



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115279765 B

(45) 授权公告日 2024. 11. 12

(21) 申请号 202180020862.9

(22) 申请日 2021.01.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115279765 A

(43) 申请公布日 2022.11.01

(30) 优先权数据
62/966,137 2020.01.27 US
63/058,144 2020.07.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.09.13

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/014983 2021.01.26

(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/154669 EN 2021.08.05

(73) 专利权人 百时美施贵宝公司
地址 美国新泽西州

(72) 发明人 何立崎 A·V·加瓦伊 S·甘瓦
丛强 Y·B·保德尔
P·西瓦普拉卡萨姆 C·M·塔比
P·吉尔 A·F·唐奈尔
M·A·M·苏巴亚

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51) Int.Cl.
C07D 487/04 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(56) 对比文件
W0 2020028608 A1, 2020.02.06
审查员 吴姗姗

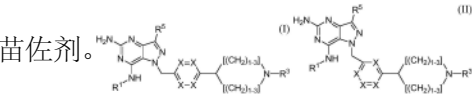
权利要求书27页 说明书129页

(54) 发明名称

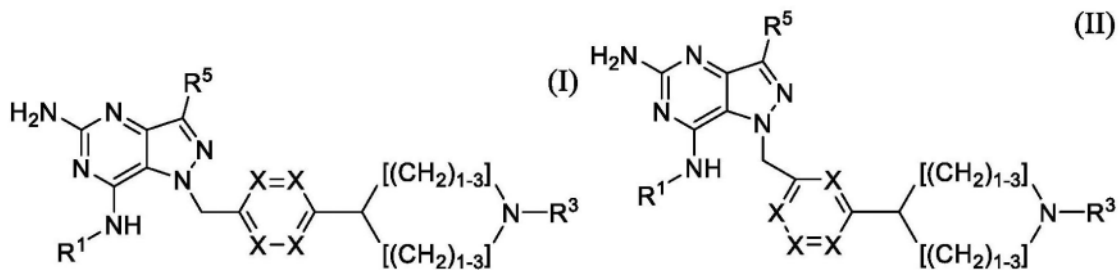
作为Toll样受体7 (TLR7) 激动剂的1H-吡唑
并[4,3-d]嘧啶化合物

(57) 摘要

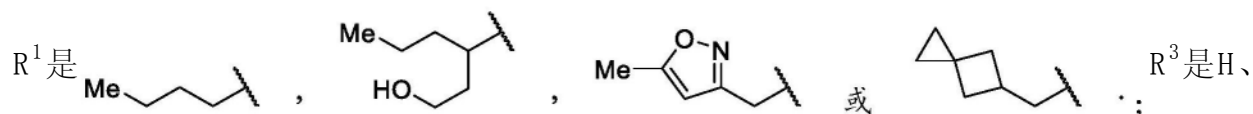
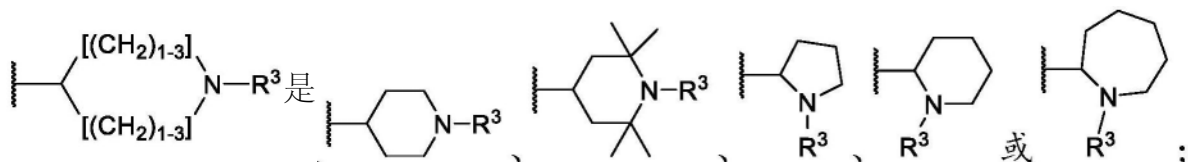
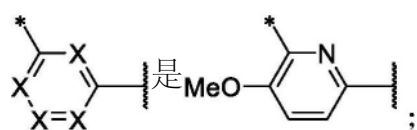
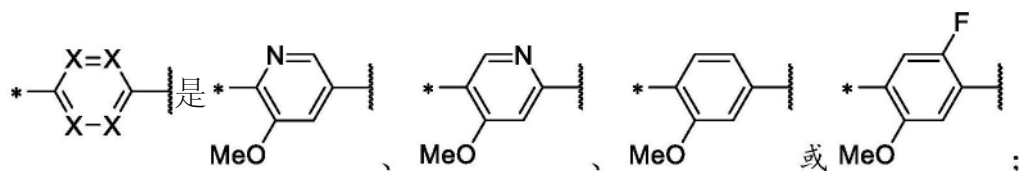
根据式I或II的化合物可用作Toll样受体7
(TLR7) 的激动剂。此类化合物能够用于癌症治
疗,尤其是与抗癌免疫治疗剂组合,或者用作疫



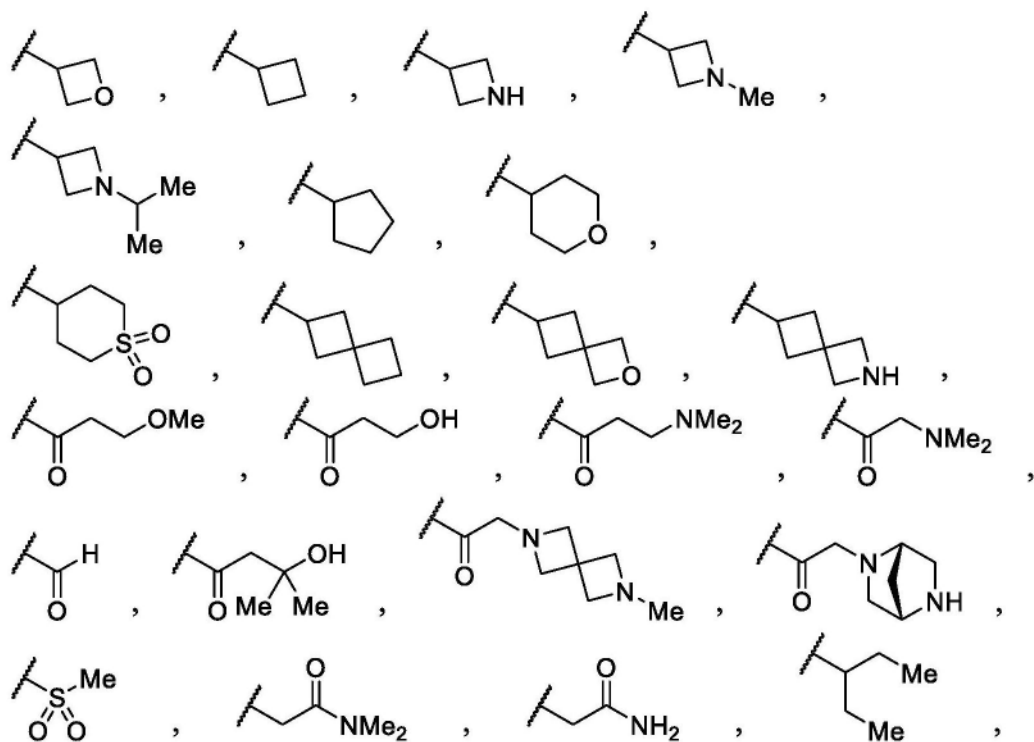
1. 一种化合物, 所述化合物具有根据式 (I) 或式 (II) 的结构

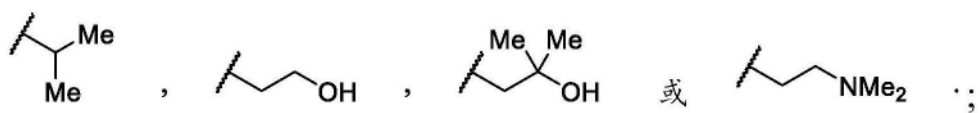


其中



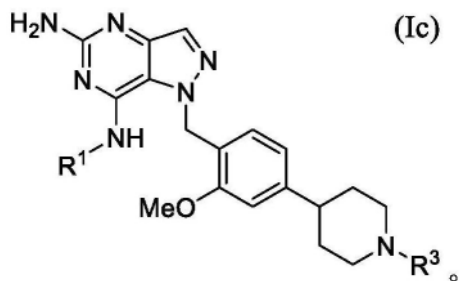
Me、



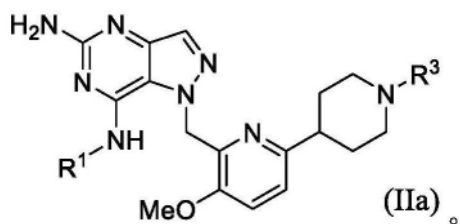


R^5 是H。

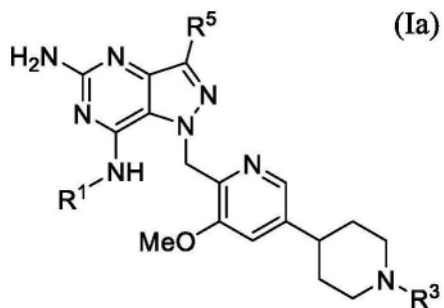
2. 根据权利要求1所述的化合物,所述化合物具有由式(Ic)表示的结构



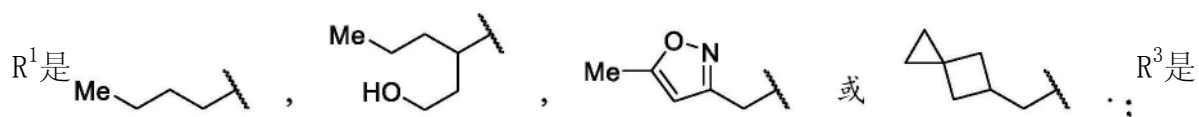
3. 根据权利要求1所述的化合物,所述化合物具有由式(IIa)表示的结构



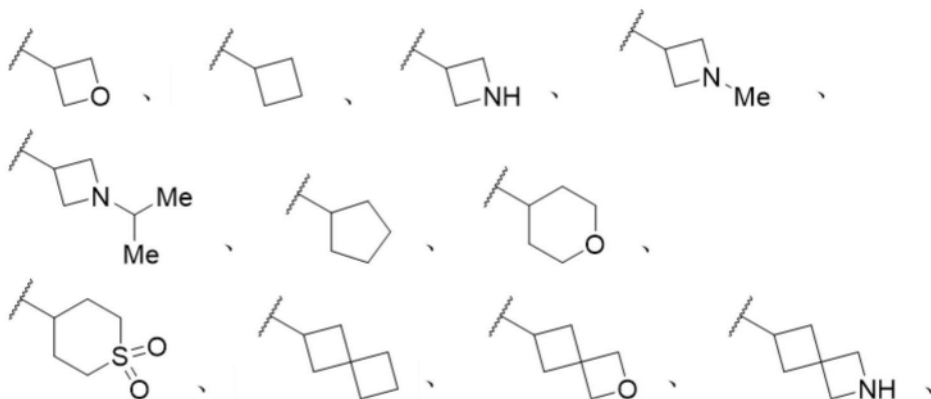
4. 一种化合物,所述化合物具有由式(Ia)表示的结构

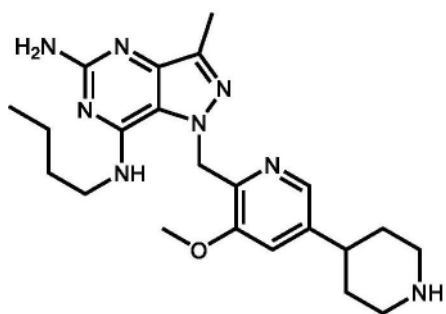
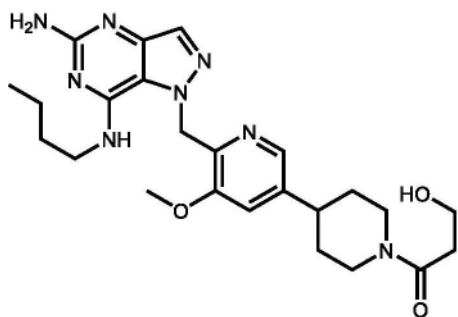
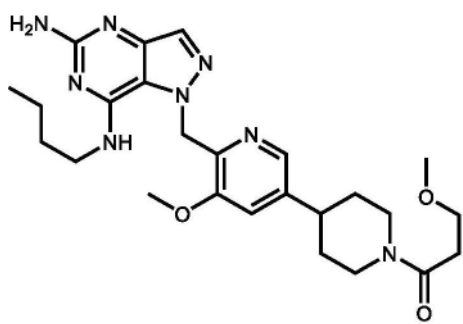
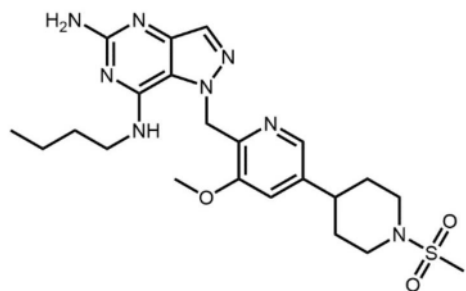
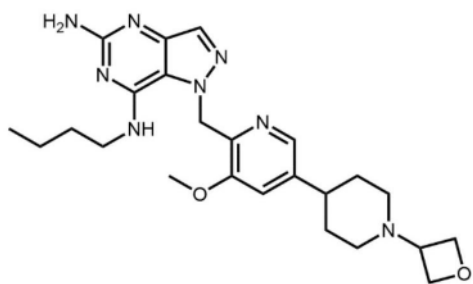


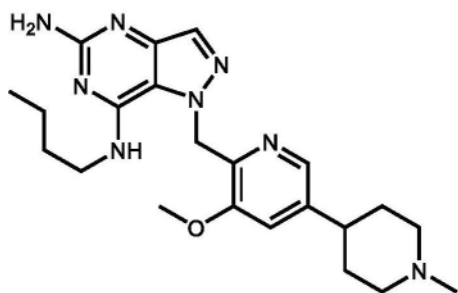
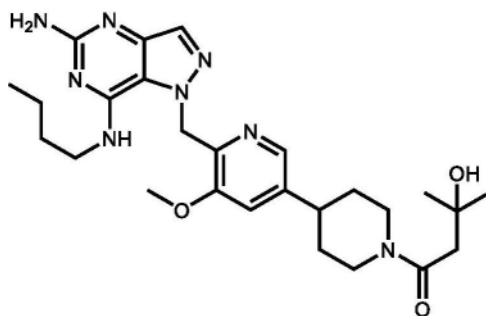
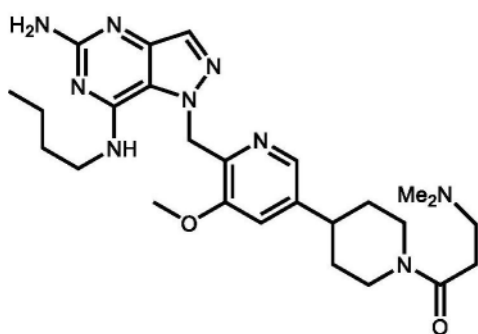
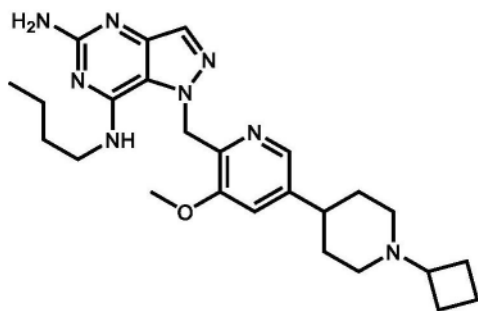
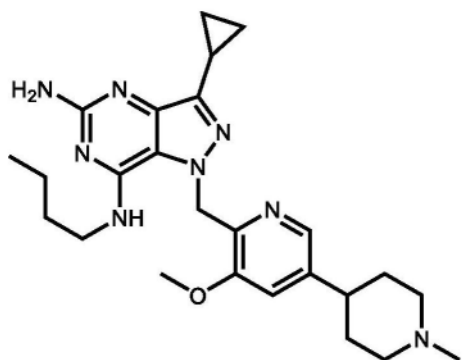
其中

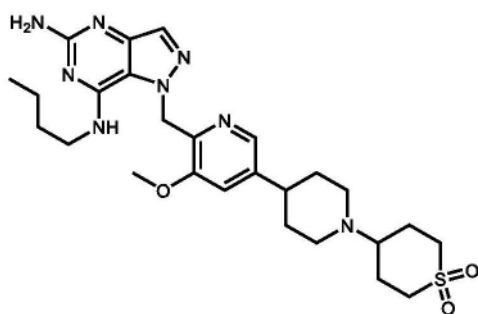
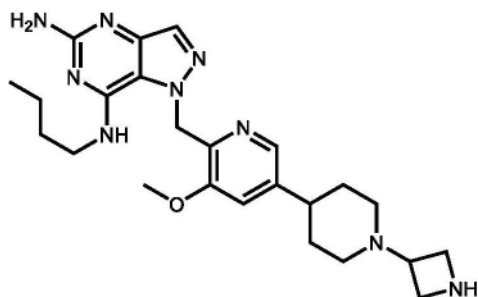
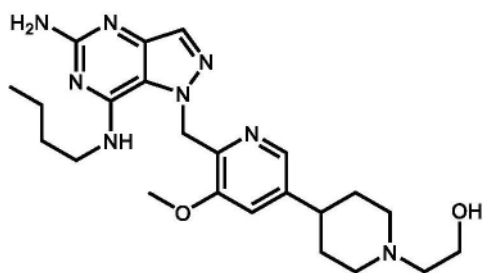
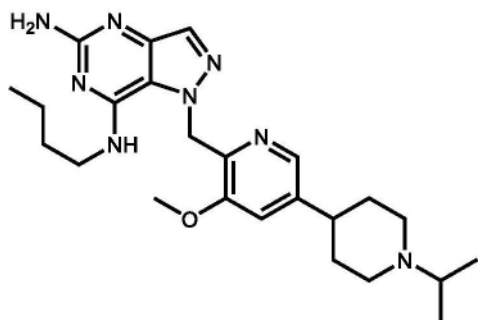
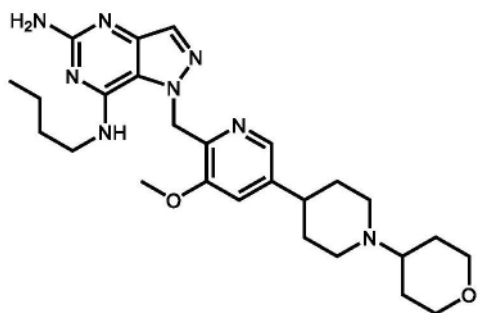


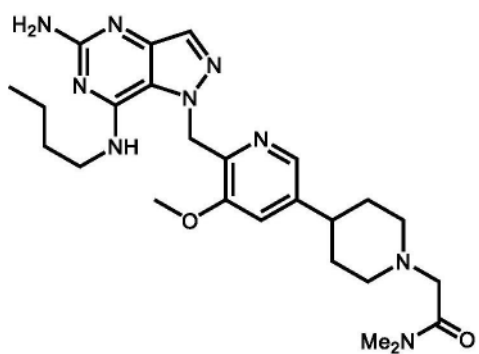
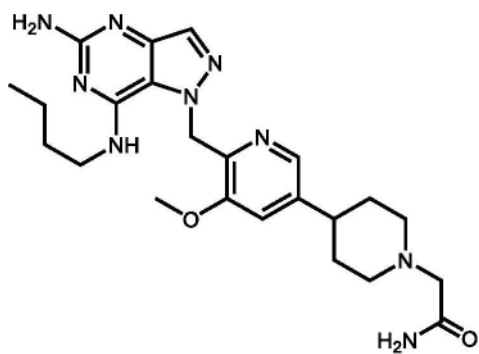
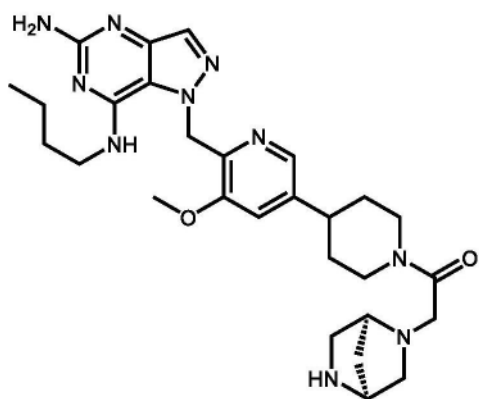
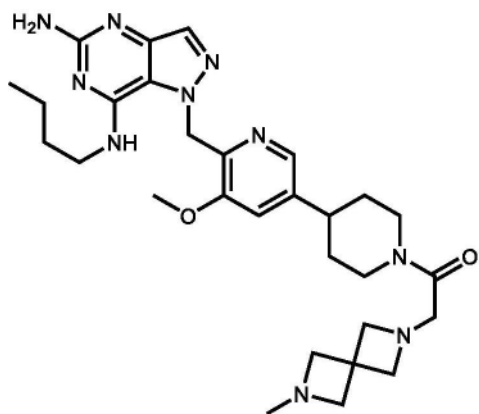
H、Me、

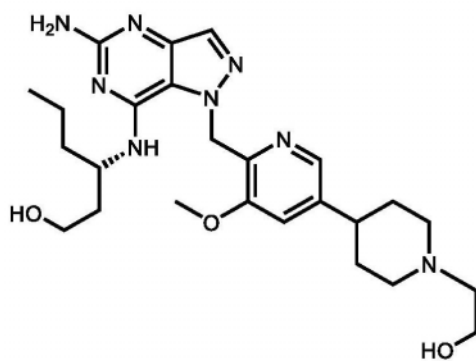
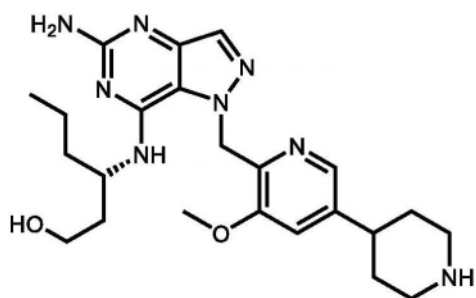
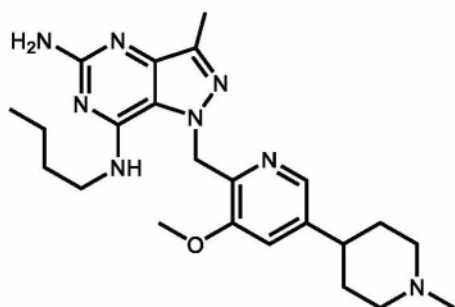
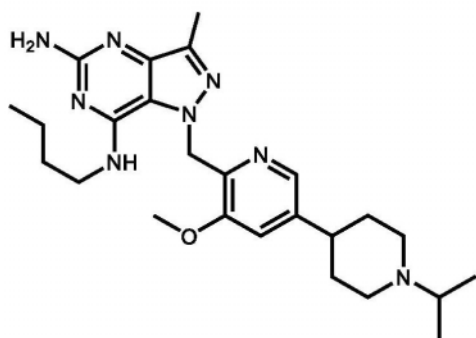
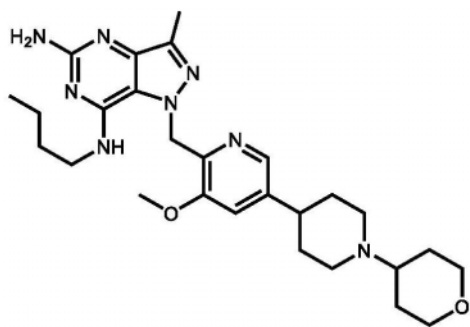


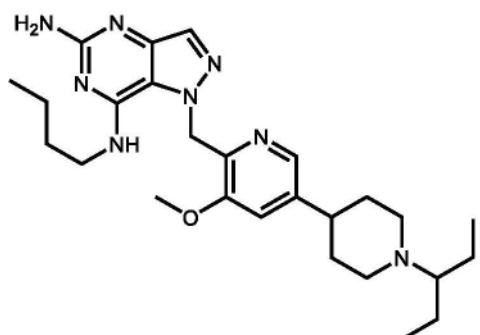
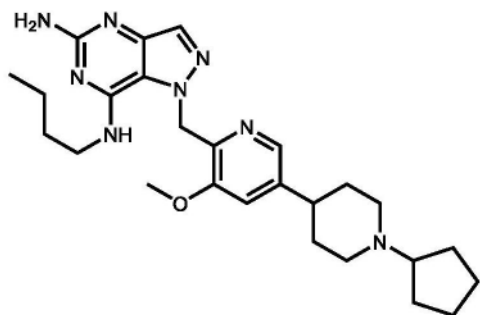
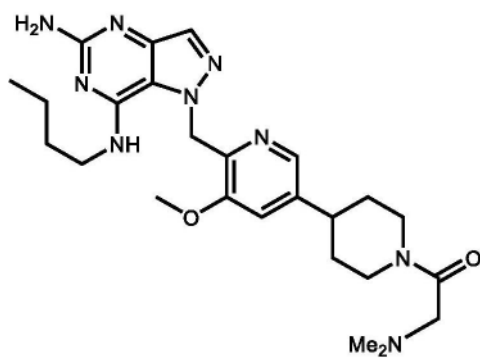
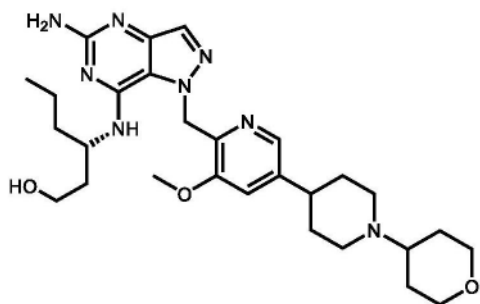
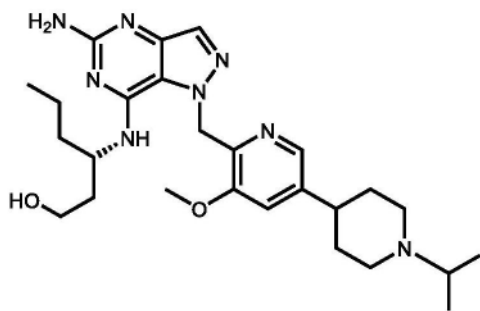


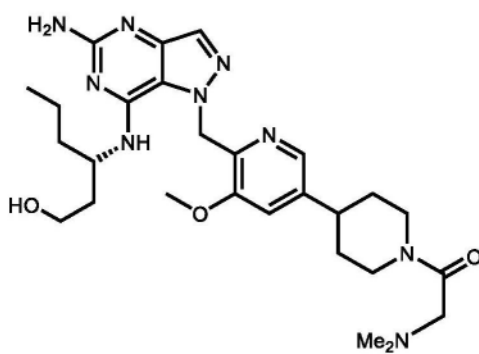
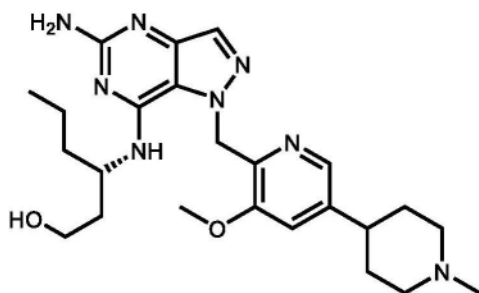
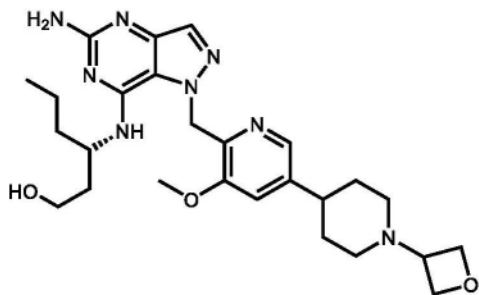
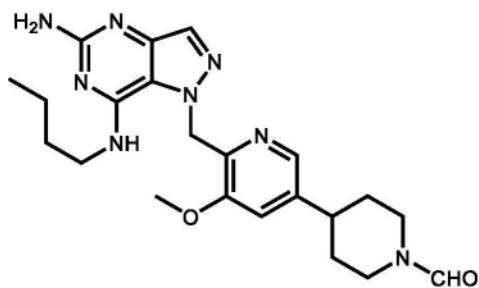
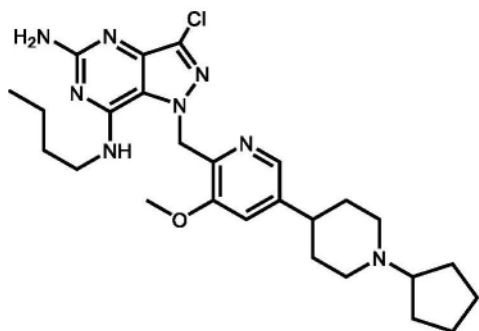


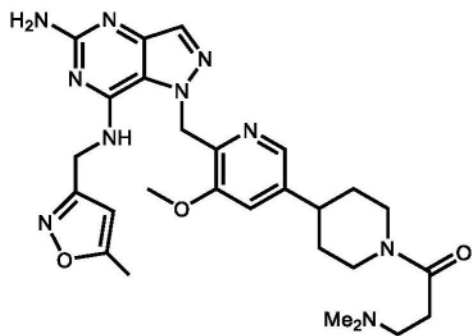
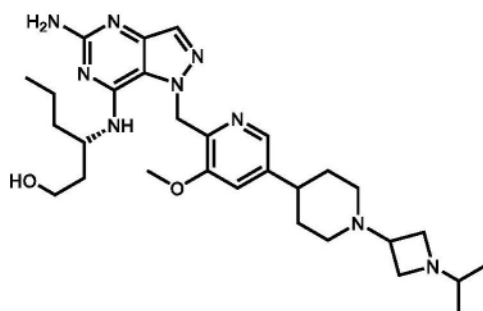
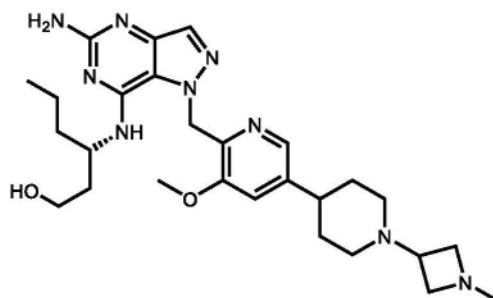
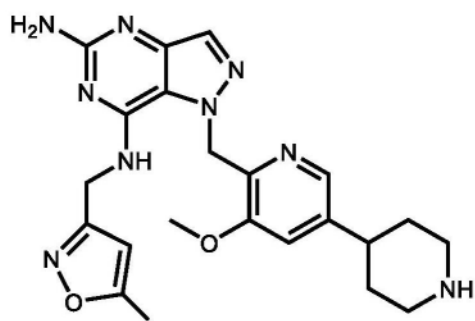
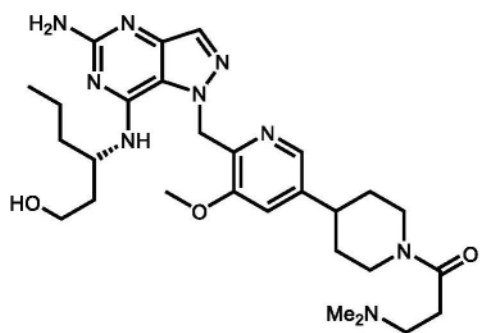


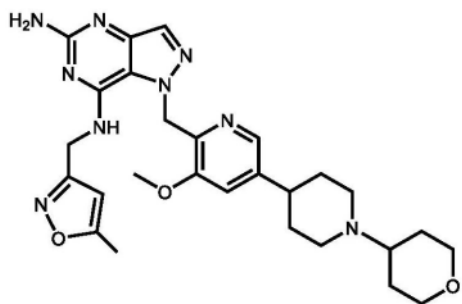


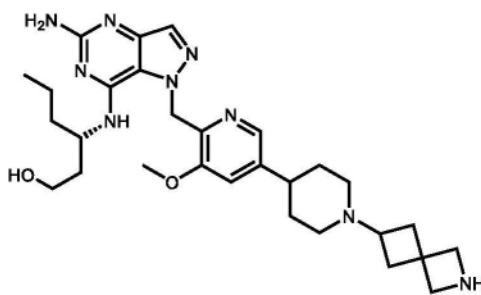
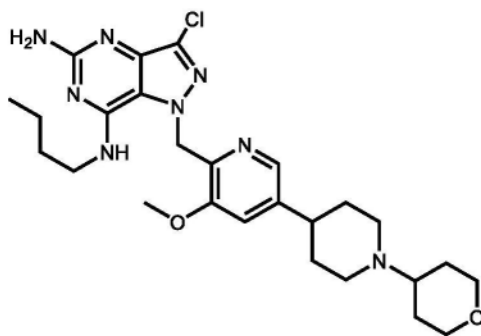
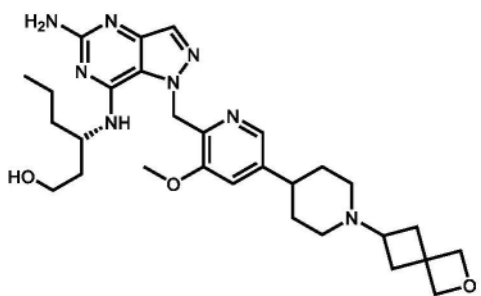
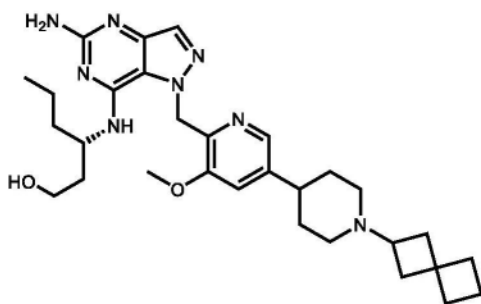
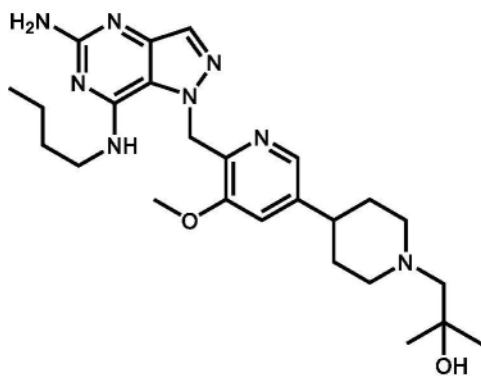


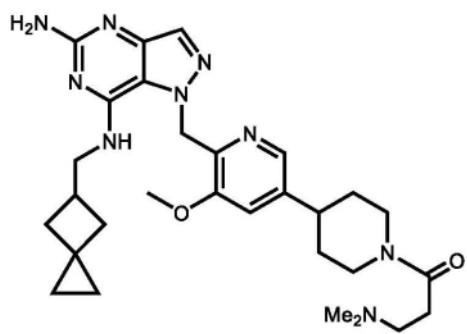
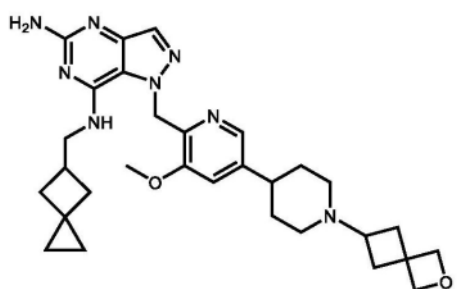
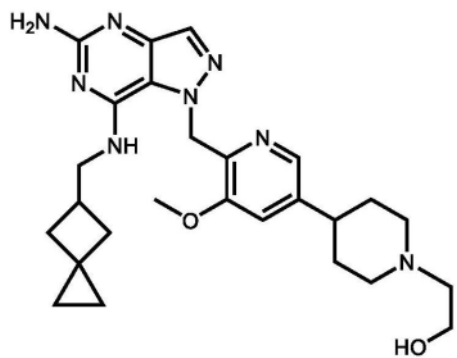
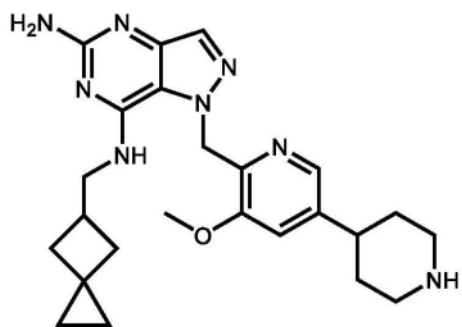
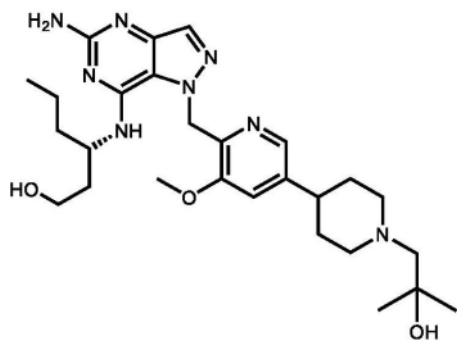


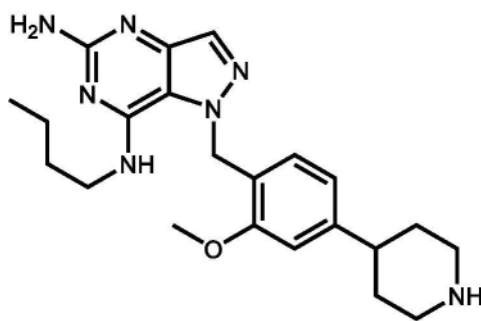
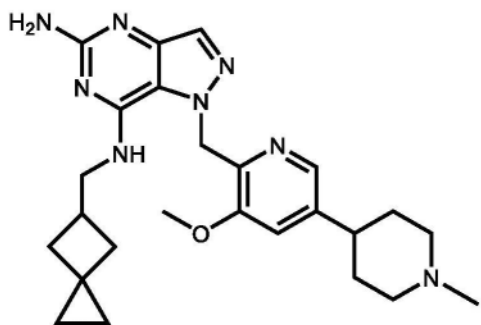
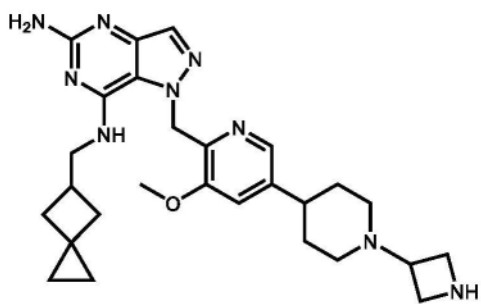
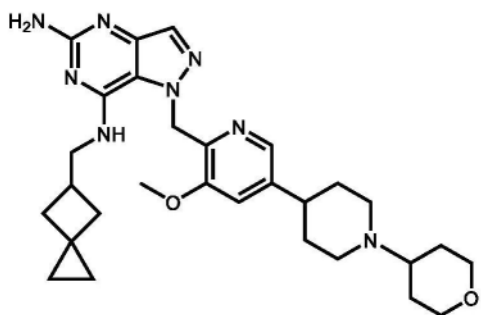
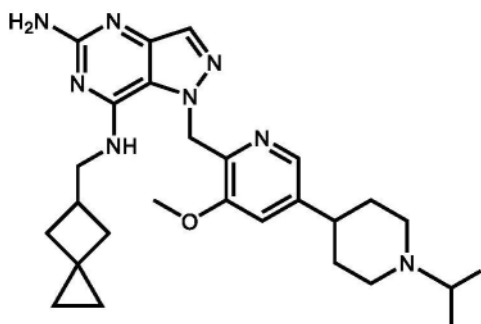


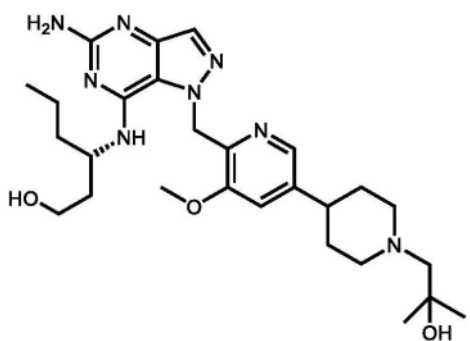
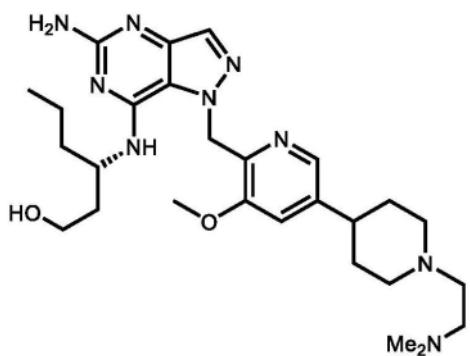
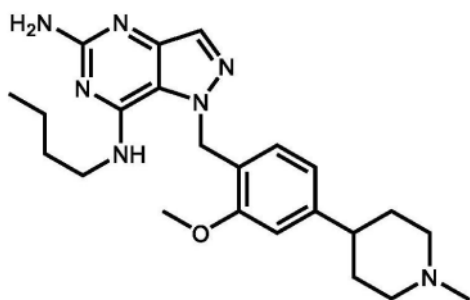
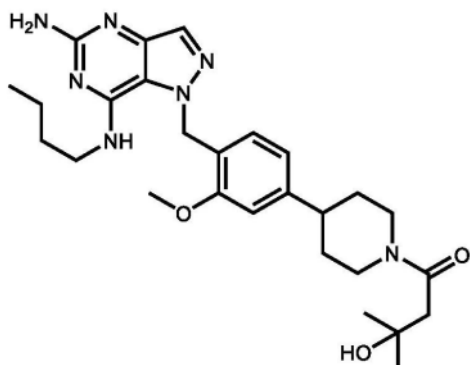
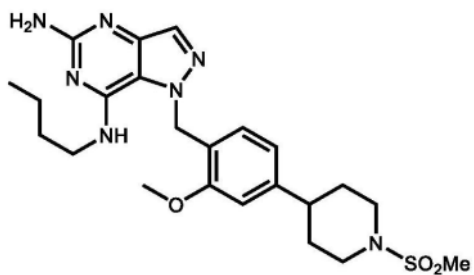


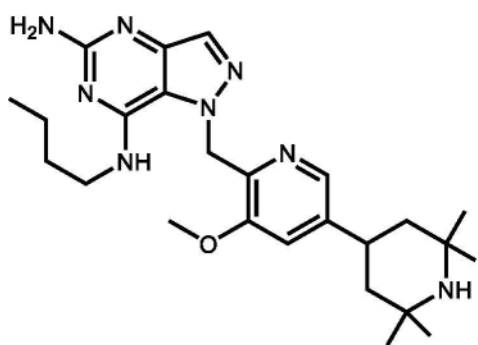
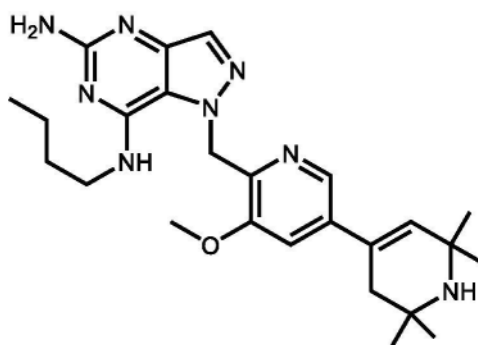
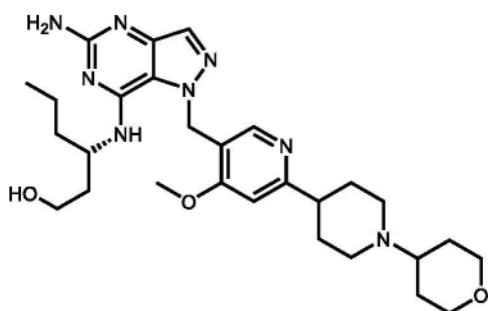
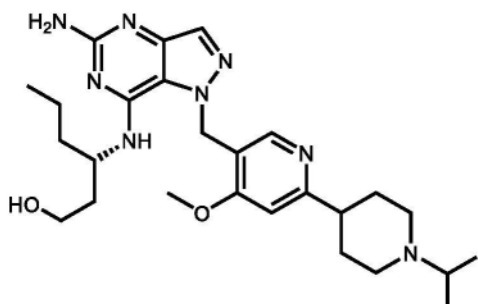
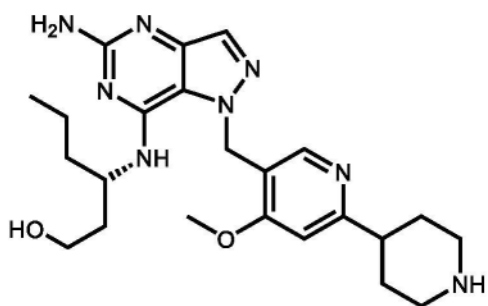


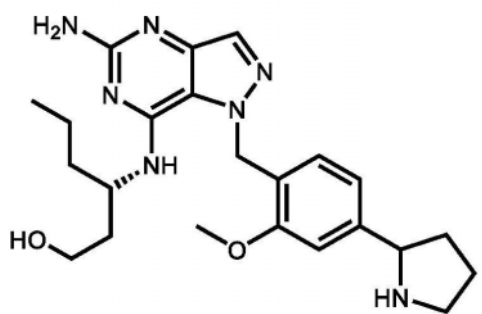
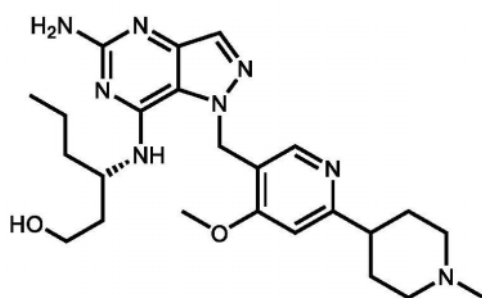
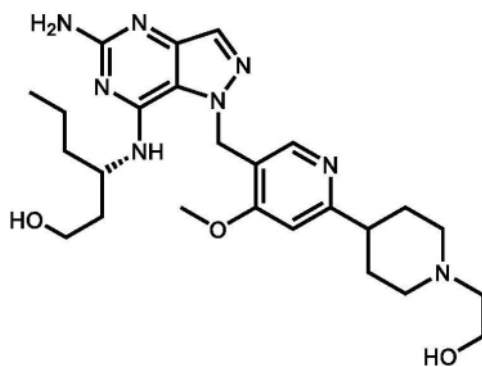
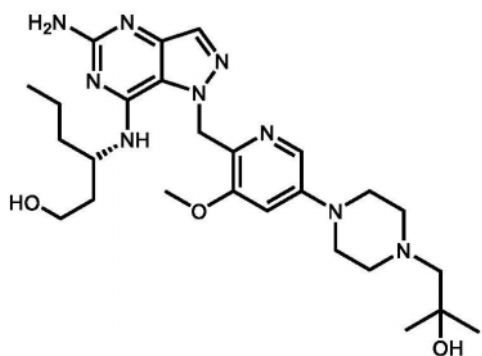
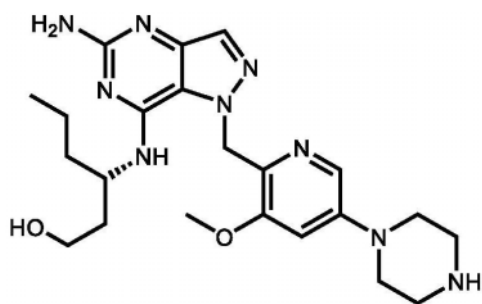


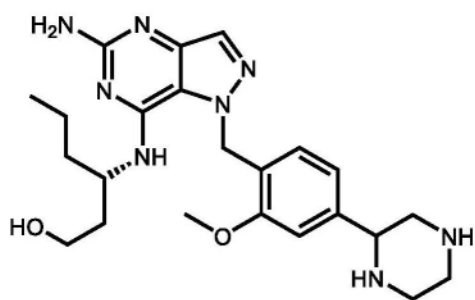
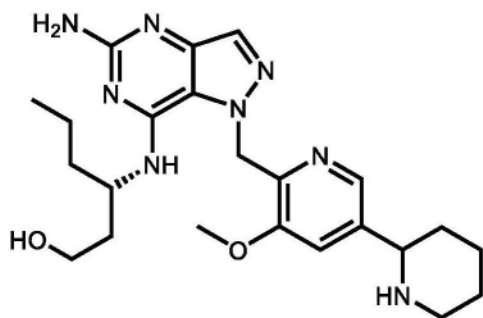
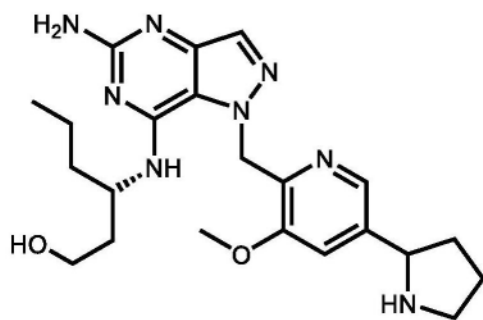
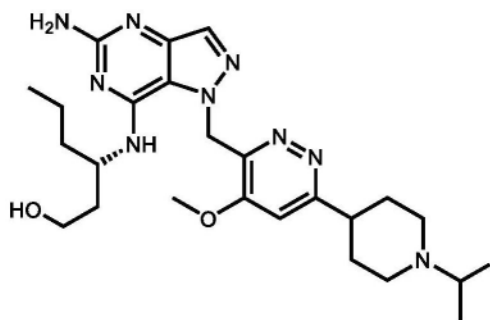
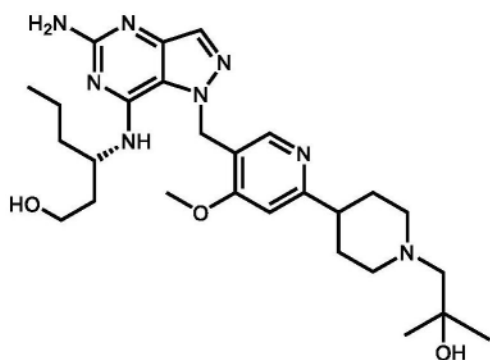


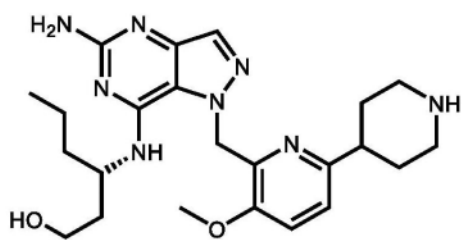
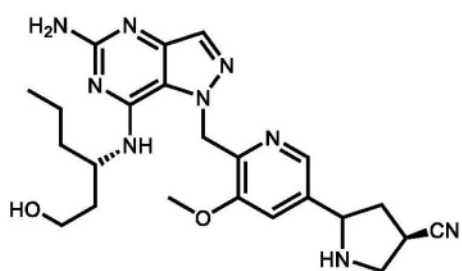
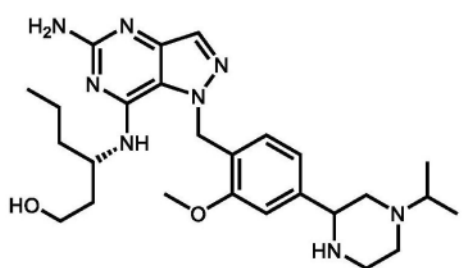
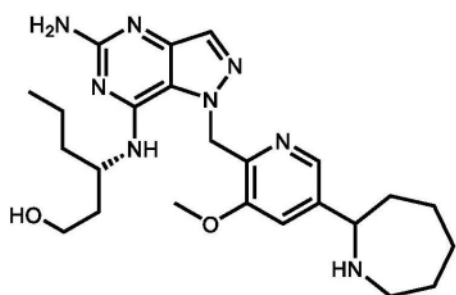
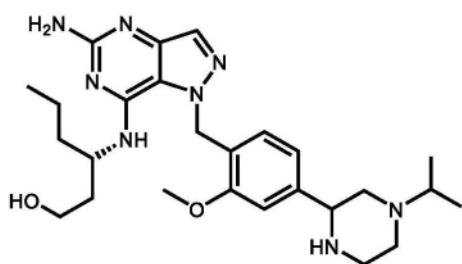
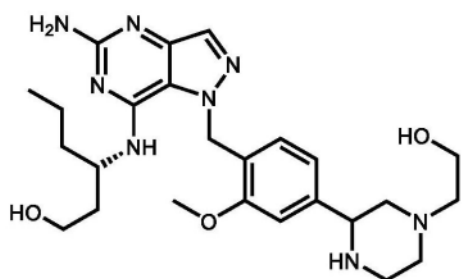


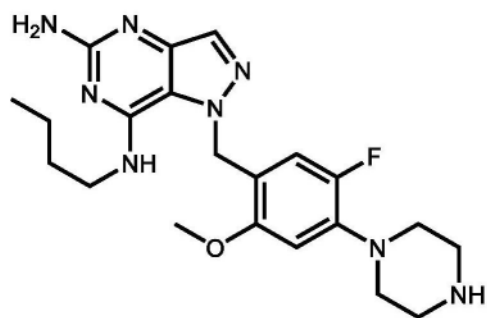
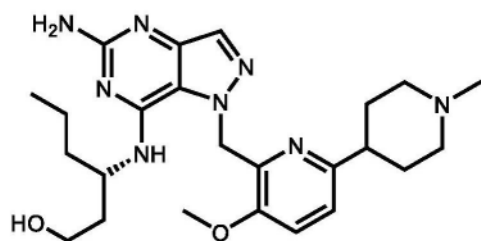
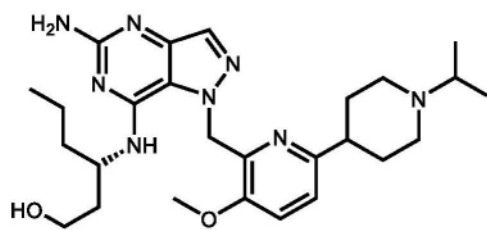
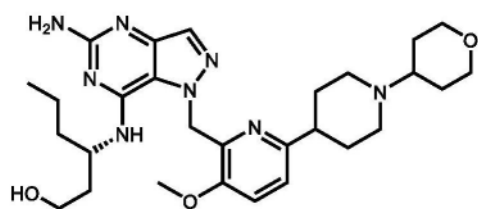
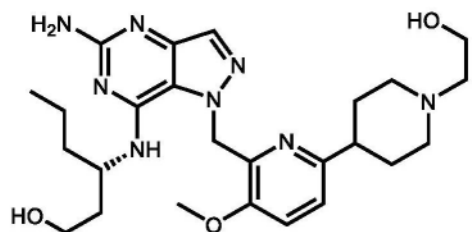
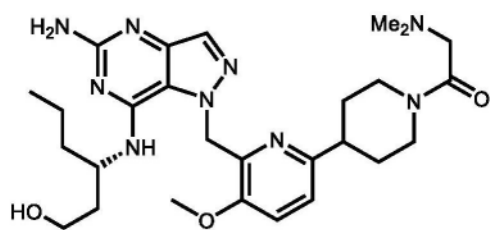


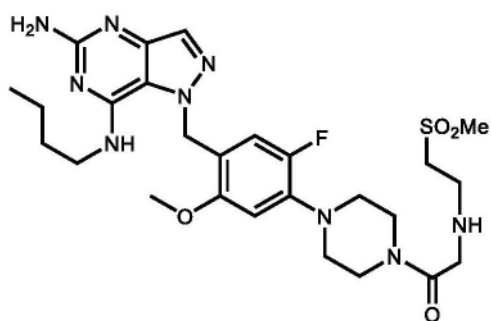
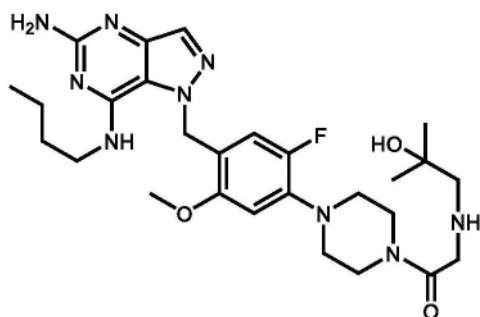
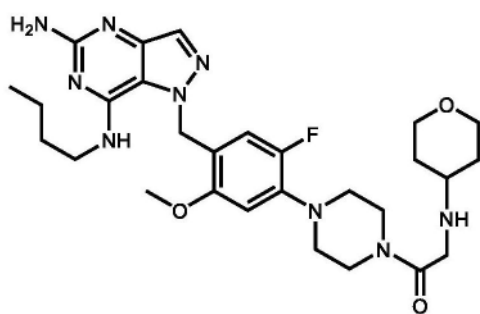
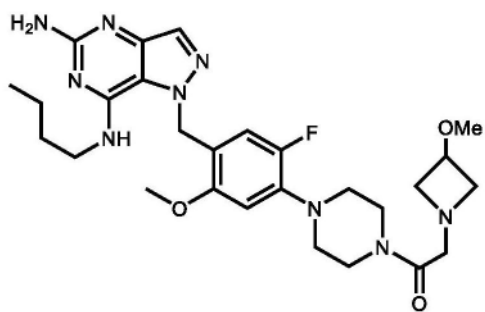
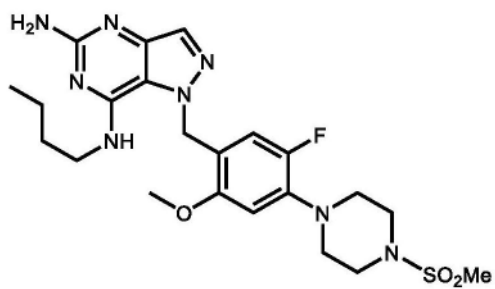


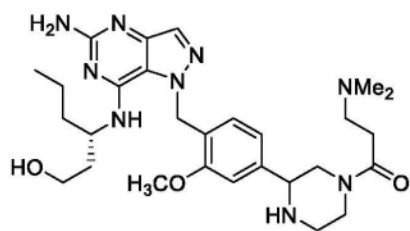
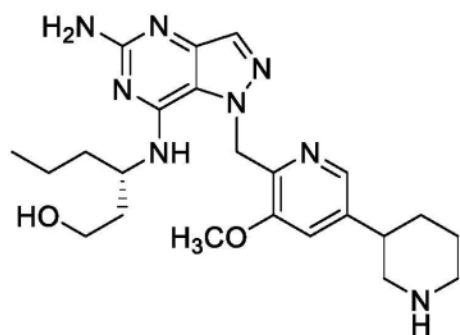
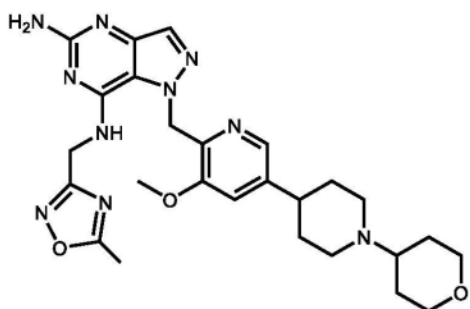
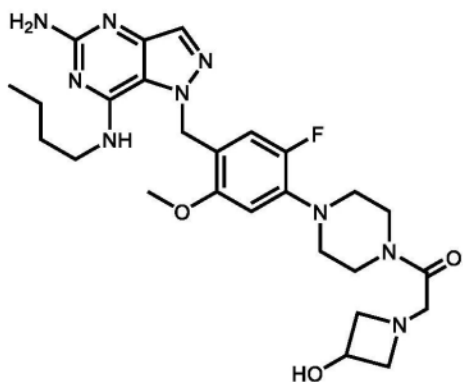
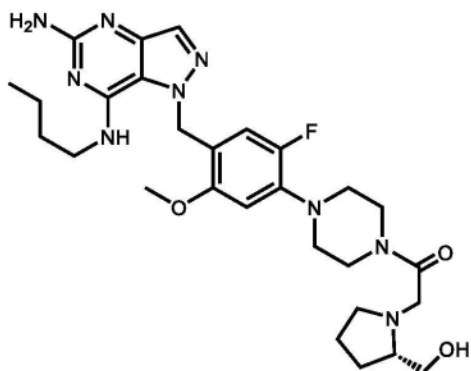


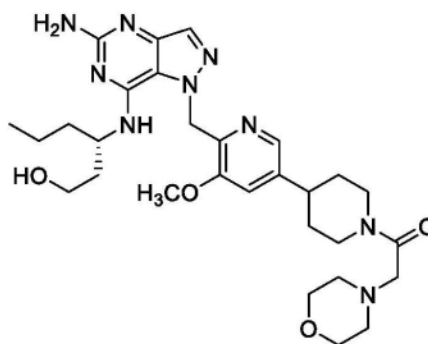
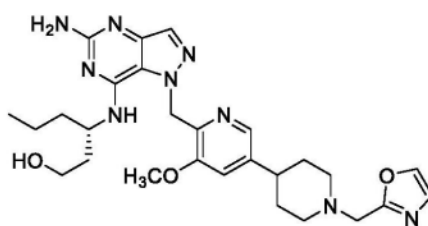
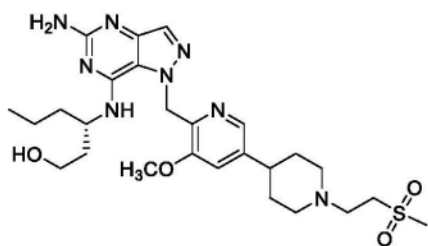
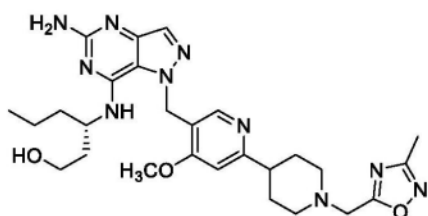
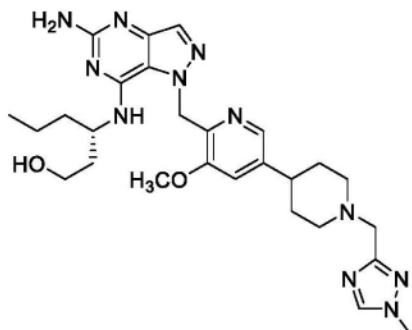
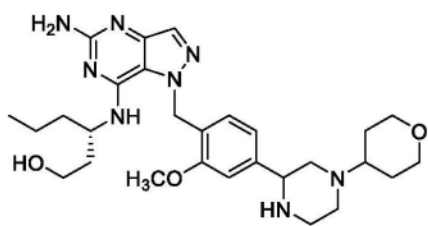


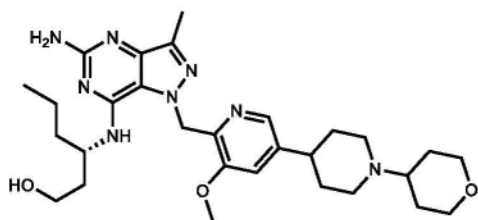
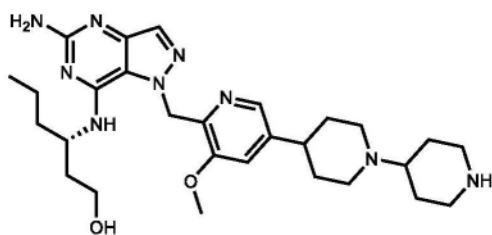
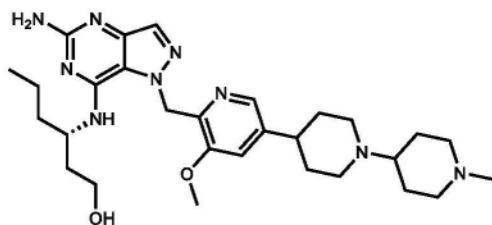
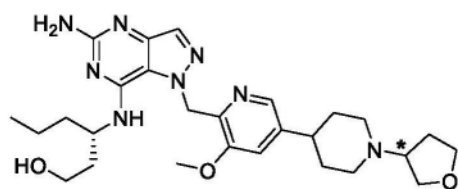
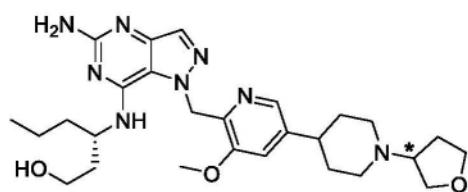
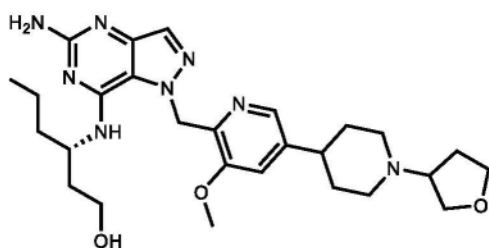
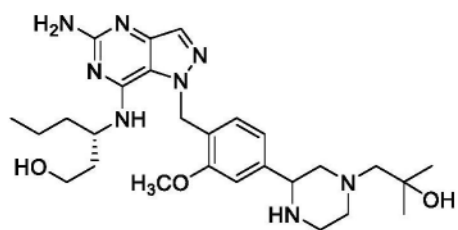


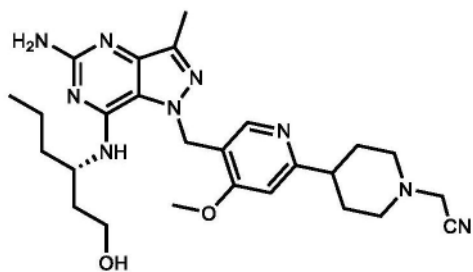
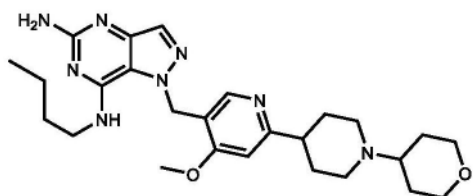
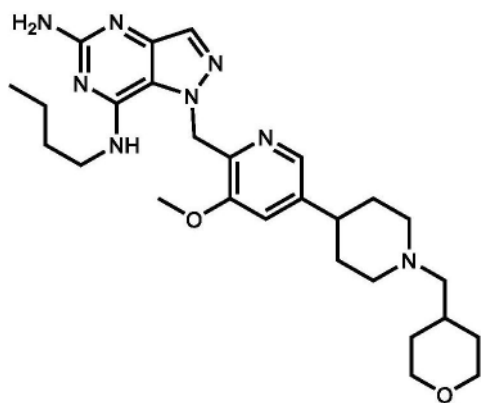
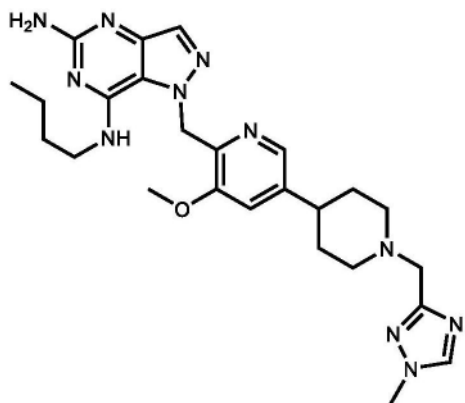
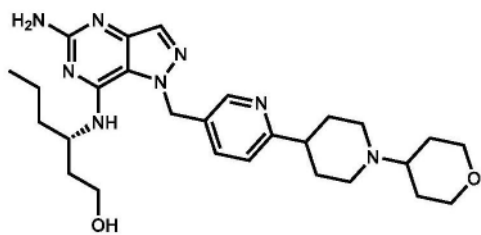


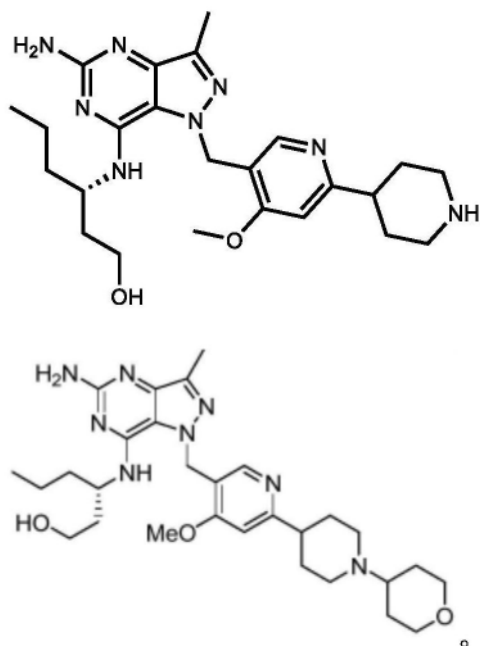












7. 根据权利要求1-6中任一项所述的化合物在制备用于在一种治疗癌症的方法中使用的药物中的用途,所述方法包括向患有这样的癌症的患者施用抗癌免疫治疗剂和根据权利要求1-6中任一项所述的化合物的治疗有效组合。

8. 根据权利要求7所述的用途,其中所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗CTLA-4、抗PD-1或抗PD-L1抗体。

9. 根据权利要求8所述的用途,其中所述癌症是肺癌、胰腺癌、肾癌、头颈癌、淋巴瘤、皮肤癌、尿路上皮癌、胃癌、肝细胞癌或结直肠癌。

10. 根据权利要求8所述的用途,其中所述癌症是非小细胞肺癌、霍奇金淋巴瘤、黑色素瘤、梅克尔皮肤癌或膀胱癌。

11. 根据权利要求9或10所述的用途,其中所述抗癌免疫治疗剂是伊匹单抗、纳武单抗或派姆单抗。

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

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35 U.S.C. §119 (e) 要求2020年7月29日提交的美国临时申请序列号63/058,144和2020年1月27日提交的美国临时申请序列号62/966,137的权益；将其公开内容通过引用并入本文。

