



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107344941 B

(45)授权公告日 2020.04.21

(21)申请号 201710514118.X

佐藤高志 肖恩·席勒

(22)申请日 2013.05.31

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理

(65)同一申请的已公布的文献号

有限责任公司 11204

申请公布号 CN 107344941 A

代理人 王达佐 洪欣

(43)申请公布日 2017.11.14

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

C07D 487/04(2006.01)

61/654,023 2012.05.31 US

A61K 31/519(2006.01)

A61P 19/04(2006.01)

(62)分案原申请数据

审查员 黄清昌

201380040379.2 2013.05.31

(73)专利权人 卫材R&D管理有限公司

地址 日本东京

(72)发明人 林恩·D·哈金斯 罗什·伯伊文

埃里克·卡尔森 远藤笃史

汉斯·汉森 萨利·伊什扎卡

马修·麦基 希瑞达拉·纳拉扬

权利要求书7页 说明书85页

序列表1页 附图70页

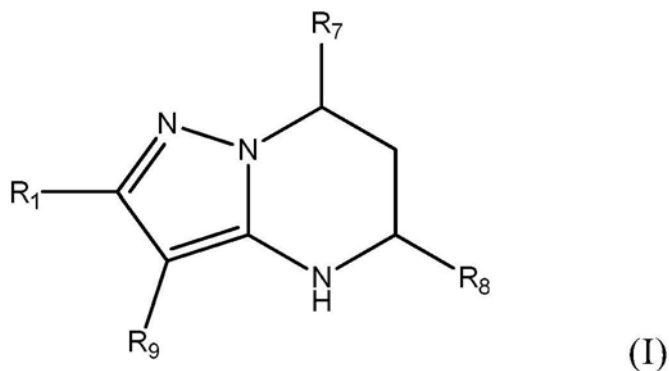
(54)发明名称

四氢吡唑并嘧啶化合物

(57)摘要

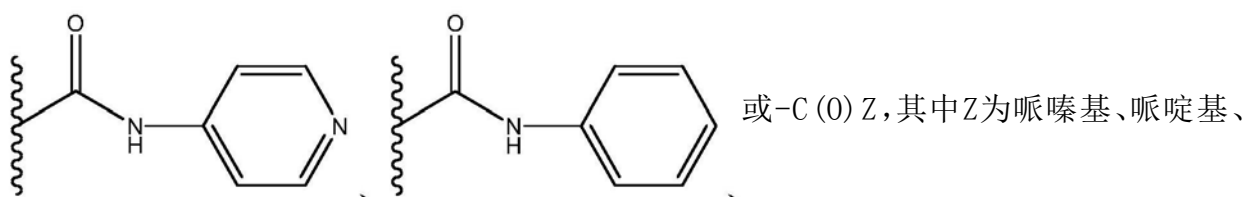
本公开的实施方案涉及充当Toll样受体7和/或8的拮抗剂或抑制剂的四氢吡唑并嘧啶化合物和它们在用于治疗有效系统性红斑狼疮(SLE)和狼疮性肾炎的药物组合物中的用途。

1. 式 (I) 的化合物, 或其药物可接受的盐,



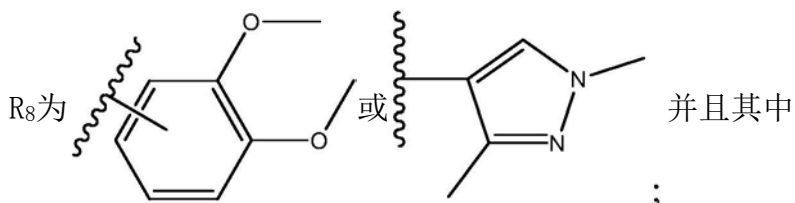
其中

R₁为3-乙基噻唑-5-基、1-甲基磺酰基哌啶-4-基、



哌啶基丙基、(S)-2-(3-乙基哌嗪-1-基)、任选取代的吡咯并吡咯基、哌啶-3-基氨基; 并且其中

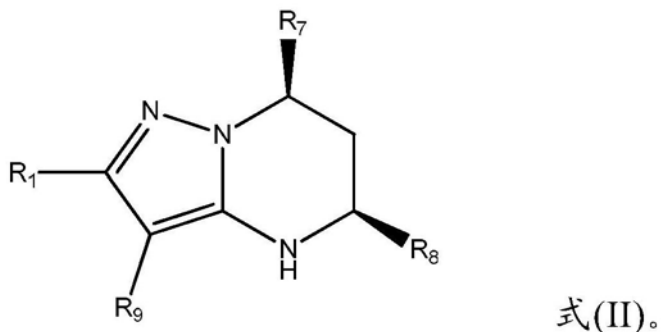
R₇为-CF₃或-CHF₂; 并且其中



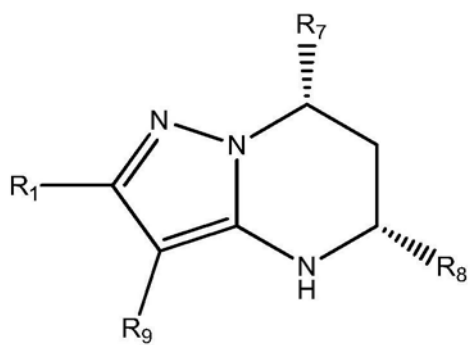
R₉为Br、Cl、F、I, 或H;

其中任选取代的取代基选自具有一至四个碳原子的直链、支链或环状的饱和烃、甲氧基、-OH、-NH₂、-CH₂-NH-CH₃、-OCH₂CH₂CH₃、或-OCH(CH₃)₂。

2. 如权利要求1所述的化合物或其药物可接受的盐, 其具有式 (II) 中表示的绝对立体化学:

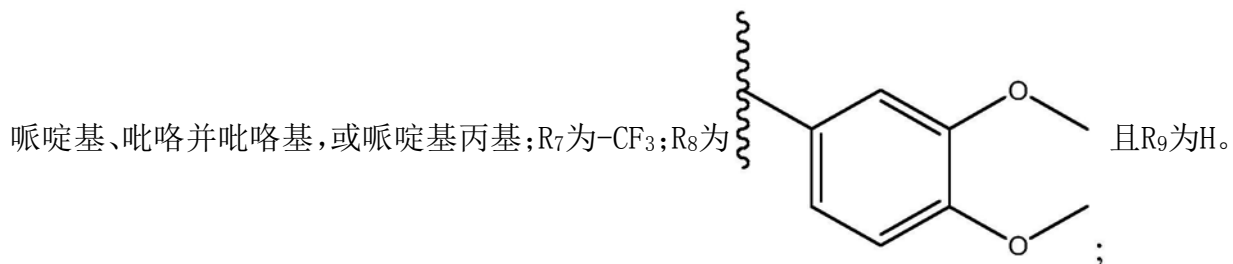


3. 如权利要求1所述的化合物或其药物可接受的盐, 其具有式 (III) 中表示的绝对立体化学:

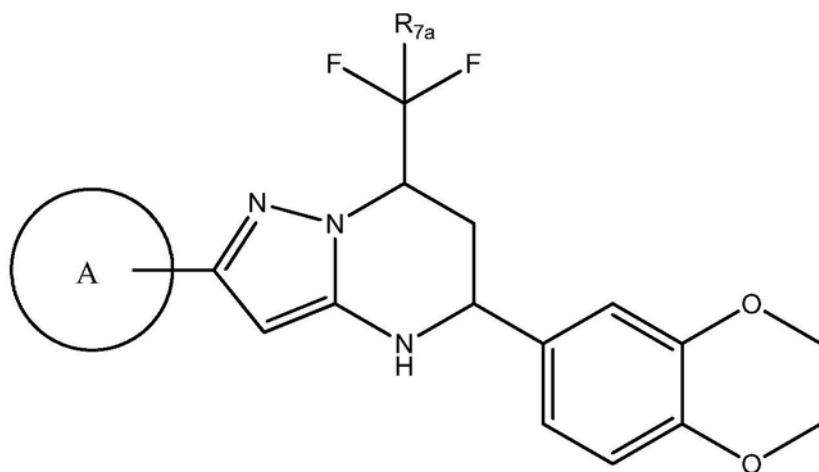


式(III)。

4. 如权利要求1所述的化合物或其药物可接受的盐,其中R₁为-C(O)Z,其中Z为哌嗪基、

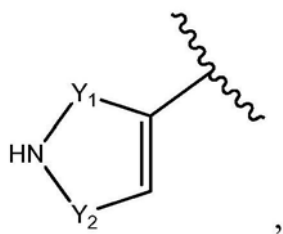


5. 式(IV)的化合物或其药物可接受的盐:



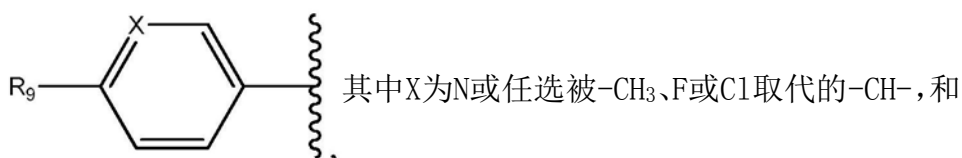
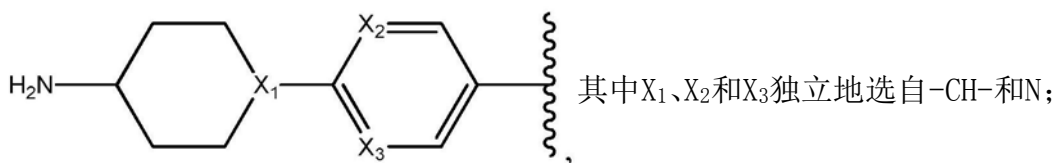
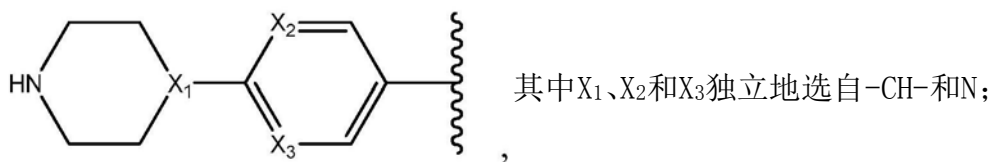
式(IV)

其中:R_{7a}为H或F;并且其中
环A为:



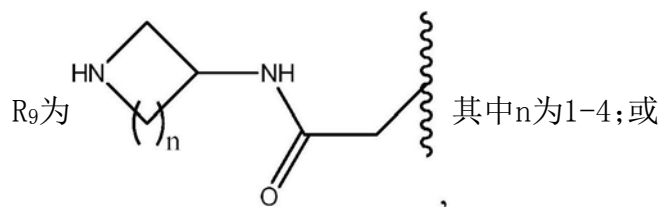
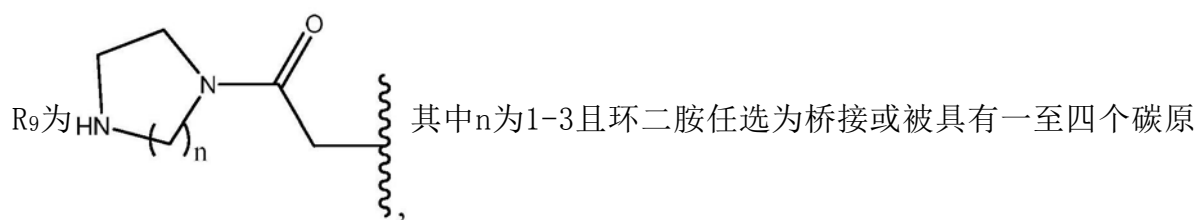
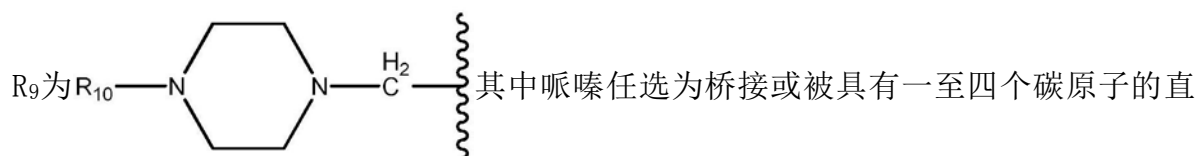
其中Y₁和Y₂独立地选自-CH₂-和-CH₂CH₂-,并且其中各个Y₁和Y₂任选

被C₁₋₃烷基取代;

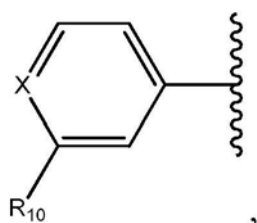
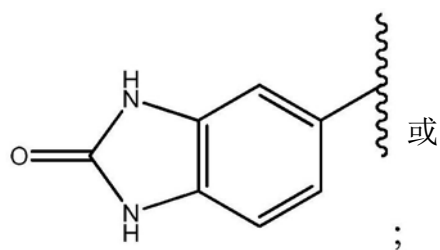


其中 R_9 为-C(O)Z，其中Z为2,3-二羟基丙胺；任选为桥接或任选在碳原子处被具有一至四个碳原子的直链、支链或环状的饱和烃取代的五至七元环二胺；七至十元二环二胺；七至十一元螺二胺；被任选被-NH₂取代的四至七元环胺取代的-NH；-OH；-CH₂NHR，其中R为H或具有一至四个碳原子的直链、支链或环状的饱和烃；被任选被-NH₂取代的七至十一元螺烷烃取代的-NH；或

R_9 为CH₃NHC(O)-，且与 R_9 连接的芳基环上的碳原子被-CH₃、F或Cl之一取代； R_9 为(CH₃)₂CHNHC(O)-，且与 R_9 连接的芳基环上的碳原子被-CH₃、F或Cl之一取代；或 R_9 为(CH₃)₃CNHC(O)-且与 R_9 连接的芳基环上的碳原子被-CH₃、F或Cl之一取代；或者



R_9 为-NHC(O)NH₂、-CH₂C(O)NH-四至七元环胺；-CH₂-C(O)-七至十元二环二胺；以及四至七元环胺-CH₂C(O)NH₂；或



其中X为N或-CH-, 其中在芳香环上的氢任选被-CH₃、F或Cl取代, 并且

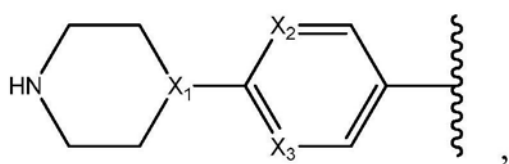
其中

R₁₀为-C(=O)NH-四至七元环胺;-C(=O)-七至十元二环二胺;-C(=O)-七至十一元螺二胺;吡唑;噁二唑的碳原子任选被-CH₃取代的[1,2,4]噁二唑;-NHC(=O)CH₃;-CH₂-哌嗪;-CH₂-甲基哌嗪;-C(=O)-五至七元环二胺;-C(=O)NHCH₂-氮杂环丁烷;或-C(=O)-五至七元环胺, 其中所述胺包括-NH₂取代基;或

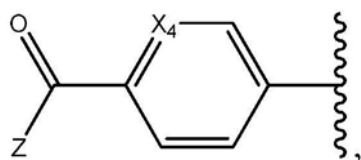
氰基苯基;异喹啉;在4'位被-NH₂取代的环己烯;1,4-二甲基吡唑-5-基;1,6-二甲基吡唑-5-基;在4'位被螺哌啶取代的环己烯;1-哌啶并吡唑;或邻甲氧基吡啶。

6. 如权利要求5所述的化合物或其药物可接受的盐, 其中所述化合物或其药物可接受的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于100nM的IC₅₀值, 其中对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定: (1) 在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37°C、5%CO₂下孵育2天; (2) 加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟; (3) 在3μg/ml下加入CL097 (InvivoGen) 并将细胞孵育约20小时; 和 (4) 通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

7. 如权利要求5所述的化合物或其药物可接受的盐, 其中环A为:

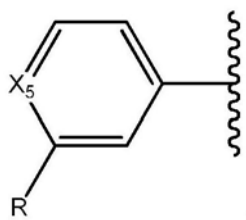


其中X₁、X₂和X₃独立地选自-CH-和N;



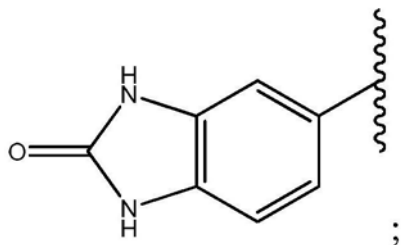
其中X₄为-CH-或N; 并且其中Z为哌嗪、任选桥接或在碳上被-

CH₃取代; 六氢吡咯并[3,4]吡咯; 由被-NH₂取代的四至七元环胺取代的-NH; 或-NH-四至七元环胺;



其中X₅为-CH-或N;并且其中R为吡唑;噁二唑的碳任选被-CH₃取代的

[1,2,4]噁二唑;或-C(=O)NH-四至七元环胺;

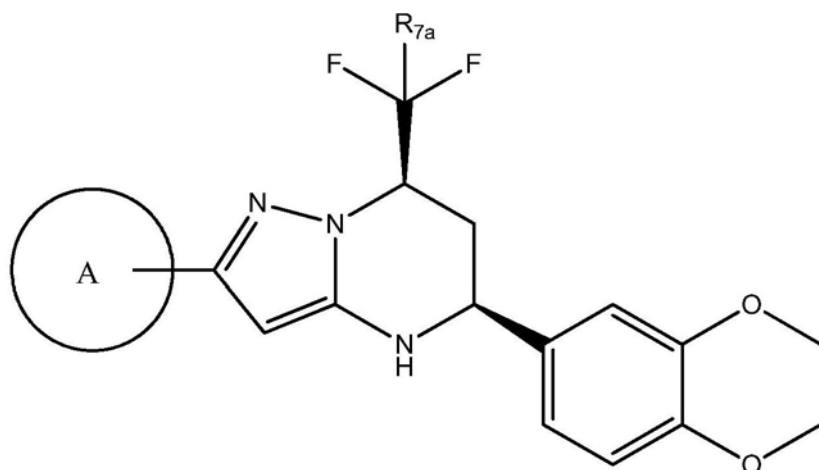


1,4-二甲基吡唑-5-基;1,6-二甲基吡唑-5-基;1-哌啶并吡唑;在4'位被-NH₂取代的环己烯;在4'位被螺哌啶取代的环己烯;或2-甲氧基吡啶-4-基。

8.如权利要求7所述的化合物或其药物可接受的盐,其中所述化合物或其药物可接受的盐对人TLR7受体具有小于或等于100nM的IC₅₀值,其中对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定:(1)在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天;(2)加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟;(3)在3μg/ml下加入CL097 (InvivoGen)并将细胞孵育约20小时;和(4)通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

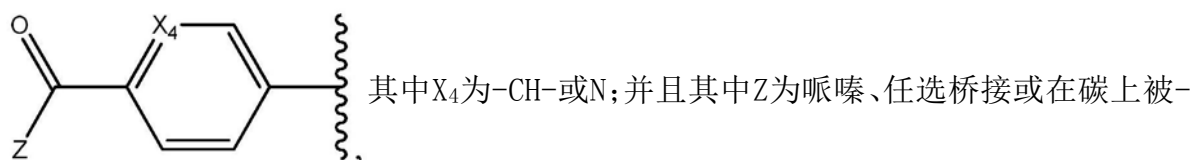
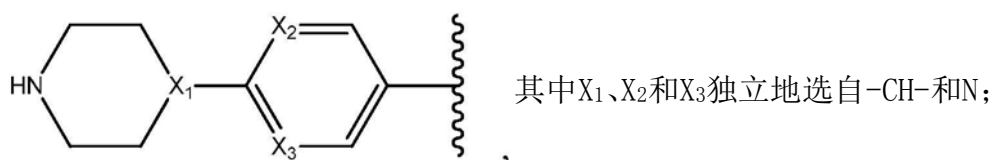
9.如权利要求7所述的化合物或其药物可接受的盐,其中所述化合物或其药物可接受的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于20nM的IC₅₀值,其中对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定:(1)在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天;(2)加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟;(3)在3μg/ml下加入CL097 (InvivoGen)并将细胞孵育约20小时;和(4)通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

10.如权利要求5所述的化合物或其药物可接受的盐,其具有式(V)中表示的绝对立体化学:

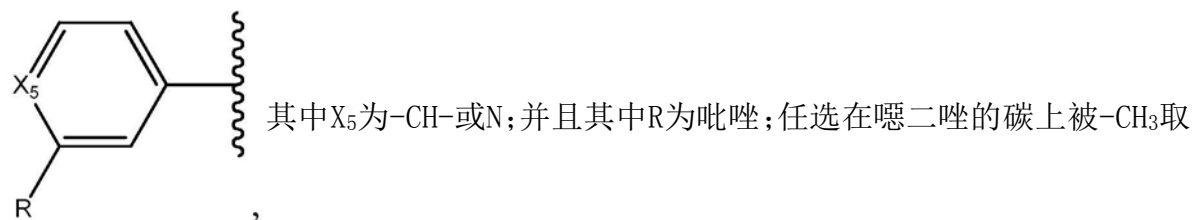


式(V)

其中： R_{7a} 为H或F；其中环A为：

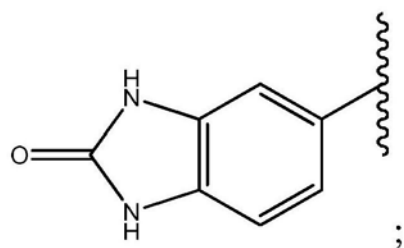


CH_3 取代；六氢吡咯并[3,4]吡咯；由被 $-NH_2$ 取代的四至七元环胺取代的-NH；或-NH-四至七元环胺；



代的[1,2,4]噁二唑；或-C(=O)-NH-四至七元环胺；

1,4-二甲基吡唑-5-基；1,6-二甲基吡唑-5-基；



1-哌啶并吡唑；在4'位被 $-NH_2$ 取代的环己烯；在4'位被螺哌啶取代的环己烯；或2-甲氧基吡啶-4-基。

11. 如权利要求10所述的化合物或其药物可接受的盐，其中所述化合物或其药物可接受的盐对在HEK-293细胞系中的人TLR7受体具有小于或等于100nM的 IC_{50} 值，其中对在HEK-

293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定：(1) 在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天；(2) 加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟；(3) 在3μg/ml下加入CL097 (InvivoGen) 并将细胞孵育约20小时；和(4) 通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

12. 如权利要求10所述的化合物或其药物可接受的盐，其中所述化合物或其药物可接受的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于20nM的IC₅₀值，其中对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定：(1) 在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天；(2) 加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟；(3) 在3μg/ml下加入CL097 (InvivoGen) 并将细胞孵育约20小时；和(4) 通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

13. 权利要求1-12中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐在制备用于拮抗TLR7的药物中的用途。

14. 权利要求1-12中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐在制备用于拮抗TLR8的药物中的用途。

15. 药物组合物，其包含至少一种权利要求1-12中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐和至少一种药物可接受的载体。

16. 权利要求1-12中任一项所述的化合物或其药物可接受的盐在制备用于治疗系统性红斑狼疮的药物中的用途。

17. 如权利要求16所述的用途，其中所述化合物以药物可接受的盐的形式给予。

四氢吡唑并嘧啶化合物

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本申请要求2012年5月31日提交的第61/654,023号美国临时专利申请的权益。所述申请通过引用并入本文。

[0003] 背景

[0004] 公开领域

[0005] 本公开的实施方案涉及四氢吡唑并嘧啶(“THPP”)化合物和包含一种或多种那些化合物作为活性成分的药剂。更具体地,本公开的实施方案涉及充当Toll样受体(TLR)7和8的拮抗剂或抑制剂的THPP化合物,和它在针对系统性红斑狼疮(SLE)和狼疮性肾炎的治疗有效的药物组合物中的用途。

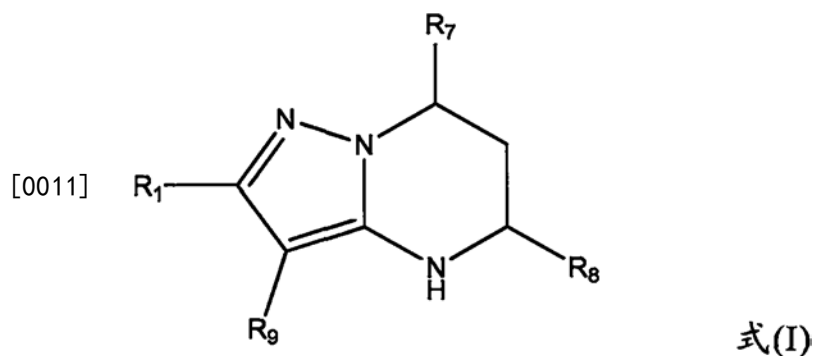
[0006] 相关技术描述

[0007] 系统性红斑狼疮(SLE)和狼疮性肾炎是特征在于炎症和组织损伤的自身免疫性疾病。例如,SLE可导致对皮肤、肝、肾、关节、肺和中枢神经系统的损伤。SLE患者可经历诸如极度疲劳、疼痛和关节肿胀、不明原因发热、皮疹和肾功能障碍的一般症状。由于患者之间的器官损害不同,因此症状可能不同。SLE主要是年轻女性的疾病,高峰出现在年龄为15-40岁之间并且在女性与男性中患病率高约10倍。

[0008] 目前SLE的治疗通常包括诸如羟基氯喹、泼尼松和环磷酰胺的免疫调节药物。所有这些药物可具有剂量限制副作用。

[0009] 公开简述

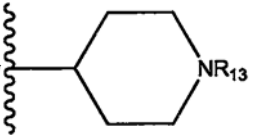
[0010] 本公开的实施方案提供了用于预防或治疗特征在于患者中的Toll样受体7或8激活的疾病或疾病状态的化合物和方法。一个实施方案特征为式(I)的化合物或者其药物可接受的盐、或其立体异构体或其立体异构体的混合物:



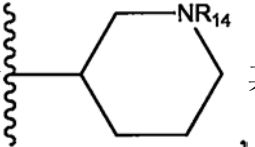
[0012] 其中

[0013] R₁为任选取代的哌啶基、任选取代的吡啶基、任选取代的吡咯基、任选取代的吡咯烷基、任选取代的噻唑基、1,4-二甲基噻唑基、2-乙基-4-甲基噻唑基、2-异丙基噻唑-5-基、噻唑基、3-乙基噻唑-5-基、1-甲基磺酰基哌啶-4-基,或

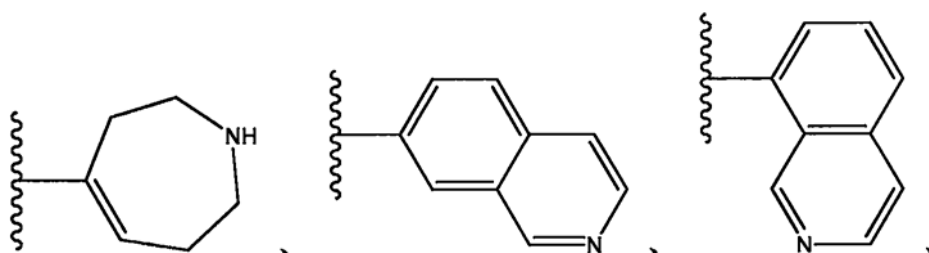
[0014] R₁为-C(O)Z,其中Z为任选取代的哌嗪基、任选取代的吡啶基、任选取代的吡咯基、(S)-2-(3-乙基哌嗪-1-基)、任选取代的吡咯并吡咯基、哌啶-3-基氨基,或

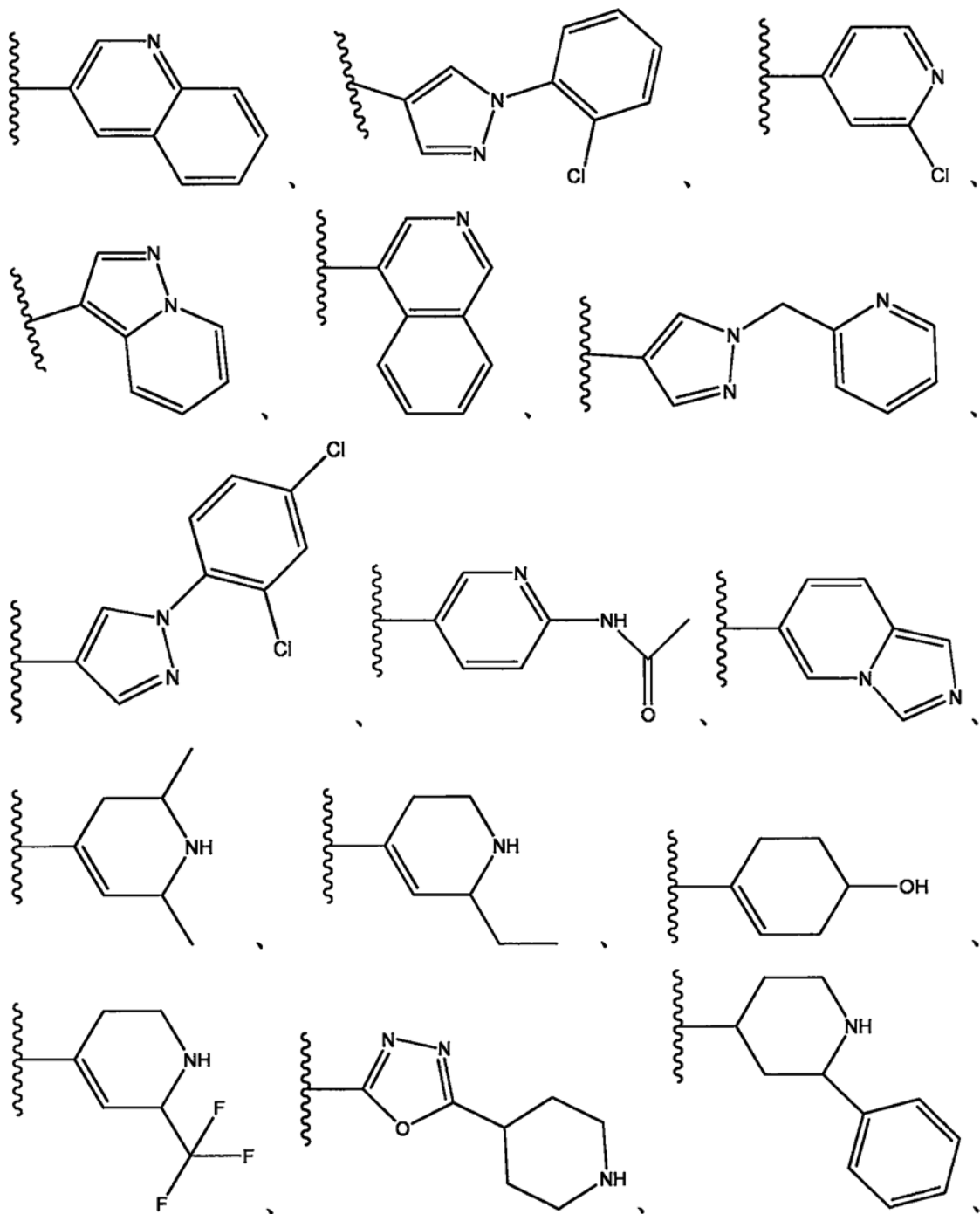
[0015] R_1 为  , 其中 R_{13} 为H、任选取代的吡唑基、任选取代的咪唑基、苄基、

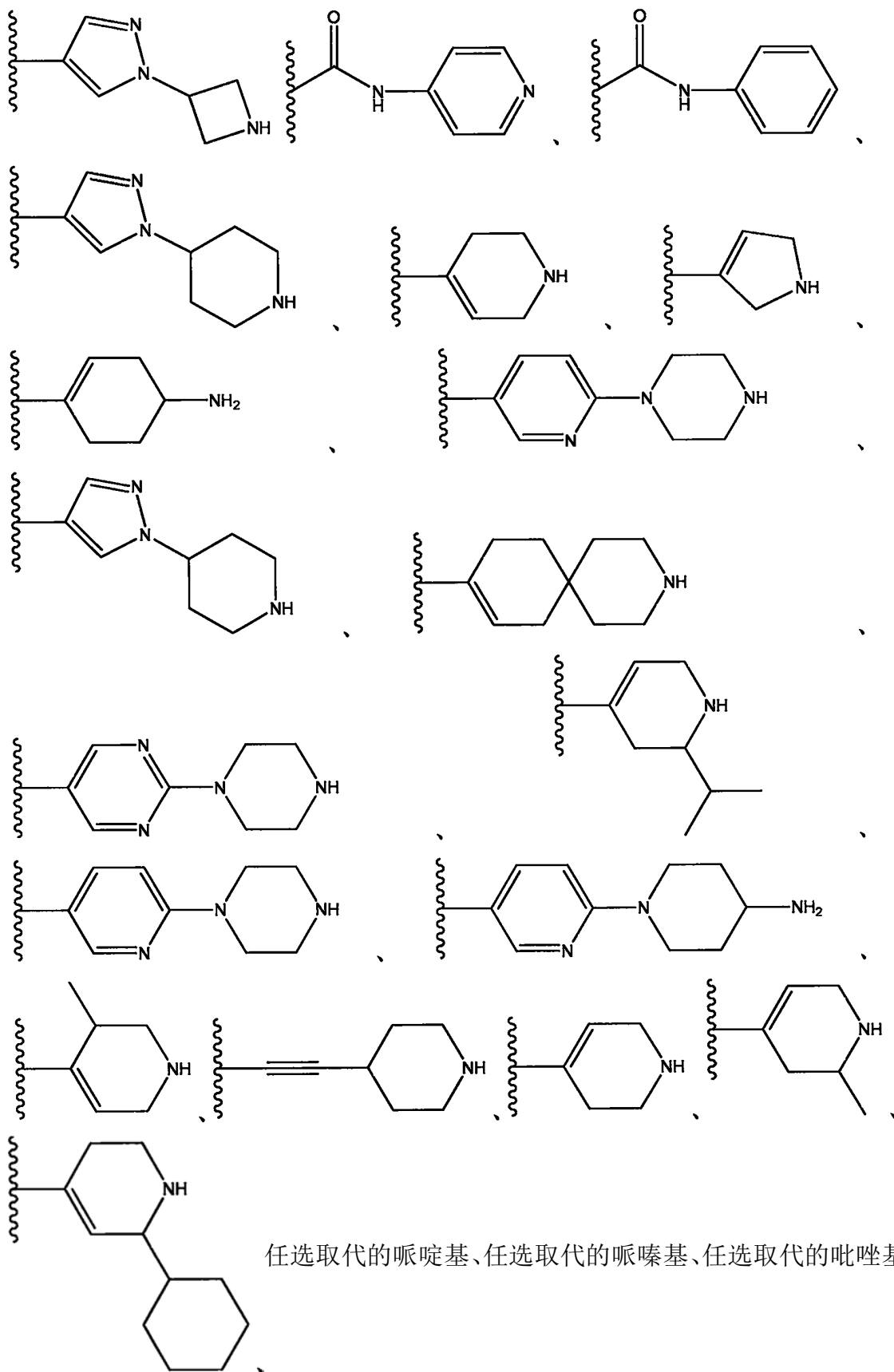
3-羟基丁基、3-(二甲基氨基)-2,2-二甲基丙基、酰胺、甲基酰胺、乙基酰胺、任选取代的吡啶基、甲基磺酰基、(1-甲基咪唑-2-基)甲基、(1,5-二甲基咪唑-4-基)甲基、(1-甲基吡咯-2-基)甲基,或其中 R_{13} 为C(O)W,其中W为-N(CH₃)₂、任选取代的哌啶基、任选取代的哌嗪基、任选取代的吡唑基、任选取代的吡咯基,或任选取代的吗啉基,或

[0016] R_1 为  , 其中 R_{14} 为-C(O)CH₃、H或(1-甲基吡咯-2-基)甲基,或

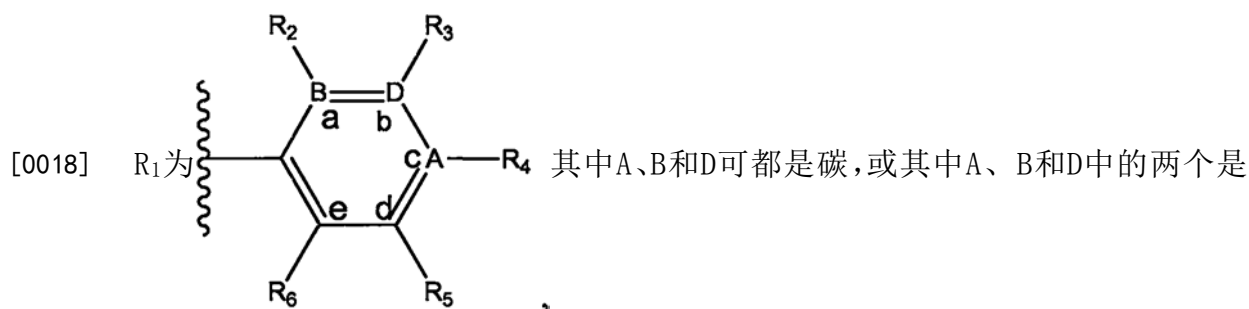
[0017] R_1 为







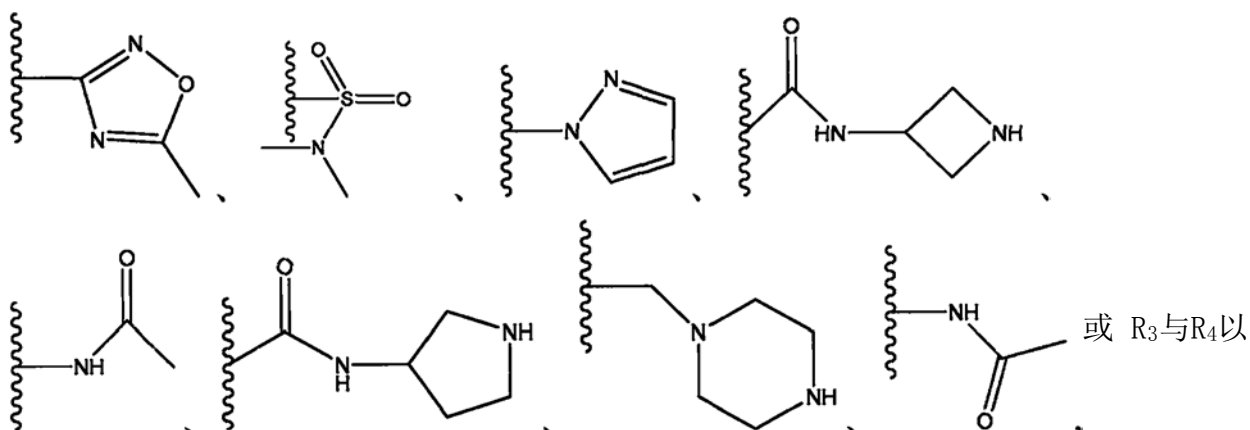
代的吡咯基,或



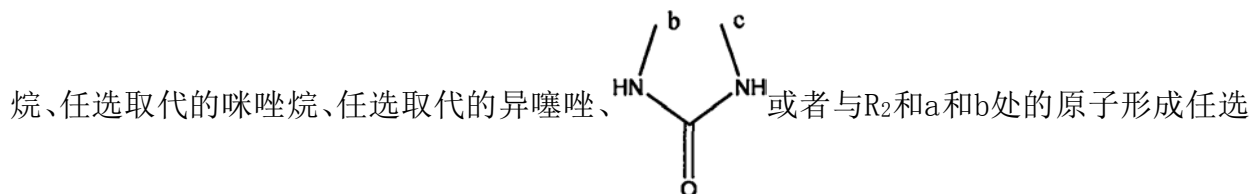
碳并且其他是氮,或其中A、B和D之一是碳并且其余两个是氮;并且当A是氮时,R₄不存在,当B是氮时,R₂不存在,并且当D是氮时,R₃不存在;并且其中

