H)-甲酸叔丁酯(150mg)制备,以提供呈白色固体形式的产物(11mg,9%)。

[0654] UPLC-MS(碱性方法,4分钟):rt 1.61分钟,m/z 407[M+H]<sup>+</sup>

[0655]  $^{19}\text{F}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$ -125.66/-127.78质子去偶

[0656]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{ppm}}$  10.92 (br s, 1H), 9.29 (t,  $J=1.6\text{Hz}$ , 1H), 8.64 (d,  $J=2.9\text{Hz}$ , 1H), 8.23-8.33 (m, 1H), 7.23-7.35 (m, 3H), 6.83-6.98 (m, 2H), 3.75 (br d,  $J=7.7\text{Hz}$ , 2H), 3.55 (s, 2H), 2.87-3.08 (m, 6H), 2.57-2.68 (m, 3H)

[0657] 在所选生物学测定中对实例进行了两次或更多次测试。数据以 $\text{pIC}_{50}$  ( $-\log_{10}\text{IC}_{50}$ )值的算术平均值报告,其中 $\text{IC}_{50}$ 被定义为产生对激动剂(KYNA)反应的50%抑制的化合物的浓度。

[0658] 在以下测定中评估了本发明化合物的体外活性:

[0659] 体外测定1:U937细胞中的AhR拮抗(普洛麦格(Promega)P450-GloTM测定)

[0660] 评估了在U937细胞(衍生自人类组织细胞淋巴瘤的骨髓谱系细胞系)中的AhR拮抗。配体在细胞质中结合AhR,并且AhR-配体复合物易位到细胞核并且与AhR核转位子(Arnt)形成异二聚体。此复合物在CYP1A1启动子的5'上游区域中结合异型生物物质应答元件(XRE),从而增强CYP1A1表达。随后通过评估萤光素-CEE向萤光素的转化来确定CYP1A1活性,所述萤光素进而与萤光素酶反应以产生光。产生的光非量与细胞色素P450活性直接成正比。

[0661] 将Ultraculture无血清培养基(龙沙公司(Lonza))中的U937细胞以每孔100,000个细胞铺板在圆底96孔组织培养板中。添加七种浓度的测试化合物(最终[DMSO]1%)并且温育10分钟,然后添加300 $\mu\text{M}$  KYNA。然后将板放置在37 $^{\circ}\text{C}$ 、 $\geq 85\%$ 湿度、5% $\text{CO}_2$ 的培养箱中,持续24小时。吸出上清液后,添加CYP1A1底物萤光素-CEE([最终]83 $\mu\text{M}$ )并且温育3小时,然后通过添加萤光素检测试剂终止反应,并且在20分钟后读取发光。

[0662] 体外测定2:CYP1A1抑制测定

[0663] 还使用了普洛麦格P450-Glo™测定系统对测试化合物的直接CYP1A1抑制活性进行了评估。将七种浓度的测试化合物添加到1/2面积的白色96孔板中。在0.1M磷酸钾缓冲液中制备Cypex CYP1A1细菌小体([最终]0.5pmol)和CYP1A1底物荧光素-CEE([最终]30μM),并且在37°C下与测试化合物一起温育5分钟。然后将0.2mM NADPH添加到板中并且在37°C下温育10分钟。通过添加荧光素检测试剂终止反应,并且在20分钟后读取发光。

[0664] 结果

实例编号	U937 pIC50	cyp1A1 pIC50	实例编号	U937 pIC50	cyp1A1 pIC50
1	8.80	6.00	18b	7.70	5.90
2	8.90	6.20	19	5.50	5.10
3	8.20	6.80	20	7.60	6.40
4	8.20	6.10	21	7.70	6.40
5	8.00	6.40	22	8.00	6.50
6	8.30	6.50	23	8.00	6.70
7	8.00	6.70	24	7.90	6.60
8	7.80	7.00	25	8.30	6.20
9	7.70	6.60	26	8.21	7.2
10	7.90	6.80	27	8.35	7.2
11	8.50	6.40	28	< 5.0	5.5
12	9.00	6.10	29	8.10	6.7
13	8.50	5.70	30	7.58	6.5
14	8.90	6.10	31	8.29	7.2
15	8.70	6.00	32	8.22	7.1
16	8.20	7.00			
17a	7.60	6.20			
17b	7.80	6.10			
18a	8.30	6.20			