背景技术

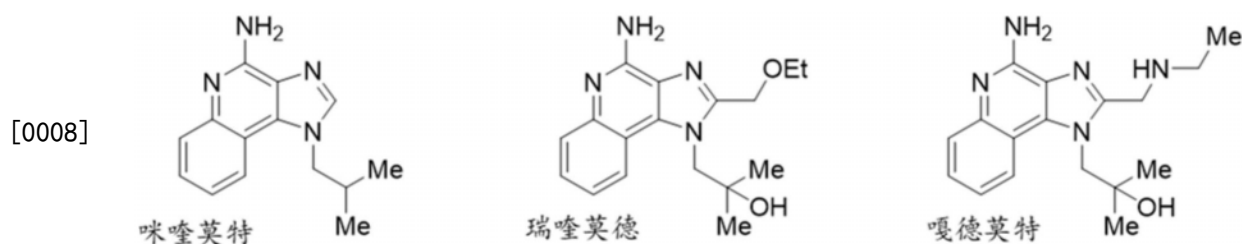
[0003] 本公开文本涉及Toll样受体7 (“TLR7”) 激动剂及其缀合物以及此类激动剂及其缀合物的制备和使用方法。

[0004] Toll样受体 (“TLR”) 是识别病原体相关分子模式 (“PAMP”) 的受体, 所述病原体相关分子模式是在某些种类的病原体中保守的小分子基序。TLR可以位于细胞表面或细胞内。通过结合其同源PAMP而激活TLR传递了宿主内存在相关病原体 (即, 感染) 的信号并且刺激宿主的免疫系统以抵抗感染。人具有10种TLR, 称为TLR1、TLR2、TLR3等。

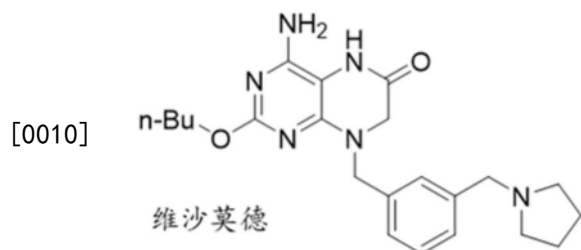
[0005] 通过激动剂激活TLR (其中TLR7是研究最多的) 可以对疫苗和免疫治疗剂通过刺激总体免疫应答而在治疗除实际病原体感染以外的多种病症中的作用产生积极效果。因此, 对TLR7激动剂在癌症免疫疗法中作为疫苗佐剂或作为增强剂的用途存在很大兴趣。参见例如, Vasilakos和Tomai 2013, Sato-Kaneko等人2017, Smits等人2008以及Ota等人2019。

[0006] TLR7 (位于内体膜上的细胞内受体) 识别与单链RNA病毒相关的PAMP。它的激活诱导I型干扰素 (诸如IFN α 和IFN β) 的分泌 (Lund等人2004)。TLR7具有两个结合位点, 一个用于单链RNA配体 (Berghöfer等人2007), 并且一个用于小分子诸如鸟苷 (Zhang等人2016)。

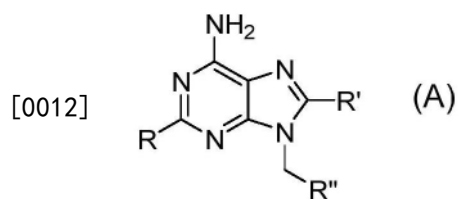
[0007] TLR7可以与基于1H-咪唑并[4,5-c]喹啉骨架的鸟苷样合成激动剂 (诸如咪喹莫特、瑞喹莫德和嘎德莫特 (gardiquimod)) 结合并且被其激活。关于小分子TLR7激动剂的综述, 参见Cortez和Va 2018。



[0009] 基于嘧啶酮分子骨架的合成TLR7激动剂也是已知的, 如由维沙莫德 (vesatolimod) 所例示的 (Desai等人2015)。



[0011] 已经公开了经常根据通式 (A) 的基于嘌呤样骨架的其他合成TLR7激动剂:



[0013] 其中R、R' 和R'' 是结构变量,其中R'' 通常含有未经取代的或经取代的芳族或杂芳族环。

[0014] 具有嘌呤样骨架的生物活性分子及其在治疗诸如纤维化、炎症性障碍、癌症或病原性感染的病症中的用途的公开文本包括:Akinbobuyi等人2015和2016;Barberis等人2012;Carson等人2014;Ding等人2016,2017a和2017b;Graupe等人2015;Hashimoto等人2009;He等人2019a和2019b;Hollack等人2012;Isobe等人2009a和2012;Poudel等人2019a和2019b;Pryde 2010;以及Young等人2019。

[0015] 基团R'' 可以是吡啶基;Bonfanti等人2015a和2015b;Halcomb等人2015;Hirota等人2000;Isobe等人2002,2004,2006,2009a,2009b,2011和2012;Kasibhatla等人2007;Koga-Yamakawa等人2013;Musmuca等人2009;Nakamura 2012;Ogita等人2007;以及Yu等人2013。

[0016] 存在式 (A) 的6,5-稠合环系统(即与咪唑五元环稠合的嘧啶六元环)被修饰的相关分子的公开文本。(a) Dellaria等人2007,Jones等人2010和2012,以及Pilatte等人2017披露了嘧啶环被吡啶环替代的化合物。(b) Chen等人2011,Coe等人2017,Poudel等人2020a和2020b,以及Zhang等人2018披露了咪唑环被吡唑环替代的化合物。(c) Cortez等人2017和2018;Li等人2018;以及McGowan等人2016a,2016b和2017披露了咪唑环被吡咯环替代的化合物。

[0017] Bonfanti等人2015b和2016以及Purandare等人2019披露了大环跨越嘌呤部分的两个环的TLR7调节剂:

[0018] TLR7激动剂可以与配偶体分子缀合,所述配偶体分子可以是例如磷脂、聚(乙二醇) (“PEG”)、抗体或另一种TLR(通常是TLR2)。示例性公开文本包括:Carson等人2013,2015和2016,Chan等人2009和2011,Cortez等人2017,Gadd等人2015,Lioux等人2016,Maj等人2015,Vernejoul等人2014,以及Zurawski等人2012。频繁的缀合位点是在式 (A) 的R'' 基团处。

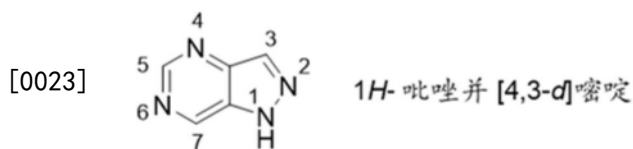
[0019] Jensen等人2015披露了阳离子脂质媒介物用于递送TLR7激动剂的用途。

[0020] 一些TLR7激动剂(包括瑞喹莫德)是双重TLR7/TLR8激动剂。参见例如,Beesu等人2017,Embrechts等人2018,Lioux等人2016,以及Vernejoul等人2014。

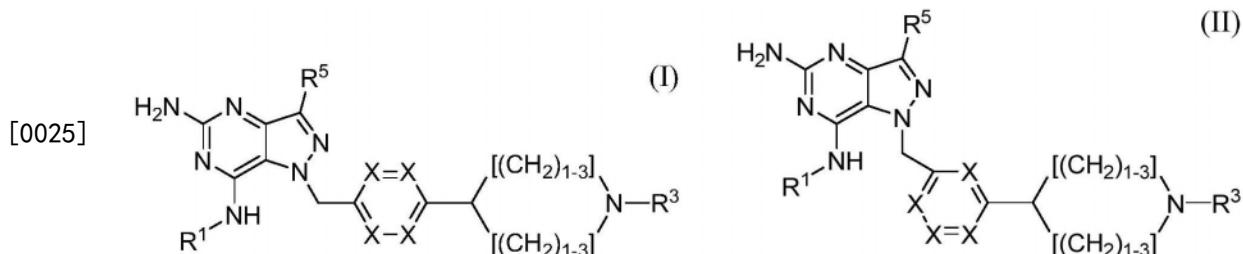
[0021] 本说明书的结尾处列出了通过第一作者或发明人和年份对本文中引用的文献的完全引用。

发明内容

[0022] 本说明书涉及具有1H-吡唑并[4,3d]嘧啶芳族系统的化合物,其具有作为TLR7激动剂的活性。



[0024] 在一个方面,提供了一种具有根据式(I)或(II)的结构的化合物



[0026] 其中

[0027] 每个X独立地是N或CR²;

[0028] R¹是H、

[0029] (C₁-C₅烷基)、

[0030] (C₂-C₅烯基)、

[0031] (C₁-C₈烷二基)₀₋₁ (C₃-C₆环烷基)、

[0032] (C₁-C₈烷二基)₀₋₁ (C₅-C₁₀螺烷基)、

[0033] (C₂-C₈烷二基)OH、

[0034] (C₂-C₈烷二基)O(C₁-C₃烷基)、

[0035] (C₁-C₄烷二基)₀₋₁ (5-6元杂芳基)、

[0036] (C₁-C₄烷二基)₀₋₁苯基、

[0037] (C₁-C₄烷二基)CF₃、

[0038] (C₂-C₈烷二基)N[C(=O)](C₁-C₃烷基)、

[0039] 或

[0040] (C₂-C₈烷二基)NR^xR^y;

[0041] 每个R²独立地是H、O(C₁-C₃烷基)、S(C₁-C₃烷基)、SO₂(C₁-C₃烷基)、C₁-C₃烷基、

[0042] O(C₃-C₄环烷基)、S(C₃-C₄环烷基)、SO₂(C₃-C₄环烷基)、C₃-C₄环烷基、Cl、F、CN或[C(=O)]₀₋₁NR^xR^y;

[0043] R³是[C(=O)]₀₋₁H、

[0044] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₅烷基)、

[0045] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₃-C₈环烷基)、

[0046] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₄-C₁₀二环烷基)、

[0047] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁(C₅-C₁₀螺烷基)、

[0048] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁O(C₁-C₃烷基)、

[0049] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁OH、

[0050] [C(=O)]₀₋₁(C₁-C₄烷二基)₀₋₁NR^xR^y、

[0072] $N[C(=O)]_{0-1}(C_1-C_3\text{烷基})$ 、

[0073] $N[C(=O)]_{0-1}(C_1-C_4\text{烷二基})_{0-1}CF_3$ 、

[0074] 或

[0075] $N[C(=O)]_{0-1}(C_1-C_4\text{烷二基})_{0-1}(C_3-C_5\text{环烷基})$ 。

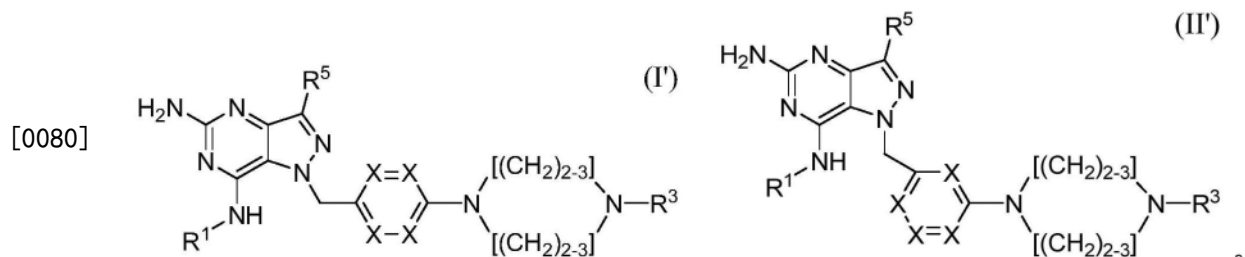
[0076] 本文公开的化合物具有作为TLR7激动剂的活性,并且一些化合物可以与抗体缀合,用于靶向递送至预期作用的靶组织或器官。还可以将其聚乙二醇化,以调节其药物特性。

[0077] 本文公开的化合物或其缀合物或其聚乙二醇化衍生物可以用于通过向患有顺从通过激活免疫系统进行治疗的病症的受试者施用治疗有效量的这样的化合物或其缀合物或其聚乙二醇化衍生物(尤其是与疫苗或癌症免疫治疗剂组合)治疗这样的受试者。

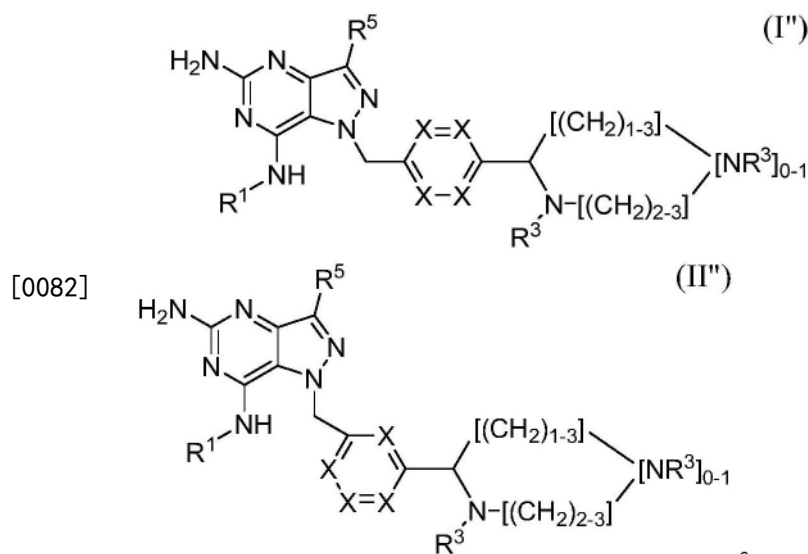
具体实施方式

[0078] 化合物

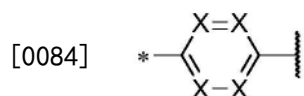
[0079] 在另一个方面,本公开文本提供了具有根据式(I')或(II')的结构的化合物,其中 R^1 、 R^5 、 R^3 和X是如关于式(I)所定义的:



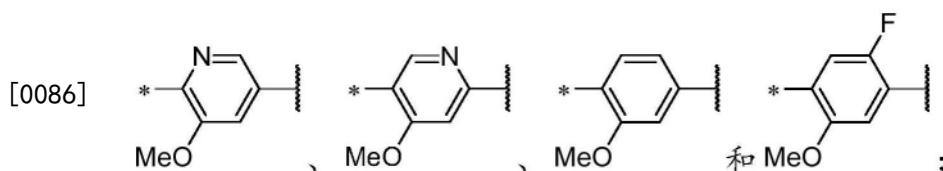
[0081] 在另一个方面,本公开文本提供了具有根据式(I'')或(II'')的结构的化合物,其中 R^1 、 R^5 、 R^3 和X是如关于式(I)所定义的:



[0083] 在式(I)、(I')或(I'')的化合物中,以下部分的实施方案

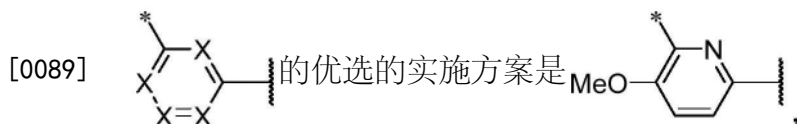


[0085] 包括



[0087] 其中星号*表示与吡唑并嘧啶部分键合的位置并且曲线表示与基团W键合的位置,其中第一个实施方案为优选的实施方案。

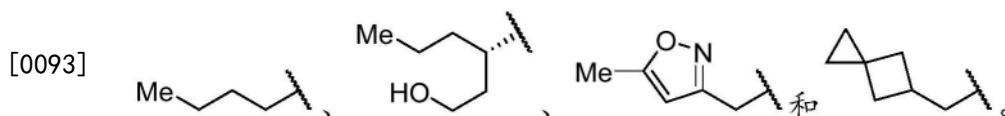
[0088] 在式(II)、(II')和(II'')的化合物中,部分



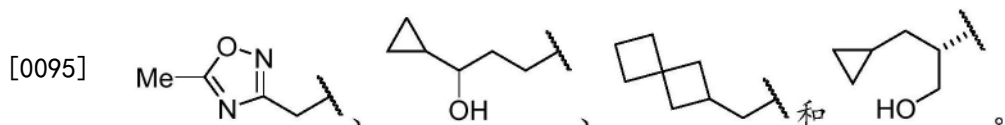
[0090] 其中星号*表示与吡唑并嘧啶部分键合的位置并且曲线表示与基团W键合的位置。

[0091] 基团R⁵的实施方案包括H(优选)、环丙基、Cl和Me。

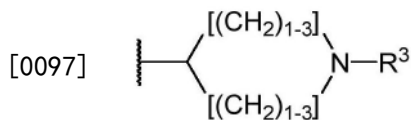
[0092] 基团R¹的实施方案包括



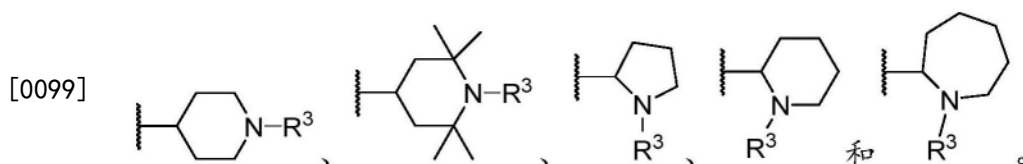
[0094] 基团R¹的另外的实施方案包括:



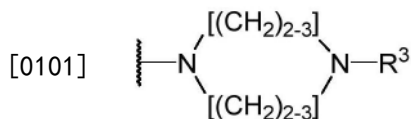
[0096] 以下基团的实施方案



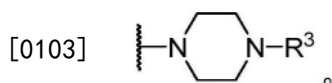
[0098] 包括:



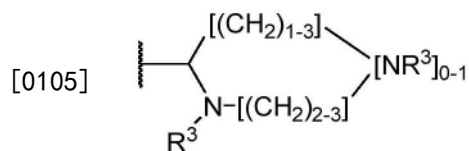
[0100] 以下基团的实施方案



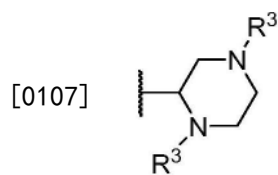
[0102] 是



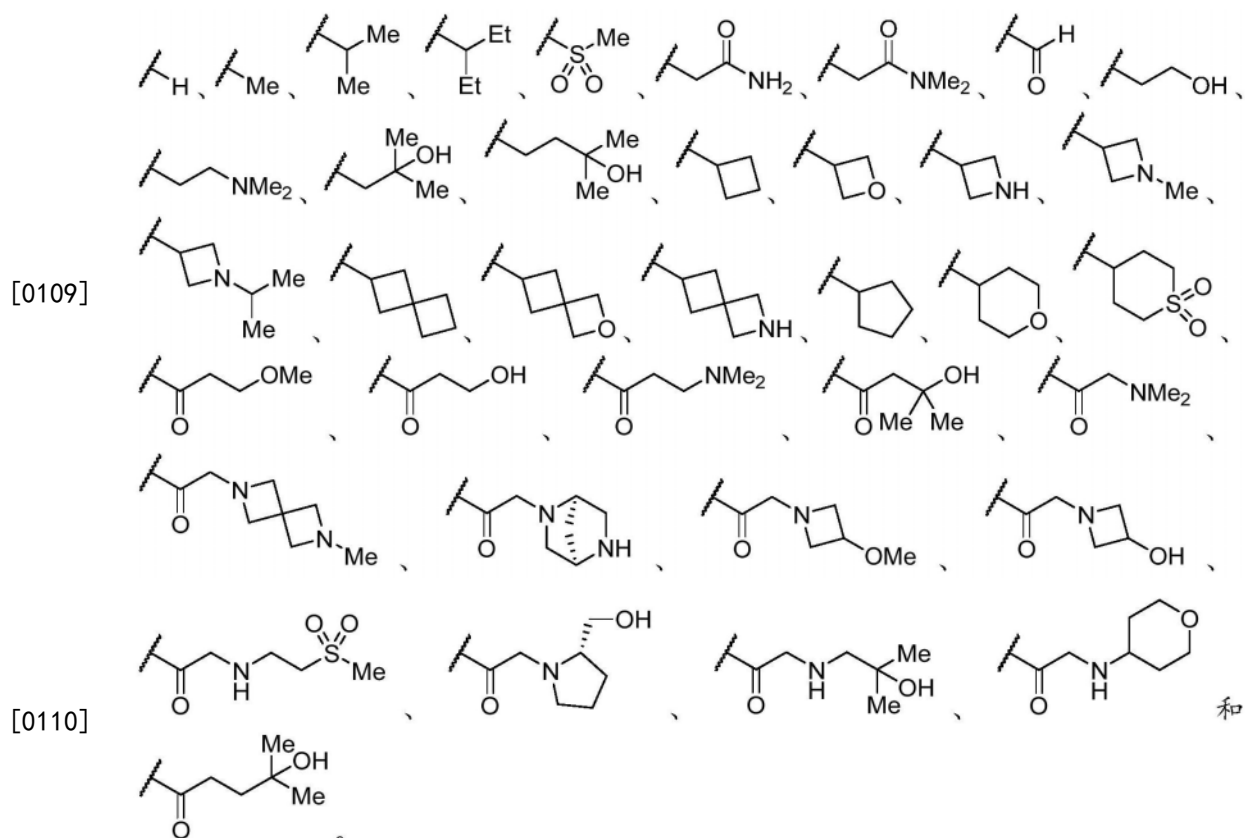
[0104] 以下基团的实施方案



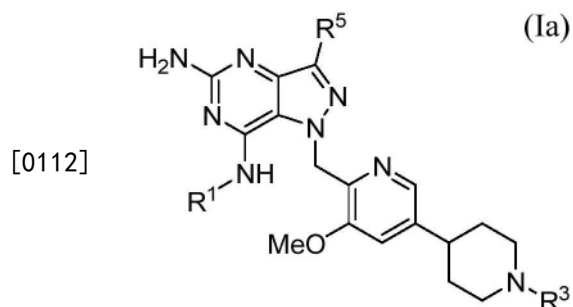
[0106] 是



[0108] 基团R³的实施方案包括：

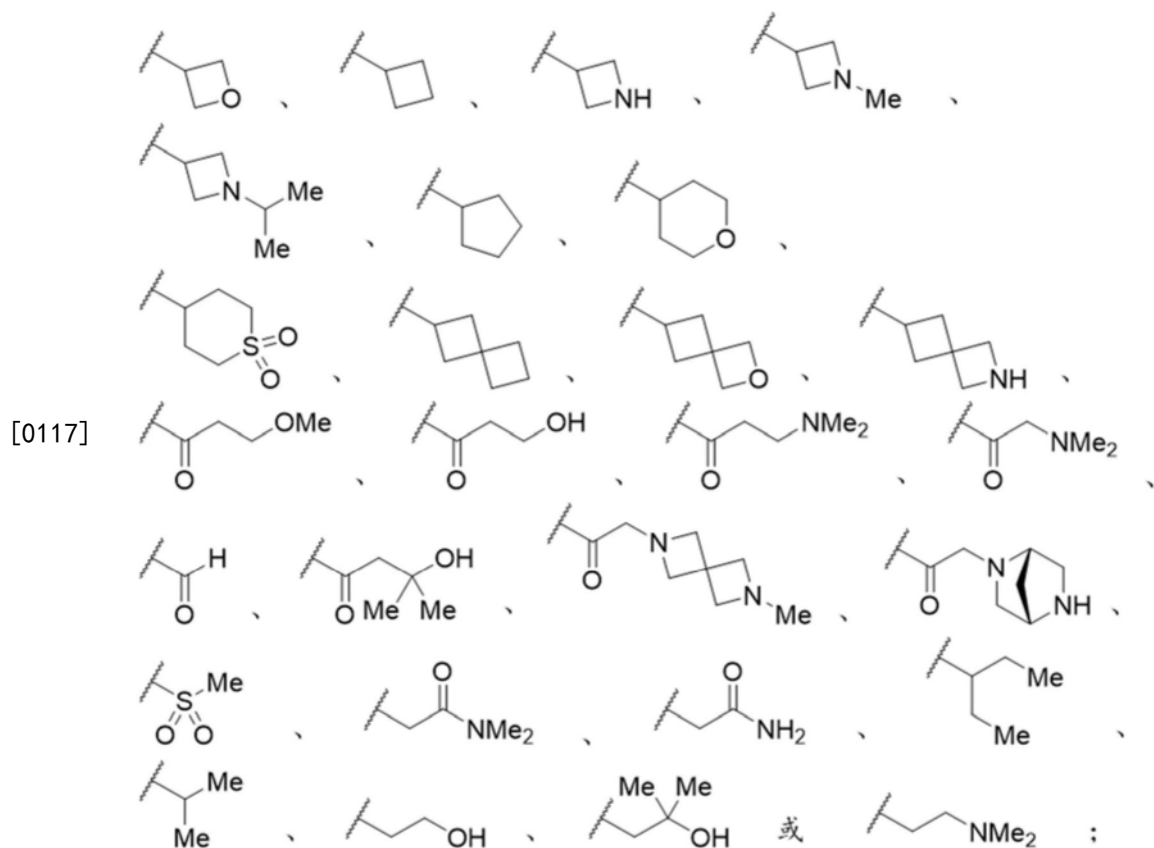
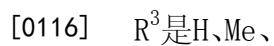
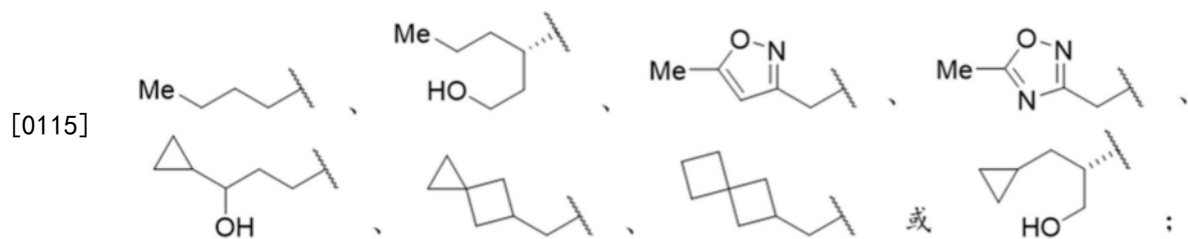


[0111] 在一个方面,本公开文本的化合物是根据式(Ia),其中R¹、R³和R⁵是如关于式(I)所定义的:



[0113] 在另一个方面,提供了根据式(Ia)的化合物,其中

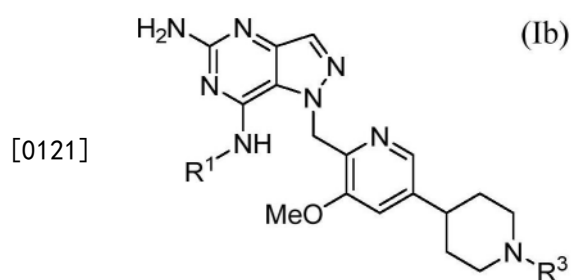
[0114] R¹是



[0118] 并且

[0119] R⁵是H、Me、环丙基或Cl。

[0120] 在另一个方面,本公开文本提供了根据式(Ib)的化合物



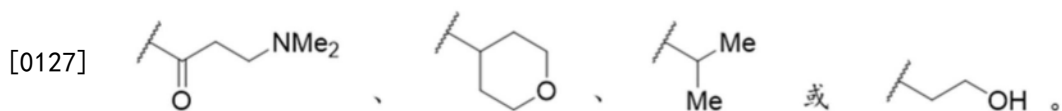
[0122] 其中

[0123] R^1 是

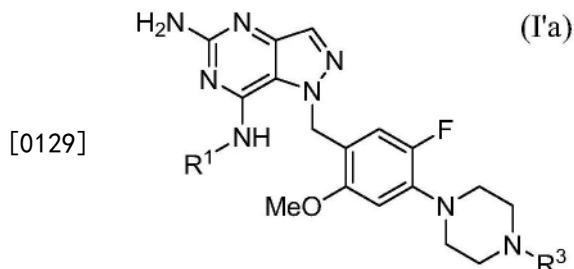


[0125] 并且

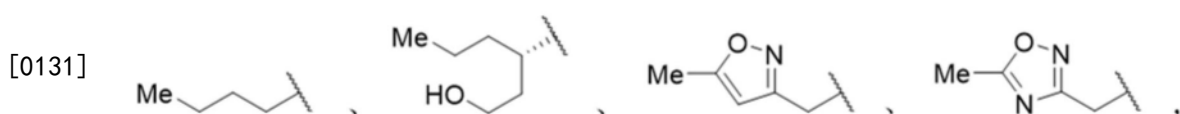
[0126] R^3 是H、



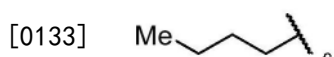
[0128] 在一个方面,本公开文本提供了具有根据式(I' a)的结构的化合物



[0130] 其中 R^1 和 R^3 是如关于式(I)所定义的。优选地,在式(I' a)的化合物中, R^1 是



[0132] 并且更优选地是

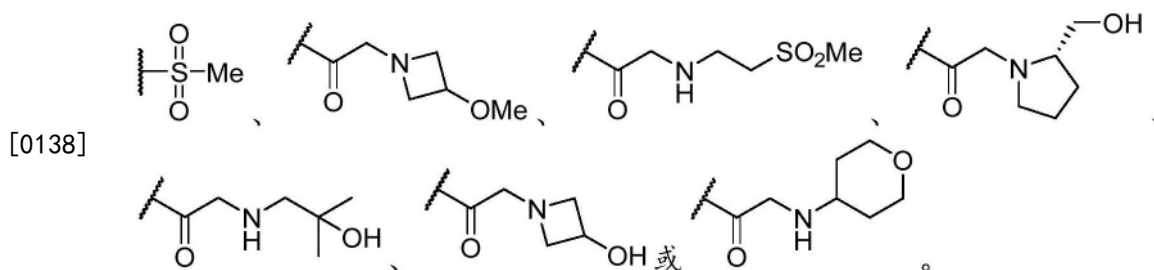


[0134] 根据式(I' a)的化合物的例子是以下那些,其中

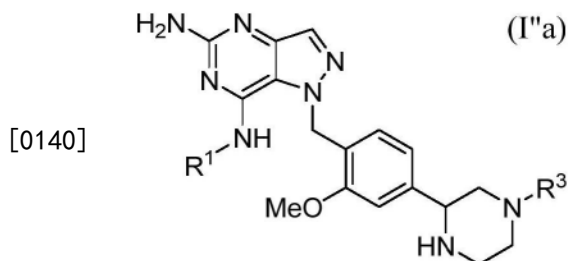
[0135] R^1 是



[0137] 并且 R^3 是H、



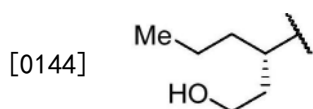
[0139] 在一个方面,本公开文本提供了具有根据式(I'' a)的结构的化合物



[0141] 其中 R^1 和 R^3 是如关于式(I)所定义的。

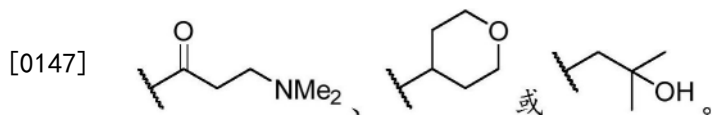
[0142] 根据式(I'' a)的化合物的例子是以下那些,其中

[0143] R^1 是

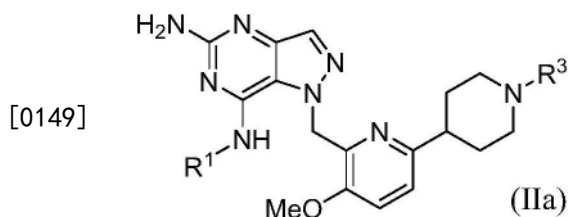


[0145] 并且

[0146] R^3 是

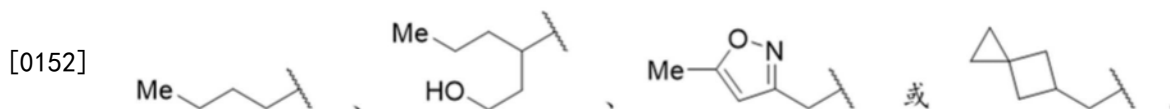


[0148] 在一个方面,本公开文本提供了具有根据式 (IIa) 结构的化合物



[0150] 其中 R^1 和 R^3 是如关于式 (II) 所定义的。

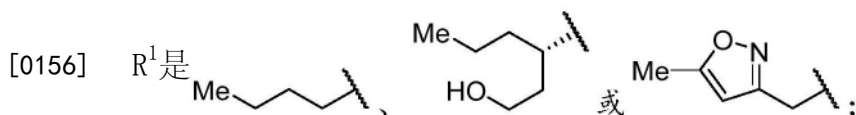
[0151] 优选地, R^1 是



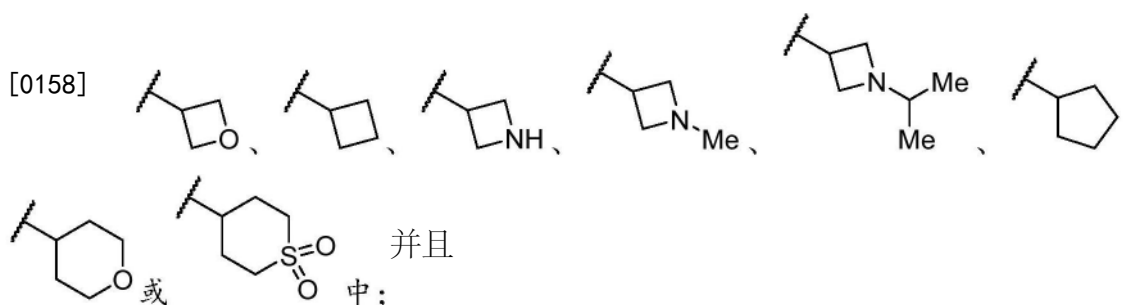
[0153] R^2 优选地是OMe、O(环丙基)或 $OCHF_2$,更优选地是OMe。

[0154] 在一个方面, R^5 是H。

[0155] 在根据式 (Ia) 的化合物的一个实施方案中:



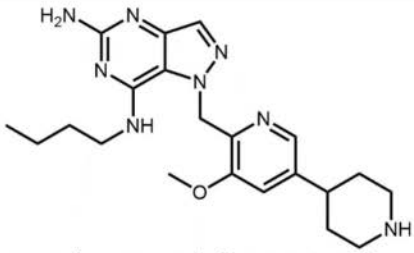
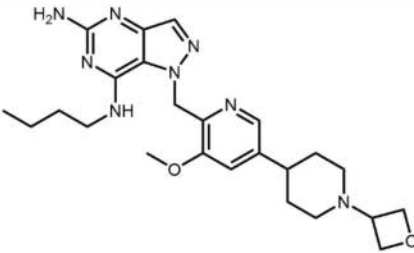
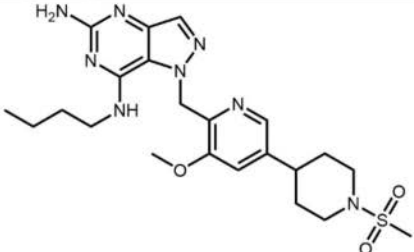
[0157] R^3 是 C_3 - C_8 环烷基部分、其中所述环烷基部分中的一个 CH_2 基团任选地被O、 SO_2 、NH或N(C_1 - C_3 烷基)替代,如在例如



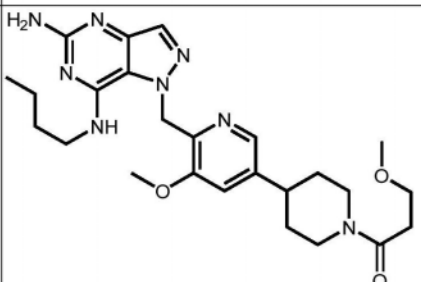
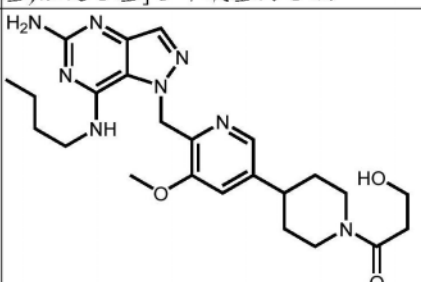
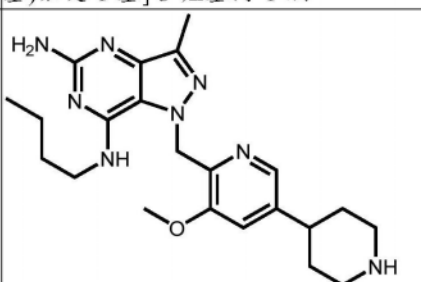
[0159] R^5 是H或C1(优选H)。

[0160] 本文公开的化合物的具体例子在下表A中示出。该表还提供了按下文提供的程序确定的与以下生物活性有关的数据:人TLR7激动作用报告物测定和/或在人全血中CD69基因的诱导。最右列包含分析数据(质谱,HPLC保留时间和NMR)。在一个实施方案中,本公开文本的化合物具有(a)小于1,000nM的人TLR7(hTLR7)报告物测定 EC_{50} 值以及(b)小于1,000nM的人全血(hWB)CD69诱导 EC_{50} 值。(在测定进行多次的情况下,所报告的值是平均值。)

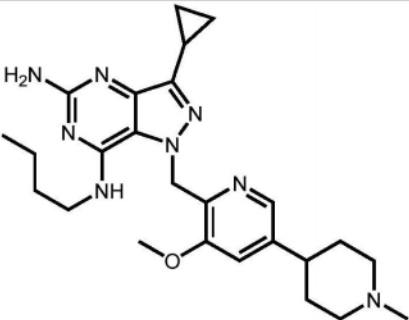
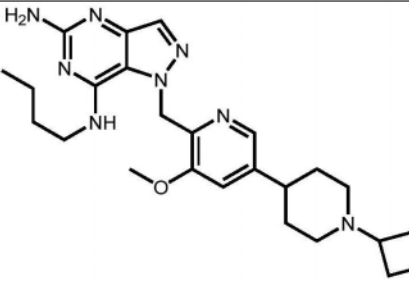
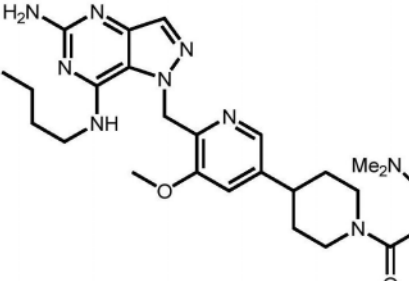
[0161]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
101	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-(1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基)甲基}-1H-咪唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	56.6	9.3	LC/MS [M+H] ⁺ = 411.2 RT (min) = 1.06 δ 8.00 - 7.84 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.57 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.60 - 3.54 (m, 2H), 3.16 - 3.05 (m, 2H), 2.79 - 2.62 (m, 3H), 1.81 - 1.73 (m, 2H), 1.71 - 1.56 (m, 4H), 1.36 (dq, J=14.9, 7.3 Hz, 2H), 0.91 (t, J=7.4 Hz, 3H)
102	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-[1-(氧杂环丁烷-3-基)咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基]甲基}-1H-咪唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	119.6	87.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 467.3 RT (min) = 1.10 δ 8.07 (br t, J=4.3 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.49 - 7.43 (m, 2H), 5.75 (br s, 2H), 5.65 (s, 2H), 4.55 (t, J=6.4 Hz, 2H), 4.48 - 4.39 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.61 - 3.30 (m, 2H), 2.80 (br d, J=10.4 Hz, 2H), 2.63 - 2.57 (m, 2H), 1.90 - 1.79 (m, 2H), 1.79 - 1.69 (m, 4H), 1.63 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.43 - 1.31 (m, 2H), 0.93 (t, J=7.4 Hz, 3H)
103	 N7-丁基-1-({5-[1-(甲磺酰基)吡咯啉-3-基]-3-甲氧基咪唑并[4,5-b]吡啶-2-基]甲基}-1H-咪唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	204.1	561.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 489.2 RT (min) = 1.27 δ 8.03 - 7.89 (m, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.71 - 3.55 (m, 2H), 3.51 - 3.38 (m, 2H), 2.88 (s, 3H), 2.80 (br t, J=11.1 Hz, 2H), 2.76 - 2.68 (m, 1H), 1.89 - 1.83 (m, 2H), 1.80 - 1.67 (m, 2H), 1.62 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.44 - 1.26 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.3 Hz, 3H)

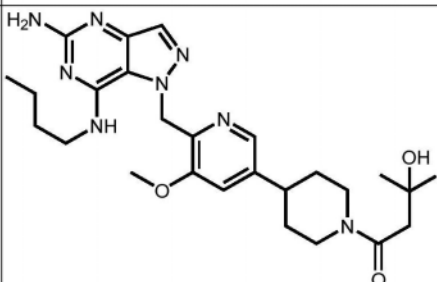
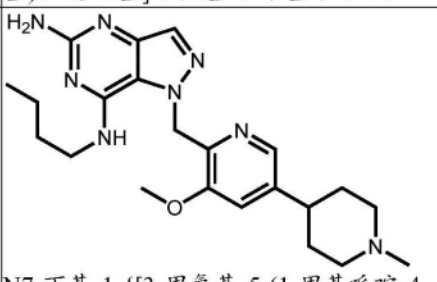
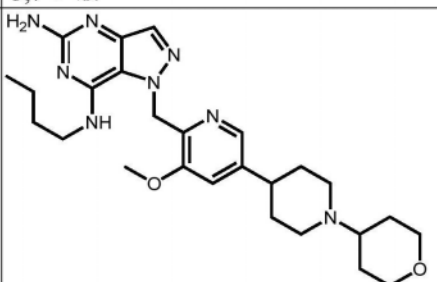
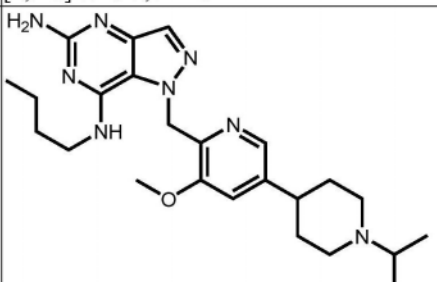
[0162]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
104	 1-[4-(6-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-3-甲氧基丙-1-酮	445.3	213.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 497.0 RT (min) = 1.39 δ 8.15 - 8.02 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.64 (s, 2H), 4.59 - 4.44 (m, 1H), 4.00 (br d, J=13.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.50 - 3.41 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.08 (br t, J=12.7 Hz, 1H), 2.91 - 2.79 (m, 1H), 2.64 - 2.56 (m, 7H), 1.78 (br t, J=12.8 Hz, 2H), 1.69 - 1.56 (m, 3H), 1.56 - 1.43 (m, 1H), 1.41 - 1.29 (m, 2H), 0.92 (t, J=7.3 Hz, 3H)
105	 1-[4-(6-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-3-羟基丙-1-酮	817.1	159.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 482.9 RT (min) = 1.26 δ 7.98 (s, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.57 (s, 2H), 4.55 (br d, J=12.8 Hz, 1H), 4.01 (br d, J=13.1 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.65 (t, J=6.6 Hz, 1H), 3.60 - 3.41 (m, 4H), 3.09 (br t, J=12.1 Hz, 1H), 2.91 - 2.79 (m, 1H), 2.59 (br s, 2H), 1.85 - 1.70 (m, 2H), 1.63 (dt, J=14.6, 7.3 Hz, 3H), 1.57 - 1.46 (m, 1H), 1.42 - 1.29 (m, 2H), 0.92 (t, J=7.3 Hz, 3H)
106	 N7-丁基-1-([3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基]甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	549.3	150.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 425.1 RT (min) = 1.13 δ 7.97 (s, 1H), 7.91 - 7.82 (m, 1H), 7.39 (s, 1H), 5.61 (br s, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.15 (br d, J=12.2 Hz, 2H), 2.80 - 2.65 (m, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.82 - 1.73 (m, 2H), 1.72 - 1.56 (m, 4H), 1.43 - 1.33 (m, 2H), 0.94 (t, J=7.3 Hz, 3H)

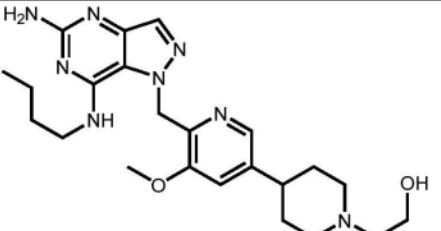
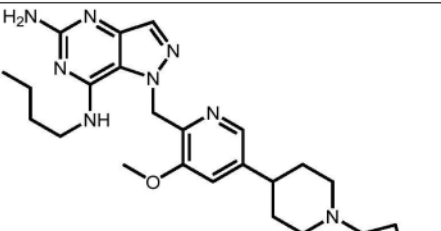
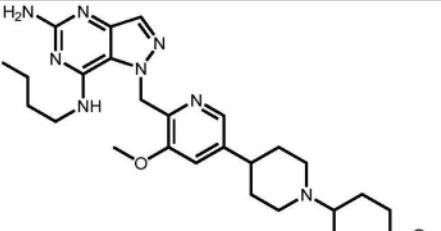
[0163]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
107	 N7-丁基-3-环丙基-1-{{[3-甲氧基-5-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-2-基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	383.1	444.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 465.3 RT (min) = 1.25 δ 7.96 (s, 1H), 7.85 - 7.76 (m, 1H), 7.40 (s, 1H), 5.53 (br s, 4H), 3.89 (s, 3H), 2.86 (br d, J=11.0 Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.03 - 1.89 (m, 2H), 1.84 (br s, 1H), 1.77 - 1.65 (m, 3H), 1.64 - 1.53 (m, 2H), 1.39 - 1.29 (m, 2H), 0.95 (br d, J=3.1 Hz, 2H), 0.91 (br t, J=7.3 Hz, 2H), 0.84 (br dd, J=8.2, 2.1 Hz, 2H)
108	 N7-丁基-1-{{[5-(1-环丁基哌啶-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	51.9	4.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 465.0 RT (min) = 1.20 δ 8.03 (br s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.60 (br s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.47 (br d, J=4.6 Hz, 2H), 2.91 (br d, J=11.9 Hz, 3H), 2.79 - 2.68 (m, 1H), 2.06 - 1.95 (m, 2H), 1.88 - 1.54 (m, 12H), 1.44 - 1.28 (m, 2H), 0.93 (br t, J=7.2 Hz, 3H)
109	 1-[4-(6-{{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基}哌啶-1-基)-3-(二甲基氨基)丙-1-酮	214.7	14.5	LC/MS [M+H] ⁺ = 510.3 RT (min) = 1.19 δ 9.38 (br t, J=4.7 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 5.80 (s, 2H), 4.56 (br d, J=11.9 Hz, 1H), 3.98 (br d, J=12.8 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.59 (br s, 2H), 3.37 - 3.22 (m, 2H), 3.21 - 3.08 (m, 1H), 2.97 - 2.85 (m, 3H), 2.82 (br s, 6H), 2.69 (br t, J=11.9 Hz, 1H), 1.88 - 1.75 (m, 2H), 1.74 - 1.60 (m, 3H), 1.60 - 1.48 (m, 1H), 1.40 - 1.29 (m, 2H), 0.92 (br t, J=7.0 Hz, 3H)

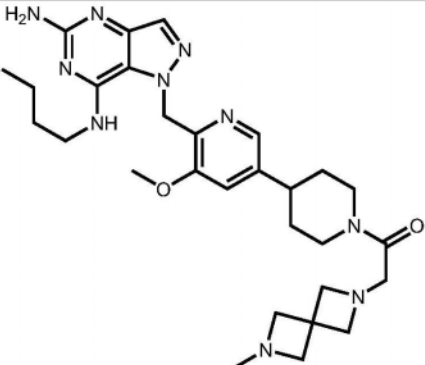
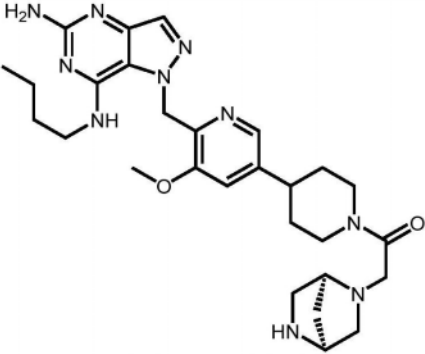
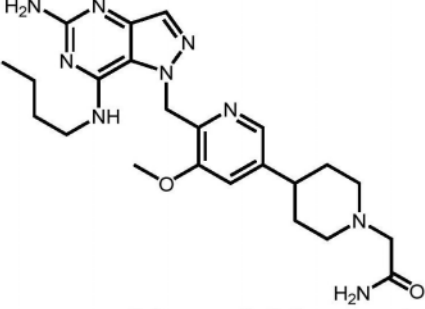
[0164]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
110	 1-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-3-羟基-3-甲基丁-1-酮	342.9	382.3	LC/MS [M+H] ⁺ = 511.2 RT (min) = 1.49 δ 8.05 (br s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.66 (br s, 4H), 4.61 (br d, J=12.8 Hz, 1H), 4.12 (br d, J=11.9 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.59 (br s, 1H), 3.53 - 3.42 (m, 1H), 3.16 - 3.04 (m, 1H), 2.94 - 2.82 (m, 1H), 2.69 - 2.59 (m, 2H), 2.50 - 2.39 (m, 2H), 1.80 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 1.71 - 1.47 (m, 4H), 1.42 - 1.31 (m, 2H), 1.20 (s, 6H), 0.93 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
111	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	65.3	5.4	LC/MS [M+H] ⁺ = 425.1 RT (min) = 1.13 δ 8.09 - 7.96 (m, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.72 - 5.56 (m, 4H), 3.89 (s, 3H), 3.52 - 3.36 (m, 2H), 3.00 - 2.86 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.15 - 1.99 (m, 2H), 1.83 - 1.66 (m, 4H), 1.67 - 1.58 (m, 2H), 1.44 - 1.29 (m, 2H), 0.93 (br t, J=7.2 Hz, 3H)
112	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	34.0	5.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 495.2 RT (min) = 1.10 δ 8.08 - 8.02 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.69 (br s, 2H), 5.65 (s, 2H), 3.95 - 3.84 (m, 7H), 3.29 (br t, J=11.6 Hz, 2H), 3.07 (br d, J=9.8 Hz, 2H), 2.68 - 2.58 (m, 2H), 2.35 - 2.25 (m, 2H), 1.85 - 1.66 (m, 6H), 1.63 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.53 - 1.41 (m, 2H), 1.41 - 1.31 (m, 2H), 0.92 (t, J=7.3 Hz, 3H)
113	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-[1-(丙-2-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	47.2	9.4	LC/MS [M+H] ⁺ = 452.1 RT (min) = 1.17 δ 7.99 (s, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.90 (br d, J=10.1 Hz, 2H), 2.77 - 2.68 (m, 1H), 2.60 - 2.57 (m, 1H), 2.22 (br t, J=10.7 Hz, 2H), 1.81 - 1.59 (m, 6H), 1.44 - 1.33 (m, 2H), 1.00 (d, J=6.4 Hz, 6H), 0.94 (t, J=7.3 Hz, 3H)。

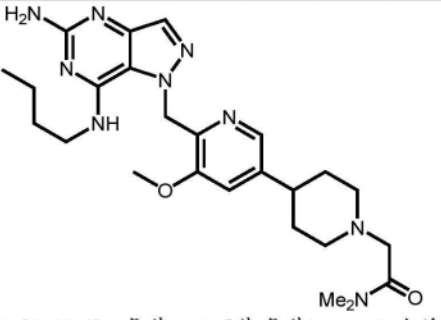
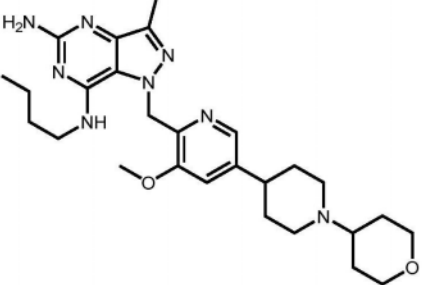
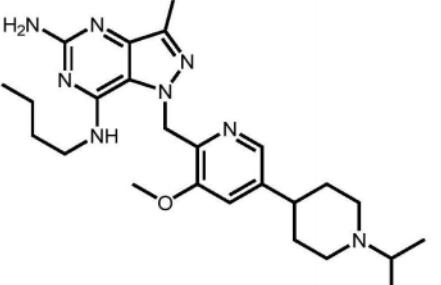
[0165]

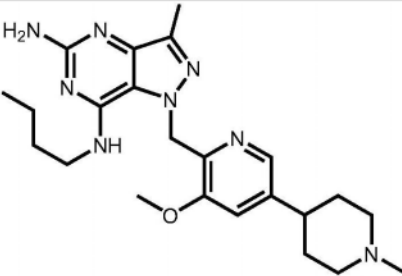
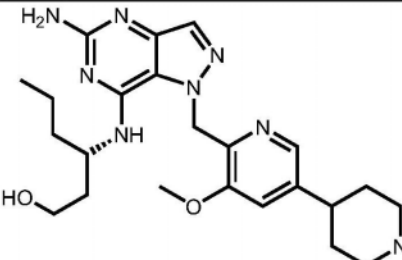
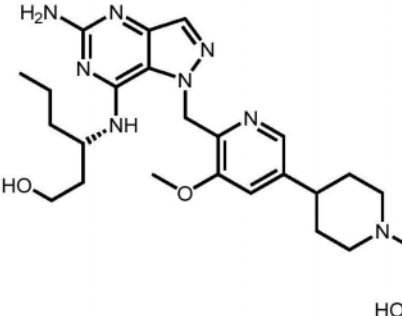
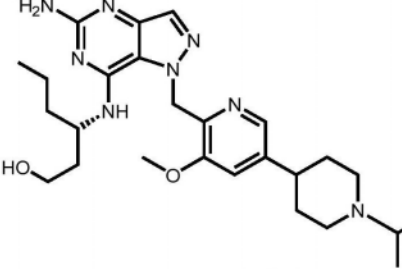
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
114	 2-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]乙-1-醇	49.9	3.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 455.2 RT (min) = 1.11 δ 7.99 (s, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.66 (s, 2H), 5.62 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.55 (br t, J=6.0 Hz, 1H), 3.51 - 3.40 (m, 2H), 3.06 - 2.96 (m, 2H), 2.66 - 2.58 (m, 1H), 2.49 (br t, J=6.0 Hz, 2H), 2.14 (br d, J=4.0 Hz, 2H), 1.79 - 1.69 (m, 4H), 1.69 - 1.59 (m, 2H), 1.44 - 1.33 (m, 2H), 0.94 (t, J=7.3 Hz, 3H)
115	 1-({5-[1-(氮杂环丁烷-3-基)哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-N7-丁基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	447.0	64.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 466.2 RT (min) = 1.01 δ 7.99 (s, 1H), 7.96 - 7.88 (m, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.76 - 3.58 (m, 2H), 2.85 (br d, J=10.4 Hz, 2H), 2.65 - 2.57 (m, 2H), 1.90 - 1.83 (m, 2H), 1.83 - 1.55 (m, 6H), 1.44 - 1.33 (m, 2H), 0.93 (t, J=7.3 Hz, 3H)
116	 4-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-1λ⁶-硫代环己-1,1-二酮	84.6	10.5	LC/MS [M+H] ⁺ = 543.0 RT (min) = 1.10 δ 8.07 (br d, J=5.3 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 5.68 - 5.56 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 3.45 (br d, J=5.6 Hz, 2H), 3.16 - 3.02 (m, 4H), 2.89 (br d, J=10.5 Hz, 2H), 2.71 - 2.62 (m, 1H), 2.60 - 2.56 (m, 1H), 2.26 (br t, J=10.6 Hz, 2H), 2.06 - 1.94 (m, 4H), 1.79 - 1.71 (m, 2H), 1.71 - 1.54 (m, 4H), 1.41 - 1.27 (m, 2H), 0.90 (t, J=7.4 Hz, 3H)

[0166]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
117	 1-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-2-{6-甲基-2,6-二氮杂螺[3.3]庚-2-基}乙-1-酮	855.5	312.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 563.2 RT (min) = 1.11 δ 8.06 - 7.86 (m, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.30 - 3.21 (m, 4H), 3.19 (s, 2H), 3.08 - 2.92 (m, 2H), 2.91 - 2.79 (m, 1H), 2.17 (s, 3H), 1.91 (s, 2H), 1.85 - 1.72 (m, 2H), 1.69 - 1.47 (m, 4H), 1.44 - 1.31 (m, 2H), 0.93 (t, J=7.2 Hz, 3H)。
118	 1-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-2-[(1S,4S)-2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚-2-基]乙-1-酮	715.9	890.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 549.3 RT (min) = 1.11 δ 8.02 - 7.86 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.55 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.82 - 3.70 (m, 4H), 3.53 - 3.30 (m, 4H), 3.26 - 3.18 (m, 1H), 3.10 - 3.01 (m, 1H), 2.98 - 2.90 (m, 1H), 2.91 - 2.78 (m, 2H), 2.71 - 2.58 (m, 2H), 1.89 (br d, J=8.4 Hz, 1H), 1.80 - 1.76 (m, 1H), 1.71 - 1.41 (m, 6H), 1.41 - 1.25 (m, 2H), 0.89 (t, J=7.3 Hz, 3H)
119	 2-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]乙酰胺	164.7	5.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 468.1 RT (min) = 0.81 δ 9.30 - 9.11 (m, 1H), 7.96 (br d, J=8.3 Hz, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.69 (br s, 1H), 7.42 (br s, 1H), 5.80 (s, 2H), 3.96 - 3.89 (m, 3H), 3.82 - 3.28 (m, 6H), 3.20 - 3.02 (m, 1H), 2.96 - 2.80 (m, 1H), 2.12 - 1.87 (m, 4H), 1.68 - 1.55 (m, 2H), 1.40 - 1.22 (m, 2H), 0.90 (t, J=7.3 Hz, 3H),

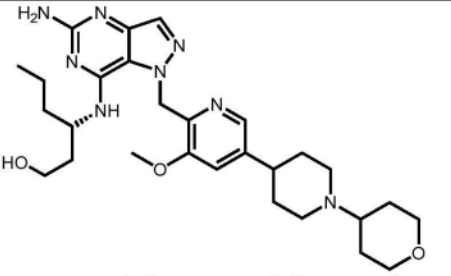
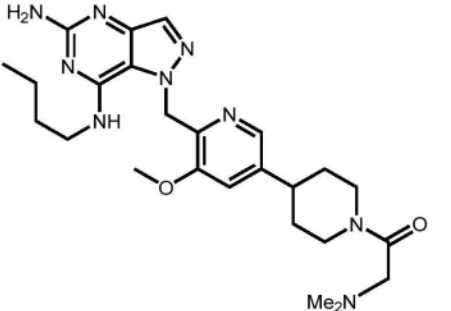
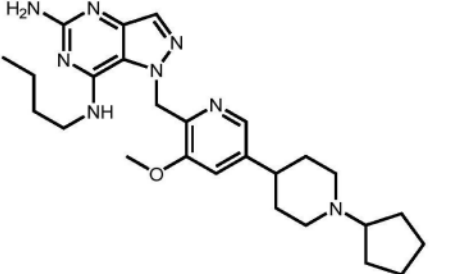
[0167]

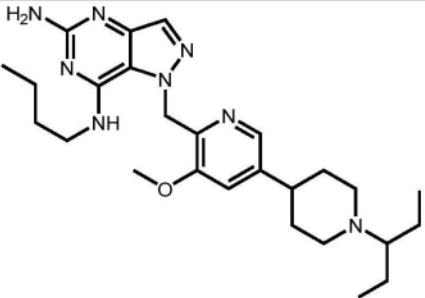
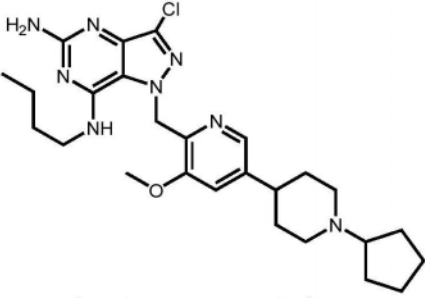
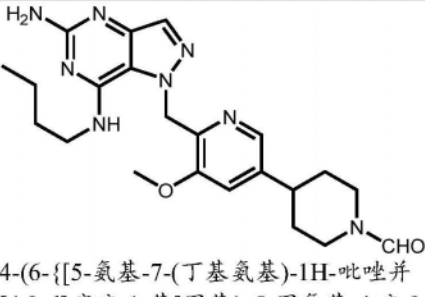
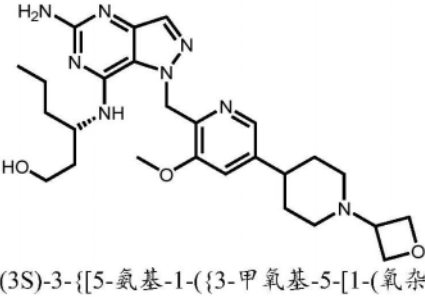
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
120	 2-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-N,N-二甲基乙酰胺	79.1	2.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 496.1 RT (min) = 0.86 δ 8.04 - 7.87 (m, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.56 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.50 (br s, 3H), 3.13 (s, 2H), 3.03 (s, 3H), 2.93 (br d, J=11.6 Hz, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.20 - 2.04 (m, 2H), 1.76 - 1.66 (m, 4H), 1.62 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.44 - 1.28 (m, 2H), 0.92 (t, J=7.3 Hz, 3H)
121	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	602.0	121.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 509.2 RT (min) = 0.900 δ 8.07 - 7.96 (m, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 5.87 - 5.67 (m, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.95 - 3.82 (m, 5H), 3.53 - 3.40 (m, 2H), 3.33 - 3.23 (m, 1H), 2.68 - 2.61 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 1.89 - 1.67 (m, 6H), 1.61 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.56 - 1.42 (m, 2H), 1.40 - 1.28 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.3 Hz, 3H)
122	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-[1-(丙-2-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	192.8	18.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 467.3 RT (min) = 0.92 δ 7.98 - 7.86 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 5.55 (br s, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.56 - 3.52 (m, 2H), 3.48 - 3.34 (m, 1H), 2.88 (br d, J=11.5 Hz, 2H), 2.76 - 2.66 (m, 1H), 2.26 - 2.11 (m, 5H), 1.77 - 1.52 (m, 6H), 1.40 - 1.27 (m, 2H), 0.98 (d, J=6.6 Hz, 6H), 0.90 (t, J=7.3 Hz, 3H)

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
123	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-(1-甲基吡啶-4-基)吡啶-2-基}甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	491.0	40.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 439.3 RT (min) = 0.87 δ 8.10 (br dd, J=6.1, 3.1 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.14 - 5.96 (m, 2H), 5.62 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.87 - 2.72 (m, 2H), 2.70 - 2.60 (m, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.02 - 1.79 (m, 4H), 1.62 (quin, J=7.0 Hz, 2H), 1.35 (dq, J=14.8, 7.5 Hz, 2H), 0.92 (br t, J=7.5 Hz, 3H)
124	 (3S)-3-({5-氨基-1-({3-甲氧基-5-(吡啶-4-基)吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基)己-1-醇	188.5	56.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 455.5 RT (min) = 0.93 δ 8.29 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.76 - 7.68 (m, 1H), 7.47 (s, 1H), 5.69 - 5.58 (m, 4H), 4.46 - 4.36 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.37 - 3.30 (m, 2H), 2.91 (q, J=12.5 Hz, 4H), 1.94 (br d, J=1.4 Hz, 1H), 1.88 - 1.49 (m, 9H), 1.40 - 1.23 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.4 Hz, 3H)
125	 (3S)-3-({5-氨基-1-({5-[1-(2-羟基乙基)吡啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基)己-1-醇	57.8	10.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 499.0 RT (min) = 1.09 δ 7.96 (s, 1H), 7.82 (br d, J=8.1 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.42 (br s, 1H), 5.72 - 5.44 (m, 4H), 4.40 (br d, J=6.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.53 - 3.50 (m, 4H), 3.01 - 2.91 (m, 2H), 2.62 - 2.55 (m, 3H), 2.42 (t, J=6.3 Hz, 2H), 2.12 - 2.01 (m, 2H), 1.84 - 1.63 (m, 6H), 1.63 - 1.48 (m, 2H), 1.41 - 1.16 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H)
126	 (3S)-3-({5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(丙-2-基)吡啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基)己-1-醇	15.5	2.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 497.2 RT (min) = 1.10 δ 7.95 (s, 1H), 7.83 (br d, J=7.8 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.72 - 5.45 (m, 4H), 4.48 - 4.34 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.81 - 3.66 (m, 2H), 2.91 (br d, J=10.9 Hz, 2H), 2.80 - 2.70 (m, 1H), 2.62 - 2.55 (m, 2H), 2.25 (br t, J=10.6 Hz, 2H), 1.85 - 1.62 (m, 6H), 1.62 - 1.52 (m, 2H), 1.39 - 1.20 (m, 2H), 1.00 (d, J=6.6 Hz, 6H), 0.86 (t, J=7.3 Hz, 3H)

[0168]

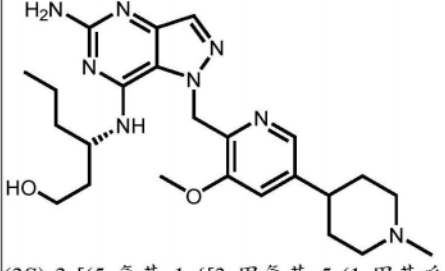
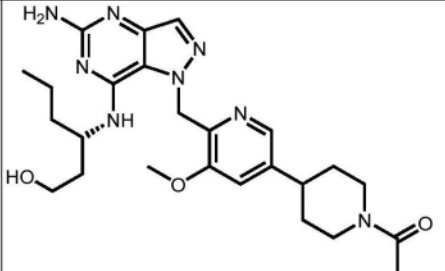
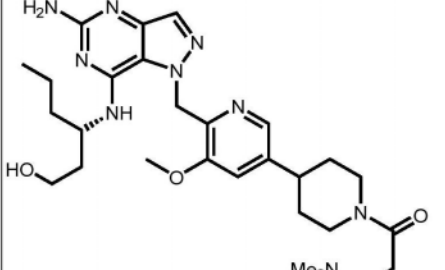
[0169]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
127	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	12.8	2.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 539.3 RT (min) = 1.06 δ 7.97 (s, 1H), 7.89 (br d, J=7.6 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.75 - 5.41 (m, 4H), 4.42 (br d, J=5.8 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.29 (br t, J=11.3 Hz, 2H), 3.06 (br d, J=9.2 Hz, 2H), 2.68 - 2.58 (m, 1H), 2.34 - 2.21 (m, 2H), 1.84 - 1.65 (m, 8H), 1.65 - 1.53 (m, 2H), 1.53 - 1.40 (m, 2H), 1.38 - 1.24 (m, 2H), 0.88 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
128	 1-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-2-(二甲基氨基)乙-1-酮	48.4	3.5	LC/MS [M+H] ⁺ = 496.0 RT (min) = 1.16 δ 8.04 - 7.85 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.42 (br s, 1H), 5.64 (s, 2H), 5.61 (br s, 2H), 4.55 - 4.39 (m, 1H), 4.21 - 4.07 (m, 1H), 3.88 (d, J=1.6 Hz, 3H), 3.48 (br s, 4H), 3.12 - 3.02 (m, 1H), 2.90 - 2.80 (m, 1H), 2.66 - 2.57 (m, 1H), 2.21 (s, 6H), 1.79 (br d, J=11.8 Hz, 2H), 1.70 - 1.58 (m, 3H), 1.57 - 1.46 (m, 1H), 1.41 - 1.30 (m, 2H), 0.92 (td, J=7.4, 1.7 Hz, 3H)
129	 N7-丁基-1-([5-(1-环戊基哌啶-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	27.3	7.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 479.3 RT (min) = 1.22 δ 8.17 (s, 1H), 8.02 - 7.98 (m, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.67 (br d, J=11.5 Hz, 2H), 5.64 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.20 - 3.08 (m, 2H), 2.76 - 2.58 (m, 3H), 2.27 - 2.14 (m, 2H), 1.90 - 1.70 (m, 7H), 1.62 (quin, J=7.1 Hz, 5H), 1.56 - 1.47 (m, 2H), 1.45 - 1.34 (m, 4H), 0.92 (t, J=7.4 Hz, 3H)