[0019] R₂为H、-CH₃,或F,或R₂与R₃以及位置a和b处的原子形成任选取代的吡啶或吡唑;并且其中

[0020] R₃为H、F、Cl、-CN、-CH₃、-OCH₃、-OH、-NH₂、甲基磺酰基、

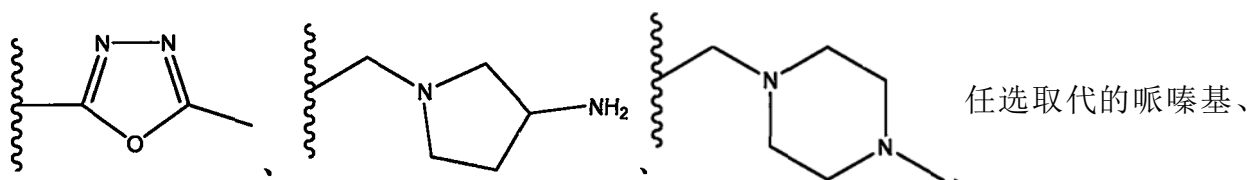


及b和c处的原子形成任选取代的苯、任选取代的咪唑、任选取代的吡唑、任选取代的吡唑

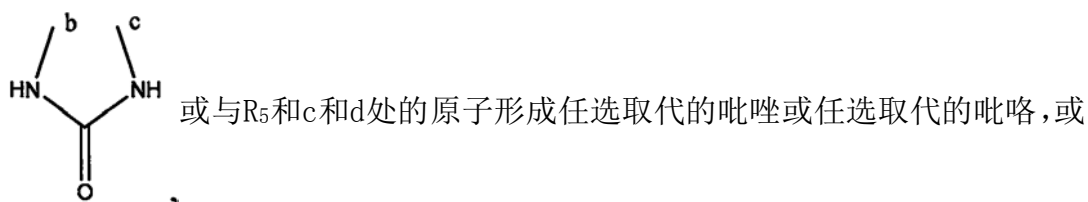


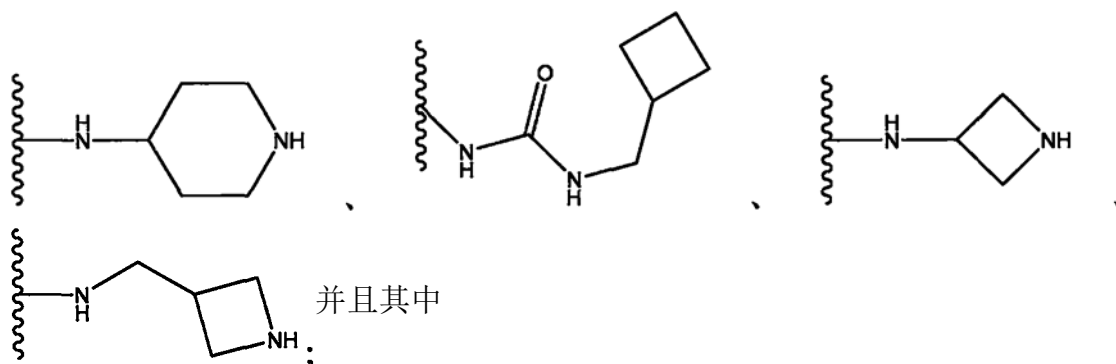
取代的吡啶或任选取代的吡唑;并且其中

[0021] R₄为F、-CN、-OCH₃、-OEt、H、Cl、Br、-NH-C(=O)-CH-(CH₃)₂、-N(CH₃)₂、-CH₃、-CH₂OH、



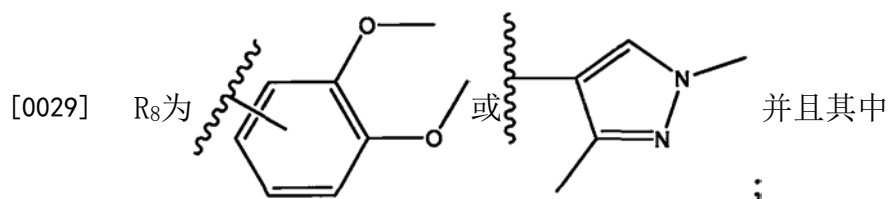
任选取代的哌啶基、任选取代的吡唑基、任选取代的吡咯基、4-羟基哌嗪-1-基、不通过氮与苯基连接的任选取代的哌啶基,或R₄与R₃以及b和c处的原子形成任选取代的吡唑环或





[0027] R_6 为H、F、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CF}_3$,或 R_6 与 R_5 以及c和d处的原子形成任选取代的苯或任选取代的吡啶;并且其中

[0028] R_7 为H、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CF}_2\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_3$,或 $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$;并且其中



[0030] R_9 为Br、Cl、F、I,或H。

[0031] 在本公开的一些实施方案中,应用一个或多个条件。这些条件通常排除一种或多种可能另外包含在规定种类物内的化合物。当评论下列条件时,应当理解相反情况下也是真实的。例如,如果条件指出当 R_4 为F时:则 R_2 不是 CH_3 和F,那么当选择 R_2 为 $-\text{CH}_3$ 或F时,则 R_4 不是F也是成立的。还注意到当以一系列表述提出条件时,后续的表述并不相关,除非在文件的其他地方以条件形式直接陈述。例如,如果条件指出当 R_4 为F时: R_2 不是 $-\text{CH}_3$ 和F;并且 R_3 不是 $-\text{CH}_3$,则不应当单从该表述得出如下暗示: R_3 为 $-\text{CH}_3$ 时,则 R_2 不是 $-\text{CH}_3$ 和F。

[0032] 可在本文提供的各个实施方案中应用一个或多个下列条件:

[0033] 当 R_4 为F时: R_2 不是 $-\text{CH}_3$ 和F; R_3 不是 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、F、Cl和 $-\text{OCH}_3$; R_5 不是 $-\text{CH}_3$ 、F、Cl和 $-\text{OCH}_3$;且 R_6 不是 $-\text{CH}_3$ 和F;

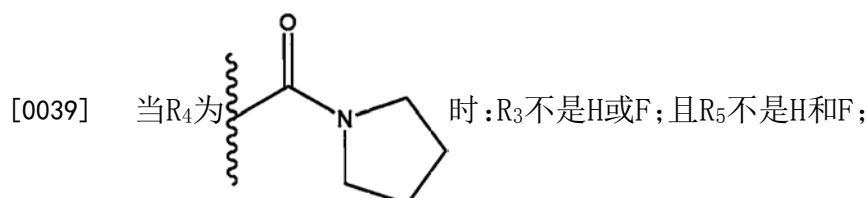
[0034] 当 R_4 为Cl时: R_2 不是F; R_3 不是F和 $-\text{CN}$; R_5 不是F、 $-\text{CN}$ 和 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$; R_6 不是 $-\text{CF}_3$ 和F; D 不是氮;且 R_5 为 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 或 R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 之一为 $-\text{CH}_3$;

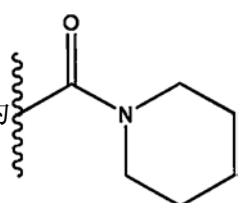
[0035] 当 R_4 为 $-\text{CH}_3$ 时: R_3 不是F; R_5 不是F;且 R_5 和 R_6 连同d和e处的原子不形成嘧啶;

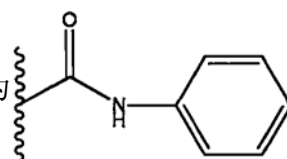
[0036] 当 R_4 为 $-\text{OCH}_3$ 时: R_2 不是F; R_3 不是Cl和 $-\text{OCH}_3$; R_5 不是Cl和 $-\text{OCH}_3$;且 R_6 不是F和 $-\text{CF}_3$;

[0037] 当 R_4 为 $-\text{CN}$ 时: R_2 不是F; R_3 不是Cl、F和 $-\text{OCH}_3$; R_5 不是Cl、F和 $-\text{OCH}_3$;且 R_6 不是F;

[0038] 当 R_4 为 $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 时: R_3 不是Cl和F; R_5 不是Cl和F;且 R_6 不是 $-\text{CF}_3$;



[0040] 当 R_4 为时:至少 R_2 、 R_3 、 R_5 和 R_6 之一不是H;

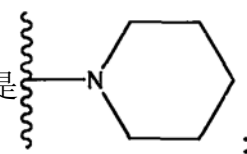
[0041] 当 R_4 为时: R_3 不是F;且 R_5 不是F;

[0042] 当 R_2 为F时: R_3 不是 $-OCH_3$ 或F; R_5 不是 $-CN$;且至少 R_3 、 R_4 、 R_5 和 R_6 之一不是H;

[0043] 当 R_2 为Cl时: R_3 不是F;

[0044] 当 R_2 为 $-CH_3$ 时: R_3 不是Cl;至少 R_3 、 R_4 、 R_5 和 R_6 之一不是 $-CH_3$;且 R_4 和 R_5 与c和d处的原子不形成吡唑基;

[0045] 当 R_3 为 $-OCH_3$ 时: R_2 不是F;且 R_6 不是F;

[0046] 当 R_3 为F时: R_2 不是 $-OCH_3$;且X不是;

[0047] 当 R_3 为Cl时: R_5 不是Cl; R_{11} 不是苄基;且 R_{12} 不是苄基;

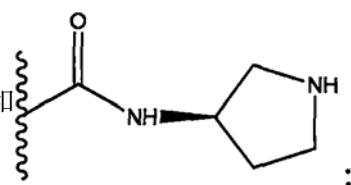
[0048] 当 R_5 为Cl时, R_6 不是 $-CH_3$; R_{11} 不是苄基;且 R_{12} 不是苄基;

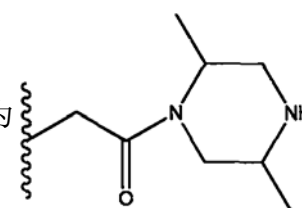
[0049] 当 R_5 为F或 $-OCH_3$ 时: R_6 不是F;

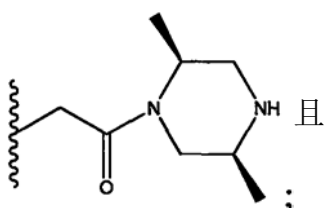
[0050] 当 R_6 为F时:至少 R_2 、 R_3 、 R_4 和 R_5 之一不是H;

[0051] 当 R_3 和 R_5 为H时: R_{11} 不是环丙基;且 R_{12} 不是环丙基;

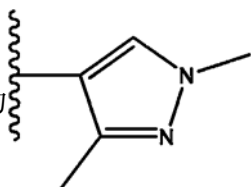
[0052] 当 R_9 为Cl时, R_1 不是酰胺基;

[0053] 当B为氮且A和D为碳时: R_4 可不是-CN和;

[0054] 当 R_7 为 $-CHF_2$ 且 R_4 为时,则 R_4 不具有绝对立体化学

且

[0055] 其中,当R₈为



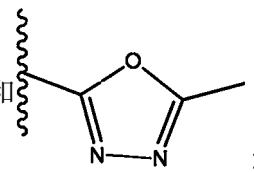
时,则下列条件有效:

[0056] 当R₄为F时:至少R₂、R₃、R₅和R₆之一不是H;R₃不是C(O)N(CH₃)₂;且R₅不是C(O)N(CH₃)₂;

[0057] 当R₄为Cl时:至少R₂、R₃、R₅和R₆之一不是H;

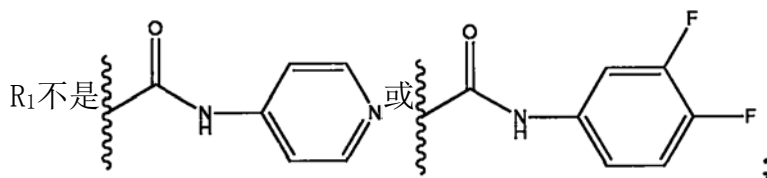
[0058] 当R₃为F时:R₄不是C(O)NHCH₂CH₂CH₂CH₃、C(O)N(CH₃)₂、C(O)NHCH₂CH₂CH₃和C(O)NHC(CH₃)₃;

[0059] R₄不是C(O)NHCH₂CH₂CH₂OH、C(O)NHCH(CH₃)₂、-CN和

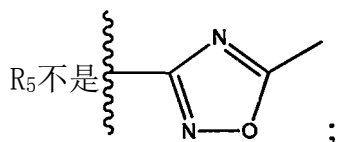


;

[0060]

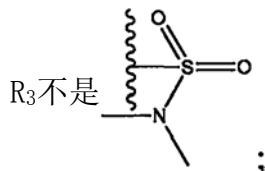


[0061]



;

[0062]



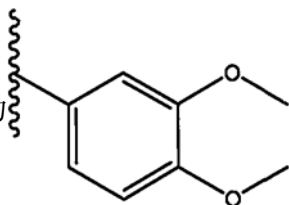
;

[0063] 当R₂为F时:R₅不是-C(O)NH₂;

[0064] 当R₂为-CH₃时,R₄和R₅与c和d处的原子不形成吡唑;且

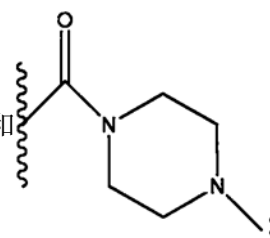
[0065] 当B为氮时,R₃和R₄与b和c处的原子不形成任选取代的咪唑;且

[0066] 其中,当R₈为



时,则下列条件有效:

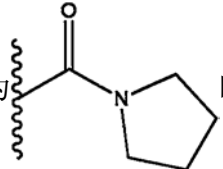
[0067] R₄不是-CH₃、-C(O)NHCH₂CH₂OH、-NHC(O)CH(CH₃)₂和



;

[0068] 当R₄为C(O)NHCH₃时,至少R₂、R₃、R₅和R₆之一不是H;

[0069] 当R₄为-OCH₃时:R₃不是F和-CH₃;且R₅不是F和-CH₃;

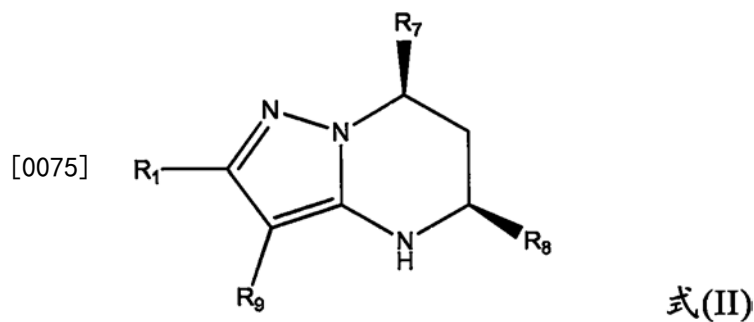
[0070] 当 R_4 为时： R_3 不是Cl；且 R_5 不是Cl；

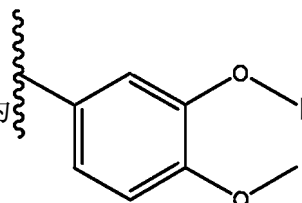
[0071] 当 R_4 为 $-C(O)NHCH(CH_3)_2$ 或 $-C(O)N(CH_2CH_3)_2$ 时：至少 R_3 和 R_5 之一不是H；

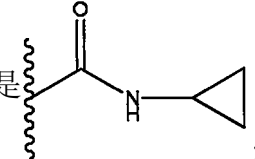
[0072] R_5 不是 $-C(O)NH_2$ ；且

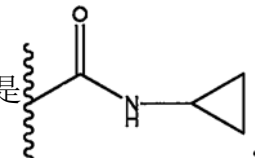
[0073] R_6 不是 $-CF_3$ 。

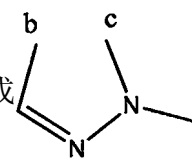
[0074] 在另外的实施方案中，式(I)的化合物具有式(II)中表示的绝对立体化学：

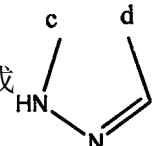


[0076] 其条件是，当 R_8 为时，下列条件有效：

[0077] 当 R_3 为F时， R_4 不是；

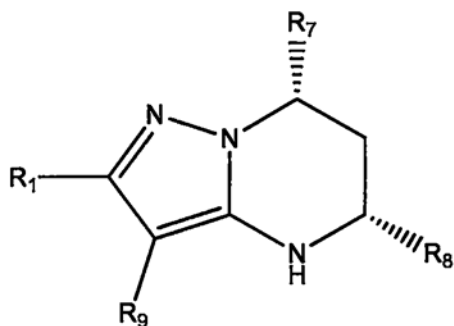
[0078] 当 R_5 为F时， R_4 不是；

[0079] 当 R_5 为 $-CH_3$ 时， R_3 和 R_4 与b和c处的原子不形成 且

[0080] 当 R_3 为 $-CH_3$ 时， R_4 和 R_5 与c和d处的原子不形成。

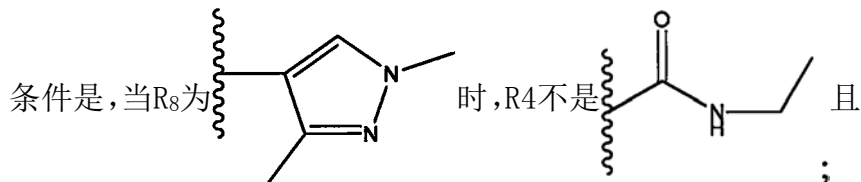
[0081] 在另外的实施方案中，式(I)的化合物具有式(III)中表示的绝对立体化学：

[0082]

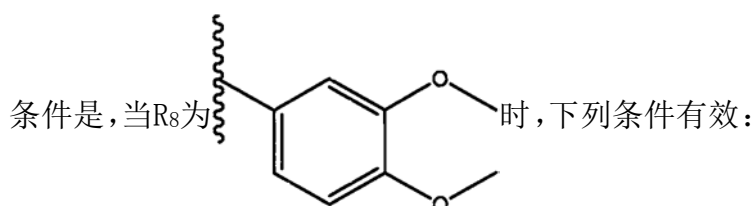


式(III)

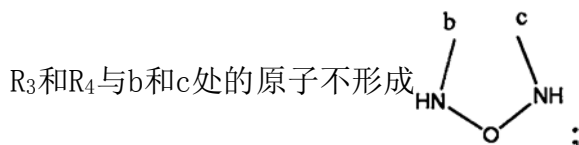
[0083]



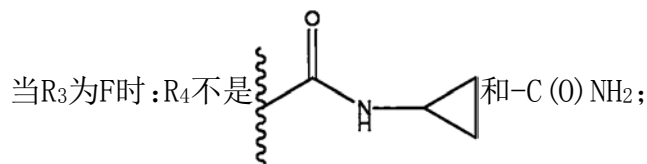
[0084]

[0085] 当R₂为-CH₃时:R₃和R₄与b和c处的原子不形成任选取代的吡唑基;[0086] 当R₂为-CH₃时:R₄和R₅与c和d处的原子不形成任选取代的吡唑基;[0087] 当R₂为F时:R₄不是C(O)NH₂;

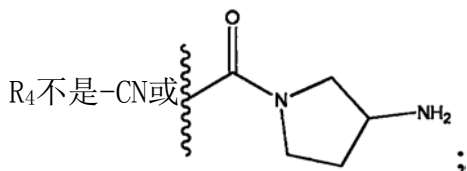
[0088]

[0089] 当R₃为Cl时:R₄不是-C(O)NHCH₃和-C(O)NH₂;[0090] R₃不是吡唑基;

[0091]

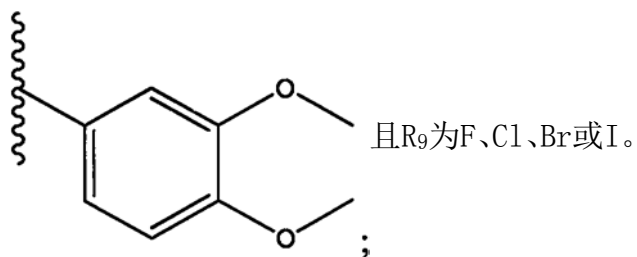
[0092] 当R₃为-CH₃时:R₄和R₅与c和d处的原子不形成任选取代的吡唑基;[0093] R₄不是-C(O)NHCH₂CH₂CH₂OH;

[0094]

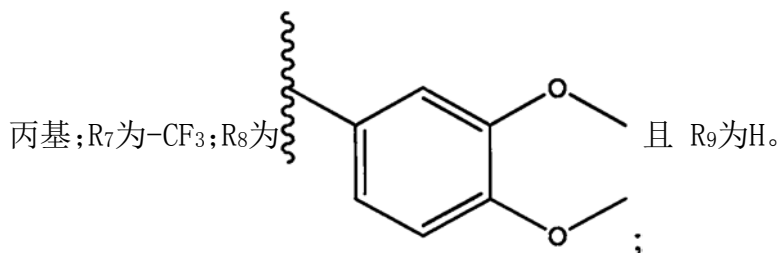
[0095] 当R₅为-CH₃时,R₃和R₄与b和c处的原子不形成任选取代的吡唑基;[0096] 当R₅为Cl时:R₄不是-C(O)NH₂;[0097] 当R₅为F时:R₄不是C(O)NH₂;[0098] R₅不是吡唑基;[0099] 当R₆为-CH₃时:R₄和R₅与c和d处的原子不形成任选取代的吡唑基;且

[0100] 当B为氮时, R_4 不是 $-C(O)NHCH_3$ 。

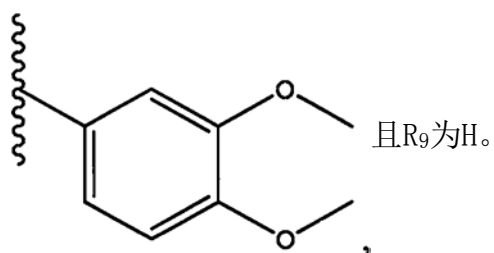
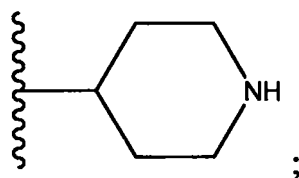
[0101] 在一个实施方案中, R_1 为哌啶基或吡啶基; R_7 为 $-CF_3$; R_8 为



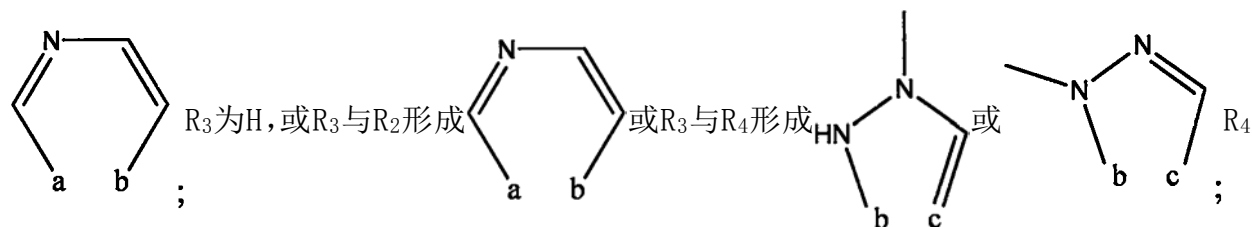
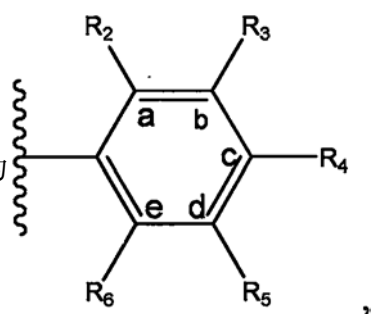
[0102] 在另一实施方案中, R_1 为 $-C(O)Z$, 其中Z为哌嗪基、哌啶基、吡咯并吡咯基或哌啶基

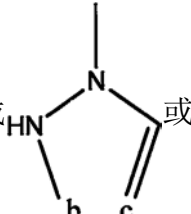
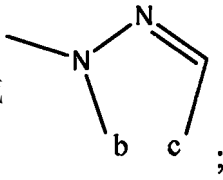


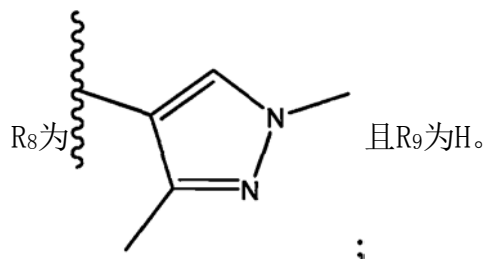
[0103] 在另一实施方案中, R_1 为

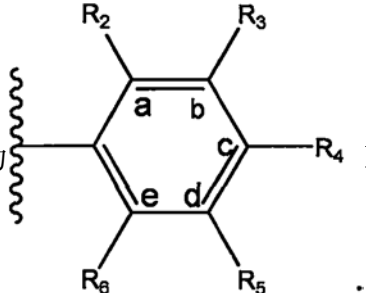


[0104] 在另一实施方案中, R_1 为

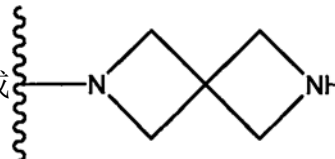


为H、-CH₃、-NHC(O)NH₂,或R₄与R₃形成  或  ; R₅为H;R₆为H;R₇为-CF₃;

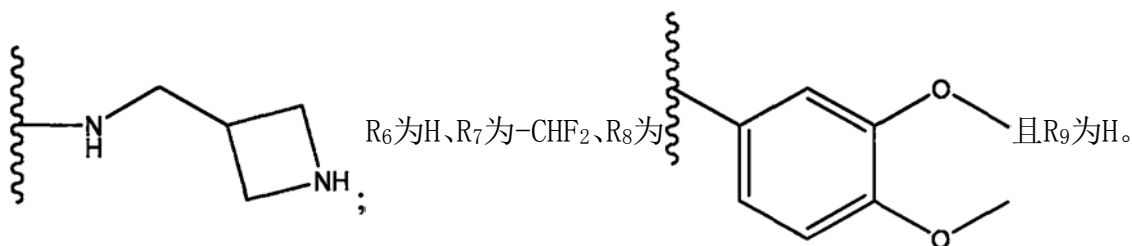
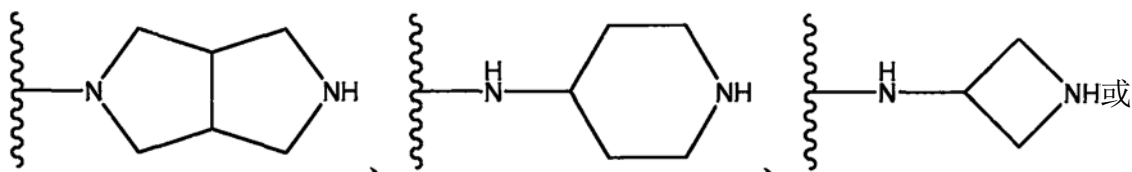


[0105] 在另一实施方案中,R₁为  ; R₂为H、F或-CH₃, R₃为H或F;R₄

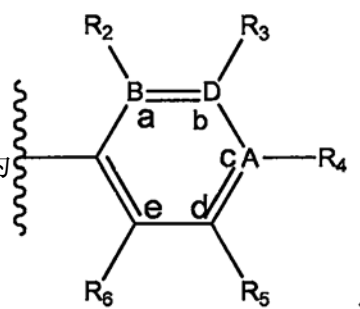
为-(q)-C(O)X,其中q为键或-CH₂-,且X为通过氮与R₄的羰基连接的哌嗪基、通过氮与R₄的羰基连接的吡咯烷基、通过氮与R₄的羰基连接的吡咯并吡咯基、通过氮与R₄的羰基连接的氮

杂环丁烷基或  或者X为-NR₁₁R₁₂,其中R₁₁和R₁₂之一为H并且其他为任

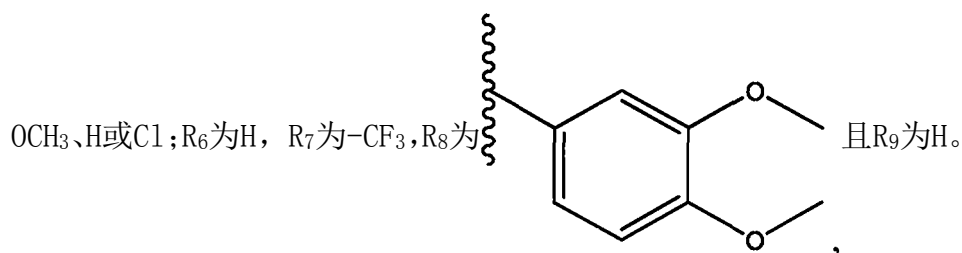
选取代的吡咯烷基、任选取代的哌啶基、任选取代的哌嗪基或任选取代的氮杂环丁烷基;R₅为H或C(O)Y,其中Y为 -NH(CH₃)₂、任选取代的哌嗪基、任选取代的哌啶基、



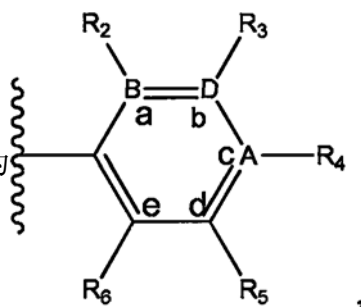
[0106] 在另外的实施方案中, R_1 为



中A、B和D中的两个是碳并且其他是氮,并且当A为氮时 R_4 不存在,当B为氮时, R_2 不存在,且当D为氮时, R_3 不存在; R_2 为H; R_3 为H或 $-CH_3$; R_4 为 $-C(O)X$,其中X为任选取代的哌嗪基或X为 $-NR_{11}R_{12}$,其中 R_{11} 和 R_{12} 为H或其中 R_{11} 或 R_{12} 之一为H,并且其他为哌啶基、吡咯烷基或 $-CH_3$; R_5 为

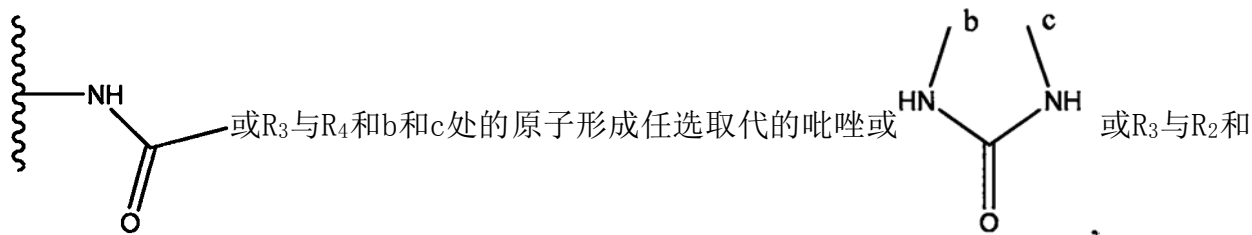
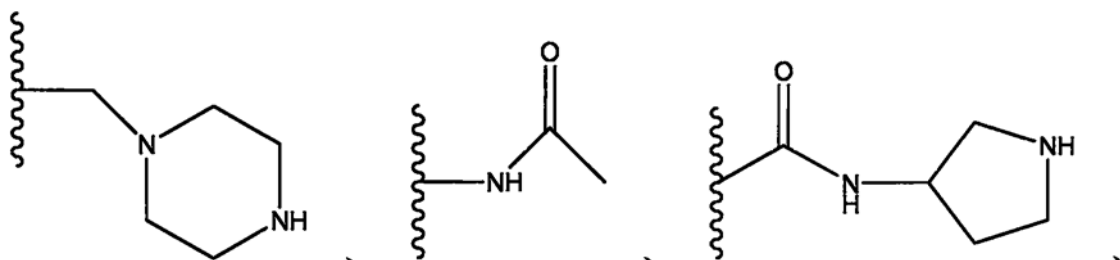
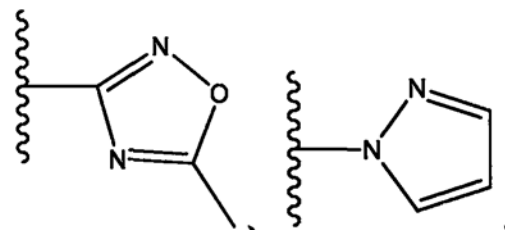


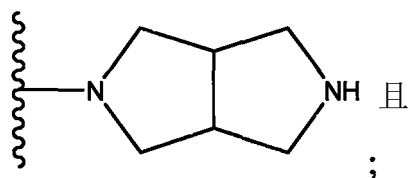
[0107] 在另外的实施方案中, R_1 为



[0108] R_2 为H、 $-CH_3$ 或F,或 R_2 与 R_3 和位置a和b处的原子形成任选取代的吡唑;

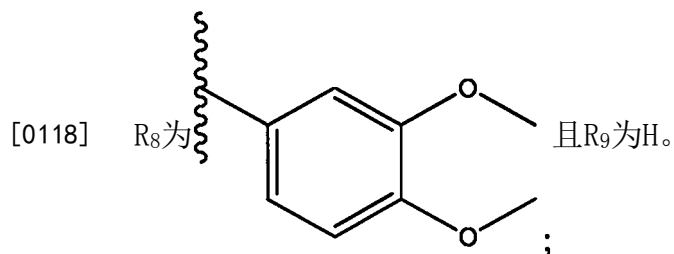
[0109] R_3 为H、F、Cl、 $-CN$ 、 $-CH_3$ 、



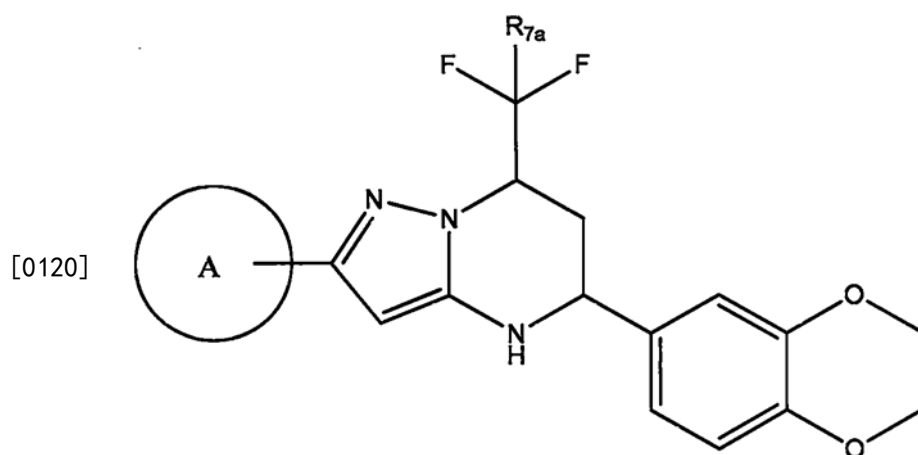


[0116] R_6 为H、F、 $-CH_3$ ，或 R_6 与 R_5 和c和d处的原子形成任选取代的吡唑；

[0117] R_7 为 $-CF_3$ ；



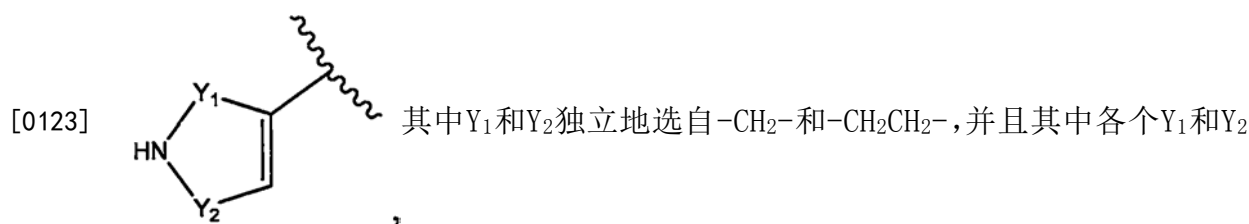
[0119] 另一实施方案包括式(IV)的化合物或其药物可接受的盐、或其立体异构体或其立体异构体的混合物



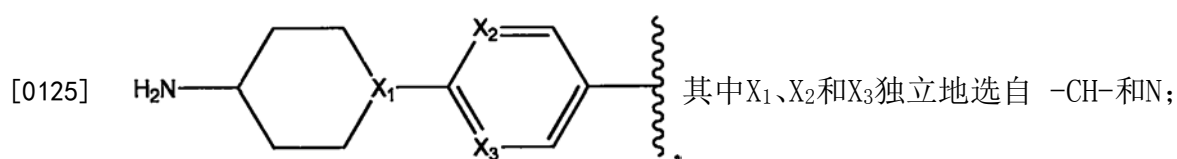
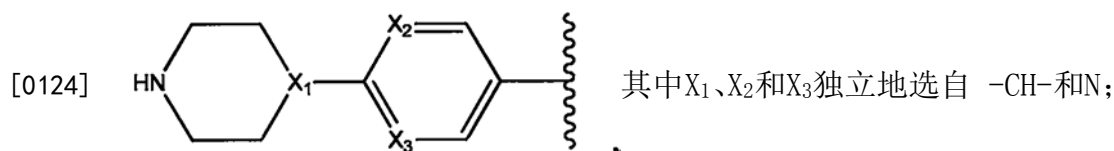
式(IV)

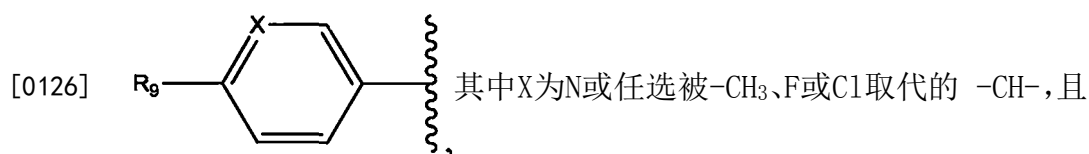
[0121] 其中： R_{7a} 为H或F；并且其中

[0122] 环A为：



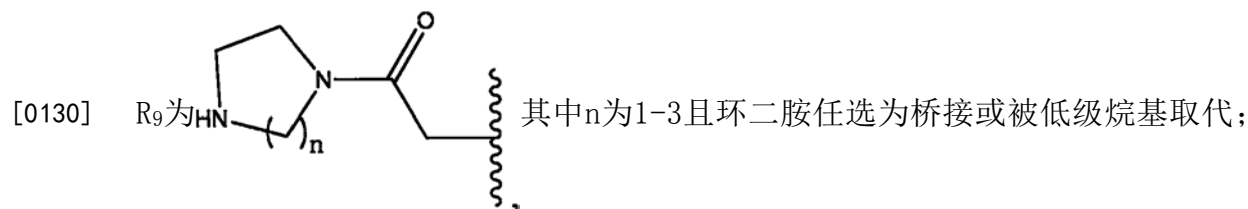
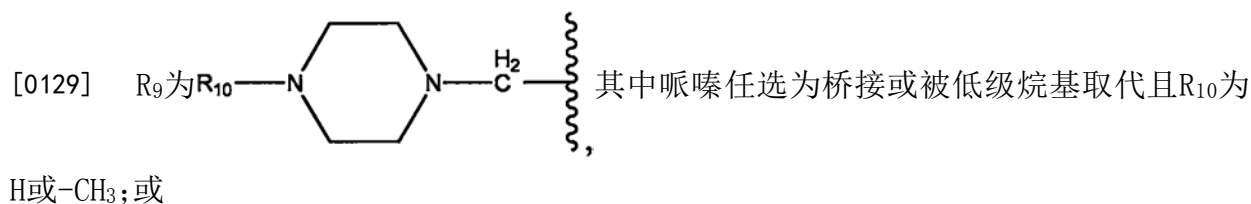
任选被 C_{1-3} 烷基取代；



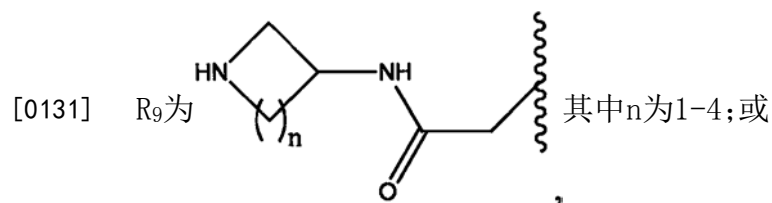


[0127] 其中R₉为-C(O)Z, 其中Z为2,3-二羟基丙胺; 任选为桥接或任选在碳原子处被低级烷基取代的五至七元环二胺; 七至十元二环二胺; 七至十一元螺二胺; 被任选被-NH₂取代的四至七元环胺取代的-NH; -OH; -CH₂NHR, 其中R为H或低级烷基; 被任选被-NH₂取代的七至十一元螺烷烃取代的-NH; 或

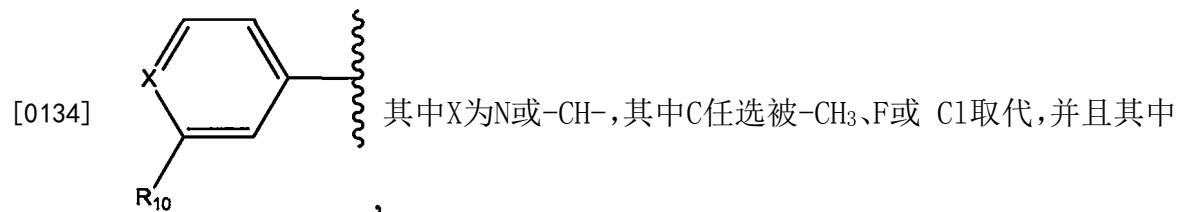
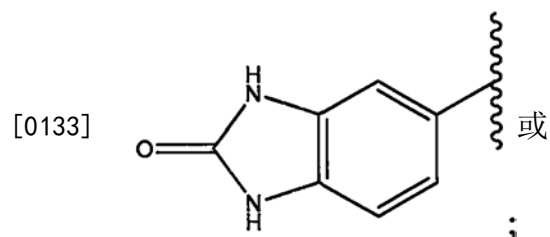
[0128] R₉为CH₃NHC(O)-, 且与R₉连接的芳基环上的碳原子被-CH₃、F或Cl之一取代; R₉为(CH₃)₂CHNHC(O)-, 且与R₉连接的芳基环上的碳原子被-CH₃、F或Cl之一取代; 或R₉为(CH₃)₃CNHC(O)-且与R₉连接的芳基环上的碳原子被-CH₃、F或Cl之一取代; 或者