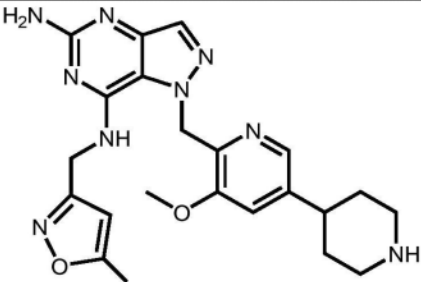
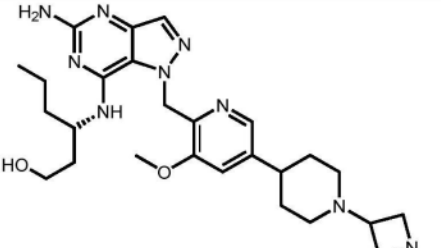
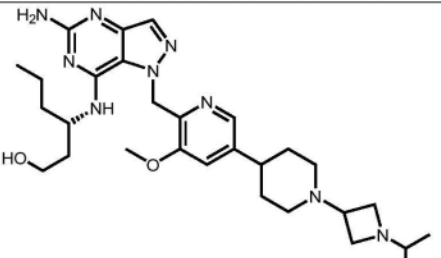
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
130	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-[1-(戊-3-基)咪唑-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	119.0		LC/MS [M+H] ⁺ = 481.3 RT (min) = 1.24 δ 7.99 (s, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.83 - 2.75 (m, 2H), 2.37 (br t, J=11.0 Hz, 2H), 2.24 - 2.15 (m, 1H), 1.74 (br s, 2H), 1.70 - 1.59 (m, 4H), 1.49 (dt, J=13.9, 7.1 Hz, 2H), 1.42 - 1.34 (m, 2H), 1.28 (dt, J=14.0, 7.3 Hz, 2H), 0.98 - 0.82 (m, 9H)
131	 N7-丁基-3-氯-1-([5-(1-环戊基哌啶-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	594.9	971.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 513.0 RT (min) = 1.29 δ 7.98 (s, 1H), 7.94 (br t, J=5.2 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 5.91 (s, 2H), 5.63 (s, 2H), 3.96 - 3.82 (m, 3H), 3.07 (br d, J=10.1 Hz, 2H), 2.64 - 2.54 (m, 2H), 2.09 - 1.96 (m, 2H), 1.87 - 1.77 (m, 2H), 1.77 - 1.69 (m, 3H), 1.62 (quin, J=6.9 Hz, 4H), 1.56 - 1.44 (m, 2H), 1.41 - 1.28 (m, 4H), 0.92 (t, J=7.3 Hz, 3H)
132	 4-(6-([5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲醛	180.0	194.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 438.9 RT (min) = 1.33 δ 8.02 (s, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 5.72 (br s, 2H), 5.64 (s, 2H), 4.31 (br d, J=13.8 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.83 - 3.74 (m, 1H), 3.51 (br s, 2H), 3.19 - 3.07 (m, 1H), 2.94 - 2.79 (m, 1H), 2.67 (td, J=12.8, 2.6 Hz, 1H), 1.79 (br t, J=16.0 Hz, 2H), 1.68 - 1.47 (m, 4H), 1.36 (dq, J=14.9, 7.5 Hz, 2H), 0.92 (t, J=7.4 Hz, 3H)
133	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(氧杂环丁烷-3-基)咪唑-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	7.6	5.4	LC/MS [M+H] ⁺ = 511.2 RT (min) = 1.06 δ 8.07 (br s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 5.79 (br s, 2H), 5.68 - 5.50 (m, 2H), 4.53 (t, J=6.6 Hz, 2H), 4.48 - 4.34 (m, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.52 - 3.37 (m, 3H), 2.77 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 2.65 - 2.55 (m, 2H), 1.90 - 1.81 (m, 2H), 1.83 - 1.62 (m, 6H), 1.64 - 1.49 (m, 2H), 1.26 (td, J=14.8, 7.2 Hz, 2H), 0.84 (t, J=7.3 Hz, 3H)

[0170]

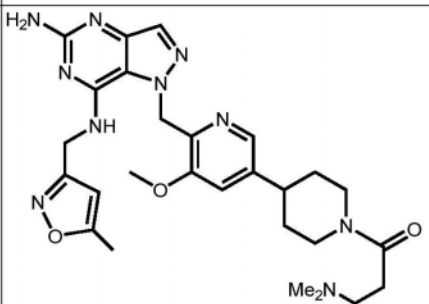
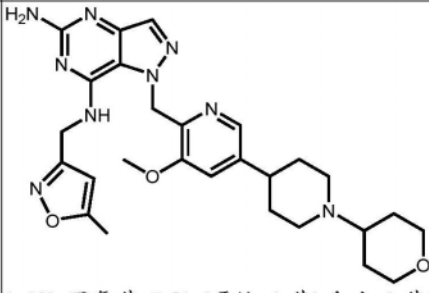
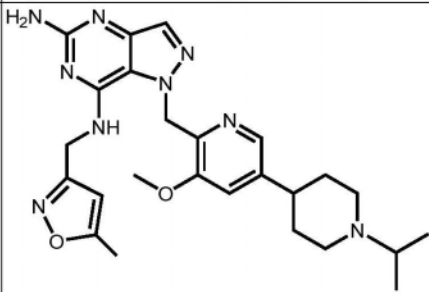
[0171]

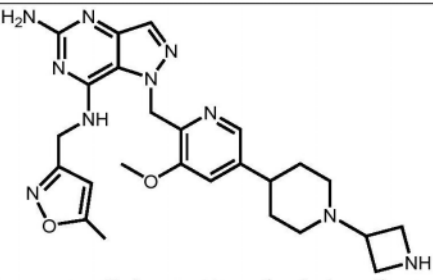
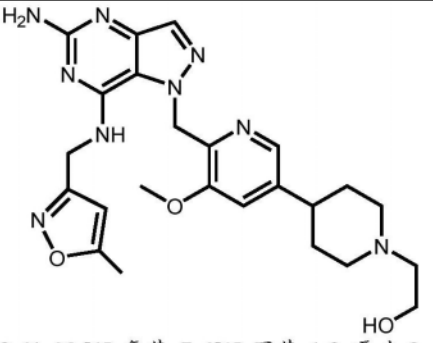
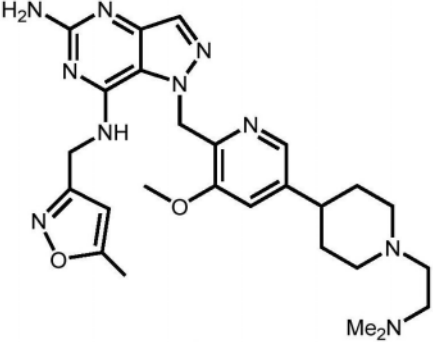
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
134	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(3-甲氧基-5-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	14.1	2.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 469.0 RT (min) = 1.06 δ 7.97 (s, 1H), 7.87 (br d, J=8.5 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.79 - 5.51 (m, 4H), 4.48 - 4.30 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.51 - 3.35 (m, 2H), 3.02 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 2.70 - 2.60 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.26 (br t, J=10.7 Hz, 2H), 1.86 - 1.64 (m, 6H), 1.58 (dt, J=13.9, 7.1 Hz, 2H), 1.39 - 1.20 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H)
135	 1-(4-{6-[(5-氨基-7-[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-5-甲氧基吡啶-3-基}哌啶-1-基)-2-(二甲基氨基)乙-1-酮	41.4	11.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 540.2 RT (min) = 1.12 δ 7.98 (s, 1H), 7.85 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 5.79 - 5.16 (m, 4H), 4.58 - 4.46 (m, 1H), 4.47 - 4.37 (m, 1H), 4.19 - 4.08 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.23 (br d, J=4.9 Hz, 1H), 3.13 - 3.03 (m, 1H), 2.94 - 2.82 (m, 1H), 2.64 (br t, J=12.1 Hz, 1H), 2.27 (s, 6H), 1.86 - 1.69 (m, 4H), 1.68 - 1.48 (m, 4H), 1.32 (td, J=14.0, 6.9 Hz, 2H), 0.89 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
136	 1-(4-{6-[(5-氨基-7-[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-5-甲氧基吡啶-3-基}哌啶-1-基)-3-(二甲基氨基)丙-1-酮	196.6	42.3	LC/MS [M+H] ⁺ = 554.3 RT (min) = 1.14 δ 7.94 (s, 1H), 7.86 (br d, J=8.6 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 5.66 - 5.56 (m, 2H), 5.55 (br s, 2H), 4.50 (br d, J=11.9 Hz, 1H), 4.42 - 4.30 (m, 1H), 3.88 - 3.85 (m, 7H), 3.50 - 3.39 (m, 2H), 3.09 (br t, J=12.3 Hz, 1H), 2.93 - 2.81 (m, 1H), 2.72 - 2.63 (m, 2H), 2.60 - 2.57 (m, 1H), 2.32 - 2.22 (m, 6H), 1.83 - 1.67 (m, 4H), 1.64 - 1.40 (m, 4H), 1.26 (td, J=14.8, 7.0 Hz, 2H), 0.84 (t, J=7.3 Hz, 3H)

[0172]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
137	 1-([3-甲氧基-5-(吡啶-4-基)吡啶-2-基]甲基)-N7-([5-甲基-1,2-噻唑-3-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	357.4	117.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 450.1 RT (min) = 0.98 δ 7.83 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.20 (s, 1H), 5.73 (br s, 2H), 5.68 (s, 2H), 4.72 (br d, J=3.4 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.26 - 3.03 (m, 2H), 2.81 - 2.67 (m, 3H), 2.38 (s, 3H), 1.86 - 1.72 (m, 2H), 1.71 - 1.62 (m, 2H)
138	 (3S)-3-([5-氨基-1-([3-甲氧基-5-[1-(1-甲基氮杂环丁烷-3-基)吡啶-4-基]吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	26.7	5.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 524.4 RT (min) = 1.01 δ 7.98 (s, 1H), 7.83 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 7.52 - 7.42 (m, 2H), 5.72 - 5.57 (m, 4H), 4.47 - 4.38 (m, 1H), 3.98 - 3.82 (m, 4H), 3.62 - 3.49 (m, 1H), 3.03 - 2.96 (m, 2H), 2.95 - 2.87 (m, 1H), 2.81 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 2.64 - 2.58 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.89 - 1.64 (m, 6H), 1.64 - 1.53 (m, 2H), 1.40 - 1.24 (m, 2H), 0.89 (br t, J=7.5 Hz, 3H)
139	 (3S)-3-([5-氨基-1-([3-甲氧基-5-[1-[1-(丙-2-基)氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	8.1	1.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 552.1 RT (min) = 1.05 δ 8.00 (s, 1H), 7.86 (br d, J=7.6 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 5.74 - 5.55 (m, 4H), 4.53 - 4.35 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 2.97 - 2.77 (m, 5H), 2.49 - 2.38 (m, 1H), 1.92 - 1.51 (m, 12H), 1.42 - 1.27 (m, 2H), 0.97 - 0.88 (m, 9H)

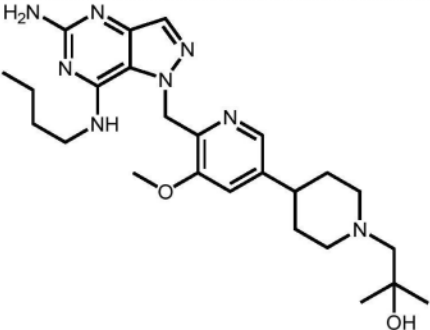
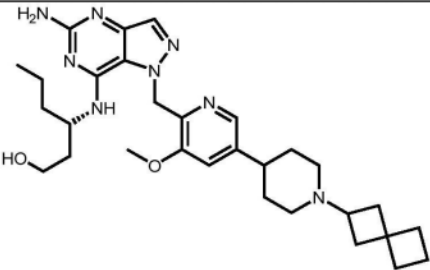
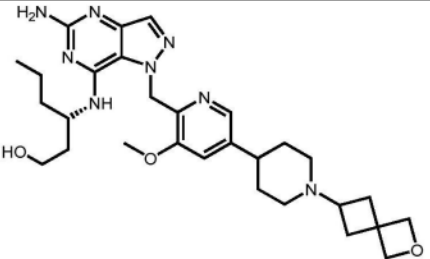
[0173]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
140	 1-(4-{6-[(5-氨基-7-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]氨基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-5-甲氧基吡啶-3-基}哌啶-1-基)-3-(二甲基氨基)丙-1-酮	530.4	127.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 549.0 RT (min) = 1.06 δ 7.88 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.78 (s, 2H), 5.71 (s, 2H), 4.75 (br d, J=4.9 Hz, 2H), 4.59 (br d, J=12.5 Hz, 1H), 4.05 (br d, J=12.2 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.21 - 3.06 (m, 1H), 2.88 (br t, J=12.1 Hz, 1H), 2.76 (br d, J=6.4 Hz, 2H), 2.65 (br d, J=7.6 Hz, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.39 (s, 6H), 1.90 - 1.76 (m, 2H), 1.72 - 1.61 (m, 1H), 1.54 (br dd, J=12.8, 3.4 Hz, 1H)
141	 1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-N7-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	73.2	16.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 534.2 RT (min) = 1.03 δ 8.58 (br s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 5.72 (s, 2H), 5.66 (s, 2H), 4.71 (br d, J=5.5 Hz, 2H), 3.96 - 3.78 (m, 5H), 3.29 (br t, J=11.0 Hz, 2H), 3.00 (br d, J=10.4 Hz, 2H), 2.49 - 2.41 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.20 (br t, J=11.0 Hz, 2H), 1.79 - 1.61 (m, 6H), 1.51 - 1.33 (m, 2H)
142	 1-({3-甲氧基-5-[1-(丙-2-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-N7-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	43.3	5.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 492.3 RT (min) = 1.09 δ 7.82 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.17 (s, 1H), 5.70 (br s, 2H), 5.66 (s, 2H), 4.71 (br d, J=5.2 Hz, 2H), 3.88 (br d, J=15.9 Hz, 3H), 3.01 (br d, J=10.1 Hz, 2H), 2.93 - 2.84 (m, 1H), 2.70 - 2.57 (m, 2H), 2.45 - 2.28 (m, 5H), 1.80 (br d, J=10.4 Hz, 2H), 1.75 - 1.63 (m, 2H), 1.05 (br d, J=6.4 Hz, 6H)

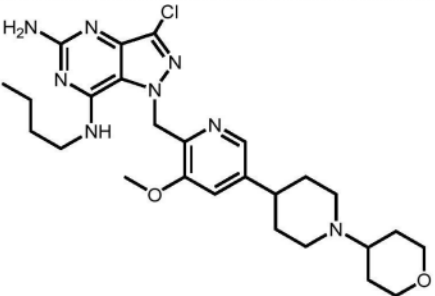
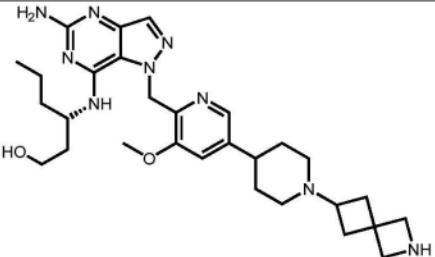
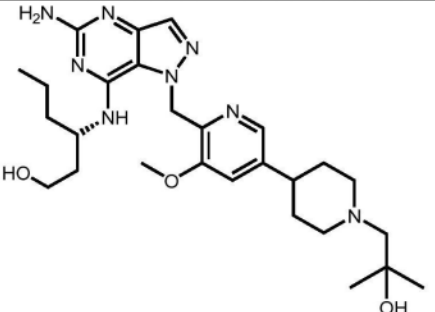
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
143	 1-({5-[1-(氮杂环丁烷-3-基)哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-N7-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	294.8	264.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 505.1 RT (min) = 0.92 δ 9.90 - 9.74 (m, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.82 (s, 2H), 4.84 (br d, J=5.8 Hz, 2H), 4.10 (br d, J=5.5 Hz, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.83 - 2.68 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.92 (br d, J=11.6 Hz, 2H), 1.86 - 1.70 (m, 2H)
144	 2-(4-{6-[(5-氨基-7-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]氨基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-5-甲氧基吡啶-3-基}哌啶-1-基)乙醇	77.0	8.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 494.2 RT (min) = 1.02 δ 7.83 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 5.74 (s, 2H), 5.67 (s, 2H), 4.79 - 4.59 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.06 (br d, J=10.4 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.27 - 2.09 (m, 2H), 1.81 - 1.68 (m, 4H)
145	 1-[(5-{1-[2-(二甲基氨基)乙基]哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-N7-[(5-甲基-1,2-噁唑-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	100.9		LC/MS [M+H] ⁺ = 521.7 RT (min) = 0.70 δ 8.72 - 8.38 (m, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.18 (s, 1H), 5.72 (br s, 2H), 5.65 (s, 2H), 4.70 (br d, J=5.4 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.05 (br d, J=10.3 Hz, 2H), 2.79 (br s, 2H), 2.61 - 2.56 (m, 3H), 2.46 (s, 6H), 2.36 (s, 3H), 2.21 - 2.09 (m, 2H), 1.81 - 1.61 (m, 4H)

[0174]

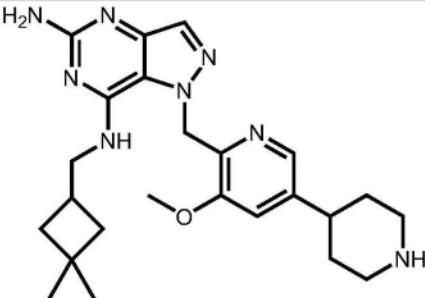
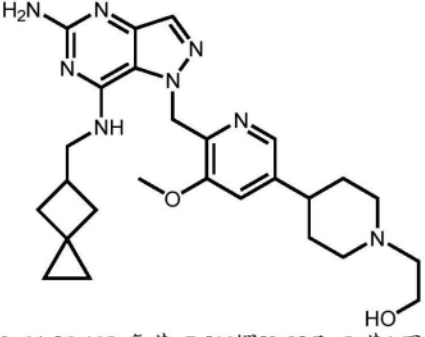
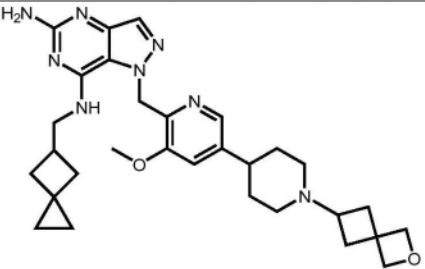
[0175]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
146	 1-[4-(6-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基]-2-甲基丙-2-醇	28.5	25.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 482.9 RT (min) = 1.13 δ 8.04 (br d, J=2.7 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.39 (br s, 1H), 5.63 (br s, 4H), 3.88 (s, 3H), 3.11 - 2.97 (m, 2H), 2.33 - 2.15 (m, 4H), 1.91 (s, 2H), 1.81 - 1.57 (m, 6H), 1.41 - 1.30 (m, 2H), 1.09 (s, 6H), 0.91 (br t, J=7.2 Hz, 3H)
147	 (3S)-3-[(5-氨基-1-{[3-甲氧基-5-(1-{螺[3.3]庚-2-基}哌啶-4-基)吡啶-2-基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	15.7	2.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 549.0 RT (min) = 1.26 δ 7.96 (s, 1H), 7.85 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.71 - 5.50 (m, 4H), 4.48 - 4.33 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.55 - 3.36 (m, 1H), 2.87 (br d, J=10.7 Hz, 2H), 2.17 - 2.05 (m, 2H), 1.98 (br t, J=7.0 Hz, 2H), 1.88 - 1.54 (m, 14H), 1.42 - 1.21 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H)
148	 (3S)-3-[(5-氨基-1-{[3-甲氧基-5-(1-{2-氧杂螺[3.3]庚-6-基}哌啶-4-基)吡啶-2-基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	14.1	0.49	LC/MS [M+H] ⁺ = 550.9 RT (min) = 1.06 δ 7.96 (s, 1H), 7.85 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.71 - 5.47 (m, 4H), 4.58 (s, 2H), 4.48 - 4.44 (m, 2H), 4.43 - 4.38 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.54 - 3.38 (m, 1H), 2.87 (br d, J=11.0 Hz, 2H), 2.37 - 2.25 (m, 2H), 1.97 - 1.93 (m, 2H), 1.84 - 1.50 (m, 10H), 1.41 - 1.19 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H)

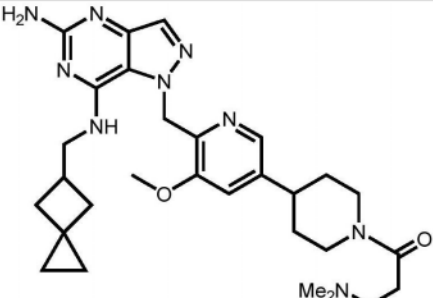
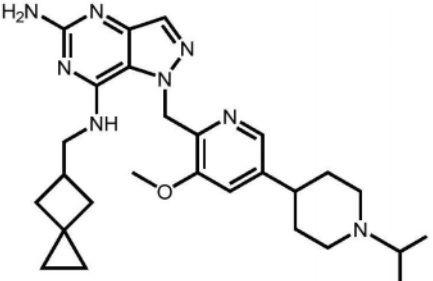
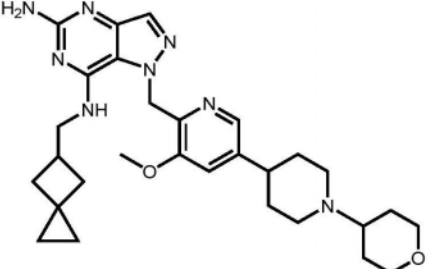
[0176]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
149	 N7-丁基-3-氯-1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	869.2	590.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 529.1 RT (min) = 1.25 δ 7.97 (s, 1H), 7.96 - 7.86 (m, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.91 (s, 2H), 5.62 (s, 2H), 3.96 - 3.82 (m, 7H), 3.29 (br t, J=10.8 Hz, 2H), 3.02 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 2.50 - 2.40 (m, 2H), 2.22 (br t, J=11.0 Hz, 2H), 1.81 - 1.64 (m, 6H), 1.61 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.51 - 1.39 (m, 2H), 1.39 - 1.27 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.3 Hz, 3H)
150	 (3S)-3-[(5-氨基-1-({5-[1-(2-氨基螺[3.3]庚-6-基}哌啶-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	88.8	44.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 550.7 RT (min) = 0.78 δ 7.94 (s, 1H), 7.83 (br d, J=5.5 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 5.69 - 5.46 (m, 4H), 4.39 (br dd, J=7.0, 3.8 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 - 3.74 (m, 2H), 3.50 - 3.37 (m, 2H), 2.83 (br d, J=10.9 Hz, 2H), 2.62 - 2.55 (m, 2H), 2.28 (br d, J=8.4 Hz, 2H), 1.90 (br t, J=8.9 Hz, 2H), 1.75 - 1.51 (m, 10H), 1.38 - 1.16 (m, 2H), 0.85 (t, J=7.3 Hz, 3H)
151	 (3S)-3-[(5-氨基-1-({5-[1-(2-羟基-2-甲基丙基)哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	15.2	0.32	LC/MS [M+H] ⁺ = 526.9 RT (min) = 1.08 δ 7.98 (s, 1H), 7.86 (br d, J=8.9 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.70 - 5.49 (m, 4H), 4.52 - 4.32 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.05 (br d, J=11.0 Hz, 2H), 2.29 - 2.16 (m, 4H), 1.86 - 1.65 (m, 6H), 1.64 - 1.51 (m, 2H), 1.32 (td, J=14.0, 7.2 Hz, 2H), 1.11 (s, 6H), 0.89 (br t, J=7.3 Hz, 3H)

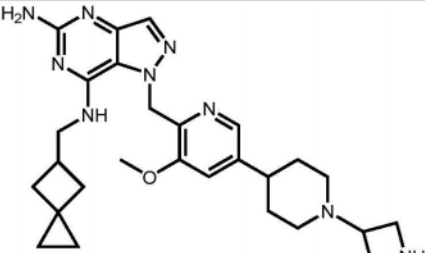
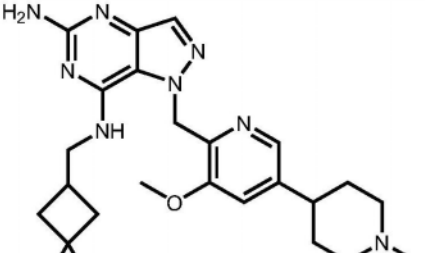
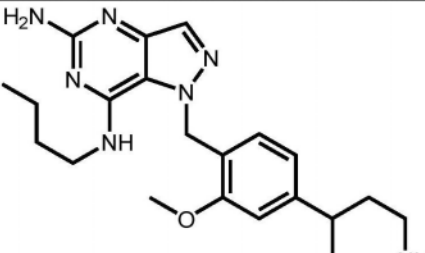
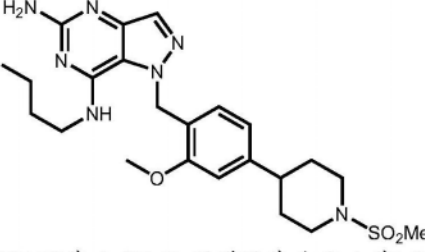
[0177]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
152	 1-([3-甲氧基-5-(吡啶-4-基)吡啶-2-基]甲基)-N7-((螺[2.3]己-5-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	110.7		LC/MS [M+H] ⁺ = 449.1 RT (min) = 1.20 δ 9.24 (br t, J=5.2 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.80 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.80 - 3.68 (m, 2H), 3.52 - 3.30 (m, 1H), 3.08 - 2.86 (m, 3H), 2.85 - 2.71 (m, 1H), 2.18 - 2.03 (m, 2H), 2.00 - 1.78 (m, 6H), 0.40 (s, 4H)
153	 2-(4-[6-([5-氨基-7-((螺[2.3]己-5-基)甲基)氨基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基]吡啶-1-基]乙-1-醇	86.8		LC/MS [M+H] ⁺ = 493.2 RT (min) = 1.18 δ 8.00 (br d, J=2.9 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 5.68 - 5.54 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 3.58 (br s, 2H), 2.97 (br d, J=11.5 Hz, 2H), 2.82 - 2.70 (m, 1H), 2.43 (br t, J=6.2 Hz, 2H), 2.16 - 2.02 (m, 4H), 1.87 (br dd, J=11.8, 6.1 Hz, 2H), 1.70 (br dd, J=7.8, 3.0 Hz, 4H), 0.38 (s, 4H)
154	 1-([3-甲氧基-5-(1-(2-氧杂螺[3.3]庚-6-基)吡啶-4-基)吡啶-2-基]甲基)-N7-((螺[2.3]己-5-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	34.0	7.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 545.3 RT (min) = 1.34 δ 8.01 (br d, J=3.8 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.38 (br s, 1H), 5.62 (s, 4H), 4.57 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.85 (br d, J=10.9 Hz, 2H), 2.80 - 2.69 (m, 1H), 2.32 (br t, J=9.7 Hz, 2H), 2.11 (br dd, J=10.2, 9.1 Hz, 2H), 1.96 - 1.91 (m, 2H), 1.87 (br dd, J=11.1, 6.0 Hz, 2H), 1.81 - 1.57 (m, 6H), 0.38 (s, 4H)

[0178]

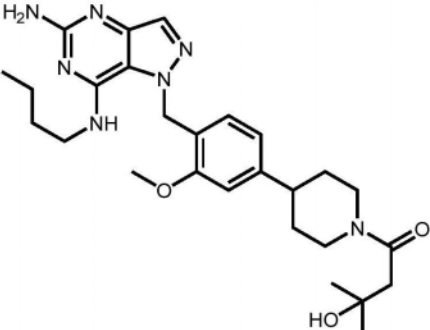
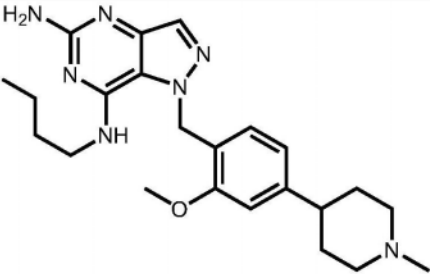
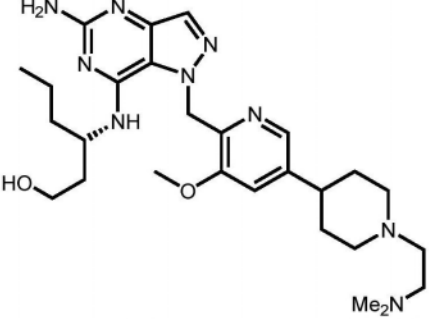
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
155	 1-({4-[6-({5-氨基-7-({螺[2.3]己-5-基}甲基)氨基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基}甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基]哌啶-1-基}-3-(二甲基氨基)丙-1-酮	199.4		LC/MS [M+H] ⁺ = 548.2 RT (min) = 1.38 δ 7.98 (s, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 5.66 (br s, 2H), 5.64 (s, 2H), 4.55 (br d, J=12.6 Hz, 1H), 4.00 (br d, J=12.9 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.62 (dd, J=7.2, 5.5 Hz, 2H), 3.10 (br t, J=12.6 Hz, 1H), 2.91 - 2.82 (m, 1H), 2.81 - 2.68 (m, 3H), 2.62 - 2.58 (m, 2H), 2.34 (s, 6H), 2.18 - 2.09 (m, 2H), 1.89 (br dd, J=12.2, 6.1 Hz, 2H), 1.84 - 1.72 (m, 2H), 1.70 - 1.58 (m, 2H), 1.58 - 1.47 (m, 1H), 0.40 (s, 4H)
156	 1-({3-甲氧基-5-[1-(丙-2-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-N7-({螺[2.3]己-5-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	40.9		LC/MS [M+H] ⁺ = 491.0 RT (min) = 1.34 δ 9.24 (br s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 5.81 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.75 (br d, J=6.1 Hz, 2H), 3.15 - 3.02 (m, 2H), 3.02 - 2.89 (m, 1H), 2.86 - 2.73 (m, 1H), 2.17 - 2.08 (m, 2H), 2.08 - 1.93 (m, 4H), 1.88 (br dd, J=11.3, 5.8 Hz, 2H), 1.29 (br d, J=6.4 Hz, 6H), 0.40 (s, 4H)
157	 1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-N7-({螺[2.3]己-5-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	50.8	37.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 533.2 RT (min) = 1.27 δ 8.03 (br s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 3.93 - 3.79 (m, 5H), 3.68 - 3.65 (m, 2H), 3.26 (br t, J=11.3 Hz, 2H), 3.05 - 2.94 (m, 2H), 2.81 - 2.70 (m, 1H), 2.49 - 2.39 (m, 1H), 2.20 (br t, J=10.6 Hz, 2H), 2.15 - 2.06 (m, 2H), 1.86 (br dd, J=11.9, 6.3 Hz, 2H), 1.79 - 1.58 (m, 6H), 1.49 - 1.36 (m, 2H), 0.37 (s, 4H)

表A

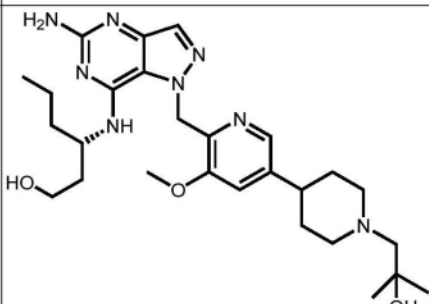
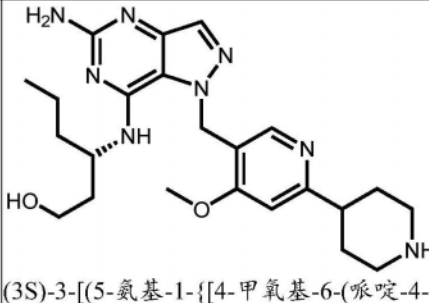
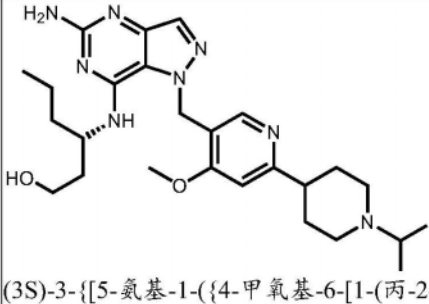
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
158	 1-({5-[1-(氮杂环丁烷-3-基)哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-N7-(螺[2.3]己-5-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	223.6	69.4	LC/MS [M+H] ⁺ = 504.2 RT (min) = 1.15 δ 8.04 (br s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.39 (br s, 1H), 5.65 (s, 2H), 3.78 (br s, 3H), 3.66 - 3.53 (m, 2H), 2.83 (br d, J=10.7 Hz, 2H), 2.80 - 2.68 (m, 2H), 2.13 (br t, J=9.9 Hz, 2H), 1.96 - 1.83 (m, 4H), 1.82 - 1.74 (m, 6H), 1.72 - 1.63 (m, 2H), 0.39 (s, 4H)。
159	 1-({3-甲氧基-5-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-2-基}甲基)-N7-(螺[2.3]己-5-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	62.0	4.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 463.2 RT (min) = 1.24 δ 8.03 - 7.90 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 5.73 - 5.49 (m, 4H), 3.87 (s, 3H), 3.61 (br dd, J=7.0, 5.4 Hz, 2H), 2.93 - 2.82 (m, 2H), 2.81 - 2.73 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.16 - 2.08 (m, 2H), 2.04 - 1.95 (m, 2H), 1.88 (br dd, J=11.8, 6.0 Hz, 2H), 1.78 - 1.65 (m, 4H), 0.38 (s, 4H)。
160	 N7-丁基-1-({2-甲氧基-4-(哌啶-4-基)苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	13.0	-	LC/MS [M+H] ⁺ = 410.0 RT (min) = 1.10 δ 6.89 (s, 1H), 6.69 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 6.45 (br d, J=7.6 Hz, 1H), 6.39 (br t, J=5.2 Hz, 1H), 5.61 (s, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.13 - 2.92 (m, 2H), 2.60 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 1.68 (br d, J=12.8 Hz, 2H), 1.61 - 1.48 (m, 2H), 1.49 - 1.39 (m, 2H), 1.24 - 1.09 (m, 2H), 0.84 (t, J=7.3 Hz, 3H)
161	 N7-丁基-1-({4-(1-甲磺酰基哌啶-4-基)-2-甲氧基苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	107.4	36	LC/MS [M+H] ⁺ = 488.1 RT (min) = 1.55 δ 7.55 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.73 (d, J=7.7 Hz, 1H), 6.43 (br d, J=7.8 Hz, 2H), 5.67 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.66 (br d, J=12.2 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H), 2.78 (br t, J=11.1 Hz, 2H), 2.64 - 2.57 (m, 1H), 1.83 (br d, J=12.5 Hz, 2H), 1.75 - 1.62 (m, 2H), 1.47 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.24 - 1.13 (m, 2H), 0.84 (t, J=7.4 Hz, 3H)

[0179]

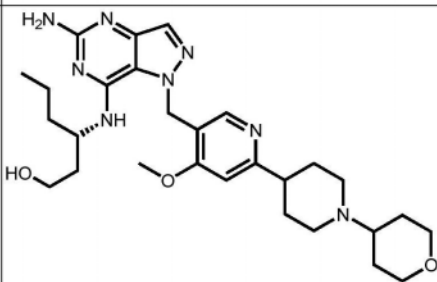
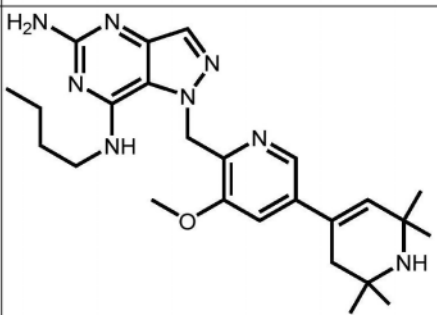
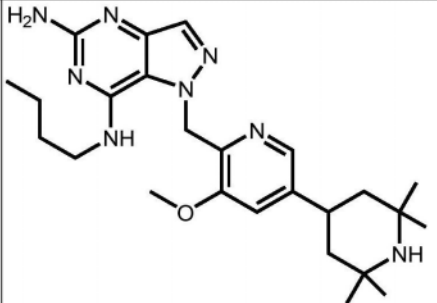
[0180]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
162	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-3-甲氧基苯基)哌啶-1-基]-3-羟基-3-甲基丁-1-酮	12.2	-	LC/MS [M+H] ⁺ = 510.1 RT (min) = 1.43 δ 7.56 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.70 (br d, J=8.2 Hz, 1H), 6.57 - 6.40 (m, 2H), 5.73 (br s, 2H), 5.58 (s, 2H), 4.57 (br d, J=13.4 Hz, 1H), 4.13 - 4.00 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.63 (br d, J=2.7 Hz, 2H), 3.46 - 3.32 (m, 2H), 3.06 (br t, J=13.0 Hz, 1H), 2.82 - 2.69 (m, 1H), 2.47 (br d, J=4.0 Hz, 2H), 1.75 (br d, J=13.1 Hz, 2H), 1.54 (br s, 1H), 1.50 - 1.40 (m, 3H), 1.22 - 1.11 (m, 8H), 0.82 (t, J=7.3 Hz, 3H)
163	 N7-丁基-1-{[2-甲氧基-4-(1-甲基哌啶-4-基)苯基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	5.0	0.065	LC/MS [M+H] ⁺ = 424.2 RT (min) = 1.13 δ 7.54 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.70 (d, J=7.1 Hz, 1H), 6.56 - 6.21 (m, 2H), 5.64 (s, 2H), 5.58 (s, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.85 (br d, J=10.9 Hz, 2H), 2.42 (br t, J=4.5 Hz, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.00 - 1.93 (m, 2H), 1.74 - 1.56 (m, 4H), 1.46 (quin, J=7.2 Hz, 2H), 1.24 - 1.08 (m, 2H), 0.83 (t, J=7.3 Hz, 3H)
164	 (3S)-3-({[5-氨基-1-[(5-{[1-[2-(二甲基氨基)乙基]哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	41.0	3.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 526.3 RT (min) = 1.10 δ 7.99 (s, 1H), 7.83 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 7.52 - 7.40 (m, 2H), 5.75 - 5.49 (m, 4H), 4.43 (br d, J=7.9 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.00 (br d, J=11.3 Hz, 2H), 2.41 (br dd, J=10.2, 4.4 Hz, 4H), 2.18 (s, 6H), 2.09 - 1.99 (m, 2H), 1.88 - 1.76 (m, 2H), 1.74 (br s, 4H), 1.65 - 1.54 (m, 2H), 1.42 - 1.26 (m, 2H), 0.89 (t, J=7.3 Hz, 3H)

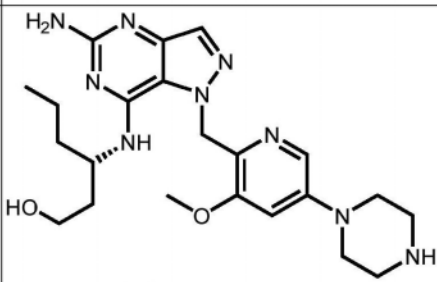
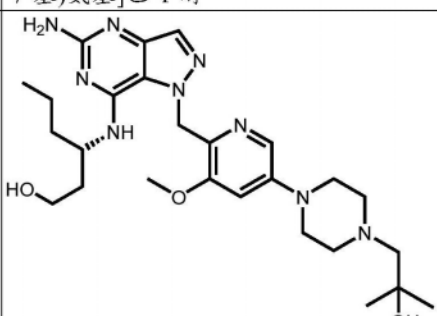
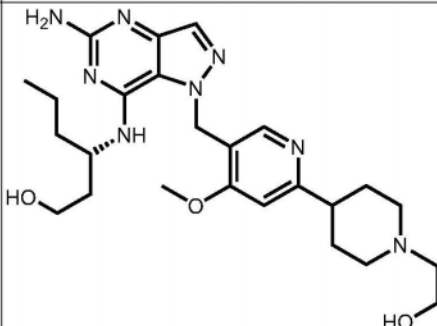
[0181]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
165	 (3S)-3-([5-氨基-1-({6-[1-(2-羟基-2-甲基丙基)哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	168.5	140.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 483.3 RT (min) = 1.28 ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 7.64 (s, 1H), 7.47 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.22 (d, J=8.5 Hz, 1H), 5.92 - 5.71 (m, 2H), 4.49 - 4.25 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.81 - 2.69 (m, 2H), 1.78 - 1.63 (m, 6H), 1.57 - 1.41 (m, 2H), 1.29 - 1.12 (m, 6H), 1.15 - 1.03 (m, 2H), 0.79 (br t, J=7.2 Hz, 3H)
166	 (3S)-3-([5-氨基-1-({4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	45.5	22.5	LC/MS [M+H] ⁺ = 455.3 RT (min) = 0.98 ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.55 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.04 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.69 - 5.60 (m, 3H), 5.58 - 5.50 (m, 1H), 4.48 - 4.31 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.17 (s, 2H), 3.05 - 3.00 (m, 2H), 2.74 - 2.67 (m, 1H), 2.63 - 2.54 (m, 2H), 1.89 (s, 2H), 1.74 - 1.54 (m, 6H), 1.49 - 1.40 (m, 2H), 1.15 - 1.02 (m, 2H), 0.78 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
167	 (3S)-3-([5-氨基-1-({4-甲氧基-6-[1-(丙-2-基)哌啶-4-基]吡啶-3-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	9.4	0.17	LC/MS [M+H] ⁺ = 497.4 RT (min) = 1.00 ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 12.55 - 12.19 (m, 1H), 9.11 - 8.96 (m, 1H), 7.99 - 7.94 (m, 1H), 7.91 - 7.81 (m, 2H), 7.78 - 7.74 (m, 1H), 7.24 - 7.21 (m, 1H), 7.11 - 7.08 (m, 1H), 6.99 - 6.94 (m, 1H), 5.81 - 5.63 (m, 2H), 4.62 - 4.55 (m, 1H), 3.84 - 3.79 (m, 3H), 3.47 (br d, J=6.6 Hz, 6H), 3.17 (s, 1H), 3.13 - 2.94 (m, 2H), 2.11 - 1.96 (m, 3H), 1.83 - 1.73 (m, 2H), 1.67 - 1.50 (m, 2H), 1.31 - 1.16 (m, 8H), 0.88 - 0.81 (m, 3H)

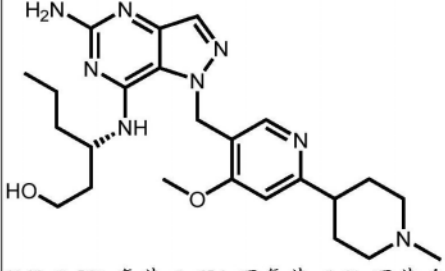
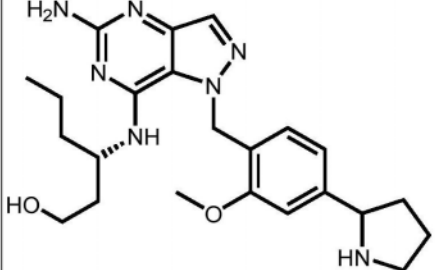
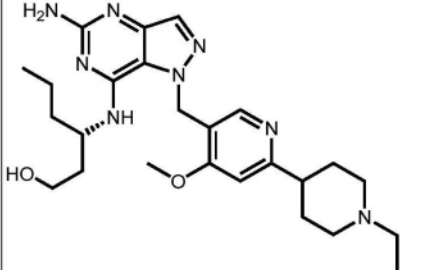
[0182]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
168	 (3S)-3-([5-氨基-1-({4-甲氧基-6-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-3-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	6.8	0.47	LC/MS [M+H] ⁺ = 539.4 RT (min) = 1.07 ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.55 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.05 (d, J=8.6 Hz, 1H), 5.71 - 5.59 (m, 3H), 5.59 - 5.47 (m, 1H), 4.45 (br s, 1H), 4.41 - 4.29 (m, 1H), 3.91 - 3.84 (m, 5H), 3.27 (br s, 4H), 2.97 (br d, J=12.0 Hz, 2H), 2.61 - 2.53 (m, 1H), 2.45 - 2.38 (m, 1H), 2.24 - 2.12 (m, 2H), 1.91 (s, 4H), 1.79 - 1.56 (m, 8H), 1.49 - 1.38 (m, 4H), 1.16 - 1.05 (m, 2H), 0.78 (t, J=7.3 Hz, 3H)
169	 N7-丁基-1-({5-甲氧基-2',2',6',6'-四甲基-1',2',3',6'-四氢-[3,4'-联吡啶]-6-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	495.6	120.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 465.3 RT (min) = 1.27 δ 8.12 (s, 1H), 7.76 (br s, 1H), 7.47 (s, 2H), 6.26 (s, 1H), 5.68 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.56 - 3.30 (m, 2H), 2.31 (s, 2H), 1.67 - 1.57 (m, 2H), 1.37 - 1.31 (m, 2H), 1.28 (s, 6H), 1.21 (s, 6H), 0.91 (t, J=7.5 Hz, 3H)
170	 N7-丁基-1-({3-甲氧基-5-(2,2,6,6-四甲基哌啶-4-基)吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	208.6	42.6	LC/MS [M+H] ⁺ = 467.0 RT (min) = 1.22 δ 8.02 (s, 2H), 7.47 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.60 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.29 - 2.96 (m, 1H), 1.70 - 1.55 (m, 4H), 1.50 - 1.31 (m, 4H), 1.27 (s, 6H), 1.13 (s, 6H), 0.94 (t, J=7.3 Hz, 3H)。

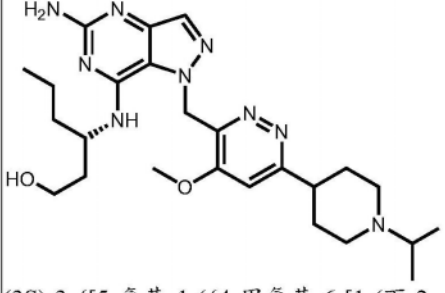
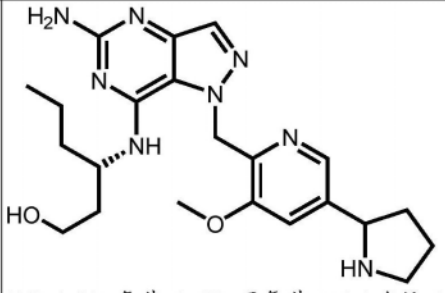
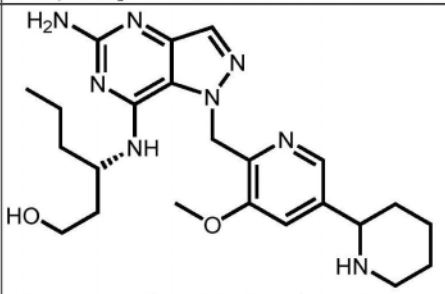
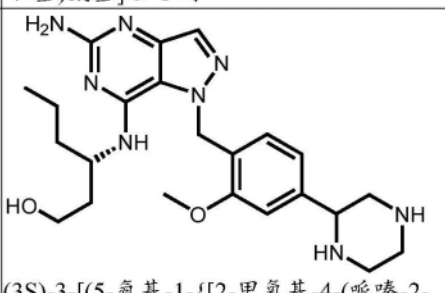
[0183]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
171	 (3S)-3-[(5-氨基-1-([3-甲氧基-5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	308.6	55.5	LC/MS [M+H] ⁺ = 456.2 RT (min) = 1.07 δ 9.49 - 9.34 (m, 1H), 7.79 (br d, J=2.1 Hz, 1H), 7.75 - 7.56 (m, 2H), 7.13 (d, J=1.9 Hz, 1H), 5.66 (br d, J=2.7 Hz, 2H), 4.65 - 4.50 (m, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.56 - 3.41 (m, 2H), 3.23 (br s, 2H), 1.92 - 1.74 (m, 2H), 1.67 (q, J=7.2 Hz, 2H), 1.40 - 1.25 (m, 2H), 0.90 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
172	 (3S)-3-[(5-氨基-1-([5-[4-(2-羟基-2-甲基丙基)哌嗪-1-基]-3-甲氧基吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	19.9	10.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 527.9 RT (min) = 1.08 δ 8.03 (br d, J=6.0 Hz, 1H), 7.97 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 5.89 (br s, 1H), 5.72 - 5.53 (m, 2H), 4.50 - 4.38 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.58 - 3.38 (m, 1H), 2.44 - 2.25 (m, 2H), 1.87 - 1.65 (m, 6H), 1.64 - 1.51 (m, 2H), 1.31 (td, J=14.1, 7.0 Hz, 2H), 1.13 (s, 6H), 0.88 (t, J=7.3 Hz, 3H)
173	 (3S)-3-[(5-氨基-1-([6-[1-(2-羟基乙基)哌啶-4-基]-4-甲氧基吡啶-3-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	89.9	4.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 499.4 RT (min) = 0.81 ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.77 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 6.98 (s, 3H), 5.76 - 5.60 (m, 2H), 5.28 (br d, J = 1.7 Hz, 1H), 4.57 - 4.44 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.78 - 3.71 (m, 2H), 3.62 - 3.50 (m, 2H), 3.45 - 3.41 (m, 2H), 3.19 - 3.15 (m, 2H), 3.10 - 2.88 (m, 4H), 2.01 (br s, 4H), 1.79 - 1.68 (m, 2H), 1.61 - 1.49 (m, 2H), 1.27 - 1.10 (m, 3H), 0.83 (t, J = 7.3 Hz, 3H)

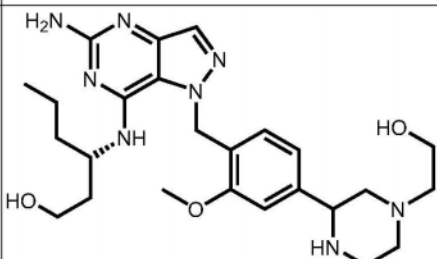
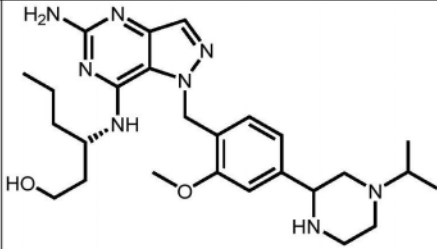
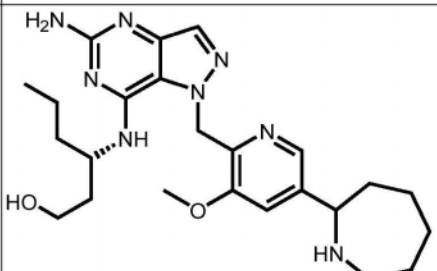
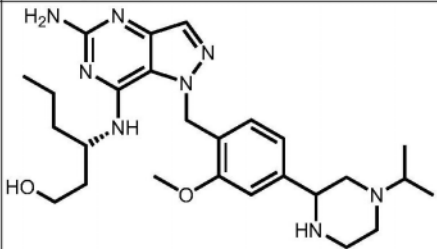
[0184]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
174	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(4-甲氧基-6-(1-甲基哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	11.0	2.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 469.3 RT (min) = 1.05 ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.56 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.70 - 5.62 (m, 3H), 5.59 - 5.51 (m, 1H), 4.49 - 4.43 (m, 1H), 4.41 - 4.33 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.41 - 3.38 (m, 2H), 2.90 - 2.81 (m, 2H), 2.59 - 2.54 (m, 1H), 2.01 - 1.88 (m, 3H), 1.78 - 1.58 (m, 6H), 1.48 - 1.39 (m, 2H), 1.16 - 1.03 (m, 2H), 0.79 (t, J = 7.4 Hz, 3H)
175	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(2-甲氧基-4-(吡咯烷-2-基)苯基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	8.8	0.91	LC/MS [M+H] ⁺ = 440.24 RT (min) = 1.12 δ 7.59 - 7.54 (m, 1H), 7.13 - 7.07 (m, 1H), 6.89 - 6.79 (m, 1H), 6.45 - 6.37 (m, 1H), 5.72 - 5.65 (m, 1H), 5.65 - 5.61 (m, 2H), 5.59 - 5.52 (m, 1H), 4.37 - 4.27 (m, 1H), 4.16 - 4.05 (m, 1H), 3.89 - 3.83 (m, 3H), 3.33 - 3.26 (m, 1H), 3.12 - 3.03 (m, 1H), 3.02 - 2.90 (m, 1H), 2.55 - 2.54 (m, 3H), 2.20 - 2.06 (m, 1H), 1.87 - 1.73 (m, 2H), 1.68 - 1.32 (m, 6H), 1.16 - 1.00 (m, 2H), 0.82 - 0.73 (m, 3H)
176	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(6-[1-(2-羟基-2-甲基丙基)哌啶-4-基]-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	4.8	0.21	LC/MS [M+H] ⁺ = 527.4 RT (min) = 1.05 ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.55 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.04 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.68 - 5.51 (m, 4H), 4.47 - 4.33 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.38 (br d, J = 1.5 Hz, 2H), 3.02 (br d, J = 11.5 Hz, 2H), 2.54 (s, 1H), 2.25 - 2.16 (m, 4H), 1.91 (s, 2H), 1.82 - 1.58 (m, 6H), 1.48 - 1.42 (m, 2H), 1.15 - 1.05 (m, 9H), 0.79 (t, J = 7.3 Hz, 3H)

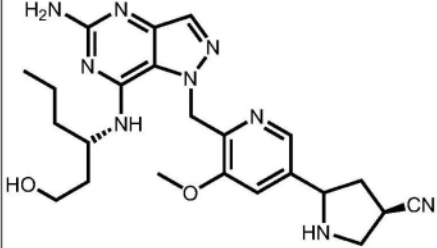
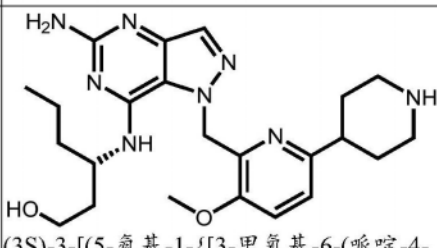
[0185]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
177	 (3S)-3-((5-氨基-1-((4-甲氧基-6-(1-(丙-2-基)哌啶-4-基)哒嗪-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇	578.7	9.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 498.4 RT (min) = 0.92 ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.49 (s, 1H), 7.32 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 5.81 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 5.57 (s, 2H), 4.43 - 4.30 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.43 (br s, 2H), 2.95 - 2.88 (m, 2H), 2.83 - 2.69 (m, 2H), 2.30 - 2.18 (m, 2H), 1.91 (s, 2H), 1.87 - 1.67 (m, 6H), 1.60 - 1.48 (m, 2H), 1.32 - 1.17 (m, 2H), 0.99 (d, J = 6.6 Hz, 6H), 0.84 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
178	 (3S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(吡咯烷-2-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇	278.9	2.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 441.4 RT (min) = 1.03/B δ 9.82 - 9.67 (m, 1H), 9.14 - 8.97 (m, 1H), 8.89 (br t, J = 7.6 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.87 (br s, 2H), 7.73 (s, 2H), 5.84 (s, 2H), 4.63 (br d, J = 1.9 Hz, 1H), 4.57 (br dd, J = 13.3, 6.2 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.49 - 3.45 (m, 2H), 2.41 - 2.34 (m, 1H), 2.17 - 2.01 (m, 3H), 1.80 (br d, J = 5.8 Hz, 2H), 1.65 - 1.58 (m, 2H), 1.36 - 1.23 (m, 2H), 0.92 - 0.84 (m, 3H)
179	 (3S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-2-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇	234.9	2.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 455.3 RT (min) = 1.08/B δ 8.04 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.89 (br t, J = 9.3 Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 5.66 - 5.57 (m, 2H), 5.56 (s, 2H), 4.45 - 4.36 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.65 - 3.60 (m, 1H), 3.07 - 3.01 (m, 1H), 2.68 - 2.60 (m, 1H), 1.82 - 1.75 (m, 2H), 1.74 - 1.67 (m, 2H), 1.62 - 1.52 (m, 3H), 1.46 - 1.26 (m, 5H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
180	 (3S)-3-((5-氨基-1-((2-甲氧基-4-(哌嗪-2-基)苯基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇	67.9	7.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 455.36 RT (min) = 1.02 δ 7.61 - 7.52 (m, 1H), 7.16 - 7.05 (m, 1H), 6.91 - 6.76 (m, 1H), 6.49 - 6.37 (m, 1H), 5.75 - 5.50 (m, 5H), 4.38 - 4.25 (m, 1H), 4.15 - 4.06 (m, 1H), 3.90 - 3.79 (m, 3H), 3.34 - 3.23 (m, 1H), 3.13 - 3.01 (m, 1H), 3.01 - 2.91 (m, 1H), 2.21 - 2.05 (m, 1H), 1.93 - 1.88 (m, 1H), 1.87 - 1.72 (m, 2H), 1.70 - 1.29 (m, 5H), 1.15 - 0.99 (m, 2H), 0.84 - 0.70 (m, 3H)

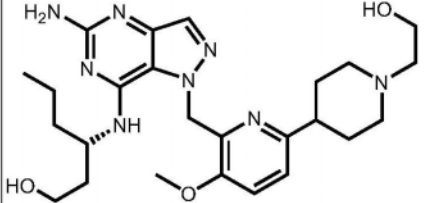
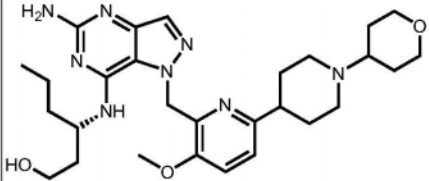
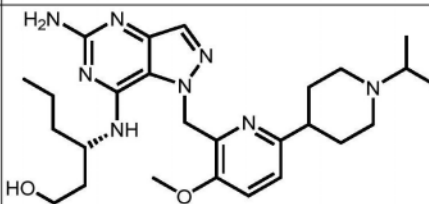
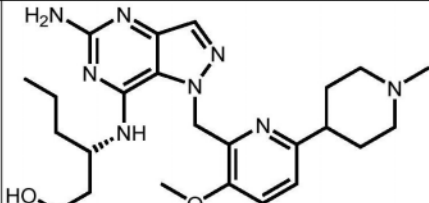
[0186]

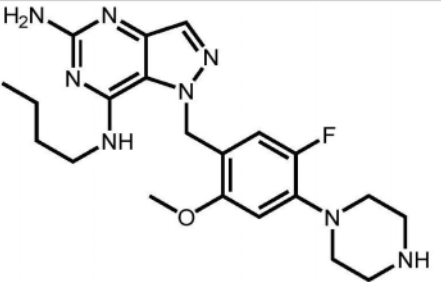
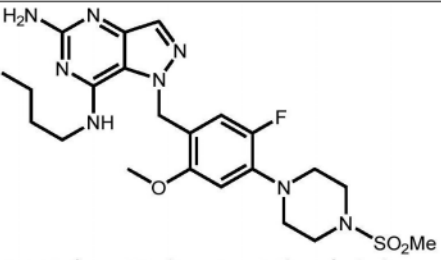
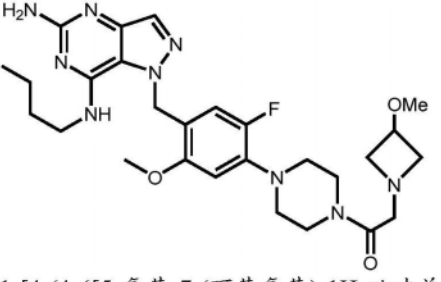
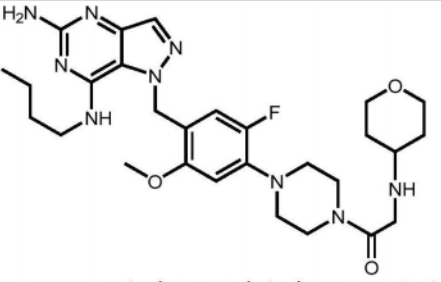
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
181	 (3S)-3-([5-氨基-1-({4-[4-(2-羟基乙基)哌嗪-2-基]-2-甲氧基苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	139.5	4.57	LC/MS [M+H] ⁺ = 499.0 RT (min) = 1.13 δ 7.82 - 7.77 (m, 1H), 7.76 - 7.70 (m, 1H), 7.28 - 7.21 (m, 1H), 7.06 - 6.97 (m, 1H), 6.90 - 6.79 (m, 1H), 5.86 - 5.68 (m, 2H), 4.64 - 4.50 (m, 1H), 4.50 - 4.37 (m, 1H), 3.91 - 3.73 (m, 3H), 3.70 - 3.61 (m, 1H), 3.46 - 3.22 (m, 2H), 3.07 - 2.75 (m, 3H), 1.83 - 1.68 (m, 2H), 1.66 - 1.49 (m, 2H), 1.29 - 1.12 (m, 2H), 0.92 - 0.80 (m, 3H)
182	 (3S)-3-([5-氨基-1-({2-甲氧基-4-[4-(丙-2-基)哌嗪-2-基]苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	6.8	0.28	LC/MS [M+H] ⁺ = 497.2 RT (min) = 1.24 δ 7.60 - 7.54 (m, 1H), 7.14 - 7.05 (m, 1H), 6.90 - 6.82 (m, 1H), 6.47 - 6.37 (m, 1H), 5.72 - 5.49 (m, 4H), 4.38 - 4.26 (m, 1H), 3.89 - 3.82 (m, 2H), 3.36 - 3.23 (m, 2H), 2.99 - 2.88 (m, 1H), 2.82 - 2.72 (m, 1H), 2.71 - 2.59 (m, 3H), 2.23 - 2.14 (m, 1H), 2.03 - 1.93 (m, 1H), 1.70 - 1.59 (m, 1H), 1.53 - 1.31 (m, 4H), 1.16 - 1.00 (m, 2H), 0.98 - 0.90 (m, 6H), 0.83 - 0.73 (m, 3H)
183	 (3S)-3-([5-氨基-1-({5-(氮杂卓-2-基)-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	89.9	2.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 469.2 RT (min) = 1.29 δ 9.31 - 9.10 (m, 2H), 9.08 - 9.01 (m, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.84 (br s, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 5.81 (s, 2H), 4.60 - 4.53 (m, 1H), 4.51 - 4.45 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.36 - 3.27 (m, 1H), 3.21 - 3.13 (m, 1H), 2.16 - 2.05 (m, 1H), 1.99 - 1.74 (m, 7H), 1.69 - 1.57 (m, 4H), 1.37 - 1.24 (m, 2H), 0.91 - 0.85 (m, 3H)
184	 (3S)-3-([5-氨基-1-({2-甲氧基-4-[4-(丙-2-基)哌嗪-2-基]苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	6.5	0.15	LC/MS [M+H] ⁺ = 497.2 RT (min) = 1.14 δ 7.61 - 7.53 (m, 1H), 7.16 - 7.09 (m, 1H), 6.88 - 6.80 (m, 1H), 6.45 - 6.36 (m, 1H), 5.75 - 5.49 (m, 4H), 4.38 - 4.26 (m, 1H), 3.91 - 3.82 (m, 3H), 3.35 - 3.24 (m, 2H), 3.02 - 2.93 (m, 1H), 2.82 - 2.73 (m, 1H), 2.71 - 2.59 (m, 3H), 2.26 - 2.17 (m, 1H), 2.05 - 1.96 (m, 1H), 1.70 - 1.60 (m, 1H), 1.53 - 1.31 (m, 3H), 1.14 - 0.99 (m, 2H), 0.96 - 0.89 (m, 6H), 0.82 - 0.73 (m, 3H)

[0187]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
185	 (3R)-5-{6-[(5-氨基-7-[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-3-基}吡咯烷-3-甲腈	398.8	27.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 465.9 RT (min) = 1.34 δ 8.93 (br d, J=8.3 Hz, 0.75H), 8.90 - 8.85 (m, 0.25H), 8.12 (s, 0.75H), 8.08 (s, 0.25H), 7.86 - 7.77 (m, 2H), 7.77 - 7.70 (m, 2H), 5.82 (br s, 2H), 4.87 (br dd, J=10.6, 7.0 Hz, 0.75H), 4.68 - 4.63 (m, 0.25H), 4.60 - 4.52 (m, 1H), 3.93 (s, 0.25H), 3.92 (s, 0.75H) 3.85 - 3.75 (m, 2H), 2.85 - 2.78 (m, 0.25H), 2.73 - 2.65 (m, 0.75H), 1.85 - 1.73 (m, 2H), 1.65 - 1.57 (m, 2H), 1.34 - 1.22 (m, 2H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H)
186	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(3-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基]己-1-醇	1,650	242	LC/MS [M+H] ⁺ = 454.9 RT (min) = 1.07 δ 7.54 (s, 1H), 7.49 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.22 (d, J=8.2 Hz, 1H), 6.45 - 6.35 (m, 1H), 5.88 - 5.72 (m, 3H), 5.72 - 5.65 (m, 1H), 4.37 (br dd, J=12.2, 5.8 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.20 (br d, J=11.9 Hz, 1H), 2.91 (br t, J=12.7 Hz, 2H), 2.83 - 2.74 (m, 1H), 1.85 (br d, J=12.8 Hz, 2H), 1.75 - 1.55 (m, 4H), 1.50 - 1.42 (m, 2H), 1.17 - 1.07 (m, 2H), 0.80 (br t, J=7.2 Hz, 3H)。
187	 1-(4-{6-[(5-氨基-7-[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-5-甲氧基吡啶-2-基}哌啶-1-基)-2-(二甲基氨基)乙-1-酮	402	80.5	LC/MS [M+H] ⁺ = 540.3 RT (min) = 1.07 δ 7.51 (s, 1H), 7.44 (br d, J=8.5 Hz, 1H), 7.19 (dd, J=8.7, 2.8 Hz, 1H), 6.62 (br t, J=7.2 Hz, 1H), 5.83 - 5.73 (m, 1H), 5.65 (br dd, J=16.7, 7.1 Hz, 1H), 4.39 - 4.31 (m, 1H), 4.25 (br dd, J=9.5, 5.4 Hz, 1H), 3.88 - 3.79 (m, 4H), 2.99 (br t, J=12.3 Hz, 1H), 2.79 - 2.70 (m, 1H), 2.69 - 2.60 (m, 1H), 2.38 (br d, J=3.7 Hz, 6H), 1.76 - 1.58 (m, 4H), 1.54 - 1.41 (m, 2H), 1.40 - 1.30 (m, 1H), 1.29 - 1.19 (m, 1H), 1.13 (td, J=15.0, 7.7 Hz, 2H), 0.84 - 0.71 (m, 3H)。

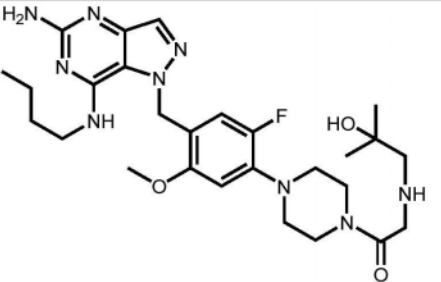
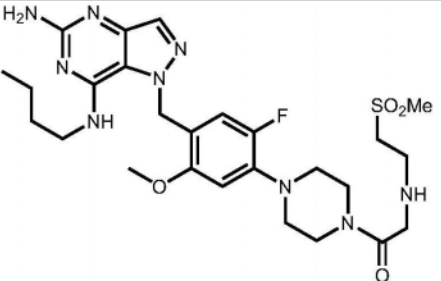
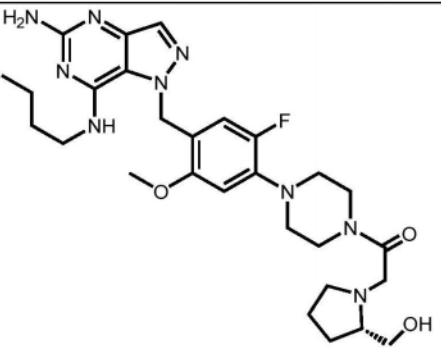
[0188]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
188	 (3S)-3-([5-氨基-1-({6-[1-(2-羟基乙基)哌啶-4-基]-3-甲氧基吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	290	83.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 498.9 RT (min) = 1.04 δ 7.52 (s, 1H), 7.46 (d, J=8.6 Hz, 1H), 7.21 (d, J=8.5 Hz, 1H), 6.65 (br d, J=5.4 Hz, 1H), 5.80 - 5.61 (m, 2H), 4.34 (br dd, J=12.6, 5.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 4H), 3.60 (br t, J=5.8 Hz, 2H), 3.13 - 2.95 (m, 2H), 2.78 - 2.64 (m, 2H), 2.67 - 2.54 (m, 2H), 2.49 - 2.33 (m, 2H), 1.80 - 1.46 (m, 8H), 1.20 - 1.05 (m, 2H), 0.80 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
189	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-6-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	85.3	9.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 538.9 RT (min) = 1.06 δ 7.50 (s, 1H), 7.46 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.24 (d, J=8.5 Hz, 1H), 6.91 - 6.70 (m, 1H), 5.80 - 5.53 (m, 4H), 4.40 - 4.28 (m, 1H), 3.96 - 3.78 (m, 5H), 3.28 (br t, J=11.7 Hz, 1H), 3.01 - 2.88 (m, 1H), 2.62 - 2.53 (m, 2H), 2.41 - 2.23 (m, 2H), 1.80 - 1.61 (m, 6H), 1.61 - 1.40 (m, 6H), 1.28 - 1.17 (m, 2H), 0.83 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
190	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-6-[1-(丙-2-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	175	26.7	LC/MS [M+H] ⁺ = 497.0 RT (min) = 1.06 δ 7.51 (s, 1H), 7.47 (d, J=8.5 Hz, 1H), 7.23 (d, J=8.6 Hz, 1H), 6.68 - 6.47 (m, 1H), 5.87 - 5.52 (m, 4H), 4.40 - 4.26 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.76 - 2.55 (m, 2H), 1.87 - 1.75 (m, 2H), 1.75 - 1.54 (m, 4H), 1.49 (br dd, J=7.2, 6.3 Hz, 2H), 1.21 - 1.12 (m, 2H), 1.10 (br d, J=6.5 Hz, 6H), 0.81 (br t, J=7.3 Hz, 3H)。
191	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-6-[1-(1-甲基哌啶-4-基)哌啶-2-基]甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	221	35.8	LC/MS [M+H] ⁺ = 469.3 RT (min) = 1.06 δ 7.69 (s, 1H), 7.48 (br d, J=8.5 Hz, 1H), 7.24 (br d, J=8.5 Hz, 1H), 5.99 - 5.72 (m, 2H), 4.50 - 4.37 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.03 - 2.89 (m, 1H), 2.70 (br s, 3H), 1.91 - 1.79 (m, 2H), 1.73 - 1.53 (m, 4H), 1.47 (br d, J=3.7 Hz, 2H), 1.16 - 1.00 (m, 2H), 0.79 (br t, J=7.0 Hz, 3H)