或



[0132] R₉为-NHC(O)NH₂、-CH₂C(O)NH-, 其中氮被四至七元环胺取代; -CH₂-C(O)-, 其中羰基被七至十元二环二胺取代; 且四至七元环胺被 -CH₂C(O)NH₂取代; 或



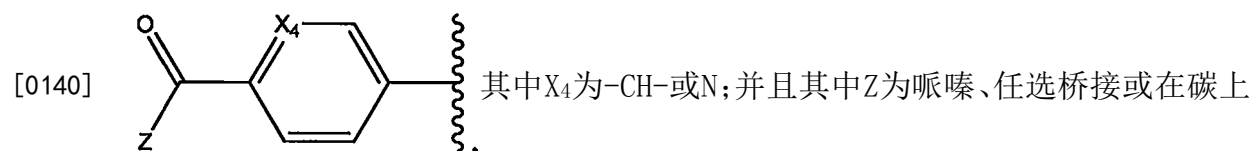
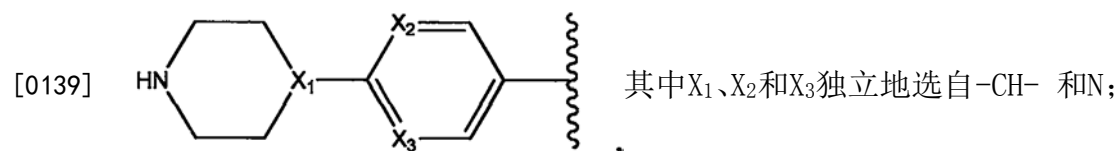
[0135] R₁₀为-C(O)NH-, 其中氮被四至七元环胺取代; 被七至十元二环二胺取代的-C(O)-; 被七至十一元螺二胺取代的-C(O)-; 吡唑; 噁二唑的碳原子任选被-CH₃取代的[1,2,4]噁二

唑; -NHC(O)CH₃; 被哌嗪取代的-CH₂-; 被包含甲基取代基的哌嗪取代的-CH₂-; 被五至七元环二胺取代的-C(O)-; -C(O)NHCH₂-, 其中-CH₂-被氮杂环丁烷取代; 或被五至七元环胺取代的-C(O)-, 其中胺包含-NH₂取代基; 或

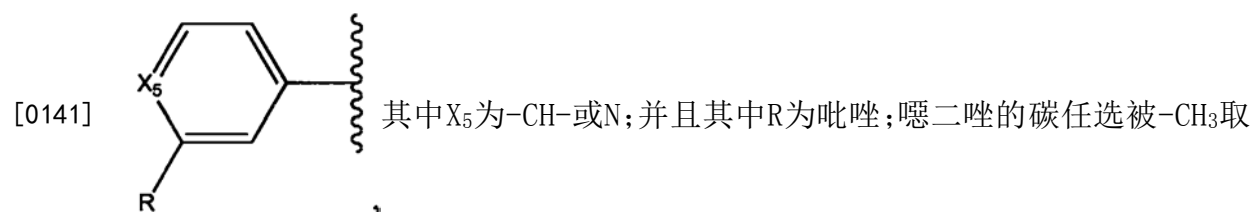
[0136] 氰基苯基; 异喹啉; 在4'位被-NH₂取代的环己烯; 1,4-二甲基吡啶-5-基; 1,6-二甲基吡啶-5-基; 在4'位被螺哌啶取代的环己烯; 1-哌啶并吡啶; 或邻甲氧基吡啶。

[0137] 在另外的实施方案中, 本公开前述段落的化合物或药物有效的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于100nM的IC₅₀值。在另外的实施方案中, 对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定: (1) 在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37°C、5%CO₂下孵育2天; (2) 加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟; (3) 在3ug/ml下加入CL097 (InvivoGen) 并将细胞孵育约20小时; 和(4) 通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

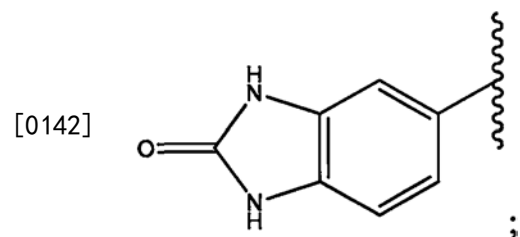
[0138] 另外的实施方案包括式IV的化合物或其药物有效的盐, 其中环A为:



被-CH₃取代; 六氢吡咯并[3,4]吡咯; 被-OH或-NH₂取代的四至七元环胺; 或被四至七元环胺取代的-NH-;



代的[1,2,4]噁二唑; 或在其氮上被四至七元环胺取代的-C(O)NH-;

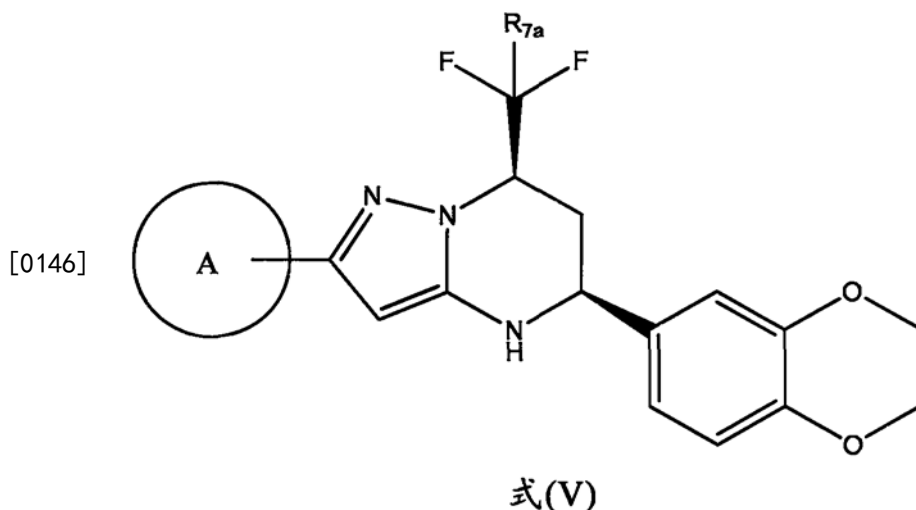


[0143] 1,4-二甲基吡啶-5-基; 1,6-二甲基吡啶-5-基; 1-哌啶并吡啶; 在4'位被-NH₂取代的环己烯; 在4'位被螺哌啶取代的环己烯; 或2-甲氧基吡啶-4-基。

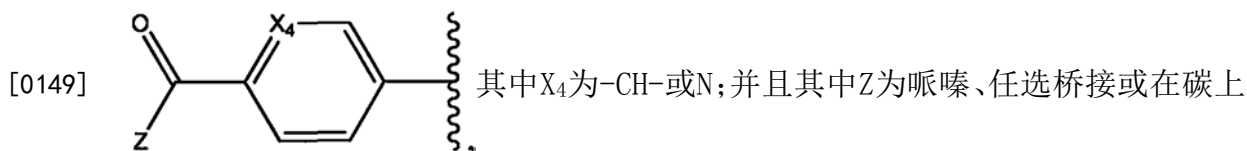
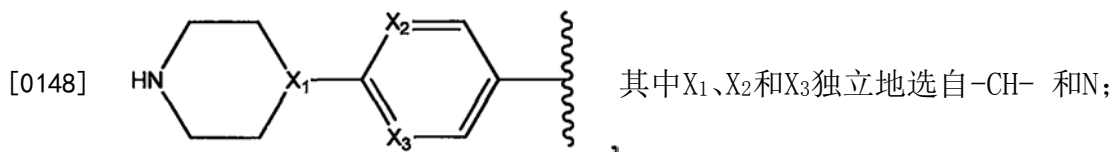
[0144] 在另外的实施方案中, 本公开前述段落的化合物或其药物有效的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于20nM的IC₅₀值。在另外的实施方案中, 本公开前述段落的化合物或其药物有效的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于100nM的IC₅₀值。在另外的实施方案中, 对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的

IC50值通过以下方法测定：(1) 在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml 的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天；(2) 加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟；(3) 在3ug/ml下加入CL097 (InvivoGen) 并将细胞孵育约 20小时；和(4) 通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

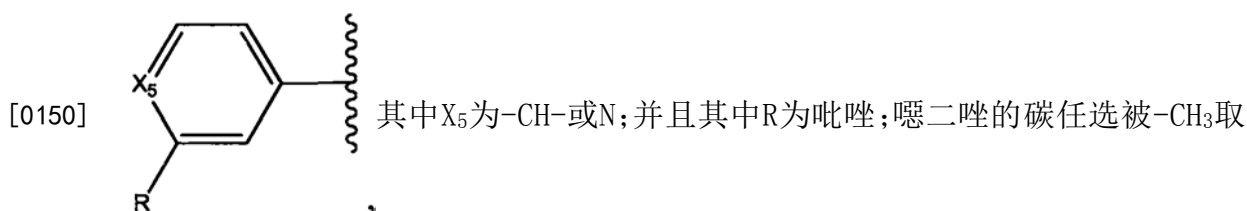
[0145] 另外的实施方案包括具有式(V)中表示的绝对立体化学的化合物或其药物可接受的盐：



[0147] 其中： R_{7a} 为H或F；其中环A为：



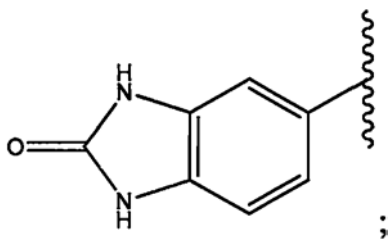
被-CH₃取代；六氢吡咯并[3,4]吡咯；被-OH或-NH₂取代的四至七元环胺；或被四至七元环胺取代的-NH-；



代的[1,2,4]噁二唑；或在其氮上被四至七元环胺取代的-C(=O)NH-；

[0151] 1,4-二甲基吡唑-5-基；1,6-二甲基吡唑-5-基；

[0152]



[0153] 1-哌啶并吡唑；在4'位被-NH₂取代的环己烯；在4'位被螺哌啶取代的环己烯；或2-甲氧基吡啶-4-基。

[0154] 在另外的实施方案中，前述段落的化合物或其药物有效的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于20nM的IC₅₀值。在另外的实施方案中，本公开前述段落的化合物或其药物有效的盐对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体具有小于或等于100nM的IC₅₀值。在另外的实施方案中，对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定：(1)在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天；(2)加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟；(3)在3ug/ml下加入CL097 (InvivoGen)并将细胞孵育约20小时；和(4)通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

[0155] 在本公开另外的实施方案中，化合物对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值小于或等于200nM、小于或等于180nM、小于或等于160nM、小于或等于140nM、小于或等于120nM、小于或等于100nM、小于或等于80nM、小于或等于60nM、小于或等于40nM或小于或等于20nM。在本公开另外的实施方案中，化合物对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值10nM至30nM、10nM至50nM、10nM至100nM、30nM至50nM、30nM至100nM或50nM至100nM。在另外的实施方案中，对在HEK-293细胞系中表达的人TLR7受体的IC₅₀值通过以下方法测定：(1)在包含10%胎牛血清的Dulbecco氏改良伊格尔培养基中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将稳定表达TLR7的HEK-293细胞系的细胞制板进入384-孔板中并在37℃、5%CO₂下孵育2天；(2)加入化合物或其药物可接受的盐并将细胞孵育30分钟；(3)在3ug/ml下加入CL097 (InvivoGen)并将细胞孵育约20小时；和(4)通过检测发光定量NF-κB依赖性的报道基因激活。

[0156] 另外的实施方案提供治疗系统性红斑狼疮或狼疮的方法，其包括给予药物有效量的本公开的化合物或药物可接受的盐。

[0157] 另外的实施方案提供拮抗TLR7的方法，其包括给予药物有效量的本公开的化合物或药物可接受的盐。

[0158] 另外的实施方案提供拮抗TLR8的方法，其包括给予药物有效量的本公开的化合物或药物可接受的盐。

[0159] 另外的实施方案提供包含至少一种本公开的化合物或药物可接受的盐和至少一种药物可接受的载体的药物组合物。

[0160] 另外的实施方案提供治疗系统性红斑狼疮或狼疮的方法，其包括给予药物有效量的本公开的化合物或药物可接受的盐。

[0161] 另外的实施方案提供拮抗TLR7方法，其包括给予药物有效量的本公开的化合物或药物可接受的盐。

[0162] 另外的实施方案提供拮抗TLR8的方法,其包括给予药物有效量的本公开的化合物或药物可接受的盐。

[0163] 另外的实施方案提供包含至少一种本公开的化合物或药物可接受的盐和至少一种药物可接受的载体的药物组合物。

[0164] 如本文使用的,术语“任选取代的”是指主体结构可包括但不必须包括一个或多个独立地选自低级烷基、甲氧基-、-OH、-NH₂、-CH₂-NH-CH₂、-OCH₂CH₂CH₃或-OCH(CH₃)₂的取代基。如果任选取代的部分是环状的,则任选的取代可为环中两个原子之间的甲基桥。

[0165] 如本文使用的符号“C(=O)”是指具有式C=O的羰基。

[0166] 除非另外规定,如在本公开包括权利要求中使用的“一”和“一个”是指“一个或多个”。

[0167] 如本文使用的,“低级烷基”是指具有一至四个碳原子的直链的,或在三个和四个碳基团的情况下直链、支链或环状的饱和烃。

[0168] 如本文使用的,术语“通过氮连接”当涉及含氮杂环部分时,意指该部分与另外结构的连接点通过作为杂环一部分的氮。

[0169] 如本文使用的,术语“TLR7/8”是指“TLR7和TLR8”或“TLR7或TLR8”或“TLR7和/或TLR8”。本领域技术人员基于其中“TLR7/8”出现的上下文可理解特殊含义。

[0170] 本文引用的杂环部分包括氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、甲基氮杂环丁烷基、吡唑基、哌嗪基、吗啉基、噻唑基、吡咯并吡咯基、咪唑烷基和异噻唑基。在提及杂环基团的情况下,除非另外规定,应当理解基团中的杂环原子可在基团中的任何位置。应当进一步理解,咪唑基、吡唑基、噻唑基和吡咯基可为不饱和的或部分不饱和的。本公开的实施方案可包括药物组合物,其包含一种或多种本公开的化合物与药物可接受的赋形剂。这些药物组合物可用于治疗或预防特征在于患者通常为人患者中的TLR7/8激活的疾病或疾病状态,所述患者患有或倾向于患有这样的疾病状态或疾病。特征在于TLR7/8激活的疾病或疾病状态的实例包括系统性红斑狼疮(SLE)和狼疮性肾炎。

[0171] 如本文使用的,“有效量”的本公开的实施方案化合物是足以治疗或预防SLE和狼疮性肾炎的量的上述确定的化合物的有效量。

[0172] 本文提出的实施方案可包括不对称或手性中心。实施方案包括各种立体异构体及其混合物。可从包含不对称或手性中心的商购起始原料合成地制备本公开实施方案的化合物的各个立体异构体或通过对映异构体化合物混合物的制备随后拆分那些化合物来制备。合适的拆分方法包括连接标示为(+/-)的对映异构体的外消旋混合物与手性助剂、通过色谱法或重结晶分离产生的非对映异构体和从助剂中分离光学纯产物;或者在手性色谱柱上直接分离光学对映异构体的混合物。

[0173] 本公开的实施方案还包括包含任何本公开的化合物以及药物可接受的赋形剂的药物组合物。药物组合物可用于治疗或预防SLE和狼疮性肾炎。因此,本公开的实施方案还可描述用于治疗或预防患有或倾向于患有狼疮性肾炎或SLE的人患者中的SLE或狼疮性肾炎的方法。

[0174] 本公开的实施方案包括本文提供的化合物药物可接受的盐。术语“药物可接受的盐”是指在合理的医学判断范围内,适于接触人和动物的组织使用而没有过多毒性、刺激性或过敏反应的那些盐。药物可接受的盐是本领域熟知的。例如,S.M.Berge等人在

J.Pharmaceutical Sciences 66:1-19,1977中详细描述了药物可接受的盐。盐可在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备或通过使游离碱基团与合适的有机酸反应单独制备。代表性的酸加成盐包括乙酸盐、己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、双葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、延胡索酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、单马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、三甲基乙酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、甲苯磺酸盐、三氟乙酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。代表性碱或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁等以及无毒铵、季铵和胺阳离子,包括但不限于铵、四甲基铵、四乙基铵、甲胺、二甲胺、三甲胺、三乙胺、乙胺等。如本文使用的,术语“药物可接受的酯”代表体内水解的酯并且包括容易在人体内分解以留下母体化合物或其盐的那些。合适的酯基团包括例如,衍生自药物可接受的脂肪族羧酸、特别是链烷、烯酸、环链烷和链烷双酸的那些,其中各个烷基或烯基通常具有不多于6个碳原子。特殊酯的实例包括甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、丁酸酯、丙烯酸酯和琥珀酸乙酯。

[0175] 在本申请中,由符号“R”或“S”指定对映异构体或者通过常规方法绘制,粗线定义在三维空间中的纸平面上方的取代基并且散列线或虚线定义在三维空间中的打印纸平面下方的取代基。如果没有进行立体化学指定,则结构定义包括两种立体化学选择。

[0176] 附图简述

[0177] 图1示出化合物ER-892887的对小鼠中TLR7通路的短期体内效能(其具有化学名称(4-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(哌嗪-1-基)甲酮)。图例:通过口服填喂法给予雌性BALB/c小鼠单独的媒介物(0.5%水性甲基-纤维素)或100mg/kg或300mg/kg的在媒介物中配制的化合物 ER-892887。在口服给药后13或24小时,将小鼠皮下注射15ug R848 以刺激TLR7。通过心脏穿刺收集血浆,然后通过标准ELISA步骤评价TLR7刺激之后1.5小时的IL-6水平。显示的百分比抑制相对于媒介物对照给药后的IL-6诱导。通过Mann-Whitney试验测定统计显著性。

[0178] 图2示出在BXSb-Yaa品系狼疮疾病模型中试验化合物 ER-892887的结果。图例:将十二周大BXSb-Yaa小鼠随机分为具有相等中值抗-dsDNA效价的组并使用单独的媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或300mg/kg ER-892887每天口服一次治疗总共14周。(A)在26周大时将所有小鼠致死并且与6wk大生病前的小鼠中观察到的效价相比,通过ELISA评价最终抗-dsDNA、抗-Sm/nRNP和抗-RiboP效价。(B)在致死前约一周(25周大,治疗的第13周),以1-2每只笼子将小鼠放置在代谢笼中18小时以收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比(UACR,蛋白尿)作为肾功能的间接检测。(C)在致死时,从各个小鼠中收集肾,在10%福尔马林中固定24小时,嵌入石蜡中,并且产生H&E染色的切片用于盲方式的组织病理学评价。(D)SLE-8研究中观察到的死亡率的概述。通过用于(A)的Mann-Whitney试验测定统计显著性。

[0179] 图3示出在NZBxNZW品系狼疮疾病模型中试验化合物 ER-892887的结果。图例:接受6周大的雌性NZBWF1/J小鼠,进行基线抽血,并通过下面的抗-dsDNA效价监测小鼠的疾病发展。在20周大时,将小鼠随机分为具有相等中值抗-dsDNA效价的组并在23周大时使用单

独的媒介物 (Veh; 0.5% 甲基-纤维素) 或每天口服一次 33、100 或 300 mg/kg ER-892887 (QD PO) 治疗。在 45 周大 (22 周总共治疗) 时将所有小鼠致死并通过 ELISA 测定血浆抗-dsDNA 效价。(A) ER-892887 治疗随时间对-dsDNA 效价的影响。(B) 衍生自 (A) 中示出的数据的 ER-892887 的 +22 周治疗数据的柱状图。(C) 在 45 周大时就在结束之前 (在治疗的 22 周之后), 从各个小鼠中收集尿, 并测定各个动物的尿蛋白肌酐比 (UACR, 蛋白尿) 作为肾功能的间接测量。(D) 该研究中观察到的死亡率的概述。(E) 在致死时, 从各个小鼠中收集肾, 在 10% 福尔马林中固定 24 小时, 嵌入石蜡, 并且产生 H&E 染色的切片用于盲方式的组织病理学评价。通过用于 (C) 的 Mann-Whitney 试验测定统计显著性。

[0180] 图 4 示出在 NZBxNZW 品系狼疮疾病模型中化合物 ER-892887 的另外试验的结果。图说明: 接受 8 周大的雌性 NZBWF1/J 小鼠, 进行基线抽血, 并通过下面的抗-dsDNA 效价监测小鼠的疾病发展。在 24 周大时, 将小鼠随机分为具有相等中值抗-dsDNA 效价的组并在 25 周大时使用单独的媒介物 (Veh; 0.5% 甲基-纤维素) 或 33、100 或 300 mg/kg ER-892887 QD PO 治疗。在给出的时间点血浆样品上通过 ELISA 测定抗-dsDNA 效价。(A) 随时间高达 +17 周治疗化合物治疗对中值抗-dsDNA 效价的影响。(B) 仅来自 (A) 中示出的数据, 在 +13 周的治疗时间点时化合物治疗对中值抗-dsDNA 的影响。(C) 在 13 周 (上图) 或 17 周 (下图) 的化合物治疗之后, 从各个小鼠中收集尿, 并测定各个动物的尿蛋白肌酐比 (UACR, 蛋白尿) 作为肾功能的间接测量。具有高 UACR 的圆圈内指出的小鼠为在 +13wks 至 +17wks 的治疗死亡的那些动物 (通过 Mann-Whitney 试验测定统计显著性)。(D) 在 13 周的治疗之后在来自选择的组的血浆中检测的血尿素氮 (BUN)。(E) 高达 17 周的治疗的媒介物与化合物治疗小鼠的死亡率曲线。在超出 +17wks 治疗的死亡率曲线分析显示 33 mg/kg 和 100 mg/kg ER-892887 治疗提供统计显著的存活受益 vs. 媒介物, 如通过 Log-rank (Mantel-Cox) 试验测定的。(F) 在该研究中观察到的死亡率曲线的概述。

[0181] 图 5 示出在姥鲛烷: DBA/1 品系狼疮疾病模型中试验化合物 ER-892887 的结果。图例: 将 10-11 周大的雌性 DBA/1 小鼠给予腹膜内注射 0.5 ml 姥鲛烷或 PBS。在姥鲛烷注射总共 3 个月治疗之后, 开始每天口服给予一次媒介物 (Veh; 0.5% 甲基-纤维素) 或 300 mg/kg ER-892887 3.5 个月。(A) 在化合物治疗 3 个月后将小鼠安乐死, 并通过 ELISA 检测血浆样品中抗-dsDNA 和抗-RiboP 效价 (通过 Mann-Whitney 试验测定统计显著性)。(B) 通过目测评分每月评价关节炎发展。(C) 在 3 个月治疗后通过 qPCR 板检测全血中的 IFN-调节基因的表达, 并计算 IFN 基因签名得分 (参见 Pharmacology Materials and Methods section for details regarding IFN score calculation (关于 IFN 评分计算的详细说明了药理学材料和方法部分))。(D) 通过姥鲛烷治疗 vs. PBS 对照显著上调的 21 基因的完整列表和通过 ER-892887 显著减少的各个基因 (Student t-检验)。

[0182] 图 6 示出在姥鲛烷: DBA/1 品系狼疮疾病模型中化合物 ER-892887 的另外试验的结果。图例: 将 11-12 周大的雌性 DBA/1 小鼠给予腹膜内注射 0.5 ml 的姥鲛烷或 PBS。在姥鲛烷注射总共 3 个月治疗之后, 开始每天口服给予一次媒介物 (Veh; 0.5% 甲基-纤维素) 或 33、100 或 300 mg/kg ER-892887, 2 个月。在 3 个月的化合物治疗之后将小鼠安乐死, 通过 ELISA 在血浆样品中测定抗-dsDNA (A)、-RiboP (B)、-Sm/nRNP (C) 和-组蛋白 (D) 效价 (通过 Mann-Whitney 试验测定统计显著性)。(E) 在 3 个月的化合物治疗期间, 在该研究中观察到的死亡率曲线的概述。(F) 在媒介物和 300 mg/kg ER-892887 治疗小鼠的最后时间点通过 qPCR 板检

测全血中IFN-调节基因的表达,并计算IFN基因签名得分(参见Pharmacology Materials and Methods section for details regarding IFN score calculation(关于IFN评分计算的详细说明书的药理学材料和方法部分))。(G)通过姥蛟烷治疗vs.PBS对照显著上调的22基因的完整列表和通过ER-892887显著减少的各个基因(Student t-检验)。

[0183] 图7示出在BXSb-Yaa品系狼疮疾病模型中试验化合物 ER-885454的结果。图例:每天口服给予一次单独的媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或100mg/kg或300mg/kg ER-885454治疗九周大雄性 BXSb-Yaa小鼠时间总共15周。在24周大时将所有小鼠致死并通过ELISA评价最终抗-dsDNA (A) 和抗-Sm/RNP (B) 效价。(C) 在致死之前约一周,以1-2每只笼子将小鼠放置在代谢笼中18小时以收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比(UACR,蛋白尿)作为肾功能的间接检测。(D) 在致死时,从各个小鼠中收集肾,在10%福尔马林中固定24小时,嵌入石蜡中,并且产生H&E染色的切片用于盲方式的组织病理学评价。通过用于上述(A)、(B)和(C)的Mann-Whitney试验测定统计显著性。

[0184] 图8示出BXSb-Yaa品系狼疮疾病模型中化合物ER-885454的另外试验的结果。图例:将十七周大BXSb-Yaa小鼠随机分为具有相等中值抗-dsDNA效价的两组并使用单独的媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或300mg/kg ER-885454每天口服治疗一次时间为总共13周。在30 周大时将所有小鼠致死并与在7wk大患病前小鼠中观察到的效价相比通过ELISA评价最终抗-dsDNA (A) 和抗-Sm/RNP (B) 效价。(C) 在致死之前约一周,以1-2每只笼子将小鼠放置在代谢笼中18小时以收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比(UACR,蛋白尿)作为肾功能的间接检测。(D) 在致死时,从各个小鼠中收集肾,在10%福尔马林中固定 24小时,嵌入石蜡中,并且产生H&E染色的切片用于盲方式的组织病理学评价。通过用于上述(A)、(B)和(C)的Mann-Whitney试验测定统计显著性。

[0185] 图9示出在NZBxNZW品系狼疮疾病模型中试验化合物 ER-885454的结果。图例:接收6周大的雌性NZBWF1/J小鼠,进行基线抽血,并通过下面的抗-dsDNA效价监测小鼠的疾病发展。在24 周大时,将小鼠随机分为具有相等中值抗-dsDNA效价的组并使用单独的媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或300mg/kg ER-885454每天口服一次(QD PO) 治疗。在47周大(总共治疗23周)时将所有小鼠致死并通过ELISA测定血浆抗-dsDNA效价(A)。(B) 在47周大时就在结束之前,从各个小鼠中收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比(UACR,蛋白尿)作为肾功能的间接测量。(C) 在致死时,从各个小鼠中收集肾,在10%福尔马林中固定24小时,嵌入石蜡,并且产生H&E染色的切片用于盲方式的组织病理学评价。通过用于(A)的Mann-Whitney试验测定统计显著性。

[0186] 图10示出化合物ER-887006的X-射线结构的ORTEP表示。

[0187] 图11A-11N示出本文提供的各个实施方案的结构和相应化学名称。“ER-号”是分配给各个化合物的参考号。在可使用的情况下,还包括对稳定表达人TLR7的HEK细胞系的活性,对稳定表达人TLR9的 HEK细胞系的活性、¹H NMR数据和质谱数据。

[0188] 图12示出NZBxNZW品系狼疮疾病模型中ER-892887和两种常用人狼疮治疗的效果。图例:接收4周的雌性NZBWF1/J小鼠,在10 周和26周时进行基线取血,并通过下面的抗-dsDNA效价和蛋白尿监测小鼠的疾病发展。在26周大时,将小鼠随机分为具有相等中值抗 -dsDNA效价的组并使用单独的媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或100 mg/kg ER-892887、100mg/kg羟基氯喹、0.1mg/kg泼尼松龙或0.5 mg/kg泼尼松龙、单独地或规定的组合形式,

每天口服一次(QD PO) 治疗。在45周大(药物治疗的第19周)时将所有小鼠致死并通过ELISA 测定血浆抗-dsDNA效价。(A) 在结束时ER-892887治疗对-dsDNA效价的影响。(B) 在41周大(在15周的治疗之后)时,从各个小鼠中收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比(UACR,蛋白尿)作为肾功能的间接量度。(C) 随后,在45周大时,就在结束之前,在19周的治疗之后,从各个小鼠中收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比(UACR,蛋白尿)。(D、E、F) 使用E6887、各个标准治疗比较剂(D,羟基氯喹;E, 0.1mg/kg泼尼松龙;F,0.5mg/kg泼尼松龙)或E6887和比较剂之一的组合治疗期间在该研究中观察到的存活曲线。试验的治疗组与通过 Mantel-Cox的媒介物。

[0189] 图13示出在姥蛟烷:DBA/1品系狼疮疾病模型中试验化合物 ER-892887和三种常用人狼疮治疗的结果。图例:将11周大的雌性 DBA/1小鼠给予腹膜内注射0.5ml姥蛟烷或PBS。在姥蛟烷注射之后 2个月开始每天口服给予一次媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或300mg/kg ER-892887、100mg/kg羟基氯喹、1mg/kg泼尼松龙或100 mg/kg麦考酚酯并持续3个月的治疗。(A) 在3个月治疗结束时,通过肿胀和炎症的目测评分评价关节炎发展。(B) 在3个月的化合物治疗之后将小鼠安乐死,并通过ELISA在血浆样品中测定抗-dsDNA、抗-组蛋白、抗-Sm/RNP和抗-RiboP效价(通过Mann-Whitney试验测定统计显著性)。适当时,将在标准曲线的范围上下浮动的ELISA值指定为等于最高或最低有效测量的值。(C) 在3个月的治疗之后通过qPCR板检测全血中IFN-调节基因的表达。示出通过姥蛟烷治疗vs.PBS对照显著上调的干扰素调节基因的完全列表,并且以具有星号的粗体形式标记通过ER-892887(Student t检验)显著减少的各个基因。(D) 示出在该实验中通过姥蛟烷调节的基因的IFN得分。

[0190] 图14显示在姥蛟烷:DBA/1品系狼疮疾病模型中化合物 ER-892887对关节炎和自身抗体的影响。图例:将10周大的雌性DBA/1 小鼠给予腹膜内注射0.5ml的姥蛟烷或PBS。在22周大时,将小鼠随机分为具有相等中值抗-dsDNA效价的组并每天口服一次(QD PO)单独的媒介物(Veh;0.5%甲基-纤维素)或300mg/kg ER-892887治疗。通过盲观察者每月记录关节炎症状(肿胀和炎症)。在34周大(12周的治疗)时将所有小鼠致死并通过ELISA测定血浆自身抗体效价。在结束之前,由双盲分析将爪进行骨损伤和糜烂的x射线检查并评分。(A) 上部-在媒介物和化合物给予组中每月计算关节炎得分。(A) 下部-在三个月的治疗之后计算X-射线得分。(B) 通过ELISA检测末端血浆样品中的自身抗体效价(通过Mann-Whitney试验测定统计显著性)。

[0191] 公开详述

[0192] 除了作为能够检测外源性(“非自身”)病原体相关分子模式(PAMPs-即,通过TLR4的细菌LPS检测)的先天免疫受体的作用之外,哺乳动物Toll样受体(TLRs)还能够识别在宿主组织损伤或应激之后释放的内源性刺激(DAMPs)。Kono,H.和K.L.Rock,How dying cells alert the immune system to danger.(死亡细胞如何警告免疫系统有危险).Nat Rev Immunol,2008.8(4):p.279-89。在过去十年中,已经出现通过内源(“自身”)危险相关分子模式(DAMPs)的TLR激活和自身免疫性疾病的病因学之间的关系的理解。特别地,TLR7可被衍生自哺乳动物和病毒源二者的单链RNA(ssRNA)激活,然而TLR9可被衍生自哺乳动物、病毒和细菌源的DNA激活。

[0193] 狼疮特征在于对双链DNA(dsDNA)本身和相关蛋白(组蛋白)以及对广泛系列的RNA

相关蛋白诸如Ro、La、Smith (Sm) 和U1 snRNP的自身抗体反应。Kirou, K.A. 等人, Activation of the interferon- α pathway identifies a subgroup of systemic lupus erythematosus patients with distinct serologic features and active disease. (干扰素- α 通路的激活识别具有明显血清学特征和活动性疾病的系统性红斑狼疮患者的亚群). Arthritis Rheum, 2005. 52 (5) : p.1491-503. 被证实与疾病严重程度直接相关的狼疮的第二常见特点为类型-1干扰素 (IFNs), 特别是IFN α 的异常调节的表达, 和狼疮患者的PBMC中大面板的IFN α -调节基因的相应提高(所谓的“类型-1 IFN基因标签”)。Kirou, K.A. 等人, 上文, 血液中IFN的主要来源是称为浆细胞样树突状细胞 (pDC) 的专门的免疫细胞, 其基本表达TLR7和TLR9二者。

[0194] 当许多研究组共同证实从狼疮患者而并非从健康供体中分离的抗体复合体能够以TLR7/9-和RNA/DNA-依赖方式通过pDC推动IFN产生时假设这两种疾病特征、自身抗体和IFN水平之间的因果关系。Means, T.K. 等人, Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. (人狼疮自身抗体-DNA复合体通过CD32和TLR9的合作激活DCs). J Clin Invest, 2005. 115 (2) : p.407-17; Vollmer, J. 等人, Immune stimulation mediated by autoantigen binding sites within small nuclear RNAs involves Toll-like receptors 7 and 8. (通过小核RNAs内的自身抗原结合位点介导的免疫刺激与Toll样受体7和8有关). J Exp Med, 2005. 202 (11) : p.1575-85; Savarese, E. 等人, U1 small nuclear ribonucleoprotein immune complexes induce type I interferon in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. (U1小核核糖核蛋白免疫复合体通过TLR7诱导浆细胞样树突状细胞中的类型I干扰素). Blood, 2006. 107 (8) : p.3229-34. 此外, IFN刺激B-细胞上增加的TLR7/9表达, 由此增强自身反应性B-细胞的TLR/BCR (B-细胞受体) 激活以分化为抗体产生血浆细胞。Banchereau, J. 和V. Pascual, Type I interferon in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. (系统性红斑狼疮和其他自身免疫疾病中的类型I干扰素). Immunity, 2006. 25 (3) : p.383-92; 以该方式, 包含核酸TLR7/9配体的自身抗体复合体的水平推动促炎周期和狼疮疾病发展。据报道单独的类型-1IFN诱导人类中的狼疮-样症状。Ho, V. 等人, Severe systemic lupus erythematosus induced by antiviral treatment for hepatitis C. (由肝炎C的抗病毒治疗诱导的重度系统性红斑狼疮). J. Clin Rheumatol, 2008. 14 (3) : 166-8. Ronnblom L.E. 等人, Possible induction of systemic lupus erythematosus by interferon- α treatment in a patient with a malignant carcinoid tumor. (患有恶性类癌肿瘤的患者中通过干扰素- α 治疗可能诱导系统性红斑狼疮). J. Internal Med. 1990. 227 : 207-10. 我们认为可能是TLR7/8的药理学拮抗作用通过破坏该促炎周期, 降低IFN水平和抑制由pDC和B-细胞介导的自身免疫疾病过程对狼疮患者提供治疗益处。

[0195] 几种其他证据线索表明TLR7在人狼疮病因学中的作用并且支持 TLR受体是疾病干预的有效靶标的概念。已经识别TLR7的3' UTR 的特殊多态性并且证实与升高的TLR7表达和增强的IFN基因标签相关。Shen, N. 等人, Sex-specific association of X-linked Toll-like receptor 7 (TLR7) with male systemic lupus erythematosus. (X-连接的Toll样受体 7 (TLR7) 与男性系统性红斑狼疮的性别特异性联系). Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. 107 (36) : p.15838-43. 此外, 诸如氯喹的狼疮护理标准 (SOC) 抗疟疾药物破坏内

体TLR7/9信号并且抑制由ssRNA-核糖核蛋白复合体或狼疮患者血清诱导的PBMC和/或pDC IFN α 产生。此外,骨髓状DC和单核细胞在自身-RNA/TLR8信号后产生IL-12p40、TNF α 和IL-6,表明除了由pDC的TLR7-推动IFN之外TLR8-依赖性促炎细胞因子对人狼疮病因学的额外贡献。Vollmer,上文;Gorden,K.B.等人,Synthetic TLR agonists reveal functional differences between human TLR7 and TLR8.(合成TLR激动剂显示人TLR7和TLR8之间的功能差别).J Immunol,2005.174(3):p.1259-68。

[0196] TLR在狼疮中的作用也存在小鼠模型证据。公开的研究共同证实单TLR7或双TLR7/9基因删除二者或双TLR7/9药理学抑制降低四种不同狼疮模型中的疾病严重程度。Nickerson,K.M.等人,TLR9 regulates TLR7-and MyD88-dependent autoantibody production and disease in a murine model of lupus.(TLR9调节TLR7-和MyD88-依赖性自身抗体产生和狼疮鼠模型中的疾病).J Immunol,2010.184(4):p.1840-8;Fairhurst,A.M.等人,Yaa autoimmune phenotypes are conferred by overexpression of TLR7.Eur J Immunol,2008.38(7):p.1971-8;Deane, J.A.等人,Control of toll-like receptor 7 expression is essential to restrict autoimmunity and dendritic cell proliferation.(Toll样受体7表达的控制对限制自身免疫性和树突状细胞增殖至关重要).Immunity,2007.27(5):p.801-10;Savarese,E.等人,Requirement of Toll-like receptor 7 for pristane-induced production of autoantibodies and development of murine lupus nephritis.(姥鲛烷诱导的自身抗体产生和鼠狼疮性肾炎的发展的 Toll样受体7的需要).Arthritis Rheum,2008.58(4):p.1107-15。突出 TLR7作为自身免疫性的关键决定因素的作用、单独的TLR7的转基因过度表达导致正常抗病C57BL/6品系中的自发性抗-RNA自身反应性和肾炎。Deane,上文。

[0197] 从安全角度来看,没有报道称TLR7、8或9-单或7/8-和7/9-双基因缺失小鼠是免疫缺陷达到观察到被机会致病菌感染的程度。类似地,认为SOC抗疟疾在很大程度上是安全的并且对于在预测至少部分抑制TLR7/9信号的剂量下在人类中长期使用以控制狼疮疾病危象有效。Lafyatis,R.,M.York和A.Marshak-Rothstein,Antimalarial agents: closing the gate on Toll-like receptors?(抗疟疾药:关闭Toll样受体上的出口?),Arthritis Rheum,2006.54(10):p.3068-70;Costedoat-Chalumeau, N.等人,Low blood concentration of hydroxychloroquine is a marker for and predictor of disease exacerbations in patients with systemic lupus erythematosus.(羟基氯喹的低血浓度是患有系统性红斑狼疮的患中疾病恶化的标记和预测).Arthritis Rheum,2006.54(10):p.3284-90。事实上,除了幼年中革兰氏阳性菌感染增加的敏感性和成年中较小程度之外,具有高度易感染TLR和IL-1R信号通路(MyD88-或 IRAK-4-deficiency)的人仍然健康并且保持足够的宿主防御机制。Casanova,J.L.,L.Abel和L.Quintana-Murci,Human TLRs and IL-1Rs in Host Defense:Natural Insights from Evolutionary, Epidemiological, and Clinical Genetics.(宿主防御中的人TLRs和IL-1Rs:来自进化论、流行病学和临床遗传学的自然见解).Annu Rev Immunol,2010。

[0198] 基于该信息和其他信息,我们认为在小鼠临床前SLE模型的上下文中,TLR7特别地为充分验证的靶标。遗传和功能人研究二者支持假设TLR7和/或TLR8通路的拮抗作用对狼疮患者提供治疗益处。此外,小鼠TLR基因删除研究和人类中抗疟疾的长期使用二者表明可

进行药理学TLR7、8和/或9抑制而不显著损害宿主防御。

[0199] 因此,可期望抑制TLR7、TLR8或TLR7和TLR8二者的化合物充当SLE或狼疮性肾炎的治疗或预防药。

[0200] 本发明人发现抑制TLR 7和/或8的化合物并且因此期望其对SLE 或狼疮性肾炎具有预防或治疗作用。在本文描述本公开的化合物和方法。

[0201] II. 治疗用途

[0202] 可改变本公开的药物组合中活性成分的剂量水平以获得实现对特殊患者期望的治疗反应、组合物和给药方式的活性化合物的量。选择的剂量水平依赖特殊化合物的活性、给药途径、受治疗的疾病状态的严重程度和受治疗患者的疾病状态以及前病史。根据患者的独特因素包括年龄、体重、一般健康状况和可影响本公开的化合物的功效的其他因素,使用标准方法确定各个特殊情况的剂量。通常,在口服给药的情况下,以约30 μ g至100 μ g的剂量、30 μ g至500 μ g的剂量、30 μ g至10g的剂量、100 μ g至5g的剂量、或100 μ g至1g的剂量每成人每天给予本公开的THPP化合物或其药物可接受的盐。在通过注射给药的情况下。以约30 μ g至1g的剂量、100 μ g至500mg的剂量、或100 μ g至300mg的剂量每成人每天给药。在两种情况下,一次给予所述剂量或分开为几次给药。可例如使用**Simcyp®**程序模拟给药。