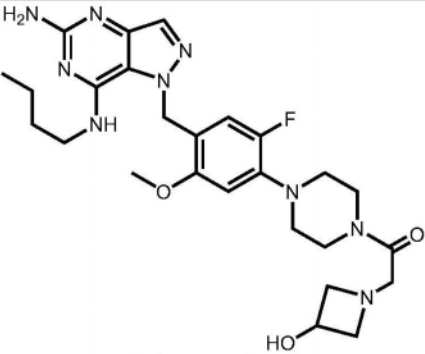
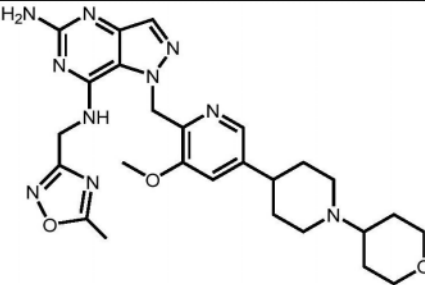
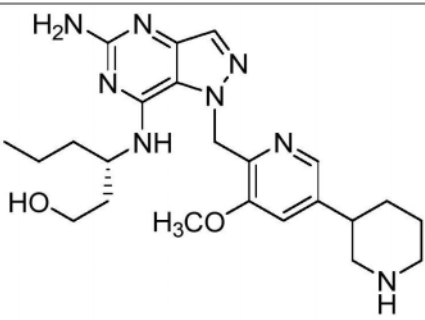
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
192	 N7-丁基-1-{[5-氟-2-甲氧基-4-(咪唑-1-基)苯基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	193	58.2	LC/MS [M+H] ⁺ = 429.1 RT (min) = 1.15 δ 9.54 - 9.23 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.87 (br s, 2H), 7.01 (br d, J=12.5 Hz, 1H), 6.69 (br d, J=7.0 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.26 (s, 4H), 1.68 - 1.51 (m, 2H), 1.41 - 1.23 (m, 2H), 0.91 (br t, J=7.3 Hz, 3H)
193	 N7-丁基-1-{[5-氟-4-(4-甲磺酰基咪唑-1-基)-2-甲氧基苯基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	84.9	529	LC/MS [M+H] ⁺ = 507.1 RT (min) = 1.55 δ 9.40 (br t, J=5.6 Hz, 1H), 7.97 (br s, 1H), 7.84 (br s, 2H), 6.99 (br d, J=12.5 Hz, 1H), 6.70 (br d, J=7.3 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.60 - 3.40 (m, 2H), 3.27 (br d, J=4.3 Hz, 4H), 3.16 (br s, 4H), 2.94 (s, 3H), 1.69 - 1.51 (m, 2H), 1.40 - 1.25 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.5 Hz, 3H)
194	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-2-氟-5-甲氧基苯基)咪唑-1-基]-2-(3-甲氧基氮杂环丁烷-1-基)乙-1-酮	63.1	37.1	LC/MS [M+H] ⁺ = 556.3 RT (min) = 1.30 δ 9.41 (br t, J=5.6 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.90 (br s, 2H), 7.00 (br d, J=12.5 Hz, 1H), 6.65 (br d, J=7.3 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.44 (br s, 3H), 3.99 - 3.89 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.62 (br s, 1H), 3.25 (s, 2H), 3.11 (br s, 1H), 3.06 (br s, 2H), 1.60 (br t, J=7.3 Hz, 2H), 1.39 - 1.22 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
195	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-2-氟-5-甲氧基苯基)咪唑-1-基]-2-[(吗啉-4-基)氨基]乙-1-酮	53.3	128	LC/MS [M+H] ⁺ = 570.2 RT (min) = 1.37 δ 9.41 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.89 (br d, J=2.4 Hz, 2H), 7.01 (d, J=12.8 Hz, 1H), 6.65 (br d, J=7.3 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.13 (br s, 2H), 3.93 (br d, J=8.2 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.68 (br d, J=1.2 Hz, 1H), 3.35 - 3.21 (m, 2H), 3.08 (br d, J=18.6 Hz, 3H), 1.97 (br d, J=11.9 Hz, 2H), 1.71 - 1.49 (m, 4H), 1.39 - 1.26 (m, 2H), 0.90 (t, J=7.3 Hz, 3H)。

[0189]

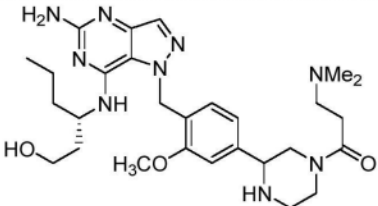
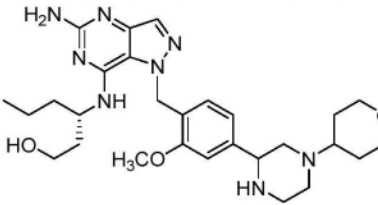
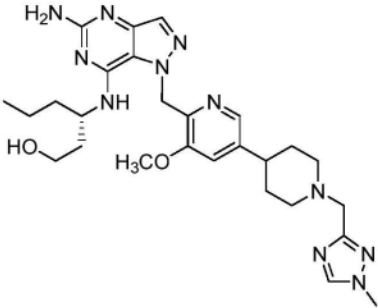
[0190]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
196	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-基]-2-[(2-羟基-2-甲基丙基)氨基]乙-1-酮	131	81.0	LC/MS [M+H] ⁺ = 558.2 RT (min) = 1.24 δ 7.89 - 7.74 (m, 1H), 7.70 (s, 1H), 6.82 (br d, J=12.5 Hz, 1H), 6.65 (br d, J=7.2 Hz, 1H), 5.83 (br s, 1H), 5.34 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.67 - 3.54 (m, 2H), 3.11 - 2.95 (m, 4H), 2.43 (s, 2H), 1.65 - 1.51 (m, 2H), 1.41 - 1.25 (m, 2H), 1.10 (s, 6H), 0.90 (br t, J=7.4 Hz, 3H)
197	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-基]-2-[(2-甲磺酰基乙基)氨基]乙-1-酮	320	1,000	LC/MS [M+H] ⁺ = 591.9 RT (min) = 1.20 δ 9.42 (br t, J=5.8 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.90 (br d, J=1.5 Hz, 2H), 7.01 (d, J=12.5 Hz, 1H), 6.66 (br d, J=7.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.68 (br s, 1H), 3.59 (br t, J=7.5 Hz, 1H), 3.52 (br s, 1H), 3.13 (s, 5H), 3.07 (br s, 2H), 1.67 - 1.53 (m, 2H), 1.40 - 1.27 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
198	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-基]-2-[(2S)-2-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]乙-1-酮	48.2	50.9	LC/MS [M+H] ⁺ = 570.3 RT (min) = 1.22 δ 7.72 (br d, J=5.3 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 6.80 (br d, J=12.5 Hz, 1H), 6.64 (br d, J=7.4 Hz, 1H), 5.33 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.73 - 3.45 (m, 3H), 3.14 - 2.83 (m, 6H), 2.36 - 2.23 (m, 1H), 1.86 - 1.75 (m, 1H), 1.74 - 1.40 (m, 5H), 1.39 - 1.27 (m, 2H), 0.90 (br t, J=7.3 Hz, 3H)。

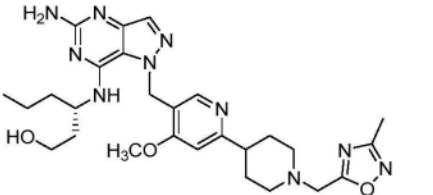
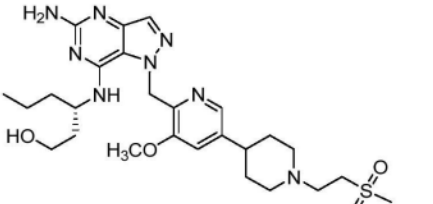
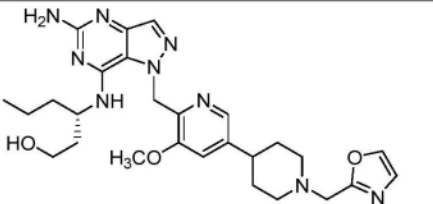
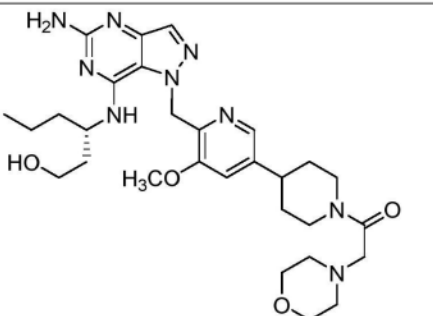
[0191]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
199	 1-[4-(4-{[5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-基]-2-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)乙-1-酮	339	1,000	LC/MS [M+H] ⁺ = 542.2 RT (min) = 1.20 δ 9.43 (br t, J=5.8 Hz, 1H), 8.01 - 7.96 (m, 1H), 7.93 (br s, 2H), 7.00 (d, J=12.5 Hz, 1H), 6.65 (br d, J=7.3 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.48 - 4.33 (m, 4H), 3.81 (s, 3H), 3.63 (br s, 2H), 3.54 - 3.31 (m, 4H), 3.11 (br s, 2H), 3.06 (br d, J=4.0 Hz, 2H), 3.00 (s, 2H), 1.65 - 1.54 (m, 2H), 1.38 - 1.27 (m, 2H), 0.91 (t, J=7.4 Hz, 3H)。
200	 1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-N7-[(5-甲基-1,2,4-噁二唑-3-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	116.8		LC/MS [M+H] ⁺ = 535.3 RT (min) = 1.01 δ 7.92 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 5.65 (br d, J=4.6 Hz, 3H), 4.83 (br d, J=4.3 Hz, 2H), 3.95 - 3.83 (m, 3H), 3.63 - 3.50 (m, 1H), 3.27 (br t, J=11.7 Hz, 1H), 3.00 (br d, J=9.5 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.51 (br s, 4H), 2.48 - 2.37 (m, 1H), 2.21 (br t, J=10.5 Hz, 2H), 1.83 - 1.59 (m, 5H), 1.44 (br dd, J=11.6, 4.3 Hz, 2H)
201	 (3S)-3-[(5-氨基-1-{[3-甲氧基-5-(哌啶-3-基)吡啶-2-基]甲基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	255.5		LC/MS [M+H] ⁺ = 454.9 RT (min) = 1.08 δ 9.24 - 9.10 (m, 1H), 9.03 - 8.87 (m, 1H), 8.72 - 8.49 (m, 1H), 8.04 - 7.93 (m, 1H), 7.75 - 7.67 (m, 1H), 7.58 - 7.49 (m, 1H), 5.86 - 5.71 (m, 2H), 4.63 - 4.48 (m, 1H), 4.02 - 3.79 (m, 3H), 3.65 - 3.43 (m, 3H), 3.38 - 3.27 (m, 2H), 3.20 - 2.82 (m, 3H), 1.98 - 1.70 (m, 6H), 1.69 - 1.56 (m, 2H), 1.38 - 1.18 (m, 2H), 0.93 - 0.83 (m, 3H)

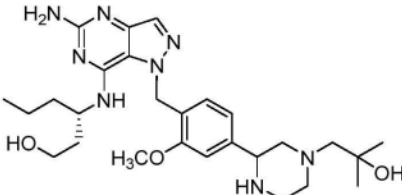
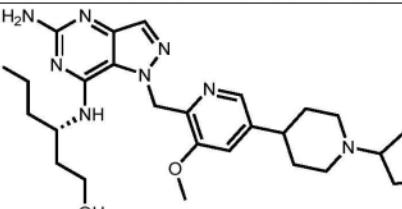
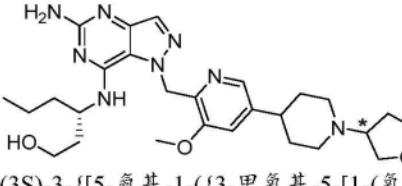
[0192]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
202	 1-(3-{4-[(5-氨基-7-[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基]甲基}-3-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-3-(二甲基氨基)丙-1-酮	495.6		LC/MS [M+H] ⁺ = 554.3 RT (min) = 0.97 δ 7.94 - 7.83 (m, 1H), 7.83 - 7.72 (m, 2H), 7.72 - 7.61 (m, 1H), 7.35 - 7.24 (m, 1H), 7.11 - 7.01 (m, 1H), 6.96 - 6.88 (m, 1H), 6.85 - 6.76 (m, 1H), 5.86 - 5.73 (m, 2H), 4.67 - 4.41 (m, 3H), 4.31 - 4.22 (m, 1H), 4.14 - 3.98 (m, 1H), 3.85 - 3.76 (m, 3H), 3.49 - 3.23 (m, 2H), 3.03 - 2.95 (m, 1H), 2.78 (br s, 3H), 2.52 (br s, 6H), 1.84 - 1.71 (m, 3H), 1.70 - 1.49 (m, 3H), 1.33 - 1.10 (m, 3H), 0.93 - 0.79 (m, 4H)
203	 (3S)-3-{[5-氨基-1-({2-甲氧基-4-[4-(噁烷-4-基)哌嗪-2-基]苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	35.0		LC/MS [M+H] ⁺ = 539.3 RT (min) = 1.06 δ 7.95 - 7.86 (m, 1H), 7.82 - 7.76 (m, 1H), 7.75 - 7.68 (m, 1H), 7.33 - 7.23 (m, 2H), 7.09 - 7.00 (m, 2H), 6.88 - 6.77 (m, 1H), 5.84 - 5.68 (m, 3H), 4.63 - 4.52 (m, 2H), 4.51 - 4.39 (m, 1H), 4.00 - 3.87 (m, 3H), 3.85 - 3.76 (m, 3H), 3.36 - 3.20 (m, 2H), 3.05 - 2.79 (m, 3H), 1.88 - 1.67 (m, 5H), 1.67 - 1.44 (m, 5H), 1.31 - 1.12 (m, 3H), 0.93 - 0.78 (m, 4H)
204	 (3S)-3-({5-氨基-1-[(3-甲氧基-5-{1-[(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-3-基)甲基]哌啶-4-基}吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基)己-1-醇	91.1		LC/MS [M+H] ⁺ = 550.0 RT (min) = 1.09 δ 9.23 - 9.13 (m, 1H), 8.64 - 8.51 (m, 1H), 7.98 - 7.90 (m, 1H), 7.74 - 7.67 (m, 1H), 7.48 - 7.38 (m, 1H), 5.81 - 5.72 (m, 2H), 4.61 - 4.49 (m, 1H), 4.37 - 4.26 (m, 1H), 3.96 - 3.85 (m, 5H), 3.83 - 3.63 (m, 1H), 3.62 - 3.50 (m, 1H), 3.10 - 2.97 (m, 1H), 2.98 - 2.81 (m, 5H), 2.03 - 1.86 (m, 4H), 1.86 - 1.75 (m, 2H), 1.69 - 1.58 (m, 2H), 1.38 - 1.21 (m, 2H), 0.92 - 0.82 (m, 3H)

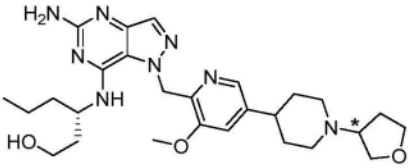
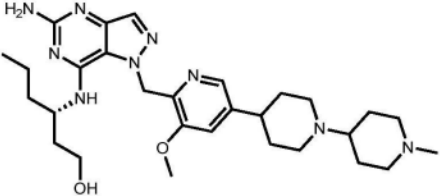
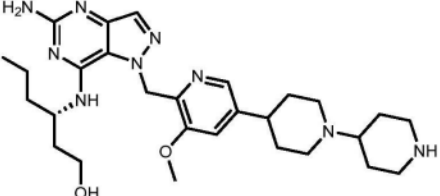
[0193]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
205	 (3S)-3-((5-氨基-1-[(3-甲氧基-5-{1-[(3-甲基-1,2,4-噁二唑-5-基)甲基]吡啶-4-基}吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	28.1		LC/MS [M+H] ⁺ = 551.0 RT (min) = 1.20 δ 9.38 - 9.20 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.71 (s, 2H), 7.44 (s, 2H), 5.75 (s, 2H), 4.69 - 4.51 (m, 3H), 4.14 - 3.96 (m, 2H), 3.93 - 3.85 (m, 3H), 3.56 - 3.43 (m, 3H), 3.10 - 2.97 (m, 2H), 2.96 - 2.80 (m, 1H), 2.41 - 2.37 (m, 3H), 2.04 - 1.86 (m, 4H), 1.85 - 1.74 (m, 2H), 1.67 - 1.56 (m, 2H), 1.36 - 1.18 (m, 2H), 0.91 - 0.78 (m, 3H)
206	 (3S)-3-((5-氨基-1-((5-((1-(2-甲磺酰基乙基)吡啶-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	74.9		LC/MS [M+H] ⁺ = 561.0 RT (min) = 1.08 δ 8.01 - 7.92 (m, 1H), 7.85 - 7.75 (m, 1H), 7.51 - 7.38 (m, 2H), 5.70 - 5.49 (m, 4H), 4.48 - 4.35 (m, 1H), 3.95 - 3.85 (m, 3H), 3.34 - 3.24 (m, 1H), 3.07 - 2.96 (m, 4H), 2.78 - 2.70 (m, 2H), 2.64 - 2.57 (m, 1H), 2.11 - 2.01 (m, 2H), 1.93 - 1.87 (m, 1H), 1.84 - 1.51 (m, 8H), 1.39 - 1.22 (m, 2H), 0.93 - 0.82 (m, 3H)
207	 (3S)-3-((5-氨基-1-[(3-甲氧基-5-{1-[(1,3-噁唑-2-基)甲基]吡啶-4-基}吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	25.1		LC/MS [M+H] ⁺ = 536.3 RT (min) = 1.09 δ 8.09 - 8.03 (m, 1H), 7.99 - 7.94 (m, 1H), 7.90 - 7.83 (m, 1H), 7.49 - 7.45 (m, 1H), 7.45 - 7.40 (m, 1H), 7.20 - 7.14 (m, 1H), 5.69 - 5.53 (m, 4H), 4.47 - 4.35 (m, 1H), 3.93 - 3.84 (m, 3H), 3.71 - 3.64 (m, 1H), 2.99 - 2.87 (m, 2H), 2.24 - 2.11 (m, 2H), 1.84 - 1.66 (m, 7H), 1.63 - 1.50 (m, 2H), 1.39 - 1.24 (m, 2H), 0.92 - 0.78 (m, 3H)
208	 1-(4-{6-[(5-氨基-7-[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-5-甲氧基吡啶-3-基}吡啶-1-基)-2-(吗啉-4-基)乙-1-酮	167.9		LC/MS [M+H] ⁺ = 582.0 RT (min) = 1.39 δ 7.96 (s, 1H), 7.84 (br s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.45 - 7.41 (m, 1H), 5.71 - 5.58 (m, 4H), 4.50 (br d, J=14.0 Hz, 2H), 4.45 - 4.31 (m, 1H), 4.16 (br d, J=12.2 Hz, 1H), 3.94 - 3.84 (m, 4H), 3.57 (br s, 1H), 3.25 (br d, J=13.1 Hz, 1H), 3.13 - 3.03 (m, 2H), 2.94 - 2.75 (m, 2H), 2.67 - 2.57 (m, 1H), 2.50 - 2.26 (m, 4H), 1.86 - 1.45 (m, 8H), 1.39 - 1.22 (m, 2H), 0.92 - 0.81 (m, 3H)

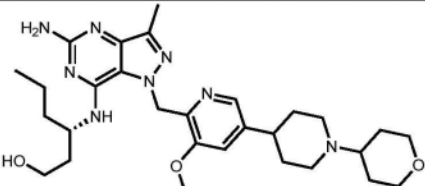
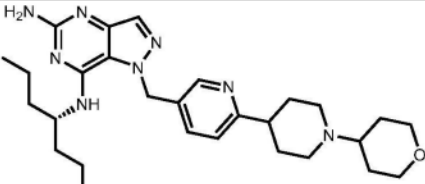
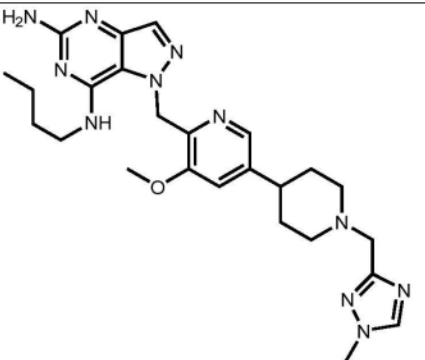
[0194]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
209	 (3S)-3-([5-氨基-1-({4-[4-(2-羟基-2-甲基丙基)吡嗪-2-基]-2-甲氧基苯基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	12.3		LC/MS [M+H] ⁺ = 527.3 RT (min) = 1.05 δ 7.62 - 7.52 (m, 1H), 7.17 - 7.05 (m, 1H), 6.89 - 6.75 (m, 1H), 6.47 - 6.34 (m, 1H), 5.76 - 5.43 (m, 5H), 4.37 - 4.23 (m, 1H), 3.89 - 3.79 (m, 2H), 3.71 - 3.53 (m, 1H), 3.35 - 3.21 (m, 2H), 2.94 - 2.70 (m, 4H), 2.30 - 1.99 (m, 4H), 1.71 - 1.55 (m, 1H), 1.54 - 1.27 (m, 3H), 1.14 - 0.92 (m, 8H), 0.82 - 0.69 (m, 3H)
210	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(氧戊环-3-基)吡唑-4-基]吡唑-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	9.05		LC/MS m/z = 525.4 [M+H] ⁺ RT (min) = 2.678 (方法C) ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ = 8.03 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.42 - 7.39 (m, 1H), 5.76 - 5.64 (m, 2H), 4.62 - 4.52 (m, 1H), 3.98 - 3.92 (m, 5H), 3.83 - 3.75 (m, 1H), 3.69 - 3.63 (m, 3H), 3.19 - 3.11 (m, 2H), 3.10 - 3.05 (m, 1H), 2.98 - 2.92 (m, 1H), 2.26 (br d, J=11.5 Hz, 1H), 2.01 - 2.01 (m, 2H), 1.92 - 1.80 (m, 8H), 1.94 - 1.79 (m, 1H), 1.49 - 1.43 (m, 2H), 0.99 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
211	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(氧戊环-3-基)吡唑-4-基]吡唑-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基}己-1-醇	122.98		LC/MS m/z = 525.4 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.553 (方法C) ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ = 8.03 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.42 - 7.39 (m, 1H), 5.76 - 5.64 (m, 2H), 4.62 - 4.52 (m, 1H), 3.98 - 3.92 (m, 5H), 3.83 - 3.75 (m, 1H), 3.69 - 3.63 (m, 3H), 3.19 - 3.11 (m, 2H), 3.10 - 3.05 (m, 1H), 2.98 - 2.92 (m, 1H), 2.26 (br d, J=11.5 Hz, 1H), 2.01 - 2.01 (m, 2H), 1.92 - 1.80 (m, 8H), 1.94 - 1.79 (m, 1H), 1.49 - 1.43 (m, 2H), 0.99 (t, J=7.3 Hz, 3H)。

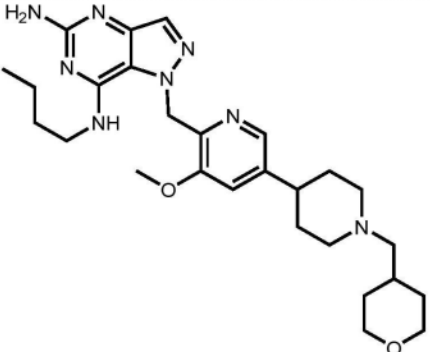
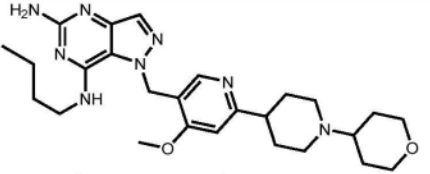
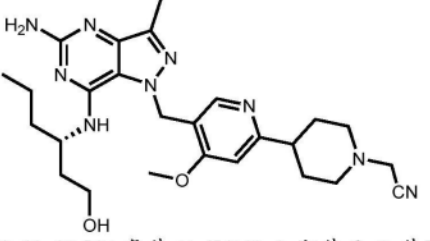
[0195]

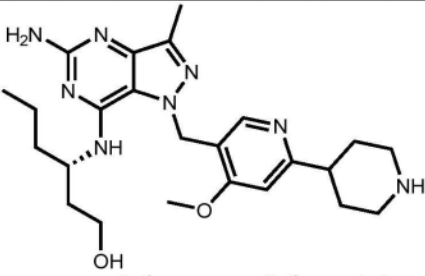
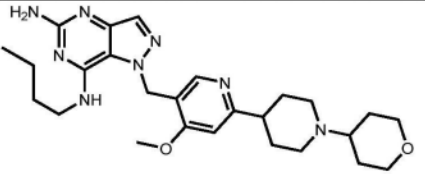
表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
212	 (3S)-3-({[5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(氧戊环-3-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基}己-1-醇	6.5		LC/MS <i>m/z</i> = 525.4 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.563 (方法C) ¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ = 8.03 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.42 - 7.39 (m, 1H), 5.76 - 5.64 (m, 2H), 4.62 - 4.52 (m, 1H), 3.98 - 3.92 (m, 5H), 3.83 - 3.75 (m, 1H), 3.69 - 3.63 (m, 3H), 3.19 - 3.11 (m, 2H), 3.10 - 3.05 (m, 1H), 2.98 - 2.92 (m, 1H), 2.26 (br d, J=11.5 Hz, 1H), 2.01 - 2.01 (m, 2H), 1.92 - 1.80 (m, 8H), 1.94 - 1.79 (m, 1H), 1.49 - 1.43 (m, 2H), 0.99 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
213	 (3S)-3-({5-氨基-1-[(3-甲氧基-5-{1'-甲基-[1,4'-联哌啶]-4-基}吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基}己-1-醇	56.6		LC/MS <i>m/z</i> = 552.3 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.769 (方法B) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.96 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.47 - 7.41 (m, 2H), 5.67 - 5.51 (m, 4H), 4.49 - 4.33 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.45 (br d, J = 3.5 Hz, 2H), 3.00 - 2.90 (m, 2H), 2.82 - 2.72 (m, 2H), 2.54 (s, 1H), 2.24 - 2.15 (m, 3H), 2.12 (s, 3H), 1.89 - 1.52 (m, 13H), 1.49 - 1.24 (m, 4H), 0.87 (t, J = 7.4 Hz, 3H)。
214	 (3S)-3-({5-氨基-1-[(5-{[1,4'-联哌啶]-4-基}-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基}氨基}己-1-醇	315.00		LC/MS <i>m/z</i> = 538.3 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.769 (方法B) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) 9.23 - 9.12 (m, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.88 - 7.76 (m, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 5.78 (s, 2H), 4.61 - 4.43 (m, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.65 - 3.43 (m, 8H), 3.17 - 2.87 (m, 7H), 2.29 - 2.17 (m, 2H), 2.14 - 1.76 (m, 2H), 1.63 (q, J = 7.5 Hz, 3H), 1.38 - 1.22 (m, 2H), 1.16 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 0.87 (t, J = 7.4 Hz, 3H)。

[0196]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
215	 (3S)-3-([5-氨基-1-({3-甲氧基-5-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	29.77		LC/MS m/z = 553.3 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.913 (方法B) ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.95 (d, J=1.5 Hz, 1H), 7.76 (d, J=8.3 Hz, 1H), 7.43 (d, J=1.5 Hz, 1H), 5.61 - 5.50 (m, 4H), 4.51 - 4.35 (m, 2H), 3.91 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.50 - 3.46 (m, 2H), 3.04 - 2.92 (m, 3H), 2.21 (br s, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.19 - 2.16 (m, 1H), 2.16 (d, J=2.4 Hz, 1H), 1.81 - 1.65 (m, 7H), 1.62 - 1.54 (m, 2H), 1.51 - 1.38 (m, 2H), 1.36 - 1.22 (m, 3H), 0.87 (t, J=7.3 Hz, 3H)。
216	 (3S)-3-([5-氨基-1-({6-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-3-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基]氨基)己-1-醇	1537		LC/MS m/z= 509.3 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.653 (方法B) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 8.24 - 8.19 (m, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.19 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 6.18 (s, 1H), 5.82 - 5.69 (m, 2H), 5.65 (s, 2H), 4.09 (br d, J = 14.4 Hz, 1H), 3.91 - 3.85 (m, 2H), 3.27 - 3.17 (m, 6H), 3.01 - 2.95 (m, 2H), 2.61 - 2.55 (m, 1H), 2.48 - 2.43 (m, 1H), 2.26 - 2.18 (m, 2H), 1.81 - 1.74 (m, 2H), 1.72 - 1.61 (m, 4H), 1.50 - 1.39 (m, 4H), 1.07 - 1.00 (m, 2H), 0.77 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。
217	 N7-丁基-1-[(3-甲氧基-5-{1-[(1-甲基-1H-1,2,4-三唑-3-基)甲基]哌啶-4-基}吡啶-2-基)甲基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	80.08		LC-MS m/z 506.3 [M+H] ⁺ RT (min) = 1.323。(方法D) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 8.34 (s, 1H), 8.03 - 7.98 (m, 1H), 7.96 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.41 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.70 - 5.65 (m, 2H), 5.63 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.51 (s, 2H), 3.47 - 3.44 (m, 2H), 3.00 - 2.95 (m, 2H), 2.54 (br d, J = 1.8 Hz, 2H), 2.15 - 2.08 (m, 2H), 1.73 - 1.66 (m, 3H), 1.65 - 1.58 (m, 2H), 1.39 - 1.32 (m, 2H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 3H);

[0197]

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间 (程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
218	 N7-丁基-1-[(3-甲氧基-5-{1-[(2-乙基-4-基)吡啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	25.94		LC-MS m/z: 509.3 [M+H] ⁺ . RT (min) = 1.43. (方法D). ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 8.09 - 8.03 (m, 1H), 7.98 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.42 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 5.80 - 5.70 (m, 2H), 5.64 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (br dd, J = 2.1, 9.2 Hz, 2H), 3.47 (br d, J = 5.4 Hz, 1H), 3.28 - 3.25 (m, 3H), 2.98 - 2.93 (m, 2H), 2.63 - 2.55 (m, 2H), 2.24 - 2.15 (m, 2H), 2.08 - 1.92 (m, 3H), 1.84 - 1.53 (3H), 1.59 - 1.65 (m, 4H), 1.41 - 1.30 (m, 2H), 1.18 - 1.06 (m, 2H), 0.92 (t, J = 7.3 Hz, 3H)
219	 N7-丁基-1-[(4-甲氧基-6-{1-[(2-乙基-4-基)吡啶-4-基]吡啶-2-基}甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺	21.9		LC/MS m/z = 495.3 [M+H] ⁺ RT (min) = 1.083 (方法D) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.59 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.69 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 5.65 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 3.91 - 3.83 (m, 5H), 3.43 (br d, J = 6.1 Hz, 2H), 3.27 (br t, J = 10.9 Hz, 2H), 2.97 (br d, J = 11.2 Hz, 2H), 2.60 - 2.54 (m, 1H), 2.47 - 2.38 (m, 1H), 2.17 (dt, J = 2.1, 11.3 Hz, 2H), 1.89 (br s, 2H), 1.82 - 1.62 (m, 4H), 1.57 - 1.37 (m, 4H), 1.23 (sxt, J = 7.4 Hz, 2H), 0.86 (t, J = 7.3 Hz, 3H)。
220	 2-(4-{5-[(5-氨基-7-{[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基}-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-4-甲氧基吡啶-2-基}哌啶-1-基)乙腈	436.38		LC/MS [M+H] ⁺ = 508.2 RT (min) = 1.172 (方法D) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.45 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.06 - 6.04 (m, 1H), 5.67 - 5.44 (m, 4H), 4.46 - 4.40 (m, 2H), 4.10 - 4.08 (m, 1H), 3.88 - 3.73 (s, 3H), 3.45 (s, 2H), 3.17 - 3.16 (m, 2H), 2.88 - 2.85 (m, 2H), 2.5 (s, 3H), 2.10 - 2.06 (m, 4H), 1.78 - 1.75 (m, 2H), 1.46 - 1.44 (m, 3H), 1.09 - 1.06 (m, 2H), 0.79 - 0.75 (t, 3H)。

表A				
化合物 编号	结构	hTLR7 激动作 用EC ₅₀ (nM)	hWB CD69 EC ₅₀ (nM)	质谱; LC/MS保留时间(程序A, 除非另有说明); ¹ H NMR (500 MHz, DMSO-d ₆ , 除非另有说明)
[0198]	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基]-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	57.11		LC/MS [M+H] ⁺ = 469.3 RT (min) = 0.818 (方法D) ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.48 - 7.45 (m, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.06 - 6.01 (m, 1H), 5.66 - 5.62 (m, 2H), 5.61 - 5.42 (m, 2H), 4.40 - 4.31 (m, 2H), 3.88 - 3.84 (m, 3H), 3.10 - 3.02 (m, 2H), 2.75 - 2.60 (m, 3H), 2.25 - 2.21 (m, 3H), 1.76 - 1.57 (m, 7H), 1.50 - 1.42 (m, 2H), 1.15 - 1.06 (m, 2H), 0.82 - 0.74 (m, 3H)。
	 (3S)-3-[(5-氨基-1-[(4-甲氧基-6-[1-(噁烷-4-基)哌啶-4-基]吡啶-3-基)甲基]-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基]己-1-醇	170		LC/MS m/z = 553.5 [M+H] ⁺ RT (min) = 0.991 (方法D)。 ¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ = 7.47 - 7.45 (m, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.67 - 5.63 (m, 2H), 5.59 - 5.43 (m, 2H), 4.47 (br d, J=2.0 Hz, 1H), 4.40 - 4.31 (m, 1H), 3.90 - 3.85 (m, 7H), 2.98 (ddd, J=1.6, 5.4, 9.1 Hz, 4H), 2.23 (s, 3H), 2.21 - 2.16 (m, 3H), 1.81 - 1.73 (m, 4H), 1.72 - 1.66 (m, 6H), 1.50 - 1.41 (m, 4H), 1.15 - 1.08 (m, 2H), 0.77 (br d, J=2.0 Hz, 3H)。

[0199] 药物组合物和施用

[0200] 在另一个方面,提供了药物组合物,所述药物组合物包含与药学上可接受的载体或赋形剂一起配制的如本文公开的化合物或其缀合物。它可以任选地含有一种或多种另外的药物活性成分,诸如生物制剂或小分子药物。所述药物组合物可以在组合疗法中与另一种治疗剂(尤其是抗癌剂)一起施用。

[0201] 所述药物组合物可以包含一种或多种赋形剂。可以使用的赋形剂包括载体、表面活性剂、增稠剂或乳化剂、固体粘合剂、分散或悬浮助剂、增溶剂、着色剂、调味剂、包衣、崩解剂、润滑剂、甜味剂、防腐剂、等渗剂及其组合。Gennaro编辑,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第20版(Lippincott Williams&Wilkins 2003)中教导了合适的赋形剂的选择和使用。

[0202] 优选地,药物组合物适用于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊髓或表皮施用(例如,通过注射或输注)。根据施用途,可以将活性化合物包被在材料中以保护所述化合物免受可能使其失活的酸和其他天然条件的作用。短语“肠胃外施用”意指除了肠施用和外用施用之外的施用方式,通常通过注射进行,并且包括而限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心脏内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外以及胸骨内注射和输注。可替代地,可以经由非肠胃外途径施用所述药物组合物,所述非肠胃外途径诸如外用、表皮或粘膜施用途,例如鼻内、口服、阴道、直肠、舌下或外用。

[0203] 药物组合物可以呈无菌水性溶液或分散体的形式。也可以将它们配制成微乳液、

脂质体或适合于实现高药物浓度的其他有序结构。所述组合物也可以以冻干物(用于在施用前在水中重构)的形式提供。

[0204] 可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据正在被治疗的受试者和特定的施用方式而变化并且将通常是产生治疗效果的该组合物量。通常,从百分比来说,此量的范围将是约0.01%至约99%的活性成分,优选从约0.1%至约70%、最优选从约1%至约30%的活性成分,与药学上可接受的载体组合。

[0205] 调整剂量方案以提供治疗反应。例如,可以施用单次推注,可以随时间施用几个分开的剂量,或者可以如由情况的紧急程度所指示的按比例减少或增加剂量。以剂量单位形式配制肠胃外组合物是尤其有利的,以便于施用和剂量的均匀。“剂量单位形式”是指适合作为单位剂量用于待治疗的受试者的物理上离散的单位;每个单位含有与所需的药物载体联合的经计算产生所需治疗反应的预定量的活性化合物。

[0206] 所述剂量的范围是从约0.0001至100mg/kg宿主体重并且更通常0.01至5mg/kg宿主体重。例如,剂量可以是0.3mg/kg体重、1mg/kg体重、3mg/kg体重、5mg/kg体重或10mg/kg体重或者在1-10mg/kg或可替代地0.1至5mg/kg的范围内。示例性治疗方案是每周一次、每两周一次、每三周一次、每四周一次、每月一次、每3个月一次或每3至6个月一次的施用。优选的剂量方案包括使用以下给药时间表中的一种经由静脉内施用1mg/kg体重或3mg/kg体重:(i)每四周,持续六个剂量,然后每三个月;(ii)每三周;(iii)一次3mg/kg体重,然后是每三周1mg/kg体重。在一些方法中,调整剂量以达到约1-1000 μ g/mL并且在一些方法中约25-300 μ g/mL的血浆抗体浓度。

[0207] 本发明的化合物的“治疗有效剂量”优选地导致疾病症状的严重程度的降低、无疾病症状时期的频率和持续时间的增加或对由于疾病困扰而引起的损伤或残疾的预防。例如,对于荷瘤受试者的治疗,相对于未经治疗的受试者,“治疗有效剂量”优选地抑制肿瘤生长至少约20%、更优选至少约40%、甚至更优选至少约60%、仍更优选至少约80%。治疗有效量的治疗化合物可以减小受试者的肿瘤大小或在其他方面改善受试者的症状,所述受试者通常是人,但是可以是另一种哺乳动物。在组合治疗中施用两种或更多种治疗剂的情况下,“治疗有效量”是指组合作为整体的功效,而不是单独地每种药剂的功效。

[0208] 所述药物组合物可以是控释或缓释配制品,包括植入物、透皮贴剂和微囊化递送系统。可以使用可生物降解的可生物相容的聚合物,诸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。参见例如,Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems,J.R.Robinson编辑,Marcel Dekker,Inc.,New York,1978。

[0209] 可以经由诸如(1)无针皮下注射装置;(2)微量输注泵;(3)透皮装置;(4)输注装置;和(5)渗透装置的医疗装置施用治疗组合物。

[0210] 在某些实施方案中,可以配制所述药物组合物以确保在体内的适当分布。例如,为了确保本发明的治疗化合物穿过血脑屏障,可以将它们配制在脂质体中,所述脂质体可以另外地包含靶向部分以增强向特定细胞或器官的选择性转运。

[0211] 工业实用性和用途

[0212] 本文公开的TLR7激动剂化合物可以用于治疗可通过激活TLR7而改善的疾病或病症。

[0213] 在一个实施方案中,将TLR7激动剂与抗癌免疫治疗剂(也称为免疫肿瘤学药剂)组

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

[0214] 无论抗癌免疫治疗剂的作用方式是哪种,均可以通过总体上调免疫系统(诸如通过激活TLR7)来提高其有效性。因此,在一个实施方案中,本说明书提供了治疗癌症的方法,所述方法包括向患有这样的癌症的患者施用抗癌免疫治疗剂和如本文公开的TLR7激动剂的治疗有效组合。施用时间可以是同时的、顺序的或交替的。施用方式可以是全身的或局部的。可以经由缀合物以靶向的方式递送所述TLR7激动剂。

[0215] 可以通过如上所述的组合治疗进行治疗的癌症包括急性髓系白血病、肾上腺皮质癌、卡波西肉瘤、淋巴瘤、肛门癌、阑尾癌、畸胎样/横纹肌样瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、支气管肿瘤、类癌瘤、心脏肿瘤、宫颈癌、脊索瘤、慢性淋巴细胞白血病、慢性骨髓增生性肿瘤、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、胆管癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、鼻腔神经胶质瘤、尤因肉瘤、眼癌、输卵管癌、胆囊癌、胃肠道类癌瘤、胃肠道间质瘤、生殖细胞瘤、毛细胞白血病、头颈癌、心脏癌症、肝癌、下咽癌、胰腺癌、肾癌、喉癌、慢性髓细胞性白血病、唇和口腔癌、肺癌、黑素瘤、梅克尔细胞癌、间皮瘤、口癌、口腔癌、骨肉瘤、卵巢癌、阴茎癌、咽喉癌、前列腺癌、直肠癌、唾液腺癌、皮肤癌、小肠癌、软组织肉瘤、睾丸癌、喉癌、甲状腺癌、尿道癌、子宫癌、阴道癌和外阴癌。

[0216] 可以用于如本文公开的组合疗法的抗癌免疫治疗剂包括:AMG 557、AMP-224、阿替利珠单抗(atenzolizumab)、阿维鲁单抗(avelumab)、BMS 936559、西米普利单抗(cemiplimab)、CP-870893、达西珠单抗(dacetuzumab)、度伐鲁单抗(durvalumab)、依诺妥珠单抗(enoblituzumab)、加利昔单抗(galiximab)、IMP321、伊匹单抗、鲁卡木单抗(lucatimumab)、MEDI-570、MEDI-6383、MEDI-6469、莫罗单抗(muromonab)-CD3、纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗(pidilizumab)、斯巴达珠单抗(spartalizumab)、曲美目单抗(tremelimumab)、乌瑞鲁单抗(urelumab)、乌托鲁单抗(utomilumab)、瓦立鲁单抗(varlilumab)、珀伽利珠单抗(vonlerolizumab)。下表B列出了它们的一个或多个替代名称(商标名称、曾用名、研究代码或同义词)和各自的靶检查点分子。

[0217]

表B		
免疫治疗剂	一个或多个替代名称	靶标
AMG 557		B7RP-1 (ICOSL)
AMP-224		PD-1
阿替利珠单抗	MPDL3280A、RO5541267、TECENTRIQ®	PD-L1
阿维鲁单抗	BAVENCIO®	PD-L1
BMS 936559		PD-L1
西米普利单抗	LIBTAYO®	PD-1
CP-870893		CD40
达西珠单抗		CD40
度伐鲁单抗	IMFINZI®	PD-L1
依诺妥珠单抗	MGA271	B7-H3
加利昔单抗		B7-1 (CD80)
IMP321		LAG-3
伊匹单抗	YERVOY®	CTLA-4

[0218]

表B		
免疫治疗剂	一个或多个替代名称	靶标
鲁卡木单抗		CD40
MEDI-570		ICOS (CD278)
MEDI-6383		OX40
MEDI-6469		OX40
莫罗单抗-CD3		CD3
纳武单抗	OPDIVO®	PD-1
派姆单抗	KEYTRUDA®	PD-1
匹地利珠单抗	MDV9300	PD-1
斯巴达珠单抗	PDR001	PD-1
曲美目单抗	替西木单抗 (Ticilimumab)、CP-675、CP-675,206	CTLA-4
乌瑞鲁单抗	BMS-663513	CD137
乌托鲁单抗	PF-05082566	CD137
瓦立鲁单抗	CDX 1127	CD27
珀伽利珠单抗	RG7888、MOXR0916、泊加丽珠单抗 (pogalizumab)	OX40

[0219] 在用TLR7激动剂的组合治疗的一个实施方案中,所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗CTLA-4、抗PD-1或抗PD-L1抗体。所述癌症可以是肺癌(包括非小细胞肺癌)、胰腺癌、肾癌、头颈癌、淋巴瘤(包括霍奇金淋巴瘤)、皮肤癌(包括黑素瘤和梅克尔皮肤癌)、尿路上皮癌(包括膀胱癌)、胃癌、肝细胞癌或结直肠癌。

[0220] 在用TLR7激动剂的组合治疗的另一个实施方案中,所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗CTLA-4抗体,优选伊匹单抗。

[0221] 在用TLR7激动剂的组合治疗的另一个实施方案中,所述抗癌免疫治疗剂是拮抗性抗PD-1抗体,优选纳武单抗或派姆单抗。

[0222] 本文公开的TLR7激动剂还可用作疫苗佐剂。

[0223] 通过参考以下实施例可以进一步理解本发明的实践,所述实施例是通过说明而非限制的方式来提供的。

[0224] 分析程序

[0225] NMR

[0226] 以下条件用于获得质子核磁共振(NMR)谱:使用DMSO-d₆或CDCl₃作为溶剂和内标,在400Mz或500Mhz Bruker仪器中采集NMR谱。通过使用ADC Labs的ACD Spectrus版本2015-01或MestReNova软件分析原始NMR数据。

[0227] 化学位移以相对于内部四甲基硅烷(TMS)或相对于由氘化NMR溶剂推断出的TMS位置的低场百万分率(ppm)报告。表观多重性报告为:单峰-s、双峰-d、三重峰-t、四重峰-q或多重峰-m。表现出展宽的峰进一步表示为br。积分是近似的。应当注意,积分强度、峰形、化学位移和耦合常数可以取决于溶剂、浓度、温度、pH和其他因素。此外,在NMR谱中与水或溶剂峰重叠或交换的峰可能不能提供可靠的积分强度。在一些情况下,可以使用水峰抑制获得NMR谱,水峰抑制可能导致重叠峰不可见或具有改变的形状和/或积分。

[0228] 液相色谱

[0229] 使用以下制备型和分析型(LC/MS)液相色谱程序,如表A中所示:

[0230] LC/MS程序A:使用分析型LC/MS以确定最终纯度和保留时间。注射条件:柱:Waters XBridge C18,2.1mm x 50mm,1.7μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.1% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.1% TFA);温度:50℃;梯度:经3min 0% B至100% B,然后在100% B下保持0.50min;流速:1mL/min;检测:MS和UV(220nm)。

[0231] LCMS方法B:柱:Xbridge BEH C18 XP(50x2.1mm),2.5μm;流动相A:5:95CH₃CN:H₂O(含0.1% CF₃CO₂H);流动相B:95:5CH₃CN:H₂O(含0.1% CF₃CO₂H);温度:50℃;梯度:经3分钟0-100% B;流速:1.1mL/min。

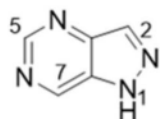
[0232] LCMS方法C:柱:Kinetex XB-C18(75x3mm),2.6μm;流动相A:在水中的10mM HCO₂NH₄(pH 3.3);流动相B:CH₃CN;温度:50℃;梯度:经3分钟0-100% B;流速:1.1mL/min。

[0233] LCMS方法D:柱:Xbridge BEH C18 XP(50x2.1mm),2.5μm;流动相A:5:95CH₃CN:H₂O(含10mM NH₄OAc);流动相B:95:5CH₃CN:H₂O(含10mM NH₄OAc);温度:50℃;梯度:经3分钟0-100% B;流速:1.1mL/min。

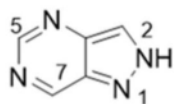
[0234] 合成-通用程序

[0235] 通常,本文公开的程序产生在吡唑并嘧啶环系统的1H或2H位置处烷基化的区域异构体(其也分别称为N1和N2区域异构体,暗指被烷基化的氮)的混合物。为简洁起见,为方便起见未示出N2区域异构体,但是应理解的是它们存在于最初的产物混合物中,并且稍后例如通过制备型HPLC进行分离。

[0236]



1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶



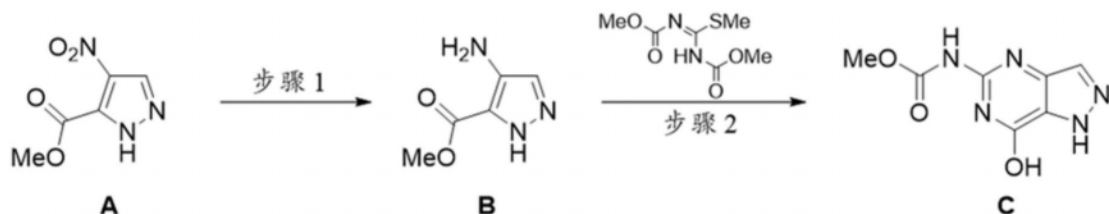
2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0237] 可以在合成的早期分离区域异构体的混合物,并且用1H区域异构体进行剩余的合成步骤,或者可替代地,可以携带区域异构体的混合物进行合成,并且根据需要在后期进行

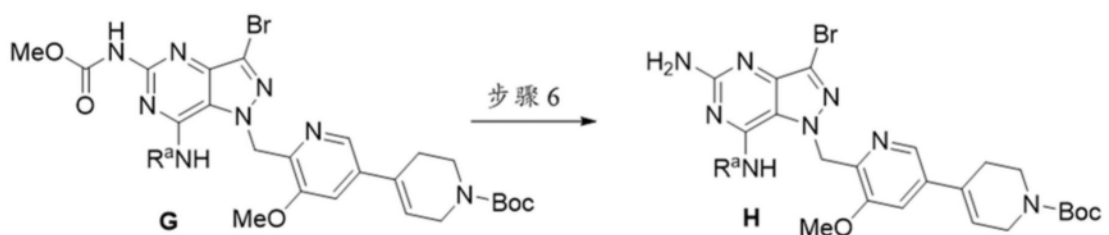
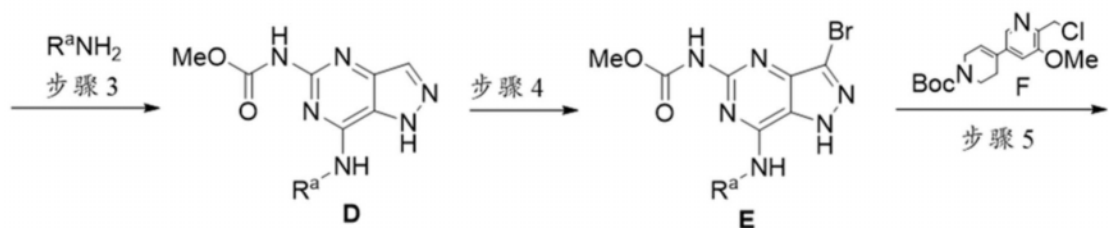
分离。

[0238] 可以通过合成有机化学领域的技术人员熟知的多种方法制备本公开文本的化合物。这些方法包括下文描述的那些或其变体。优选的方法包括但不限于下文在以下方案中描述的那些。

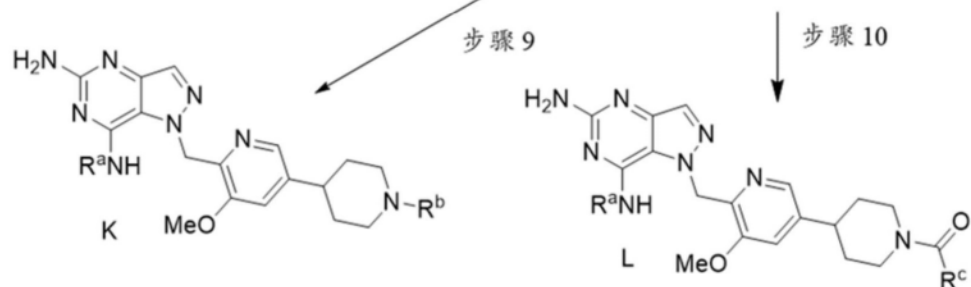
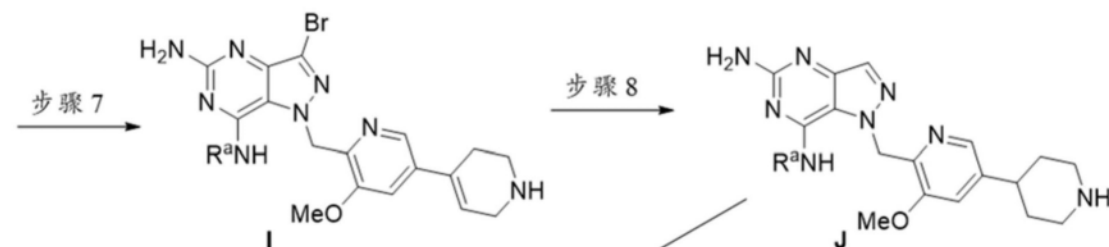
[0239] 方案1



[0240]



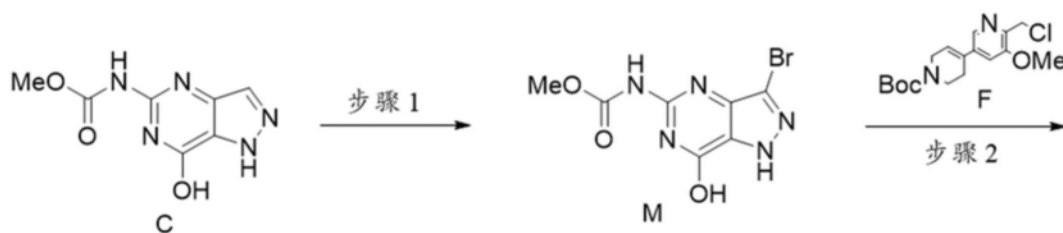
[0241]



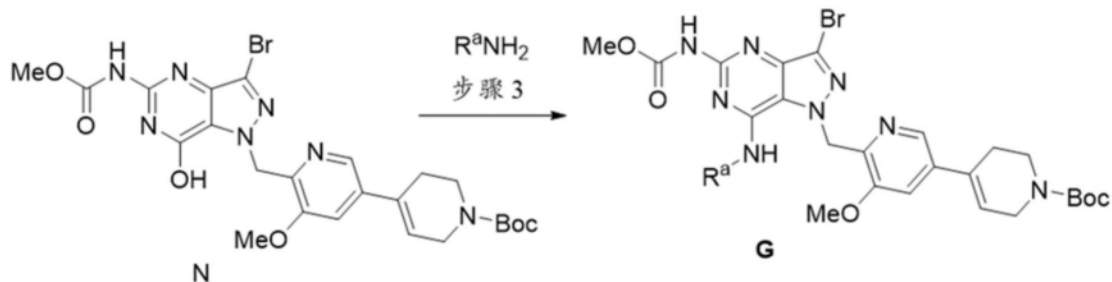
[0242] 可以通过上文方案1中概述的合成顺序制备化合物K。将硝基吡唑A还原,以提供化合物B,然后与1,3-双(甲氧基羰基)-2-甲基-2-硫代异脲环化得到羟基吡唑并嘧啶C。使用BOP/DBU偶联条件引入胺 R^aNH_2 ,并且使用NBS的随后溴化(步骤4)得到溴吡唑并嘧啶E。使用苄基卤F的烷基化得到N1和N2产物的混合物,将其分离,得到N1中间体G。氨基甲酸甲酯的去保护(步骤6)然后氨基甲酸叔丁酯的去保护得到中间体I。催化加氢得到目标分子J。分子J

的烷基化或还原胺化得到目标分子K(步骤9)。胺J与酸使用BOP(或HATU)条件的偶联得到目标化合物L。

[0243] 方案2

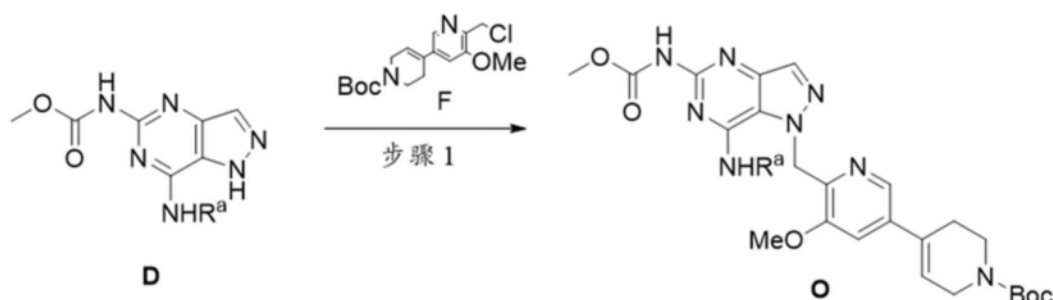


[0244]

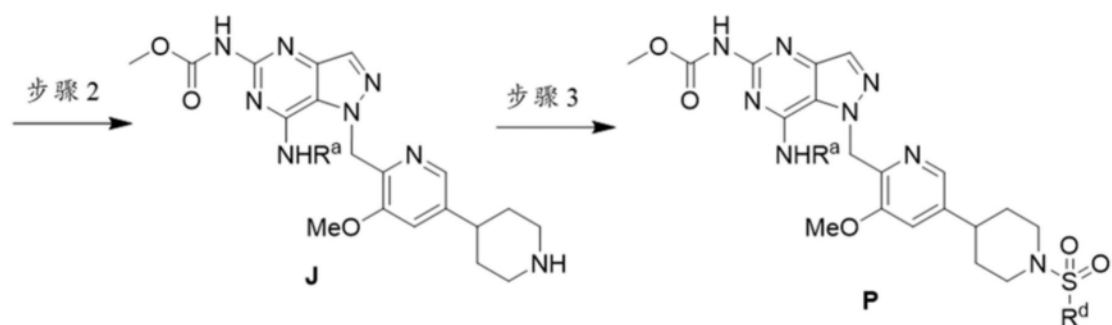


[0245] 可替代地,可以使用在上文方案2中描述的途径获得中间体G。将中间体C使用NBS溴化,然后烷基化以得到中间体N。然后使用BOP偶联条件进行胺化以得到中间体G。

[0246] 方案3

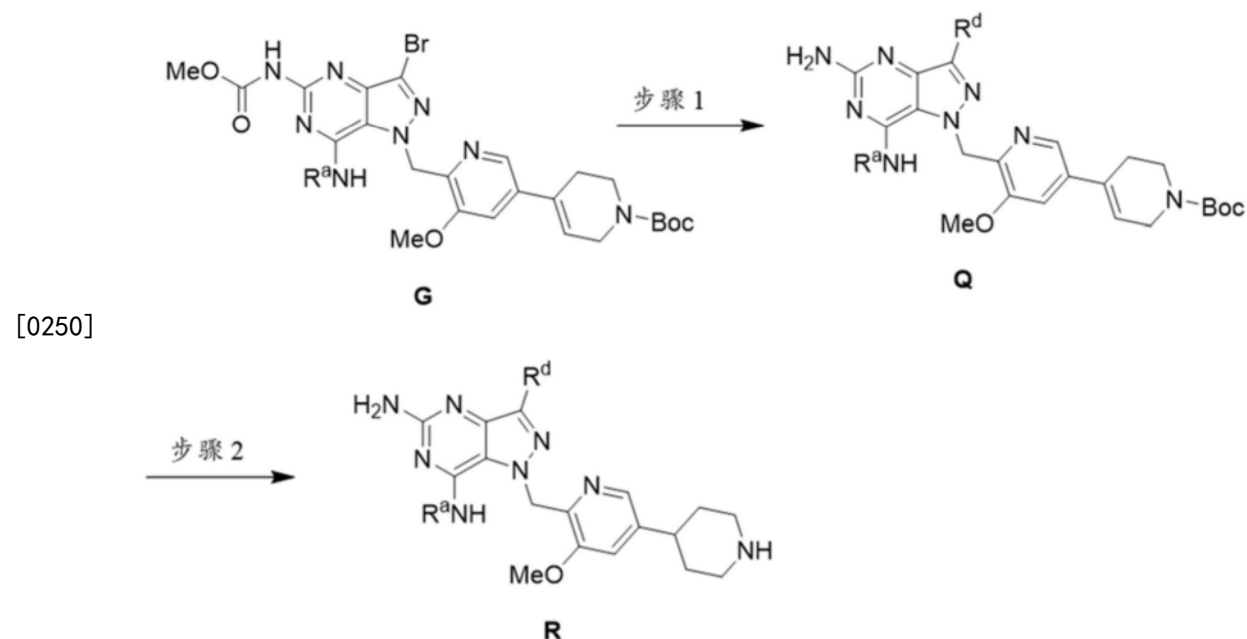


[0247]



[0248] 化合物J的另一种可替代途径示于上文方案3中。将中间体D用苄基卤F烷基化得到中间体O。然而,在此方法中,N1异构体与N2异构体的比率通常不太有利。氨基甲酸叔丁酯的去保护,然后催化加氢得到目标分子J。胺J的磺酰化得到目标分子P。

[0249] 方案4



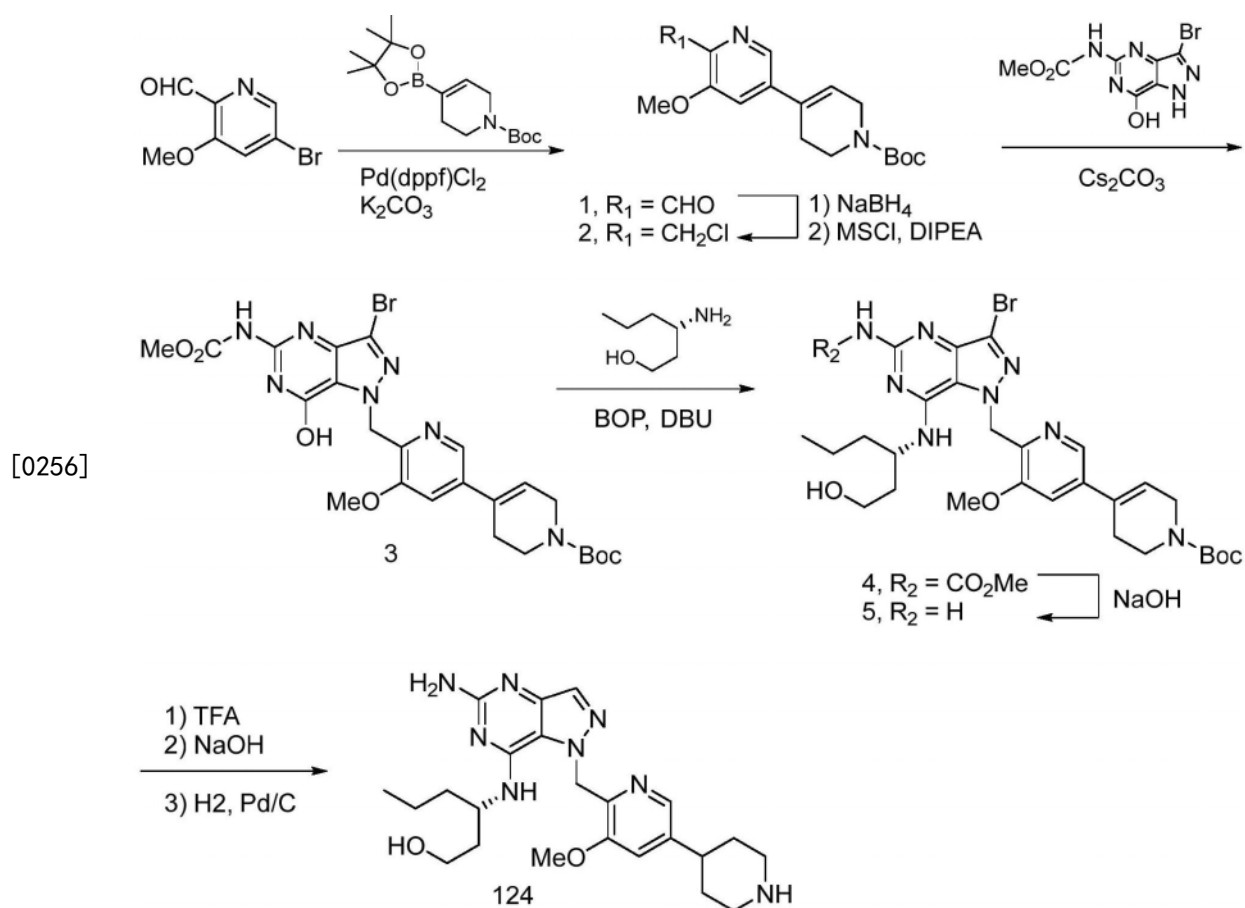
[0251] 可以通过上文方案4中概述的合成顺序制备化合物R。溴化物G与硼酸(或硼烷)的铃木(Suzuki)偶联得到中间体Q。氨基甲酸叔丁酯的去保护,然后催化加氢得到目标分子R。

[0252] 合成-具体实施例

[0253] 为了进一步说明上述内容,包括以下非限制性、以下示例性合成方案。在权利要求范围内的这些实施例的变化在本领域技术人员的能力范围内,并且被认为落入本公开文本的范围内。读者应认识到,被提供本公开文本并且是相关领域的技术人员的熟练技术人员将能够在没有穷举实施例的情况下制备和使用本文公开的化合物。

[0254] 编号100及以上的化合物的分析数据可见于表A。

[0255] 实施例1-化合物124



[0257] (1)的制备:将 N_2 流鼓泡通过5-溴-3-甲氧基吡啶甲醛(1.85g,8.56mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(3.44g,11.13mmol)和 K_2CO_3 (4.14g,30.0mmol)在DMF(25mL)中的混合物3min。添加 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$ 加合物(0.699g,0.856mmol)。将 N_2 流鼓泡通过持续另外的2min。将反应混合物在 80°C 下搅拌5h并且用EtOAc(20mL)稀释。将固体通过经由CELITE垫过滤去除。将滤液浓缩。将残余物使用二氧化硅柱(80g)(用EtOAc:己烷,0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生6-甲酰基-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯1(2.7g,8.48mmol,99%产率)。

[0258] LCMS ESI:针对 $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4$ 的计算值=319.2(M+H⁺),实测值319.1(M+H⁺)。

[0259] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 10.14(s,1H),8.48(d, $J=1.5\text{Hz}$,1H),7.65(d, $J=1.3\text{Hz}$,1H),6.55(br s,1H),4.08(br d, $J=2.4\text{Hz}$,2H),3.97(s,3H),3.58(br t, $J=5.7\text{Hz}$,3H),2.57(br d, $J=1.8\text{Hz}$,2H),1.44(s,9H)。

[0260] (2)的制备,部分1:将 NaBH_4 (0.321g,8.48mmol)添加到6-甲酰基-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯1(2.7g,8.48mmol)在MeOH(50mL)中的混合物中。在室温下搅拌5min后,将反应用水(10ml)淬灭并且用在DCM中的10%MeOH(6x20ml)萃取。将合并的有机萃取物经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩。将粗产物通过二氧化硅柱(80g)(用EtOAc:己烷,0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.72g,5.37mmol,63.3%产率)。

[0261] LCMS ESI:针对 $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$ 的计算值=321.2(M+H⁺),实测值321.2(M+H⁺)。

[0262] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 8.18(d, $J=1.5\text{Hz}$,1H),7.40(d, $J=1.5\text{Hz}$,1H),6.29

(br s, 1H), 4.80 (t, J=5.7Hz, 1H), 4.52 (d, J=5.7Hz, 2H), 4.03 (br d, J=2.4Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.56 (t, J=5.6Hz, 2H), 2.56-2.51 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)

[0263] (2)的制备,部分2。将6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.2g, 6.87mmol)在DCM(25mL)中的溶液用胡宁氏碱(Hunig's base)(1.439mL, 8.24mmol)处理,然后在室温下逐滴添加Ms-Cl(0.589mL, 7.55mmol)。将所得的反应混合物在室温下搅拌16h。用水淬灭后,将所得的两层分离。将水层用EtOAc(2x10mL)反萃取。将合并的有机萃取物经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将粗产物通过二氧化硅柱色谱(80g)(EtOAc/己烷0-70%梯度)纯化。将所需级分浓缩以产生呈白色固体的6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.75g, 5.16mmol, 75%产率)。

[0264] LCMS ESI:针对C₁₇H₂₅ClN₂O₄的计算值=339.1(M+H⁺),实测值339.2(M+H⁺)。

[0265] ¹H NMR(400MHz, 氯仿-d) δ8.21 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.15 (d, J=1.5Hz, 1H), 6.11 (br s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.11 (br d, J=3.3Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.66 (t, J=5.6Hz, 2H), 2.52 (br d, J=1.5Hz, 2H), 1.50 (s, 9H)。

[0266] (3)的制备:将Cs₂CO₃(3.85g, 11.81mmol)添加到(3-溴-7-羟基-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.700g, 5.90mmol)在DMF(60mL)中的搅拌混合物中,然后添加6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯2(2.0g, 5.90mmol)。将所得反应混合物在室温下搅拌16h。用饱和NH₄Cl溶液淬灭并且搅拌1h后,将所得固体通过过滤收集,悬浮于MeOH(10mL)中,搅拌1h,通过过滤收集,并且风干。将滤液浓缩,并且将残余物通过二氧化硅柱色谱(80g)(用EtOAc:己烷=0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩并且将所得材料合并以产生呈灰白色固体的6-((3-溴-7-羟基-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯3(2g, 3.39mmol, 57.4%产率)。