[0203] 不意图将向哺乳动物包括人给予本公开的化合物局限于特定的给药方式、剂量或给药频率。本公开涵盖所有给药方式,包括口服、腹膜内、肌内、静脉内、关节内、病灶内、皮下或足以提供对预防或治疗SLE或狼疮性肾炎充分的剂量的任何其他途径。可以单剂量或多剂量形式将一种或多种本公开的化合物给予哺乳动物。当给予多剂量时,可将剂量彼此间隔例如,几小时、一天、一周、一个月或一年。应当理解,对于任何特殊个体,应该根据个体需要和给予或监管包含本公开的化合物的药物组合物的给药的人员的专业判断随时间调整特殊的给药方案。

[0204] 为了临床应用,通常,可静脉注射、皮下、肌内注射、临床、鼻、腹膜内、直肠、颊或口服给予本公开的化合物。可以允许通过合适的途径给药的形式提供适用于人或兽药的包含至少一种本公开的化合物的组合物。可使用一种或多种药物可接受的佐剂或赋形剂,根据常规方法制备这些组合物。佐剂特别地包含稀释剂、无菌水性基质和各种无毒有机溶剂。用于治疗用途的可接受的载体或稀释剂是药学领域熟知的并且例如在Remington: The Science and Practice of Pharmacy (药学科学和实践) (第20版) 编辑, A.R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, Philadelphia 和 Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (制药技术百科全书), 编辑 J. Swarbrick 和 J.C. Boylan, 1988, 1999, Marcel Dekker, New York 中描述。可以片剂、丸剂、颗粒剂、粉末剂、水溶液或悬浮剂、可注射溶液、酏剂或糖浆剂形式提供组合物, 并且组合物可任选包含一种或多种选自包括甜味剂、调味剂、着色剂和稳定剂的组的试剂以获得药物可接受的制剂。

[0205] 通常, 根据产物的溶解度和化学性质、特殊的给药方式 and 有待在药学实践中观察的规定确定媒介物中活性物质的含量的选择。例如, 诸如乳糖、柠檬酸钠、碳酸钙、磷酸氢钙的赋形剂和崩解剂诸如淀粉、海藻酸和一些与润滑剂 (例如, 硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石) 混合的复合硅酸盐可用于制备片剂。为了制备胶囊剂, 有利地使用乳糖和高分子量聚乙二醇。当使用水性悬浮剂时, 它们可包含促进悬浮的乳化剂。还可使用诸如蔗糖、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甘油、氯仿或其混合物的稀释剂。

[0206] 为了肠胃外给药,使用本公开的组合物在植物油(例如,芝麻油、花生油或橄榄油)、水性有机溶液(例如,水和丙二醇)、可注射有机酯(例如,油酸乙酯)或药物可接受的盐的无菌水溶液中的乳液、悬浮液或溶液。本公开组合物的盐溶液特别适用于肌肉注射或皮下注射给药。包含盐的纯净蒸馏水溶液的水溶液可用于静脉内给药,条件是(i)适当地调整它们的pH,(ii)将它们适当地缓冲并使用足够量的葡萄糖或氯化钠给予等渗和(iii)通过加热、辐射或微滤将它们消毒。可在合适的载体中溶解或悬浮包含本公开的化合物的合适的组合物用于在喷雾器或悬浮或溶液气雾剂中使用或可吸收或吸附在合适的固体载体上用于在干粉吸入器中使用。用于直肠给药的固体组合物包括根据已知方法配制并且包含至少一种本公开的化合物的栓剂。

[0207] 用于治疗给药的本公开化合物的剂量制剂应为无菌的。通过无菌膜(例如,0.2微米膜)过滤或通过其他常规方法容易实现无菌。通常以冻干形式或以水溶液形式储存制剂。例如,在一些实施方案中本公开组合物的pH可为3至11,包括可为5至9或可为7至8。

[0208] 尽管一种给药途径是通过口服剂量给药,但可使用其他给药方法。例如,可以诸如栓剂、植入颗粒剂或小气瓶、气雾剂、口服剂型和诸如软膏剂、滴剂和皮肤贴剂的局部制剂形式的多种剂型皮下、静脉注射、肌肉、临床、直肠、鼻或腹膜内给予组合物。可将本公开实施方案的化合物并入诸如埋植剂的有形状物品中,包括但不限于瓣膜、支架、管子和假肢,其可使用惰性材料诸如合成聚合物或硅酮(例如,**Silastic®**组合物、硅酮橡胶或其他商购聚合物)。这类聚合物可包括聚乙烯基吡咯烷酮、吡喃共聚物、多羟基-丙基-甲基丙烯酸酯-苯酚、聚羟基乙基-天冬酰胺-苯酚或被棕榈酰残基取代的聚氧化乙烯-聚赖氨酸。此外,可将本公开的化合物与一类可用于实现药物的缓释的可生物降解的聚合物结合,例如聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸和聚乙醇酸的共聚物、聚 ϵ -己内酯、聚羟基丁酸、聚原酸酯、聚缩醛、聚二氢吡喃、聚氰基丙烯酸酯和水凝胶的交联或两亲嵌段共聚物。

[0209] 还可以诸如小单层脂质体、大单层脂质体和多层脂质体的脂质体递送系统形式给予本公开的化合物。可从诸如胆固醇、硬脂胺或磷脂酰胆碱的多种脂类形成脂质体。还可使用抗体、抗体片段、生长因子、激素或化合物分子偶联的其他靶向部分递送本公开的化合物(例如,参见Remington:The Science and Practice of Pharmacy(雷明顿:药学科学和实践),参见上文),包括体内结合本公开实施方案的化合物的血液成分。

[0210] III. 合成

[0211] 提供我们发现可用于本公开实施方案的制备的一般和特殊合成路线。本领域技术人员可认识到这些步骤的一些改变或修改也能导致本公开化合物的合成。在一些情况下,短语“诸如”用于列举更通用的化合物或结构的各种替代物。应当理解,“诸如”不应被解释为限制性的,并且它的含义与“包括,例如但不限于”一致。

[0212] 一些条件与下面提供的具体实施例是共同的。使用**Biotage®** Emrys Liberator或Initiator微波反应器进行微波加热。使用**Biotage®** SP4快速层析系统进行柱色谱法。使用Büchi旋转蒸发器或**Genevac®**离心蒸发器进行溶剂去除。在Varian **Unity®**光谱仪上使用氘代溶剂在400MHz下记录NMR光谱。记录相对于残留质子化溶剂的化学位移。

[0213] 使用各种比例的一种或多种下列溶剂:乙酸乙酯、庚烷、二氯甲烷或甲醇,在使用0.25mm硅胶层预涂覆的**Whatman®**玻璃板上进行薄层层析。

[0214] 在使用XBridge™ C18 1.7 μ m 2.1 $\times$ 50mm柱的Waters Acquity™系统上进行分析

LC/MS。溶剂A和B分别为是水w/0.1%甲酸和乙腈 w/0.1%甲酸。5分钟总方法时间,5%B至99%B时间为4分钟,流速为0.3ml/min。以电喷雾正离子模式在Waters SQD上从100-2000 amu获得质谱数据。在下文将这些条件称为“条件I”。

[0215] 或者,在使用XBridge™ C8 3.5μm 4.6×50mm柱的Waters Autopurification系统上进行纯度和质量确定。溶剂A和B分别为水 w/0.1%甲酸和乙腈w/0.1%甲酸。6分钟总方法时间,10%B至95%B 时间为5分钟流速为2.5ml/min。以电喷雾正离子模式在Micromass ZQ™上从130-1000amu获得质谱数据。在下文将这些条件称为“条件 II”。

[0216] 在使用XBridge™ C8 5μm,19×100mm柱的Waters Autopurification系统上进行制备反相LC/MS。溶剂A和B分别为水 w/0.1%甲酸和乙腈w/0.1%甲酸。12分钟总方法时间,30%B至95% B时间为10分钟,流速为20ml/min。以电喷雾正离子模式在Micromass ZQ™上从130-1000amu获得质谱数据。在下文将这些条件称为“条件 III”。

[0217] 使用下列手性柱之一进行外消旋化合物的制备HPLC拆分:**Chiralpak®** IA (5cm×50cm或2cm×25cm)、**Chiralpak®** AD (2cm× 25cm) 或**Chiralcel®** OD (2cm×25cm)。在包含相同固定相(IA、AD 或OD)的0.45cm×25cm柱上通过HPLC分析测定纯净化合物的对映异构体比。

[0218] 用于制备本公开化合物的一般方法和实验在下面阐述。在一些情况下,通过实施例描述特殊化合物。然而,应当理解,在各个情况下,根据下面描述的反应方案和实验制备本公开的一系列化合物。对于其中可获得NMR和/或质谱数据的那些化合物,在化合物的合成的描述之后或在表11中立即提供所述数据。

[0219] 在本文使用下列缩写:

[0220] 定义:下列缩写具有指定的含义:

[0221] HATU:N,N,N',N'-四甲基-0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)脒鎓六氟磷酸盐

[0222] DIEA:N,N-二异丙基乙胺

[0223] DMAP:4-二甲基氨基吡啶

[0224] TEA:三乙胺

[0225] DMF:N,N-二甲基甲酰胺

[0226] NMP:N-甲基吡咯烷

[0227] THF:四氢呋喃

[0228] DCM:二氯甲烷

[0229] MTBE:甲基叔丁基醚

[0230] TFA:三氟乙酸

[0231] EDC:1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

[0232] NaOH:氢氧化钠

[0233] NaBH₄:硼氢化钠

[0234] IPA:异丙基醇或异丙醇

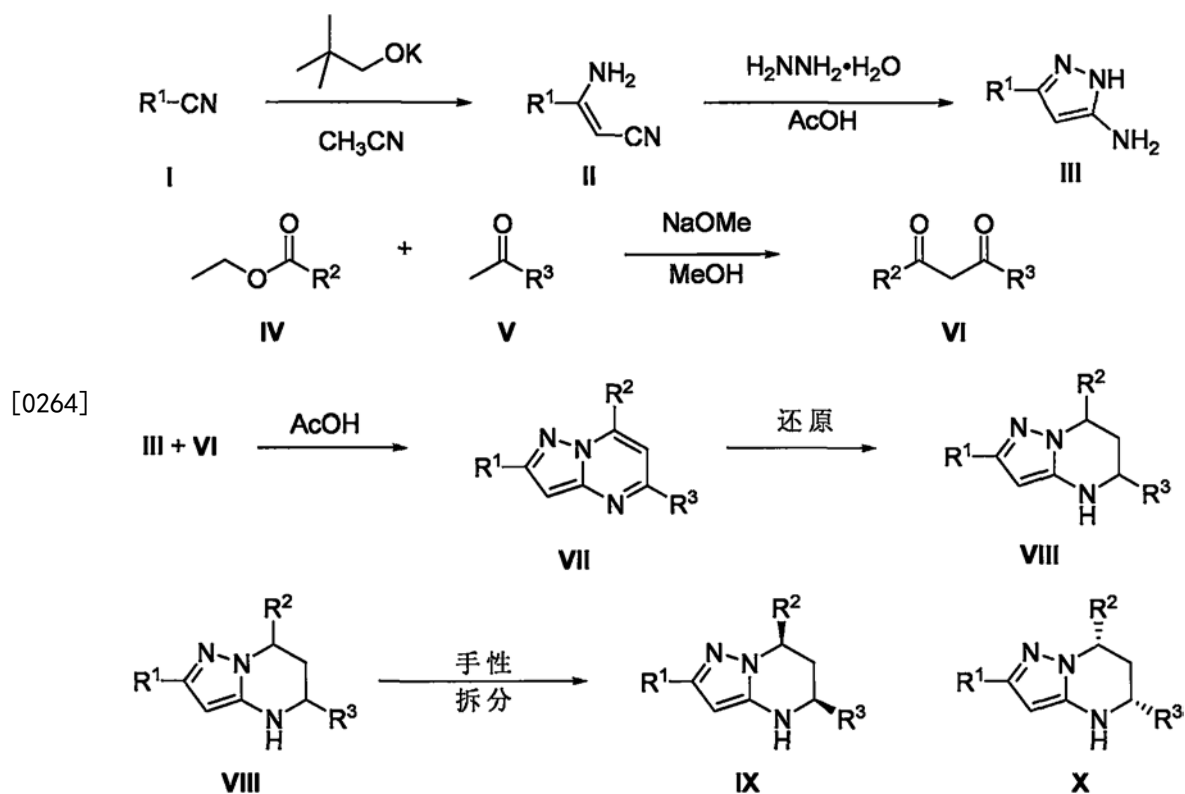
[0235] EtOH:乙醇

[0236] EtOAc:乙酸乙酯

[0237] TLR:Toll样受体

[0238] DAMP:危险相关分子模式

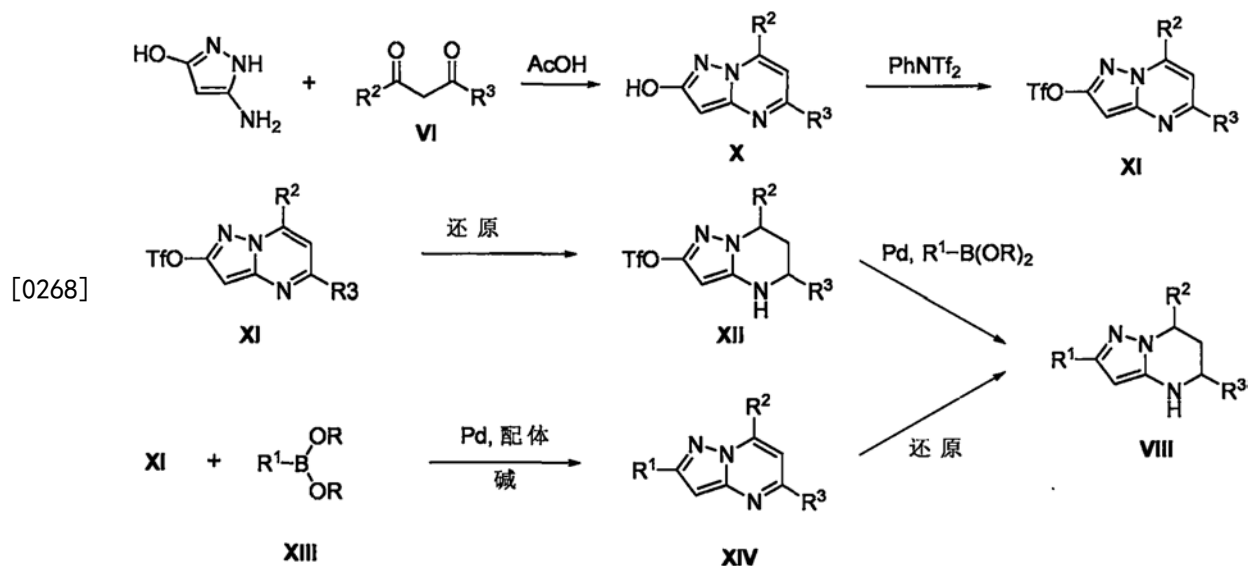
- [0239] PAMP:病原体相关分子模式
- [0240] IFN:干扰素
- [0241] pDC:浆细胞样树突状细胞
- [0242] PBMC:外周血单核细胞
- [0243] qPCR:定量聚合酶链反应
- [0244] TLDA:**Taqman®**低密度阵列
- [0245] PBS:磷酸盐缓冲盐水
- [0246] ssRNA:单链RNA
- [0247] dsDNA:双链DNA
- [0248] SOC:护理标准
- [0249] R848:雷西莫特
- [0250] HCQ:羟基氯喹
- [0251] HCl:盐酸
- [0252] aq.:水溶液
- [0253] AcOH:乙酸
- [0254] PhNTf₂:N-苯基三氟甲烷磺酰亚胺
- [0255] Tf:三氟甲磺酸
- [0256] MeOH:甲醇
- [0257] ee:对映异构体过量
- [0258] HEPES:4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪乙磺酸
- [0259] NH₄Cl:氯化铵
- [0260] 实施例1
- [0261] 一般合成方法
- [0262] 根据下面示出的一般合成反应方案制备本公开的化合物:
- [0263] 反应方案1.



[0265] 几个实施例的制备使用反应方案1中描述的路线。通常，在0℃或室温下，在诸如甲苯的中性溶剂中在诸如叔戊醇钾的强质子有机碱的存在下使诸如芳香族、杂环、脂肪族或杂脂肪族腈(I)的商购腈进行乙腈以提供氰基亚胺(II)。然后，在诸如乙酸的有机酸的存在下使产生的亚胺反应与肼以提供关键中间体或3-取代的-5-氨基吡唑(III)。通过使用芳香族或杂芳香族酰基酮(V)与诸如三氟、二氟的取代的乙酰基酯或未取代的乙酰基酯(IV)的克莱森(Claisen)缩合以形成二酮(VI)制备这些实施例的右半边。

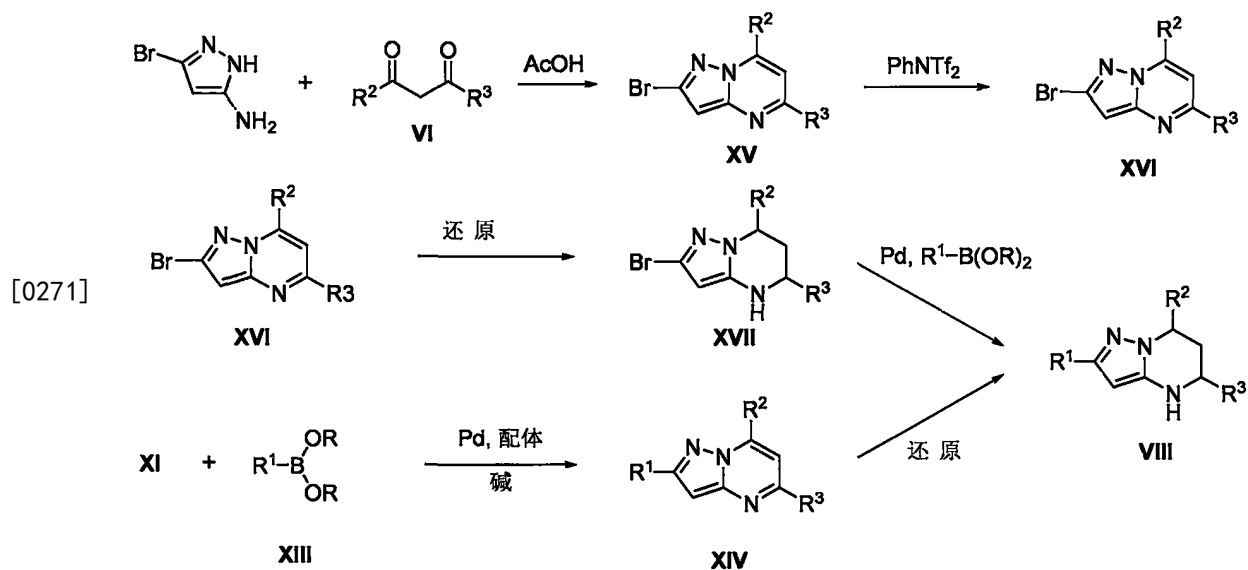
[0266] 在诸如乙酸的温和有机酸的存在下，两种中间体III和VI的缩合提供了2,3-b-吡唑并嘧啶。在一些情况下，5-取代的-3-氨基吡唑(III)为商购的并可直接用于该反应。使用氢化物源或通过催化氢化实现形成外消旋5,7-顺式四氢吡唑并嘧啶(VIII)的还原。通过手性、高效液相色谱或使用非对映异构体结晶的拆分提供了最终期望的产物IX和X。在许多实例中，生物评价化合物VIII的外消旋混合物而不通过手性拆分另外纯化。

[0267] 反应方案2.



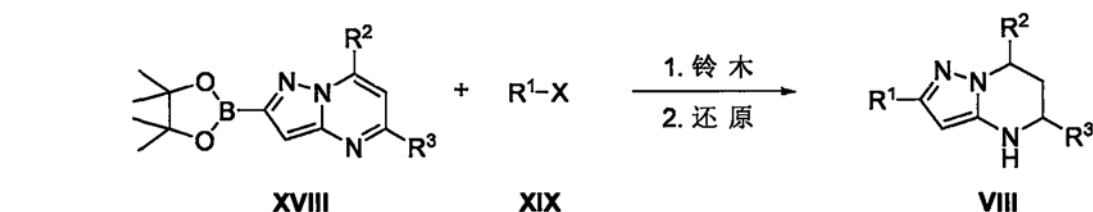
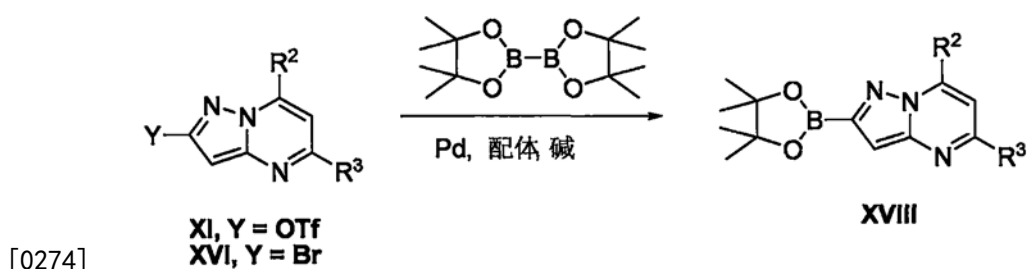
[0269] 反应方案2例示了与二酮VI缩合的商购3-羟基-5-氨基吡唑开始的公开的各个化合物的替代路线以提供2-羟基吡唑并嘧啶X作为关键中间体。使用合适的三氟甲基磺酰化试剂处理X提供三氟甲磺酸酯中间体XI。三氟甲磺酸酯XI的还原,随后与各种硼酸酯的Suzuki交叉偶联,其中 R^1 为芳香族、杂芳香族、烯丙基、杂烯丙基或脂肪族提供外消旋最终产物VIII。或者,首先使三氟甲磺酸酯XI进行铃木(Suzuki)交叉偶联,然后将中间体化合物XIV还原为外消旋最终产物VIII。如在反应方案1中,通过手性色谱法或通过非对映异构体结晶将外消旋化合物VIII拆分为它的构成对映异构体。

[0270] 反应方案3.



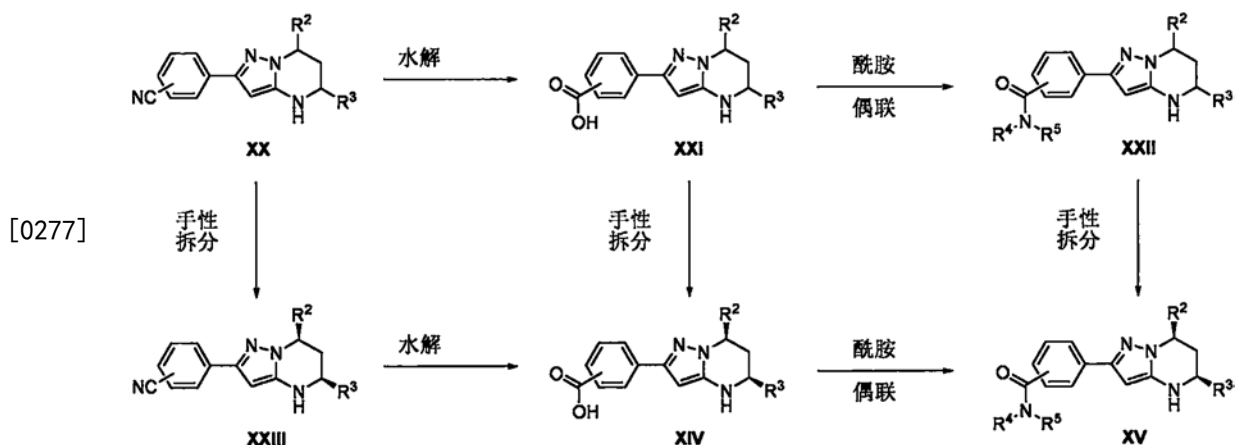
[0272] 用于反应方案3的路线是反应方案2的修改,其中溴化物代替三氟甲磺酸酯,即,如XVI所示化合物XI中的三氟甲磺酸酯基被溴化物代替。根据文献方法(Moy等人, J. Med. Chem. 2010, 53, 1238)合成 3-溴-5-氨基吡唑。Suzuki交叉偶联的条件基本上与反应方案2中的那些相同。

[0273] 反应方案4.



[0275] 反应方案4中的路线通过在关键吡唑并嘧啶上产生硼酸酯随后合适的亲电试剂 (XIX、X=OTf、Cl、Br、I) 的缩合以在还原后产生 VIII 与铃木 (Suzuki) 交叉偶联起始原料逆向。

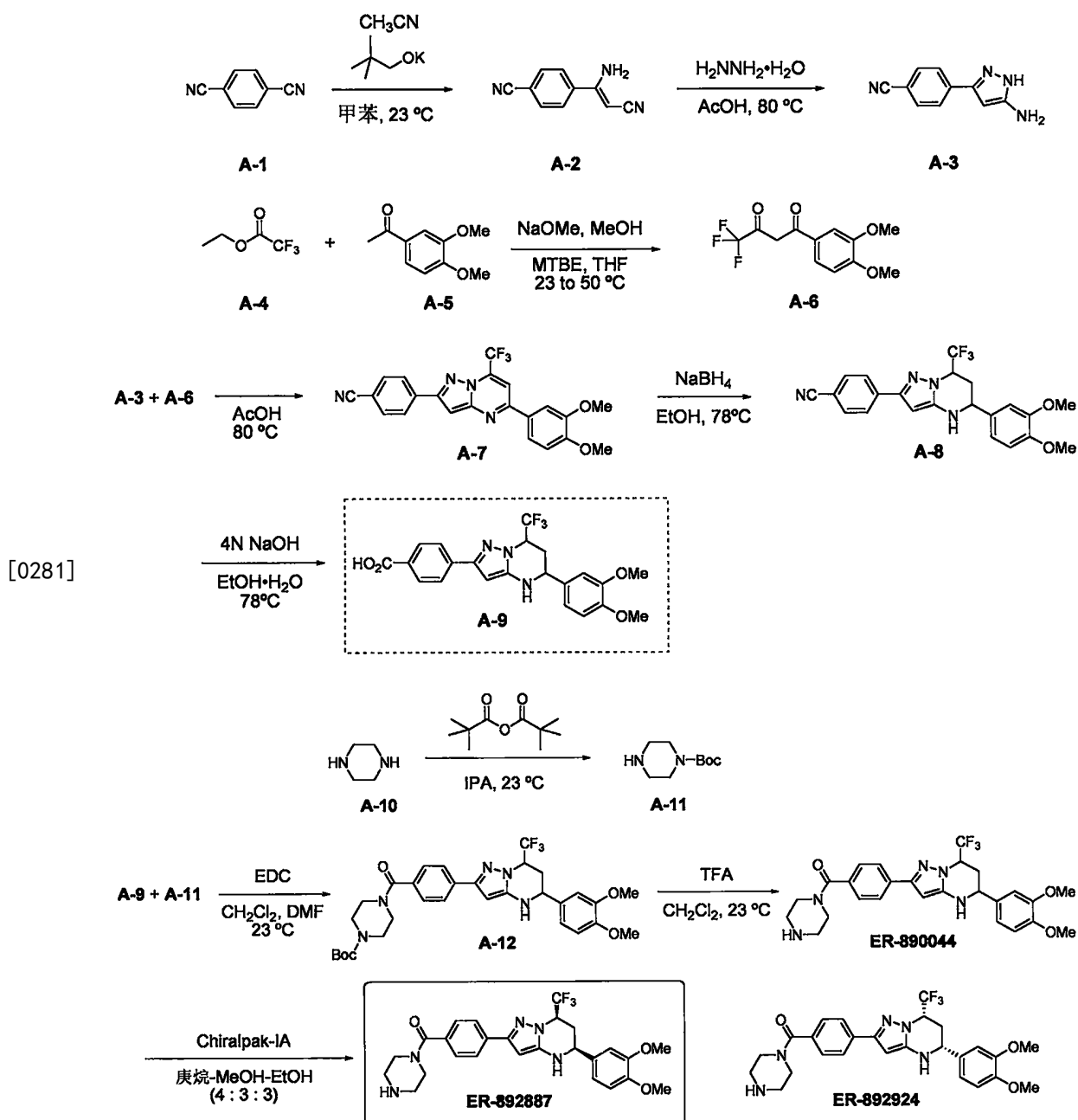
[0276] 反应方案5.



[0278] 反应方案5描述了本文提供的通用结构XV的几个实施例的合成的最终步骤。因此，使用的常见中间体为苕腈XX，通常在相对吡唑并嘧啶部分的3-或4-位处取代，通过酸性或碱性水解将其转化为苯甲酸XXI。XXI与合适的胺 (R^4R^5NH) 的偶联提供外消旋酰胺XXII，将其拆分为它的纯对映异构体XV。或者，可在苕腈 ($XX \rightarrow XXIII$) 或苯甲酸 ($XXI \rightarrow XXIV$) 阶段进行手性拆分并以与最终产物XV相似的方式转化对映体纯的物质。

[0279] 合成实施例-A部分

[0280] 实施例1 (ER-892887的合成)



[0284] 在室温下,向装填对苯二甲腈 (300.0g, 2.34mol) 的5-L烧瓶加入甲苯 (1.80L, 随后乙腈 (245ml)。在1-小时内加入24.2wt%叔戊醇钾 (1.672L, 1.338kg, 2.58mol), 同时控制温度 $<30^\circ\text{C}$ 。

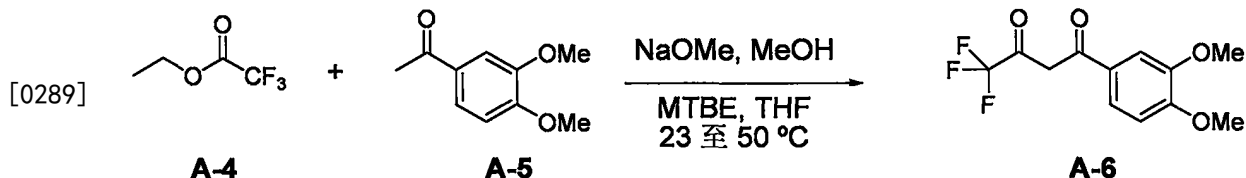
[0285] 使混合物 (黄色粘稠糊状物) 冷却至 20°C 并搅拌16小时, 在该时间之后将水 (0.9L) 加入至剧烈搅拌的混合物直至黄色固体变为浅褐色固体。通过玻璃过滤器将混合物过滤,

使用水 (1.8L), 随后 IPA (1.8L) 冲洗产生的固体, 收集并在 40℃ 下真空干燥 46h。获得 374.1g 的浅褐色粉末形式的化合物 A-2 (2.21mol, 94% 产率)。

[0286] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 4.26 (s, 1H) 7.72–7.77 (m, 2 H) 7.77–7.82 (m, 2H)。

[0287] MS ($M+H^+$) 170.1。

[0288] 化合物 6



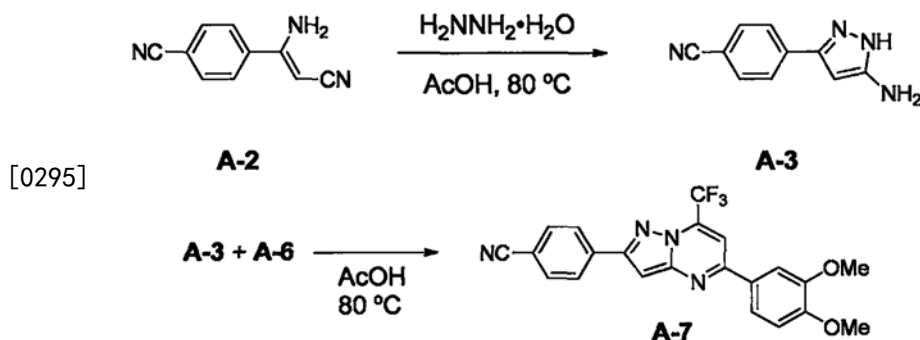
[0290] 向装填 1-(3,4-二甲氧基苯基) 乙酮 (487g, 2.70mol) 的 5-L 烧瓶加入 THF (487mL), 随后 MTBE (1.46L)。在室温下, 加入三氟乙酸乙酯 (516 mL, 4.33mol), 随后加入 25wt% 甲醇钠 (701g, 3.24mol) 的甲醇溶液。将产生的混合物升温至 40℃ 并在 40–43℃ 下搅拌 16h, 在该时间之后, 将反应混合物冷却至 10℃ 并倾倒在预先冷却的 (10℃) MTBE (2.44L) 和 20wt% 柠檬酸 (1.217g, 1.279mol) 的混合物中同时保持 T-内部 < 20℃。在 30min 剧烈搅拌之后, 将有机层分离并相继使用 20wt% 氯化钠 (1.46L) 洗涤两次, 然后浓缩至约 1/3rd 体积。

[0291] 使用 MTBE (3.90L) 稀释产生的剩余物, 使用水 (1.95L) 洗涤并浓缩至约 1/3rd 体积, 在该时间大量的产物固体从溶液中沉淀。将产生的混合物共沸两次, 使用正庚烷 (1.95L) 干燥。加入正庚烷 (877mL) 和 MTBE (97mL) 并将产生的混合物加热至 50℃, 在 2-h 内使其冷却至 15℃, 然后将沉淀过滤。在真空烘箱中 (40℃ 16h, 然后 20℃ 48h) 干燥产生的黄褐色固体以提供 714.3g 的化合物 A-6 (2.59mol, 96% 产率)。

[0292] ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ ppm 3.97 (s, 3H) 3.98 (s, 3H) 6.53 (s, 1H) 6.94 (d, $J=8.51\text{Hz}$, 1H) 7.48 (d, $J=2.10\text{Hz}$, 1H) 7.60 (dd, $J=8.51, 2.10\text{Hz}$, 1H)。

[0293] MS ($M+H^+$) 277.2。

[0294] 化合物 A-3 和 A-7



[0296] 在室温下伴随搅拌将化合物 A-2 (250g, 1.478mol) 悬浮在乙酸 (1.0 L) 中, 在该时间之后加入胍 (72.5mL, 1.478mol) 的水 (75mL) 溶液, 同时内温增加至 42℃。将产生的悬浮液加热至 70℃ 并在该温度下保持 5min, 此时悬浮液变为几乎透明的混合物, 然后再次变混浊以原位提供化合物 A-3。

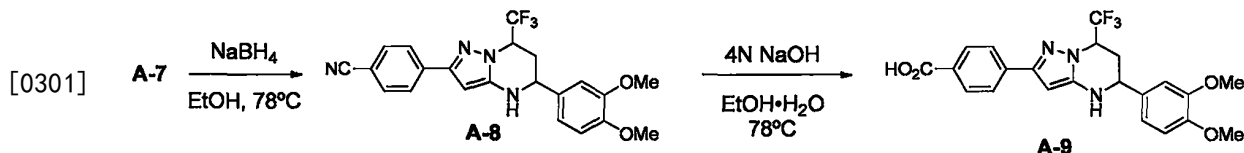
[0297] 将甲苯 (1.50L) 迅速加入上述混合物 (温度降至 48℃), 随后化合物 A-6 (408g, 1.478mol)。将产生的混合物加热至 80℃, 在该时间大量的黄色固体积聚, 产生非常粘稠的糊状物。在保持反应处于 80℃ 30min 之后, 将混合物冷却至 50℃ 并伴随剧烈搅拌加入水 (1.50L)。通过过滤收集黄色沉淀并使用水 (3.75L)、水 (2.5L) 和 IPA (2.50L) 洗涤。在真空下

(40℃)将产生的黄色固体干燥3天以提供464g的化合物A-7 (1.09 mol, 74%产率)。

[0298] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 3.90 (s, 4H) 3.95 (s, 4H) 7.10 (d, $J=8.54\text{Hz}$, 1H) 7.30 (s, 1H) 7.83 (d, $J=8.01\text{Hz}$, 2H) 7.89 (d, $J=2.02\text{ Hz}$, 1H) 7.92 (s, 1H) 8.23 (d, $J=8.66\text{Hz}$, 2H)。

[0299] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 425.4。

[0300] 化合物9



[0302] 将化合物A-7 (326g, 768.2mmol) 悬浮在乙醇 (3.26L) 和水 (815ml) 中, 随后加热至 68-70℃。在室温下, 在1.5小时内加入硼氢化钠原液 [前面通过在室温下将硼氢化钠 (96g, 2.54mol) 加入至0.1M氢氧化钠水溶液 (815ml, 81.50mmol) 随后搅拌30min单独制备的], 此时反应温度升至68-71℃。在完成加入后, 将混合物在68-71℃下加热4h, 在该时间之后, 将混合物冷却至40℃并在30min内加入丙酮 (564mL) (T- 内部40-42℃), 随后在40-42℃下搅拌另外30min以原位提供化合物 A-8。

[0303] ^1H NMR (400MHz, 氯仿- d) δ ppm 2.33-2.44 (m, 1H) 2.51 (d, $J=6.09\text{Hz}$, 1H) 3.91 (s, 3H) 3.93 (s, 3H) 4.33 (s, 1H) 4.45 (dd, $J=11.80, 2.08\text{Hz}$, 1H) 4.87-4.97 (m, 1H) 5.81 (s, 1H) 6.87-6.91 (m, 1H) 6.96- 7.01 (m, 2H) 7.64-7.68 (m, 2H) 7.85-7.90 (m, 2H)。

[0304] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 428.9。

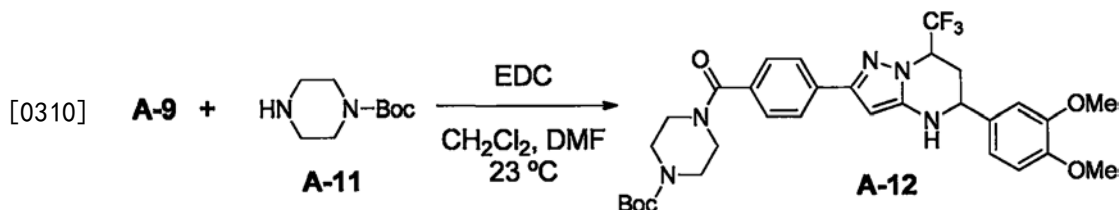
[0305] 将氢氧化钠 (461g, 11.52mol) 加入至上述混合物, 在该时间之后将放热反应加热至70-73℃并搅拌16小时。在冷却至室温之后, 将冰水 (3.260L) 加入至混合物以冷却它至10℃, 随后缓慢加入10% HCl 水溶液 (4.75L), 同时伴随剧烈搅拌保持温度达到<25℃。剧烈搅拌持续30 min。在玻璃过滤器上轻轻倒出最终反应混合物以回收溶剂内的任何褐色粗产物。

[0306] 将在反应容器中剩余的固体悬浮在水 (3.26L) 中并剧烈搅拌30 min并如上所述轻轻倒出。将该过程重复另外一次。使用水 (3.26L), 随后IPA (2.61L) 冲洗最终回收的固体并在空气/真空下干燥1小时, 然后在45℃下在真空下20h以提供226.7g的浅褐色固体形式的化合物 A-9 (0.507mol, 66%产率)。

[0307] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.76 (s, 3H) 3.79 (s, 3H) 5.86 (s, 1H) 6.84 (s, 1H) 6.92-7.04 (m, 2H) 7.08 (d, $J=1.50\text{Hz}$, 1H) 7.84 (m, $J=8.33\text{Hz}$, 2H) 7.95 (m, $J=8.23\text{Hz}$, 2H)。

[0308] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 448.4。

[0309] 化合物12



[0311] 将化合物A-9 (333.8g, 746.1mmol) 溶于DMF (1.335L), 然后使用 DCM (1.00L) 稀释同时在室温下搅拌。加入哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (139g, 746.1mmol), 随后在室温下搅拌另

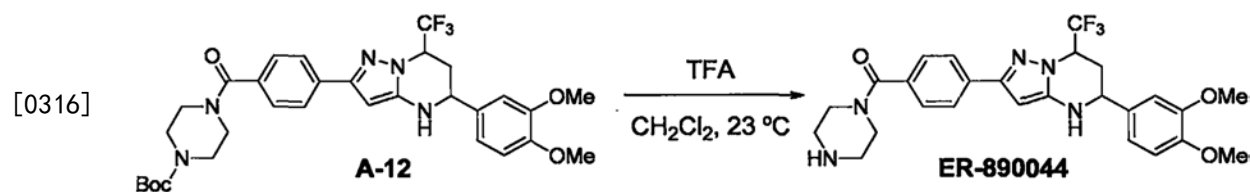
外20min。加入EDC (143g, 746.1 mmol) 并将产生的混合物在室温下搅拌2小时。将正庚烷 (4.01L) 加入至剧烈搅拌的混合物, 随后加入水 (5.34L) 同时保持温度低于25℃。将产生的两相混合物在室温下搅拌另外30min, 在该时间之后将固体过滤, 随后使用水 (4.0L) 然后正庚烷 (2.0L) 洗涤。将固体在在50℃的真空下干燥18h以提供478.5g的粗化合物A-12。

[0312] 将473g的粗化合物A-12悬浮在正庚烷 (1.0L) 和IPA (1.0L) 的溶剂混合物中, 随后加热至50℃并在50℃下搅拌另外10min。在30-min 时间内将悬浮液冷却至20℃, 随后搅拌另外30min。将固体过滤, 使用IPA (500mL) 和正庚烷 (500mL) 的溶剂混合物洗涤, 然后在50℃的真空下干燥5h。将该上述悬浮液和过滤过程另外重复一次。获得403 g 的黄褐色粉末形式的化合物A-12 (0.655mol, 88% 产率)。

[0313] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 0.94-1.14 (m, 1H) 1.45-1.51 (m, 9H) 1.57-1.75 (m, 1H) 2.17-2.29 (m, 1H) 2.49-2.58 (m, 1H) 3.84 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.45 (d, $J=11.44\text{Hz}$, 1H) 5.03-5.15 (m, 1H) 6.96-7.01 (m, 1H) 7.03-7.08 (m, 1H) 7.11 (d, $J=1.79\text{Hz}$, 1H) 7.40- 7.52 (m, 1H) 7.85 (d, $J=8.09\text{Hz}$, 2H) 7.99-8.08 (m, 1H)。

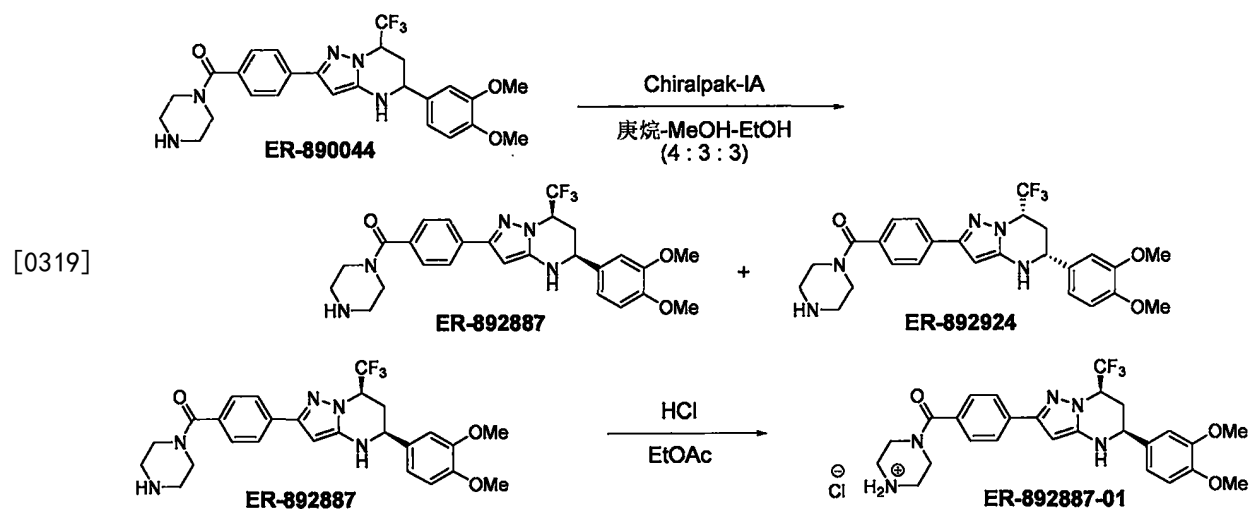
[0314] MS ($M+H^+$) 616.3。

[0315] 化合物ER-890044



[0317] 将化合物A-12 (340g, 0.552mol) 悬浮在DCM (510ml, 7.926mol) 中并在10min内将TFA (510ml, 6.619mol) 加入至悬浮液。将混合物在 23-27℃下搅拌3h, 此后, 将混合物冷却至15℃并使用水 (1700ml, 9.436mol) 稀释同时保持内部温度低于20℃。使用正庚烷 (3.4L, 23.209 mol) 稀释混合物, 然后冷却至15℃。在30min内加入氢氧化钠 (2.872 Kg, 7.179mol) 同时控制T-内部<25℃。将产生的混合物在20-25℃下搅拌20min, 然后过滤以收集浅褐色沉淀。首先使用水 (3.4L), 然后正庚烷 (1.36L) 和DCM (204ml) 的混合物冲洗沉淀。将湿滤饼转移至托盘并在50℃的真空烘箱中干燥过夜以提供248.8g (0.483mol, 87% 产率) 的浅褐色固体形似的ER-890044。

[0318] ER-892887



[0320] 将ER-890044 (30.3g, 58.8mmol) 溶于二氯甲烷和甲醇 (120mL) 的 1:1 溶液并通过中孔布氏漏斗过滤混浊溶液。将澄清滤液直接用于手性 HPLC 纯化。将 4mL 的该溶液负载在 5cm×50cm Chiralpak IA 柱上并在 75mL/min 的流速下使用包含庚烷、甲醇和乙醇 (4:3:3 比例; 使用 0.06% 二乙胺改性) 的流动相洗脱。在 18.5min 至 23.2min 之间收集 ER-892887, 同时在 24.2min 至 32min 之间收集 ER-892924。进行 30 次这样的注射并在减压下浓缩合并的馏分以提供纯对映异构体产物 ER-892887 (10.5g, 20.3mmol, >95% ee) 和 ER-892924 (9.8g, 19.0mmol, >95% ee)。

[0321] 在 10min 内, 向 ER-892887 (8.50g, 16.5mmol) 的干燥乙酸乙酯 (500mL) 溶液滴加 4M HCl 的二氧六环 (4.53mL, 18.1mmol)。获得白色沉淀。将产生的悬浮液在环境温度下搅拌 15min, 然后在减压下过滤。使用乙酸乙酯 (2×100mL) 和乙醚 (2×100mL) 洗涤收集的固体并在真空下干燥以提供 8.29g 的白色固体形式的 ER-892887 盐酸盐 (15.0 mmol, 91% 产率)。

[0322] ER-892930

[0323] 向 5mL 螺旋帽反应管加入化合物 A-9 4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基) 苯甲酸 (21.7mg, 0.049mmol)、3-氨基-1,2-丙二醇 (13.2mg, 0.145mmol)、HATU (1.10eq, 24.8mg, 0.065mmol)、NMP (0.500mL) 和 Hünig 氏碱 (6.00ul, 0.044 mmol)。将反应混合物在 30℃ 下搅拌过夜。通过使用 HPLC 条件 III 的 LC/MS 纯化所述物质。将包含产物的馏分合并, 并真空浓缩提供浅白色固体形式的化合物 ER-892930 (13.3mg, 53% 产率)。

[0324] ER-894463

[0325] 向 5mL 螺旋帽反应管加入化合物 A-94-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基) 苯甲酸 (30.0mg, 0.067 mmol)、3-氨基吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯 (74.9mg, 0.402mmol)、HATU (50.9mg, 0.134mmol)、NMP (0.500mL) 和 Hünig 氏碱 (6.00ul, 0.044mmol)。将反应混合物在 30℃ 下搅拌过夜。通过使用 HPLC 条件 III 的 LC/MS 纯化所述物质。将包含产物的馏分合并, 并真空浓缩。然后在乙醇 (1.0mL) 和 4.0M HCl 的二氧六环 (1.0mL, 4.00mmol) 中处理产生的物质并将混合物在室温下搅拌 1h。然后将混合物真空浓缩以提供黄色固体形式的化合物 ER-894463 (22.1mg, 60% 产率)。

[0326] ER-895080

[0327] 向 5mL 螺旋帽反应管加入化合物 A-94-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基) 苯甲酸 (20.0mg, 0.045 mmol)、2,6-二氮螺[3.4]辛烷-6-羧酸叔丁基酯 (18.98mg, 0.089mmol)、HATU (18.7mg, 0.049mmol)、NMP (0.500mL) 和 Hünig 氏碱 (6.00ul, 0.044mmol)。将反应混合物在 30℃ 下搅拌过夜。通过使用 HPLC 条件 III 的 LC/MS 纯化所述物质。将包含产物的馏分合并, 并真空浓缩。然后, 在乙醇 (1.0mL) 和 50% 三氟乙酸的 DCM (1.0mL, 4.00mmol) 中处理产生的物质并将混合物在 RT 下搅拌 1h。然后将混合物真空浓缩以提供黄色固体形式的化合物 ER-895080 (2.40mg, 8% 产率)。

[0328] 以与实施例 ER-895080 类似的方式, 从化合物 ER-886619 (30.0mg, 0.067mmol) 和商购氮杂环丁烷-3-醇 (29.4mg, 0.402mmol) 制备实施例 ER-894462-00。通过 LCMS 纯化, 使用 HPLC 条件 III, 提供期望的产物 (8.1mg, 24%)。

[0329] 以与实施例 ER-895080 类似的方式, 从化合物 ER-886619 (30.0mg, 0.067mmol) 和商购吡咯烷-3-醇 (35.0mg, 0.402mmol) 制备实施例 ER-894465-00。通过 LCMS 纯化, 使用

HPLC条件III,提供期望的产物(18.5mg,53%)。

[0330] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(30.0mg, 0.067mmol)和商购吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁基酯(74.9mg,0.402 mmol)制备实施例ER-894464-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(32.6mg,88%)。

[0331] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(30.0mg, 0.067mmol)和商购3-氨基氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁基酯(69.3mg,0.402 mmol)制备实施例ER-895077-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(8.6mg,24%)。

[0332] 以与ER-894463类似的方式实施例,从化合物ER-886619(30.0mg, 0.067mmol)和商购氮杂环丁烷-3-基氨基甲酸叔丁基酯(69.3mg,0.402 mmol)制备实施例ER-895078-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(29.7mg,82%)。

[0333] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(7.8mg, 0.062mmol)和商购六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(37.0 mg,0.174mmol)制备实施例ER-895746-01。通过LCMS纯化,使用 HPLC条件III,提供期望的产物(27.5mg,77%)。

[0334] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯(35.5mg,0.177 mmol)制备实施例ER-895748-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(31.3mg,99%)。

[0335] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯(36.6mg,0.183 mmol)制备实施例ER-895749-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(29.5mg,93%)。

[0336] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购3-甲基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯(31.7mg,0.158 mmol)制备实施例ER-895750-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(30.6mg,97%)。

[0337] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购3-甲基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯(43.5mg,0.217 mmol)制备实施例ER-895751-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(31.2mg,98%)。

[0338] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购2,5-二甲基哌啶-1-羧酸(2S,5R)-叔丁基酯(30.3mg, 0.141mmol)制备实施例ER-895752-01。通过LCMS纯化,使用HPLC 条件III,提供期望的产物(30.6mg,94%)。

[0339] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购2,5-二甲基哌啶-1-羧酸(2R,5R)-叔丁基酯(37.6mg, 0.175mmol)制备实施例ER-895753-01。通过LCMS纯化,使用HPLC 条件III,提供期望的产物(19.5mg,60%)。

[0340] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-886619(25.0mg, 0.056mmol)和商购2,5-二氮杂二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸(1S,4S)-叔丁基酯(33.5mg,0.169mmol)制备实施例ER-895754-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(26.7mg,85%)。

[0341] 以与实施例ER-895080类似的方式,从化合物ER-886619(24.5mg, 0.055mmol)和商购(氮杂环丁烷-3-基甲基)(甲基)氨基甲酸叔丁基酯(22.4mg,0.112mmol)制备实施例ER-895083-15。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(0.6mg,2%)。

[0342] 以与实施例ER-895080类似的方式,从化合物ER-886619(20.6mg, 0.046mmol)和商购(6-氨基螺[3.3]庚烷-2-基)氨基甲酸叔丁基酯(23.4 mg,0.103mmol)制备实施例ER-

895081-15。通过LCMS纯化,使用 HPLC条件III,提供期望的产物(13.3mg,43%)。

[0343] 以与实施例ER-895080类似的方式,从化合物ER-886619(23.5mg, 0.053mmol)和商购2,7-二氮螺[4.4]壬烷-2-羧酸叔丁基酯(25.1mg, 0.111mmol)制备实施例ER-895082-15。通过LCMS纯化,使用HPLC 条件III,提供期望的产物(5.3mg,15%)。

[0344] 制备实施例ER-898416。从(3-氰基苯基)硼酸(93mg,.631mmol) 和5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基三氟甲磺酸盐(100.0mg,.21mmol)并以与5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(G部分,ER893393的制备)类似的方式制备3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸以产生3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苄腈(46mg,51%产率)。由此,以与化合物A-9类似的方式制备的物质(75mg,0.175mmol)的水解提供目标化合物(42mg,54%产率)。

[0345] 以与实施例D-6类似的方式从3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸(24mg,0.054mmol)和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯(40mg,0.215mmol)在两步中制备实施例ER-895811以提供中间体3-(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰氨基)吡咯烷-1-羧酸(3S)-叔丁基酯(7mg,0.011mmol,21%产率)。然后,以与实施例 ER-897560类似的方式,使用HCl处理该中间体(6mg,0.0097mmol) 以提供目标产物ER-895811(4.4mg,82%产率)。

[0346] 以与实施例D-6类似的方式,从3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸(119mg,0.266mmol) 和商购六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(226mg,1.06mmol) 在两步中制备实施例ER-896386以提供中间体5-(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(94mg,0.146mmol,55%产率)。然后,以与ER-890044(A部分)类似的方式将该中间体拆分为它的构成对映异构体以提供5-(3-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(33mg,0.051mmol)和5-(3-((5R,7S)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(33mg,0.051mmol)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理中间体 5-(3-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(22mg,0.034mmol)以提供目标产物ER-896386(19mg,96%产率)。

[0347] 从在实施例ER-896386中获得的中间体5-(3-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯制备实施例ER-896387。然后,以与实施例ER-897560类似的方式,使用HCl处理该中间体(16 mg,0.025mmol)以提供目标产物ER-896387(14mg,99%产率)。

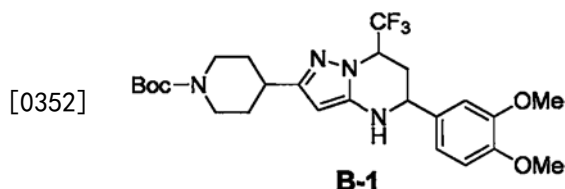
[0348] 以与实施例D-6类似的方式,从3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸(25mg,0.056mmol) 和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯

(42mg, 0.224mmol) 在两步中制备实施例 ER-896388 以提供中间体 4-(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (18mg, 0.029mmol, 52% 产率)。然后, 以与实施例 ER-897560 类似的方式使用 HCl 处理该中间体 (16mg, 0.026mmol) 以提供目标产物 ER-896388 (14mg, 98% 产率)。

[0349] 以与实施例 D-6 类似的方式, 从化合物 3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25mg, 0.056mmol) 和商购 ((3R,5S)-5-甲基哌啶-3-基)氨基甲酸叔丁基酯 (48 mg, 0.224mmol) 在两步中制备实施例 ER-896389 以提供中间体 ((3R,5S)-1-(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰基)-5-甲基哌啶-3-基)氨基甲酸叔丁基酯 (22 mg, 0.034mmol, 61% 产率)。然后, 以与实施例 ER-897560 类似的方式使用 HCl 处理该中间体 (20mg, 0.031mmol) 以提供目标产物 ER-896389 (17.5mg, 97% 产率)。

[0350] 合成实施例-B部分

[0351] 实施例 2 (ER-885681 的制备)



[0353] 以与化合物 A-8 类似的方式从商购 4-氰基哌啶-1-羧酸叔丁基酯制备化合物 B-1 (56g, 最终步骤 70% 产率)。

[0354] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.44-1.49 (m, 10H) 1.50-1.62 (m, 6H) 1.89 (d, $J=12.05\text{Hz}$, 2H) 2.31 (dt, $J=13.69, 11.51\text{Hz}$, 1H) 2.41 -2.49 (m, 1H) 2.69-2.88 (m, 3H) 3.89 (s, 3H) 3.91 (s, 3H) 4.06-4.21 (m, 3H) 4.38 (dd, $J=11.71, 1.95\text{Hz}$, 1H) 4.81 (dt, $J=11.29, 5.80\text{Hz}$, 1H) 5.28 (s, 1H) 6.84-6.89 (m, 1H) 6.93-6.98 (m, 2H)。

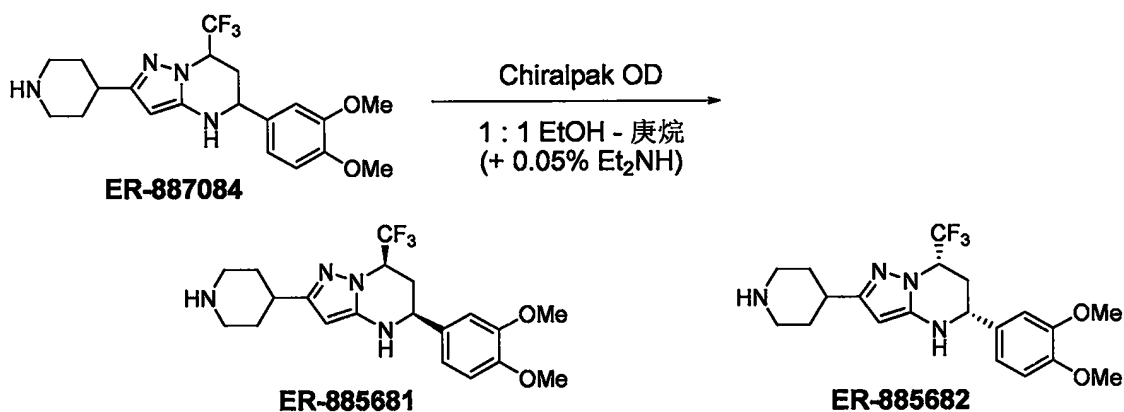
[0355] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 511.0。



[0357] 将三氟乙酸 (15mL) 加入至化合物 B-1 (7.86g, 15.4mmol) 的二氯甲烷 (15mL) 溶液并将混合物在 rt 下搅拌。在 15min 之后, 将反应混合物在减压下浓缩, 并将剩余物在 MTBE 和饱和 NaHCO_3 之间分层。将层分离并使用二氯甲烷进一步萃取水溶液 (2x)。使用盐水洗涤合并的萃取物, 干燥 (Na_2SO_4) 并在减压下浓缩以提供白色固体形式的 ER-887084 (4.28g, 68%)。

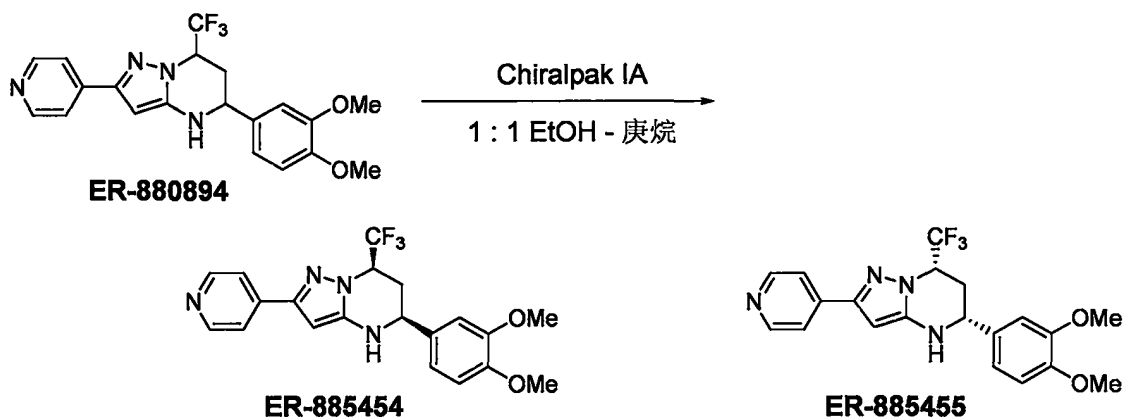
[0358] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 1.52-1.64 (m, 3H) 1.84 (br. s., 1H) 2.06-2.17 (m, 1H) 2.40-2.47 (m, 1H) 2.59-2.70 (m, 5H) 3.01- 3.09 (m, 3H) 3.79 (s, 3H) 3.82 (s, 3H) 4.33 (dd, $J=11.59, 2.25\text{Hz}$, 1H) 4.87-4.95 (m, 1H) 5.30 (s, 1H) 6.93 (d, $J=8.31\text{Hz}$, 1H) 6.96-7.00 (m, 1H) 7.04 (d, $J=1.90\text{Hz}$, 1H)。

[0359] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 411.5。



[0361] 化合物ER-885681和ER-885682

[0362] 将化合物ER-887084 (1.19g, 2.91mmol) 溶于甲醇 (11mL) 并使用 19mL 的使用 0.05% 二乙胺改性的 1:1 乙醇-庚烷溶液进一步稀释溶液。将 1mL 的该溶液负载在 2cm×25cm Chiralcel OD 柱上并在 15 mL/min 的流速下使用包含 1:1 庚烷-乙醇 (包含 0.05% 二乙胺) 的流动相洗脱。在 7.3min 至 9.6min 之间收集化合物 ER-885681, 同时在 9.8 min 至 14.5min 之间收集化合物 ER-885682。进行 33 次这样的注射并在减压下浓缩合并的馏分以提供纯对映异构体产物化合物 ER-885681 (571mg, 96% 产率, >95% ee) 和化合物 ER-885682 (ER-887275) (574mg, 96% 产率, >95% ee)。



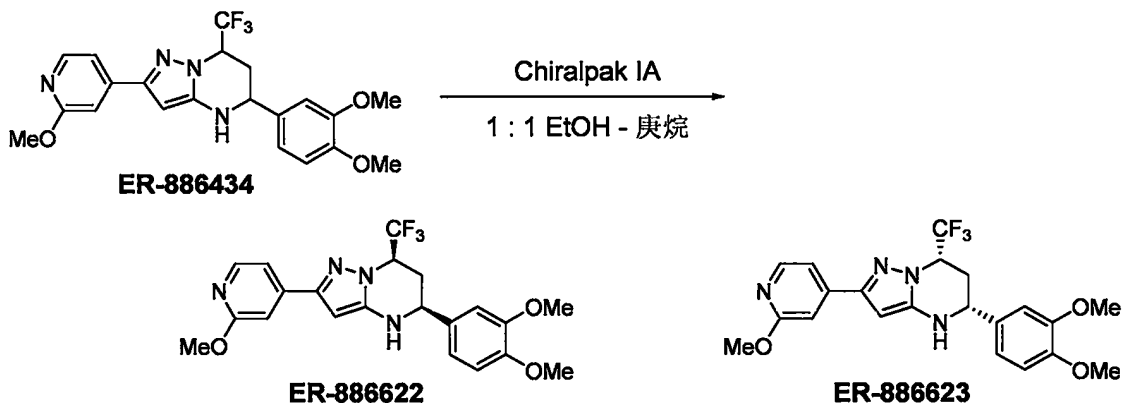
[0364] 实施例ER-885454和ER-885455

[0365] 使用反应方案I中概述和由化合物A-8 (ER-890044) 的制备例示的一般顺序从商购 4-甲基吡啶腈 (450g, 4.32mol) 制备化合物ER-880894 以产生ER-880894 (205g, mmol 12% 总产率)。

[0366] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.29-2.46 (m, 2H) 2.47-2.60 (m, 2H) 3.91 (s, 3H) 3.93 (s, 3H) 4.36 (s, 1H) 4.45 (d, $J=9.96\text{Hz}$, 1H) 4.93 (dt, $J=11.28, 5.79\text{Hz}$, 2H) 5.85 (s, 1H) 6.85-6.93 (m, 1H) 6.93- 7.04 (m, 2H) 7.59-7.70 (m, 2H) 8.56-8.66 (m, 2H)。

[0367] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 405.2。

[0368] 以与ER-890044 (除了 1:1 乙醇-庚烷用作流动相之外) 类似的方式, 通过手性HPLC 拆分ER-880894 (200mg, 0.495mmol) 产生 ER-885454 (96mg, 48% 产率) 和ER-885455 (91.2mg, 46% 产率)。



[0369]

[0370] 实施例ER-886622和ER-886623

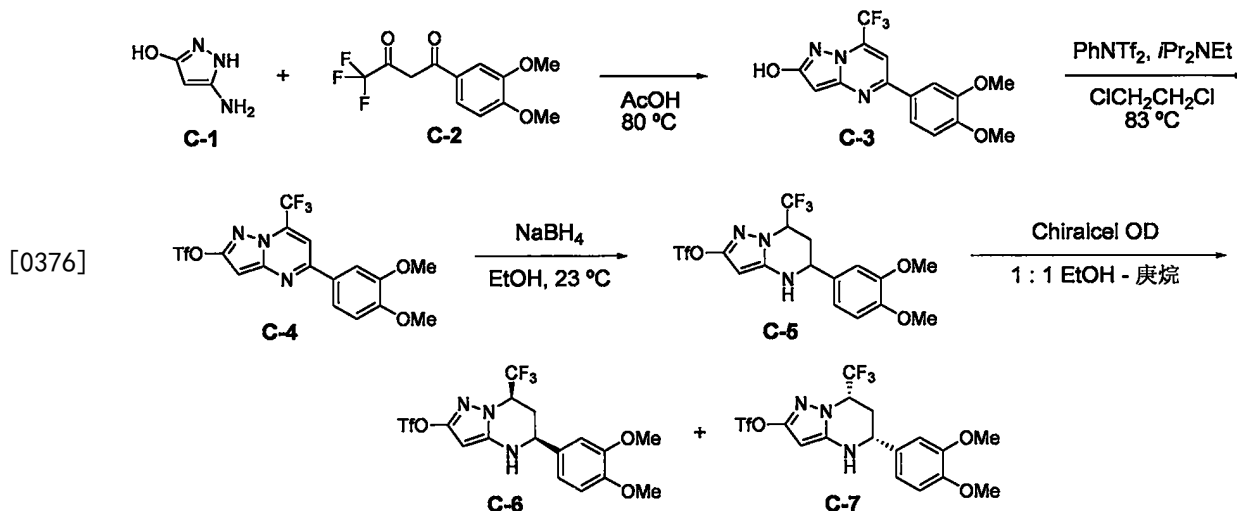
[0371] 以与化合物ER-880894类似的方式,从商购4-氰基-2-甲氧基吡啶 (mg, mmol) 制备实施例ER-886434以产生ER-886434 (127mg, 62%产率)。

[0372] MS (M+H⁺) 435.6。

[0373] 以与ER-880894类似的方式,通过手性HPLC拆分提供 ER-886622 (21.5mg, 44%产率, >95% ee) 和ER-886623 (20.2mg, 41%产率, >95% ee)。

[0374] 合成实施例-C部分

[0375] ER-890035的制备



[0377] 化合物C-3

[0378] 在80 °C下,加热化合物C-1 (9.91g, 100mmol) 和化合物C-2 (27.6g, 100mmol) 的乙酸 (60mL) 溶液。当黄色沉淀开始形成时澄清深橙色反应混合物逐渐变得更浅。在30min内,反应混合物变为浓黄色浆液。将混合物在80 °C下保持另外15min。将混合物冷却至室温,并加入 IPA。将悬浮液加热至约75 °C,然后冷却至室温。将黄色沉淀过滤,并使用另外的IPA洗涤固体,并在减压下干燥。获得浅黄色固体形式的化合物C-3 (30.9g, 91%产率)。

[0379] ¹H NMR (400MHz, 甲醇-d₄) δ ppm 3.92-3.92 (m, 3H) 3.96 (s, 3 H) 7.10 (d, J = 8.51Hz, 1H) 7.67 (s, 1H) 7.75 (dd, J = 8.47, 2.21Hz, 1H) 7.83-7.86 (m, 1H) (主要互变异构体)。

[0380] MS (M+H⁺) 340.5。

[0381] 化合物C-4

[0382] 将化合物C-3 (9.9g, 29.2mmol) 溶于N,N-二异丙基乙胺 (25.4mL) 和1,2-二氯乙烷 (100mL) 并将混合物在室温下搅拌。向该溶液加入N- 苯基双(三氟甲烷磺酰亚胺) (20.8g, 58.2mmol) 并将混合物在回流下加热。在45min之后, 将反应混合物冷却至室温, 并在减压下浓缩以提供橙褐色剩余物。通过使用梯度洗脱 (10至40% EtOAc的庚烷) 的硅胶色谱法纯化剩余物以提供黄色固体形式的化合物C-4 (7.10g, 52% 产率)。在反应中形成少量的N-磺酰基化区域异构体, 但不分离。

[0383] ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3.87 (s, 3H) 3.90 (s, 3H) 7.15 (d, $J=8.65\text{Hz}$, 1H) 7.20 (s, 1H) 7.85 (d, $J=2.14\text{Hz}$, 1H) 8.00 (dd, $J=8.55, 2.14\text{Hz}$, 1H) 8.35 (s, 1H)。

[0384] MS ($M+H^+$) 472.3。

[0385] 化合物C-5

[0386] 向化合物C-4 (2.24g, 0.00475mol) 的乙醇 (29.9mL) 溶液加入硼氢化钠 (360mg, 9.50mmol) 并将混合物在室温下搅拌。在30min之后, 将反应混合物小心倾倒在饱和 NH_4Cl 溶液和水的1:1混合物上。使用二氯甲烷萃取水溶液 (3x); 使用盐水洗涤合并的萃取物, 干燥并在减压下浓缩。通过使用梯度洗脱 (0至50% EtOAc的庚烷) 的硅胶色谱法纯化粗产物以提供白色固体形式的化合物C-5 (1.94g, 86% 产率)。

[0387] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 2.18 (dt, $J=13.35, 11.43\text{Hz}$, 1 H) 2.47 (ddd, $J=13.43, 5.95, 2.59\text{Hz}$, 1H) 3.80 (s, 3H) 3.82 (s, 3H) 4.44 (dd, $J=11.63, 2.44\text{Hz}$, 1H) 4.92-5.03 (m, 1H) 5.32 (s, 1H) 6.94 (d, $J=8.28\text{Hz}$, 1H) 6.99 (dd, $J=8.41, 1.89\text{Hz}$, 1H) 7.04 (d, $J=1.95\text{Hz}$, 1 H) .MS ($M+H^+$) 472.3。

[0388] 化合物C-6和C-7

[0389] 将化合物C-5 (900mg, 1.91mmol) 溶于甲醇 (10mL) 并使用乙醇 (5 mL) 和庚烷 (5mL) 进一步稀释溶液。将1mL的该溶液负载在2cm $\times$ 25 cm **Chiralcel®** OD柱上并在15mL/min的流速下使用包含1:1庚烷- 乙醇的流动相洗脱。在6.0min至7.7min之间收集化合物 C-6 (ER-887274), 同时在8.75min至11.5min之间收集化合物 C-7 (ER-887275)。进行17次这样的注射并在减压下浓缩合并的馏分以提供纯对映异构体产物化合物C-6 (ER-887274) (683mg, 1.44mmol, > 95% ee) 和化合物C-7 (ER-887275) (671mg, 1.41mmol, > 95% ee)。

[0390] 实施例ER-890035。向15mm $\times$ 75mm螺旋帽管加入 (3- (5-甲基 -1,2,4-噁二唑-3-基) 苯基) 硼酸 (36.1mg, 0.177mmol)、0.0750M的四 (三苯基膦) 钯 (0) 的1,4-二氧六环 (80.0uL, 0.006mmol)、0.150M 5- (3,4-二甲氧基苯基) -7- (三氟甲基) -4,5,6,7-四氢吡唑并 [1,5-a] 嘧啶-2-基三氟甲磺酸盐 (C-5) 的1,4-二氧六环 (420.0uL, 0.0631mmol) 和2.00M的碳酸钠的水 (60.0uL, 120mmol)。使用氮气吹扫反应容器并密封。将小瓶摇动并在85 $^{\circ}\text{C}$ 下在铝模中加热过夜。向混合物加入1.0mL的饱和碳酸氢钠水溶液, 然后使用乙酸乙酯 (2 $\times$ 2.0mL) 萃取混合物。真空浓缩合并的有机层。将残留的剩余物溶于500uL的DMSO。通过使用乙腈:水 (甲酸) 梯度在XTerra C8 19 $\times$ 100mm柱上的LC/MS纯化物质。将包含产物的馏分合并, 真空浓缩以提供黄色固体形式的化合物 ER-890035, 2.9mg (9.5% 产率)。

[0391] 以与实施例ER-890035类似的方式, 从化合物C-6 (250mg, 0.526 mmol) 和商购 (1, 4-二甲基-1H-吡唑-5-基) 硼酸 (200mg, 1.05mmol) 制备实施例ER-893972。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物 (159mg, 64% 产率)。

[0392] 以与实施例ER-890035类似的方式, 从化合物C-6 (250mg, 0.526 mmol) 和商购 (4-

((3-羟基丙基)氨基甲酰基)苯基)硼酸(235mg, 1.05 mmol)制备实施例ER-892893。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(166 mg, 63%产率)。

[0393] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (250mg, 0.526 mmol)和商购(4-氨基甲酰基-2-氟苯基)硼酸(192mg, 1.05mmol)制备实施例ER-892892。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(179mg, 73%产率)。

[0394] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (250mg, 0.526 mmol)和商购(4-氨基甲酰基-2-氟苯基)硼酸(192mg, 1.05mmol)制备实施例ER-892892。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(179mg, 73%产率)。以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (250mg, 0.526 mmol)和商购(4-甲基-1H-吡啶-5-基)硼酸(185mg, 1.05mmol)制备实施例ER-894680。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(90mg, 37%产率)。

[0395] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (20mg, 0.042 mmol)和商购(3-乙酰胺基苯基)硼酸(22.6mg, 0.126mmol)制备实施例 ER-887734。通过LCMS纯化(Rt 7.45min, 条件II)提供目标产物(9.7 mg, 50%产率)。

[0396] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (20mg, 0.042 mmol)和商购(3-乙酰胺基苯基)硼酸(20.3mg, 0.126mmol)制备实施例 ER-887738。通过LCMS纯化(Rt 8.58min, 条件II)提供目标产物(6.5 mg, 35%产率)。

[0397] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (200mg, 0.421 mmol)和商购(3-氯-4-(甲基氨基甲酰基)苯基)硼酸(180mg, 0.843mmol)制备实施例ER-892889。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(88mg, 42%产率)。

[0398] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (250mg, 0.526 mmol)和商购(4-氨基甲酰基-3-氯苯基)硼酸(210mg, 1.05mmol)制备实施例ER-892890。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(138mg, 55%产率)。

[0399] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (40mg, 0.084 mmol)和商购(1,6-二甲基-1H-吡啶-5-基)硼酸(51mg, 0.268mmol)制备实施例ER-893961。通过LCMS纯化提供目标产物(8.9mg, 22%产率)。

[0400] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-6 (40mg, 0.084 mmol)和商购5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2(3H)-酮(80.55mg, 0.309mmol)制备实施例ER-893961。通过LCMS 纯化提供目标产物(4.3mg, 11%产率)。

[0401] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (50.0mg, 0.105 mmol)和商购(4-氨基甲酰基苯基)硼酸(2.50eq)制备实施例ER-889871。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(12.8mg, 27%)。

[0402] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (50.0mg, 0.105 mmol)和商购(4-(羟基甲基)苯基)硼酸(2.50eq)制备实施例ER-889874。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(7.8mg, 17%)。

[0403] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg, 0.063 mmol)和商购(4-氨基甲酰基-2-氟苯基)硼酸(2.50eq)制备实施例 ER-890017。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (13.4mg, 46%)。

[0404] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg, 0.063 mmol)和商购(4-氨基甲酰基-3-氟苯基)硼酸(2.50eq)制备实施例 ER-890019。通过LCMS纯化,使用HPLC条

件III,提供期望的产物 (11.7mg,40%)。

[0405] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(4-氨基甲酰基-3-氯苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-890020。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (14mg,46%)。

[0406] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(4-((3-羟基丙基) 氨基甲酰基) 苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例ER-890024。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(11.5mg,36%)。

[0407] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(4-(苄基氨基甲酰基)-3-氯苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-890027。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (12.3mg,34%)。

[0408] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(3-氯-4-(异丙基氨基甲酰基) 苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例ER-890028。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(18.1mg,55%)。

[0409] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(3-氯-4-(甲基氨基甲酰基) 苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-890029。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (15.4mg,49%)。

[0410] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(3-(5-甲基-1,2,4-噁二唑-3-基) 苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例ER-890035。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(2.9mg,9%)。

[0411] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(2-氧代-2,3-二氢-1H-苯并[d]咪唑-5-基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例ER-890043。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(5.6mg,19%)。

[0412] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(4-(哌嗪-1-羰基) 苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-890044。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (13.7mg,42%)。

[0413] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(3-(1H-吡唑-1-基) 苯基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-890050-00。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(15.4mg,52%)。

[0414] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(6-(甲基氨基甲酰基) 吡啶-3-基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-891029-00。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(9mg,31%)。

[0415] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(1,7-二甲基-1H-吡唑-5-基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-891043。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (18mg,61%)。

[0416] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(1,4-二甲基-1H-吡唑-5-基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-891044。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物 (14.3mg,48%)。

[0417] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(1,6-二甲基-1H-吡唑-5-基) 硼酸(2.50eq) 制备实施例 ER-891047。通过LCMS纯化,使用HPLC

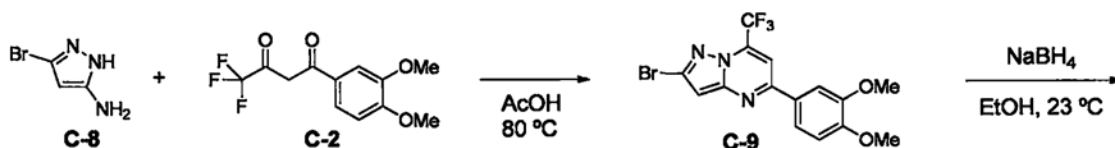
条件III,提供期望的产物 (18.1mg,61%)。

[0418] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(4-(环丙基氨基甲酰基)-3-氟苯基)硼酸(2.50eq)制备实施例ER-891058。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(13.8mg,43%)。

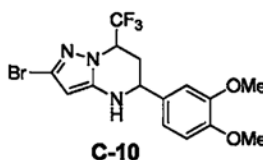
[0419] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (30.0mg,0.063 mmol) 和商购(4-(叔丁基氨基甲酰基)-3-氟苯基)硼酸(2.50eq)制备实施例ER-892908。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(7mg,21%)。

[0420] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-5 (32.6mg,0.069 mmol) 和商购(1H-吡唑-4-基)硼酸(2.70eq)制备实施例ER-892931。通过 LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(5.5mg,18%)。

[0421] C部分.1 (通过交叉偶联从溴化物制备化合物)



[0422]



[0423] 化合物C-9

[0424] 将3-氨基-5-溴吡唑C-8 (3.24g,20mmol) 和二酮C-2 (5.52g,20 mmol) 的乙酸(20mL)混合物加热至80℃。在1h之后,将反应混合物冷却至室温,并使用IPA稀释。在混合物中形成黄色ppt,通过过滤收集它。静置后,在母液中形成另外的ppt。收集合并的批次并在真空下干燥以提供3.89g的黄色固体形式的化合物C-9 (9.67mmol,48%产率)。

[0425] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ ppm 3.99 (s,3H) 4.05 (s,3H) 6.85 (s,1H) 7.00 (d, J=8.47Hz,1H) 7.57 (s,1H) 7.62 (dd, J=8.45,2.16Hz,1 H) 7.80 (d, J=2.14Hz,1H)。

[0426] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 402.2。

[0427] 化合物C-10

[0428] 将化合物C-9 (1.1g,2.74mmol) 悬浮在乙醇(5mL) 中并加入硼氢化钠(155mg,4.1mmol)。将混合物在室温下搅拌1.5h。此时,加入另外的硼氢化钠(155mg) 并将混合物在室温下搅拌另外2h。加入乙酸(1.56 mL) 以淬灭反应并将产生的水溶液倾倒在饱和 NaHCO_3 水溶液中。通过过滤收集沉淀的白色固体,使用水洗涤,并在减压下干燥以提供667 mg的浅白色固体形式的化合物C-10 (1.64g,60%产率)。