[0267] LCMS ESI:针对C₂₄H₂₉BrN₇O₆的计算值=590.1(M+H⁺),实测值590.1, 592.0(M+H⁺)。

[0268] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ11.52-11.18 (m, 1H), 8.04 (br s, 1H), 7.47 (br s, 1H), 6.28 (br d, J=1.8Hz, 1H), 5.78 (br s, 2H), 4.01 (br s, 2H), 3.91 (br s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.54 (br s, 2H), 2.50-2.40 (m, 2H), 1.43 (s, 9H)。一个可交换的质子不可见。

[0269] 可以如下制备(3-溴-7-羟基-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯:将1-溴吡咯烷-2,5-二酮(N-溴代琥珀酰亚胺(NBS), 2.059g, 11.57mmol)添加到(7-羟基-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2.2g, 10.52mmol)在DMF(20mL)中的溶液中。将反应混合物在室温下搅拌1h。将反应混合物用EtOAc、水和盐水后处理。将有机相合并,浓缩并且在高真空下干燥1h,以产生(3-溴-7-羟基-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2.85g, 9.89mmol)。

[0270] LC-MS m/z 288.0; 290.0[M+H]⁺

[0271] (4)的制备:将DBU(1.225mL, 8.13mmol)添加到6-((3-溴-7-羟基-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡啶并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯3(960mg, 1.626mmol)和(S)-3-氨基己-1-醇盐酸盐(625mg, 4.06mmol)在DMSO(8mL)中的悬浮液中,然后搅拌10min,产生澄清溶液。添加BOP(1.8g, 4.06mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌1h,冷却,倒入饱和NH₄Cl溶液中并且搅拌30min。将所得固体通过过滤收集,用水洗涤,并且在空气中干燥,以产生呈棕色固体的(S)-6-((3-溴-7-((1-羟基己-

3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯4(1.2g,1.740mmol,107%产率),将其不经纯化直接进入下一步骤。

[0272] LCMS ESI:针对 $C_{31}H_{41}BrN_8O_6$ 的计算值=689.2(M+H⁺),实测值689.3,691.3(M+H⁺)。

[0273] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.91(s,1H),8.09(d,J=1.5Hz,1H),7.72(d,J=8.4Hz,1H),7.54(d,J=1.5Hz,1H),6.39-6.22(m,1H),5.89-5.65(m,2H),4.37(t,J=5.6Hz,1H),4.01(br s,2H),3.97-3.92(m,3H),3.63(s,3H),3.58-3.52(m,2H),3.48(br t,J=6.1Hz,1H),3.42(br d,J=5.9Hz,2H),2.55(d,J=1.3Hz,2H),1.82-1.70(m,2H),1.61-1.55(m,2H),1.42(s,9H),1.31-1.15(m,2H),0.82(t,J=7.3Hz,3H)。

[0274] (5)的制备:将(S)-6-((3-溴-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯4(1.2g,1.740mmol)在二噁烷(5mL)中的混合物用NaOH(在水中的5.0M,3.40mL,17.40mmol)处理。将反应混合物在70℃下搅拌16h,冷却,用饱和NH₄Cl溶液淬灭,并且进一步用HOAc中和至pH 6。将混合物用EtOAc(3x50mL)萃取。将合并的有机萃取物经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将粗产物通过二氧化硅柱(80g)色谱(用EtOAc/己烷,0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分收集并且浓缩以产生呈灰白色固体的(S)-6-((5-氨基-3-溴-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯5(663.2mg,1.050mmol,60.3%产率)。

[0275] LCMS ESI:针对 $C_{28}H_{40}BrN_8O_5$ 的计算值=631.2(M+H⁺),实测值631.3,633.3(M+H⁺)。

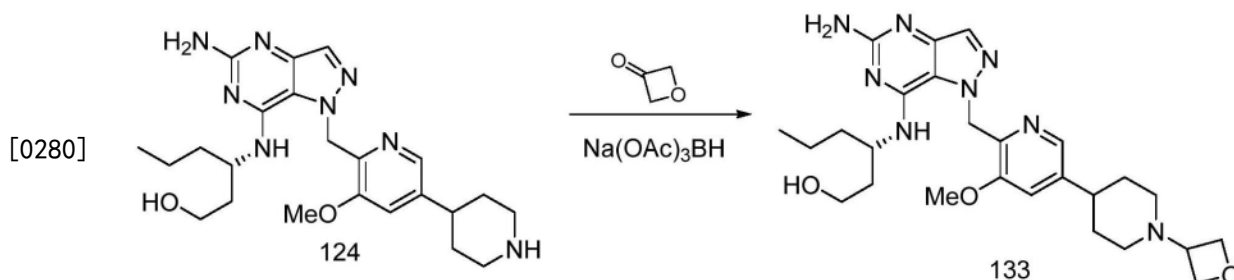
[0276] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 8.11(d,J=1.3Hz,1H),7.54(d,J=1.1Hz,1H),6.32(br s,1H),5.91(s,2H),5.75-5.57(m,2H),4.41(br d,J=3.3Hz,2H),4.15-4.03(m,1H),4.02(br s,2H),3.94(s,3H),3.55(br t,J=5.5Hz,2H),3.45(br s,2H),2.50-2.44(m,2H),1.86-1.65(m,2H),1.61-1.49(m,2H),1.43(s,9H),1.33-1.18(m,2H),0.84(t,J=7.3Hz,3H)。

[0277] 化合物124的制备:将(S)-6-((5-氨基-3-溴-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯5(660mg,1.045mmol)在DCM(5mL)中的溶液用TFA(1.5mL,19.47mmol)处理并且在室温下搅拌1.5h,之后LCMS指示两种主产物:(S)-3-((5-氨基-3-溴-1-((5-甲氧基-1',2',3',6'-四氢-[3,4'-联吡啶]-6-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇和2,2,2-三氟乙酸(S)-3-((5-氨基-3-溴-1-((5-甲氧基-1',2',3',6'-四氢-[3,4'-联吡啶]-6-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己酯。将反应混合物浓缩至干。将粗材料悬浮于THF(5mL)中。添加NaOH(在水中的5.0N,0.84mL,4.18mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h,用HOAc中和至pH 6-7,并且浓缩至干。将所得半固体残余物悬浮于EtOAc中并且搅拌5h。将固体滤出。将滤液浓缩以产生(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇,将其悬浮于MeOH(20ml)中并且转移到含有Pd-C(91mg,0.852mmol)的帕尔摇瓶(Parr shaker)中,将其用H₂吹扫并且在H₂(45psi)下摇动16h。将催化剂通过经由注射器过滤盘过滤去除。将滤液浓缩至干以产生(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(500mg,0.732mmol,105%产率)。将40mg粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯

化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在0% B下保持0分钟,经20min 0-40%B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,以产生18.4mg纯化合物124,将其不经进一步纯化用于随后的合成。

[0278] 通过使化合物3分别与(5-甲基异噁唑-3-基)甲胺和螺[2.3]己-5-基甲胺(而不是(S)-3-氨基己-1-醇)反应类似地制备化合物137和化合物152。

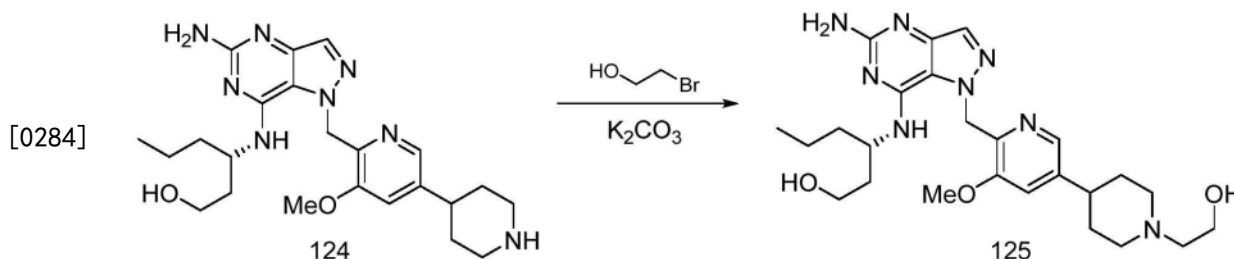
[0279] 实施例2-化合物133



[0281] 将化合物124(40mg,0.059mmol)在DMF(1mL)中的溶液用分子筛、氧杂环丁烷-3-酮(12.67mg,0.176mmol)和2滴HOAc处理,然后用三乙酰氧基硼氢化钠(49.7mg,0.234mmol)处理。将反应混合物在室温下搅拌16h。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在13%B下保持0分钟,经20分钟13%-53%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,并且产生化合物133(4.1mg,7.87 μ mol,13.43%产率)。

[0282] 如适用,使用前体(诸如化合物101、化合物137、化合物152或化合物186)(而不是化合物124)用于与互补的羰基化合物反应,根据此实施例类似地制备以下化合物:化合物102、化合物108、化合物111、化合物112、化合物113、化合物115、化合物116、化合物126、化合物127、化合物129、化合物131、化合物134、化合物141、化合物142、化合物143、化合物147、化合物148、化合物150、化合物154、化合物156、化合物157、化合物158、化合物159、化合物163、化合物189、化合物190和化合物191。

[0283] 实施例3-化合物125

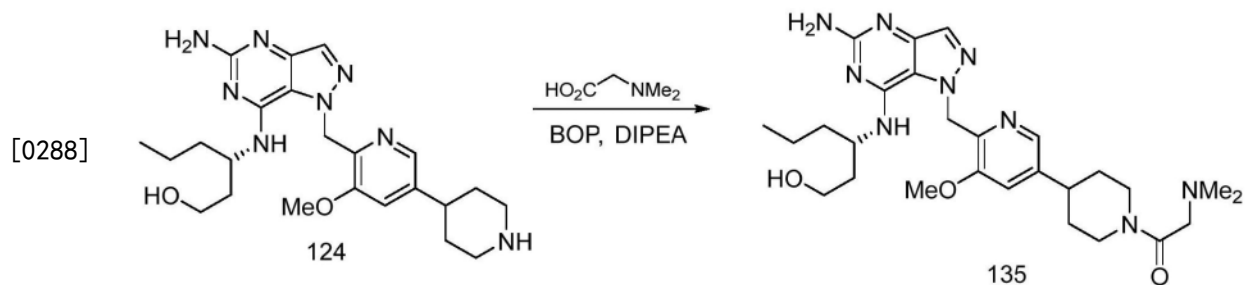


[0285] 将化合物124(60mg,0.088mmol)在DMF(1mL)中的溶液用K₂CO₃(42.5mg,0.308mmol)处理,然后用2-溴乙-1-醇(43.9mg,0.352mmol)处理。将反应混合物在50℃下搅拌1.5h。将固体滤出并且将滤液用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在5%B下保持0分钟,经20分钟5%-45%B,然后在100%B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25

℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,并且产生化合物125(16.8mg, 0.033mmol, 37.3%产率)。

[0286] 如适用,使用前体(诸如化合物101、化合物137、化合物152或化合物186)(而不是化合物124)用于与互补的烷基卤反应,根据此实施例类似地制备以下化合物:化合物114、化合物119、化合物120、化合物144、化合物145、化合物146、化合物151、化合物153、化合物164、化合物165、化合物188、化合物204、化合物205、化合物206、化合物207和化合物209。

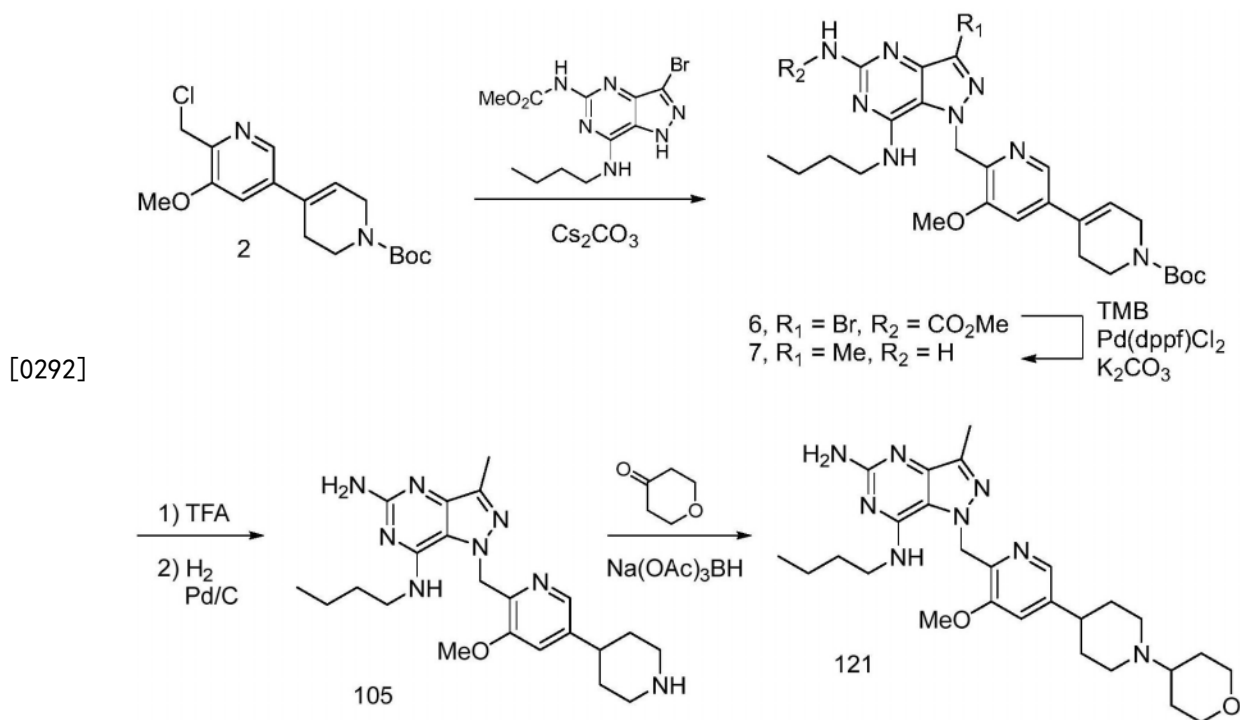
[0287] 实施例4-化合物135



[0289] 将(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇化合物124(30mg, 0.044mmol)在DMF(1mL)中的搅拌混合物用二甲基甘氨酸(5.44mg, 0.053mmol)、胡宁氏碱(0.023mL, 0.132mmol)和BOP(38.9mg, 0.088mmol)处理。将反应混合物在室温下搅拌4h。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在7% B下保持0分钟,经20分钟7%-47% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物135(9.6mg, 0.017mmol, 39.1%产率)。

[0290] 如适用,使用前体(诸如化合物101、化合物137、化合物152、化合物160或化合物186)(而不是化合物124)用于与互补的酸反应,根据此实施例类似地制备以下化合物:化合物104、化合物105、化合物109、化合物110、化合物128、化合物136、化合物140、化合物155、化合物162、化合物187和化合物208。

[0291] 实施例5-化合物106和化合物121



[0293] 6的制备。向(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.215g, 3.54mmol)在DMF(20mL)中的搅拌混合物中添加 K_2CO_3 (1.428g, 10.33mmol), 然后添加6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯2(1g, 2.95mmol)。将反应混合物在室温下搅拌5h, 通过添加饱和 NH_4Cl 溶液淬灭, 并且用EtOAc(3x20mL)萃取。将合并的有机萃取物经 Na_2SO_4 干燥并且过滤。将滤液浓缩。将粗产物通过二氧化硅柱(80g)(用EtOAc:己烷, 0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生6-((3-溴-7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯6(1.0g, 1.549mmol, 52.5%产率)。

[0294] LCMS ESI: 针对 $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{BrN}_8\text{O}_5$ 的计算值=645.2($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值645.3, 647.3($\text{M}+\text{H}^+$)。

[0295] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.82(s, 1H), 8.10(d, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 7.91(t, $J=5.4\text{Hz}$, 1H), 7.52(d, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 6.31(br s, 1H), 5.79(s, 2H), 4.01(br d, $J=2.0\text{Hz}$, 2H), 3.93(s, 3H), 3.64-3.60(m, 3H), 3.58-3.48(m, 4H), 2.54-2.50(m, 2H), 1.66-1.53(m, 2H), 1.42(s, 9H), 1.34-1.21(m, 2H), 0.91-0.80(m, 3H)。

[0296] 7的制备。将化合物6(100mg, 0.155mmol)、 K_2CO_3 (74.9mg, 0.542mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 加合物(12.65mg, 0.015mmol)在二噁烷(0.5mL)和水(0.1mL)中的混合物用 N_2 流鼓泡2min。添加2,4,6-三甲基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三硼杂环己烷(TMB, 0.217mL, 1.549mmol), 然后用 N_2 鼓泡另外的2min。将反应混合物在110℃下搅拌16h, 冷却, 并且用EtOAc(5mL)稀释。将固体通过经由注射器过滤盘过滤去除。将滤液浓缩。将粗产物通过ISCO二氧化硅柱(24g)(用在DCM中的20% MeOH:DCM, 0-30%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生6-((5-氨基-7-(丁基氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(35.2mg, 0.067mmol, 43.5%产率)。

[0297] LCMS ESI: 针对 $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_8\text{O}_3$ 的计算值=523.3($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值523.4($\text{M}+\text{H}^+$)。

[0298] ^1H NMR(400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.12(d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.67(br d, $J=4.6\text{Hz}$, 1H),

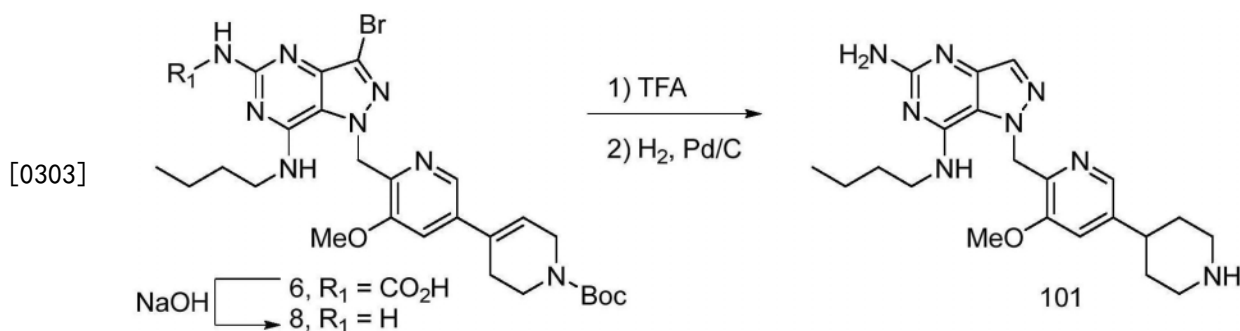
7.51 (d, J=1.8Hz, 1H) , 6.31 (br d, J=4.4Hz, 1H) , 5.60 (s, 4H) , 4.02 (br d, J=1.3Hz, 2H) , 3.92 (s, 3H) , 3.54 (t, J=5.5Hz, 2H) , 3.49-3.39 (m, 2H) , 3.18 (d, J=5.3Hz, 2H) , 2.19 (s, 3H) , 1.68-1.54 (m, 2H) , 1.43 (s, 9H) , 1.39-1.30 (m, 2H) , 0.91 (t, J=7.4Hz, 3H) 。

[0299] 化合物106的制备。向化合物7 (35mg, 0.067mmol) 在DCM (1mL) 中的混合物中添加TFA (0.5ml, 6.49mmol)。将反应混合物在室温下搅拌1h并且浓缩至干。将残余物溶解到MeOH (5mL) 中, 用N₂吹扫。添加Pd-C (7.13mg, 0.067mmol)。允许将反应混合物在室温下在H₂气囊下搅拌16h。将催化剂通过经由注射器过滤盘过滤去除。将滤液浓缩。将粗产物用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水 (含NH₄OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水 (含NH₄OAc); 梯度: 在2% B下保持0分钟, 经30分钟2%-32% B, 然后在100% B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物106 (9.7mg, 0.023mmol, 33.7%产率)。

[0300] 化合物121的制备。将化合物106TFA盐(25mg, 0.046mmol)在DMF(1mL)中的混合物用四氢-4H-吡喃-4-酮(46.5mg, 0.464mmol)处理,然后用三乙酰氧基硼氢化钠(29.5mg, 0.139mmol)和1滴乙酸处理。将反应混合物在室温下搅拌16h并且用少量水淬灭。将沉淀的固体经由注射器过滤盘滤出,并且将滤液用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在11% B下保持0分钟,经20分钟11%-51% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物121(6.5mg, 0.012mmol, 25.4%产率)。

[0301] 类似地制备化合物122和化合物123。

[0302] 实施例6-化合物101



[0304] 8的制备。将化合物6 (862mg, 1.335mmol) 在二噁烷 (5mL) 中的溶液用NaOH (在水中的5.0N; 2.136mL, 10.68mmol) 处理。将反应混合物在70℃下搅拌5h, 冷却, 并且用饱和NH₄Cl淬灭, 然后在室温下搅拌1h。将所得固体通过过滤收集, 用水洗涤并且风干, 以产生6-((5-氨基-3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯8 (690mg, 1.174mmol, 88%产率)。

[0305] LCMS ESI:针对 $C_{26}H_{36}BrN_8O_3$ 的计算值=587.2 ($M+H^+$), 实测值587.2, 589.2 ($M+H^+$)。

[0306] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.12 (d, $J=1.8\text{Hz}$, 1H), 7.68 (t, $J=5.3\text{Hz}$, 1H), 7.52 (d, $J=1.5\text{Hz}$, 1H), 6.31 (br d, $J=2.2\text{Hz}$, 1H), 5.91 (s, 2H), 5.68 (s, 2H), 4.02 (br s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.54 (br t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 3.45 (br d, $J=5.5\text{Hz}$, 2H), 2.50-2.49 (m, 2H), 1.64-1.53 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.37-1.21 (m, 2H), 0.89 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H)。

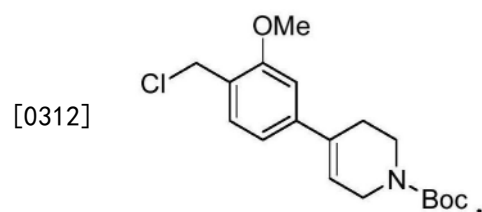
[0307] 化合物101的制备;部分1。将化合物8(450mg, 0.766mmol)在DCM(5mL)中的混合物用TFA(3mL, 38.9mmol)处理。将反应混合物在室温下搅拌45min。去除溶剂并且将残余物与Et₂O一起研磨两次并且在真空中干燥,以产生3-溴-N7-丁基-1-((5-甲氧基-1',2',3',6'-四氢-[3,4'-联吡啶]-6-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺TFA盐(400mg, 0.665mmol, 87%产率)。

[0308] LCMS ESI:针对C₂₁H₂₈BrN₈O的计算值=487.1(M+H⁺),实测值487.2、489.2(M+H⁺)。

[0309] 部分2。将3-溴-N7-丁基-1-((5-甲氧基-1',2',3',6'-四氢-[3,4'-联吡啶]-6-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺TFA盐(300mg, 0.499mmol)在MeOH(10mL)中的溶液用N₂吹扫,然后添加Pd-C(10%; 53.1mg, 0.499mmol)。将反应混合物在H₂气囊下搅拌16h。将催化剂通过经由注射器盘过滤去除。将滤液浓缩以产生30mg的粗产物,将其用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在0% B下保持0分钟,经25min 0-40% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物101(19.7mg, 0.048mmol, 9.62%产率)。

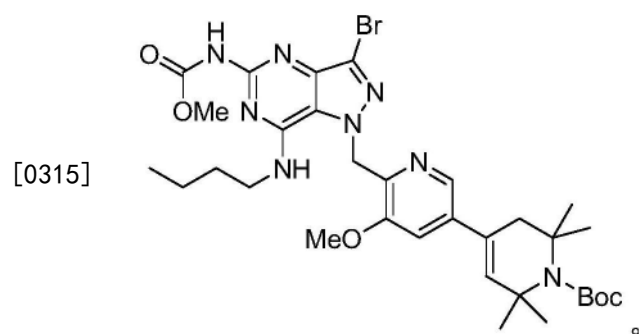
[0310] 类似地制备以下化合物:化合物160、化合物169和化合物170。

[0311] 在化合物160的情况下:不是化合物2,而是以下化合物

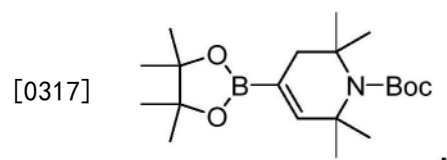


[0313] (其可以根据实施例1由4-溴-2-甲氧基苯甲醛制备)用于生成化合物6的类似物。

[0314] 使用此化合物(而不是化合物6)制备化合物169:

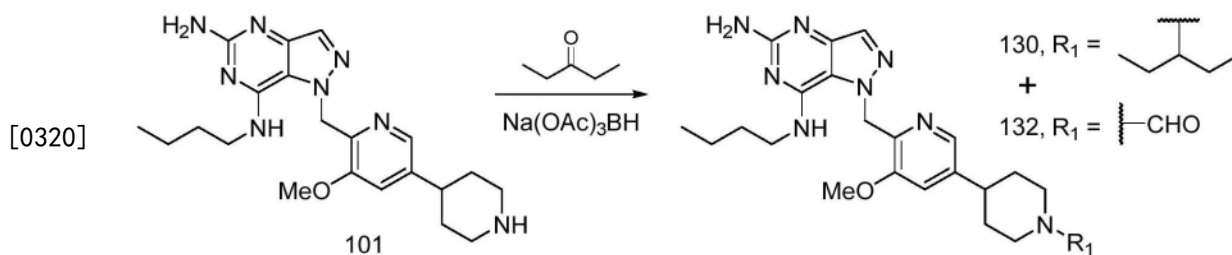


[0316] 此化合物可以由



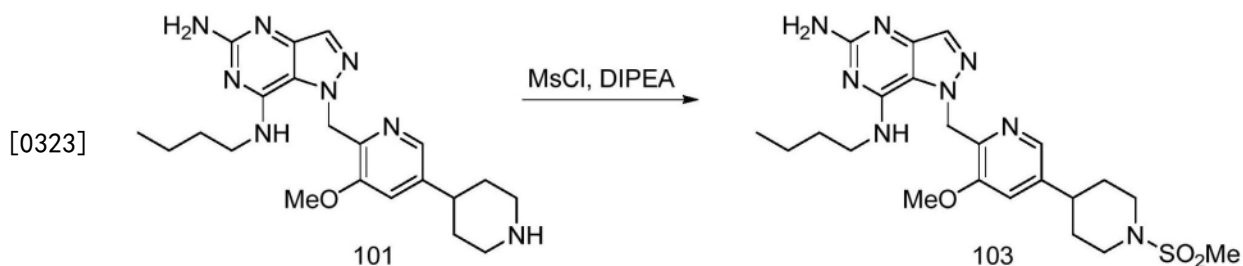
[0318] 通常按照上文的实施例1和5制备。

[0319] 实施例7-化合物130和化合物132



[0321] 将N7-丁基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺(化合物124)(30mg,0.046mmol)在DMF(1mL)中的混合物用1滴H₂OAc处理,然后用戊-3-酮(23.65mg,0.275mmol)和Na(OAc)₃BH(97mg,0.458mmol)处理。将所得反应混合物在60℃下搅拌24h。将沉淀的固体滤出。将滤液用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在12% B下保持0分钟,经30分钟12%-62% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物130(1.5mg,0.003mmol,6.45%产率)和化合物132(12.2mg,0.028mmol,60.4%产率)。

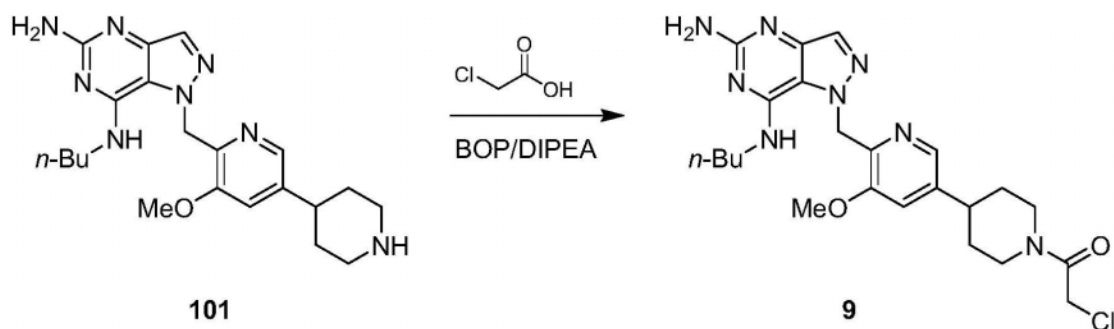
[0322] 实施例8-化合物103



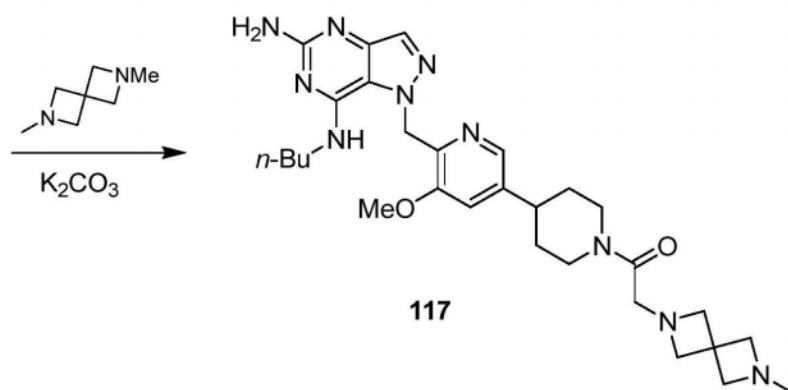
[0324] 将在DCM(0.5mL)中的化合物101(25mg,0.061mmol)用胡宁氏碱(0.011mL,0.064mmol)处理。在0℃下逐滴添加Ms-Cl(4.75μl,0.061mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌4h。去除DCM溶剂。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在17% B下保持0min,经25min 17%-57% B,然后在100% B下保持0min;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有化合物103的级分合并并且经由离心蒸发干燥(6.0mg,0.012mmol,20.16%产率)。

[0325] 使用化合物160(而不是化合物101),类似地制备化合物161。

[0326] 实施例9-化合物117



[0327]



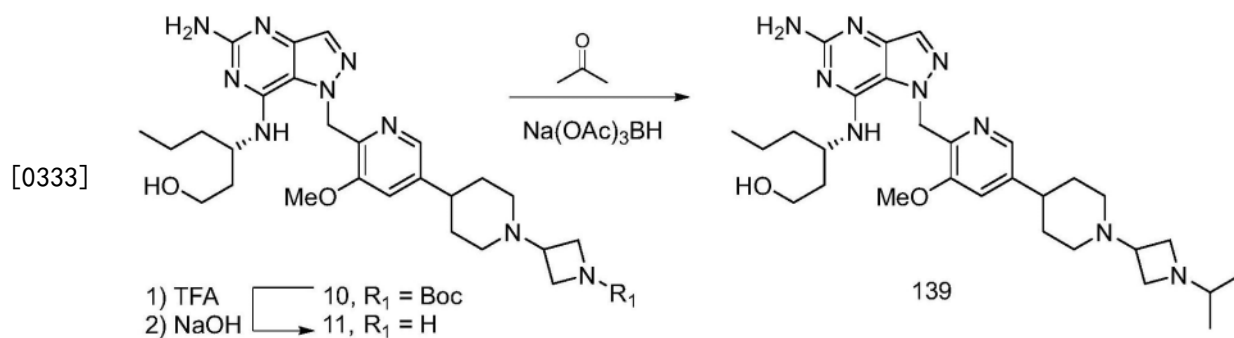
[0328] 9的制备。将化合物101TFA盐(150mg, 0.286mmol), 2-氯乙酸(40.5mg, 0.429mmol)在DMF(4mL)中的混合物用胡宁氏碱(0.100mL, 0.572mmol)处理, 然后添加BOP(190mg, 0.429mmol)。将反应混合物搅拌4h, 用水淬灭, 并且搅拌1h。将所得固体通过过滤收集并且在真空中干燥, 以产生1-(4-(6-((5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-基)-2-氯乙-1-酮9(220mg, 0.316mmol, 111%产率), 将其不经进一步纯化直接进入下一步骤。

[0329] LCMS ESI: 针对 $C_{23}H_{32}N_8O_2$ 的计算值=487.2($M+H^+$), 实测值487.2($M+H^+$)。

[0330] 化合物117的制备。将化合物9(25mg, 0.051mmol)在DMA(1mL)中的混合物用2-甲基-2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷HCl盐(38.2mg, 0.257mmol)处理, 然后用DBU(0.054mL, 0.359mmol)处理, 将反应混合物在60℃下搅拌16h。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水(含 NH_4OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水(含 NH_4OAc); 梯度: 在6% B下保持0分钟, 经30分钟6%-46% B, 然后在100% B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物117(4.0mg, 6.03 μ mol, 11.74%产率)。关于分析数据, 参见表A。

[0331] 类似地制备化合物118。

[0332] 实施例10-化合物139



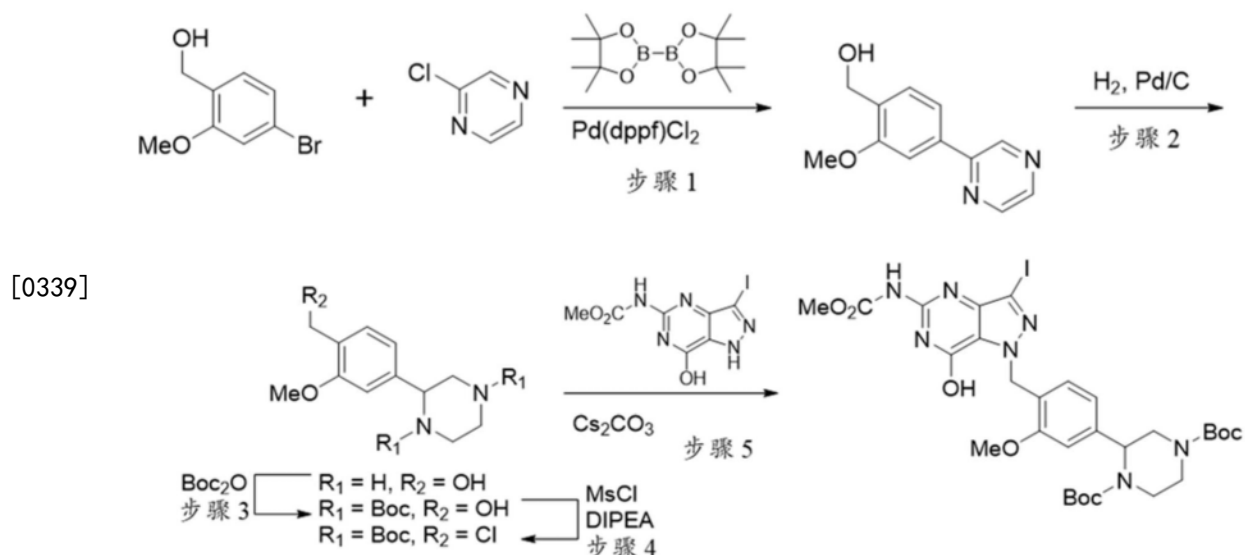
[0334] 11的制备。将类似于上文关于化合物133的程序制备的化合物10 (120mg, 0.197mmol) 在DCM (2mL) 中的溶液用TFA (0.5ml, 6.49mmol) 处理。将反应混合物在室温下搅拌1.5h并且浓缩至干。将粗材料溶解于THF (2mL) 中并且添加几滴在水中的10N NaOH以将pH调节至10-11。将此所得混合物在60℃下搅拌1h并且用HOAc中和至pH 6-7。将混合物浓缩并且然后与在MeOH中的20% DCM (20ml) 一起研磨。将固体滤出。将滤液浓缩至干以提供化合物11, 将其不经进一步纯化进入下一步骤。

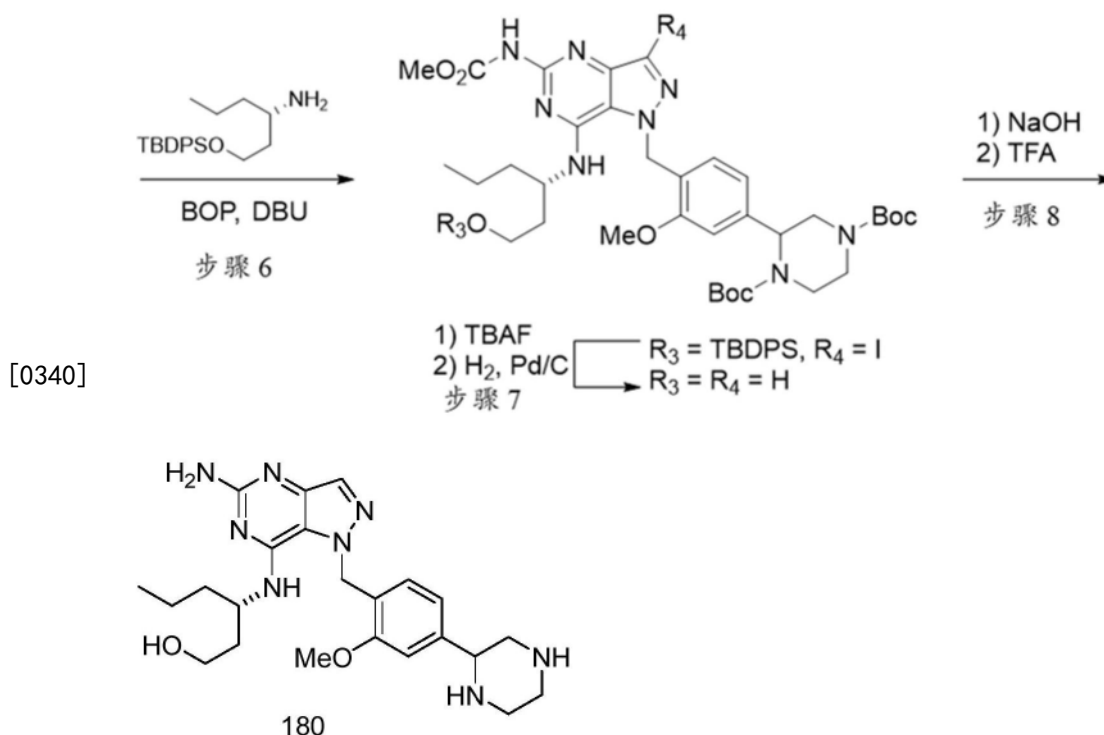
[0335] LCMS ESI: 针对 $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_9\text{O}_2$ 的计算值=510.3 ($\text{M}+\text{H}^+$), 实测值510.2 ($\text{M}+\text{H}^+$)。

[0336] 化合物139的制备。将化合物11的溶液用分子筛、丙-2-酮 (13.78mg, 0.237mmol) 和2滴HOAc处理, 然后用 $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$ (40.2mg, 0.190mmol) 处理。将反应混合物在60℃下搅拌16h。将固体滤出。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μm 颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水 (含 NH_4OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水 (含 NH_4OAc); 梯度: 在5% B下保持0分钟, 经25分钟5%-45% B, 然后在100% B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥并且产生化合物139 (11.9mg, 0.021mmol, 44.6%产率)。

[0337] 类似地制备化合物138。

[0338] 实施例11-化合物180





[0341] 步骤1. 将4-溴-2-甲氧基苄基醇(1g, 4.61mmol)、PdCl₂(dppf)(0.270g, 0.369mmol)、联硼酸频那醇酯(bis(pinacolato)diboron)(1.228g, 4.84mmol)和乙酸钾(0.904g, 9.21mmol)在二噁烷(10mL)中的吹扫悬浮液在95℃下加热16h。将冷却的悬浮液用水(2mL)稀释。添加磷酸钾(2.445g, 11.52mmol)和2-氯吡嗪(0.405mL, 4.61mmol)。添加PdCl₂(dppf)(0.270g, 0.369mmol),同时用氮气吹扫。在95℃下加热16h后,将反应混合物用乙酸乙酯(50mL)稀释。将有机层用Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将粗产物用在己烷中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供(2-甲氧基-4-(吡嗪-2-基)苯基)甲醇(812mg)。

[0342] LC-MS m/z 216.9[M+H]⁺。

[0343] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ9.35-9.25(m, 1H), 8.77-8.67(m, 1H), 8.65-8.54(m, 1H), 7.81-7.72(m, 1H), 7.72-7.65(m, 1H), 7.60-7.47(m, 1H), 5.17-5.06(m, 1H), 4.62-4.51(m, 2H), 3.95-3.85(m, 3H)

[0344] 步骤2. 将(2-甲氧基-4-(吡嗪-2-基)苯基)甲醇(2.51g, 11.61mmol)、Pd-C(2.5g, 1.175mmol)在乙醇(75mL)中的悬浮液用氩气吹扫3次并且排空,并且然后在50psi的H₂下放置16h。向反应混合物中添加Pd-C(2.5g, 1.175mmol)。将烧瓶用氩气吹扫3次并且排空,然后放置在50psi的H₂下。16h后,将反应混合物用乙酸乙酯(50mL)稀释,通过CELITE™过滤并且在减压下蒸发,以提供(2-甲氧基-4-(吡嗪-2-基)苯基)甲醇(2.58g)。将此产物不经进一步纯化使用。

[0345] LC-MS m/z 223.0[M+H]⁺。

[0346] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.30-7.22(m, 1H), 6.96-6.93(m, 1H), 6.92-6.88(m, 1H), 4.50-4.42(m, 2H), 3.79-3.74(m, 3H), 3.65-3.55(m, 1H), 2.95-2.69(m, 4H), 2.66-2.54(m, 2H), 2.45-2.34(m, 1H)。

[0347] 步骤3. 将(2-甲氧基-4-(吡嗪-2-基)苯基)甲醇(513mg, 2.31mmol)、DIPEA

(1.210mL, 6.93mmol) 和 Boc-酸酐 (Boc₂O, 2.145mL, 9.24mmol) 在 DCM (50mL) 中的溶液在室温下搅拌 80h。将反应混合物在减压下蒸发并且在高真空下干燥。将粗产物用在己烷中的 0% 至 100% 乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化, 以提供 2-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (664mg)。

[0348] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.37-7.29 (m, 1H), 6.90-6.72 (m, 2H), 5.20-5.08 (m, 1H), 5.00-4.90 (m, 1H), 4.50-4.42 (m, 2H), 4.40-4.30 (m, 1H), 3.91-3.77 (m, 2H), 3.76-3.71 (m, 3H), 3.31-3.20 (m, 1H), 3.11-2.81 (m, 2H), 1.44-1.38 (m, 9H), 1.38-1.25 (m, 9H)。

[0349] 步骤 4. 向 2-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (3.24g, 7.67mmol) 和 DIPEA (2.009mL, 11.50mmol) 在 DCM (100mL) 中的冷却至 0°C 的溶液中添加甲磺酰氯 (MsCl, 0.896mL, 11.50mmol)。将反应混合物加温至室温并且搅拌 16h, 浓缩, 并且在高真空下干燥, 以提供 2-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (3.38g)。将此产物不经进一步纯化使用。

[0350] LC-MS m/z 441.1 [M+H]⁺。

[0351] 步骤 5. 将 2-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (3.38g, 7.67mmol)、(7-羟基-3-碘-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (2.313g, 6.90mmol) 和 Cs₂CO₃ (7.50g, 23.01mmol) 在 DMF (100mL) 中的混合物在室温下搅拌。16h 后将反应混合物在 EtOAc (300mL) 与 10% LiCl 水溶液 (200mL) 之间分配。将有机层用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并且浓缩。将粗产物用在 DCM 中的 0% 至 100% EtOAc 的梯度在硅胶上纯化, 以提供 2-(4-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (5.26g)。

[0352] LC-MS m/z 740.0 [M+H]⁺。

[0353] 步骤 6. 将 2-(4-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (5.26g, 7.11mmol)、(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺 (3.03g, 8.53mmol)、BOP (6.29g, 14.22mmol) 和 DBU (4.29mL, 28.4mmol) 在 DMSO (10mL) 中的溶液在室温下搅拌 16h。将反应混合物在减压下蒸发并且在高真空下干燥。将粗产物用在二氯甲烷中的 0% 至 100% 乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化, 以提供 2-(4-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (1.12g)。

[0354] LC-MS m/z 1077.8 [M+H]⁺。

[0355] 步骤 7. 向 2-(4-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯 (1.12g, 1.040mmol) 在 MeOH (40mL) 中的溶液中添加 TBAF (在 THF 中的 1M, 2.080mL, 2.080mmol)。30min 后, 将反应混合物在减压下浓缩并且在高真空下干燥。将残余物用 MeOH (40mL) 稀释。添加 Pd-C (0.221g, 0.104mmol)。将反应器皿用真空和氮气吹扫 3 次, 然后用真空和氢气吹扫三次。将混合物在氢气下搅拌 70h, 通过 CELITE™ 过滤并且在减压下蒸发。将粗产物用在二氯甲烷中的 0% 至 20% 甲醇的梯度在硅胶上纯化, 以提供 2-(4-((7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基) 哌嗪-1, 4-二甲酸二叔丁酯

[0356] LC-MS m/z 713.3 $[M+H]^+$ 。

[0357] 将2-(4-((7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1,4-二甲酸二叔丁酯(239mg)的两个非对映异构体用以下条件经由SCF分离:柱OX 21X250mm ID,5 μ m;流动相:80/20 $CO_2/MeOH$;流速:50mL/min;柱温40 $^{\circ}C$ 。

[0358] 将第一个洗脱峰的级分收集并且在减压下蒸发(P1;73mg)。 ^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.05-6.81(m, 1H), 6.77-6.65(m, 1H), 6.61-6.42(m, 1H), 6.39-6.24(m, 1H), 5.86-5.56(m, 2H), 5.18-5.03(m, 1H), 4.56-4.43(m, 1H), 4.39-4.35(m, 1H), 4.35-4.25(m, 1H), 3.82-3.79(m, 3H), 3.62(s, 3H), 3.40-3.33(m, 2H), 1.77-1.43(m, 5H), 1.42-1.24(m, 19H), 1.20-1.01(m, 4H), 0.97-0.93(m, 1H), 0.89-0.81(m, 2H), 0.81-0.74(m, 3H)。

[0359] 将第二个洗脱峰的级分收集并且在减压下蒸发(P2;80mg)。 ^1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$) δ 7.05-6.78(m, 1H), 6.77-6.63(m, 1H), 6.61-6.43(m, 1H), 6.39-6.18(m, 1H), 5.87-5.59(m, 2H), 5.23-5.01(m, 1H), 4.57-4.41(m, 1H), 4.39-4.20(m, 2H), 3.82-3.78(m, 3H), 3.64-3.60(m, 3H), 3.38-3.32(m, 2H), 1.75-1.42(m, 5H), 1.40-1.21(m, 19H), 1.20-1.01(m, 4H), 0.99-0.92(m, 1H), 0.89-0.82(m, 2H), 0.82-0.75(m, 3H)。

[0360] 步骤8.将2-(4-((7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1,4-二甲酸二叔丁酯(53mg, 0.074mmol)和NaOH(0.149ml, 1.487mmol)在二噁烷(5mL)中的溶液在60 $^{\circ}C$ 下加热16h。将冷却的反应混合物在减压下蒸发并且在高真空下干燥。将粗混合物用DCM(5mL)稀释。添加TFA(1ml, 12.98mmol)。16h后,将反应混合物在乙酸乙酯25mL与饱和 $NaHCO_3$ (25mL)之间分配。将有机层用 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含 NH_4OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含 NH_4OAc);梯度:在4% B下保持0分钟,经20分钟4%-44% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25 $^{\circ}C$ 。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物化合物180的级分合并并且经由离心蒸发干燥。

[0361] 实施例12-化合物184



[0363] 步骤1.向2-(4-((7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)哌嗪-1,4-二甲酸二叔丁酯(参见先前的实施例;80mg, 0.112mmol)在DCM(5mL)中的溶液中添加TFA(500 μ l, 6.49mmol)。2h后将反应混合物在减压下浓缩并且在高真空下干燥。将反应混合物用甲醇(20mL)稀释。添加 K_2CO_3 (50mg, 0.362mmol)。2h后,将反应混合物用乙酸乙酯(25mL)稀释并且通过CELITETM过滤并且

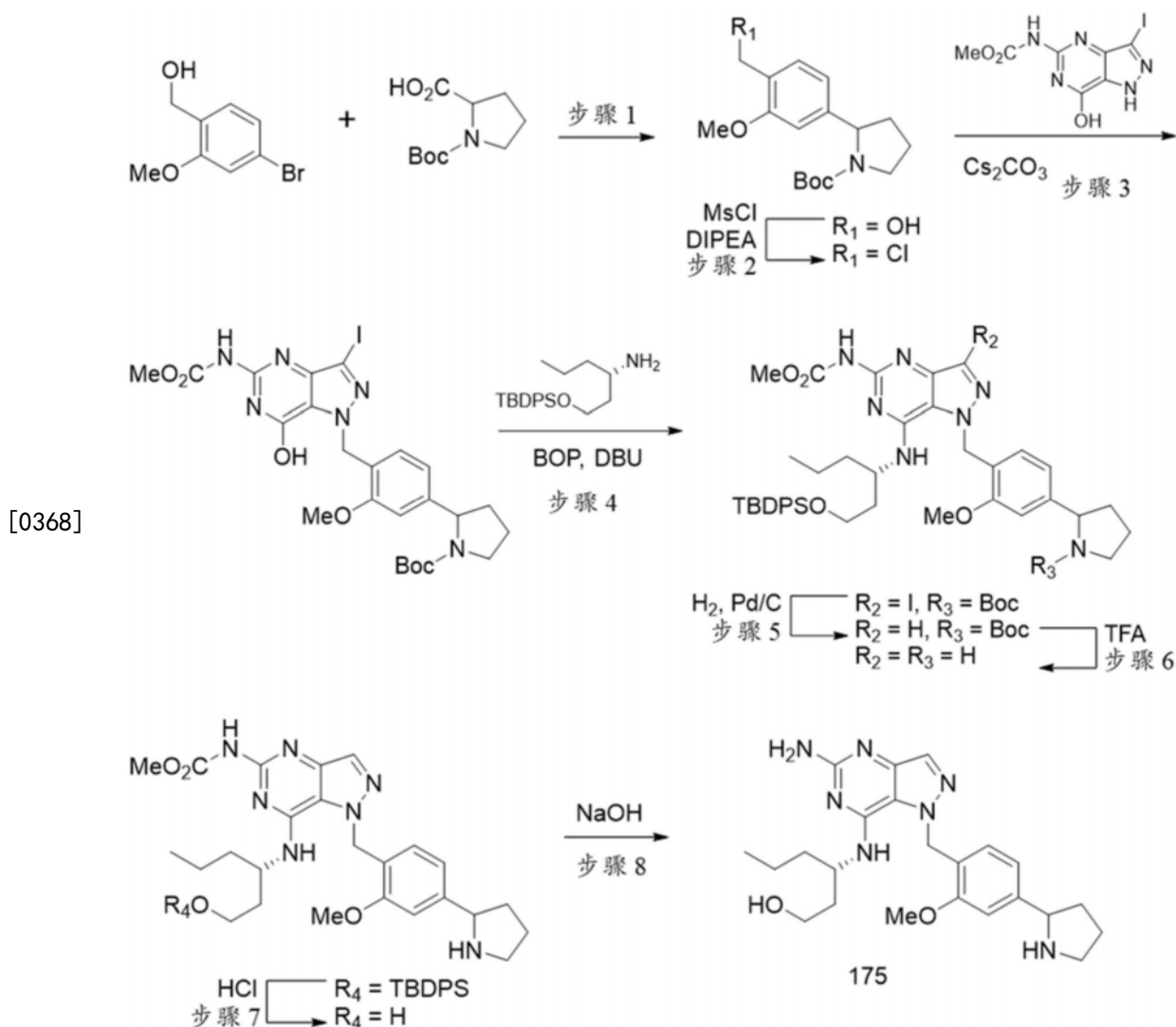
在减压下蒸发以提供 (7-(((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1-(2-甲氧基-4-(哌嗪-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯。将此产物不经进一步纯化使用。

[0364] LC-MS m/z 513.3 $[M+H]^+$ 。

[0365] 步骤2. 将 (7-(((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1-(2-甲氧基-4-(哌嗪-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (57.4mg, 112mmol)、2-溴丙烷 (55.1mg, 0.448mmol) 和 K_2CO_3 (155mg, 1.120mmol) 在 NMP (1mL) 中的悬浮液加热至 $50^\circ C$ 。16h 后, 添加 NaOH (0.112mL, 1.120mmol) 并且继续加热 16h。将反应混合物用甲醇 (20mL) 稀释, 过滤并且在减压下蒸发。将粗材料用以下条件经由制备型 LC/MS 纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5 μm 颗粒; 流动相 A: 5:95 乙腈: 水 (含 NH_4OAc); 流动相 B: 95:5 乙腈: 水 (含 NH_4OAc); 梯度: 在 5% B 下保持 0 分钟, 经 25min 5% - 45% B, 然后在 100% B 下保持 0 分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: $25^\circ C$ 。由 MS 信号触发级分的收集。将含有化合物 184 的级分合并并且经由离心蒸发干燥。

[0366] 类似地制备化合物 181 和化合物 182。

[0367] 实施例 13-化合物 175



[0369] 步骤1. 在两个相同的小瓶中放置 (叔丁氧基羰基)-L-脯氨酸 (793mg, 3.69mmol)、(4-溴-2-甲氧基苄基) 甲醇 (400mg, 1.843mmol)、Ir(dF(CF₃)ppy)₂(dtbbpy)PF₆ (20.67mg,

0.018mmol)、NiBr₂.dtbpy (44.9mg, 0.092mmol) 和Cs₂CO₃ (1201mg, 3.69mmol) 与DMA (20mL)。将悬浮液用氮气脱气(开盖)10分钟。将盖子用石蜡膜密封。将所得悬浮液置于带有搅拌和具有冷却风扇的Kessil PR160 427 (427nm) 紫灯的块(block)中。16h后,将反应混合物用DCM (50mL) 稀释,合并,通过CELITETM过滤并且在减压下蒸发。将粗产物用在己烷中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供2-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯与2-(4-甲酰基-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯的2:3混合物。

[0370] 将混合物溶解于EtOH (50mL) 中并且分批添加NaBH₄ (100mg, 2.64mmol)。4h后,将反应混合物在乙酸乙酯 (100mL) 与饱和NaHCO₃ (50mL) 之间分配。将有机层用Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将粗产物用在己烷中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供2-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯LC-MS m/z 252.0[M+H-tBuOH]⁺。

[0371] 步骤2. 向2-(4-(羟基甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (380mg, 1.236mmol) 和胡宁氏碱 (0.130mL, 0.742mmol) 在DCM (5mL) 中的混合物中添加Ms-Cl (0.053mL, 0.680mmol)。16h后将反应混合物在减压下蒸发并且在高真空下干燥,以提供2-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (201mg)。将此产物不经进一步纯化使用。

[0372] LC-MS m/z 326.1[M+H]⁺。

[0373] 步骤3. 将2-(4-(氯甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (401mg, 1.23mmol)、(7-羟基-3-碘-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (412mg, 1.230mmol) 和Cs₂CO₃ (1202mg, 3.69mmol) 在DMF (20mL) 中的混合物在室温下搅拌40h并且在减压下浓缩。将粗产物用在二氯甲烷中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供2-(4-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯

[0374] LC-MS m/z 625.0[M+H]⁺。

[0375] 步骤4. 将2-(4-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (332mg, 0.532mmol)、(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺HCl (292mg, 0.744mmol)、BOP (470mg, 1.063mmol) 和DBU (0.321mL, 2.127mmol) 在DMSO (3mL) 中的混合物在70℃下加热16h。将反应混合物在乙酸乙酯 (100mL) 与水 (50mL) 之间分配。将有机层用Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗产物用在二氯甲烷中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供2-(4-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (146mg)。

[0376] LC-MS m/z 962.5[M+H]⁺。

[0377] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 7.62-7.53 (m, 2H), 7.51-7.29 (m, 6H), 7.25-7.14 (m, 2H), 6.78-6.73 (m, 1H), 5.73-5.58 (m, 2H), 4.82-4.52 (m, 2H), 3.77-3.65 (m, 3H), 3.64-3.46 (m, 5H), 3.44-3.39 (m, 1H), 2.25-2.04 (m, 1H), 1.88-1.77 (m, 2H), 1.74-1.29 (m, 8H), 1.29-1.13 (m, 6H), 1.14-0.97 (m, 6H), 0.97-0.72 (m, 13H)

[0378] 步骤5. 将2-(4-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯 (146mg, 0.152mmol)、Pd-C (32.3mg, 0.015mmol) 和吡啶 (0.012mL, 0.152mmol)

在MeOH(10mL)中的悬浮液用真空和氮气吹扫3次,然后用真空和氢气再次吹扫三次。然后将混合物在氢气下搅拌16h,通过CELITETM过滤,并且在减压下蒸发。将粗产物用在己烷中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供2-(4-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(100mg)。

[0379] LC-MS m/z 836.3[M+H]⁺。

[0380] 步骤6.向2-(4-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3-甲氧基苯基)吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(100mg,0.120mmol)在DCM(10mL)中的溶液中添加TFA(500μl,6.49mmol)。16h后将溶剂在减压下蒸发并且在高真空下干燥,以提供(7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(2-甲氧基-4-(吡咯烷-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯三氟乙酸盐(102mg)。将此产物不经进一步纯化使用。

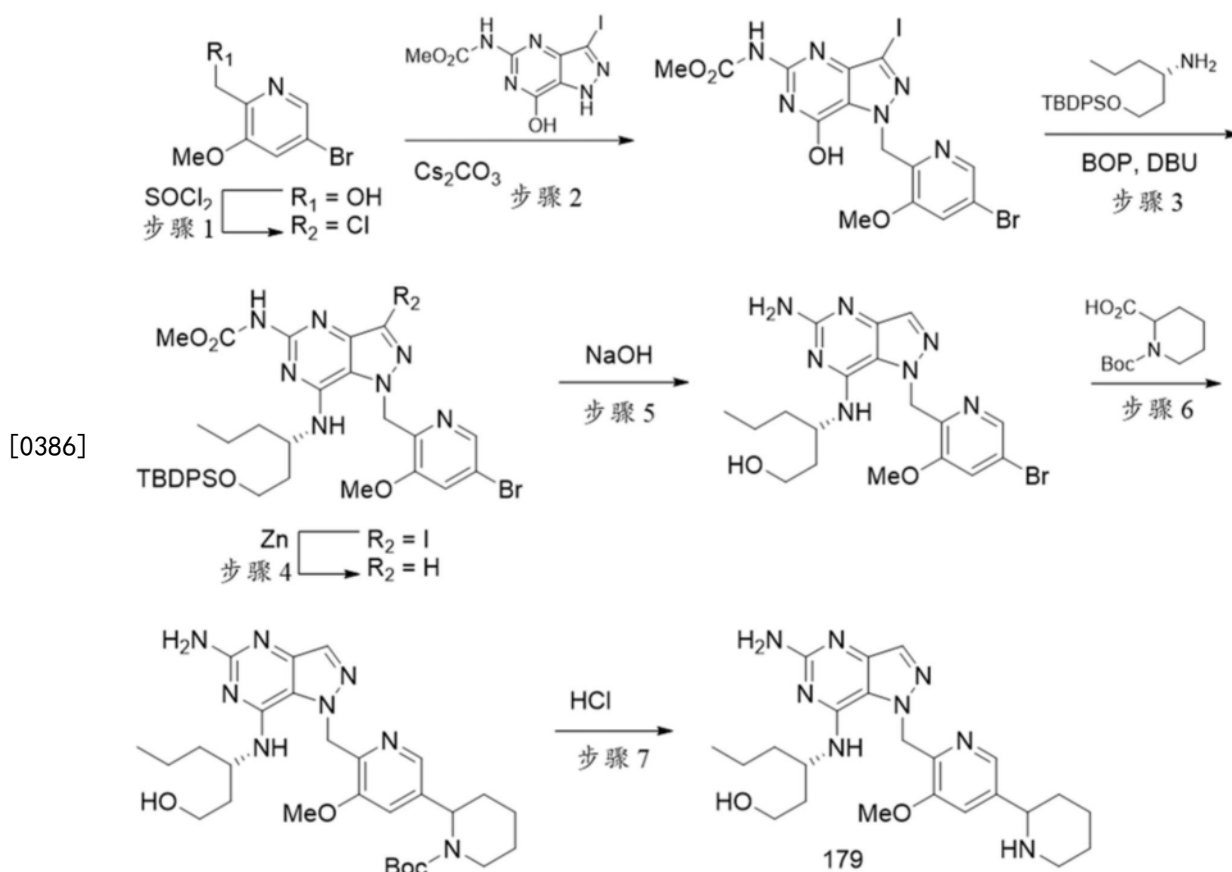
[0381] LC-MS m/z 736.3[M+H]⁺。

[0382] 步骤7.将(7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-(2-甲氧基-4-(吡咯烷-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.088g,12mmol)和HCl(0.4mL,4.80mmol)在MeOH(10mL)中的混合物在室温下搅拌2h,然后在减压下浓缩并且在高真空下干燥,以提供(7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1-(2-甲氧基-4-(吡咯烷-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(64mg)。将此产物不经进一步纯化使用。

[0383] LC-MS m/z 498.3[M+H]⁺。

[0384] 步骤8.将(7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1-(2-甲氧基-4-(吡咯烷-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(59.7mg,12mmol)和NaOH(0.120mL,1.200mmol)在二噁烷(7mL)中的混合物在50℃下加热16h。将反应混合物在减压下浓缩,在高真空下干燥并且用DMF:乙酸1:1(2mL)稀释。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在4% B下保持0分钟,经20分钟4%-100% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有化合物175的级分合并并且经由离心蒸发干燥。

[0385] 实施例14-化合物179



[0387] 步骤1.向(5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲醇(Sigma-Aldrich)(2.462g,11.29mmol)在 CH_2Cl_2 (113ml)中的0℃溶液中逐滴添加 SOCl_2 (1.235ml,16.94mmol)。将反应在室温下搅拌1h,然后将其在真空中浓缩。将此材料与 CH_2Cl_2 混合并且在真空中浓缩(2x),以提供粗产物,5-溴-2-(氯甲基)-3-甲氧基吡啶。将此材料不经进一步纯化使用。

[0388] LC-MS m/z 236/238 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0389] 步骤2向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(3.44g,10.26mmol)在DMF(45.6ml)中的室温悬浮液中添加 Cs_2CO_3 (13.37g,41.0mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌10min;然后添加来自步骤1的粗材料在DMF(22.80ml)中的溶液。将反应混合物在0℃下搅拌1h,然后将冷却浴去除并且在室温下继续搅拌20h。将反应混合物添加到 H_2O (250mL)中并且允许在室温下静置。将固体通过真空过滤收集并且用 H_2O (3x15mL)、MeOH(2x15mL)、 CH_2Cl_2 (15mL)和己烷(15mL)洗涤,以提供(1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(4.431g,81%)。

[0390] LC-MS m/z 535/537 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0391] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 13.19-12.96(m,1H),8.95-8.80(m,1H),8.06(s,1H),7.71(s,1H),5.87-5.65(m,2H),3.89(s,3H),3.53(br s,3H)。

[0392] 步骤3.向(1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.990g,1.850mmol)在DMSO(12.33ml)中的室温悬浮液中添加(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺HCl盐(0.870g,2.220mmol)(US 2020/0038403 A1,图8、化合物71a),然后添加1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(1.245ml,8.33mmol)和(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(0.982g,2.220mmol)。将

反应混合物在室温下搅拌1h,用EtOAc (100mL) 稀释,并且用H₂O (100mL) 洗涤。分离各层,并且将水层用EtOAc (100mL) 萃取。将合并的有机层用饱和NaCl水溶液 (100mL) 洗涤,经Na₂SO₄ 干燥,过滤,并且在真空中浓缩。将粗材料通过快速色谱 (80g 硅胶;线性梯度0-100 % EtOAc-己烷) 纯化,以提供呈黄色泡沫的(S) - (1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基) -7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) -3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (810mg, 50%)。

[0393] LC-MS m/z 872/874 [M+H]⁺。

[0394] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.69 (s, 1H), 7.92 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.79 (d, J=1.8Hz, 1H), 7.57-7.53 (m, 2H), 7.50-7.46 (m, 2H), 7.42-7.31 (m, 4H), 7.25-7.20 (m, 2H), 7.12 (d, J=8.3Hz, 1H), 5.78-5.69 (m, 2H), 4.64-4.55 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.70-3.64 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 1.90-1.82 (m, 2H), 1.57-1.48 (m, 2H), 1.25-1.13 (m, 2H), 0.92 (s, 9H), 0.81 (t, J=7.3Hz, 3H)。

[0395] 步骤4. 向(S) - (1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基) -7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) -3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (0.810g, 0.928mmol) 在MeOH (9.28ml) 和AcOH (9.28ml) 的混合物中的0℃溶液中添加锌 (0.607g, 9.28mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌30min,通过CELITETM过滤,并且用MeOH (10mL) 和EtOAc (50mL) 洗涤。将滤液用EtOAc (200mL) 稀释。在搅拌的同时,将饱和NaHCO₃水溶液 (250mL) 缓慢添加到此溶液中(小心控制气体释放的速度)。分离各层并且将有机层用饱和NaCl水溶液 (250mL) 洗涤,经Na₂SO₄ 干燥,过滤,并且在真空中浓缩,以提供粗产物, (S) - (1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基) -7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) -1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯。将此材料不经进一步纯化使用。

[0396] LC-MS m/z 746/748 [M+H]⁺。

[0397] 步骤5. 向来自步骤4的粗材料在1,4-二噁烷 (9518μl) 和MeOH (4759μl) 中的室温溶液中添加10M NaOH水溶液 (928μl, 9.28mmol)。将反应混合物在65℃下搅拌16h,冷却至室温,用H₂O (100mL) 稀释,并且用EtOAc (3x100mL) 萃取。将合并的有机层用饱和NaCl水溶液 (100mL) 洗涤,经Na₂SO₄ 干燥,过滤,并且在真空中浓缩。将粗材料通过快速色谱 (24g 硅胶;线性梯度0-10 % MeOH-CH₂Cl₂) 纯化,以提供呈浅黄色泡沫的(S) -3-((5-氨基-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基) -1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基) 氨基) 己-1-醇 (368mg, 88%)。

[0398] LC-MS m/z 450/452 [M+H]⁺。

[0399] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8.13 (d, J=1.9Hz, 1H), 7.82 (d, J=1.9Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 6.86 (d, J=8.4Hz, 1H), 5.75-5.68 (m, 1H), 5.66-5.60 (m, 1H), 5.57 (s, 2H), 4.43 (t, J=5.3Hz, 1H), 4.41-4.34 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.47-3.41 (m, 2H), 1.78-1.62 (m, 2H), 1.54-1.46 (m, 2H), 1.27-1.16 (m, 2H), 0.83 (t, J=7.3Hz, 3H)。

[0400] 步骤6. 将(S) -3-((5-氨基-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基) -1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基) 氨基) 己-1-醇 (28mg, 0.062mmol)、1-(叔丁氧基羰基) 哌啶-2-甲酸 (28.5mg, 0.124mmol)、NiBr₂·dtbbpy (1.514mg, 3.11μmol) 和Ir[dF(CF₃)ppy]₂(dtbbpy)PF₆ (0.698mg, 0.622μmol) 的混合物排空并且用N₂回填。添加DMA (1244μl), 然后添加1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯 (18.60μl, 0.124mmol)。将反应混合物用N₂喷射20min,然后密封并且在使用具有冷却风扇的紫色LED (395-405nm) 辐照下搅拌18h。将此反应混合物与来自在

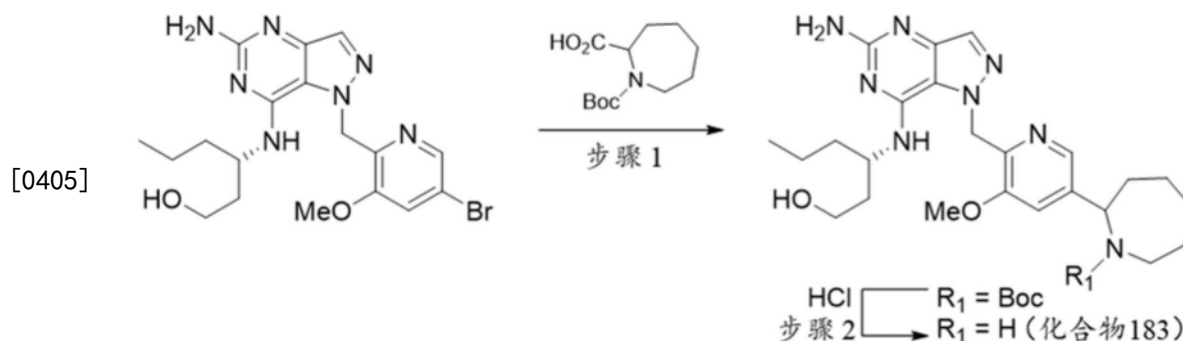
相似条件下的重复操作的反应混合物合并。将所得混合物用H₂O (20mL) 稀释并且用EtOAc (2x20mL) 萃取。将合并的有机层用饱和NaCl水溶液 (20mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤, 并且在真空中浓缩。将粗材料通过快速色谱 (12g硅胶; 线性梯度0-10% MeOH-CH₂Cl₂) 纯化, 以提供呈与另外杂质的混合物的2-(6-((5-氨基-7-(((S)-1-羟基己-3-基) 氨基)-1H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-1-基) 甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基) 哌啶-1-甲酸叔丁酯 (非对映异构体的混合物)。将此材料不经进一步纯化使用。