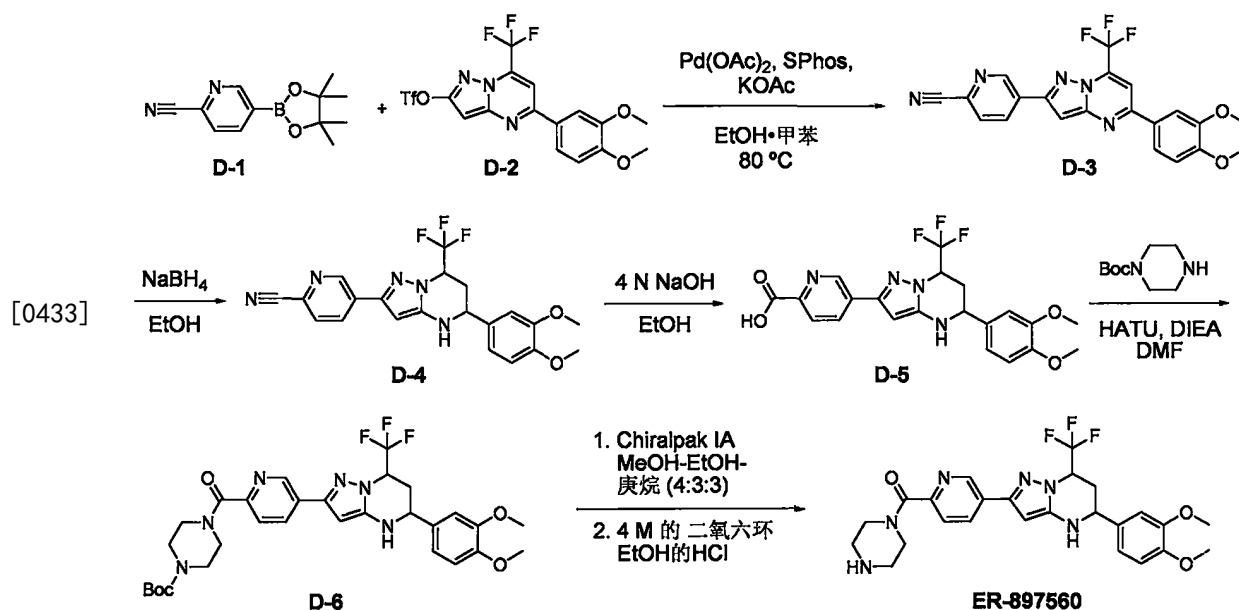
[0429] ^1H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.34-2.37 (m,1H) 2.49 (m,1 H) 3.86 (s,1H) 3.91 (s,3H) 3.92 (s,3H) 4.40 (dd, J=11.75,2.44Hz,1H) 4.82 (dt, J=11.32,5.73Hz,1H) 5.51 (s,1H) 6.80-6.91 (m,2H) 6.93- 7.00 (m,1H)。

[0430] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 406.4。

[0431] 以与实施例ER-890035类似的方式,从化合物C-10 (37.0mg,0.091 mmol) 和商购异喹啉-5-基硼酸(2.50eq)制备实施例ER-889925。通过 LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期

望的产物 (9.9mg, 24%)。

[0432] 合成实施例-D部分



[0434] 5-(5-3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶腈 (D-3)

[0435] 向小瓶加入5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)甲基吡啶腈 (1.95g, 8.48mmol)、二环己基(2',6'-二甲氧基-[1,1'-联苯基]-2-基)膦 (0.261g, 0.636mmol)、5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基三氟甲磺酸盐 (2.00g, 4.24mmol)、醋酸钾 (0.833g, 8.49mmol) 和醋酸钯(II) (0.095g, 0.424mmol)。在使用氮气冲洗小瓶和内容物之后,加入1:1甲苯/乙醇(20mL)的脱气溶液,将小瓶密封并加热至80°C时间为2天。将乙酸乙酯加入至产生的浅黄色沉淀,通过过滤收集产生的浅黄色沉淀并在高真空下干燥 (1.13g, 63%)。该物质用于下一步而不进一步纯化。

[0436] $^1\text{H NMR}$ (400MHz CDCl_3) δ ppm 4.00 (3H), 4.06 (3H), 7.02 (2H), 7.21 (1H), 7.66 (2H), 7.84 (2H), 8.5 (1H), 9.33 (1H)。

[0437] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 426.0。

[0438] 5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶腈 (D-4)

[0439] 向5-(5-3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶腈 (1.03g, 2.43mmol) 的乙醇 (23.0mL) 混合物加入硼氢化钠 (0.276g, 7.29mmol); 将反应混合物加热至回流2h, 此后, 使反应混合物冷却至室温并搅拌过夜。加入乙酸 (1.40mL), 随后 1.0N 盐酸溶液 (48.6mL) 并使用旋转蒸发浓缩混合物。将二氯甲烷加入至剩余物并过滤。通过旋转蒸发浓缩滤液提供浅褐色泡沫形式的粗产物 (0.694g, 66%)。该物质用于下一步而不进一步纯化。

[0440] $^1\text{H NMR}$ (400MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.13 (1H), 2.46 (1H), 3.77 (6 H), 4.48 (1H), 5.36 (1H), 5.97 (1H), 6.98 (3H), 7.08 (1H), 8.08 (1H), 8.28 (1H), 9.05 (1H)。

[0441] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 430.0。

[0442] 5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-

2-基)吡啶甲酸(D-5)

[0443] 向5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶腈(0.694g, 1.62mmol)的悬浮液加入4.00M 氢氧化钠的水溶液(2.02mL)。将产生的混合物在回流下加热3h。加入 1.0N盐酸溶液(11.3mL)并将浅褐色沉淀过滤,使用大量的水冲洗,在空气/真空下干燥30min,然后在高真空下干燥48h以提供浅褐色固体(0.535g, 74%)。该物质用于下一步而不进一步纯化。

[0444] ^1H NMR (400MHz DMSO- d_6) δ_{ppm} 2.13 (1H), 2.46 (1H), 3.76 (3 H), 3.79 (3H), 4.48 (1H), 5.35 (1H), 6.00 (1H), 6.99 (3H), 7.08 (1H), 8.11 (1H), 8.32 (1H), 9.04 (1H)。

[0445] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 449.01。

[0446] 4-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(D-6)

[0447] 向5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶甲酸(458mg, 1.02mmol)的DMF (4.0mL)溶液加入N,N-二异丙基乙胺(535 μ l, 3.06mmol)和HATU(427mg, 1.12mmol)。在室温下搅拌1h之后,加入哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(209mg, 1.12mmol)并将反应在室温下搅拌过夜。加入水并通过过滤收集产生的浅褐色沉淀(0.5385g)。通过柱色谱法(15%至100%乙酸乙酯/庚烷)纯化提供浅黄色固体形式的4-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(332mg, 54%)。

[0448] ^1H NMR (400MHz CD $_3$ OD) δ_{ppm} 1.46 (9H), 2.2 (1H), 2.5 (1H), 3.50 (8H), 3.73 (1H), 3.82 (6H), 4.45 (1H), 5.08 (1H), 5.91 (1H), 7.02 (3H), 7.62 (1H), 8.23 (1H), 8.92 (1H)。

[0449] MS ($\text{M}+\text{H}^+$) 617.2。

[0450] (5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶-2-基)(哌嗪-1-基)甲酮(ER-897560)

[0451] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式将化合物D-6 (66mg, 0.107 mmol)拆分为它的构成对映异构体以提供4-(5-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(9.2mg, 14%产率)和4-(5-((5R,7S)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(9.2mg, 14%产率)。

[0452] 向4-(5-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(90.0mg, 0.146mmol)的乙醇(4mL)溶液加入4.0M HCl的1,4-二氧六环(1.84 mL)。将反应加热至40°C 1h。通过旋转蒸发浓缩反应混合物并与甲苯共沸以提供浅黄色固体形式的ER-897560 (91mg, 106%产率)。

[0453] 以与实施例D-4类似的方式,从化合物C-9 (500mg, 1.243mmol) 和商购4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-5,6-二氢吡啶-1 (2H)-羧酸叔丁基酯(461mg, 1.492mmol)制备实施例ER-897097。通过硅胶色谱法纯化提供Boc保护的ER-897097 (460mg, 73%产率)。以与 ER-887084 (B部分)类似的方式进行该Boc保护的产物(100mg, 0.197 mmol)的脱保护以提供ER-897097 (80mg, 99%产率)。(在条件II下 LC-MS: Rt 1.49min, ($\text{M}+1$) $^+$ 409.08)。

[0454] 实施例ER-897269

[0455] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式将化合物ER-897097 (94mg, 0.229mmol) 拆分为它的构成对映异构体以提供异构体ER-897269之一 (15mg, 16%产率, >95% ee)。

[0456] 以与实施例D-4类似的方式,从化合物C-9 (500mg, 1.243mmol) 和商购4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑-1-基)哌啶-1-羧酸叔丁基酯 (563mg, 1.492mmol) 制备实施例ER-897105。通过硅胶色谱法纯化提供Boc保护的ER-897105 (312mg, 44%产率)。以与 ER-887084 (B部分)类似的方式进行该Boc保护的产物 (100mg, 0.173 mmol) 的脱保护以提供ER-897105 (71mg, 86%产率)。

[0457] 在条件II下LC-MS:Rt 1.48min, (M+1)⁺477.09。

[0458] 实施例ER-897214和ER-897215

[0459] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897105 (50mg, 0.105mmol) 拆分为它的构成对映异构体以提供ER-897214 (19mg, 39%产率, >95% ee) 和ER-897215 (19mg, 39%产率, >95% ee)。

[0460] 以与实施例D-4类似的方式,从化合物C-4 (500mg, 1.061mmol) 和商购4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基) 嘧啶-2-基) 哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (621mg, 1.591mmol) 制备实施例ER-897381。通过硅胶色谱法纯化提供Boc保护的ER-897381 (311mg, 50%产率)。以与 ER-887084 (B部分)类似的方式进行该Boc保护的产物 (100mg, 0.17 mmol) 的脱保护以提供ER-897381 (75mg, 90%产率)。在条件II下 LC-MS:Rt 1.52min, (M+1)⁺489.21)。

[0461] 实施例ER-897714和ER-897715

[0462] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897381 (71mg, 0.134mmol) 拆分为它的构成对映异构体以提供ER-897714 (27mg, 38%产率, >95% ee) 和ER-897716 (30mg, 42%产率, >95% ee)。

[0463] 以与实施例D-4类似的方式,从化合物C-4 (500mg, 1.061mmol) 和商购4-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基) 吡啶-2-基) 哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (619mg, 1.591mmol) 制备实施例ER-897405。通过硅胶色谱法纯化提供Boc保护的ER-897405 (311mg, 65%产率)。以与 ER-887084 (B部分)类似的方式进行该Boc保护的产物 (100mg, 0.17 mmol) 的脱保护以提供ER-897405 (72mg, 87%产率)。在条件II下 LC-MS:Rt1.45min, (M+1)⁺489.04。

[0464] 实施例ER-897716和ER-897717

[0465] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897405 (70mg, 0.143mmol) 拆分为它的构成对映异构体以提供ER-897716 (23mg, 33%产率) 和ER-897717 (23mg, 33%产率)。

[0466] 以与实施例D-4类似的方式,从化合物C-4 (438mg, 0.93mmol) 和商购(1-(5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基) 吡啶-2-基) 哌啶-4-基) 氨基甲酸叔丁基酯 (250mg, 0.62mmol) 制备实施例ER-897765。通过硅胶色谱法纯化提供Boc保护的ER-897765 (161mg, 43%产率)。以与ER-887084 (B部分)类似的方式进行该Boc保护的产物 (161mg, 0.267mmol) 的脱保护以提供ER-897765 (131mg, 98%产率)。

[0467] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5 (19mg, 0.042mmol) 和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (32mg, 0.169mmol) 在两步中制备实施例ER-895809以提供中间体3-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基) 吡

啉酰胺基)吡咯烷-1-羧酸(3S)-叔丁基酯(19mg,0.031mmol,72%产率)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(17mg,0.028 mmol)以提供目标产物ER-895809(16mg,98%产率)。

[0468] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5(19mg,0.042mmol)和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(R)-叔丁基酯(32mg,0.169mmol)在两步中制备实施例ER-895810以提供中间体3-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶酰胺基)吡咯烷-1-羧酸(3R)-叔丁基酯(24mg,0.039mmol,92%产率)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(22mg,0.036 mmol)以提供目标产物ER-895810(21mg,100%产率)。精确质量计算值:516.21.求得值:517.5。

[0469] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5(15mg,0.033mmol)和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(25mg,0.134mmol)在两步中制备实施例 ER-896133以提供中间体4-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(6mg,0.009mmol,29%产率)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(6mg,0.009mmol)以提供目标产物 ER-896133(5.3mg,92%产率)。

[0470] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5(15mg,0.033mmol)和商购4-氨基哌啶-1-羧酸叔丁基酯(27mg,0.134mmol)在两步中制备实施例ER-896134以提供中间体4-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶酰胺基)哌啶-1-羧酸叔丁基酯(7mg,0.011mmol,33%产率)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(7mg,0.011mmol)以提供目标产物 ER-896134(5.8mg,87%产率)。

[0471] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5(15mg,0.033mmol)和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯(27mg,0.134mmol)在两步中制备实施例ER-896135以提供中间体3-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶酰胺基)哌啶-1-羧酸 (3S)-叔丁基酯(7mg,0.011mmol,33%产率)。然后,以与实施例 ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(7mg,0.011mmol)以提供目标产物ER-896135(6.5mg,97%产率)。

[0472] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5(15mg,0.033mmol)和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯(27mg,0.134mmol)在两步中制备实施例ER-896136以提供中间体3-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶酰胺基)哌啶-1-羧酸 (3R)-叔丁基酯(7mg,0.011mmol,33%产率)。然后,以与实施例 ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(7mg,0.011mmol)以提供目标产物ER-896136(6.1mg,91%产率)。

[0473] 以与实施例D-6类似的方式,从化合物D-5(15mg,0.033mmol)和商购丙烷-2-胺(8mg,0.134mmol)制备实施例ER-896137以提供目标产物ER-896137(5mg,31%产率)。

[0474] 以与实施例D-5类似的方式制备4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶甲酸(101mg,29%产率)。

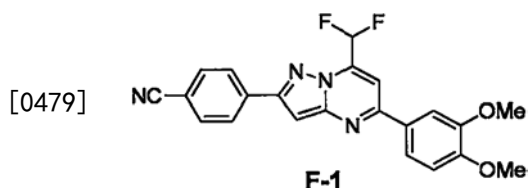
[0475] 以与实施例D-6类似的方式,从4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶甲酸(25mg,0.056 mmol)和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(31mg,0.167mmol)在两步中制备实施例ER-897034以提供中间体4-(4-(5-(3,4-二甲氧

基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲基吡啶基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(15mg,0.024mmol,44%产率)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(13mg,0.021mmol)以提供目标产物 ER-897034(12.2mg,98%产率)。

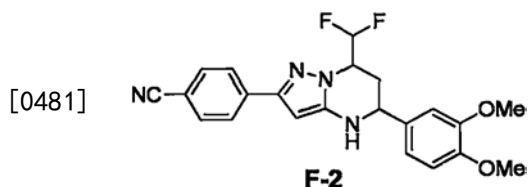
[0476] 以与实施例D-6类似的方式,从4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶甲酸(25mg,0.056 mmol)和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯(33mg,0.167mmol)在两步中制备实施例ER-897036以提供中间体3-(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶酰胺基)哌啶-1-羧酸(3S)-叔丁基酯(15mg,0.024mmol,43%产率)。然后,以与实施例ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(13mg,0.021mmol)以提供目标产物ER-897036(12mg,96%产率)。

[0477] 以与实施例D-6类似的方式,从4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶甲酸(25mg,0.056 mmol)和商购4-氨基哌啶-1-羧酸叔丁基酯(33mg,0.167mmol)在两步中制备实施例ER-897037以提供中间体4-(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶酰胺基)哌啶-1-羧酸叔丁基酯(14mg,0.022mmol,40%产率)。然后,以与实施例 ER-897560类似的方式使用HCl处理该中间体(13mg,0.021mmol)以提供目标产物ER-897037(11mg,90%产率)。

[0478] 合成实施例-F部分

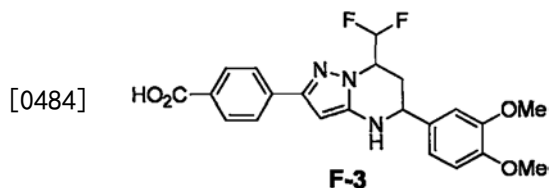


[0480] 以与化合物A-7类似的方式,4-(5-氨基-1H-吡唑-3-基)苄腈(化合物A-2;5.31g,31.4mmol)和商购1-(3,4-二甲氧基苯基)-4,4-二氟丁烷-1,3-二酮(8.1g,31.4mmol)提供化合物F-1(9.84g,77%产率)。MS (M+H⁺) 407.3。



[0482] 以与化合物A-8类似的方式,通过F-1(9.8g,24.1mmol)的NaBH₄还原获得化合物F-2(9.8g,99%产率)。

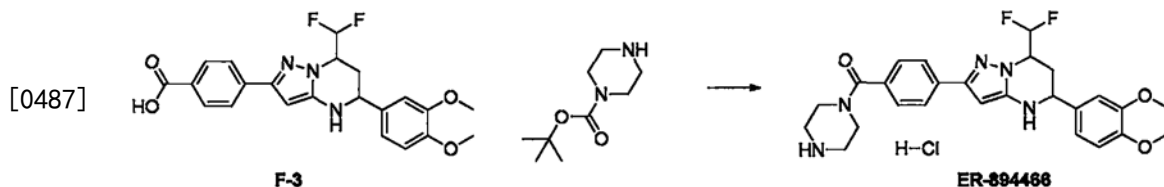
[0483] ¹H NMR(400MHz,甲醇-d₄) δppm 2.17-2.39(m,2H) 3.83-3.85 (m,3H) 3.85-3.88(m,3H) 4.47(dd,J=10.87,2.29Hz,1H) 4.66-4.81 (m,1H) 5.86(s,1H) 6.60(t,J=55.00Hz,1H) 6.97(d,J=7.97Hz,1H) 7.01-7.07(m,1H) 7.10(s,1H) 7.66-7.76(m,2H) 7.91(d,J=8.13Hz,2H)。MS (M+H⁺) 411.7。



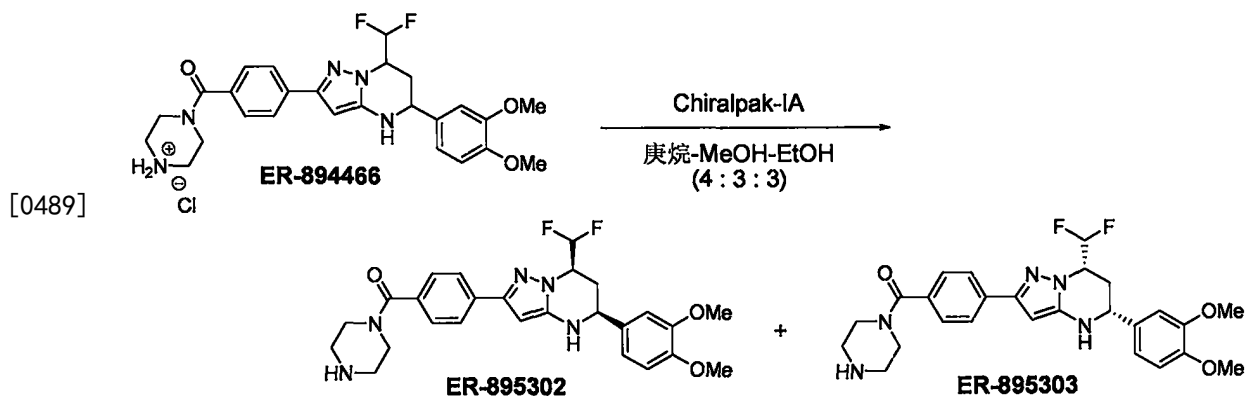
[0485] 以与化合物A-9类似的方式,通过使用NaOH水溶液水解F-1(8.94 g,21.8mmol)获

得化合物F-3 (9.4g, 100%产率)。

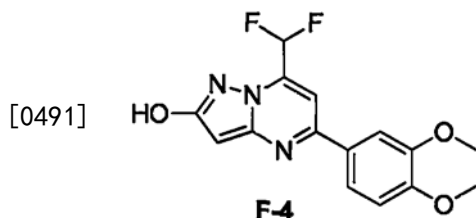
[0486] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 2.21-2.37 (m, 2H) 3.80-3.82 (m, 4H) 3.84 (s, 3H) 4.46 (dd, $J=10.83, 2.56\text{Hz}$, 1H) 6.60 (t, $J=55.00\text{ Hz}$, 1H) 6.95 (d, $J=8.28\text{Hz}$, 1H) 7.00-7.04 (m, 1H) 7.08 (d, $J=1.91\text{Hz}$, 1H) 7.81 (m, $J=8.35\text{Hz}$, 2H) 8.00 (m, $J=8.39\text{Hz}$, 2H)。MS ($M+H^+$) 431.4。



[0488] 向5mL螺旋帽反应管加入化合物F-34- (7- (二氟甲基) -5- (3,4-二甲氧基苯基) -4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基) 苯甲酸 (1.99g, 4.64 mmol)、哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (1.05g, 5.61mmol)、HATU (2.14g, 5.62 mmol)、DMF (10.0ml) 和Hünig氏碱 (0.815ml, 4.67mmol)。将反应混合物在30℃下搅拌过夜。使用乙酸乙酯稀释混合物, 使用水洗涤, 使用0.1N盐酸水溶液洗涤, 使用碳酸氢钠水溶液洗涤, 使用盐水洗涤, 在无水硫酸镁上干燥, 过滤并真空浓缩以提供褐色固体。通过使用庚烷:乙酸乙酯梯度0-90%的快速色谱法纯化物质。将包含产物的馏分合并, 真空浓缩以提供浅白色固体。在乙醇 (10.0ml) 和4.0M HCl的二氧六环 (10.0ml, 40.00mmol) 中处理产生的固体并将混合物在室温下搅拌 1h。然后, 将混合物真空浓缩以提供黄色固体形式的化合物 ER-894466 (1.91g, 77%产率)。

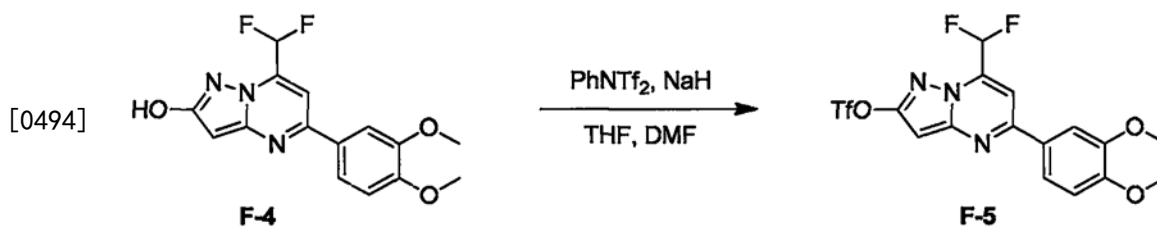


[0490] 以与ER-890044类似的方式, 通过HPLC手性拆分ER-894466 (1.91 g, 3.59mmol) 提供ER-895302 (538mg, 56%产率, >95% ee) 和 ER-895303 (671mg, 70%产率, >95% ee)。



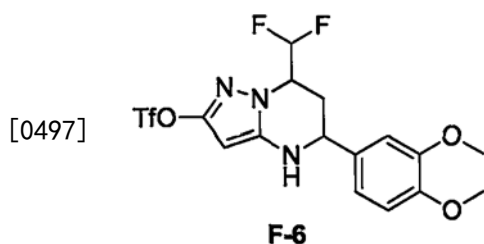
[0492] 以与化合物A-14类似的方式, 5-氨基-1H-吡唑-3-醇 (9.91g, 100 mmol) 和1- (3,4-二甲氧基苯基) -4,4-二氟丁烷-1,3-二酮 (25.8g, 100 mmol) 提供化合物F-4 7- (二氟甲基) -5- (3,4-二甲氧基苯基) 吡唑并[1,5-a] 嘧啶-2-醇 (30.6g, 95mmol, 95%产率)。

[0493] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 3.87-3.90 (m, 3H) 3.90-3.93 (m, 3H) 5.94 (s, 1H) 7.06 (d, $J=8.39\text{Hz}$, 1H) 7.29 (t, $J=53.00\text{Hz}$, 1H) 7.47 (s, 1H) 7.67 (dd, $J=8.43, 1.45\text{Hz}$, 1H) 7.77 (d, $J=1.75\text{Hz}$, 1H)。MS ($M+H^+$) 323.3。



[0495] 在0℃下,向化合物F-4 7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-醇 (3.21g, 9.99mmol) 的DMF (5.00ml) 和THF (25.0ml) 悬浮液以小部分分批加入氢化钠 (0.480g, 11.99mmol)。将混合物在 0℃下搅拌30min。以小部分分批加入1,1,1-三氟-N-苯基-N-(三氟甲基)磺酰基甲烷磺酰胺 (4.28g, 11.99mmol) 并使混合物达到室温。在1h 之后,将反应混合物倾倒在0.1N HCl溶液上产生白色ppt,将其过滤并使用水洗涤。将粗产物悬浮在IPA中,加热至约70℃并冷却至室温。使用另外的IPA洗涤获得的白色ppt,并在减压下干燥以提供白色固体形式的化合物F-5 7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基三氟甲磺酸盐 (2.85g, 6.29mmol, 62.9%产率)。

[0496] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 3.89 (s, 3H) 3.92 (s, 3H) 6.70 (s, 1H) 7.07 (d, $J=8.50\text{Hz}$, 1H) 7.17-7.27 (m, 2H) 7.29-7.38 (m, 1H) 7.78 (dd, $J=8.51, 2.14\text{Hz}$, 1H) 7.82-7.89 (m, 2H)。MS ($M+H^+$) 454.4。



[0498] 以与化合物A-16类似的方式,通过化合物F-5 (35.0g, 77.2mmol) 的 NaBH_4 还原获得化合物F-6 (27.2g, 77%产率)。

[0499] ^1H NMR (400MHz, 甲醇- d_4) δ ppm 2.14-2.32 (m, 2H) 3.79 (s, 3 H) 3.81 (s, 3H) 4.44 (dd, $J=11.06, 2.67\text{Hz}$, 1H) 4.53-4.66 (m, 1H) 5.28 (s, 1H) 6.40 (t, $J=2.49\text{Hz}$, 1H) 6.91-6.94 (m, 1H) 6.96-7.00 (m, 1H) 7.03 (d, $J=1.94\text{Hz}$, 1H)。MS ($M+H^+$) 458.1。

[0500] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895305 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购3-甲基哌嗪-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (35.2mg, 0.177 mmol) 制备实施例ER-895088-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III, 提供期望的产物 (9.3mg, 29%)。

[0501] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895305 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购吡咯烷-3-基氨基甲酸(R)-叔丁基酯 (36.5mg, 0.196 mmol) 制备实施例ER-895116。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (16mg, 52%)。

[0502] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895305 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购吡咯烷-3-基氨基甲酸(S)-叔丁基酯 (36.7mg, 0.197 mmol) 制备实施例ER-895089。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (7.1mg, 23%)。

[0503] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895305 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购2,5-二氮杂二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸(1S,4S)-叔丁基酯 (38.6mg, 0.196mmol) 制备实施例ER-895090。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (18.1mg, 57%)。

[0504] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895305 (25.6mg, 0.060mmol) 和

商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯(31.5mg, 0.169 mmol) 制备实施例ER-895115。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(3.5mg, 11%)。

[0505] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895305 (26.2mg, 0.061mmol) 和商购六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(32.9 mg, 0.155mmol) 制备实施例ER-895745。通过LCMS纯化,使用HPLC 条件III,提供期望的产物(18.1mg, 53%)。

[0506] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(21.0mg, 0.113 mmol) 制备实施例ER-895091-01。通过LCMS纯化,使用HPLC条件 III,提供期望的产物(2.5mg, 8%)。

[0507] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购4-氨基哌啶-1-羧酸叔丁基酯(22.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-895092。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(5.2mg, 16%)。

[0508] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (22.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-895093。通过LCMS纯化,使用 HPLC条件III,提供期望的产物(10.3mg, 32%)。

[0509] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯 (22.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-895094。通过LCMS纯化,使用 HPLC条件III,提供期望的产物(7.4mg, 23%)。

[0510] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸(2S, 5R)-叔丁基酯(24.0mg, 0.113mmol) 制备实施例ER-895096。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(13.9mg, 43%)。

[0511] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(R)-叔丁基酯 (21.0mg, 0.113mmol) 制备实施例ER-895097。通过LCMS纯化,使用 HPLC条件III,提供期望的产物(17.3mg, 56%)。

[0512] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (21.0mg, 0.113mmol) 制备实施例ER-895098。通过LCMS纯化,使用 HPLC条件III,提供期望的产物(18.5mg, 60%)。

[0513] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,5-二氮杂二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸 (1S, 4S)-叔丁基酯(22.0mg, 0.112mmol) 制备实施例ER-895101。通过 LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(9mg, 28%)。

[0514] 以与实施例ER-895080类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酸(25.0mg, 0.056mmol) 和商购

3-氨基氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁基酯 (19.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-895099。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (14.1mg, 41%)。

[0515] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (21.0mg, 0.113 mmol) 制备实施例ER-895102。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (17.2mg, 56%)。

[0516] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (22.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-895104。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (17.1mg, 54%)。

[0517] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯 (22.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-89510。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (15.8mg, 50%)。

[0518] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-甲基哌嗪-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (22.0mg, 0.110mmol) 制备实施例ER-895106。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (14.9mg, 47%)。

[0519] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸(2S,5R)-叔丁基酯 (24.0mg, 0.112mmol) 制备实施例ER-895107。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (14.2mg, 44%)。

[0520] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (21.0mg, 0.113mmol) 制备实施例ER-895109。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (17.7mg, 57%)。

[0521] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,5-二氮杂二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸 (1S,4S)-叔丁基酯 (22.0mg, 0.111mmol) 制备实施例ER-895112。通过 LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (14.4mg, 46%)。

[0522] 以与实施例ER-895080类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,6-二氮螺[3.3]庚烷-2-羧酸叔丁基酯 (22.0mg, 0.111mmol) 制备实施例ER-895111。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (22.7mg, 63%)。

[0523] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基) 苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (32.8mg, 0.176 mmol) 制备实施例ER-895731。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (22.1mg, 70%)。

[0524] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基

苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购4-氨基哌啶-1-羧酸叔丁基酯 (31.0mg, 0.155mmol) 制备实施例ER-895732。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (22mg, 70%)。

[0525] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (34.0mg, 0.170mmol) 制备实施例ER-895733。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (26.5mg, 85%)。

[0526] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯 (36.3mg, 0.181mmol) 制备实施例ER-895734。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (23.4mg, 75%)。

[0527] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (37.7 mg, 0.202mmol) 制备实施例ER-895739。通过LCMS纯化, 使用HPLC 条件III, 提供期望的产物 (22.9mg, 73%)。

[0528] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(R)-叔丁基酯 (34.8 mg, 0.187mmol) 制备实施例ER-895740。通过LCMS纯化, 使用HPLC 条件III, 提供期望的产物 (23.1mg, 73%)。

[0529] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯 (26.9mg, 0.127mmol) 制备实施例ER-895744。通过LCMS纯化, 使用HPLC条件III, 提供期望的产物 (26.5mg, 82%)。

[0530] 以与实施例ER-895080类似的方式, 从化合物3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酸 (25.0mg, 0.058mmol) 和商购3-氨基氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁基酯 (30.1 mg, 0.175mmol) 制备实施例ER-895741。通过LCMS纯化, 使用HPLC 条件III, 提供期望的产物 (5.5mg, 16%)。

[0531] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购4-氨基哌啶-1-羧酸叔丁基酯 (45.4 mg, 0.227mmol) 制备实施例ER-895718。通过LCMS纯化, 使用HPLC 条件III, 提供期望的产物 (21.4mg, 68%)。

[0532] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (29.8mg, 0.149mmol) 制备实施例ER-895719。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (21.6mg, 69%)。

[0533] 以与实施例ER-894463类似的方式, 从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯 (28.6mg, 0.143mmol) 制备实施例ER-895720。通过LCMS纯化, 使用 HPLC条件III, 提供期望的产物 (21.7mg, 69%)。

[0534] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购3-甲基哌嗪-1-羧酸(S)-叔丁基酯(31.1mg,0.155mmol)制备实施例ER-895721。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(20.2mg,64%)。

[0535] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购3-甲基哌嗪-1-羧酸(R)-叔丁基酯(41.2mg,0.206mmol)制备实施例ER-895722。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(21mg,67%)。

[0536] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购2,5-二甲基哌嗪-1-羧酸(2S,5R)-叔丁基酯(34.1mg,0.159mmol)制备实施例ER-895723。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(20.5mg,64%)。

[0537] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(S)-叔丁基酯(43.7mg,0.235mmol)制备实施例ER-895725。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(19.8mg,65%)。

[0538] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购3-氨基吡咯烷-1-羧酸(R)-叔丁基酯(31.0mg,0.167mmol)制备实施例ER-895726。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(20.6mg,67%)。

[0539] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购2,5-二氮杂二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸(1S,4S)-叔丁基酯(29.9mg,0.151mmol)制备实施例ER-895729。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(19.6mg,62%)。

[0540] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(28.9mg,0.136mmol)制备实施例ER-895730。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(23.9mg,74%)。

[0541] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.5mg,0.058mmol)和商购哌嗪-1-羧酸叔丁基酯(27.9mg,0.150mmol)制备实施例ER-895755。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(28.3mg,89%)。

[0542] 以与实施例ER-895080类似的方式,从化合物4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酸(25.0mg,0.056mmol)和商购3-氨基氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁基酯(37.0mg,0.215mmol)制备实施例ER-895727。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(22.3mg,65%)。

[0543] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435(10.0mg,0.023mmol)和商购4-氨基哌啶-1-羧酸叔丁基酯(17.8mg,0.089mmol)制备实施例ER-896059。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(11.2mg,87%)。

[0544] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯(19.3mg, 0.096 mmol) 制备实施例ER-896060。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(12.3mg, 95%)。

[0545] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯(16.9mg, 0.084 mmol) 制备实施例ER-896061。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(12.2mg, 94%)。

[0546] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-甲基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯(23.9mg, 0.119 mmol) 制备实施例ER-896062。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(10.7mg, 83%)。

[0547] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购3-甲基哌啶-1-羧酸(R)-叔丁基酯(20.5mg, 0.102 mmol) 制备实施例ER-896063。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(10.9mg, 84%)。

[0548] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,5-二甲基哌啶-1-羧酸(2S,5R)-叔丁基酯(17.2mg, 0.080mmol) 制备实施例ER-896064。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(10.3mg, 78%)。

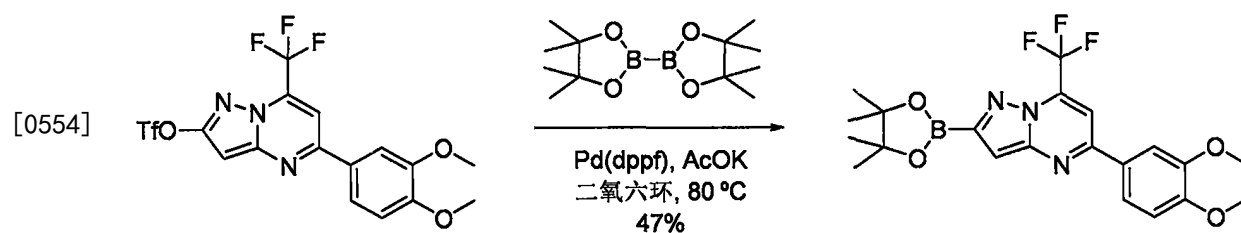
[0549] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购2,5-二氮杂二环[2.2.1]庚烷-2-羧酸(1S,4S)-叔丁基酯(15.2mg, 0.077mmol) 制备实施例ER-896067。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(9.9mg, 77%)。

[0550] 以与实施例ER-894463类似的方式,从化合物ER-895435 (25.0mg, 0.056mmol) 和商购六氢吡咯并[3,4-c]吡咯-2(1H)-羧酸叔丁基酯(17.3 mg, 0.081mmol) 制备实施例ER-896068。通过LCMS纯化,使用HPLC 条件III,提供期望的产物(12.3mg, 93%)。

[0551] 以与实施例ER-895080类似的方式,从化合物ER-895435 (25.9mg, 0.060mmol) 和商购3-(氨基甲基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁基酯(30.4mg, 0.163mmol) 制备实施例ER-896071。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供期望的产物(18.6mg, 51%)。

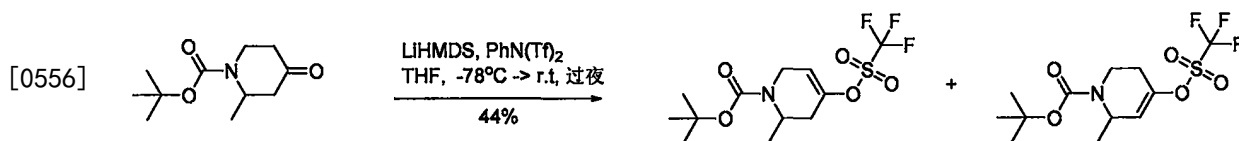
[0552] 合成实施例-G部分

[0553] ER-893993的制备

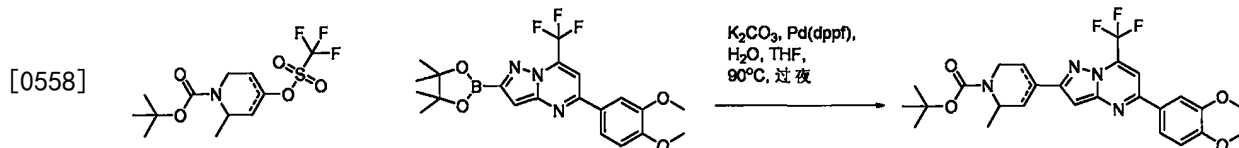


[0555] 将500mL烧瓶装填4,4,4',4',5,5,5',5'-八甲基-2,2'-双(1,3,2-二氧硼戊环)(10.78g, 42mmol)、5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基三氟甲磺酸盐(10.0g, 21mmol)、乙酸钾(10.41g, 106 mmol) 和1,4-二氧六环(100ml)。使用氮气将反应混合物脱气15分钟。加入1,1'-双(二苯基膦)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷复合物(4.33g, 5.3 mmol) 并将混合物密封并在80℃下搅拌3小时。在室温下冷却反应混合物并在EtOAc (1000mL) 和饱和NaHCO₃溶液(200mL) 之间分层。分离相并使用EtOAc (200mL) 将水相反萃两次。使用盐水(200mL) 洗涤合并的有机层。使用无水硫酸钠干燥有机层,过滤并浓缩。将粗物质溶于EtOAc (500mL), 加入庚烷(500mL) 并通过过滤去除黑色固体杂质。在减压下浓缩

包含目标产物的滤液,悬浮在150mL的IPA中,在70℃下加热30分钟然后在室温下冷却。过滤除去绿色沉淀,使用 IPA冲洗并在真空泵上干燥。5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶 (4.50g, 10.02 mmol, 47.2%产率)。

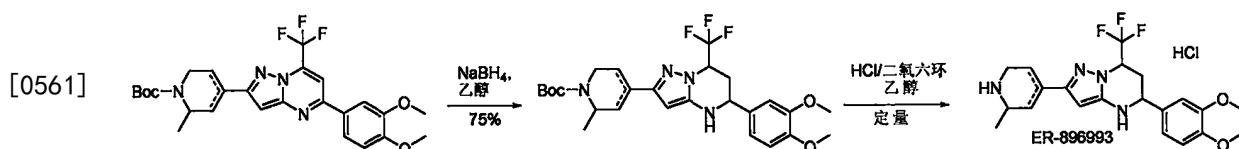


[0557] 在25mL烧瓶中并在氮气环境下,在-78℃下向2-甲基-4-氧基哌啶-1-羧酸叔丁基酯 (558mg, 2.6mmol) 和1,1,1-三氟-N-苯基-N-(三氟甲基)磺酰基甲烷磺酰胺 (1869mg, 5.2mmol) 的无水THF (5mL) 溶液加入 1.0M LiHMDS的THF (5.23mL, 5.2mmol)。将混合物搅拌过夜同时允许在室温下缓慢升温。使用饱和NaHCO₃淬灭反应。然后,使用MTBE 将混合物萃取3次。使用硫酸钠干燥合并的有机层,过滤并浓缩。获得浅黄色油状物形式的区域异构体 (6-甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯和2-甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯) 的混合物 (397mg, 44%产率)。