[0401] LC-MS m/z 555 [M+H]⁺。

[0402] 步骤7. 向来自步骤6的材料在1,4-二噁烷 (894μl) 和MeOH (224μL) 中的室温溶液中添加在1,4-二噁烷中的4M HCl (279μL, 1.118mmol)。将反应混合物在室温下搅拌3h并且浓缩。将粗材料溶解于MeOH中并且浓缩。将粗材料重新溶解于DMF (2mL) 中, 过滤 (0.45μm尼龙注射器过滤器), 并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水 (含0.05% TFA); 流动相B: 95:5乙腈:水 (含0.05% TFA); 梯度: 在0% B下保持0分钟, 经2分钟0-40% B, 然后在100% B下保持0分钟; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将材料用以下条件经由制备型LC/MS进一步纯化: 柱: XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒; 流动相A: 5:95乙腈:水 (含NH₄OAc); 流动相B: 95:5乙腈:水 (含NH₄OAc); 梯度: 在3% B下保持0分钟, 经20分钟3%-43% B, 然后在100% B下保持0min; 流速: 20mL/min; 柱温: 25℃。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物179 (14.5mg)。

[0403] 类似地制备化合物178。

[0404] 实施例15-化合物183



[0406] 步骤1. 将(S)-3-((5-氨基-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基)-1H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-7-基) 氨基) 己-1-醇 (40mg, 0.089mmol)、1-(叔丁氧基羰基) 氮杂环庚烷-2-甲酸 (32.4mg, 0.133mmol)、NiBr₂·dtbbpy (2.162mg, 4.44μmol) 和Ir[dF(Me)ppy]₂(dtbbpy)PF₆ (0.901mg, 0.888μmol) 的混合物溶解于DMA (1776μl) 中, 并且添加1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯 (19.92μl, 0.133mmol)。将反应烧瓶用N₂喷射10min并且密封, 将反应混合物在由具有冷却风扇的紫色LED (395-405nm) 的辐照下搅拌22h。将反应混合物用饱和NaHCO₃水溶液 (20mL) 稀释并且用EtOAc (3x20mL) 萃取。将合并的有机层用饱和NaCl水溶液 (20mL) 洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤, 并且在真空中浓缩。将粗材料通过快速色谱 (12g硅胶; 线性梯度0-10% MeOH-CH₂Cl₂) 纯化, 以提供2-(6-((5-氨基-7-(((S)-1-羟基己-3-基) 氨基)-1H-吡唑并[4, 3-d]嘧啶-1-基) 甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基) 氮杂环庚烷-1-甲酸叔丁酯 (非对映异构体的混合物) (24.7mg, 49%)。

[0407] LC-MS m/z 569 $[M+H]^+$ 。

[0408] 步骤2.向2-(6-((5-氨基-7-(((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)氮杂环庚烷-1-甲酸叔丁酯(非对映异构体的混合物)(24.7mg)在1,4-二噁烷(347 μ l)和MeOH(87 μ l)中的室温溶液中添加在二噁烷中的4M HCl(109 μ l,0.434mmol)。将反应混合物在室温下搅拌3h并且浓缩。将粗材料溶解于MeOH中并且浓缩。将粗材料重新溶解于DMF(2mL)中,过滤(0.45 μ m尼龙注射器过滤器),并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.05% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05% TFA);梯度:在0% B下保持0分钟,经20分钟0-40% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物183(13.4mg)。

[0409] 实施例16-化合物185



[0411] 步骤1.将(S)-3-((5-氨基-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(40mg,0.089mmol)、(2S,4R)-1-(叔丁氧羰基)-4-氰基吡咯烷-2-甲酸(42.7mg,0.178mmol)、 $\text{NiBr}_2 \cdot \text{dtbbpy}$ (2.162mg,4.44 μ mol)和 $\text{Ir}[\text{dF}(\text{Me})\text{ppy}]_2(\text{dtbbpy})\text{PF}_6$ (0.901mg,0.888 μ mol)的混合物溶解于DMA(1776 μ l)中,并且添加1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯(26.6 μ l,0.178mmol)。将反应混合物用 N_2 喷射10min,然后将其密封并且在由具有冷却风扇的紫色LED(395-405nm)的辐照下搅拌17h。将反应应用饱和 NaHCO_3 水溶液(20mL)稀释并且用EtOAc(3x20mL)萃取。将合并的有机层用饱和NaCl水溶液(20mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并且在真空中浓缩。将粗材料通过快速色谱(12g硅胶;线性梯度0-20% MeOH- CH_2Cl_2)纯化,以提供(4R)-2-(6-((5-氨基-7-(((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)-4-氰基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(非对映异构体的混合物)(25.4mg,51%)。

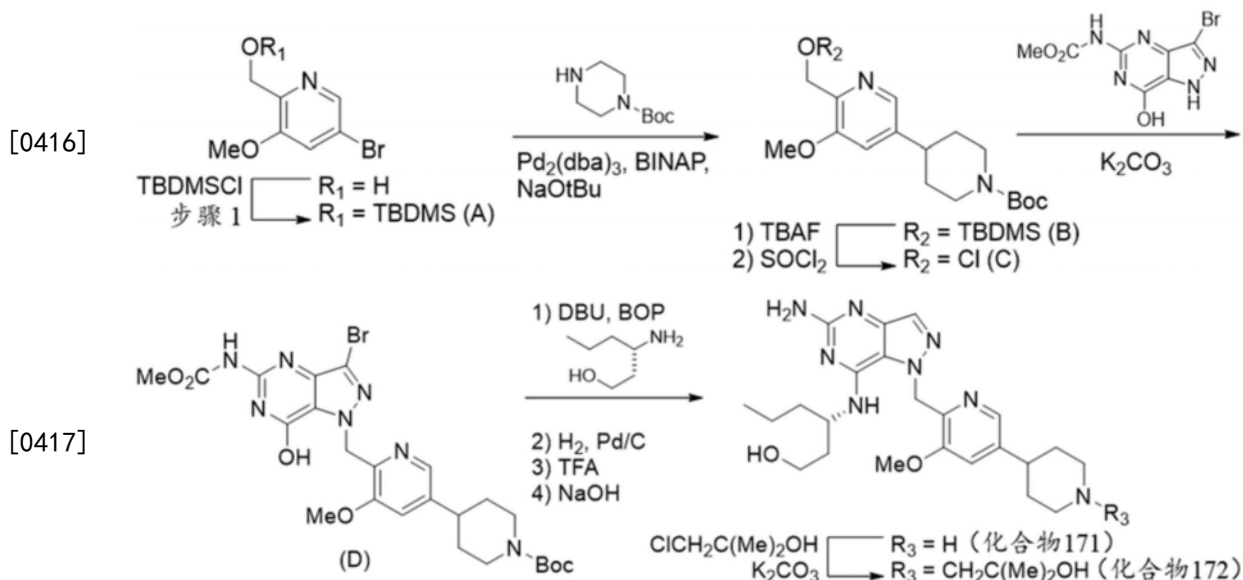
[0412] LC-MS m/z 566 $[M+H]^+$ 。

[0413] 步骤2.向(4R)-2-(6-((5-氨基-7-(((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)-4-氰基吡咯烷-1-甲酸叔丁酯(非对映异构体的混合物)(25.4mg,0.045mmol)在 CH_2Cl_2 (808 μ l)中的室温溶液中添加TFA(90 μ l)。将反应在室温下搅拌5h。将反应在真空中浓缩。将粗材料溶解于 CH_2Cl_2 中并且在真空中浓缩(2x)。

[0414] 将粗材料溶解于 CH_2Cl_2 (225 μ l)和MeOH(225 μ l)的混合物中,并且添加三乙胺(31.3 μ l,0.225mmol)。将溶液在室温下搅拌20min。将反应浓缩。将粗材料溶解于 CH_2Cl_2 中并且浓缩。将粗材料溶解于DMF(2mL)中,过滤(0.45 μ m尼龙注射器过滤器),并且用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含

0.05% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05% TFA);梯度:在0% B下保持0分钟,经20分钟0-40% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物185(非对映异构体的混合物)TFA盐(19.3mg)。

[0415] 实施例17-化合物171和化合物172



[0418] 化合物A。将(5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲醇(3.75g, 17.20mmol)在DMF(20mL)中的溶液用TBDMS-Cl(6.48g, 43.0mmol)处理,然后用咪唑(2.58g, 37.8mmol)处理。将所得反应混合物在室温下搅拌3h,用水淬灭,并且用乙酸乙酯(3x50mL)萃取。将合并的有机萃取物经Na₂SO₄干燥并且过滤。将滤液浓缩。将残余物通过二氧化硅柱(80g)(用乙酸乙酯:己烷,0-30%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生5-溴-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-甲氧基吡啶A(5.55g, 16.70mmol, 97%产率)。

[0419] LCMS ESI:针对C₁₃H₂₃BrNO₂Si的计算值=332.1、334.1(M+H⁺),实测值332.0、334.0(M+H⁺)。

[0420] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.14(d, J=2.0Hz, 1H), 7.19(d, J=2.0Hz, 1H), 4.69(s, 2H), 3.75(s, 3H), 0.83-0.75(m, 9H), 0.02--0.03(m, 6H)。

[0421] 化合物B。将5-溴-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3-甲氧基吡啶A(2.0g, 6.02mmol)在甲苯(25mL)中的搅拌溶液用叔丁醇钠(1.157g, 12.04mmol)、哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.681g, 9.03mmol)和BINAP(1.874g, 3.01mmol)处理。将N₂流鼓泡到反应混合物中5min;然后将Pd₂(dba)₃(0.551g, 0.602mmol)添加到混合物中。将反应混合物在100℃下加热16h,冷却,用EtOAc稀释,并且通过CELITE™过滤,用EtOAc洗涤。将滤液浓缩。将粗化合物通过使用80g柱的快速色谱(用EA:己烷0-80%梯度洗脱)纯化,将所需级分浓缩,以产生4-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯B(1.22g, 2.79mmol, 46.3%产率)。

[0422] LCMS ESI:针对C₂₂H₄₀N₃O₄Si的计算值=438.3(M+H⁺),实测值438.3(M+H⁺)。

[0423] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ7.76(d, J=2.2Hz, 1H), 6.92(d, J=2.2Hz, 1H), 4.58(s, 2H), 3.78(s, 3H), 3.49-3.38(m, 4H), 3.17(br s, 4H), 1.40(s, 9H), 0.82(s, 9H), 0.00(s,

6H)。

[0424] 化合物C,部分1。在室温下将4-(6-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯B(550mg,1.257mmol)在THF(5mL)中的悬浮液用TBAF(在THF中的1.0M)(1.257mL,1.257mmol)处理。将反应混合物在室温下搅拌16h并且浓缩。将粗残余物通过二氧化硅柱(40g)(用20% MeOH的DCM溶液:DCM,0-25%梯度洗脱)纯化,将所需级分浓缩以产生呈棕色油状物的4-(6-(羟基甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(405mg,1.277mmol,100%产率)。

[0425] LCMS ESI:针对 $C_{16}H_{26}N_3O_4$ 的计算值=324.2(M+H⁺),实测值324.1(M+H⁺)。

[0426] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ7.84(d,J=2.2Hz,1H),6.98(d,J=2.2Hz,1H),5.01(s,2H),3.83(s,3H),3.58-3.41(m,4H),3.26-3.17(m,4H),1.43(s,9H),一个可交换的质子不可见。

[0427] 化合物C,部分2。在0℃下,将4-(6-(羟基甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(230mg,0.711mmol)在无水THF(5mL)中的混合物用SOCl₂(0.260mL,3.56mmol)处理5min。将反应混合物浓缩。将过量的SOCl₂与DCM(3x)一起共沸去除。将所得粗材料4-(6-(氯甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯C不经纯化直接进入下一步骤。

[0428] LCMS ESI:针对 $C_{16}H_{26}N_3O_4$ 的计算值=338.2(M+H⁺),实测值338.2(M+H⁺)。

[0429] 化合物D。在0℃下向(3-溴-7-羟基-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.219g,0.761mmol)在DMF(5mL)中的搅拌混合物中添加K₂CO₃(0.162g,1.170mmol),然后添加4-(6-(氯甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(0.2g,0.585mmol)。5min后,LCMS用主要所需产物指示反应完成。将反应混合物用饱和NH₄Cl溶液淬灭并且在室温下搅拌1h。将所得固体通过过滤收集并且通过ISCO二氧化硅柱(40g)(用乙酸乙酯:己烷0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生呈白色固体的4-(6-((3-溴-7-羟基-5-(甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯D(150mg,0.253mmol,43.2%产率)。

[0430] LCMS ESI:针对 $C_{23}H_{30}BrN_8O_2$ 的计算值=593.1 595.1(M+H⁺),实测值593.1,595.1(M+H⁺)。

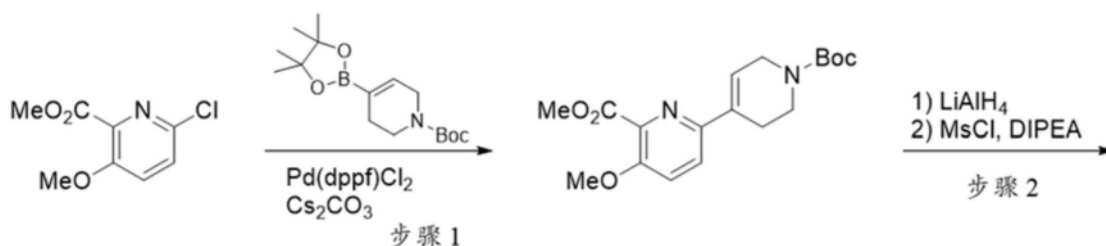
[0431] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ8.03-7.83(m,1H),7.68(d,J=2.4Hz,1H),7.00(d,J=2.2Hz,1H),5.68(s,2H),3.83(s,3H),3.75(s,3H),3.44(br d,J=5.3Hz,4H),3.18(br t,J=5.0Hz,4H),1.42(s,9H)。一个可交换的质子不可见。

[0432] 化合物171。根据上文关于化合物124的程序类似地从化合物D制备(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(化合物171)。关于分析数据,参见表A。

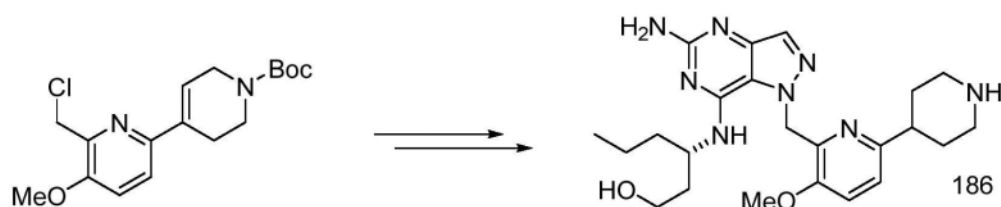
[0433] 化合物172。将(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌嗪-1-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(25mg,0.052mmol)在DMF(1mL)中的溶液用1-氯-2-甲基丙-2-醇(34.0mg,0.313mmol)和催化量的NaI处理。将反应混合物在100℃下搅拌20h。冷却后,将固体滤出,并且将滤液用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在16% B下保持0分钟,经20分钟16%-56%B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并

且经由离心蒸发干燥,以产生化合物172(6.6mg,0.012mmol,23.58%产率)。

[0434] 实施例18-化合物186



[0435]



[0436] 步骤1.将4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(1252mg,4.05mmol)在二噁烷(4mL)和水(1mL)中的混合物用6-氯-3-甲氧基吡啶甲酸甲酯(680mg,3.37mmol)、 K_2CO_3 (1.63g,11.81mmol)处理。将 N_2 气流鼓泡到反应混合物中2min后;然后添加 $PdCl_2(dppf)-CH_2Cl_2$ 加合物(275mg,0.337mmol)。将所得混合物在70℃下搅拌2.5h。冷却后,将反应混合物用EtOAc(5mL)稀释。将固体材料通过经由CELITE™垫过滤去除。将滤液经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩。将粗材料通过二氧化硅柱(40g)(用EtOAc/己烷0-100%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生1'-(叔丁基)6-甲基5-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',6(2'H)-二甲酸酯(化合物1)(700mg,2.009mmol,59.6%产率)。

[0437] LCMS ESI:针对 $C_{18}H_{25}N_2O_5$ 的计算值=349.2($M+H^+$),实测值349.1($M+H^+$)。

[0438] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) δ 7.74-7.66(m,1H),7.67-7.42(m,1H),6.55(br s,1H),4.03(br d, $J=2.2$ Hz,2H),3.86(s,3H),3.84(s,3H),3.53(t, $J=5.7$ Hz,2H),2.52(br s,2H),1.43(s,9H)。

[0439] 步骤2,部分1.在0℃下在 N_2 下将1'-(叔丁基)6-甲基5-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',6(2'H)-二甲酸酯(1.2g,3.44mmol)在THF(30mL)中的溶液用 $LiAlH_4$ (3.44mL,3.44mmol)分批处理。将反应混合物搅拌30,用罗谢尔盐(Rochelle salt)溶液小心淬灭,并且在室温下搅拌16h。分离两液相。将水相用EtOAc(2x25mL)反萃取。将合并的有机提取物经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩以产生6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.1g,3.43mmol,100%产率),其足够纯以用于下一步骤。

[0440] LCMS ESI:针对 $C_{17}H_{25}N_2O_4$ 的计算值=321.2($M+H^+$),实测值321.2($M+H^+$)。

[0441] ^1H NMR(400MHz,氯仿- d) δ 7.30-7.25(m,1H),7.12(d, $J=8.4$ Hz,1H),6.54(br s,1H),4.73(s,2H),4.43(br s,1H),4.14-4.11(m,2H),3.86(s,3H),3.65(br t, $J=5.7$ Hz,2H),2.70-2.58(m,2H),1.49(s,9H)。

[0442] 步骤2,部分2.将6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.1g,3.43mmol)在DCM(20mL)中的混合物用胡宁氏碱(0.899mL,5.15mmol)处理,然后用Ms-Cl(0.321mL,4.12mmol)处理。将反应混合物在室温下搅拌16h,用DCM(10mL)

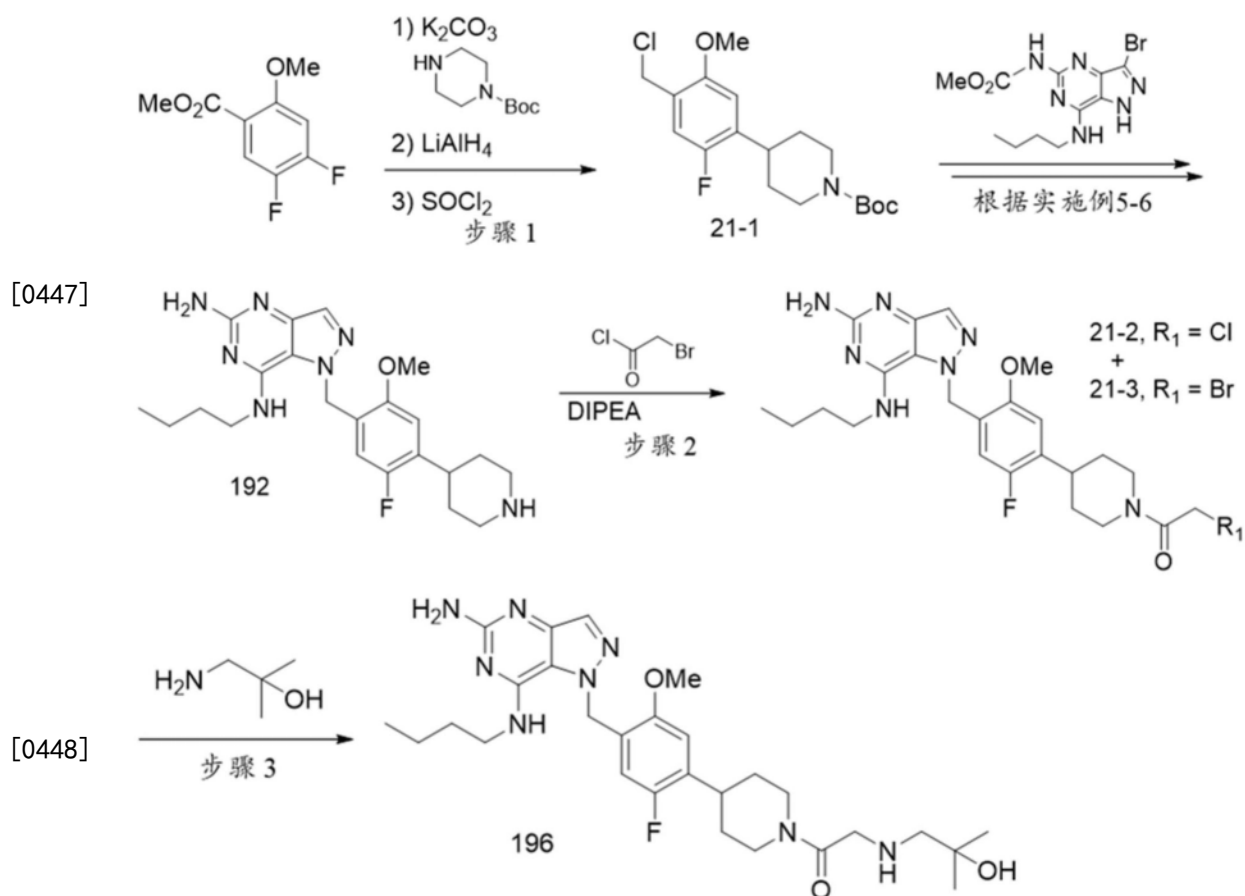
稀释,并且用水洗涤。分离两层。将有机层经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩。将粗材料通过二氧化硅柱(40g)(用EtOAc:己烷0-70%梯度洗脱)纯化。将所需的级分浓缩以产生6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯化合物2(724mg,2.137mmol,62.2%产率)。

[0443] LCMS ESI:针对 $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$ 的计算值=321.2(M+H⁺),实测值321.2(M+H⁺)。

[0444] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.31(d,J=8.6Hz,1H),7.18(d,J=8.6Hz,1H),6.54(br s,1H),4.73(s,2H),4.12(br d,J=2.9Hz,2H),3.90(s,3H),3.64(br t,J=5.5Hz,2H),2.62(br dd,J=4.4,2.6Hz,2H),1.49(s,9H)

[0445] 6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯经过类似于关于化合物2的那些步骤进行的多个步骤得到化合物186。

[0446] 实施例19-化合物192和化合物196



[0449] 步骤1,部分1。将4,5-二氟-2-甲氧基苯甲酸甲酯(1.0g,4.95mmol)、哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.013g,5.44mmol)和 K_2CO_3 (1.367g,9.89mmol)在DMF(20mL)中的混合物在90℃下搅拌16h,冷却并且用水淬灭。将反应混合物用EtOAc(3x25mL)萃取。将合并的有机萃取物经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且浓缩。将所得粗材料通过ISCO二氧化硅柱色谱(80g)(用EtOAc-己烷0-80%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生4-(2-氟-5-甲氧基-4-(甲氧基羰基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.31g,3.56mmol,71.9%产率)。

[0450] LCMS ESI:针对 $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{FN}_2\text{O}_5$ 的计算值=369.2(M+H⁺),实测值369.1(M+H⁺)。

[0451] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ 7.57(d,J=13.4Hz,1H),6.48(d,J=7.0Hz,1H),3.88(s,3H),3.85(s,3H),3.65-3.58(m,4H),3.22-3.11(m,4H),1.49(s,9H)。

[0452] 步骤1,部分2。在室温下在N₂下将4-(2-氟-5-甲氧基-4-(甲氧基羰基)苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.3g,3.53mmol)在THF(30mL)中的溶液用LiAlH₄(在THF中的2.0M)(1.764mL,3.53mmol)分批处理。10min后,将反应用罗谢尔盐溶液小心淬灭。在室温下搅拌16h后,分离两层。将有机层经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩以产生4-(2-氟-4-(羟基甲基)-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.20g,3.53mmol,100%产率),其足够纯以用于下一步骤。

[0453] LCMS ESI:针对C₁₇H₂₆N₂O₄的计算值=341.2(M+H⁺),实测值341.2(M+H⁺)。

[0454] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ7.00(d,J=12.3Hz,1H),6.46(d,J=6.8Hz,1H),4.59(br s,2H),3.88-3.82(m,3H),3.69-3.40(m,4H),3.17-2.85(m,4H),1.48(s,9H)。

[0455] 步骤1,部分c。在0℃下将4-(2-氟-4-(羟基甲基)-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1.2g,3.53mmol)在THF(20mL)中的溶液用SOCl₂(0.334mL,4.58mmol)处理。10min后,LCMS仅显示起始材料。然而,NMR指示粗产物是所需的4-(4-(氯甲基)-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物21-1),将其直接进入下一步骤。

[0456] ¹H NMR(400MHz,氯仿-d) δ8.30(d,J=6.4Hz,1H),7.33(d,J=12.5Hz,1H),4.59(s,2H),4.11(br t,J=4.8Hz,4H),3.93(s,3H),3.61(br t,J=5.1Hz,4H),1.50(s,9H)。

[0457] 通过类似于用于制备化合物101的那些的反应(上文实施例5和6),由(3-溴-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯和4-(4-(氯甲基)-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(化合物21-1)制备化合物192。

[0458] LCMS ESI:针对C₂₁H₃₀N₈O的计算值=429.2(M+H⁺),实测值429.1(M+H⁺)。

[0459] ¹H NMR(500MHz,DMSO-d₆) δ9.54-9.23(m,1H),7.97(s,1H),7.87(br s,2H),7.01(br d,J=12.5Hz,1H),6.69(br d,J=7.0Hz,1H),5.41(s,2H),3.82(s,3H),3.26(s,4H),1.68-1.51(m,2H),1.41-1.23(m,2H),0.91(br t,J=7.3Hz,3H)。七个质子不可见,最可能由于水抑制以及与DMSO-d₆峰的重叠。

[0460] 步骤2。在室温下将N7-丁基-1-(5-氟-2-甲氧基-4-(哌嗪-1-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺和TFA(150mg,0.276mmol)在THF(5mL)中的混合物用胡宁氏碱(0.145mL,0.829mmol)处理,然后用2-溴乙酰氯(43.5mg,0.276mmol)逐滴处理。5min后,将反应用水淬灭并且用EtOAc(3x15mL)萃取。将合并的有机萃取物经Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将粗产物通过ISCO二氧化硅柱(12g)(用在DCM中的20% MeOH:DCM 0-60%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生153mg的1-(4-(4-((5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-氯乙-1-酮(化合物21-2)和1-(4-(4-((5-氨基-7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-2-氟-5-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)-2-溴乙-1-酮(化合物21-3)的混合物。

[0461] LCMS ESI(化合物21-2):针对C₂₃H₃₁ClFN₈O₂的计算值=505.2(M+H⁺),实测值505.2(M+H⁺)。

[0462] LCMS ESI(化合物22-3):针对C₂₃H₃₁BrFN₈O₂的计算值=548.2、550.2(M+H⁺),实测值548.2、550.2(M+H⁺)。

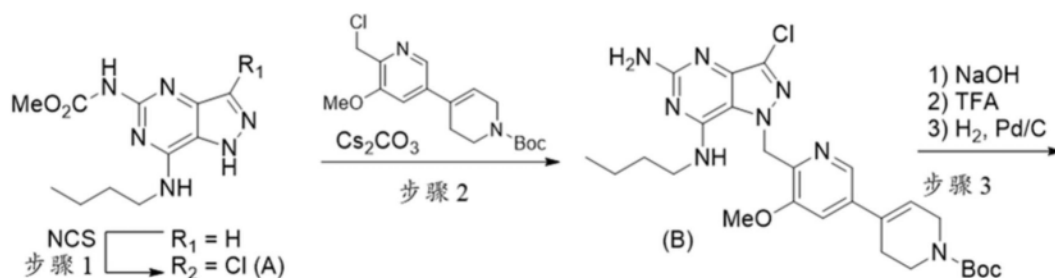
[0463] 步骤3。将化合物21-2和化合物21-3(25mg,)在N,N-二甲基乙酰胺(0.5mL)中的混合物用1-氨基-2-甲基丙-2-醇(44.1mg,0.495mmol)处理。在60℃下搅拌16h后,LCMS指示反应完成。将混合物用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5μm

颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含 NH_4OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含 NH_4OAc);梯度:在8% B下保持0分钟,经20分钟8%-48% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,以产生化合物196(22mg)。

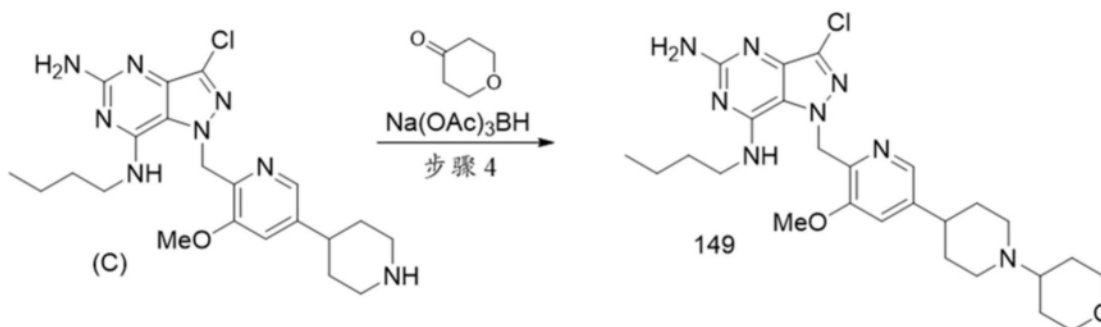
[0464] 类似地制备以下化合物:化合物194、化合物195、化合物197、化合物198和化合物199。

[0465] 使用类似于上文实施例8中用于制备化合物103的程序的程序由化合物192制备化合物193。

[0466] 实施例20-化合物149



[0467]



[0468] 步骤1.在室温下将(7-(丁基氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(500mg,1.892mmol)在DMF(9.5ml)中的悬浮液用N-氯代琥珀酰亚胺(NCS,303mg,2.270mmol)一次性处理。搅拌10min后,将反应混合物用DCM(100mL)稀释,用水(3x75mL)洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,并且过滤。将滤液浓缩。将粗材料通过二氧化硅柱色谱(24g)(用DCM:在DCM中的10% MeOH 0-10%梯度洗脱)纯化。将所需级分浓缩以产生(7-(丁基氨基)-3-氯-2H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(化合物A)(536.8mg,1.80mmol,95%产率)。

[0469] LCMS ESI:针对 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClN}_6\text{O}_2$ 的计算值=299.7(M+H⁺),实测值299.1(M+H⁺)。

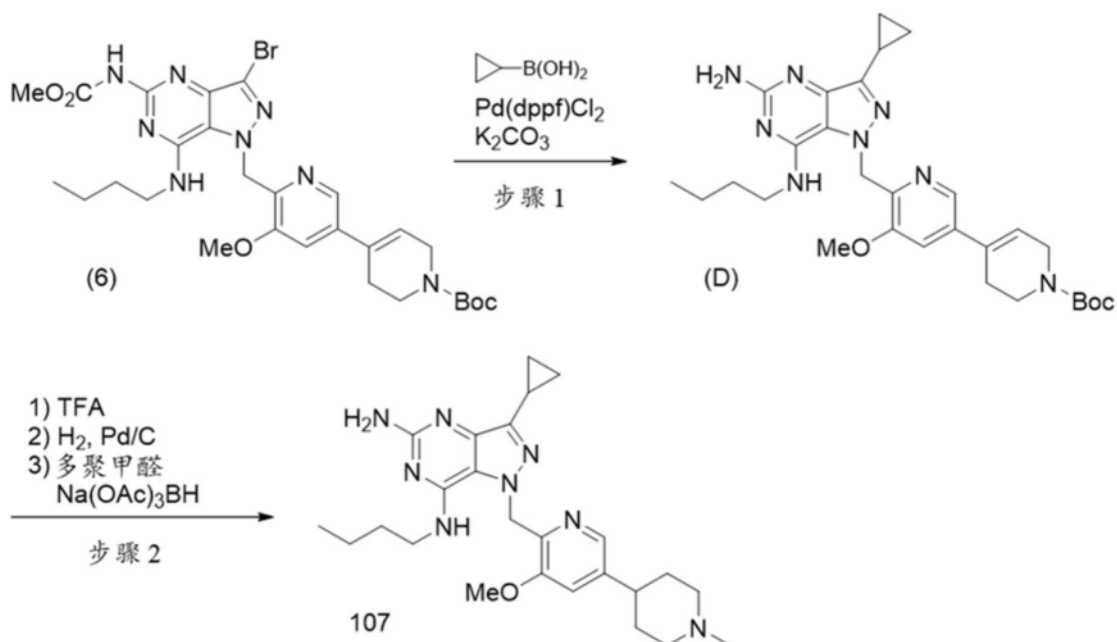
[0470] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 9.81(s,1H),3.62(s,3H),3.54(br d,J=5.7Hz,2H),1.71-1.54(m,2H),1.40(br dd,J=15.0,7.5Hz,2H),0.94(br t,J=7.4Hz,3H)。两个可交换的质子不可见。

[0471] 步骤2.通过类似于用于化合物6的那些的程序由化合物A制备6-((5-氨基-7-(丁基氨基)-3-氯-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(化合物B)。

[0472] LCMS ESI:针对 $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{ClN}_8\text{O}_3$ 的计算值=543.3(M+H⁺),实测值543.2(M+H⁺)

[0473] 步骤3.类似于上文关于由化合物B的程序由化合物B制备N7-丁基-3-氯-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5,7-二胺(化合物C)。

- [0474] LCMS ESI: 针对 $C_{26}H_{30}ClN_8O$ 的计算值=445.2 ($M+H^+$), 实测值445.2 ($M+H^+$)
- [0475] 步骤4. 使用类似于用于化合物121的那些的程序, 由化合物C制备化合物149。
- [0476] 实施例21-化合物107

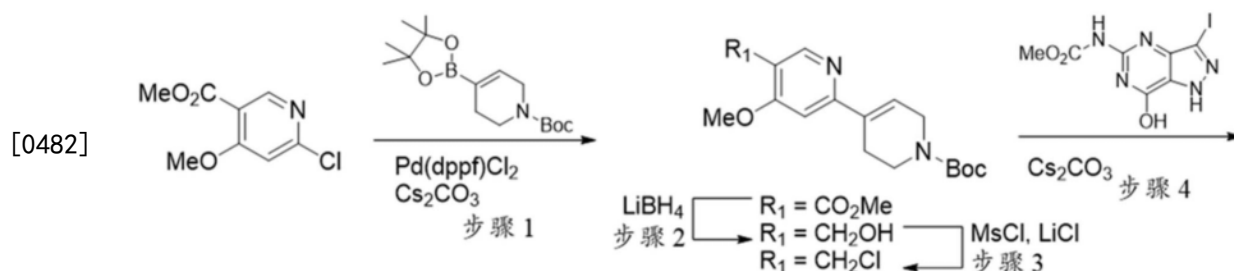


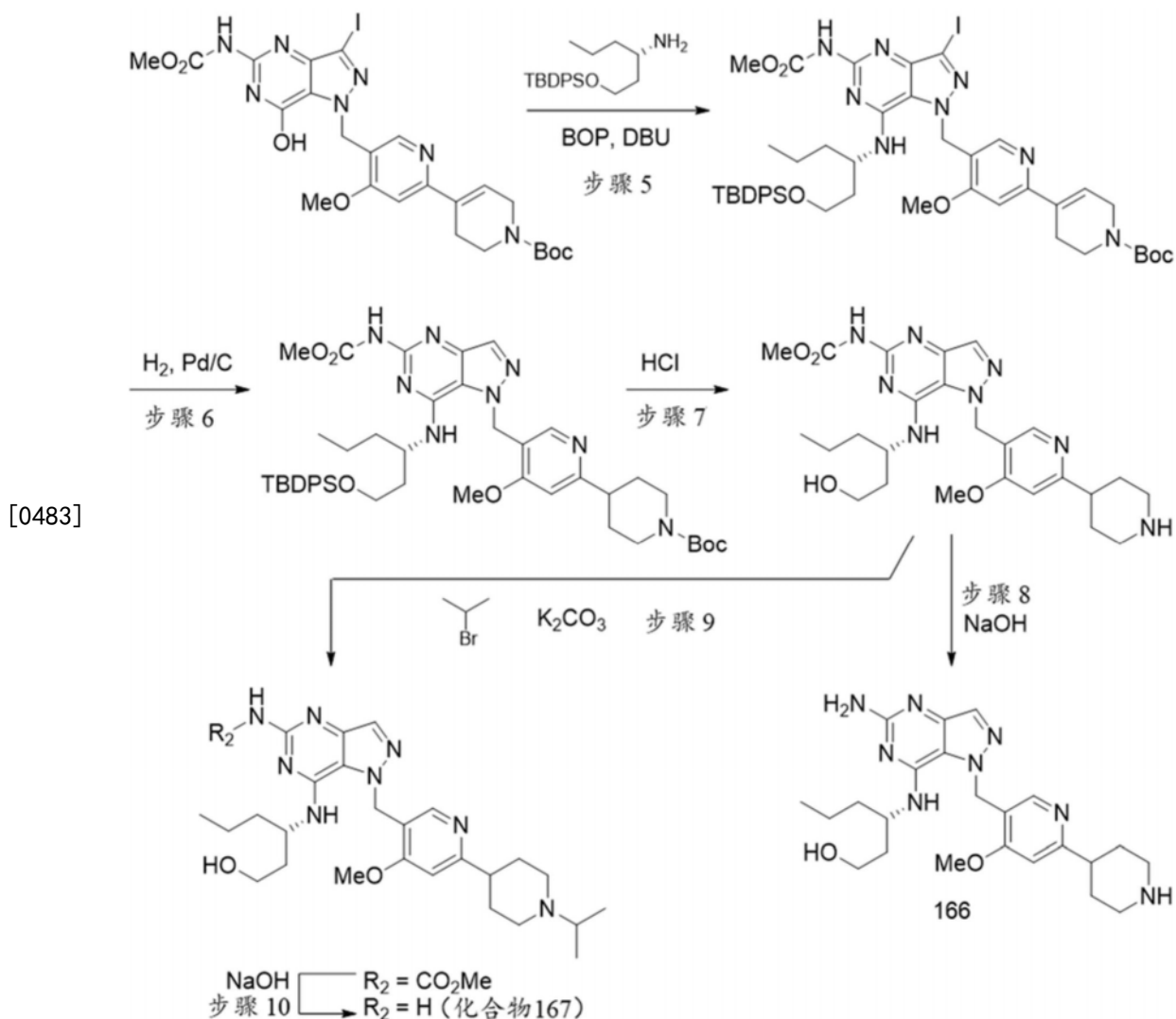
[0478] 步骤1. 将化合物6 (100mg, 0.155mmol)、 K_2CO_3 (74.9mg, 0.542mmol) 和 $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$ 加合物 (12.65mg, 0.015mmol) 在二噁烷 (0.5mL) 和水 (0.1mL) 中的混合物用 N_2 流鼓泡 3min。添加环丙基硼酸 (133mg, 1.549mmol)。将 N_2 流鼓泡另外的 1min。将反应器皿密封并且将反应混合物在 $110^\circ C$ 下搅拌 24。将反应混合物用 EtOAc (15mL) 稀释。将所得固体通过经由 CELITE™ 垫过滤去除。将滤液浓缩。将粗产物通过 ISCO 二氧化硅柱 (12g) 色谱 (用在 DCM 中的 20% MeOH:DCM, 0-30% 梯度洗脱) 纯化。将所需级分浓缩以产生 6-((5-氨基-7-(丁基氨基)-3-环丙基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯 (化合物D) (20mg, 0.036mmol, 23.53% 产率)。

[0479] LCMS ESI: 针对 $C_{29}H_{41}N_8O_3$ 的计算值=549.3 ($M+H^+$), 实测值549.4 ($M+H^+$)。

[0480] 步骤2. 类似于上文关于化合物121采用的合成程序由化合物D制备化合物107。

[0481] 实施例22-化合物166和化合物167





[0484] 步骤1.向6-氯-4-甲氧基烟酸甲酯(4.0g,19.84mmol)在1,4-二噁烷(40.0mL)中的搅拌溶液中添加水(10.0mL)、 Cs_2CO_3 (19.39g,59.5mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(9.20g,29.8mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 加合物(1.620g,1.984mmol),同时用 N_2 吹扫。将反应混合物在100℃下搅拌4h,通过CELITE™过滤并且用EtOAc洗涤。将滤液在减压下浓缩。将粗产物用在石油醚中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化,以提供呈浅棕色油状物的1'-(叔丁基)5-甲基4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',5(2'H)-二甲酸酯(5.19g,14.15mmol,71.3%产率)。

[0485] LC-MS m/z 349.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0486] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ =8.72-8.66(m,1H),7.27-7.18(m,1H),6.94-6.81(m,1H),5.78-5.73(m,1H),4.12-4.05(m,2H),3.95(d, J =3.0Hz,6H),3.80(s,3H),3.57-3.49(m,2H),2.58(br d, J =1.5Hz,2H),1.45-1.41(m,9H),1.09-1.05(m,15H)。

[0487] 步骤2.向1'-(叔丁基)5-甲基4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',5(2'H)-二甲酸酯(1.5g,4.31mmol)在THF(12.0mL)中的搅拌溶液中添加MeOH(3.0mL)、 LiBH_4 (在THF中;5.38mL,10.76mmol)。16h后,将反应混合物用10% NaOH溶液淬灭并且在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水洗涤并且经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色浓稠油状物的5-(羟基甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯

(1.1g, 3.36mmol, 78%产率)。将产物按原样使用。

[0488] LC-MS m/z 321.2 $[M+H]^+$ 。

[0489] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ =8.32 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.67 (br s, 1H), 5.77-5.76 (m, 1H), 5.77 (s, 1H), 5.09 (t, J =5.5Hz, 1H), 4.48 (d, J =5.7Hz, 2H), 4.07-4.02 (m, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.57-3.49 (m, 2H), 2.62-2.54 (m, 2H), 2.01-1.98 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.09-1.05 (m, 3H)。

[0490] 步骤3. 在0℃下, 向5-(羟基甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.2g, 3.75mmol)在DCM(15.0mL)中的搅拌溶液中添加TEA(1.044mL, 7.49mmol)、Ms-Cl(0.584mL, 7.49mmol)和氯化锂(0.318g, 7.49mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌30min并且然后在室温下搅拌4h并且在DCM与水之间分配。将有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供呈棕色油状物的5-(氯甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.3g, 3.68mmol, 98%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0491] LC-MS m/z 339.2 $[M+H]^+$

[0492] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ =8.74-8.65 (m, 1H), 7.58-7.48 (m, 1H), 6.98-6.86 (m, 1H), 5.77-5.74 (m, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.19-4.12 (m, 5H), 3.62-3.54 (m, 2H), 2.67-2.58 (m, 2H), 2.36-2.32 (m, 2H), 1.50-1.48 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.31 (s, 1H)。

[0493] 步骤4. 向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.0g, 2.98mmol)在DMF(10.0mL)中的搅拌溶液中添加 Cs_2CO_3 (1.945g, 5.97mmol)。在0℃下向此混合物中添加在DMF(5.0mL)中的5-(氯甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.011g, 2.98mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1h并且在室温下搅拌1h并且在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将粗产物用在石油醚中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化, 以提供呈浅棕色固体的5-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(718mg, 0.946mmol, 31.7%产率)。

[0494] LC-MS m/z 638.0 $[M+H]^+$

[0495] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ =11.74-11.66 (m, 1H), 11.44-11.36 (m, 1H), 8.06-7.98 (m, 1H), 7.19-7.09 (m, 1H), 6.75-6.63 (m, 1H), 5.74-5.67 (m, 2H), 4.07-4.01 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.78-3.71 (m, 5H), 3.52 (br t, J =5.3Hz, 2H), 2.59-2.53 (m, 2H), 1.42 (s, 13H), 1.07 (s, 1H)。

[0496] 步骤5. 向5-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.5g, 0.784mmol)在DMSO(5.0mL)中的搅拌溶液中添加DBU(0.355mL, 2.353mmol)、BOP(0.520g, 1.177mmol)和(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(0.335g, 0.941mmol)。将反应混合物在45℃下搅拌16h并且在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水洗涤, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且在减压下浓缩。将粗产物用在石油醚中的0%至100%乙酸乙酯的梯度在硅胶上纯化, 以提供呈棕色固体的(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.16g, 0.100mmol, 12.76%产率)。

[0497] LC-MS m/z 975.3 $[M+H]^+$ 。

[0498] ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ =9.77 (s, 1H), 7.83-7.80 (m, 1H), 7.59-7.52 (m, 3H), 7.51-7.44 (m, 3H), 7.42-7.30 (m, 6H), 7.28-7.18 (m, 3H), 7.11-7.08 (m, 1H), 6.70-6.61 (m, 2H), 5.75-5.64 (m, 2H), 4.69-4.60 (m, 1H), 4.05-3.97 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.70-3.59 (m, 4H), 3.57 (s, 3H), 3.50-3.40 (m, 2H), 2.02-1.97 (m, 1H), 1.91-1.78 (m, 3H), 1.46-1.40 (m, 11H), 1.26-1.16 (m, 4H), 0.95-0.88 (m, 12H), 0.84-0.75 (m, 5H)。

[0499] 步骤6.向(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.35g,0.359mmol)在MeOH(5.0mL)中的搅拌溶液中添加Pd-C(0.191g,0.179mmol)。将反应混合物在50℃下在100psi氢气下搅拌16h并且通过CELITE™垫过滤,用甲醇洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈浅棕色固体的(S)-4-(5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.23g,0.208mmol,58.0%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0500] LC-MS m/z 851.5 $[M+H]^+$ 。

[0501] 步骤7.在0℃下向(S)-4-(5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.1g,0.117mmol)在MeOH(2.0mL)中的搅拌溶液中添加HCl(0.2mL,2.304mmol)。将反应混合物在室温下搅拌4h,在减压下浓缩,并且用DCM和乙醚共蒸馏,以提供呈浅棕色固体的(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯HCl(103mg,0.116mmol,99%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0502] LC-MS m/z 513.3 $[M+H]^+$ 。

[0503] 步骤8.向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯HCl(0.1g,0.182mmol)在二噁烷(1.5mL)中的搅拌溶液中添加水(1.5mL)、NaOH(0.073g,1.821mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌4h。分离各层并且将水层用EtOAc萃取。将合并的有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:Waters XBridge C18,150mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH_4OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH_4OAc);梯度:在7% B下保持0min,经20min7%-25% B,然后在100% B下保持5min;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供(16.3mg,0.035mmol,19.49%产率)。

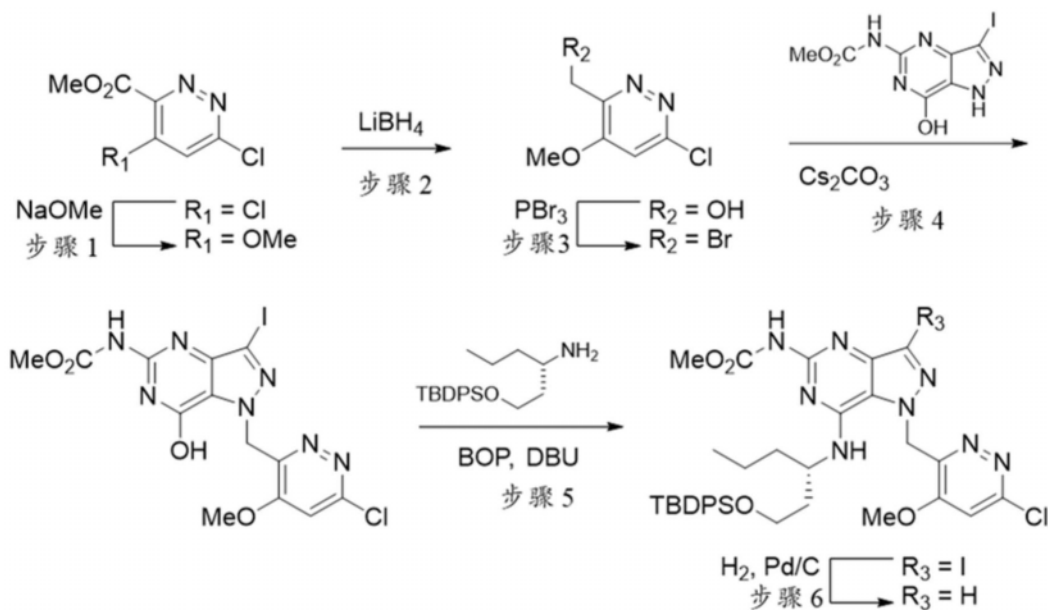
[0504] 步骤9.向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(50.0mg,0.098mmol)在DMF(2.0mL)中的搅拌溶液中添加 K_2CO_3 (40.4mg,0.293mmol)和2-溴丙烷(0.027mL,0.293mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌6h并且在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈浅棕色半固体的(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((6-(1-异丙基哌啶-4-基)-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(60mg,0.089mmol,91%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0505] LC-MS m/z 555.2 $[M+H]^+$ 。

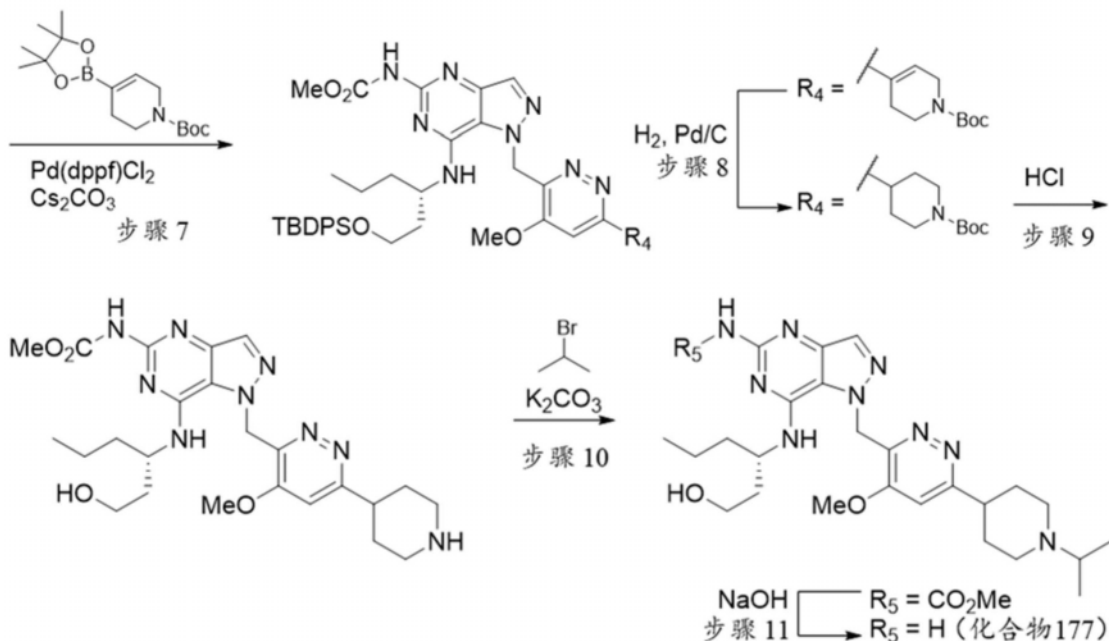
[0506] 步骤10.向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((6-(1-异丙基哌啶-4-基)-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(80.0mg,0.144mmol)在1,4-二噁烷(1.0mL)、水(1.0mL)中的搅拌溶液中添加NaOH(28.8mg,0.721mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌6h。将有机层分离并且在减压下浓缩。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:Waters XBridge C18,19x150mm,5 μ m颗粒;流动相A:10mM NH_4OAc ;流动相B:乙腈;梯度:经22分钟9%-27% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:20mL/min。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物167(14.4mg,0.028mmol,19.70%产率)。

[0507] 类似地制备以下化合物:化合物168、化合物173、化合物174和化合物176。

[0508] 实施例23-化合物177



[0509]



[0510] 步骤1.在0℃下向4,6-二氯哒嗪-3-甲酸甲酯(7g,33.8mmol)在无水THF(70mL)中的搅拌溶液中逐滴添加在甲醇中的25% NaOMe(2.009g,37.2mmol)。去除冰浴。将反应混合物在室温下搅拌16h,用1.5N HCl(40mL)稀释,并且添加到饱和NaHCO₃溶液中。将混合物用DCM萃取。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗产物用在石油醚中的15%乙酸乙酯在硅胶上纯化,以提供呈灰白色固体的6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-甲酸甲酯(3.8g,17.82mmol,52.7%产率)。

[0511] LCMS(ES):m/z=205.1[M+H]⁺。

[0512] 步骤2.在0℃下向6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-甲酸甲酯(4.7g,23.20mmol)在THF(40mL)和甲醇(8mL)的混合物中的搅拌溶液中逐滴添加硼氢化锂(29.0mL,58.0mmol)。去除冰浴。将反应混合物在室温下搅拌2h并且冷却至0℃。逐滴添加冰冷的水。将反应混合物用乙酸乙酯分配,并且将有机层用H₂O、饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色固体的(6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲醇(3.5g,18.04mmol,78%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0513] LCMS(ES):m/z=175.0[M+H]⁺。

[0514] 步骤3.在0℃下向(6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲醇(1g,5.73mmol)在无水DCM(15mL)中的搅拌溶液中添加PBr₃(0.810mL,8.59mmol)。去除冰浴。将反应混合物在室温下搅拌1h并且在饱和NaHCO₃与DCM之间分配。将有机层用H₂O、饱和NaCl洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色固体的3-(溴甲基)-6-氯-4-甲氧基哒嗪(1g,3.37mmol,58.8%产率)。

[0515] LCMS(ES):m/z=238.9[M+H]⁺。

[0516] 步骤4.在0℃下向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.25g,3.73mmol)在无水DMF(25mL)中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(2.431g,7.46mmol)和3-(溴甲基)-6-氯-4-甲氧基哒嗪(0.886g,3.73mmol)。在0℃下搅拌1h后,将反应混合物在水与DCM之间分配。将有机层用H₂O、饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗产物用在氯仿中的5%甲醇在硅胶上纯化,以提供呈棕色固体的(1-((6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.1g,2.014mmol,54.0%产率)。

[0517] LC-MS(ES):m/z=492.0[M+H]⁺。

[0518] 步骤5.在室温下向(1-((6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.1g,2.237mmol)在无水DMSO(8mL)中的搅拌溶液中添加DBU(0.675mL,4.47mmol)、BOP(1.979g,4.47mmol)并且最后添加(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(0.875g,2.461mmol)。将反应混合物加热至45℃持续1h并且在水与乙酸乙酯之间分配。将有机层用H₂O、饱和NaCl洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩。将粗产物用在石油醚中的55%乙酸乙酯在硅胶上纯化,以提供呈淡黄色半固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.1g,1.327mmol,59.3%产率)。

[0519] LCMS(ES):m/z=829.1[M+H]⁺。

[0520] 步骤6.在室温下向(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-

1-((6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(900mg,1.085mmol)在无水乙酸乙酯(25mL)和EtOH(5mL)的混合物中的搅拌溶液中添加Pd/C(866mg,0.814mmol)。将反应混合物在氢气下搅拌16h。将悬浮液通过CELITE™床过滤,将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈淡黄色半固体的(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(650mg,0.739mmol,68.1%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0521] LCMS(ES): $m/z=703.3[M+H]^+$ 。

[0522] 步骤7.在室温下向(S)-(7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基哒嗪-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(650mg,0.924mmol)在无水二噁烷(15mL)和水(0.2mL)中的搅拌溶液中添加4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(572mg,1.848mmol)、Cs₂CO₃(903mg,2.77mmol)和PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂加合物(75mg,0.092mmol)。将反应混合物用氮气吹扫并且加热至100℃。16h后将悬浮液通过CELITE™过滤并且用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩。将粗产物用在石油醚中的35%乙酸乙酯在硅胶上纯化,以提供呈淡黄色固体的(S)-4-(6-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基哒嗪-3-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(380mg,0.358mmol,38.7%产率)。

[0523] LCMS(ES): $m/z=850.4[M+H]^+$ 。

[0524] 步骤8.在室温下向(S)-4-(6-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基哒嗪-3-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(370mg,0.435mmol)在无水甲醇(15mL)中的搅拌溶液中添加Pd/C(232mg,0.218mmol)。将反应混合物在5kPa氢气下在高压釜中加热至50℃。24h后,将悬浮液通过CELITE™垫过滤,将垫用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈淡黄色半固体的(S)-4-(6-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基哒嗪-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(350mg,0.370mmol,85%产率)。将产物不经进一步纯化使用。

[0525] LCMS(ES): $m/z=552.3[M+H]^+$ 。

[0526] 步骤9.在室温下向(S)-4-(6-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基哒嗪-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(70mg,0.082mmol)在甲醇(2mL)中的搅拌溶液中添加HCl(0.5mL,16.46mmol)。4h后,将反应混合物在高真空下浓缩至干,以提供呈棕色半固体的(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)哒嗪-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯HCl(粗品60mg)。将产物不经进一步纯化使用。

[0527] LCMS(ES): $m/z=514.3[M+H]^+$ 。

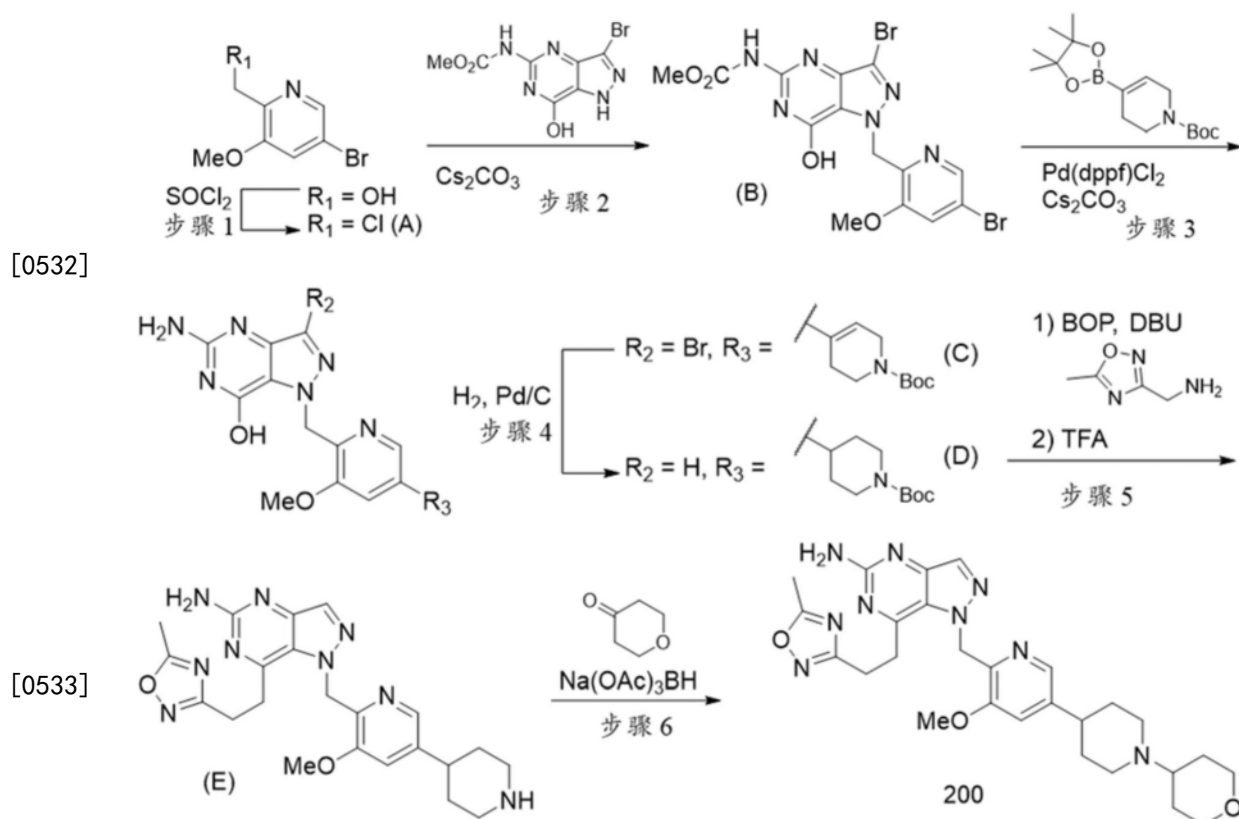
[0528] 步骤10.在室温下向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)哒嗪-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(60mg,0.117mmol)在无水DMF(1mL)中的搅拌溶液中添加K₂CO₃(81mg,0.584mmol)和2-溴丙烷(0.055mL,0.584mmol)。将反应混合物加热至50℃。16h后,将反应混合物在高真空下浓缩至干,以提供

(S) - (7 - ((1 - 羟基己 - 3 - 基) 氨基) - 1 - ((6 - (1 - 异丙基哌啶 - 4 - 基) - 4 - 甲氧基吡嗪 - 3 - 基) 甲基) - 1H - 吡唑并 [4,3-d] 嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯 (60mg)。将产物不经进一步纯化使用。

[0529] LCMS (ES) : $m/z = 556.3 [M+H]^+$ 。

[0530] 步骤11. 向 (S) - (7 - ((1 - 羟基己 - 3 - 基) 氨基) - 1 - ((6 - (1 - 异丙基哌啶 - 4 - 基) - 4 - 甲氧基吡嗪 - 3 - 基) 甲基) - 1H - 吡唑并 [4,3-d] 嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯 (60mg, 0.108mmol) 在二噁烷 (1.5mL) 和水的混合物中的搅拌溶液中添加 NaOH (43.2mg, 1.080mmol)。将反应混合物加热至 75°C。3h 后, 将二噁烷层从反应混合物中分离并且浓缩至干以得到粗产物。将粗材料用以下条件经由制备型 LC/MS 纯化: 柱: Waters XBridge C18, 19x150mm, 5 μ m 颗粒; 流动相 A: 10mM NH_4OAc ; 流动相 B: 乙腈; 梯度: 经 20 分钟 7% - 22% B, 然后在 100% B 下保持 5 分钟; 流速: 20mL/min。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物 177 (12.7mg, 0.025mmol, 24%)。

[0531] 实施例 24 - 化合物 200



[0534] 步骤1. 在 0°C 下将 (5 - 溴 - 3 - 甲氧基吡啶 - 2 - 基) 甲醇 (1g, 4.59mmol) 在 DCM (10mL) 中的混合物用 SOCl_2 (0.669mL, 9.17mmol) 处理。搅拌 2h 后, 将反应混合物浓缩。将过量的 SOCl_2 与 DCM 一起共沸三次去除。将所得化合物 A 直接进入下一步骤。

[0535] LCMS ESI: 针对 $\text{C}_7\text{H}_8\text{BrClNO}$ 的计算值 = 235.9、237.9 ($M+H^+$), 实测值 235.9、237.9 ($M+H^+$)。

[0536] ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 8.27 (d, $J = 1.8\text{Hz}$, 1H), 7.82 (d, $J = 1.8\text{Hz}$, 1H), 4.70 (s, 2H), 3.93 (s, 3H)。

[0537] 步骤2. 使用类似于在实施例 1 中的程序由化合物 A 和 (3 - 溴 - 7 - 羟基 - 2H - 吡唑并 [4,3-d] 嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯制备化合物 B。

[0538] LCMS ESI: 针对 $C_{12}H_{13}Br_2N_6O_4$ 的计算值=488.0 ($M+H^+$), 实测值488.9 ($M+H^+$)。

[0539] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8.10 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.75 (s, 3H)。

[0540] 步骤3. 将化合物B (750mg, 1.537mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1 (2H)-甲酸叔丁酯 (713mg, 2.305mmol) 和 K_2CO_3 (849mg, 6.15mmol) 在DMF (10mL) 中的悬浮液用 N_2 流鼓泡2min。添加 $PdCl_2(dppf)-CH_2Cl_2$ 加合物 (125mg, 0.154mmol)。将反应混合物用 N_2 流鼓泡另外的1min, 然后在 N_2 下在100℃下搅拌16h。冷却后, 将反应混合物用DCM稀释。将催化剂通过经由CELITE™垫过滤去除。将滤液用HOAc中和至pH 6-7并且在旋转蒸发器上浓缩。将粗产物通过二氧化硅柱 (80g) 色谱 (用在DCM中的20% MeOH:DCM, 0-40% 梯度洗脱) 纯化。将所需级分合并并且浓缩。将残余物 (含有DMF) 与水一起研磨并且在室温下搅拌1h。将所得固体通过过滤收集并且风干以产生化合物C (350mg, 0.655mmol, 42.8% 产率)。

[0541] LCMS ESI: 针对 $C_{22}H_{27}BrN_7O_4$ 的计算值=532., 534.1 ($M+H^+$), 实测值532.1, 534.1 ($M+H^+$)。

[0542] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11.23-10.87 (m, 1H), 8.04 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 6.33 (br s, 2H), 6.28 (br s, 1H), 4.01 (br d, $J=2.0$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.52-3.50 (m, 2H), 2.48 (br d, $J=1.8$ Hz, 2H), 1.43 (s, 9H)。

[0543] 步骤4. 将装有化合物C (70mg, 0.131mmol) 在MeOH (10mL) 中的混合物的帕尔摇瓶用 N_2 吹扫。添加Pd-C 10% (13.99mg, 0.131mmol)。将瓶用 H_2 吹扫并且然后在 H_2 (20psi) 下摇动3天。将催化剂通过经由注射器过滤盘过滤去除。将滤液浓缩以产生化合物D (46.4mg, 0.102mmol, 77% 产率)。

[0544] LCMS ESI: 针对 $C_{22}H_{30}N_7O_4$ 的计算值=456.2 ($M+H^+$), 实测值456.2 ($M+H^+$)。

[0545] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10.98-10.76 (m, 1H), 7.84 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.33 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.37-3.32 (m, 4H), 2.74-2.66 (m, 1H), 1.81-1.70 (m, 2H), 1.63-1.53 (m, 2H), 1.42 (s, 9H)。

[0546] 步骤5, 部分1. 向化合物D (45mg, 0.099mmol) 和(5-甲基-1,2,4-噁二唑-3-基) 甲胺盐酸盐 (29.6mg, 0.198mmol) 在DMSO (2mL) 中的溶液中添加DBU (0.074mL, 0.494mmol), 然后添加BOP (87mg, 0.198mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌45min。冷却后, 将反应混合物倒入饱和 NH_4Cl 溶液上并且在室温下搅拌30min。将固体通过过滤收集并且通过二氧化硅柱 (12g) 色谱 (用在DCM中的5% MeOH:DCM=0-25% 洗脱) 纯化。将所需级分浓缩以产生呈灰白色固体的4-(6-((5-氨基-7-(((5-甲基-1,2,4-噁二唑-3-基) 甲基) 氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基) 甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基) 哌啶-1-甲酸叔丁酯 (20mg, 0.036mmol, 36.8% 产率)。

[0547] LCMS ESI: 针对 $C_{26}H_{35}N_{10}O_2$ 的计算值=551.3 ($M+H^+$), 实测值551.3 ($M+H^+$)。

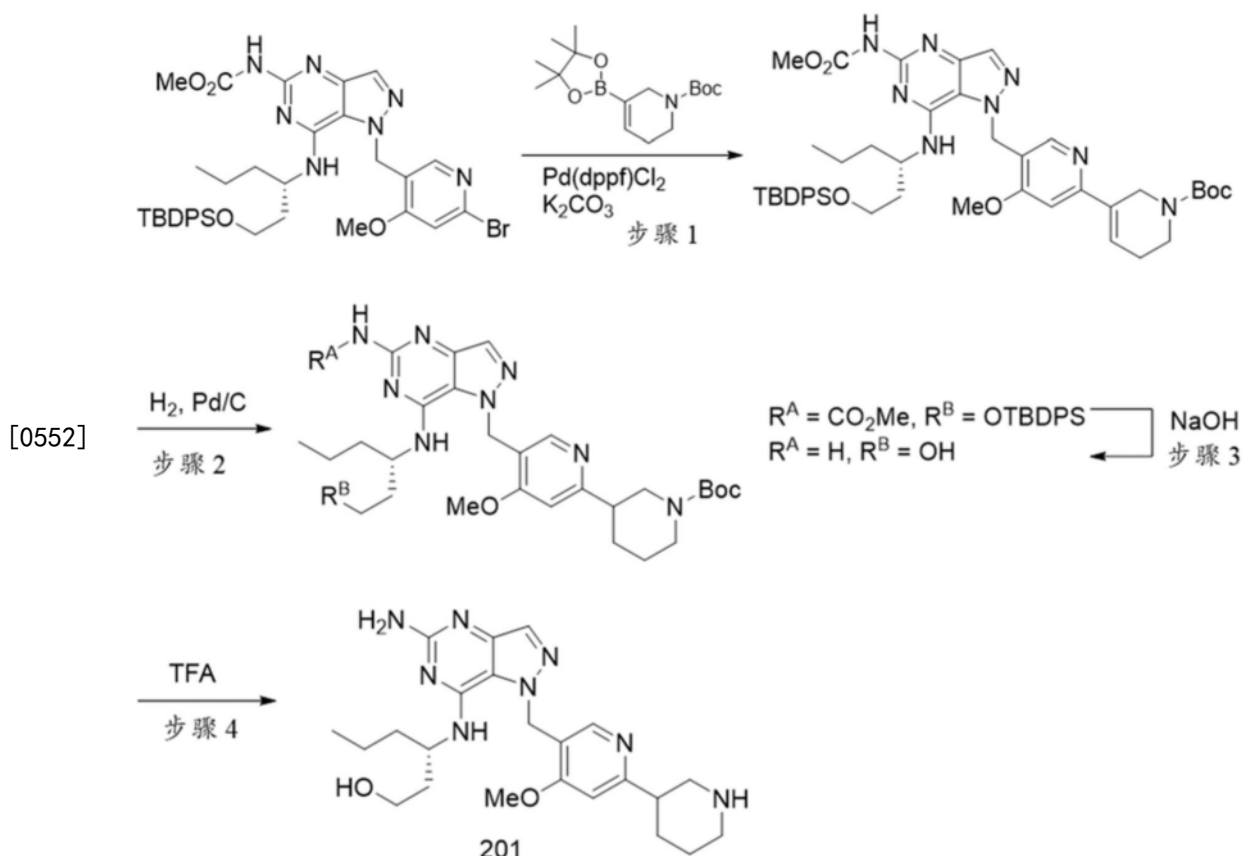
[0548] 步骤5, 部分2. 将上述固体溶解于DCM (0.5mL) 中。添加TFA (0.5mL, 6.49mmol)。在室温下搅拌1h后, 反应完成。将混合物浓缩至干以产生呈TFA盐的化合物E (18mg, 0.032mmol, 32.3% 产率), 将其直接进入下一步骤。

[0549] LCMS ESI: 针对 $C_{21}H_{27}N_{10}O_4$ 的计算值=451.2 ($M+H^+$), 实测值451.3 ($M+H^+$)。

[0550] 步骤6. 类似地按照实施例2的程序, 使用三乙酰氧基硼氢化钠由化合物E和四氢-

4H-吡喃-4-酮制备化合物200。

[0551] 实施例25-化合物201



[0553] 步骤1. 制备(S) - (1 - ((5 - 溴 - 3 - 甲氧基吡啶 - 2 - 基) 甲基) - 7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己 - 3 - 基) 氨基) - 1H - 吡唑并[4,3-d]嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯(130mg, 0.174mmol)、5 - (4,4,5,5 - 四甲基 - 1,3,2 - 二氧杂环戊硼烷 - 2 - 基) - 3,6 - 二氢吡啶 - 1(2H) - 甲酸叔丁酯(108mg, 0.348mmol)、PdCl₂(dppf) (25.5mg, 0.035mmol) 和K₂CO₃ (96mg, 0.696mmol) 在二噁烷(4mL) 和水(300μL) 中的两相混合物。将反应混合物用真空和氮气吹扫3次, 然后加热至80℃持续3h。将反应混合物用乙酸乙酯(50mL) 稀释。将有机层用Na₂SO₄干燥, 过滤并且浓缩。将粗产物用在石油醚中的0%至100%乙酸乙酯在硅胶上纯化, 以提供呈浅棕色固体的(S) - 6' - ((7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己 - 3 - 基) 氨基) - 5 - ((甲氧基羰基) 氨基) - 1H - 吡唑并[4,3-d]嘧啶 - 1 - 基) 甲基) - 5' - 甲氧基 - 5,6 - 二氢 - [3,3' - 联吡啶] - 1(2H) - 甲酸叔丁酯(100mg, 67.7%产率)。

[0554] LC-MS m/z 849.6[M+H]⁺。

[0555] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ9.49-9.41 (m, 1H), 7.96-7.88 (m, 1H), 7.82-7.79 (m, 1H), 7.78-7.72 (m, 1H), 7.63-7.53 (m, 4H), 7.50-7.43 (m, 4H), 7.41-7.35 (m, 1H), 7.35-7.26 (m, 3H), 7.23-7.16 (m, 2H), 6.37-6.28 (m, 1H), 5.79-5.57 (m, 2H), 4.67-4.53 (m, 1H), 4.18-4.11 (m, 2H), 3.95-3.88 (m, 3H), 3.79-3.68 (m, 2H), 3.63-3.56 (m, 3H), 3.45-3.38 (m, 2H), 2.26-2.16 (m, 2H), 2.00-1.84 (m, 2H), 1.67-1.54 (m, 2H), 1.47-1.38 (m, 9H), 1.35-1.27 (m, 2H), 0.94-0.89 (m, 9H)

[0556] 步骤2. 将(S) - 6' - ((7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己 - 3 - 基) 氨基) - 5 - ((甲氧基羰基) 氨基) - 1H - 吡唑并[4,3-d]嘧啶 - 1 - 基) 甲基) - 5' - 甲氧基 - 5,6 - 二氢 - [3,3' -

联吡啶]-1(2H)-甲酸叔丁酯(100mg, 0.118mmol)和Pd/C(50.1mg, 0.024mmol)在MeOH(10mL)中的悬浮液用真空和氮气吹扫三次然后用真空和氢气吹扫三次。然后将其在氢气下搅拌16h。在用氮气吹扫后,将反应混合物通过CELITE™垫过滤并且在减压下蒸发并且在高真空下干燥,以得到3-(6-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯,将其不经进一步纯化按原样使用。

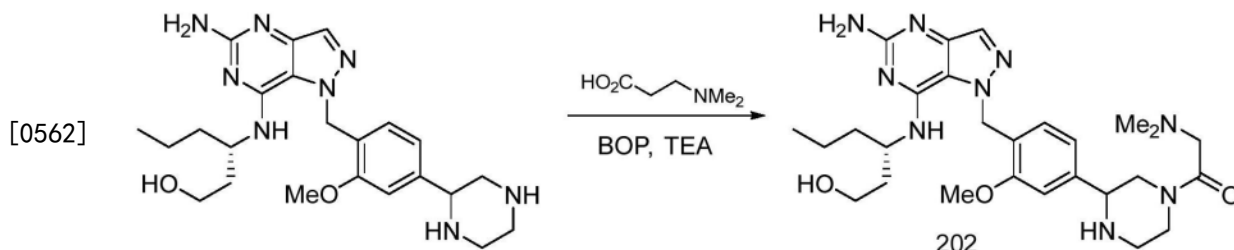
[0557] LC-MS m/z 851.7[M+H]⁺

[0558] 步骤3.将3-(6-((7-((S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(100mg, .118mmol)和NaOH(.15mL, 1.500mmol)在MeOH(1.000mL)和二噁烷(2mL)中的溶液在50℃下加热16h。将反应混合物在乙酸乙酯(50mL)与饱和NH₄Cl(10mL)之间分配。将有机层用Na₂SO₄干燥,过滤并且浓缩。将粗产物用在二氯甲烷中的0%至20%甲醇的梯度在硅胶上纯化,以提供呈浅棕色固体的3-(6-((5-氨基-7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(50mg, 76%产率)。

[0559] LC-MS m/z 555.4[M+H]⁺。

[0560] 步骤4.将3-(6-((5-氨基-7-((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(50mg, 0.090mmol)和TFA(0.069mL, 0.901mmol)在DCM(1mL)中的溶液在室温下搅拌16h。将反应混合物用甲醇2mL稀释并且添加K₂CO₃(276mg, 2mmol)。2h后将反应混合物用甲醇(10mL)稀释,过滤并且在减压下蒸发。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.05% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05% TFA);梯度:在1% B下保持0分钟,经20分钟1%-41% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将材料用以下条件经由制备型LC/MS进一步纯化:柱:XBridge C18, 200mm x 19mm, 5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.05% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05% TFA);梯度:在0%B下保持0分钟,经20分钟0-40% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将第二次洗脱的化合物201的非对映异构体(4.9mg, 23%产率)用以下条件经由SCF分离:柱OD 30X250mm ID, 5μm;流动相:85/15CO₂/MeOH w/0.1% DEA;流速:100mL/min;柱温40℃。

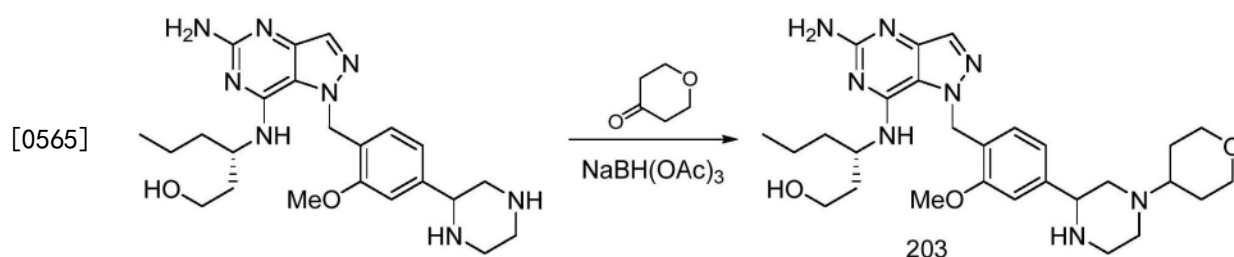
[0561] 实施例26-化合物202



[0563] 向(3S)-3-((5-氨基-1-(2-甲氧基-4-(哌嗪-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧

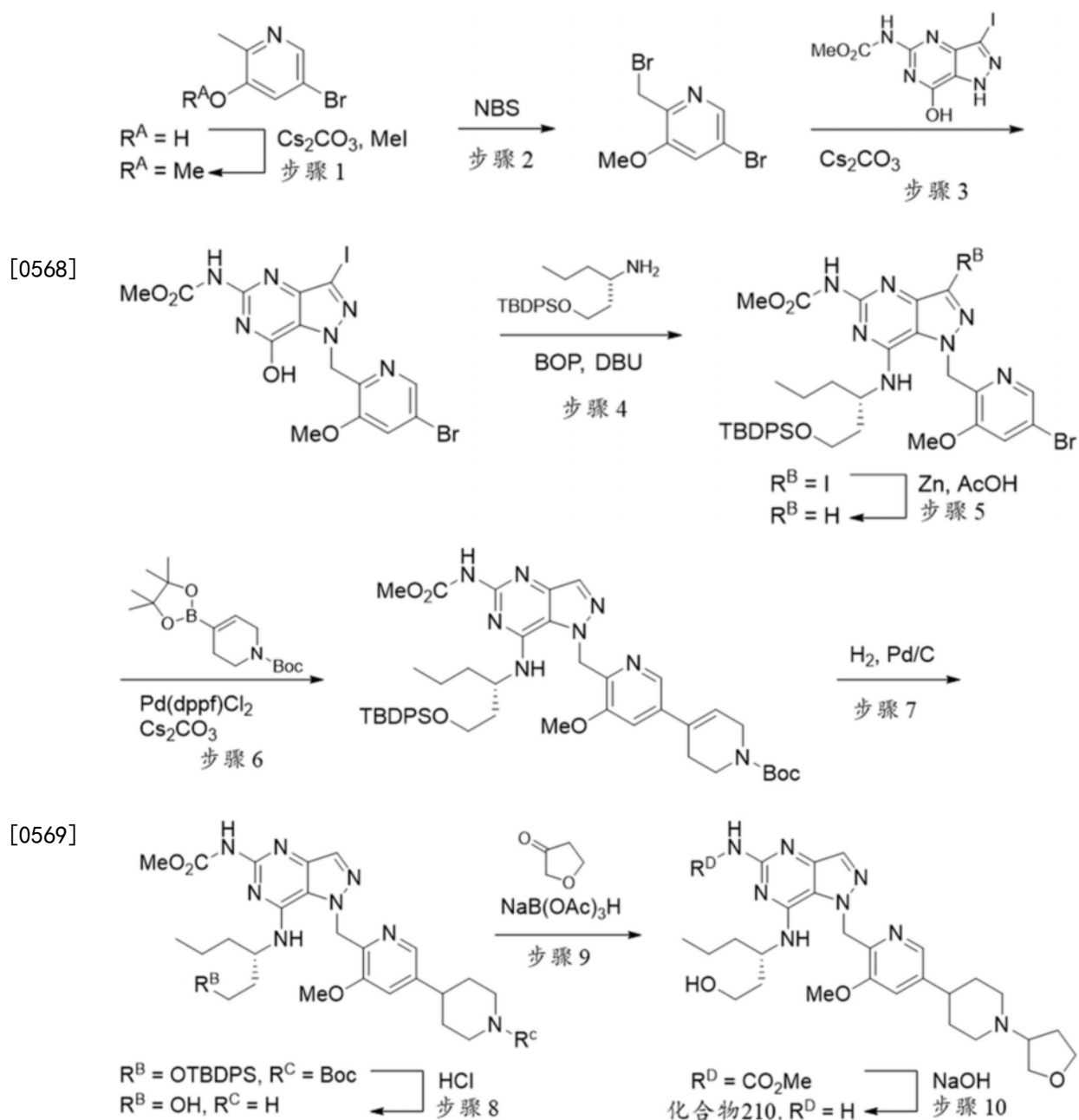
啶-7-基)氨基)己-1-醇(0.107g,0.236mmol)、3-(二甲基氨基)丙酸(0.028g,0.236mmol)和TEA(0.164mL,1.180mmol)在NMP(1mL)中的溶液中添加BOP(0.157g,0.354mmol)。3h后将反应混合物过滤。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.05% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05% TFA);梯度:在1% B下保持0分钟,经20分钟1%-41% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供1-(3-{4-[(5-氨基-7-{[(3S)-1-羟基己-3-基]氨基}-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基]-3-甲氧基苯基}哌嗪-1-基)-3-(二甲基氨基)丙-1-酮(2.2mg,3.6%产率)。关于分析数据,参见表A。

[0564] 实施例27-化合物203



[0566] 向(3S)-3-((5-氨基-1-(2-甲氧基-4-(哌嗪-2-基)苄基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(0.107g,0.236mmol)和四氢-4H-吡喃-4-酮(40mg,0.400mmol)在NMP(1mL)中的溶液中添加15mg分子筛粉末和三乙酰氧基硼氢化钠(0.250g,1.180mmol)。在室温下16h后将反应混合物用DMF:乙酸1:1 1mL稀释。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含NH₄OAc);梯度:在8% B下保持0分钟,经30分钟8%-48% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥。将材料用以下条件经由制备型LC/MS进一步纯化:柱:XBridge C18,200mm x 19mm,5 μ m颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含0.05% TFA);流动相B:95:5乙腈:水(含0.05% TFA);梯度:在0% B下保持0分钟,经30分钟0-40% B,然后在100% B下保持0分钟;流速:20mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C。由MS信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物203(10.1mg,7.8%产率)。

[0567] 实施例28-化合物210



[0570] 步骤1.在室温下向5-溴-2-甲基吡啶-3-醇 (5g, 26.6mmol) 在无水乙腈 (100mL) 中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃ (8.66g, 26.6mmol) 和甲基碘 (4.16mL, 66.5mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物在水与乙酸乙酯之间分配。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供粗产物。将残余物使用CombiFlash (硅胶60-120目; 在石油醚中的25%乙酸乙酯作为洗脱剂) 纯化, 以提供呈灰白色固体的5-溴-3-甲氧基-2-甲基吡啶 (3.5g, 15.59mmol, 58.6%产率)。

[0571] ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ=8.07 (d, J=2.0Hz, 1H), 7.55-7.54 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 2.39 (s, 3H)。

[0572] LCMS (ES): m/z=204.1 [M+H]⁺

[0573] 步骤2.在室温下向5-溴-3-甲氧基-2-甲基吡啶 (7g, 34.6mmol) 在无水CCl₄ (70mL) 中的搅拌溶液中添加NBS (6.47g, 36.4mmol) 和AIBN (1.138g, 6.93mmol)。将反应混合物加热

至65℃并且搅拌16h。将反应混合物在高真空下浓缩至干以提供粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在石油醚中的25%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化,以提供呈淡黄色固体的5-溴-2-(溴甲基)-3-甲氧基吡啶(7.2g,21.78mmol,62.9%产率)。

[0574] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) δ =8.26(d,J=2.0Hz,1H),7.36(d,J=1.5Hz,1H),4.60(s,2H),3.95(s,3H)。

[0575] LCMS(ES):m/z=281.9[M+H]⁺

[0576] 步骤3.在0℃下向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.1g,3.28mmol)在无水DMF(10mL)中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(2.139g,6.57mmol)和5-溴-2-(溴甲基)-3-甲氧基吡啶(0.922g,3.28mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1h。将反应混合物在水与DCM之间分配。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在氯仿中的5%甲醇作为洗脱剂)纯化,以提供呈棕色固体的(1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(450mg,0.757mmol,23.05%产率)。

[0577] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ =11.65(br s,1H),11.33(br s,1H),8.08(d,J=1.5Hz,1H),7.76(d,J=2.0Hz,1H),5.77-5.73(m,2H),3.90(s,3H),3.74(s,3H)。

[0578] LCMS(ES):m/z=537.0[M+H]⁺。

[0579] 步骤4.在室温下向(1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(3g,5.61mmol)在无水DMSO(40mL)中的搅拌溶液中添加BOP(4.96g,11.21mmol)、DBU(1.268mL,8.41mmol)和(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(2.193g,6.17mmol)。将反应混合物加热至40℃并且搅拌4h。将反应混合物冷却至0℃。逐滴添加冰冷的水。将混合物用DCM萃取。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在石油醚中的25%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化,以提供呈淡黄色半固体的(S)-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2.7g,2.63mmol,46.9%产率)。

[0580] ^1H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ =8.02(d,J=1.5Hz,1H),7.73-7.71(m,1H),7.58-7.53(m,2H),7.47-7.43(m,2H),7.37-7.30(m,1H),7.29-7.20(m,3H),7.13-7.06(m,2H),5.64-5.46(m,2H),3.99(s,3H),3.88(d,J=7.5Hz,1H),3.76(s,3H),2.17-2.04(m,1H),1.98-1.82(m,1H),1.75-1.62(m,2H),1.50-1.35(m,3H),1.33-1.27(m,1H),1.00-0.91(m,13H)。

[0581] LCMS(ES):m/z=872.5[M+H]⁺。

[0582] 步骤5.在0℃下向(S)-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(5.5g,6.30mmol)在甲醇(40mL)和乙酸(10mL)的混合物中的搅拌溶液中添加锌粉(4.12g,63.0mmol)。在0℃下搅拌2h后,允许将反应混合物冷却至室温,用水稀释并且用DCM萃取。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色固体的(S)-1-((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(4.7g,5.03mmol,80%产率)。

[0583] ^1H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ =8.02(d,J=2.0Hz,1H),7.85(s,1H),7.59-7.55(m,

2H), 7.48-7.43 (m, 6H), 7.30-7.26 (m, 2H), 7.11-7.10 (m, 1H), 5.70-5.49 (m, 2H), 4.76-4.72 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.14-2.05 (m, 1H), 1.75-1.62 (m, 3H), 1.46-1.39 (m, 3H), 1.05-1.03 (m, 5H), 0.98 (s, 9H)。

[0584] LCMS (ES): $m/z = 748.5 [M+H]^+$ 。

[0585] 步骤6. 在室温下向 (S) - (1 - ((5-溴-3-甲氧基吡啶-2-基) 甲基) - 7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (4.6g, 6.16mmol) 在二噁烷 (50mL) 和水 (1mL) 的混合物中的搅拌溶液中添加 4 - (4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基) - 3,6-二氢吡啶-1 (2H) - 甲酸叔丁酯 (3.05g, 9.86mmol)、PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ 加合物 (0.503g, 0.616mmol) 和 Cs₂CO₃ (6.02g, 18.48mmol)。将反应混合物用氮气吹扫, 加热至 100℃ 并且搅拌 16h。将残余物使用 CombiFlash (硅胶 60-120 目; 在氯仿中的 4% 甲醇作为洗脱剂) 纯化, 以提供呈淡黄色半固体的 (S) - 6 - ((7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) - 5 - ((甲氧基羰基) 氨基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基) 甲基) - 5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1' (2'H) - 甲酸叔丁酯 (4.6g, 4.60mmol, 74.8% 产率)。

[0586] LCMS (ES): $m/z = 849.7 [M+H]^+$

[0587] 步骤7. 在室温下向 (S) - 6 - ((7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) - 5 - ((甲氧基羰基) 氨基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基) 甲基) - 5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1' (2'H) - 甲酸叔丁酯 (4.6g, 5.42mmol) 在无水甲醇 (100mL) 中的搅拌溶液中添加 Pd/C (2.88g, 2.71mmol)。将反应混合物在 5Kg 氢气压力下在高压釜中加热至 50℃ 持续 24h。将黑色悬浮液通过 CELITE™ 床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩, 以提供成棕色半固体的 (S) - 4 - (6 - ((7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) - 5 - ((甲氧基羰基) 氨基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基) 甲基) - 5-甲氧基吡啶-3-基) 哌啶-1-甲酸叔丁酯 (4.1g, 3.85mmol, 71.1% 产率)。

[0588] LCMS (ES): $m/z = 851.4 [M+H]^+$

[0589] 步骤8. 在室温下向 (S) - 4 - (6 - ((7 - ((1 - ((叔丁基二苯基甲硅烷基) 氧基) 己-3-基) 氨基) - 5 - ((甲氧基羰基) 氨基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基) 甲基) - 5-甲氧基吡啶-3-基) 哌啶-1-甲酸叔丁酯 (1g, 1.175mmol) 在甲醇 (10mL) 中的搅拌溶液中添加浓 HCl (0.357mL, 11.75mmol)。搅拌 4h 后, 将反应混合物在高真空下浓缩至干以得到粗产物。将粗产物与乙醚一起研磨并且然后将醚倾析。将所得残余物干燥以提供呈棕色固体的 (S) - (7 - ((1-羟基己-3-基) 氨基) - 1 - ((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基) 吡啶-2-基) 甲基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (550mg, 0.858mmol, 73.1% 产率)。

[0590] LCMS (ES): $m/z = 513.4 [M+H]^+$

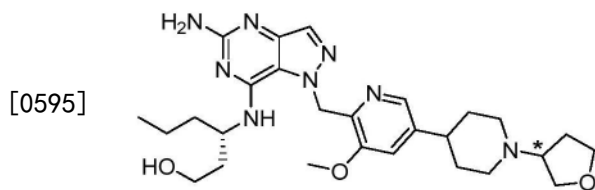
[0591] 步骤9. 在室温下, 向 (S) - (7 - ((1-羟基己-3-基) 氨基) - 1 - ((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基) 吡啶-2-基) 甲基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (250mg, 0.488mmol) 在无水 DCE (5mL) 中的搅拌溶液中添加二氢呋喃-3 (2H) - 酮 (126mg, 1.463mmol)。搅拌 30min 后, 在室温下添加三乙酰氧基硼氢化钠 (517mg, 2.438mmol) 并且搅拌 16h。将反应混合物在饱和 NaHCO₃ 溶液与 DCM 之间分配。将有机层用 H₂O 和饱和 NaCl 溶液洗涤, 经无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供粗 (7 - ((S) - 1-羟基己-3-基) 氨基) - 1 - ((3-甲氧基-5-(1-(四氢呋喃-3-基) 哌啶-4-基) 吡啶-2-基) 甲基) - 1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯

(350mg), 将其按原样用于下一反应。

[0592] LCMS (ES) : $m/z = 583.4 [M+H]^+$ 。

[0593] 步骤10在室温下向 (7-(((S)-1-羟基己-3-基)氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1-(四氢呋喃-3-基)哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (350mg, 0.601mmol) 在二噁烷 (5mL) 和水 (2mL) 的混合物中的搅拌溶液中添加 NaOH (240mg, 6.01mmol)。将反应混合物加热至 75°C 并且搅拌 3h。将有机层从反应混合物中分离并且浓缩至干以得到残余物。将粗化合物用以下条件经由制备型 LC/MS 纯化: 柱: Waters XBridge Phenyl C18, 19x250mm, 5 μ m 颗粒; 流动相 A: 在水中的 10mM 碳酸氢铵 pH 9.5; 流动相 B: 乙腈; 梯度: 经 15 分钟 20% - 59% B; 流速: 19mL/min。将反应混合物在 RP HPLC (使用 NH₄OAc 作为缓冲液) 中纯化。将制备级分在 30°C 下在高真空下浓缩。将残余物溶解于 MeCN 和水的混合物中, 冷冻并且冻干 12h, 以提供呈白色固体的非对映异构的化合物 210 (65mg, 0.124mmol, 20.63% 产率)。

[0594] 使用手性 SFC 方法 (柱: Chiralpak IG (250x4.6) mm, 5 μ m, 流动相: 在 CH₃CN 中的 0.2% DEA+异丙醇 (1:1), 温度: 30°C), 使非对映异构的化合物 210 经受手性分离以获得单独的非对映异构体。第一个异构体 (在 7.51min 处洗脱) 是化合物 211。第二个异构体 (在 13.37min 处洗脱) 是化合物 212。因此化合物 211 和 212 是在星号 (*) 碳处的立体化学方面不同的对映异构体。



[0596] 实施例 29-化合物 213



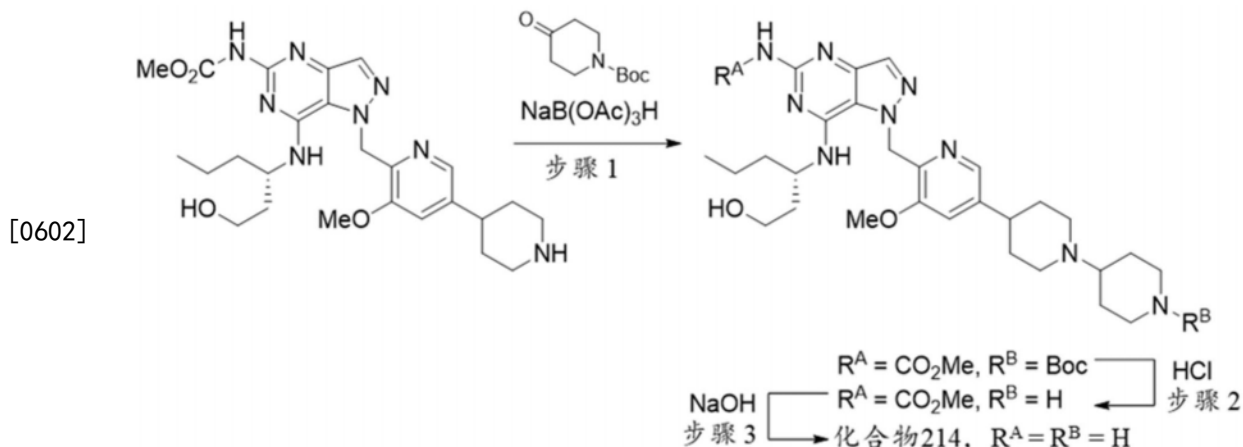
[0598] 步骤 1. 在室温下, 向 (S) - (7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (100mg, 0.195mmol) 在 DCE (2.5mL) 中的搅拌溶液中添加 1-甲基哌啶-4-酮 (44.2mg, 0.390mmol) 和三乙酰氧基硼氢化钠 (124mg, 0.585mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌 16h。将悬浮液通过 CELITE™ 床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩以提供呈棕色半固体的粗 (S) - (7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1'-甲基-[1,4'-联哌啶]-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯 (130mg), 将其按原样用于下一反应。

[0599] LCMS (ES) $m/z = 611.3 [M+H]^+$

[0600] 步骤 2. 在室温下向 (S) - (7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1'-甲基-

[1,4'-联哌啶]-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(130mg,0.213mmol)在二噁烷(2mL)和水(1mL)的混合物中的搅拌溶液中添加NaOH(85mg,2.132mmol)。将反应混合物加热至75℃并且搅拌3h。将二噁烷层从反应混合物中分离并且然后浓缩至干以提供粗产物。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:Waters XBridge C18,19x150mm,5μm颗粒;流动相A:10mM NH₄OAc;流动相B:乙腈;梯度:经20分钟10%-35% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:15mL/min。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物213(6.9mg,0.013mmol,5.87%产率)。

[0601] 实施例30-化合物214



[0603] 步骤1.在室温下向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.195mmol)在DCE(2.5mL)中的搅拌溶液中添加4-氧代哌啶-1-甲酸叔丁酯(78mg,0.390mmol)和三乙酰氧基硼氢化钠(124mg,0.585mmol)。将反应混合物搅拌16h。将悬浮液通过CELITE™床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈棕色半固体的粗(S)-4-(6-((7-((1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)-[1,4'-联哌啶]-1'-甲酸叔丁酯(150mg),将其按原样用于下一反应。

[0604] LCMS(ES)m/z=696.4[M+H]⁺

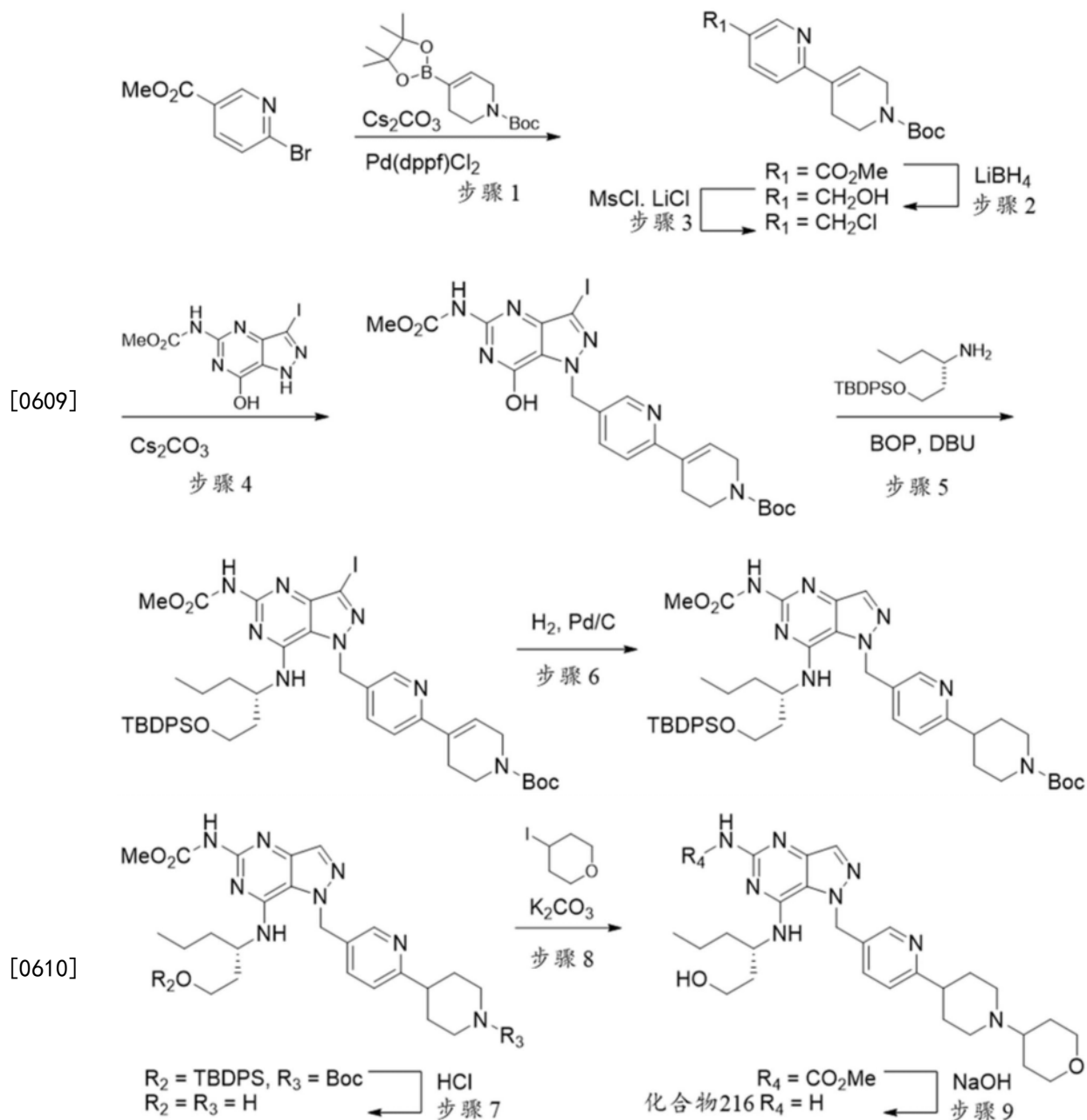
[0605] 步骤2.在室温下向(S)-4-(6-((7-((1-羟基己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)-[1,4'-联哌啶]-1'-甲酸叔丁酯(150mg,0.216mmol)在无水DCM(2mL)中的搅拌溶液中逐滴添加在二噁烷中的4M HCl(2.5mL,10.00mmol)。搅拌1h后,将反应混合物在高真空下浓缩至干,以提供粗(S)-(1-((5-([1,4'-联哌啶]-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(130mg),将其按原样用于下一反应。

[0606] LCMS(ES)m/z=596.4[M+H]⁺。

[0607] 步骤3.在室温下向(S)-(1-((5-([1,4'-联哌啶]-4-基)-3-甲氧基吡啶-2-基)甲基)-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(130mg,0.218mmol)在二噁烷(2mL)和水(1mL)的混合物中的搅拌溶液中添加NaOH(87mg,2.182mmol)。将反应混合物加热至75℃并且搅拌4h。将二噁烷层从反应混合物中分离并且浓缩至干以提供粗产物。将粗材料用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:Waters XBridge

C18, 19x150mm, 5 μ m颗粒;流动相A:10mM NH_4OAc ;流动相B:乙腈;梯度:经20分钟10%-40% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:15mL/min。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物214 (5.6mg, 9.89 μ mol, 4.53%产率)。

[0608] 实施例31-化合物216



[0611] 步骤1.向6-溴烟酸甲酯(5g, 23.14mmol)在1,4-二噁烷(100mL)中的搅拌溶液中添加4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(10.73g, 34.7mmol)、 Cs_2CO_3 (15.08g, 46.3mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 加合物(1.890g, 2.314mmol)。将混合物用 N_2 气吹扫。在100 $^\circ\text{C}$ 下搅拌5h后,将反应混合物在乙酸乙酯与冰冷的水之间分配。将有机层用水和盐水洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥并且在45 $^\circ\text{C}$ 下在真空中浓缩。将粗产物通过CombiFlash色谱(60-120硅胶;在石油醚中的20%-60%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化,以提供呈浅黄色油状物的1'-(叔丁基)5-甲基3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',5

(2'H)-二甲酸酯(4.6g,14.45mmol,62.4%产率)。

[0612] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta=9.16$ (s,1H),8.25(d,J=8.6Hz,1H),7.45(d,J=8.5Hz,1H),6.81-6.78(m,1H),4.18(br d,J=3.0Hz,2H),3.96(s,3H),3.69-3.65(m,2H),2.67(br d,J=2.0Hz,2H),1.50(s,9H)。

[0613] LCMS(ES)m/z=319.2[M+H]⁺

[0614] 步骤2.在氮气气氛下向1'-(叔丁基)-5-甲基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',5(2'H)-二甲酸酯(4g,12.56mmol)在THF(50mL)和MeOH(10mL)的混合物中的溶液中添加LiBH₄(31.4mL,62.8mmol)并且然后在氯化铵溶液与EtOAc之间分配。将有机层用水和盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并且浓缩,以得到呈棕色油状物的粗产物,将其通过CombiFlash色谱(60-120硅胶;在石油醚中的10%-100%乙酸乙酯)纯化,以提供呈浅黄色油状物的5-(羟基甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.6g,12.40mmol,99%产率)。

[0615] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) $\delta=8.47$ (d,J=2.0Hz,1H),7.70(dd,J=2.0,8.0Hz,1H),7.53(d,J=8.5Hz,1H),6.66(br s,1H),5.30(t,J=5.5Hz,1H),4.52(d,J=5.5Hz,2H),4.10-3.99(m,2H),3.54(t,J=5.8Hz,2H),2.58-2.52(m,2H),1.43(s,9H)。

[0616] LCMS(ES)m/z=291.3[M+H]⁺

[0617] 步骤3.在0℃下向5-(羟基甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.5g,12.05mmol)在干DCM(30mL)中的搅拌溶液中添加TEA(3.36mL,24.11mmol)、MsCl(1.878mL,24.11mmol)和氯化锂(1.022g,24.11mmol)。允许将反应混合物冷却至室温并且搅拌16h。将反应混合物在乙酸乙酯与水之间分配。将有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并且在真空中浓缩,以得到粗产物,将其通过CombiFlash色谱(60-120硅胶;在石油醚中的10%-30%乙酸乙酯)纯化,以提供呈白色固体的5-(氯甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.7g,11.98mmol,99%产率)。

[0618] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta=8.58$ (d,J=2.0Hz,1H),7.72(dd,J=2.3,8.3Hz,1H),7.41(d,J=8.0Hz,1H),6.66(td,J=1.6,3.4Hz,1H),4.61(s,2H),4.16(br d,J=3.0Hz,2H),3.67(br t,J=5.5Hz,2H),2.70-2.63(m,2H),1.58(s,9H)。

[0619] LCMS(ES)m/z=309.2[M+H]⁺。

[0620] 步骤4.在室温下向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(3.8g,11.34mmol)在干DMF(20mL)中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃(7.39g,22.68mmol)和5-(氯甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.50g,11.34mmol)。搅拌12h后,将反应混合物在乙酸乙酯与冰冷的水之间分配。将有机层用水和盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥并且在真空中浓缩。将粗产物通过CombiFlash色谱(60-120硅胶;在CHCl₃中的20%-60%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化,以提供呈灰白色固体的5-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.5g,2.470mmol,21.77%产率)。

[0621] ^1H NMR(400MHz,DMSO-d₆) $\delta=11.72$ (br s,1H),11.36(br s,1H),8.50(d,J=1.5Hz,1H),7.65(d,J=7.9Hz,1H),7.53(d,J=8.0Hz,1H),6.70-6.62(m,1H),5.79-5.70(m,2H),4.07-3.98(m,2H),3.75(s,3H),3.52(t,J=5.8Hz,2H),2.56-2.53(m,2H),1.48(s,1H),1.42(s,9H)。

[0622] LCMS(ES):m/z=608.2[M+H]⁺。

[0623] 步骤5.在室温下向5-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.50g,2.470mmol)在无水DMSO(15mL)中的搅拌溶液中添加DBU(1.117mL,7.41mmol)、BOP(1.638g,3.70mmol)和(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(0.878g,2.470mmol)。将反应混合物加热至45℃,搅拌4h,并且在水与乙酸乙酯之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在真空下浓缩,以得到呈浅黄色油状物的粗产物。将粗产物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在氯仿中的25%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化。将级分在50℃下使用高真空浓缩,以提供呈黄色固体的(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3',6'-二氢[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.900g,0.867mmol,35.1%产率)。

[0624] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ=8.24(d,J=2.0Hz,1H),7.62-7.58(m,3H),7.51-7.48(m,2H),7.34(br d,J=7.0Hz,4H),7.15-7.08(m,3H),6.42(br s,1H),5.93-5.78(m,2H),4.65(br dd,J=4.0,8.0Hz,1H),4.01(q,J=7.0Hz,1H),3.89(br s,2H),3.55(s,3H),3.46-3.39(m,1H),3.35(t,J=5.8Hz,2H),2.30(br s,2H),1.77(br d,J=4.5Hz,2H),1.62-1.52(m,2H),1.39(s,9H),1.16(t,J=7.0Hz,3H)。

[0625] LCMS(ES)m/z=945.2[M+H]⁺

[0626] 步骤6.在室温下向(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(930mg,0.984mmol)在无水甲醇(25mL)中的搅拌溶液中添加Pd/C(524mg,0.492mmol)。将反应混合物在5Kg氢气压力下在高压釜中加热至50℃持续24h。将黑色悬浮液通过CELITE™床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈淡黄色半固体的(S)-4-(5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(800mg,0.779mmol,79%产率)。

[0627] LCMS(ES):m/z=821.5[M+H]⁺

[0628] 步骤7.在室温下向(S)-4-(5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(200mg,0.244mmol)在甲醇(2mL)中的搅拌溶液中添加浓HCl(4mL,132mmol)。搅拌3h后,将反应混合物在高真空下浓缩至干以提供粗产物。将粗产物与乙醚一起研磨并且将醚层倾析。将残余物干燥,以提供呈棕色固体的(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(170mg,假定100%产率)。

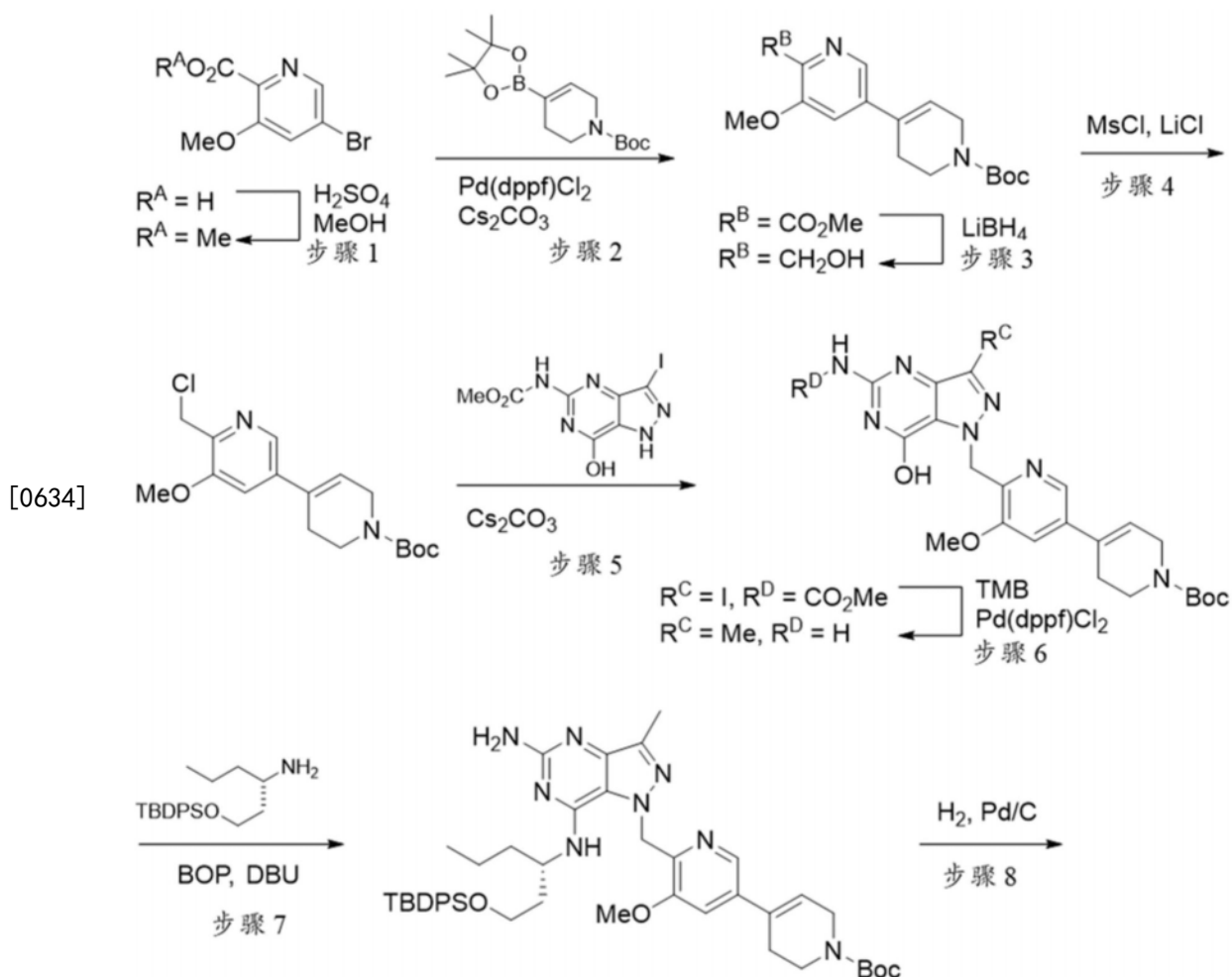
[0629] LCMS(ES)m/z=483.3[M+H]⁺

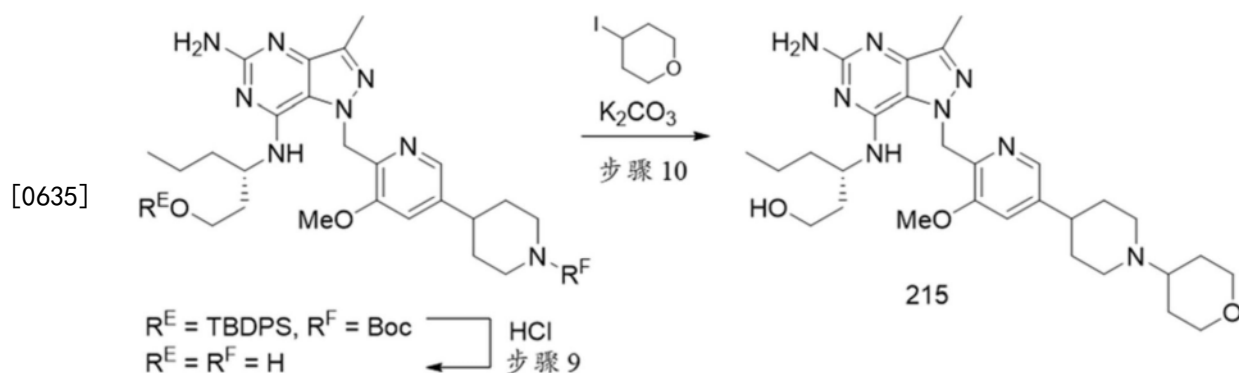
[0630] 步骤8.在室温下向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(130mg,0.269mmol)在无水DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加K₂CO₃(112mg,0.808mmol)和4-碘四氢-2H-吡喃(86mg,0.404mmol)。将反应混合物加热至55℃,搅拌24h,并且在高真空下浓缩至干,以提供粗(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((6-(1-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(160mg),将其按原样用于下一反应。

[0631] LC-MS (ES) $m/z = 567.3 [M+H]^+$

[0632] 步骤9. 在室温下向(S) - (7 - ((1 - 羟基己 - 3 - 基) 氨基) - 1 - ((6 - (1 - (四氢 - 2H - 吡喃 - 4 - 基) 哌啶 - 4 - 基) 吡啶 - 3 - 基) 甲基) - 1H - 吡唑并[4,3-d]嘧啶 - 5 - 基) 氨基甲酸甲酯 (160mg, 0.282mmol) 在二噁烷 (2mL) 和水 (1mL) 的混合物中的搅拌溶液中添加NaOH (113mg, 2.82mmol)。将反应混合物加热至70℃并且搅拌3h。将有机层从反应混合物中分离并且浓缩至干以提供粗产物。将残余物通过反相制备型LC/MS (柱: Waters XBridge C18, 19x150mm, 5 μ m颗粒; 流动相A: 10mM NH_4OAc ; 流动相B: 乙腈; 梯度: 经20分钟10% - 45% B, 然后在100% B下保持5分钟; 流速: 15mL/min) 纯化。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且使用Genevac经由离心蒸发干燥, 以提供化合物216 (20.7mg, 0.040mmol, 14.05% 产率)。

[0633] 实施例32-化合物215





[0636] 步骤1.在室温下向5-溴-3-甲氧基吡啶甲酸(10g,43.1mmol)在无水甲醇(100mL)中的搅拌溶液中添加 H_2SO_4 (2.297mL,43.1mmol)。将反应混合物加热至70℃,搅拌16h,并且在高真空下浓缩至干,以提供粗产物。将残余物在饱和 NaHCO_3 溶液与DCM之间分配。将有机层用 H_2O 和饱和NaCl溶液洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈淡黄色油状物的5-溴-3-甲氧基吡啶甲酸甲酯(10.1g,41.0mmol,95%产率)。

[0637] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta=8.35(\text{d}, J=1.8\text{Hz}, 1\text{H}), 7.53(\text{d}, J=1.8\text{Hz}, 1\text{H}), 3.98(\text{s}, 3\text{H}), 3.95(\text{s}, 3\text{H})$ 。

[0638] LCMS(ES): $m/z=246.0[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0639] 步骤2.在室温下向5-溴-3-甲氧基吡啶甲酸甲酯(5g,20.32mmol)在二噁烷(75mL)和水(1mL)的混合物中的搅拌溶液中添加4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(10.05g,32.5mmol)、 Cs_2CO_3 (19.86g,61.0mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 加合物(1.659g,2.032mmol)。将反应混合物用氮气吹扫,加热至100℃并且搅拌16h。将黑色悬浮液通过CELITE™床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈棕色半固体的粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在石油醚中的35%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化,以提供呈棕色半固体的1'-(叔丁基)6-甲基5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1',6(2'H)-二甲酸酯(4.4g,12.63mmol,62.2%产率)。

[0640] ^1H NMR(400MHz,氯仿-d) $\delta=8.33(\text{s}, 1\text{H}), 6.23(\text{br s}, 1\text{H}), 4.17-4.14(\text{m}, 2\text{H}), 4.00(\text{s}, 3\text{H}), 3.97(\text{s}, 3\text{H}), 3.70(\text{t}, J=5.5\text{Hz}, 2\text{H}), 2.59-2.55(\text{m}, 2\text{H}), 1.52-1.52(\text{m}, 9\text{H})$ 。

[0641] LCMS(ES): $m/z=349.3[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0642] 步骤3.在0℃下向1'-(叔丁基)6-甲基5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1',6(2'H)-二甲酸酯(3.7g,10.62mmol)在THF(40mL)和甲醇(5mL)的混合物中的搅拌溶液中添加在THF中的2M LiBH_4 (21.24mL,42.5mmol)。去除冰浴并且将反应混合物在室温下搅拌6h并且然后冷却至0℃。逐滴添加冰冷的水。将混合物用DCM萃取。将有机层用 H_2O 和饱和NaCl溶液洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色固体的6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.1g,8.22mmol,77%产率)。

[0643] ^1H NMR(400MHz,DMSO- d_6) $\delta=8.18(\text{d}, J=1.0\text{Hz}, 1\text{H}), 7.40(\text{d}, J=1.0\text{Hz}, 1\text{H}), 6.32-6.25(\text{m}, 1\text{H}), 4.80(\text{t}, J=5.8\text{Hz}, 1\text{H}), 4.52(\text{d}, J=6.0\text{Hz}, 2\text{H}), 4.03(\text{br s}, 2\text{H}), 3.86(\text{s}, 3\text{H}), 3.56(\text{t}, J=5.5\text{Hz}, 2\text{H}), 1.46-1.42(\text{m}, 11\text{H})$ 。

[0644] LCMS(ES): $m/z=321.0[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0645] 步骤4.在室温下向6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.8g,8.74mmol)在无水DCM(40mL)中的搅拌溶液中添加TEA(3.65mL,

26.2mmol)和甲磺酰氯(1.362mL,17.48mmol)。在室温下搅拌5min后,添加氯化锂(0.741g,17.48mmol)。搅拌16h后,将反应混合物在饱和NaHCO₃溶液与DCM之间分配。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色半固体的6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.2g,8.03mmol,92%产率)。

[0646] ¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ=8.23-8.21(m,1H),7.64(s,1H),6.38-6.33(m,1H),4.77-4.75(m,2H),4.20(s,2H),4.02(s,3H),3.71-3.67(m,2H),2.64-2.58(m,2H),2.60(br s,2H),1.51(s,9H)。

[0647] LCMS(ES):m/z=339.2[M+H]⁺

[0648] 步骤5.向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(2.7g,8.06mmol)在DMF(30mL)的混合物中的搅拌溶液在0℃下添加Cs₂CO₃(5.25g,16.12mmol)和6-(溴甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.09g,8.06mmol)。去除冰浴并且将反应混合物在室温下搅拌16h并且然后在水与DCM之间分配。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以得到粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在氯仿中的5%甲醇作为洗脱剂)纯化,以提供呈棕色固体的6-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.95g,2.294mmol,28.5%产率)。

[0649] ¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δ=8.03(s,1H),7.44(s,1H),6.27-6.20(m,1H),5.91-5.88(m,2H),4.20(s,2H),4.10(br s,3H),3.93(s,3H),3.69-3.64(m,2H),2.58-2.52(m,2H),1.31(s,9H)。

[0650] LCMS(ES):m/z=638.2[M+H]⁺。

[0651] 步骤6.在室温下向6-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.8g,2.82mmol)在二噁烷(50mL)和水(0.1mL)的混合物中的搅拌溶液中添加K₂CO₃(1.171g,8.47mmol)、PdCl₂(dppf)-CH₂Cl₂加合物(0.231g,0.282mmol)和2,4,6-三甲基-1,3,5,2,4,6-三氧杂三硼杂环己烷(1.974mL,14.12mmol)。将反应混合物用氮气吹扫,加热至100℃,并且搅拌16h。将黑色悬浮液通过CELITETM床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈半固体的粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在氯仿中的3%甲醇作为洗脱剂)纯化,以提供呈淡黄色半固体的6-((5-氨基-7-羟基-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(550mg,0.765mmol,27.1%产率)。

[0652] ¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ=10.85-10.76(m,1H),8.02(s,1H),7.42(br s,1H),6.26(br s,1H),6.03-5.98(m,2H),4.01(br s,2H),3.89(s,3H),3.54(br t,J=5.5Hz,2H),2.18(s,3H),1.43(s,9H),1.28-1.21(m,2H)。

[0653] LCMS(ES):m/z=468.2[M+H]⁺

[0654] 步骤7.在室温下向6-((5-氨基-7-羟基-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(450mg,0.963mmol)在无水DMSO(3mL)中的搅拌溶液中添加BOP(851mg,1.925mmol)、DBU(0.290mL,1.925mmol)和

(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(376mg, 1.059mmol)。将反应混合物加热至40℃并且搅拌3h。允许将反应混合物冷却至室温并且用水稀释并且用DCM萃取。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供粗产物。将残余物使用CombiFlash(硅胶60-120目;在氯仿中的3%甲醇作为洗脱剂)纯化,以提供呈淡黄色半固体的(S)-6-((5-氨基-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(800mg, 0.894mmol, 93%产率)。

[0655] ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ=7.96 (s, 1H), 7.59 (d, J=7.0Hz, 2H), 7.48-7.40 (m, 7H), 7.32-7.26 (m, 2H), 6.10 (br d, J=2.5Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.73-4.65 (m, 1H), 4.18-4.09 (m, 2H), 4.01 (br s, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.86-3.78 (m, 2H), 1.72-1.67 (m, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.33 (br d, J=7.5Hz, 5H), 1.07-1.01 (m, 4H), 0.99 (s, 9H)。

[0656] LCMS (ES): m/z=805.4 [M+H]⁺。

[0657] 步骤8.向(S)-6-((5-氨基-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(800mg, 0.994mmol)在无水甲醇(20mL)中的搅拌溶液中添加Pd/C(529mg, 0.497mmol)。将反应混合物在50℃下在5kg氢气压力下搅拌16h。将黑色悬浮液通过CELITE™床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈淡黄色半固体的(S)-4-(6-((5-氨基-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(700mg, 0.867mmol, 87%产率),将其按原样用于下一反应。

[0658] LCMS (ES): m/z=807.4 [M+H]⁺

[0659] 步骤9.在室温下向(S)-4-(6-((5-氨基-7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(700mg, 0.867mmol)在甲醇(2mL)中的搅拌溶液中添加浓HCl(5mL, 165mmol)。搅拌4h后,将反应混合物在高真空下浓缩至干以提供粗产物。将粗产物与乙醚一起研磨并且然后将醚倾析。将残余物干燥以提供呈棕色半固体的(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(500mg)。

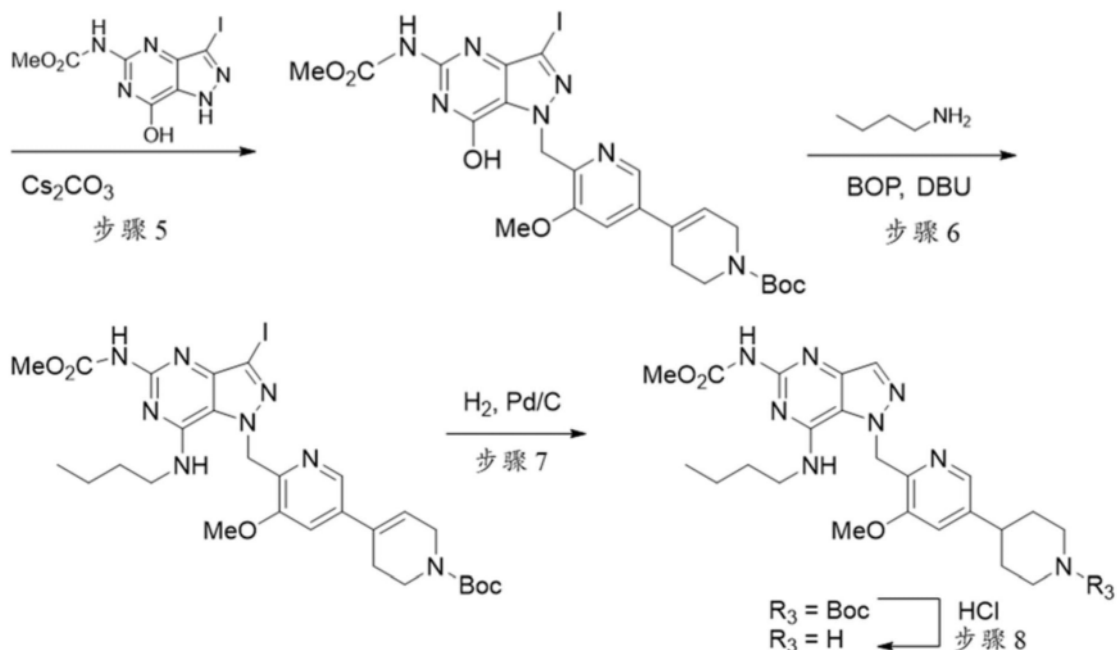
[0660] LCMS (ES): m/z=469.4 [M+H]⁺

[0661] 步骤10.在室温下向(S)-3-((5-氨基-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(80mg, 0.171mmol)在无水DMF(1mL)中的搅拌溶液中添加K₂CO₃(70.8mg, 0.512mmol)和4-碘四氢-2H-吡喃(181mg, 0.854mmol)。将反应混合物加热至50℃并且搅拌16h。将反应混合物在水与乙酸乙酯之间分配。将有机层用H₂O和饱和NaCl溶液洗涤,经无水Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供粗产物。将残余物通过反相制备型LC/MS(柱:Waters XBridge C18, 19x150mm, 5μm颗粒;流动相A:10mM NH₄OAc;流动相B:乙腈;梯度:经20分钟10%-45%B,然后在100%B下保持5分钟;流速:15mL/min)纯化。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且使用Genevac经由离心蒸发干燥,以提供化合物215(8.1mg, 0.014mmol, 8.17%产率)。

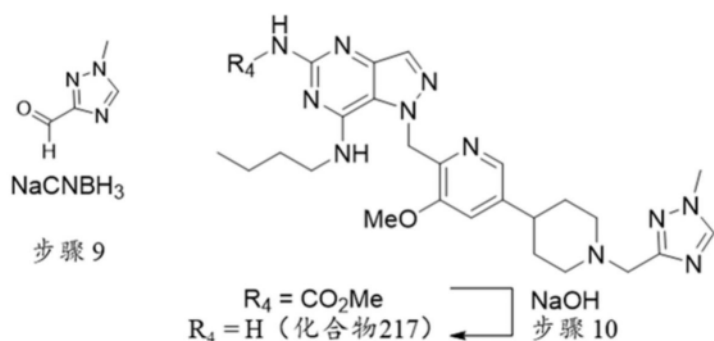
[0662] 实施例33-化合物217



[0663]



[0664]



[0665] 步骤1:向5-溴-3-甲氧基吡啶甲酸(10g,43.1mmol)在干甲醇(180mL)中的溶液中缓慢添加硫酸(18.38mL,345mmol)。将反应混合物在回流下搅拌16h。停止加热并且允许将反应混合物冷却至室温。将甲醇蒸发成残余物,将残余物溶解于DCM(200mL)中并且用饱和 NaHCO_3 水溶液(2x100mL)洗涤。将有机层经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且蒸发至干,以提供呈无色油状物的粗5-溴-3-甲氧基吡啶甲酸甲酯(9.8g,39.8mmol,92%产率),将其不经进一步纯化进入下一步骤。

[0666] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ =8.36(d, J =2.0Hz,1H),7.54(d, J =1.5Hz,1H),3.99(s,3H),3.96(s,3H)。

[0667] LC-MS m/z 247.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0668] 步骤2.向5-溴-3-甲氧基吡啶甲酸甲酯(4g,16.26mmol)在1,4-二噁烷(90mL)和

H₂O (10mL) 中的搅拌溶液中添加4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(10.05g, 32.5mmol) 和Cs₂CO₃ (13.24g, 40.6mmol), 然后添加四(三苯基膦) 钯(0) (1.879g, 1.626mmol)。将反应混合物用氩气吹扫约5分钟并且然后在100℃下搅拌6h。允许将反应混合物缓慢冷却至室温并且然后通过CELITE™床过滤。将滤液蒸发以得到粗产物, 将其通过快速柱色谱(SiO₂, 在氯仿中的0-2%甲醇) 纯化, 以提供呈淡黄色油状物的1'-(叔丁基)-6-甲基-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1',6(2'H)-二甲酸酯(4.5g, 12.92mmol, 79%产率)。

[0669] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ=8.30-8.25 (m, 1H), 7.60-7.58 (m, 1H), 6.50-6.34 (m, 1H), 4.09-4.00 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.61-3.53 (m, 2H), 2.58-2.53 (m, 2H), 1.44 (s, 9H)。

[0670] LC-MS m/z 348.2[M+H]⁺。

[0671] 步骤3. 在0℃下向1'-(叔丁基)-6-甲基-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1',6(2'H)-二甲酸酯(5g, 14.35mmol) 在THF (90mL) 和甲醇(10mL) 中的搅拌溶液中, 逐滴小心地添加硼氢化锂在THF中的2M溶液(35.9mL, 71.8mmol)。一旦添加完成, 允许使反应混合物达到室温并且在45℃下搅拌6h。将碎冰添加到反应混合物中, 然后添加乙酸乙酯。出现白色沉淀物。将澄清液体倾析并且蒸发, 以产生呈淡黄色油状物的6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(4.3g, 13.43mmol, 94%产率)。

[0672] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ=8.18 (d, J=1.0Hz, 1H), 7.40 (d, J=1.0Hz, 1H), 6.32-6.25 (m, 1H), 4.80 (t, J=5.8Hz, 1H), 4.52 (d, J=6.0Hz, 2H), 4.03 (br s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.56 (t, J=5.5Hz, 2H), 1.46-1.42 (m, 11H)。

[0673] LC-MS m/z 321.4[M+H]⁺。

[0674] 步骤4. 在0℃下向6-(羟基甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(4.3g, 13.42mmol) 在DCM (30mL) 中的溶液中依次添加甲磺酰氯(2.092mL, 26.8mmol)、三乙胺(3.74mL, 26.8mmol) 和氯化锂(1.138g, 26.8mmol)。将反应混合物搅拌4h并且允许缓慢达到室温。添加碎冰。将反应混合物用DCM(2x150mL) 萃取。将合并的有机层经Na₂SO₄干燥并且在旋转蒸发器上蒸发, 保持水浴温度低于35℃, 以获得呈黄色油状物的6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.3g, 9.74mmol, 72.6%产率)。

[0675] ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ=8.23-8.21 (m, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.38-6.33 (m, 1H), 4.20 (s, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.71-3.67 (m, 2H), 2.64-2.58 (m, 2H), 2.60 (br s, 2H), 1.51 (s, 9H)。

[0676] LC-MS m/z 339.4[M+H]⁺。

[0677] 步骤5. 在0℃下向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(3.2g, 9.55mmol) 在DMF (20mL) 中的搅拌溶液中添加6-(氯甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.24g, 9.55mmol), 然后添加Cs₂CO₃ (6.22g, 19.10mmol)。允许使反应混合物缓慢达到25℃并且将其在相同温度下搅拌6h。添加碎冰后, 将反应混合物用DCM(2x100mL) 萃取。将合并的有机层经Na₂SO₄干燥并且蒸发, 以产生粗产物, 将其通过快速柱色谱(SiO₂, 在氯仿中的0-5%甲醇) 纯化, 以提供呈淡棕色半固体的6-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-

3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(3.5g,5.49mmol,57.5%产率)。

[0678] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ =8.03 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.27-6.20 (m, 1H), 5.91-5.88 (m, 2H), 4.20 (s, 2H), 4.10 (br s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.69-3.64 (m, 2H), 2.58-2.52 (m, 2H), 1.31 (s, 9H)。

[0679] LC-MS m/z 638.2[M+H] $^+$ 。

[0680] 步骤6.在25℃下向6-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2g, 3.14mmol)和丁-1-胺(1.639mL,15.69mmol)在THF(5mL)中的混合物中添加BOP(2.082g, 4.71mmol)和DBU(1.419mL,9.41mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌12h。添加碎冰。然后将反应混合物用DCM(2x50mL)萃取。将合并的有机层经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且蒸发,以得到残余物,将其通过快速柱色谱(SiO_2 ,在氯仿中的0-5%甲醇)纯化,以产生呈黄色油状物的6-((5-氨基-7-(丁基氨基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.5g,2.166mmol,69.0%产率)。

[0681] LC-MS m/z 693.4[M+H] $^+$ 。

[0682] 步骤7.向6-((7-(丁基氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基-3',6'-二氢-[3,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.5g, 3.61mmol)在甲醇(100mL)中的悬浮液中加入干钨碳(0.384g,3.61mmol)。在压力为10巴的氢气气氛下在50℃下将反应混合物在高压釜中搅拌18h。将反应混合物通过CELITETM床过滤并且将滤液蒸发,以得到残余物,将其通过快速柱色谱(SiO_2 ,在氯仿中的0-5%甲醇)纯化,以产生呈无色油状物的4-(6-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.5g, 2.64mmol,73.1%产率)。

[0683] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) δ =11.63 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.97-7.95 (m, 1H), 7.52-7.42 (m, 1H), 5.84 (s, 2H), 4.14-4.03 (m, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.68-3.61 (m, 2H), 2.74-2.65 (m, 2H), 2.39-2.30 (m, 2H), 1.73-1.70 (m, 1H), 1.67-1.61 (m, 2H), 1.61-1.54 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.37-1.30 (m, 2H), 0.94-0.89 (m, 3H)。

[0684] LC-MS m/z 569.5[M+H] $^+$ 。

[0685] 步骤8.向4-(6-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-5-甲氧基吡啶-3-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.5g,2.64mmol)在THF(15mL)中的搅拌溶液中添加在1,4-二噁烷中的4N盐酸(6.59mL,26.4mmol)。将反应混合物在室温下搅拌6h。将溶剂蒸发以提供残余物,将其用乙醚(2x30mL)洗涤。将残余物溶解于甲醇中并且添加固体 Na_2CO_3 (1g)。搅拌30分钟后,将悬浮液通过CELITETM垫过滤。将滤液蒸发以产生呈淡棕色固体的(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(400mg,0.854mmol,32.4%产率)。

[0686] LC-MS m/z 469.4[M+H] $^+$ 。

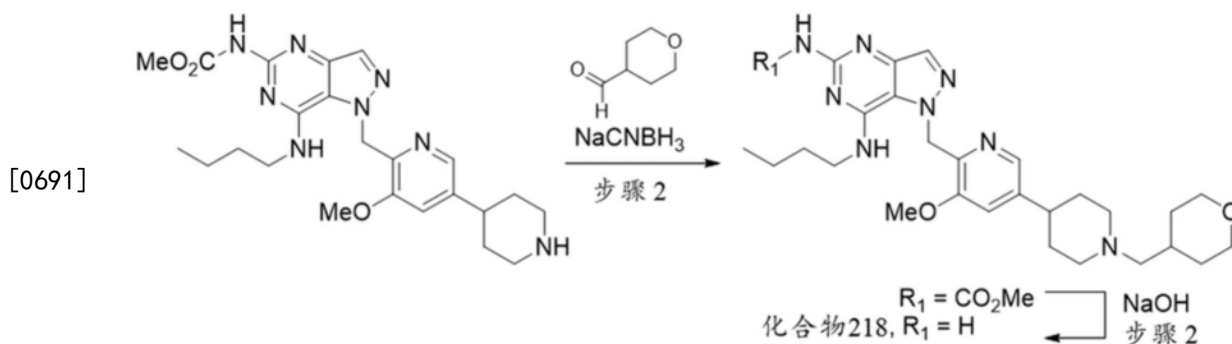
[0687] 步骤9.向(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.213mmol)和1-甲基-1H-1,2,4-三唑-3-甲醛(47.4mg,0.427mmol)在DMF(1mL)和THF(1mL)中的搅拌溶液中添加乙酸(2.444 μL , 0.043mmol)。将反应混合物在室温下搅拌12h,之后添加 NaCNBH_3 (40.2mg,0.64mmol)。将反

应混合物搅拌1.5h后,添加碎冰。将反应混合物用DCM (2x15mL) 萃取。将合并的有机层经 Na_2SO_4 干燥并且蒸发,以得到呈灰白色固体的(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1-((1-甲基-1H-1,2,4-三唑-3-基)甲基)哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.177mmol,83%产率)。

[0688] LC-MS m/z 564.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0689] 步骤10.向(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1-((1-甲基-1H-1,2,4-三唑-3-基)甲基)哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.177mmol)在1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加NaOH(0.355mL,0.887mmol)在水中的溶液并且将反应混合物在75℃下搅拌4h。将反应混合物缓慢冷却至室温。将分离的上层取出并且蒸发以得到残余物,将其用以下条件经由制备型LC/MS纯化:柱:Waters XBridge C18,19x150mm,5 μm 颗粒;流动相A:10mM NH_4OAc ;流动相B:乙腈;梯度:经22分钟12%-37% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:20mL/min。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥,以产生化合物217(26.1mg,5.16mmol,28%)。

[0690] 实施例34-化合物218

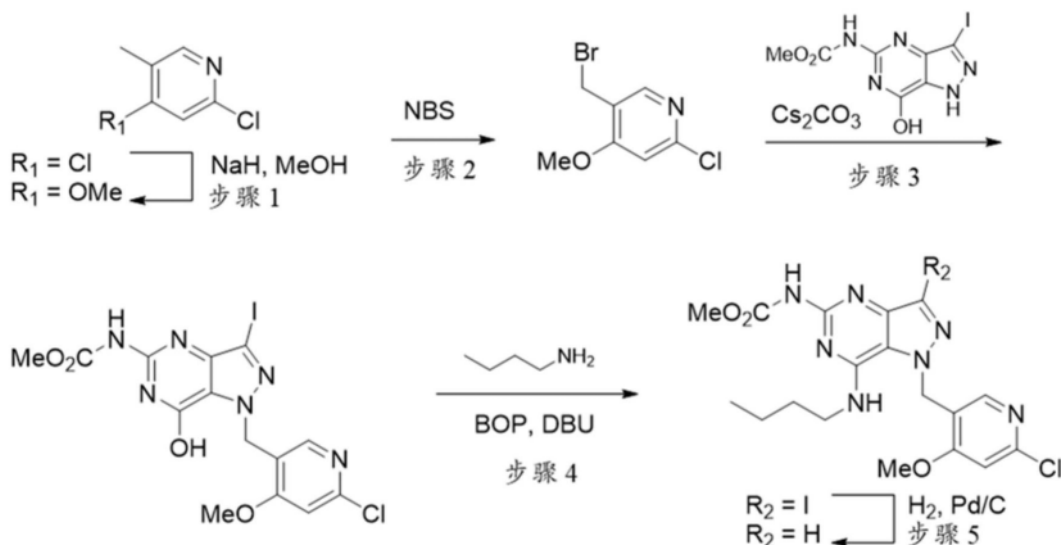


[0692] 步骤1.向(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.213mmol)和四氢-2H-吡喃-4-甲醛(48.7mg,0.427mmol)在DMF(1mL)和THF(1mL)中的搅拌溶液中添加乙酸(2.444 μL ,0.043mmol)。将反应混合物在室温下搅拌12h,之后添加 NaCNBH_3 (40.2mg,0.64mmol)。搅拌1.5h后,添加碎冰。将反应混合物用DCM(15x2mL)萃取。将合并的有机层经 Na_2SO_4 干燥并且蒸发,以产生(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1-((四氢-2H-吡喃-4-基)甲基)哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.176mmol,83%产率)。

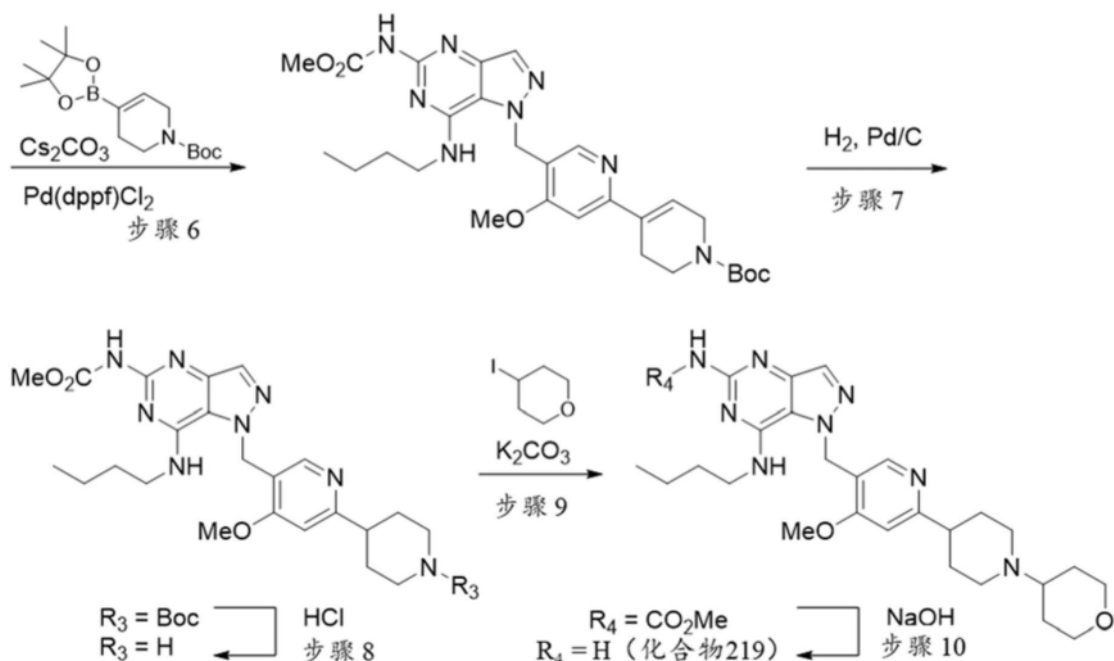
[0693] LC-MS m/z 567.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0694] 步骤2.向(7-(丁基氨基)-1-((3-甲氧基-5-(1-((四氢-2H-吡喃-4-基)甲基)哌啶-4-基)吡啶-2-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(100mg,0.176mmol)在1,4-二噁烷(2mL)中的搅拌溶液中添加NaOH(0.353mL,0.882mmol)并且将反应混合物在75℃下搅拌4h。将反应混合物缓慢冷却至室温。将分离的上层取出并且蒸发以得到残余物,将其经由制备型LC/MS(柱:Waters XBridge C18,19x150mm,5 μm 颗粒;流动相A:10mM NH_4OAc ;流动相B:乙腈;梯度:经20分钟10%-35% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:20mL/min)纯化。将含有所需产物的级分合并并且经由离心蒸发干燥以提供化合物218(7.4mg,1.4mmol,8.2%)。

[0695] 实施例35-化合物219



[0696]



[0697] 步骤1. 在0℃下向氢化钠(2.96g, 74.1mmol)在DMF(30.0mL)和乙醚(30.0mL)中的搅拌溶液中添加甲醇(3.25mL, 80mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌20分钟。在相同温度下向此混合物中添加在乙醚(30.0mL)中的2,4-二氯-5-甲基吡啶(7.58mL, 61.7mmol)。将反应混合物在0℃至室温下搅拌1h并且然后在室温下搅拌16h。将反应混合物用冰冷的水淬灭并且将它在乙酸乙酯与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供残余物, 将其与乙醚和石油醚一起研磨。将固体在真空下干燥, 以提供呈浅棕色固体的2-氯-4-甲氧基-5-甲基吡啶(10.4g, 60.7mmol, 98%产率)。

[0698] ^1H NMR (300MHz, DMSO-d_6) δ =8.10-7.95 (m, 1H) , 7.12-7.02 (m, 1H) , 3.90 (s, 3H) , 2.12-2.03 (m, 3H) 。

[0699] LC-MS m/z 158.0 $[M+H]^+$.