[0559] 将5-10mL的微波小瓶装填5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶 (650mg, 1.45mmol)、2-甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯 (与6-甲基-4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯的混合物, 总共为396mg, 1.15mmol)、碳酸钾 (792mg, 5.7mmol)、水 (2.0ml) 和THF (4.5ml)。使用氮气将反应混合物脱气15分钟。加入1,1'-双(二苯基膦)二茂铁-二氯化钯(II)二氯甲烷复合物 (234mg, 0.29mmol) 并将混合物密封并在90℃下搅拌过夜。将反应混合物在室温下冷却并浓缩。在使用12-100%EtOAc/庚烷洗脱的硅胶(Column Interchim 40g, 30μm)上纯化粗产物。获得黄色固体形式的区域异构体 (4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯和4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-6-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯) 的混合物 (142mg, 24%产率)。

[0560] ER-896993的合成



[0562] 在室温下,将四氢硼酸钠 (10.94mg, .29mmol) 缓慢加入4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯 (与区域异构体4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-6-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯的混合物, 总共为50mg, .096mmol) 的乙醇

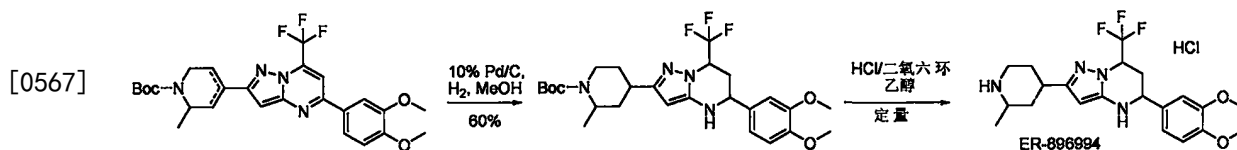
(1.0ml) 悬浮液。将混合物加热至80℃时间为60分钟。加入乙酸乙酯。相继使用 NH_4Cl 的饱和水溶液然后盐水洗涤混合物。

[0563] 使用无水硫酸钠干燥有机层,过滤并浓缩。在使用12-100%EtOAc/ 庚烷洗脱的硅胶(Column Interchim 25g,30 μM)上纯化粗产物。获得白色固体形式的区域异构体(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯和4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-6-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯)的混合物(38mg,75%产率)。

[0564] 将4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯(与区域异构体4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-6-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯的混合物,总共为34mg,.065mmol)溶于乙醇(0.5ml)和4.00M HCl的二氧六环(0.5ml)并将混合物在40℃下搅拌1小时。加入1mL的甲苯。将反应混合物浓缩。

[0565] 在真空泵上干燥产物以提供29mg的HCl盐形式的最终产物(区域异构体5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(6-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶盐酸盐和5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶盐酸盐的混合物)(ER-896993)。

[0566] ER-896994的合成



[0568] 将4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯(与区域异构体4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-6-甲基-5,6-二氢吡啶-1(2H)-羧酸叔丁基酯的混合物,总共为60mg,.116 mmol)溶于甲醇(2.5ml)。在室温下,使用H-立方(完全 H_2 ,1mL/min,小尺寸(30mm)10%钯/碳CatCart),使用氢气将溶液处理2.5hrs。加入1 mL的甲苯。将溶剂浓缩。在使用12-100%EtOAc/庚烷洗脱的硅胶(Column Interchim 25g,30 μM)上纯化粗产物以提供白色固体形式的4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-1-羧酸叔丁基酯(36mg,0.069mmol,59%产率)。

[0569] 将4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-甲基哌啶-1-羧酸叔丁基酯(29mg,.055mmol)溶于乙醇(0.5ml)和4.00M HCl的二氧六环(0.5ml)并将混合物在40℃下搅拌1小时。加入1mL的甲苯。将反应混合物浓缩。在真空泵上干燥产物以提供25mg的HCl盐形式的最终产物(5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-甲基哌啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶盐酸盐,ER-896994)。

[0570] 实施例ER-897090

[0571] 除了以与ER-887084(B部分)类似的方式进行脱保护步骤之外,以与ER-896993(G部分)类似的方式从5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(507 mg,1.129mmol)和从商购4-氧代氮杂环庚烷-1-羧酸叔丁基酯制备的4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-2,3,6,7-四氢-1H-氮杂环庚三烯-

1-羧酸叔丁基酯(300mg,0.869mmol)制备实施例ER-897090以提供 ER-897090 (96mg,26%产率)。LC-MS:Rt 1.49min, (M+1)⁺423.06在条件II下。

[0572] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897090 (94mg, 0.224mmol)拆分为它的构成对映异构体以提供异构体ER-897212之一 (17mg,18%产率)。

[0573] 除了以与ER-887084 (B部分)类似的方式进行脱保护步骤之外,以与ER-896993 (G部分)类似的方式,从5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(493 mg,1.097mmol)和从商购3-氧基吡咯烷-1-羧酸叔丁基酯制备的3-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-2,5-二氢-1H-吡咯-1-羧酸叔丁基酯(174mg, 0.548mmol)制备实施例ER-897130以提供ER-897130 (68mg,31%产率)。

[0574] 除了以与ER-887084 (B部分)类似的方式进行脱保护步骤之外,从 5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(489mg,1.089mmol)和以与ER-896993 (G部分)类似的方式从商购(4-氧基环己基)氨基甲酸叔丁基酯制备的4-((叔丁氧基羰基)氨基)环己-1-烯-1-基三氟甲磺酸盐(188mg, 0.544mmol) 制备实施例ER-897142以提供ER-897142 (111mg,48%产率)。(LC-MS: Rt 1.57min, (M+1)⁺423.06在条件II下)。

[0575] 实施例ER-897364和ER-897365

[0576] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897090 (100mg, 0.237mmol)拆分为它的构成对映异构体以提供ER-897364 (4mg,4%产率,>95%ee) 和ER-897365 (6.4mg, 6%产率,>95%ee)。

[0577] 实施例ER-897547

[0578] 3-甲基-4-氧基哌啶-1-羧酸叔丁基酯的制备

[0579] 使用具有Pd-C盒的H-立方(控制H₂在50巴下,流速1.0ml/min),将1-苄基-3-甲基哌啶-4-酮(1.63g,8.018mmol)和二碳酸二叔丁基酯 (1.925g,8.82mmol)的50ml的甲醇溶液氢化。将反应混合物再循环 12小时。在使用甲醇彻底洗涤H-立方之后,将溶剂蒸发并通过硅胶色谱法纯化产生的油状物以提供标题化合物(1.5g,88%)。

[0580] 除了以与ER-887084 (B部分)类似的方式进行脱保护步骤之外,从 5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(488mg,1.086mmol)和以与ER-896993 (G部分)类似的方式从3-甲基-4-氧基哌啶-1-羧酸叔丁基酯制备的5-甲基 -4-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-5,6-二氢吡啶-1 (2H)-羧酸叔丁基酯(250 mg,0.724mmol)制备实施例ER-897547以提供ER-897547 (68mg,31%产率)。

[0581] 除了以与ER-887084 (B部分)类似的方式进行脱保护步骤之外,以与ER-896993 (G部分)类似的方式,从5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(475 mg,1.058mmol)和商购4-(4-溴苯基)哌啶-1-羧酸叔丁基酯(240mg, 0.705mmol)制备实施例ER-897597以提供ER-897597 (32mg,9%产率)。LC-MS:Rt1.72min, (M+1)⁺486.95在条件II下。

[0582] 实施例ER-897814和ER-897815

[0583] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897597 (20mg,0.041mmol)拆分为它的构成对映异构体以提供ER-897814 (7mg,35%产率,>95%ee) 和ER-897815 (3mg, 15%产率,>95%ee)。

[0584] 实施例ER-897728

[0585] 9-氧基-3-氮杂螺[5.5]十一碳-7-烯-3-羧酸苄基酯的制备

[0586] 在70℃下,在苯(30.0ml,334.136mmol)中将4-甲酰基吡啶-1-羧酸苄基酯(5.17g,20.907mmol)和对甲苯磺酸一水合物(0.398g,2.091 mmol)搅拌。加入丁-3-烯-2-酮(3.76ml,41.813mmol)并将反应混合物回流o/n同时使用分水器去除水。在冷却反应混合物至室温之后,加入饱和NaHCO₃溶液,并在Na₂SO₄上干燥有机层并蒸发。通过 Biotage (SiO₂,250g,EtOAc/Hep 10%至50%)纯化产生的油状物以提供标题化合物(3.58g,11.96mmol,57.2%产率)。

[0587] 9-氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁基酯的制备

[0588] 使用具有Pd-C盒的H-立方(完全H₂,流速1.0ml/min),将9-氧基-3-氮杂螺[5.5]十一碳-7-烯-3-羧酸苄基酯(1.26g,4.209mmol)、二碳酸二叔丁基酯(1.01g,4.63mmol)和TEA(1.47ml,10.522mmol)的50ml 的甲醇溶液氢化。将反应混合物再循环5小时。在使用甲醇彻底洗涤 H-立方之后,将溶剂蒸发并通过硅胶色谱法纯化产生的油状物以提供标题化合物(681mg,61%)。

[0589] 除了以与ER-887084 (B部分)类似的方式进行脱保护步骤之外,从 5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-7-(三氟甲基)吡啶并[1,5-a]嘧啶(489mg,1.089mmol)和以与ER-896993 (G部分)类似的方式从9-氧基-3-氮杂螺[5.5]十一烷-3-羧酸叔丁基酯制备的 9-(((三氟甲基)磺酰基)氧基)-3-氮杂螺[5.5]十一碳-8-烯-3-羧酸叔丁基酯(290mg,0.726mmol)制备实施例ER-897728以提供ER-897728(91 mg,26%产率)。LC-MS:Rt 1.67min,(M+1)⁺477.13在条件II下。

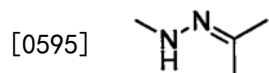
[0590] 实施例ER-897851

[0591] 以与ER-890044 (A部分)类似的方式,将化合物ER-897728(85mg,0.178mmol)拆分为它的构成对映异构体以提供异构体ER-897851之一(28mg,33%产率)。

[0592] 以与实施例ER-896993类似的方式,从化合物G2(600mg,1.34 mmol)和商购4-溴-2-氯吡啶以提供2-(2-氯吡啶-4-基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡啶并[1,5-a]嘧啶(311mg,54%产率),随后NaBH₄还原(在300mg的该物质上进行)制备实施例ER-890978。通过硅胶色谱法纯化提供目标产物(277mg,92%产率)。

[0593] 合成实施例-H部分

[0594] 1:1-甲基-2-(丙烷-2-亚基)肼的制备

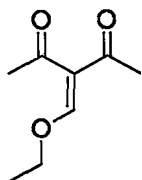


[0596] 在45分钟内使用N-甲基肼(20mL)逐滴(注射泵)处理丙酮(100 mL),并将反应溶液在室温下搅拌45分钟。然后,将反应溶液在55℃下加热另外15分钟,冷却至室温,在硫酸钠上干燥,过滤并在40℃或更低下通过旋转蒸发仪浓缩。然后,通过在110-122℃下蒸馏纯化粗产物以提供无色油状物形式的标题化合物(14.2g,43.9%)。

[0597] ¹HNMR (400MHz,DMSO-d₆) δ:1.58(s,3H),1.72,(s,3H),2.63,(s,3H),5.21,(br s,1H)。

[0598] 2:3-(乙氧基亚甲基)戊烷-2,4-二酮的制备

[0599]

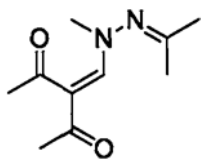


[0600] 将乙酰基丙酮(40mL)、原甲酸乙酯(95.4mL)和乙酸酐(54.2mL)溶液加热至回流(150℃)1小时。将反应溶液冷却至室温并直接进行快速柱色谱法(E.Merck硅胶(~120g);洗脱液:100%EtOAc,随后5% EtOH的EtOAc)。在40℃下使用旋转蒸发仪浓缩包含纯产物的馏分提供深红色粘性油状物形式的标题化合物(10.4g,17.0%)。

[0601] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 1.36, (t, 3H), 2.28, (s, 3H), 2.35, (s, 3H), 4.22, (q, 2H), 7.67, (s, 1H)。

[0602] 3:3-((1-甲基-2-(丙烷-2-亚基)肼基)亚甲基)戊烷-2,4-二酮的制备

[0603]

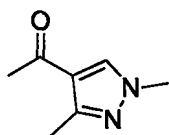


[0604] 将3-(乙氧基亚甲基)戊烷-2,4-二酮(制备2,8.6g)溶于乙醚(30mL)并冷却至0℃。然后,在5分钟内使用1-甲基-2-(丙烷-2-亚基)肼(制备1,4.8g)逐滴缓慢处理反应溶液,然后升温并在室温下搅拌过夜。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:20% EtOH的EtOAc)直接纯化反应溶液以提供浅红色固体形式的标题化合物(9.1g,84.0%)。

[0605] ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.82, (s, 3H), 1.89, (s, 3H), 2.05, (s, 6H), 3.07, (s, 3H), 7.40, (s, 1H)。

[0606] 4:1-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)乙酮的制备

[0607]

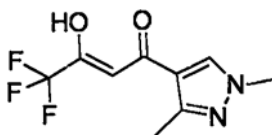


[0608] 将3-((1-甲基-2-(丙烷-2-亚基)肼基)亚甲基)戊烷-2,4-二酮(制备3,9.1g)溶于乙醇(20mL)并使用1M氯化氢的水(20mL)处理。将反应溶液在室温下搅拌15分钟。然后,使用旋转蒸发仪将反应溶液在真空下浓缩至约20mL总体积。然后,使用饱和碳酸氢钠水溶液(45mL)处理反应溶液,并使用二氯甲烷(4×50mL)萃取。在硫酸钠上干燥合并的有机萃取物,过滤并真空浓缩提供浅橙色固体形式的标题化合物(6.2g,97%)。

[0609] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 2.37, (s, 3H), 2.45, (s, 3H), 3.84, (s, 3H), 7.75, (s, 1H)。

[0610] 制备5:1-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-4,4,4-三氟-3-羟基丁-2-烯-1-酮

[0611]

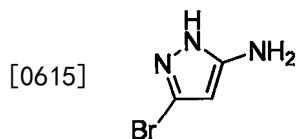


[0612] 将1-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)乙酮(制备4,4.46g)溶于甲醇(21 mL)并加入25%甲醇钠的甲醇(11.07mL)。将混合物搅拌5分钟,并加入乙酸、三氟-乙酯(7.701mL)。在75℃下将混合物加热至回流并搅拌19小时。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:100% EtOAc随后5%EtOH的EtOAc,然后20%EtOH的EtOAc)直接纯化反应溶液提供浅红色

泡沫固体形式的标题化合物(互变异构体)(7.0g, 92.3%)。

[0613] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 2.33 (s, 3H), 3.76, (s, 3H), 6.10, (s, 1H), 7.84, (s, 1H)。

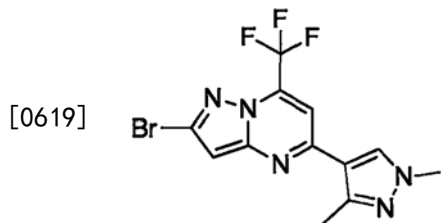
[0614] 制备6:3-溴-1H-吡唑-5-胺



[0616] 在10℃下,向3,4,5-三溴吡唑(60g)的乙酸(900mL)溶液加入硝酸(21mL)(90%,发烟)。然后,在20分钟内加入乙酸酐(300mL)。将反应溶液升温至室温并搅拌3小时。然后,将反应混合物倾倒在冰上,产生白色沉淀。过滤除去沉淀并使用水(200mL)洗涤。然后,将过滤的沉淀溶于甲苯(750mL),使用水(200mL)和盐水(100mL)洗涤,在硫酸钠上干燥并过滤。然后,向甲苯溶液加入1H-吡唑,3,5-二甲基-(20 g),并将溶液在回流下加热20分钟。将反应溶液冷却并真空浓缩。使用庚烷研磨粗产物并将通过TLC包含大部分产物的产生的沉淀过滤并真空干燥。进行粗标题化合物而不另外纯化(71.7mg, 67.6%)。

[0617] 该中间体,通过与氯化亚锡、二水合物(135g)的乙酸乙酯(600mL)和乙醇(300mL)在110℃下一起回流45分钟将3,4-二溴-5-硝基-1H-吡唑(69g)还原。将黄色均相反应溶液冷却至室温并缓慢倾倒在剧烈搅拌的碳酸氢钠(33g)的水(200mL)和乙酸乙酯(800mL)溶液上。向产生的浆液加入硅藻土(30g),并通过硅藻土床过滤该浆液。使用另外的乙酸乙酯(600mL)洗涤滤饼。然后,使用盐水(200mL)洗涤有机溶液,在硫酸钠上干燥,过滤并真空浓缩以提供橙色油状物形式的粗产物。然后,通过快速柱色谱法(Biotage, Quad 25;洗脱液:6%EtOH的二氯甲烷)纯化粗产物。这提供浅米黄色固体形式的标题化合物(13.2g, 32%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 5.20, (m, 3H), 11.60, (br s, 1H)。

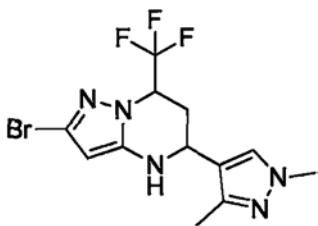
[0618] 制备7:2-溴-5-(1-乙基-3-甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶



[0620] 在密封管中,将1-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-4,4,4-三氟-3-羟基丁-2-烯-1-酮(制备5, 1.7g)和3-溴-1H-吡唑-5-胺(制备6, 1.18g)的乙酸(52.61mL)在120℃下加热过夜。将反应溶液冷却至室温,并倾倒在冰水(500mL)上,产生白色沉淀。将沉淀过滤并使用大量水洗涤。然后,收集沉淀并真空干燥以提供白色粉末形式的标题化合物(1.9g, 73.1%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.47 (s, 3H), 3.79, (s, 3H), 6.95, (s, 1H), 7.73, (s, 1H), 8.67, (s, 1H)。

[0621] 制备8:2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶

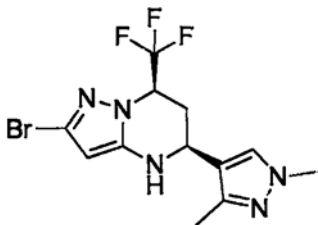
[0622]



[0623] 将四氢硼酸钠(472mg)缓慢加入2-溴-5-(1-乙基-3-甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(制备7, 1.8g)的乙醇(20mL)悬浮液。将反应混合物在室温下搅拌3小时。然后,将反应溶液非常慢地加入至冰冷却的1N HCl直至达到pH=2.0以淬灭任何剩余的四氢硼酸钠。然后,在高真空下浓缩溶液以去除大多数乙醇。然后,将饱和碳酸氢钠水溶液缓慢加入至酸性溶液直至达到中性pH(7.0)并且白色沉淀形成。过滤除去沉淀并使用水(200mL)和乙醚(20mL)洗涤。收集白色沉淀并真空干燥以提供白色粉末形式的标题化合物(1.36g, 74.7%)。¹HNMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 2.00, (m, 1H), 2.09, (s, 3H), 2.30, (m, 1H), 3.67, (s, 3H), 4.34, (m, 1H), 5.15, (m, 1H), 5.31, (s, 1H), 6.69, (s, 1H), 7.63, (s, 1H)。

[0624] 制备9: (5S, 7R)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶

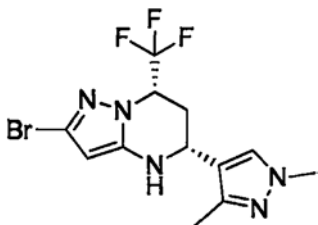
[0625]



[0626] 将外消旋2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.5g, 4.1mmol, 制备8)溶于甲醇(35mL)并将混浊溶液缓慢升温提供澄清溶液。然后,通过中孔布氏漏斗将溶液过滤。澄清滤液直接用于手性HPLC纯化。将1mL的该溶液负载在2.1 cm×25cm Chiralcel OD柱上并在15mL/min的流速下使用包含异丙醇和甲醇(1:1比例)的流动相洗脱。单独收集两种(R和S)对映异构体。进行27次这样的注射并在减压下浓缩合并的纯(R和S)对映异构体的馏分。分离白色粉末形式的标题化合物(0.71g, 1.95mmols, >95% ee)。

[0627] 制备10: (5R, 7S)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶

[0628]



[0629] 将外消旋2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(1.5g, 4.1mmol, 制备8)溶于甲醇(35mL)并将混浊溶液缓慢升温提供澄清溶液。然后,通过中孔布氏漏斗将溶液过滤。澄清滤液直接用于手性HPLC纯化。将1mL的该溶液负载在2.1 cm×25cm Chiralcel OD柱上并在15mL/min的流速下使用包含异丙醇和甲醇(1:1比例)的流动相洗脱。单独收集两种(R和S)对映异构体。进行27次这样的注射并在减压

下浓缩合并的纯(R和S)对映异构体的馏分。分离白色粉末形式的标题化合物(0.71g, 1.95mmols, >95%ee)。

[0630] 实施例ER-889996:

[0631] 向5mL螺旋帽小瓶加入4-(哌嗪-1-羰基)苯基硼酸、频哪醇酯(51.0 mg, 0.161mmol)、四(三苯基膦)钯(0)的1,4-二氧六环(.075M, 90uL)溶液、2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(25.0mg, 0.069mmol, 制备8)的1,4-二氧六环(450uL)溶液和2M碳酸钠的水溶液(70uL)。使用氮气吹扫反应器容器并密封。将小瓶摇动并在85℃下在铝模中加热40h。向混合物加入1.0mL的饱和碳酸氢钠水溶液,然后使用乙酸乙酯(2×2.0mL)萃取混合物。真空浓缩合并的有机层。根据方法通过LC/MS纯化残留剩余物。这提供白色粉末形式的标题化合物(7.8mg, 24.0%)。

[0632] 以与实施例ER-889996类似的方式,从2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(40.1mg, 0.11 mmol, 制备8)和商购异喹啉-5-基硼酸(2.5eq)制备实施例ER-889862。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供白色粉末形式的标题化合物(7.5mg, 17%)。

[0633] 以与实施例ER-889996类似的方式,从2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(25.0mg, 0.069 mmol, 制备8)和商购8-甲基喹啉-5-基硼酸(2.5eq)制备实施例 ER-890007。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供白色粉末形式的标题化合物(12.2mg, 42%)。

[0634] 以与实施例ER-889996类似的方式,从2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(23.0mg, 0.063 mmol, 制备8)和商购1,4-二甲基-1H-吡唑-5-基硼酸(2.5eq)制备实施例 ER-892900。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供白色粉末形式的标题化合物(7.7mg, 28%)。

[0635] 以与实施例ER-889996类似的方式,从2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(25.0mg, 0.069 mmol, 制备8)和商购2-甲基-2H-吡唑-5-基硼酸(2.5eq)制备实施例 ER-890066。通过LCMS纯化,使用HPLC条件III,提供标题化合物 as a白色粉末(0.2mg, 1%)。

[0636] 实施例ER-889550

[0637] 将密封管装填2-溴-5-(1-乙基-3-甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶(40mg, 0.11mmols, 制备7)、4-(N-乙基氨基羰基)苯基硼酸(73.2mg, 0.38mmols)、碳酸钾(76.8mg, 0.56mmols)、水(0.559 mL)和四氢呋喃(0.838mL)。将反应混合物搅拌同时使用氮气脱气15 分钟。加入与二氯甲烷(1:1)络合的[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯 (II) (22.7mg, 0.03mmols),将反应混合物密封并在95℃下加热16小时。将粗反应混合物冷却至室温,然后直接通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:100% EtOAc)纯化。这提供浅黄色固体形式的 4-(5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-乙基苯甲酰胺(41.1mg, 86.4%)。

[0638] 将四氢硼酸钠(6.62mg)加入至4-(5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-乙基苯甲酰胺(30mg, 0.07 mmols)的乙醇(1mL)悬浮液并将混合物在室温下搅拌3小时。在氮气流下将反应溶液浓缩。然后,非常缓慢地加入1N HCl直至硼氢化物完全消耗(约2mL),产生褐色沉淀。将水溶液倾析并使用饱和碳酸氢钠慢慢中

和直至达到pH=7.0。然后,使用EtOAc (2×5mL) 萃取中性溶液。将有机萃取物合并,使用盐水(2mL) 洗涤,在硫酸钠上干燥,过滤并真空浓缩。这提供白色粉末形式的标题化合物(18.8mg,62.1%)。

[0639] 实施例ER-893888

[0640] 将密封管装填2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(30mg,0.08mmols,制备8)、4-(脲基)苯基硼酸、频哪醇酯(73.8mg,0.28mmols)、碳酸钾(56.9mg,0.41 mmols)、水(0.414mL)和四氢呋喃(0.621mL)。将反应混合物搅拌同时使用氮气脱气15分钟。加入与二氯甲烷(1:1)络合的[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钨(II)(16.8mg,0.02mmols)并将反应混合物密封,在95℃下加热16小时。将粗反应混合物冷却至室温,然后通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:10%EtOH的EtOAc)直接纯化。这提供浅黄色粉末形式的标题化合物(31.1mg,90.0%)。

[0641] 以与实施例ER-893888类似的方式,从(5S,7R)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(150.0mg,0.41mmol,制备9)和商购4-(脲基)苯基硼酸、频哪醇酯(368.8mg,1.4 mmols)制备实施例ER-894595。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:10%EtOH的EtOAc)纯化提供浅黄色粉末形式的标题化合物(141.6mg,82.0%)。

[0642] 以与实施例ER-893888类似的方式,从(5R,7S)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(150.0mg,0.41mmol,制备10)和商购4-(脲基)苯基硼酸、频哪醇酯(368.8mg,1.4 mmols)制备实施例ER-894596。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:10%EtOH的EtOAc)纯化提供浅黄色粉末形式的标题化合物(144.6mg,83.7%)。

[0643] 以与实施例ER-893888类似的方式,从(5S,7R)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(50.0mg,0.14mmol,制备9)和商购1,4-二甲基-1H-吡唑-5-硼酸(89.1mg,0.47 mmols)制备实施例ER-893986。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:10%EtOH的EtOAc)纯化提供浅黄色粉末形式的标题化合物(42.7mg,72.4%)。

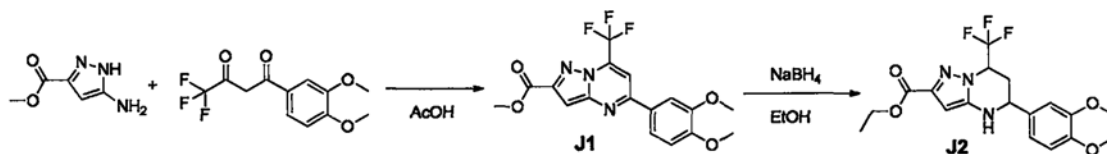
[0644] 以与实施例ER-893888类似的方式,从(5R,7S)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(150.0mg,0.41mmol,制备10)和商购1,4-二甲基-1H-吡唑-5-硼酸(267.3mg,1.41 mmols)制备实施例ER-893987。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:10%EtOH的EtOAc)纯化提供浅黄色粉末形式的标题化合物(155.7mg,88.0%)。

[0645] 以与实施例ER-893888类似的方式,从(5S,7R)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(40.0mg,0.11mmol,制备9)和商购2-甲基吡唑-5-硼酸频哪醇酯(96.8mg,0.38 mmols)制备实施例ER-893990。通过快速柱色谱法(Biotage Quad 25;洗脱液:10%EtOH的EtOAc)纯化提供浅黄色粉末形式的标题化合物(36.9mg,80.9%)。

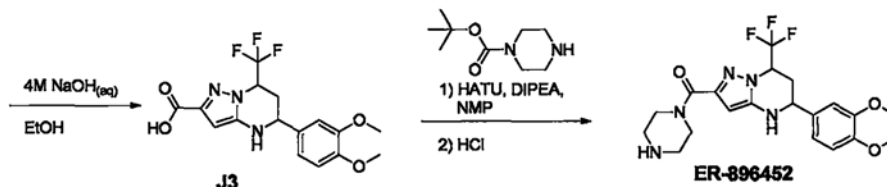
[0646] 以与实施例ER-893888类似的方式,从(5R,7S)-2-溴-5-(1,3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶(30.0mg,0.082mmol,制备10)和商购2-甲基吡唑-5-硼酸频哪醇酯(72.6mg,0.28mmols)制备实施例ER-893991。通过快速

柱色谱法 (Biotage Quad 25; 洗脱液: 10% EtOH 的 EtOAc) 纯化提供浅黄色粉末形式的标题化合物 (22.0mg, 64.3%)。

[0647] 合成实施例-J部分



[0648]



[0649] 将5-氨基-1H-吡唑-3-羧酸甲酯 (1.00g, 7.086mmol) 和1-(3,4-二甲氧基苯基)-4,4,4-三氟丁烷-1,3-二酮 (2.153g, 7.794mmol) 的乙酸 (10 ml, 174.682mmol) 悬浮液加热至回流 (在100℃下) 5小时。将混合物在室温下冷却, 加入水并通过过滤收集沉淀, 使用水洗涤并在真空下干燥以提供绿色固体形式的J1, 2.33g (86% 产率)。

[0650] 在室温下, 将硼氢化钠 (0.446g, 11.802mmol) 缓慢加入至5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-羧酸甲酯 (1.00g, 2.623mmol) 的乙醇 (25ml, 428.167mmol) 悬浮液。将混合物加热至回流 (80℃) 时间为60分钟并通过UPLC/MS监测反应。在室温下冷却混合物。使用乙酸 (1.501ml, 26.226mmol) 分解过量的硼氢化钠。将反应倾倒在1.00M HCl的水 (52.5ml, 52.451mmol) 上并搅拌5分钟。通过过滤收集沉淀, 使用水洗涤并空气干燥。通过庚烷:乙酸乙酯梯度的使用 25g二氧化硅柱的快速色谱法纯化物质以提供白色固体形式的J2, 507 mg (48% 产率)。

[0651] 向5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-羧酸乙酯 (503mg, 1.26mmol) 的乙醇 (5.0mL, 85.633mmol) 悬浮液加入4.00M氢氧化钠的水 (1.574mL, 6.298mmol)。将混合物在 50℃下加热1小时。在室温下冷却混合物并使用1.00M HCl的水 (12.60 mL, 12.595mmol) 酸化, 加入水并通过过滤收集沉淀, 使用水洗涤并在真空下干燥以提供白色固体形式的J3, 422mg (95% 产率)。

[0652] 将5mL的微波小瓶装填5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-羧酸 (50mg, 0.135mmol)、哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (75mg, 0.404mmol)、HATU (205mg, 0.539mmol)、N,N-二异丙基乙胺 (0.059mL, 0.337mmol) 和DMF (1.0mL, 12.915mmol)。将小瓶加盖并将混合物在40℃下搅拌6小时。使用乙酸乙酯 (5mL) 稀释混合物, 使用水 (2mL) 洗涤2次, 使用0.1N HCl水溶液 (2mL) 洗涤, 使用饱和碳酸氢钠水溶液 (2mL) 洗涤, 使用盐水 (2mL) 洗涤, 使用硫酸钠干燥, 过滤并浓缩。通过使用12-100% EtOAc/庚烷作为洗脱液的Biotage SP4 (Column Interchim 25g, 30μm) 上的色谱法纯化化合物以提供中间体4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-羧基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (38mg, 0.070mmol, 52.3 % 产率)。

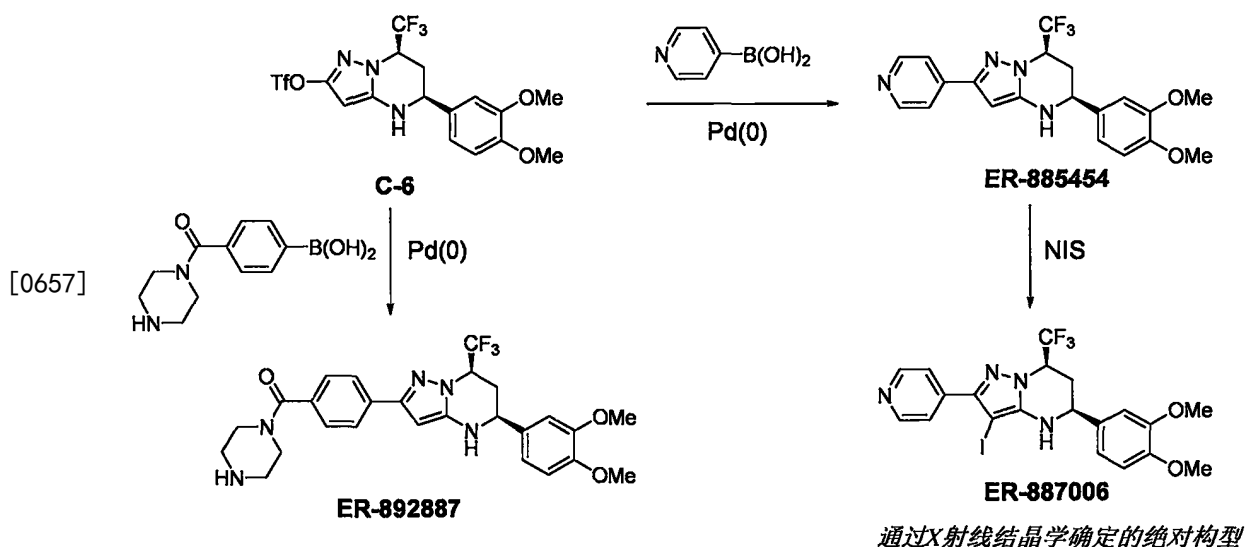
[0653] 将中间体4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-羧基)哌嗪-1-羧酸叔丁基酯 (36mg, 0.067mmol) 溶于乙醇 (0.5mL, 8.563mmol) 和4.00M HCl的二氧六环 (0.5mL, 2.00mmol) 并将混合物在40℃下搅拌1小时。将反应混合物

浓缩并在真空泵上干燥产物以提供HCl盐形式的ER-896452 (31.0mg, 0.065mmol, 98%产率)。

[0654] ER-896453

[0655] 以与实施例ER-896452类似的方式,从酸J3 (50mg, 0.135mmol) 和商购3-氨基哌啶-1-羧酸(S)-叔丁基酯 (81mg, 0.404mmol) 在两步中制备实施例ER-896453以提供中间体3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-甲酰胺)哌啶-1-羧酸(3S)-叔丁基酯 (67mg, 0.121mmol, 90%产率)。以与实施例ER-896452类似的方式,使用HCl处理该中间体 (49mg, 0.089mmol) 以提供目标产物 ER-896453 (42mg, 97%产率)。

[0656] ER-885454的绝对构型和它与ER-892887的关系的确定。



[0658] 如上所示,通过将它转化为3-碘衍生物ER-887006确定ER-885454 的绝对构型。通过单独的晶体X-射线衍射确定ER-887006的结构。结果在图10中示出。由于该转化不影响分子中的手性中心,因此 ER-885454的绝对构型如显示的。此外,通过它与化合物C-6的关系确定ER-892887的绝对构型,其反过来与ER-885454相关。

[0659] 一般筛选检验和药理学策略

[0660] 为了识别有效和选择性的TLR7/8化合物,最初通过人TLR4、TLR7和TLR9报道基因系的细胞基小组筛选类似物(为了更多细节参见物质和方法)。还测试了对TLR7有效且有选择性的化合物的子集对于TLR8活性(参见下面表2)和在初级人PBMc检验中TLR7/8功效(更多细节参见物质和方法)。将一些化合物发展为短期体内(STIV)检验以测定对小鼠TLR7的剂量依赖活性和作用持续时间(更多细节参见物质和方法)。然后,在一种或多种下列小鼠狼疮疾病模型中评价选择的化合物的影响:BXSB-Yaa、NZBxNZW和姥蛟烷:DBA/1。

[0661] 本文实施方案报道的许多化合物显示对人和小鼠TLR7以及人 TLR8的纳摩尔功效,当这些受体在细胞系或初级细胞上表达时,通过合成、小分子(CL097, R848)或核酸(RNA)配体进行刺激。相反地,本文实施方案报道的大多数化合物对TLR9通路无活性。

[0662] 目前狼疮SOC药物包括诸如氯喹和羟基氯喹(HCQ)的抗疟疾药,其被证实体外抑制TLR7/9信号。这可至少部分地解释它们控制狼疮耀斑的有效性。然而,本公开的实施方案被证实提供显著更有效的抑制。例如,发现化合物ER-892887(上面示出和讨论的)对RNA-Ig

TLR7/8刺激比HCQ (ER-892887 IC₅₀=0.015uM, HCQ IC₅₀值约 1.5uM) 更有效约100倍。这表明ER-892887将比目前狼疮治疗提供显著更有效的TLR7/8通路抑制。这通过下面表1中示出的结果证实。

[0663] 表1. 与羟基氯喹(Plaquenil®)相比, 化合物ER-892887的功效和选择性。

细胞格式:	配体:	受体:	分析物:	ER-892887 IC ₅₀ (uM)	HCQ ² IC ₅₀ (uM)
HEK-293	LPS	人 TLR4	NFkB-荧光素酶	>10	N.D.
HEK-293	CL097	人 TLR7	NFkB-荧光素酶	0.010	N.D.
HEK-293	CL097	小鼠 TLR7	NFkB-荧光素酶	0.276	N.D.
HEK-293	CL097	人 TLR8	NFkB-荧光素酶	0.080	N.D.
HEK-293	CpG-ODN	人 TLR9	NFkB-荧光素酶	>10	N.D.
Hu PBMC	¹ RNA-Ig	人 TLR7/8	IL-6	0.015	1-2
Hu PBMC	¹ RNA-Ig	人 TLR7/8	TNFα	0.013	N.D.
Hu PBMC	¹ RNA-Ig	人 TLR7/8	IP-10	0.045	N.D.
Hu PBMC	R848	人 TLR7/8	IL-6	0.016	N.D.
Mu Spleen	R848	小鼠 TLR7	IL-6	0.070	N.D.
Hu PBMC	Pam3CSK4	人 TLR1/2	IL-6	>10	N.D.
Hu PBMC	LPS	人 TLR4	IL-6	>10	>10
Hu PBMC	CpG-ODN	人 TLR9	IL-6	>10	0.15-0.30
表格图解: ¹ RNA-Ig = 衍生自与抗体复合的 U1snRNA 茎环 IV 序列的 ssRNA(更多细节参见物质和方法) ² HCQ = 羟基氯喹					

[0665] 表2. HEK-293检验格式中选择的化合物对抗人TLR8的功效(更多细节参见物质和方法)。

[0666]

ER-编号	HEK/TLR8 IC50 (μ M)
ER-885454-00	0.28
ER-885484-00	> 10
ER-885690-00	1.49
ER-886434-00	0.30
ER-886622-00	0.07
ER-887534-00	0.41
ER-887734-00	0.14
ER-887738-00	> 10
ER-892887-00	0.08
ER-892889-00	0.15
ER-892890-00	1.47
ER-892892-00	0.14
ER-892900-00	0.33
ER-892924-00	0.22
ER-893888-00	0.46
ER-893961-00	0.16
ER-893969-00	0.25
ER-893972-00	0.30
ER-893987-00	0.22
ER-894595-00	0.32
ER-894596-00	0.54

[0667] 短期体内 (STIV) 检验: 为了评价化合物对小鼠TLR7的体内功效, 使用短期体内 (STIV) 检验。简略地, 将小鼠口服给予化合物并在此后, 在各个时间点下皮下注射激动剂R848以刺激TLR7。然后, 通过ELISA 检测R848刺激后的血浆IL-6水平以评价化合物功效和作用持续时间。重要地, 证实在使用R848体外或体内刺激后的细胞因子产生是使用 TLR7-缺陷小鼠完全TLR7-依赖性的。因此, 可确信地将STIV检验中化合物的活性归因于它们TLR7通路的调整。300mg/kg下单个口服剂量的ER-892887体内抑制R848/TLR7/IL-6通路80-90%, 时间为至少 24小时 (参见图1)。化合物小组的STIV检验功效的概述在下面表3中显示。

[0668] 表3. 选择的化合物的短期体内 (STIV) 检验数据概括。

		短期体内(STIV)检验数据总结																		
		%抑制 vs.媒介																		
时间 点:	剂量 (mg/ kg)	ER-892887	ER-892893	ER-889549	ER-892889	ER-892890	ER-889904	ER-893972	ER-892892	ER-885681	ER-893971	ER-895676	ER-895678	ER-895498	ER-895496	ER-895302	ER-895303	ER-894680	ER-885454	ER-894595
3hr	11																			
	33									90										
	100		30	93	98	64	98	83	96	98	99							98		
	300									99										
6hr	11																			
	33	83	23	43	48	68	77	83	86	42	99	0	0	35	71	93	92	98		0
	100	100	0	84	99	84	100	96	94	81	99					99		98		57
	300									96						99				
13hr	11	27																		
	33	12				18		78		0	10	0	0	34	33	14	0	4		0
	100	49				6		92		7	99	28	28	56	43	16	18	95		0
	300	90								50		0	8	81	96	91	90			
19hr	11																			
	33			7	53				49											
	100		0	0	45		24		52										56	
	300																		100	
24hr	11																			
	33	0											0	25	35	30				
	100	12										0	0	39	13	0	0			
	300	86										27	3	70	45	37	60			