[0700] 步骤2.向2-氯-4-甲氧基-5-甲基吡啶(5.0g,31.7mmol)在CCl₄(50.0mL)中的搅拌

溶液中添加NBS (6.78g, 38.1mmol) 和AIBN (1.042g, 6.35mmol)。将反应混合物在60℃下搅拌18h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且用CCl₄洗涤。将滤液在减压下浓缩至干以提供残余物。将粗产物通过ISCO combiflash色谱 (通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗脱) 纯化, 以提供呈浅棕色固体的5-(溴甲基)-2-氯-4-甲氧基吡啶 (4.8g, 16.85mmol, 53.1%产率)。

[0701] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ=8.34-8.30 (m, 1H), 7.26-7.22 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.00-3.96 (m, 3H)。

[0702] LC-MS m/z 236.0 [M+H]⁺。

[0703] 步骤3. 向 (7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (9.0g, 26.9mmol) 在DMF (100.0mL) 中的搅拌溶液中添加Cs₂CO₃ (17.50g, 53.7mmol)。在0℃下向此混合物中添加5-(溴甲基)-2-氯-4-甲氧基吡啶 (6.35g, 26.9mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1h并且添加水。将沉淀的固体过滤并且用过量的水洗涤, 然后用石油醚洗涤。将固体在真空下干燥, 以提供粗化合物, 将其通过ISCO combiflash色谱 (通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗脱) 纯化, 以提供呈灰白色固体的 (1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基) 甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (5.8g, 10.28mmol, 38.3%产率)。

[0704] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ=11.81-11.30 (m, 2H), 7.99-7.92 (m, 2H), 7.23-7.18 (m, 1H), 5.68 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (s, 3H)。

[0705] LC-MS m/z 491.0 [M+H]⁺。

[0706] 步骤4. 向 (1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基) 甲基)-7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (2.5g, 5.10mmol) 在DMSO (10.0mL) 中的搅拌溶液中添加BOP (3.38g, 7.64mmol) 和丁-1-胺 (0.755mL, 7.64mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供残余物。将残余物通过ISCO combiflash色谱 (通过用在氯仿中的0-100%乙酸乙酯洗脱) 纯化, 以提供呈浅棕色固体的 (7-(丁基氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基) 甲基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (1.02g, 1.813mmol, 35.6%产率)。

[0707] ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ=9.84 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.44 (br t, J=5.1Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 5.70 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.59-3.50 (m, 2H), 3.33 (s, 2H), 1.67-1.55 (m, 2H), 1.40-1.26 (m, 1H), 1.35-1.23 (m, 1H), 1.36-1.15 (m, 1H), 0.89 (t, J=7.4Hz, 3H)。

[0708] LC-MS m/z 546.0 [M+H]⁺。

[0709] 步骤5. 向 (7-(丁基氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基) 甲基)-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (1.0g, 1.832mmol) 在乙酸乙酯 (10.0mL) 和乙醇 (10.0mL) 中的搅拌溶液中添加Pd-C (0.975g, 0.916mmol)。将反应混合物在室温下在氢气气氛下搅拌16h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且用过量甲醇洗涤。将滤液在减压下浓缩以提供呈浅棕色固体的 (7-(丁基氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基) 甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (0.8g, 1.810mmol, 99%产率)。

[0710] LC-MS m/z 420.2 [M+H]⁺。

[0711] 步骤6. 在室温下向 (7-(丁基氨基)-1-((6-氯-4-甲氧基吡啶-3-基) 甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基) 氨基甲酸甲酯 (730mg, 1.739mmol) 在无水二噁烷 (15mL) 和水 (0.4mL)

中的搅拌溶液中添加4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(1075mg,3.48mmol)、 Cs_2CO_3 (1699mg,5.22mmol)和 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 加合物(142mg,0.174mmol)。将反应混合物用氮气吹扫,加热至100℃,并且搅拌16h。将黑色悬浮液通过CELITE™床过滤并且将床用乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下浓缩以提供粗产物。将残余物使用combiflash(硅胶60-120目;在石油醚中的35%乙酸乙酯作为洗脱剂)纯化,以提供呈淡黄色固体的5-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(650mg,1.147mmol,66.0%产率)。

[0712] LC-MS m/z 567.3[M+H]⁺。

[0713] 步骤7.向5-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.770g,1.359mmol)在四氢呋喃(10mL):甲醇(10mL)中的搅拌溶液中添加10%钨碳(0.723g,0.679mmol)。将反应混合物在 H_2 (5kg压力)下在50℃下搅拌14h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且将床用甲醇和DCM(200mL)洗涤。将滤液在低于50℃在真空下浓缩,以得到呈棕色固体的4-(5-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.600g,0.591mmol,43.5%产率)。

[0714] LC-MS m/z 569.4[M+H]⁺。

[0715] 步骤8.向4-(5-((7-(丁基氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.700g,1.231mmol)在二氯甲烷(3mL)中的搅拌溶液中添加在二噁烷中的HCl(6.15mL,24.62mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h并且在减压下浓缩,以得到呈棕色固体的(7-(丁基氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.400g,0.666mmol,54.1%产率)。

[0716] LC-MS m/z 469.2[M+H]⁺。

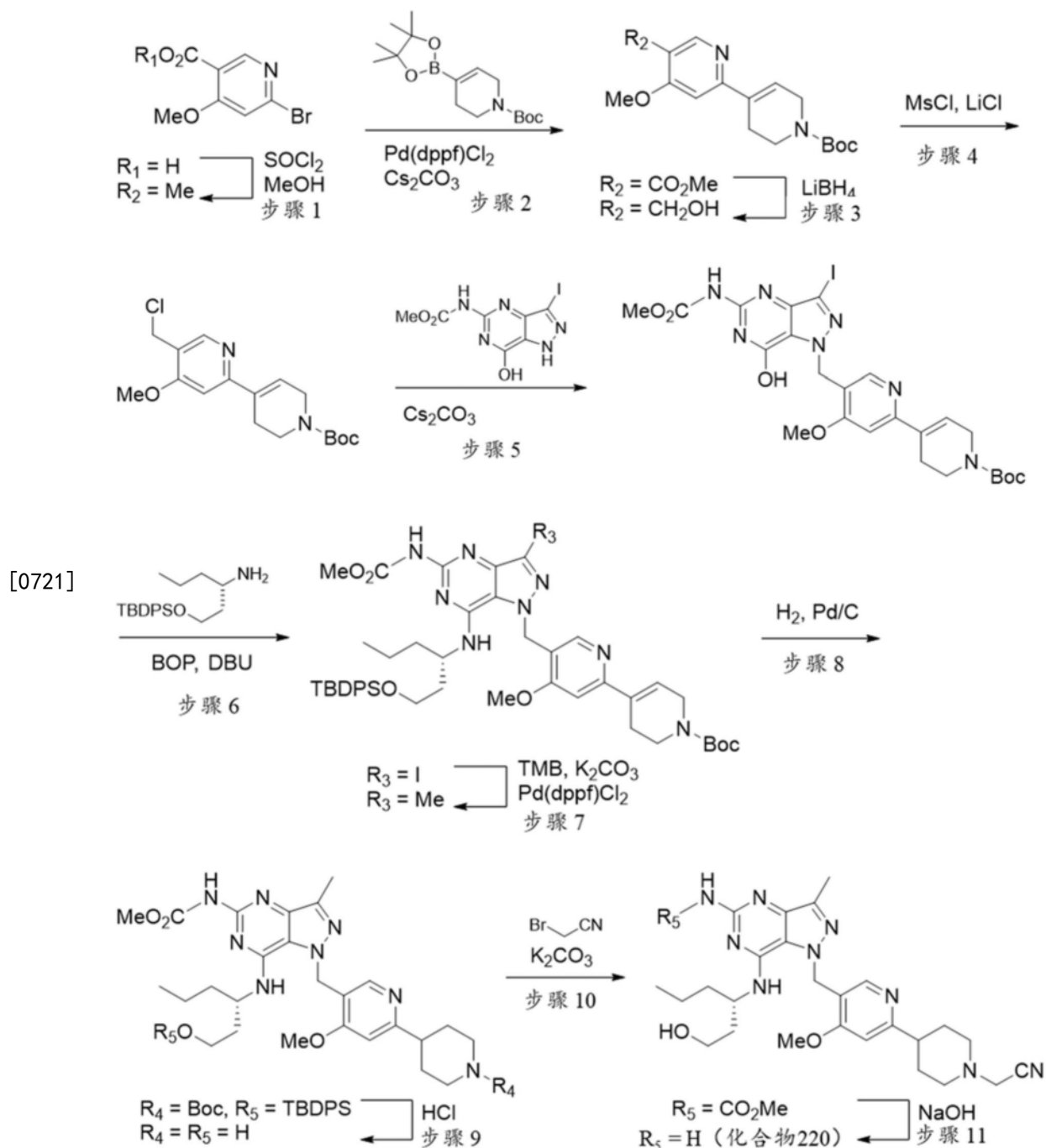
[0717] 步骤9.向(7-(丁基氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯盐酸盐(0.100g,0.198mmol)在DMF(2mL)中的搅拌溶液中添加4-碘四氢-2H-吡喃(0.084g,0.396mmol)和 K_2CO_3 (0.082g,0.594mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌14h。将反应混合物在高真空下浓缩,以得到呈黄色油状物的(7-(丁基氨基)-1-((4-甲氧基-6-(1-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.100g,0.181mmol)。

[0718] LC-MS m/z 553.5[M+H]⁺。

[0719] 步骤10.向(7-(丁基氨基)-1-((4-甲氧基-6-(1-(四氢-2H-吡喃-4-yl)哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.100g,0.181mmol)在1,4-二噁烷(1mL)中的搅拌溶液中添加NaOH(0.036g,0.905mmol)的水溶液(1mL)。将反应混合物在70℃下搅拌3h。将反应混合物在水与乙酸乙酯之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在真空下浓缩以得到粗化合物。将它通过反相制备型LC/MS(柱:Waters XBridge C18,150mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH_4OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH_4OAc);梯度:在10% B下保持0分钟,经25分钟10%-45% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:15mL/min)纯化。LC-MS m/z 158.0[M+H]⁺。由

MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且使用Genevac经由离心蒸发干燥,以提供化合物219(0.008g,0.016mmol,8.58%产率)。

[0720] 实施例36-化合物220



[0722] 步骤1.向6-氯-4-甲氧基烟酸(4.5g,23.99mmol)在MeOH(45.0mL)中的搅拌溶液中添加 SOCl_2 (2.63mL,36.0mmol)。将反应混合物在75℃下搅拌16h。将反应混合物在减压下浓缩以提供残余物,将其用饱和 NaHCO_3 溶液淬灭并且然后将反应混合物在DCM与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤并且经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供粗化合物。将它通过ISCO combiflash色谱(通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供呈灰白色固体的6-氯-4-甲氧基烟酸甲酯(3.86g,18.95mmol,79%产率)。

[0723] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) $\delta = 8.57(\text{s}, 1\text{H})$, $7.38(\text{s}, 1\text{H})$, $3.96(\text{s}, 3\text{H})$, $3.83-3.79(\text{m},$

3H)。

[0724] LC-MS m/z 202.0 $[M+H]^+$ 。

[0725] 步骤2.在氮气吹扫下向6-氯-4-甲氧基烟酸甲酯(3.8g,18.85mmol)在1,4-二噁烷(40.0mL):水(10.0mL)中的搅拌溶液中添加 Cs_2CO_3 (18.42g,56.5mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)-3,6-二氢吡啶-1(2H)-甲酸叔丁酯(8.74g,28.3mmol)和 $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$ 加合物(1.539g,1.885mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌4h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且用过量EtOAc洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供残余物。将粗化合物通过ISCO combiflash色谱(通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗涤)纯化,以提供呈浅棕色油状物的1'-(叔丁基)-5-甲基-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',5(2'H)-二甲酸酯(4.06g,10.72mmol,56.9%产率)。

[0726] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ =8.73-8.66(m,1H),7.27-7.19(m,1H),6.92-6.84(m,1H),4.13-4.03(m,2H),3.97-3.93(m,4H),3.82-3.77(m,3H),3.59-3.48(m,2H),2.63-2.53(m,2H),1.47-1.39(m,9H)。

[0727] LC-MS m/z 349.2 $[M+H]^+$ 。

[0728] 步骤3.向1'-(叔丁基)-5-甲基-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1',5(2'H)-二甲酸酯(4.0g,11.48mmol)在THF(40.0mL):MeOH(10.0mL)中的搅拌溶液中添加 $LiBH_4$ (在THF中的2M)(14.35mL,28.7mmol)。将反应混合物在室温下搅拌16h。将反应混合物用10%NaOH溶液处理,用EtOAc稀释,并且通过CELITE™床过滤。将滤液在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色油状物的5-(羟基甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.69g,8.14mmol,70.9%产率)。

[0729] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ =8.32(s,1H),7.10(s,1H),6.67(br s,1H),5.11-5.05(m,1H),4.50-4.45(m,2H),4.04(br s,2H),3.95(s,1H),3.88(s,3H),3.57-3.48(m,2H),2.61-2.54(m,2H),1.43(s,9H)。

[0730] LC-MS m/z 321.2 $[M+H]^+$ 。

[0731] 步骤4.在0℃下向5-(羟基甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.6g,8.12mmol)在DCM(25.0mL)中的搅拌溶液中添加TEA(2.262mL,16.23mmol)、MsCl(1.265mL,16.23mmol)和氯化锂(0.688g,16.23mmol)。将反应混合物在相同温度下搅拌30分钟并且然后在室温下搅拌5h。将反应混合物在DCM与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供呈棕色油状物的5-(氯甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.68g,7.59mmol,94%产率)。将粗产物按原样使用。

[0732] ^1H NMR(300MHz,DMSO- d_6) δ =8.75-8.68(m,1H),7.59-7.53(m,1H),6.98-6.88(m,1H),4.85-4.79(m,2H),4.18(s,3H),4.16-4.10(m,2H),3.61-3.52(m,2H),2.68-2.58(m,2H),1.43(s,9H)。

[0733] LC-MS m/z 339.2 $[M+H]^+$ 。

[0734] 步骤5.向(7-羟基-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(1.0g,2.98mmol)在DMF(10.0mL)中的搅拌溶液中添加 Cs_2CO_3 (1.945g,5.97mmol)。在0℃下,向此混合物中添加在DMF(5.0mL)中的5-(氯甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.68g,7.59mmol,94%产率)。将粗产物按原样使用。

H)-甲酸叔丁酯(1.011g,2.98mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌1h并且在室温下搅拌1h。将反应混合物在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供残余物。将粗化合物通过ISCO combiflash色谱(通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供呈浅棕色固体的5-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(718mg,0.946mmol,31.7%产率)。

[0735] ¹H NMR(300MHz,DMSO-d₆) δ=11.74-11.66(m,1H),11.44-11.36(m,1H),8.06-7.98(m,1H),7.19-7.09(m,1H),6.75-6.63(m,1H),5.74-5.67(m,2H),4.07-4.01(m,2H),3.85(s,3H),3.78-3.71(m,5H),3.52(br t,J=5.3Hz,2H),2.59-2.53(m,2H),1.42(s,9H)。

[0736] LC-MS m/z 638.0[M+H]⁺。

[0737] 步骤6.向5-((7-羟基-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.5g,0.784mmol)在DMSO(5.0mL)中的搅拌溶液中添加DBU(0.355mL,2.353mmol)、BOP(0.520g,1.177mmol)和(S)-1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-胺(0.335g,0.941mmol)。将反应混合物在45℃下搅拌4h。将反应混合物在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供残余物,将其通过ISCO combiflash色谱(通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供呈棕色固体的(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(0.16g,0.100mmol,12.76%产率)。

[0738] LC-MS m/z 975.3[M+H]⁺。

[0739] 步骤7.在氮气吹扫下,向(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-3-碘-5-((甲氧基羰基)氨基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(2.1g,2.154mmol)在1,4-二噁烷(20.0mL)中的搅拌溶液中添加K₂CO₃(0.595g,4.31mmol)、三甲基环三硼氧烷(trimethylboroxine)(0.541g,4.31mmol)和PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂加合物(0.176g,0.215mmol)。将反应混合物在100℃下搅拌6h。将反应混合物在EtOAc与水之间分配。将有机层用盐水溶液洗涤,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供粗化合物,将其通过ISCO combiflash色谱(通过用在石油醚中的0-100%乙酸乙酯洗脱)纯化,以提供呈浅棕色固体的(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.29g,1.495mmol,69.4%产率)。

[0740] LC-MS m/z:861.5[M-H]⁺。

[0741] 步骤8.向(S)-5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基-3',6'-二氢-[2,4'-联吡啶]-1'(2'H)-甲酸叔丁酯(1.2g,1.390mmol)在THF(15.0mL):MeOH(15.0mL)中的搅拌溶液中添加Pd-C(0.740g,0.695mmol)。将反应混合物在高压釜中在100psi压力的氢气气氛下在50℃下搅拌16h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且用过量甲醇洗涤。将滤液在减压下浓缩,以提供呈浅棕色固体的(S)-4-(5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)

氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(1.0g,1.156mmol,83%产率)。

[0742] LC-MS m/z 865.4[M+H]⁺。

[0743] 步骤9.在0℃下向(S)-4-(5-((7-((1-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)己-3-基)氨基)-5-((甲氧基羰基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-1-基)甲基)-4-甲氧基吡啶-2-基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(0.9g,1.040mmol)在MeOH(10.0mL)中的搅拌溶液中添加浓HCl(3.0mL,35.1mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2h。将反应混合物在减压下完全浓缩以提供粗化合物,将其与乙醚和石油醚一起研磨。将溶剂倾析并且将残余物在真空下干燥,以提供呈棕色固体的(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.88g,0.969mmol,93%产率)。

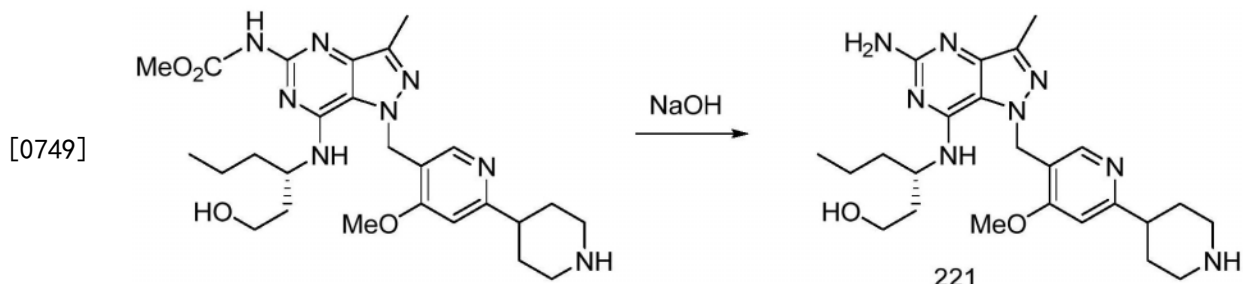
[0744] LC-MS m/z 527.2[M+H]⁺。

[0745] 步骤10.向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.15g,0.285mmol)在DMF(2.5mL)中的搅拌溶液中添加K₂CO₃(0.079g,0.570mmol)和2-溴乙腈(0.051g,0.427mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌1h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且用过量乙酸乙酯洗涤,然后将滤液在减压下浓缩,以提供呈棕色半固体的(S)-(1-((6-(1-(氰基甲基)哌啶-4-基)-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(212mg,0.154mmol,53.9%产率)。

[0746] LC-MS m/z 566.5[M+H]⁺。

[0747] 步骤11.向(S)-(1-((6-(1-(氰基甲基)哌啶-4-基)-4-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-7-((1-羟基己-3-基)氨基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.15g,0.265mmol)在1,4-二噁烷(2.0mL):水(2.0mL)中的搅拌溶液中添加NaOH(0.053g,1.326mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌16h。观察反应混合物的各层分离。将有机层分离,经Na₂SO₄干燥,过滤并且在减压下浓缩,以提供粗化合物。将它通过反相制备型LC/MS(柱:Waters XBridge C18,150mm x 19mm,5μm颗粒;流动相A:5:95乙腈:水(含10mM NH₄OAc);流动相B:95:5乙腈:水(含10mM NH₄OAc);梯度:在5% B下保持0分钟,经20分钟5%-20% B,然后在100% B下保持5分钟;流速:20mL/min;柱温:25℃)纯化。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且使用Genevac经由离心蒸发干燥,以提供化合物220(10.7mg,0.020mmol,7.58%产率)。

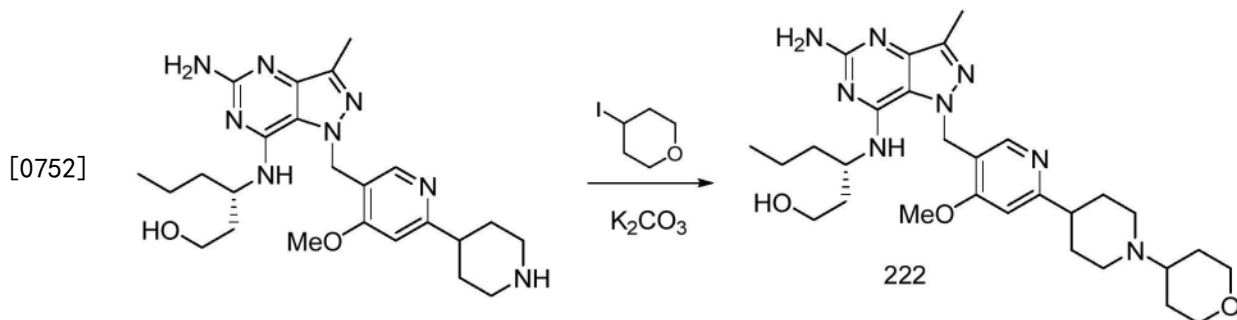
[0748] 实施例37-化合物221



[0750] 向(S)-(7-((1-羟基己-3-基)氨基)-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-基)氨基甲酸甲酯(0.1g,0.190mmol)在1,4-二噁烷

(2.0mL) 中的搅拌溶液中添加NaOH(1.0mL, 0.190mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌4h。观察反应混合物的各层分离。将有机层分离, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并且在减压下浓缩, 以提供粗化合物。将它通过反相制备型LC/MS(柱: Waters XBridge C18, 19x150mm, 5μm颗粒; 流动相A: 10mM NH₄OAc; 流动相B: 乙腈; 梯度: 经20分钟15%-55% B, 然后在100% B下保持5分钟; 流速: 15mL/min) 纯化。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且使用Genevac经由离心蒸发干燥, 以提供化合物221(50.9mg, 0.105mmol, 55.5%产率)。

[0751] 实施例38-化合物222

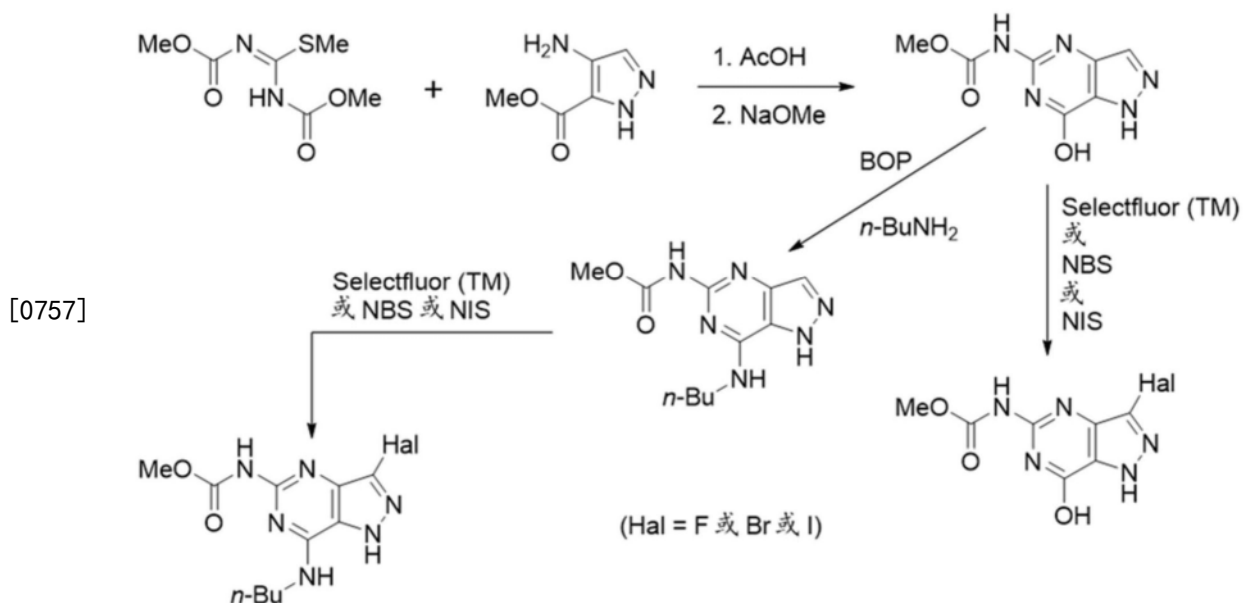


[0753] 向(S)-3-((5-氨基-1-((4-甲氧基-6-(哌啶-4-基)吡啶-3-基)甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-7-基)氨基)己-1-醇(90.0mg, 0.192mmol)在DMF(1.5mL)中的搅拌溶液中添加 K_2CO_3 (80mg, 0.576mmol)和4-碘四氢-2H-吡喃(0.034mL, 0.288mmol)。将反应混合物在50℃下搅拌4h。将反应混合物通过CELITE™床过滤并且用过量的乙酸乙酯洗涤。将滤液在减压下完全浓缩, 以提供残余物。将粗化合物通过反相制备型LC/MS(制备柱: Gemini NX c18(250x21.2mm) x5微米; 流动相A: 10mM NH_4OAc , 流动相B: $CH_3CN/MeOH$ (1/1); 流速: 20mL/min; 梯度T/%B: 0/30、6/40、16/60、17/95、22/95、23/30、25/30)纯化。由MS和UV信号触发级分的收集。将含有所需产物的级分合并并且使用Genevac经由离心蒸发干燥, 以提供化合物222(27.1mg, 0.049mmol, 25.5%产率)。

[0754] 实施例39-起始材料和中间体

[0755] 下文的方案5示出了用于制备可用作用于制备本文公开的TLR7激动剂的起始材料或中间体的化合物的方案。所述方案可以适用于制备其他类似的可以用作起始材料或中间体的化合物。所采用的试剂是本领域熟知的,并且在许多情况下,它们的使用已经在前述实施例中进行了展示。

[0756] 方案5



[0758] 生物学活性

[0759] 可以通过以下程序测定本文公开的作为TLR7激动剂的化合物的生物活性。

[0760] 人TLR7激动剂活性测定

[0761] 此程序描述了用于测定在本说明书中公开的化合物的人TLR7 (hTLR7) 激动剂活性的方法。

[0762] 将具有人TLR7分泌型胚胎碱性磷酸酶 (SEAP) 报告转基因的工程化人胚肾蓝细胞 (HEK-BlueTMTLR细胞; Invivogen) 悬浮在非选择性培养基 (补充有10% 胎牛血清 (Sigma) 的DMEM高葡萄糖 (Invitrogen)) 中。将HEK-BlueTMTLR7细胞添加到384孔组织培养板的每个孔中 (15,000个细胞/孔), 并且在37℃、5% CO₂下孵育16-18h。将化合物 (100nL) 分配到含有HEK-BlueTMTLR细胞的孔中, 并且将经处理的孔在37℃、5% CO₂下孵育。处理18h后, 将十微升的新鲜制备的Quanti-BlueTM试剂 (Invivogen) 添加到每个孔中, 孵育30min (37℃, 5% CO₂), 并且使用Envision读板仪 (OD=620nm) 测量SEAP水平。计算半数最大有效浓度值 (EC₅₀; 在测定基线与最大值之间引起反应的一半的化合物浓度)。

[0763] 人血液中I型干扰素基因 (MX-1) 和CD69的诱导

[0764] I型干扰素 (IFN) MX-1基因和B细胞激活标记物CD69的诱导是在TLR7途径激活后发生的下游事件。以下是人全血测定, 其测量响应于TLR7激动剂的诱导。

[0765] 从人类受试者中收获肝素化的人全血, 并且将其用1mM的测试TLR7激动剂化合物处理。将血液用RPMI 1640培养基稀释, 并且使用Echo预加样 (predot) 10nL/孔, 从而得到1uM的最终浓度 (在10uL血液中有10nL)。在摇床上混合30秒后, 将板盖住并且置于37℃室中过夜=17h。制备固定/裂解缓冲液 (在H₂O中5x->1x, 在37℃下加温; 目录号BD 558049), 并且保持perm缓冲液 (在冰上), 以备后用。

[0766] 对于表面标记物 (CD69) 染色: 制备表面Ab: 0.045uL hCD14-FITC (ThermoFisher目录号MHCD1401) + 0.6uL hCD19-ef450 (ThermoFisher目录号48-0198-42) + 1.5uL hCD69-PE (目录号BD555531) + 0.855uL FACS缓冲液。添加3uL/孔, 1000rpm旋转1min, 并且在摇床上混合30秒, 置于冰上30min。在用70uL预加温的1x固定/裂解缓冲液30分钟后停止刺激, 并且使用Feliex伴侣重悬 (15次, 对每个板更换吸头) 并且在37℃下孵育10分钟。

[0767] 在2000rpm下离心5分钟,用HCS板清洗器抽出,在摇床上混合30秒,并且然后用在dPBS中的70uL洗涤并且沉淀2次(2000rpm,持续5min),并且用在FACS缓冲液中的50uL洗涤,沉淀1次(2000rpm,持续5min)。在摇床上混合30秒。对于细胞内标记物(MX-1)染色:添加50uL BD Perm缓冲液III,并且在摇床上混合30秒。在冰上孵育30分钟(在黑暗中)。用50uL FACS缓冲液洗涤2次(在perm后,在2300rpm下旋转5min),然后在摇床上混合30秒。在20uL含有MX1抗体() (4812) -Alexa 647;Novus Biologicals#NBP2-43704AF647) 20uL FACS缓冲液+0.8uL hIgG+0.04uL MX-1的FACS缓冲液中重悬。1000rpm旋转1min,在摇床上混合30秒,并且将样品在黑暗在室温下孵育45分钟,然后用FACS缓冲液洗涤2次(在perm后,在2300rpm下旋转5min)。在20uL (每孔总计35uL) FACS缓冲液重悬,并且用箔纸覆盖,并且置于4℃下,以在第二天读数。在iQuePlus上读取板。将结果加载到工具集中,并且在curve master中生成IC50曲线。将y轴100%设置为1uM瑞喹莫德。

[0768] 小鼠血液中TNF- α 和I型IFN反应基因的诱导

[0769] TNF- α 和I型IFN反应基因的诱导是在TLR7途径激活后发生的下游事件。以下是测量在小鼠全血中响应于TLR7激动剂的诱导的测定。

[0770] 将肝素化的小鼠全血用含青霉素-链霉素的RPMI 1640培养基以5:4的比率稀释(50uL全血和40uL培养基)。将90uL体积的经稀释的血液转移到Falcon平底96孔组织培养板的孔中,并且将板在4℃下孵育1h。将100% DMSO储备溶液中的测试化合物在相同培养基中稀释20倍用于进行浓度反应测定,然后将10uL经稀释的测试化合物添加到孔中,使得最终DMSO浓度为0.5%。对照孔接受10uL含有5% DMSO的培养基。然后将板在37℃下在5% CO₂培养箱中孵育17h。在孵育后,将100uL培养基添加到每个孔中。将板离心,并且取出130uL上清液用于通过ELISA(Invitrogen,目录号88-7324,Thermo-Fisher Scientific)测定TNFa的产生。将来自Invitrogen mRNA Catcher Plus试剂盒(目录号K1570-02)的70uL体积的含DTT的mRNA捕获裂解缓冲液(1x)添加到孔中剩余的70uL样品中,并且通过上下移液5次进行混合。然后将板在室温下摇动5-10min,然后向每个孔中添加2uL蛋白酶K(20mg/mL)。然后将板在室温下摇动15-20min。然后将板在-80℃下储存直到进一步处理。

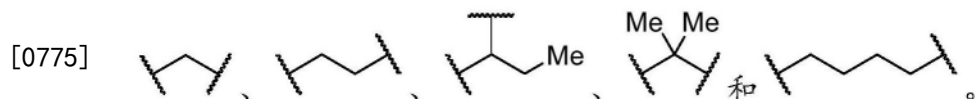
[0771] 将冷冻样品解冻,并且根据制造商的说明书,使用Invitrogen mRNA Catcher Plus试剂盒(目录号K1570-02)提取mRNA。使用Invitrogen SuperScript IV VILO Master Mix(目录号11756500),使用来自RNA提取的一半产率的mRNA在20uL逆转录酶反应中合成cDNA。使用来自ThermoFisher(Applied Biosystems)的QuantStudio实时PCR系统进行TaqMan®实时PCR。使用针对小鼠IFIT1、IFIT3、MX1和PPIA基因表达的商业化预设计的TaqMan测定和TaqMan Master Mix一式两份地运行所有实时PCR反应。将PPIA用作管家基因。遵循来自制造商的建议。通过平均管家基因(Ct)归一化所有原始数据(Ct),然后利用比较Ct($\Delta \Delta Ct$)方法量化相对基因表达(RQ)用于进行实验分析。

[0772] 定义

[0773] “脂族”意指直链或支链的饱和或不饱和的非芳族烃部分,其具有指定数量的碳原子(例如,如在“C₃脂族”、“C₁₋₅脂族”、“C₁-C₅脂族”或“C₁至C₅脂族”中,后三个短语与具有从1至5个碳原子的脂族部分同义)或者在未明确指定碳原子数量的情况下从1至4个碳原子(在不饱和脂族部分的情况下2至4个碳)。类似的理解适用于其他类型中的碳数量,如在C₂₋₄烯烃、C₄-C₇脂环族等中。以类似的方式,诸如“(CH₂)₁₋₃”的术语应理解为对下标是1、2或3的简

写,使得这样的术语代表 CH_2 、 CH_2CH_2 和 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ 。

[0774] “烷基”意指饱和的脂族部分,其中用于指定碳原子数量的相同惯例是可适用的。通过说明的方式, C_1 - C_4 烷基部分包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、异丁基、叔丁基、1-丁基、2-丁基等。“烷二基”(有时也称为“亚烷基”)意指烷基的二价对应物,诸如



[0776] “烯基”意指具有至少一个碳-碳双键的脂族部分,其中用于指定碳原子数量的相同惯例是可适用的。通过说明的方式, C_2 - C_4 烯基部分包括但不限于乙烯基(ethenyl/vinyl)、2-丙烯基(烯丙基或丙-2-烯基)、顺式-1-丙烯基、反式-1-丙烯基、E-(或Z-)2-丁烯基、3-丁烯基、1,3-丁二烯基(丁-1,3-二烯基)等。

[0777] “炔基”意指具有至少一个碳-碳三键的脂族部分,其中用于指定碳原子数量的相同惯例是可适用的。通过说明的方式, C_2 - C_4 炔基包括乙炔基(ethynyl/acetylenyl)、炔丙基(丙-2-炔基)、1-丙炔基、丁-2-炔基等。

[0778] “脂环族”意指具有从1至3个环的饱和或不饱和的非芳族烃部分,每个环具有从3至8个(优选地从3至6个)碳原子。“环烷基”意指每个环是饱和的脂环族部分。“环烯基”意指至少一个环具有至少一个碳-碳双键的脂环族部分。“环炔基”意指至少一个环具有至少一个碳-碳三键的脂环族部分。通过说明的方式,脂环族部分包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环辛基和金刚烷基。优选的脂环族部分是环烷基部分,尤其是环丙基、环丁基、环戊基和环己基。“环烷二基”(有时也称为“环亚烷基”)意指环烷基的二价对应物。类似地,“二环烷二基”(或“二环亚烷基”)和“螺烷二基”(或“螺亚烷基”)是指二环烷基和螺烷基(或“螺环烷基”)的二价对应物。

[0779] “杂脂环族”意指这样的脂环族部分,其中在其至少一个环中,至多三个(优选地1至2个)碳已经被独立地选自N、O或S的杂原子替代,其中N和S任选地可以被氧化并且N任选地可以被季铵化。优选的脂环族部分由一个大小为5至6元的环组成。类似地,“杂环烷基”、“杂环烯基”和“杂环炔基”分别意指其至少一个环已经被如此修饰的环烷基、环烯基或环炔基部分。示例性杂脂环族部分包括氮杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、1,3-二噁烷基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、四氢噻喃基砜、吗啉基、硫代吗啉基、硫代吗啉基亚砜、硫代吗啉基砜、1,3-二氧戊环基、四氢-1,1-二氧代噻吩基、1,4-二噁烷基、硫杂环丁烷基等。“杂环亚烷基”意指杂环烷基的二价对应物。

[0780] “烷氧基”、“芳氧基”、“烷硫基”和“芳硫基”分别意指-O(烷基)、-O(芳基)、-S(烷基)和-S(芳基)。例子分别是甲氧基、苯氧基、甲硫基和苯硫基。

[0781] 除非指示较窄的含义,否则“卤素”或“卤代”意指氟、氯、溴或碘。

[0782] “芳基”意指具有单、双或三环环系统(优选地单环)的烃部分,其中每个环具有从3至7个碳原子,并且至少一个环是芳族的。环系统中的环可以彼此稠合(如在萘基中)或彼此键合(如在联苯基中),并且可以与非芳族环稠合或键合(如在茚满基或环己基苯基中)。通过进一步说明的方式,芳基部分包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、联苯基、菲基、蒽基和茈基。“亚芳基”意指芳基的二价对应物,例如1,2-亚苯基、1,3-亚苯基或1,4-亚苯基。

[0783] “杂芳基”意指具有单、双或三环环系统(优选地5至7元单环)的部分,其中每个环

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

[0784] 在指示部分可以被取代(诸如通过使用如在“未经取代或经取代的C₁-C₅烷基”或“任选经取代的杂芳基”中的短语“未经取代或经取代的”或“任选经取代的”)的情况下,这样的部分可以具有一个或多个独立选择的取代基,优选地数量为1至5、更优选地数量为1或2。考虑到取代基所附接的部分,本领域普通技术人员可以选择取代基和取代模式,以提供化学稳定的并且可以通过本领域已知的技术以及本文列出的方法合成的化合物。在部分被鉴定为“未经取代或经取代的”或“任选经取代的”的情况下,在一个优选实施方案中,这样的部分是未经取代的。

[0785] “芳基烷基”、“(杂脂环族)烷基”、“芳基烯基”、“芳基炔基”、“联芳基烷基”等意指被芳基、杂脂环族、联芳基等部分(视情况而定)取代的烷基、烯基或炔基部分(视情况而定),其中开放的(未满足的)化合价在烷基、烯基或炔基部分处,例如如在苄基、苯乙基、N-咪唑基乙基、N-吗啉代乙基等中。相反,“烷基芳基”、“烯基环烷基”等意指被烷基、烯基等部分(视情况而定)取代的芳基、环烷基等部分(视情况而定),例如如在甲基苯基(甲苯基)或烯丙基环己基中。“羟基烷基”、“卤代烷基”、“烷基芳基”、“氰基芳基”等意指被一个或多个鉴定的取代基(羟基、卤代等,视情况而定)取代的烷基、芳基等部分(视情况而定)。

[0786] 例如,允许的取代基包括但不限于烷基(尤其是甲基或乙基)、烯基(尤其是烯丙基)、炔基、芳基、杂芳基、脂环族、杂脂环族、卤代(尤其是氟)、卤代烷基(尤其是三氟甲基)、羟基、羟基烷基(尤其是羟基乙基)、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-O(卤代烷基)(尤其是-OCF₃)、-O(环烷基)、-O(杂环烷基)、-O(芳基)、烷硫基、芳硫基、=O、=NH、=N(烷基)、=NOH、=NO(烷基)、-C(=O)(烷基)、-C(=O)H、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NH(羟基烷基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-OSO₂(烷基)、-SH、-S(烷基)、-S(芳基)、-S(环烷基)、-S(=O)烷基、-SO₂(烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(烷基)、-SO₂N(烷基)₂等。

[0787] 在被取代的部分是脂族部分的情况下,优选的取代基是芳基、杂芳基、脂环族、杂脂环族、卤代、羟基、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-O(卤代烷基)、-O(环烷基)、-O(杂环烷基)、-O(芳基)、烷硫基、芳硫基、=O、=NH、=N(烷基)、=NOH、=NO(烷基)、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=

O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NH(羟基烷基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-OSO₂(烷基)、-SH、-S(烷基)、-S(芳基)、-S(=O)(烷基)、-S(环烷基)、-SO₂(烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(烷基)和-SO₂N(烷基)₂。更优选的取代基是卤代、羟基、氰基、硝基、烷氧基、-O(芳基)、=O、=NOH、=NO(烷基)、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂和-NHC(=NH)NH₂。尤其优选的是苯基、氰基、卤代、羟基、硝基、C₁-C₄烷氧基、O(C₂-C₄烷二基)OH和O(C₂-C₄烷二基)卤代。

[0788] 在被取代的部分是脂环族、杂脂环族、芳基或杂芳基部分的情况下,优选的取代基是烷基、烯基、炔基、卤代、卤代烷基、羟基、羟基烷基、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-O(卤代烷基)、-O(芳基)、-O(环烷基)、-O(杂环烷基)、烷硫基、芳硫基、-C(=O)(烷基)、-C(=O)H、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、叠氮基、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NH(羟基烷基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂、-NHC(=NH)NH₂、-OSO₂(烷基)、-SH、-S(烷基)、-S(芳基)、-S(环烷基)、-S(=O)(烷基)、-SO₂(烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(烷基)和-SO₂N(烷基)₂。更优选的取代基是烷基、烯基、卤代、卤代烷基、羟基、羟基烷基、氰基、硝基、烷氧基、-O(羟基烷基)、-C(=O)(烷基)、-C(=O)H、-CO₂H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(烷基)、-C(=O)O(羟基烷基)、-C(=O)NH₂、-C(=O)NH(烷基)、-C(=O)N(烷基)₂、-OC(=O)(烷基)、-OC(=O)(羟基烷基)、-OC(=O)O(烷基)、-OC(=O)O(羟基烷基)、-OC(=O)NH₂、-OC(=O)NH(烷基)、-OC(=O)N(烷基)₂、-NH₂、-NH(烷基)、-N(烷基)₂、-NH(芳基)、-NHC(=O)(烷基)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH₂、-NHC(=O)NH(烷基)、-NHC(=O)N(烷基)₂和-NHC(=NH)NH₂。尤其优选的是C₁-C₄烷基、氰基、硝基、卤代和C₁-C₄烷氧基。

[0789] 在陈述范围的情况下,如在“C₁-C₅烷基”或“5%至10%”中,这样的范围包括所述范围的端点,如在第一个实例中的C₁和C₅以及在第二个实例中的5%和10%。

[0790] 除非具体指示特定的立体异构体(例如,通过在结构式中的相关立体中心处的加粗或加虚线的键,通过在结构式中将双键描绘为具有E或Z构型,或通过使用立体化学指定的命名法或符号),否则作为纯化合物及其混合物的所有立体异构体都包括在本发明的范围内。除非另外指示,否则外消旋体、单独的对映体(不论是光学纯的还是部分拆分的)、非对映体、几何异构体及其组合和混合物都被本发明涵盖。

[0791] 本领域技术人员应理解,化合物可以具有互变异构体形式(例如,酮和烯醇形式)、共振形式和两性离子形式,所述形式等效于在本文使用的结构式中描绘的那些,并且所述结构式涵盖此类互变异构体形式、共振形式或两性离子形式。

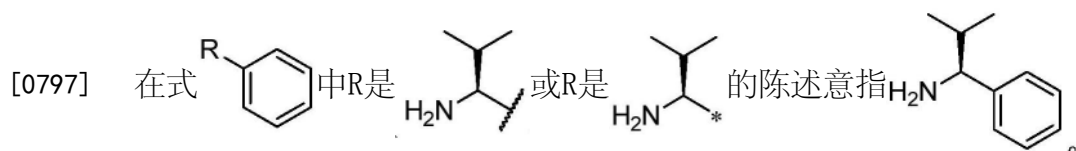
[0792] “药学上可接受的酯”意指在体内(例如在人体中)水解产生母体化合物或其盐或者本身具有与母体化合物类似的活性的酯。合适的酯包括C₁-C₅烷基、C₂-C₅烯基或C₂-C₅炔基酯,尤其是甲基、乙基或正丙基酯。

[0793] “药学上可接受的盐”意指适用于药物配制品的化合物的盐。在化合物具有一个或多个碱性基团的情况下,所述盐可以是酸加成盐,诸如硫酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、马来酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐、乙酸盐、双羟萘酸盐(恩波酸盐(embonate))、氢碘酸盐、硝酸盐、盐酸盐、乳酸盐、甲基硫酸盐、富马酸盐、苯甲酸盐、琥珀酸盐、甲磺酸盐、乳糖醛酸盐、辛二酸盐、甲苯磺酸盐等。在化合物具有一个或多个酸性基团的情况下,所述盐可以是诸如以下的盐:钙盐、钾盐、镁盐、葡甲胺盐、铵盐、锌盐、哌嗪盐、氨丁三醇盐、锂盐、胆碱盐、二乙胺盐、4-苯基环己胺盐、苯卞生盐、钠盐、四甲基铵盐等。多晶型结晶形式和溶剂化物也涵盖在本发明的范围内。

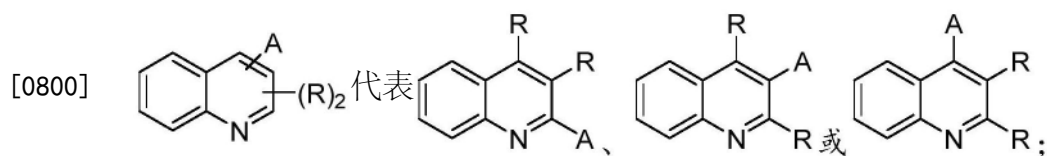
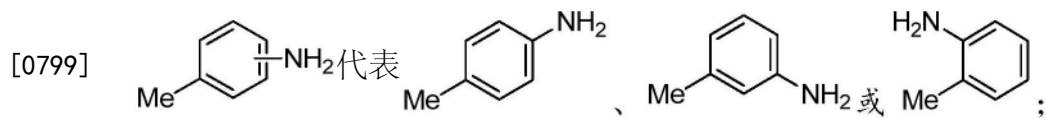
[0794] “受试者”是指动物,包括但不限于灵长类动物(例如,人)、猴、牛、猪、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔、大鼠或小鼠。关于例如哺乳动物受试者(诸如人)的术语“受试者”和“患者”在本文中可互换地使用。

[0795] 在治疗疾病或障碍的上下文中,术语“治疗”(“treat”、“treating”和“treatment”)意在包括减轻或消除障碍、疾病或病症,或与障碍、疾病或病症相关的一种或多种症状;或减慢障碍、疾病或病症或其一种或多种症状的进展、扩散或恶化。“癌症的治疗”是指以下作用中的一种或多种:(1)在一定程度上抑制肿瘤生长,包括(i)减慢和(ii)完全阻止生长;(2)减少肿瘤细胞的数量;(3)维持肿瘤大小;(4)减小肿瘤大小;(5)抑制,包括(i)减少、(ii)减慢或(iii)完全防止肿瘤细胞浸润到外周器官中;(6)抑制,包括(i)减少、(ii)减慢或(iii)完全防止转移;(7)增强抗肿瘤免疫应答,这可以导致(i)维持肿瘤大小、(ii)减小肿瘤大小、(iii)减慢肿瘤生长、(iv)减少、减慢或防止侵袭和/或(8)在一定程度上缓解与障碍相关的一种或多种症状的严重程度或数量。

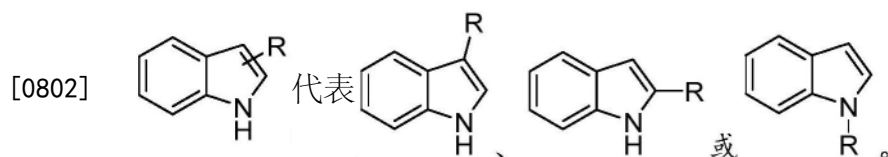
[0796] 在本说明书的式中,横向于键的波浪线(~~~~)或在键末端的星号(*)表示共价附接位点。例如,



[0798] 在本说明书的式中,在其两个碳之间横穿芳族环的键意指附接至所述键的基团可以位于所述芳族环的任何位置,所述任何位置是通过除去隐含地在那里(或明确地在那里,如果写出来的话)的氢而变得可用的。通过说明的方式:



[0801] 并且



[0803] 本公开文本包括在本文描述的化合物中出现的原子的所有同位素。同位素包括具有相同原子序数但质量数不同的那些原子。通过一般举例而非限制的方式,氢的同位素包括氕和氘。碳的同位素包括 ^{13}C 和 ^{14}C 。本发明的同位素标记的化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规技术或通过本文所述的那些类似的方法使用适当的同位素标记的试剂代替原本采用的未标记的试剂来制备。通过举例的方式, $\text{C}_1\text{-C}_3$ 烷基可以是未氘化的、部分氘化的或完全氘化的,并且“ CH_3 ”包括 CH_3 、 $^{13}\text{CH}_3$ 、 $^{14}\text{CH}_3$ 、 CH_2T 、 CH_2D 、 CHD_2 、 CD_3 等。在一个实施方案中,化合物中的各种元素以其天然同位素丰度存在。

[0804] 本领域技术人员应理解,某些结构可以绘制呈一种互变异构体形式或另一种互变异构体形式,例如酮与烯醇,并且这两种形式是等效的。

[0805] 首字母缩略词和缩写

[0806] 表C提供了在本说明书中使用的首字母缩略词和缩写及其含义的列表。

	表C	
	首字母缩略词或缩写	含义或定义
[0807]	AIBN	偶氮二异丁腈
	Alloc	烯丙氧基羰基
	Aq.	水性
	Boc	叔丁氧基羰基

[0808]

表C	
首字母缩略词或缩写	含义或定义
BOP	(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(V)
BOP	(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲基氨基)磷六氟磷酸盐(V)
DBU	1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一-7-烯
DCM	二氯甲烷
DIAD	偶氮二甲酸二异丙酯
DIPEA、DIEA	N,N-二异丙基乙胺, 也称为胡宁氏碱
DMA	N,N-二甲基乙酰胺
DMAP	4-(二甲基氨基)吡啶
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
DMSO	二甲亚砜
DTDP	2,2'-二硫代二吡啶
DTPA	二亚乙基三胺五乙酸
EEDQ	2-乙氧基喹啉-1(2H)-甲酸乙酯
Fmoc	苄基甲氧基羰基
HATU	六氟磷酸盐氮杂苯并三唑四甲基脒鎓; 1-[双(二甲基氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓3-氧化物六氟磷酸盐
HEPES	4-(2-羟基乙基)哌嗪-1-乙烷磺酸、N-(2-羟基乙基)哌嗪-N'-(2-乙烷磺酸)
HPLC	高压液相色谱
Hunig's base	参见DIPEA、DIEA
LCMS、LC-MS、LC/MS	液相色谱-质谱
mCPBA	间氯过氧苯甲酸
MS	质谱
MsCl	甲磺酰氯 (Methanesulfonyl chloride、mesyl chloride)
NBS	N-溴代琥珀酰亚胺
NMR	核磁共振
PEG	聚(乙二醇)
PTFE	聚(四氟乙烯)
RT (在液相色谱的背景下)	保留时间, 以min计
RT (在反应条件的背景下)	室(环境)温, 近似25°C
Sat.	饱和的
Soln	溶液
TBDPS	叔丁基二苯基甲硅烷基
TBS	叔丁基二甲基甲硅烷基
TEA	三乙胺
TEAA	三乙基乙酸铵
TFA	三氟乙酸
THF	四氢呋喃

[0809] 参考文献

[0810] 下文提供了在本说明书中较早以缩写方式通过第一作者(或发明人)和日期引用的以下参考文献的完整引用。将这些参考文献中的每一个出于所有目的通过引用并入本文。

- [0811] Akinbobuyi et al.,Tetrahedron Lett.2015,56,458,“Facile syntheses of functionalized toll-like receptor 7agonists”.
- [0812] Akinbobuyi et al.,Bioorg.Med.Chem.Lett.2016,26,4246,“Synthesis and immunostimulatory activity of substituted TLR7 agonists.”
- [0813] Barberis et al.,US 2012/0003298 A1(2012) .
- [0814] Beesu et al.,J.Med.Chem.2017,60,2084,“Identification of High-Potency Human TLR8 and Dual TLR7/TLR8 Agonists in Pyrimidine-2,4-diamines.”
- [0815] Berghöfer et al.,J.Immunol.2007,178,4072,“Natural and Synthetic TLR7 Ligands Inhibit CpG-A-and CpG-C-Oligodeoxynucleotide-Induced IFN- α Production.”
- [0816] Bonfanti et al.,US 2014/0323441 A1(2015) [2015a].
- [0817] Bonfanti et al.,US 2015/0299221 A1(2015) [2015b].
- [0818] Bonfanti et al.,US 2016/0304531 A1(2016) .
- [0819] Carson et al.,US 2013/0202629 A1(2013) .
- [0820] Carson et al.,US 8,729,088 B2(2014) .
- [0821] Carson et al.,US 9,050,376 B2(2015) .
- [0822] Carson et al.,US 2016/0199499 A1(2016) .
- [0823] Chan et al.,Bioconjugate Chem.2009,20,1194,“Synthesis and Immunological Characterization of Toll-Like Receptor 7 Agonistic Conjugates.”
- [0824] Chan et al.,Bioconjugate Chem.2011,22,445,“Synthesis and Characterization of PEGylated Toll Like Receptor 7 Ligands.”
- [0825] Chen et al.,US 7,919,498 B2(2011) .
- [0826] Coe et al.,US 9,662,336 B2(2017) .
- [0827] Cortez and Va,Medicinal Chem.Rev.2018,53,481,“Recent Advances in Small-Molecule TLR7 Agonists for Drug Discovery”.
- [0828] Cortez et al.,US 2017/0121421 A1(2017) .
- [0829] Cortez et al.,US 9,944,649 B2(2018) .
- [0830] Dellaria et al.,WO 2007/028129 A1(2007) .
- [0831] Desai et al.,US 9,127,006 B2(2015) .
- [0832] Ding et al.,WO 2016/107536 A1(2016) .
- [0833] Ding et al.,US 2017/0273983 A1(2017) [2017a].
- [0834] Ding et al.,WO 2017/076346 A1(2017) [2017b].
- [0835] Gadd et al.,Bioconjugate Chem.2015,26,1743,“Targeted Activation of Toll-Like Receptors:Conjugation of a Toll-Like Receptor 7 Agonist to a Monoclonal Antibody Maintains Antigen Binding and Specificity.”
- [0836] Graupe et al.,US 8,993,755 B2(2015) .
- [0837] Embrechts et al.,J.Med.Chem.2018,61,6236,“2,4-Diaminoquinazolines as Dual Toll Like Receptor(TLR) 7/8 Modulators for the Treatment of Hepatitis B Virus.”

- [0838] Halcomb et al.,US 9,161,934 B2(2015) .
- [0839] Hashimoto et al.,US 2009/0118263 A1(2009) .
- [0840] He et al.,US 10,487,084 B2(2019) [2019a].
- [0841] He et al.,US 10,508,115 B2(2019) [2019b].
- [0842] Hirota et al.,US 6,028,076(2000) .
- [0843] Holldack et al.,US 2012/0083473 A1(2012) .
- [0844] Isobe et al.,US 6,376,501 B1(2002) .
- [0845] Isobe et al.,JP 2004137157(2004) .
- [0846] Isobe et al.,J.Med.Chem.2006,49 (6) ,2088,“Synthesis and Biological Evaluation of Novel 9-Substituted-8-Hydroxyadenine Derivatives as Potent Interferon Inducers.”
- [0847] Isobe et al.,US 7,521,454 B2(2009) [2009a].
- [0848] Isobe et al.,US 2009/0105212 A1(2009) [2009b].
- [0849] Isobe et al.,US 2011/0028715 A1(2011) .
- [0850] Isobe et al.,US 8,148,371 B2(2012) .
- [0851] Jensen et al.,WO 2015/036044 A1(2015) .
- [0852] Jones et al.,US 7,691,877 B2(2010) .
- [0853] Jones et al.,US 2012/0302598 A1(2012) .
- [0854] Kasibhatla et al.,US 7,241,890 B2(2007) .
- [0855] Koga-Yamakawa et al.,Int.J.Cancer 2013,132(3) ,580,“Intratracheal and oral administration of SM-276001:A selective TLR7 agonist,leads to antitumor efficacy in primary and metastatic models of cancer.”
- [0856] Li et al.,US 9,902,730 B2(2018) .
- [0857] Lioux et al.,US 9,295,732 B2(2016) .
- [0858] Lund et al.,Proc.Nat’l Acad.Sci(USA)2004,101(15) ,5598,“Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7.”
- [0859] Maj et al.,US 9,173,935 B2(2015) .
- [0860] McGowan et al.,US 2016/0168150 A1(2016) [2016a].
- [0861] McGowan et al.,US 9,499,549 B2(2016) [2016b].
- [0862] McGowan et al.,J.Med.Chem.2017,60,6137,“Identification and Optimization of Pyrrolo[3,2-d]pyrimidine Toll-like Receptor 7(TLR7) Selective Agonists for the Treatment of Hepatitis B.”
- [0863] Musmuca et al.,J.Chem.Information&Modeling 2009,49(7) ,1777,“Small-Molecule Interferon Inducers.Toward the Comprehension of the Molecular Determinants through Ligand-Based Approaches.”
- [0864] Nakamura et al.,Bioorg.Med.Chem.Lett.2013,13,669,“Synthesis and evaluation of 8-oxoadenine derivatives as potent Toll-like receptor agonists with high water solubility.”
- [0865] Ogita et al.,US 2007/0225303 A1(2007) .

- [0866] Ota et al.,WO 2019/124500 A1(2019) .
- [0867] Pilatte et al.,WO 2017/216293 A1(2017) .
- [0868] Poudel et al.,US 10,472,361 B2(2019) [2019a] .
- [0869] Poudel et al.,US 10,494,370 B2(2019) [2019b] .
- [0870] Poudel et al.,US 2020/0038403 A1(2020) [2020a] ..
- [0871] Poudel et al.,US 2020/0039986 A1(2020) [2020b] .
- [0872] Purandare et al.,WO 2019/209811 A1(2019) .
- [0873] Pryde,US 7,642,350 B2(2010) .
- [0874] Sato-Kaneko et al.,JCI Insight 2017,2,e93397,“Combination Immunotherapy with TLR Agonists and Checkpoint Inhibitors Suppresses Head and Neck Cancer” .
- [0875] Smits et al.,The Oncologist 2008,13,859,“The Use of TLR7 and TLR8 Ligands for the Enhancement of Cancer Immunotherapy” .
- [0876] Vasilakos and Tomai,Expert Rev.Vaccines 2013,12,809,“The Use of Toll-like Receptor 7/8 Agonists as Vaccine Adjuvants” .
- [0877] Vernejoul et al.,US 2014/0141033 A1(2014) .
- [0878] Young et al.,US 10,457,681B2(2019) .
- [0879] Yu et al.,PLoS One 2013,8(3),e56514,“Toll-Like Receptor 7 Agonists: Chemical Feature Based Pharmacophore Identification and Molecular Docking Studies.”
- [0880] Zhang et al.,Immunity 2016,45,737,“Structural Analysis Reveals that Toll-like Receptor 7Is a Dual Receptor for Guanosine and Single-Stranded RNA.”
- [0881] Zhang et al.,WO 2018/095426 A1(2018)>
- [0882] Zurawski et al.,US 2012/0231023 A1(2012) .
- [0883] 前述具体实施方式包括主要或专门涉及本发明的特定部分或方面的段落。应理解,这是为了清楚和方便,特定特征可能在不只是公开它的段落中是相关的,并且本文中的公开内容包括在不同段落中找到的信息的所有适当组合。类似地,尽管本文中的描述涉及本发明的具体实施方案,但应理解,在特定实施方案的背景下公开了具体特征的情况下,也可以在另一个实施方案的背景下、与另一个特征组合或总体上在本发明中在适当的程度上使用这样的特征。
- [0884] 此外,虽然已经根据某些优选实施方案具体描述了本发明,但本发明不限于此类优选实施方案。而是,本发明的范围由所附权利要求限定。