[0669]

[0670] 小鼠狼疮疾病模型选择。三种不同的狼疮疾病模型 (BXSB-Yaa、NZBxNZW和姥蛟烷) 用于化合物POC评价, 因为 (1) BXSB-Yaa和 NZB/W品系发展具有多基因病因学的自发性疾病, 证实诸如DNA-和 RNA-相关的自身反应性、蛋白尿和免疫复合物介导的肾炎的许多人狼疮标记和 (2) 已经针对所有三种疾病模型报道阳性TLR7和/或TLR9靶标炎症结果。

[0671] SLE疾病模型中的ER-892887关键发现如下 (参见图1-6和12-14):

[0672] 1) 在TLR7-驱动BXSB-Yaa模型中, ER-892887显著降低抗 -dsDNA效价, 相应于减少蛋白尿和等级3/4肾炎发病的完全预防的趋势。

[0673] 2) 在NZB/W模型中ER-892887降低抗-dsDNA效价。较低剂量 (33-100mg/kg) 的ER-892887提供该模型中的存活益处, 相应于减少的蛋白尿和肾小球性肾炎的组织学症状。ER-892887比通常用于人狼疮的治疗的两种药物更有效地延迟NZB/W模型中蛋白尿的发展, 并且结合羟基氯喹和泼尼松龙是有效的。

[0674] 3) ER-892887抑制姥蛟烷模型中的各种自身抗体, 对诸如抗 -RiboP效价的RNA-相关反应性具有特别稳定的影响。这些变化相应于该模型中全血干扰素驱动基因表达和通过ER-892887的IFN基因标签得分的减少。ER-892887降低姥蛟烷模型中的关节炎严重程度, 并且显著抑制干扰素基因标签得分, 同时三种通常使用的狼疮治疗并不抑制。在试验的剂量下, ER-892887还比羟基氯喹或泼尼松龙更好地抑制自身抗体。

[0675] SLE疾病模型中ER-885454的关键发现如下 (参见图7-9):

[0676] 1) 在TLR7-驱动BXSB-Yaa模型中ER-885454显著减少抗-dsDNA和抗-Sm/nRNP效价,相应于显著减少的蛋白尿和等级3/4肾炎发病的完全预防。

[0677] 2) ER-885454减少NZB/W模型中的抗-dsDNA、蛋白尿和肾小球性肾炎的组织学症状。

[0678] 发现总结:这些数据显示描述的化合物对与人狼疮的重要方面相关的过程的调节作用。包含核酸的免疫复合物可通过树突状细胞促进类型1干扰素产生,并且反映干扰素存在和随后干扰素调节基因的抑制的“干扰素标签”与疾病严重程度相关。ER-892887体外阻滞对 RNA-Ig复合物的细胞因子反应,并且抑制姥鲛烷模型中干扰素-驱动基因的上调。ER-892887和ER-885454二者限制几种自身抗体特异性的产生,并且抑制如通过蛋白尿和组织学变化的表现的肾病。使用 ER-892887治疗显著提高自发性NZB/W模型中长期给药研究中的存活率。结果表明这些化合物具有控制狼疮症状和人患者中的发展的潜力。

[0679] 药理学物质和方法:

[0680] 体外药理学:设计HEK-293细胞(ATCC)以稳定表达NF- κ B转录因子可诱导的E-选择素(ELAM-1)荧光素酶报道基因,其衍生自包含来自人E-选择素基因(登记号NM_000450)的启动子的碱基对-2241bp至-254bp的质粒pGL3(Promega)。然后,随后设计这些细胞以稳定和单独表达人TLR4、TLR7或TLR9全长ORF cDNAs。将人TLR4 cDNA(登记号NM_138554)克隆为pCDNA 3.0表达载体(Invitrogen)。还设计 TLR4转染的细胞以表达人MD-2,将共受体[MD-2 cDNA(登记号 NM_015364)克隆为pEF-BOS载体]并且在介质中补充10nM可溶的 CD14(R&D Systems)以最佳化LPS反应性。将人TLR9 cDNA(登记号 NM_017442)克隆为pBluescript II KS载体(Agilent)。从OriGene获得人TLR7 cDNA(登记号NM_016562)。稳定表达人TLR8(登记号 NM_138636)或小鼠TLR7(登记号NM_133211)的HEK-293细胞购自 InvivoGen,然后使用pNiFty2(NF- κ B)-荧光素酶报道基因质粒(InvivoGen)稳定转染。在包含10%胎牛血清(FBS)的Dulbecco氏改良伊格尔培养基(DMEM)中以 2.22×10^5 细胞/ml的密度将各个细胞类型制板在384-孔板中并在37°C,5%CO₂下孵育2天。然后,加入不同浓度的拮抗剂化合物。然后,在加入合适的TLR激动剂之前,如下将细胞孵育另外30分钟(指出的最终浓度):在10ng/ml下脂多糖(LPS; Sigma)用于TLR4,在3ug/ml下CL097(InvivoGen)用于人TLR7和TLR8以及小鼠TLR7,和在0.6uM下CpG-2006-2A[具有硫代磷酸酯骨架的序列:TCGTCGTTAAGTCGTTAAGTCGTT(SEQ ID号:1),由 Sigma-Aldrich合成]用于TLR9。然后,将细胞孵育过夜,并按照制造商建议的方案,使用SteadyGlo®(Promega)或Steadylyte™(Perkin Elmer)试剂通过检测发光定量NF- κ B依赖性荧光素酶报道基因激活。

[0681] 人PBMC细胞基检验。通过密度梯度(Histopaque®1077, Sigma, Inc., St. Louis, MO),从新抽出的肝素化(10USP单位/ml, Hospira, Lakeforest, IL)健康供体全血中分离人外周血单核细胞(PBMC)。简略地,在50ml圆锥管中使用15ml PBS(不含Ca²⁺、Mg²⁺)稀释25ml血液,并使用脊髓针将12ml Histopaque放置下面。在1200rpm(350xg)下将管离心45分钟,并从血块黄层中收集PBMC。然后,在PBS中将细胞洗涤两次,并在室温下,通过悬浮在5ml氯化铵溶液(1×红血细胞裂解缓冲液, eBioscience)中5分钟将红血细胞裂解。在PBS中最后洗涤之后,在具有L-谷氨酰胺的RPMI-1640介质(Invitrogen)中以 2×10^6 /ml的最终浓度将PBMC重新悬浮并补充25mM HEPES(Mediatech, Inc, Manassas VA)、10%胎牛血清(HyClone, Logan, UT)和青霉素-链霉素-谷氨酰胺(Mediatech)并在组织培养基处理的96-

孔板 (Falcon) 中以100ul/孔 (2×10^5 细胞/孔) 制板。

[0682] 一式三份将在100%DMSO中溶解和连续稀释的拮抗剂化合物加入至细胞以产生0.1%DMSO (v/v) 的最终浓度。一式三份将在PBS中溶解和连续稀释的羟基氯喹 (Acros Organics) 加入至细胞。在37℃, 5% CO₂下, 在加入各个TLR激动剂试剂之前在100ul完全培养基每孔, 如下使用拮抗剂化合物或HCQ将PBMC孵育30分钟 (指出的最终浓度): 在1uM下R848 (雷西莫特; GLSynthesis, Worcester, MA) 用于TLR7 和TLR8、在50ng/ml下Pam3CSK4 (InvivoGen) 用于TLR1/2、在10 ng/ml下LPS (Sigma) 用于TLR4和在5ug/ml下CpG-2216 (InvivoGen) 用于TLR9。为了制备模拟狼疮患者中包含自身抗体免疫复合物的 RNA的TLR7/8激动剂, 具有按照 (Dharmacon, Inc., Lafayette, CO) 衍生自人U1 snRNA茎环IV [(具有硫代磷酸酯骨架的序列: GGGGGACUGCGU-UCGCGCUUCCCC (SEQ ID号:2)] 的序列的 26-mer RNA, 在前面其已被证实是有效的TLR7和TLR8激动剂。在无血清RPMI中将该RNA分子稀释为2.5μM, 并以1:25稀释或以1 ug/ml加入还与RNA交叉反应的小鼠抗-人单链DNA单克隆抗体 (MAB3034, Millipore, Inc., Billerica, MA)。在加入至细胞之前, 在室温下将产生的“RNA-Ig”刺激孵育15-30分钟。在37℃, 5%CO₂下使用各个TLR激动剂将PBMC孵育20小时。收集细胞培养基上清液, 并且根据制造商建议的方案 (BD Biosciences, Inc., San Diego, CA), 如由标准ELISA程序指出的评价各个人细胞因子的水平。表4示出用于选择的化合物的人PBMC IL-6抑制试验的结果。

[0683] 表4. 人PBMC IL-6抑制 (SL4-Ig配体)

[0684]

ER-编号	人 PBMC IC ₅₀ (μM)	ER-编号	人 PBMC IC ₅₀ (μM)
ER-880269	0.034	ER-887736	0.562
ER-880898	1.761	ER-887968	0.085
ER-885454	0.676	ER-887969	0.108
ER-885681	0.173	ER-889537	0.527
ER-885682	0.357	ER-889538	0.566
ER-885690	9.846	ER-889540	0.248
ER-886161	8.091	ER-889542	0.729
ER-886163	1.059	ER-889544	6.780
ER-886164	0.567	ER-889545	2.403
ER-886166	1.171	ER-889546	0.851
ER-886167	0.402	ER-889549	0.215
ER-886367	5.929	ER-889552	7.329
ER-886434	0.414	ER-889576	1.580
ER-887084	0.101	ER-889826	10.000

[0685]

ER-887193	0.415	ER-889827	1.020
ER-887238	0.253	ER-889828	0.007
ER-887240	0.559	ER-889829	0.008
ER-887343	0.136	ER-889830	1.767
ER-887532	0.514	ER-889831	0.359
ER-887534	0.274	ER-889833	0.154
ER-887735	0.230	ER-889834	0.858
ER-889904	1.280	ER-892896	1.284
ER-892267	3.235	ER-892900	0.744
ER-892268	3.454	ER-892911	0.875
ER-892269	2.851	ER-892912	1.640
ER-892270	11.002	ER-892913	2.365
ER-892271	7.538	ER-892914	0.757
ER-892272	6.305	ER-892915	0.937
ER-892273	6.248	ER-892916	0.561
ER-892274	8.614	ER-892917	1.082
ER-892275	4.091	ER-892918	0.701
ER-892276	2.215	ER-892919	0.839
ER-892886	0.686	ER-892920	0.711
ER-892887	0.040	ER-892922	2.446
ER-892887	0.051	ER-892923	2.461
ER-892888	0.484	ER-892924	0.160
ER-892889	0.350	ER-892925	0.937
ER-892890	1.712	ER-893774	3.232
ER-892891	0.296	ER-893775	2.059

[0686]

ER-892892	0.879	ER-893776	2.912
ER-892893	0.164	ER-893777	2.748
ER-892894	0.371	ER-893888	1.949
ER-892895	0.495	ER-893961	0.572
ER-893968	0.436	ER-895091	0.071
ER-893969	0.545	ER-895102	0.029
ER-893970	0.968	ER-895302	0.025
ER-893971	1.144	ER-895303	0.023
ER-893972	0.698	ER-895396	0.027
ER-893973	0.126	ER-895397	0.131
ER-893987	2.112	ER-895436	0.026
ER-893990	4.463	ER-895437	0.334
ER-894462	0.784	ER-895438	0.121
ER-894463	0.048	ER-895440	0.255
ER-894464	0.020	ER-895441	0.277
ER-894466	0.043	ER-895442	0.293
ER-894467	0.406	ER-895484	0.804
ER-894468	0.049	ER-895496	0.017
ER-894595	2.160	ER-895497	0.970
ER-894596	1.750	ER-895676	0.072
ER-895077	0.094	ER-895678	0.071
ER-895078	0.014	ER-895716	0.658
ER-895079	0.229	ER-895718	0.098
ER-895080	0.248	ER-895719	0.031
ER-895081	0.072	ER-895725	0.065

[0687]

ER-895082	0.058	ER-895727	0.185
ER-895731	0.833	ER-895811	0.111
ER-895732	0.240	ER-896060	0.020
ER-895734	0.021	ER-896064	0.007
ER-895739	0.116	ER-896133	0.064
ER-895746	0.204	ER-896134	0.012
ER-895748	0.027	ER-896135	0.018
ER-895752	0.103	ER-896136	0.019
ER-895755	0.069	ER-896388	0.122
ER-895809	0.021	ER-896452	0.049
ER-895810	0.027	ER-896993	0.038

[0688] 基于小鼠脾细胞的检验。从通过CO₂安乐死的雌性BALB/c小鼠 (Jackson Labs, Bar Harbor, ME) 中获得脾。通过使脾穿过40μm尼龙细胞过滤器获得单独的细胞悬浮液。使用50ml PBS (Mediatech, Inc., Manassas, VA) 将细胞洗涤两次并在室温下在5ml RBC裂解缓冲液 (eBioscience, Inc., San Diego, CA) 中将红血细胞裂解5分钟。在PBS中将细胞再洗涤两次并以 2.5×10^6 细胞/ml最终重新悬浮在补充的 RPMI-1640中。在96-孔组织培养基处理的板 (Falcon) 中, 以100μl/孔 (2.5×10^5 细胞/孔) 将细胞制板。一式三份将在100% DMSO中溶解的化合物的连续稀释液加入至细胞以产生0.1% DMSO的最终浓度。在加入100μl/孔的740nM R848 (Resiquimod; GLSynthesis, Worcester, MA) 之前在完全培养基中在37℃, 5% CO₂下使用化合物将细胞孵育30分钟用于370nM R848的最终浓度。在37℃, 5% CO₂下将细胞孵育20 小时。收集培养基上清液, 并且根据制造商建议的方案 (BD Biosciences, Inc., San Diego, CA), 通过标准ELISA程序评价IL-6的水平。选择的化合物试验的结果在表5中。

[0689] 表5. 小鼠脾细胞IL-6抑制 (R848配体)

ER-编号	小鼠脾细胞 IC ₅₀ (μ M)	ER-编号	小鼠脾细胞 IC ₅₀ (μ M)
ER-885454	0.680	ER-894466	0.420
ER-889549	2.700	ER-894468	0.930
ER-889904	1.720	ER-894595	3.110
ER-891029	0.630	ER-894596	3.020
ER-892887	0.070	ER-894646	0.448
ER-892887	0.330	ER-894647	0.718
[0690] ER-892889	0.630	ER-894680	0.230
ER-892890	1.750	ER-895302	0.120
ER-892892	0.280	ER-895303	0.270
ER-892893	0.290	ER-895396	0.200
ER-892895	0.300	ER-895496	0.182
ER-893888	3.940	ER-895498	0.306
ER-893990	3.920	ER-895499	0.632
ER-894463	0.116	ER-895676	0.297
ER-894464	0.290	ER-895678	0.175

[0691] 体内药理学:

[0692] 短期体内 (STIV) 检验。在200 μ l体积具有在0.5%甲基-纤维素水溶液 (Sigma, St.Louis,MO) 中配制的拮抗剂化合物中通过口服填喂法给予六至八周大雌性BALB/c小鼠 (Jackson Labs,Bar Harbor,ME)。在后面的各个时间点,在100 μ l体积中将小鼠皮下 (s.c.) 注射15 μ g R848 (Resiquimod;GLSynthesis,Worcester,MA) 以刺激TLR7。通过心脏穿刺收集血浆,然后,根据制造商建议的方案 (R&D Systems) 通过标准ELISA程序评价在TLR7刺激之后1.5小时的IL-6水平。

[0693] 小鼠狼疮疾病模型品系。雄性BXSb-Yaa和雌性NZBWF1/J小鼠购自Jackson Labs (Bar Harbor,ME),其二者表现有自发性狼疮疾病。雌性DBA/1小鼠购自Harlan Laboratories (Indianapolis,IN) 并在规定年龄给予腹膜内注射0.5ml姥蛟烷 (2,6,10,14-四甲基十五烷;Sigma,St. Louis,MO) 以化学诱导狼疮疾病或0.5ml PBS以产生年龄相仿的无疾病对照小鼠。小鼠通过在0.5%甲基纤维素中口服给予化合物或药物将小鼠每天给药,时间为规定的时间。

[0694] 通过ELISA评价自身抗体效价。通过标准ELISA方法评价抗 -dsDNA、-Sm/nRNP、-RiboP和组蛋白效价。简略地,在室温下如下使用100 μ l的稀释抗原的PBS将96-孔EIA/RIA ELISA板 (Corning) 涂覆90分钟 (指出的最终浓度):10U/ml Sm/nRNP复合物 (Immunovision)、10 μ g/ml牛胸腺dsDNA (Sigma)、5U/ml RiboP (Immunovision) 和5 μ g/ml组蛋白 (Immunovision)。使用 PBS/0.05%Tween 20 (洗涤缓冲液) 洗涤板并在4℃下使用PBS/1% BSA (封闭缓冲液) 封闭过夜。将板洗涤,以100 μ l体积每孔将在封闭缓冲液 (依赖模型和抗原范围为1:25-1:10,000) 中稀释的小鼠血浆样品加入至孔,并在室温下将板孵育90分钟。然后,将板洗涤,将在 PBS/1%BSA/0.05%Tween中稀释的1:50,000100 μ l抗-小鼠 -IgG-HRP0 (Southern Biotech) 加入至各个孔,并在室温下将板孵育90 分钟。将板洗涤,并

100ul的来自OptEIA TMB底物试剂盒 (BD Biosciences) 的底物组分的1:1混合物加入至孔。在室温下孵育板,并在足够显色之后,通过加入100ul的0.18M硫酸溶液停止反应。在450 nm下通过分光光度法将板读数。

[0695] 蛋白尿的评价。从各个小鼠手工或通过圈养1-2小鼠每个代谢笼 18小时收集尿,并测定各个动物的尿蛋白肌酐比 (UACR) 作为肾功能的间接测量 (以白蛋白/g的肌酐肝每dL的尿的mg比形式计算UACR)。使用定制三明治ELISA方案使用抗-小鼠白蛋白抗体组 (Bethyl Labs) 测定尿样品中白蛋白水平,其包括涂覆抗体和使用HRP结合物标记的第二抗体用于检测。使用商业肌酐检验试剂盒 (Cayman) 测定肌酐水平。

[0696] 肾炎的组织学评价。从各个小鼠中收集肾,固定在10%福尔马林中24小时,嵌入石蜡,并且产生H&E染色的切片用于盲式组织病理学评价。肾炎疾病得分的特征如下:等级0-正常范围;等级1-带状毛细血管壁增厚;等级2-细胞过多、分裂、新月体形成;等级3-参见等级2,增加的严重程度和范围 (受影响的肾小球%) 的肾小球病变;等级4-硬化;严重的肾小球疾病 (非功能器官)。

[0697] 统计学:使用来自组中所有单独动物的值计算药物治疗和媒介治疗组之间的UACR、细胞因子或抗体效价的差别。通过具有Dunn事后试验的单因素ANOVA测试它们以比较各个实验组与媒介。在附图中规定P值或按照惯例单个星号表示 $p < 0.05$,两个星号表示 $p < 0.01$ 且三个星号表示 $p < 0.001$ 。通过Mantel-Cox比较死亡率曲线组,并且其中求得显著性,使用Wilcoxon分析测试曲线对的差别。

[0698] 全血中干扰素基因表达的评价。通过qPCR检测全血中IFN-调节基因的表达。简略地,将小鼠安乐死,通过腔静脉收集血液,随后在包含RNA (Ambion, Austin TX) 的管中保存100ul。使用小鼠Ribo纯血液RNA分离试剂盒 (Ambion) 分离全部RNA。使用NanoDrop ND-1000分光光度仪 (Thermo Scientific, Waltham MA) 测定RNA浓度。使用高容量RNA-to-cDNA预混液 (Applied Biosystems, Foster City CA) 从100ng 总RNA合成第一链cDNA。在逆转录之后,使用不含核酸酶的水稀释 cDNA,并与基因表达预混液 (Applied Biosystems) 混合。然后,将混合物应用于由Applied Biosystems制造的定制**TaqMan®**低密度阵列 (TLDA),并在ABI 7900HT快速实时PCR系统 (Applied Biosystems) 中进行qPCR。使用RQ Manager 1.2.1 (Applied Biosystems) 收集原始数据并使用GeneData Analyst 2.2软件 (GeneData) 分析。

[0699] TLDA组包含多达45个选自下面表6的靶标基因,和3个用于正常化的管家基因。基于变异系数选择管家基因Hprt1用于正常化。测定靶标基因的相对数量并用于计算各个患病小鼠相对于仅接受腹膜内 PBS注射的无病对照组的倍数变化。进行标准Student t-试验以确定在无病组 (PBS治疗的) 和媒介治疗的患病组 (姥鲛烷治疗的) 之间哪个靶标基因显著增加,由此表示疾病调节的基因组。随后,计算各个小鼠的“IFN得分”作为t-试验中识别的所有疾病调节基因的中值倍数变化。

[0700] 表6

[0701]

基因符号	Taqman ID	基因名称
18S	Hs99999901_sl	真核 18S rRNA
Bst2	Mm01609165_g1	骨髓基质细胞抗原 2
C1qa	Mm00432142_m1	补体成分 1, q 子成分, α 多肽
C3	Mm00437858_m1	补体成分 3

[0702]

C3ar1	Mm02620006_s1	补体成分 3a 受体 1
Ccl2	Mm00441243_g1	趋化因子(C-C motif)配体 2
Ccl5	Mm01302427_m1	趋化因子(C-C motif)配体 5
Ccr2	Mm00438270_m1	趋化因子(C-C motif)受体 2
Cd274	Mm00452054_m1	CD274 抗原
Cd300e	Mm00468131_m1	CD300e 抗原
Cd38	Mm01220906_m1	CD38 抗原
Cd40	Mm00441891_m1	CD40 抗原
Cdkn2c	Mm00483243_m1	周期素依赖性激酶抑制剂 2C(p18, 抑制 CDK4)
Cmpk2	Mm00469582_m1	胞苷一磷酸盐(UMP-CMP)激酶 2
Cxcl10	Mm00445235_m1	趋化因子(C-X-C motif)配体 10
Cxcl11	Mm00444662_m1	趋化因子(C-X-C motif)配体 11
Ddx60	Mm00460708_m1	DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)盒子多肽 60
Elane	Mm00469310_m1	弹性蛋白酶, 表达的中性粒细胞
Epsti1	Mm00712734_m1	上皮间质相互作用 1(乳腺)
Fcgr1	Mm00438874_m1	Fc 受体, IgG, 高亲和力 I
Fpr1	Mm00442803_s1	甲酰基肽受体 1
Gapdh	Mm99999915_g1	甘油醛-3-磷酸盐脱氢酶
Herc6	Mm01341950_m1	Hect 结构域和 RLD 6
Hprt	Mm00446968_m1	次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶
Ifi202b	Mm00839397_m1	干扰素激活的基因 202B
Ifi204	Mm00492602_m1	干扰素激活的基因 204
Ifi2712a	Mm01329883_gH	干扰素, α 可诱导的蛋白 27 样 2A
Ifi35	Mm00510329_m1	干扰素-诱导蛋白 35
Ifi44	Mm00505670_m1	干扰素-诱导蛋白 44
Ifih1	Mm00459183_m1	使用解旋酶 C 结构域 1 诱导的干扰素(erferon)
Ifit1	Mm00515153_m1	具有三角形四肽重复 1 的干扰素-诱导蛋白
Ifit2	Mm00492606_m1	具有三角形四肽重复 2 的干扰素-诱导蛋白
Ifit3	Mm01704846_s1	具有三角形四肽重复 3 的干扰素-诱导蛋白
Il3ra	Mm00434273_m1	白介素 3 受体, α 链
Il6	Mm00446190_m1	白介素 6
Il6ra	Mm00439653_m1	白介素 6 受体, α
Irf5	Mm00496477_m1	干扰素调节因子 5
Irf7	Mm00516788_m1	干扰素调节因子 7
Isg15	Mm01705338_s1	ISG15 泛素样修饰剂
Isg20	Mm00469585_m1	干扰素-刺激的蛋白
Lta	Mm00440228_gH	淋巴毒素 A
Ly6e	Mm01200460_g1	淋巴细胞抗原 6 复合物, 轨迹 E
Mmp8	Mm00439509_m1	基质金属蛋白酶 8
Mmp9	Mm00442991_m1	基质金属蛋白酶 9
Mpo	Mm00447886_m1	髓过氧化物酶
Ms4a6c	Mm00459296_m1	跨膜 4-结构域, 亚科 A, 成员 6C
Mx1	Mm00487796_m1	粘病毒(流感病毒)抵抗 1
Oas3	Mm00460944_m1	2-5 寡腺苷酸合成酶 3

[0703]

Oasl2	Mm00496187_m1	2-5 寡腺苷酸合成酶样 2
Ppia	Mm02342430_g1	肽酰脯氨酰异构酶 A(亲环蛋白 A)
Prfl	Mm00812512_m1	穿孔素 1(成孔蛋白)
Rsad2	Mm00491265_m1	包含 2 的自由基 S-腺苷基蛋氨酸结构域
Siglec1	Mm00488332_m1	唾液酸结合 Ig-样凝集素 1, 唾液酸粘附素
Stat1	Mm00439531_m1	转录 1 的信号转导物和激活剂
Tlr7	Mm00446590_m1	Toll 样受体 7
Tlr9	Mm00446193_m1	Toll 样受体 9
Tnf	Mm00443258_m1	肿瘤坏死因子
Tnfsf10	Mm01283606_m1	肿瘤坏死因子(配体)总科, 成员 10
Tnfsf13b	Mm00446347_m1	肿瘤坏死因子(配体)总科, 成员 13b
Trem14	Mm00553947_m1	骨髓状细胞样 4 上表达的触发受体
Trex1	Mm00810120_s1	三种主要修复核酸外切酶 1
Usp18	Mm00449455_m1	泛素特异性肽酶 18
Xaf1	Mm01248390_m1	XIAP 相关因子 1

序列表

<110> 罗什·伯伊文

埃里克·卡尔森

远藤笃史

汉斯·汉森

林恩·霍金斯

萨利·伊什扎卡

马修·麦基

希瑞达拉·纳拉扬

佐藤高志

肖恩·席勒

<120> 四氢吡唑并嘧啶化合物

<130> 0080171-000060

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

[0001]

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 1

tcgtcgtaa gtcgtaagt cgtt 24

<210> 2

<211> 24

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 2

gggggacugc guucgcgcuu uccc 24

通过化合物ER892887的TLR7通路的体内抑制

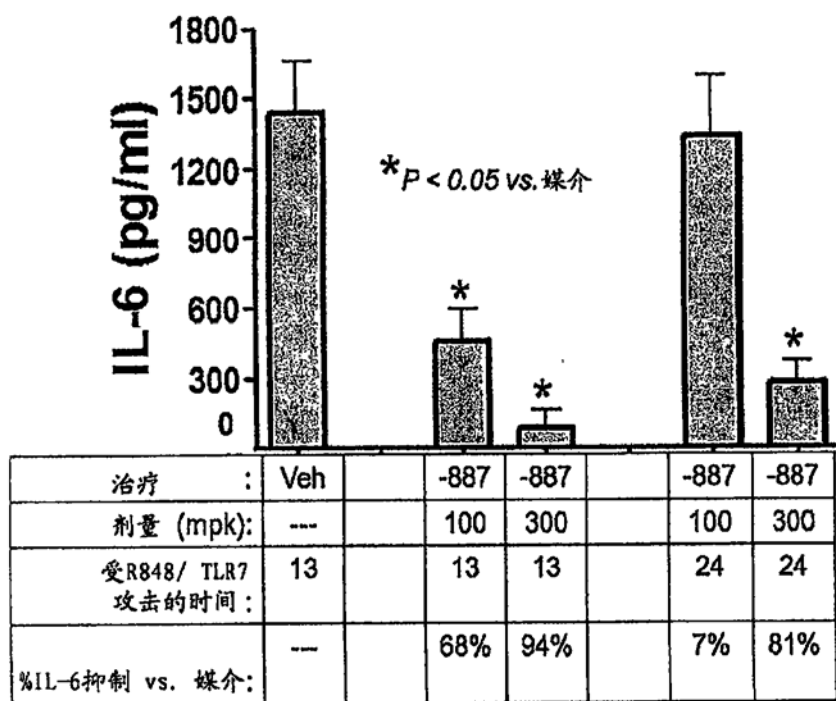


图1

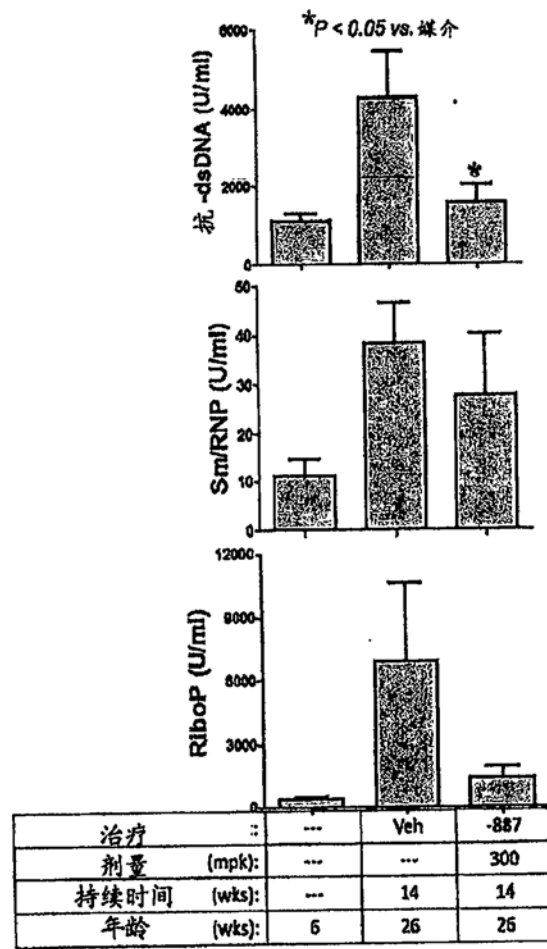


图2A

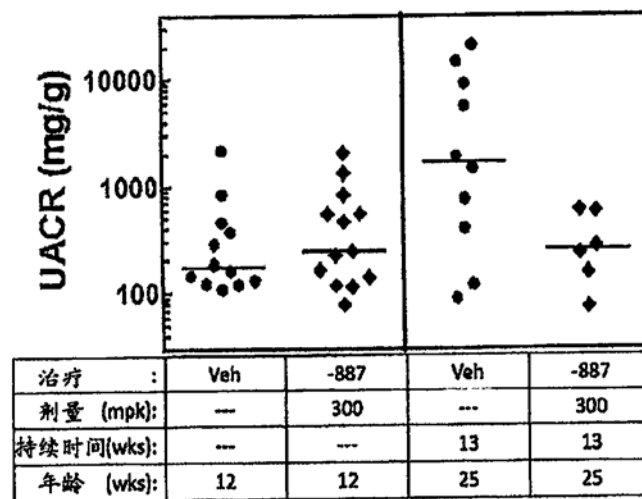


图2B

在BXSB-Yaa品系中肾小球肾炎(GN)评价			
		媒介	ER-892887 (300mpk)
被检查小鼠总数:		10	7
	GN得分		
	0/1	1	2
	2	1	5
	3	6	0
	4	2	0
等级3和4的百分比组合发病率		80%	0%
等级0/1: 在正常范围内; 等级2: 轻微; 等级3: 一般; 等级4: 显著			

图2C

BXSB-Yaa研究治疗:	媒介:	ER-892887
死亡数(#死亡/全部组#)	3/13	6/13
死亡时给药持续时间(天)	24, 31, 56	4, 10, 14, 32, 47, >81d

图2D

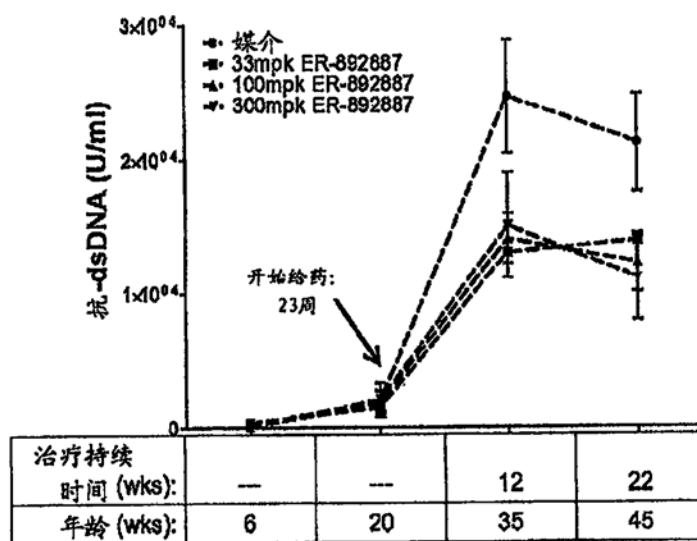


图3A

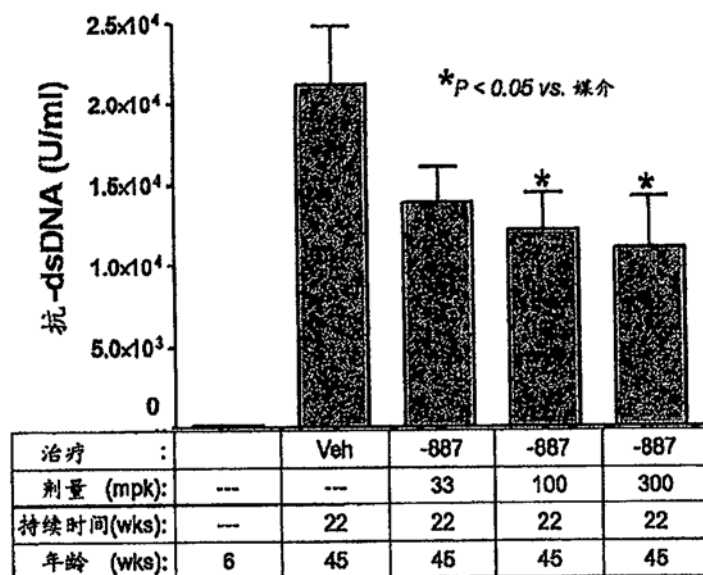


图3B

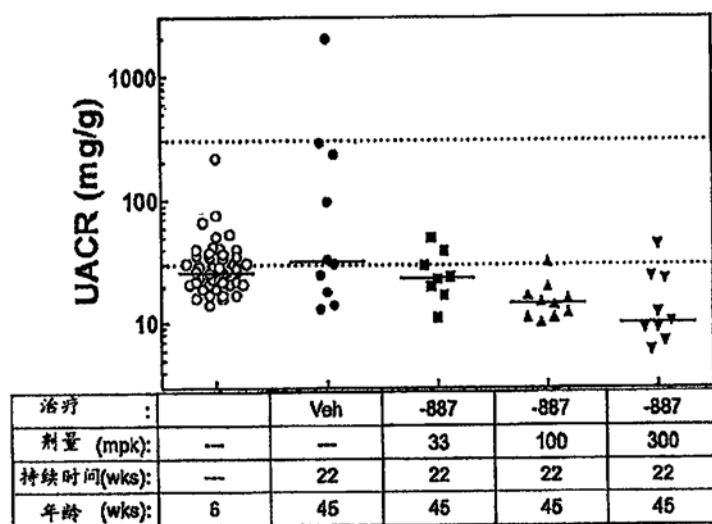


图3C

治疗:	媒介	ER-892887		
剂量 (mpk):		33	100	300
死亡数(#死亡/全部组#):	1/12	0/11	1/12	2/12
死亡时给药持续时间(天):	54		85	17, 53

图3D

在NZB/W-实验#1中肾小球肾炎(GN)评价				
	媒介	ER-892887		
剂量:	---	33mpk	100mpk	300mpk
被检验小鼠总数:	10	12	10	9
GN得分:				
0/1+	4	8	9	5
2+	1	4	1	4
3+	1	0	0	0
4+	4	0	0	0
等级3和4的百分比 组合发病率	50%	0%	0%	0%
等级0/1: 在正常范围内; 等级2: 轻微; 等级3: 一般; 等级4: 显著				

图3E

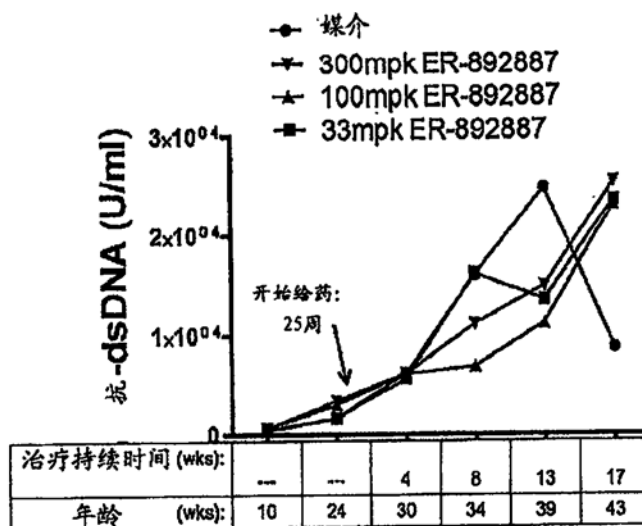


图4A

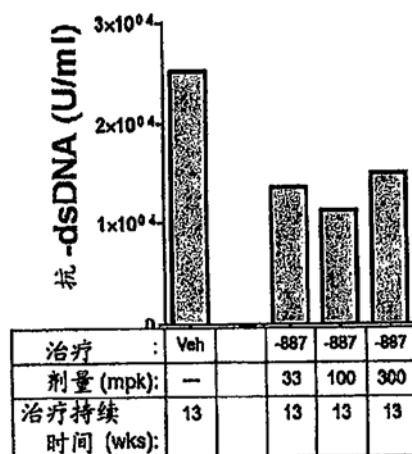


图4B

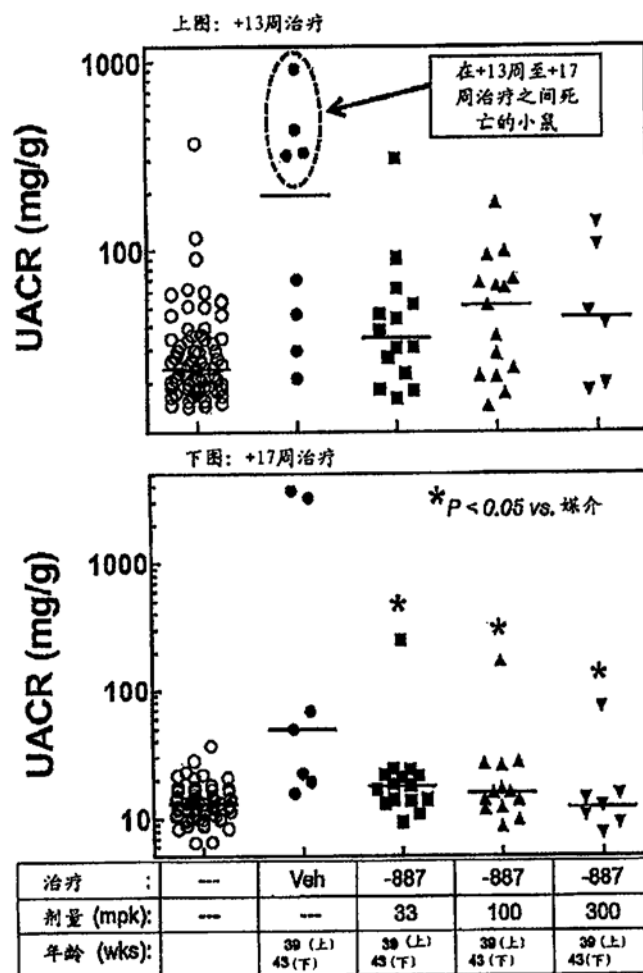


图4C

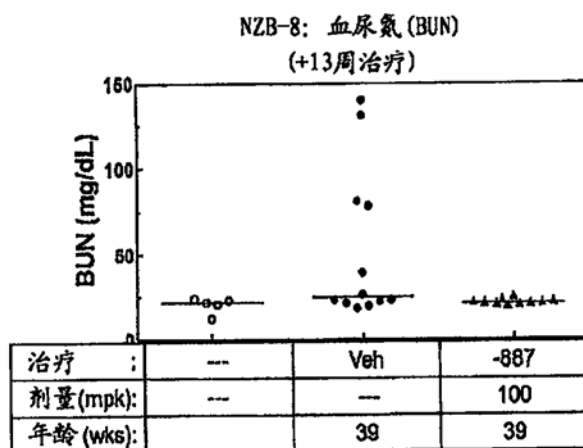


图4D

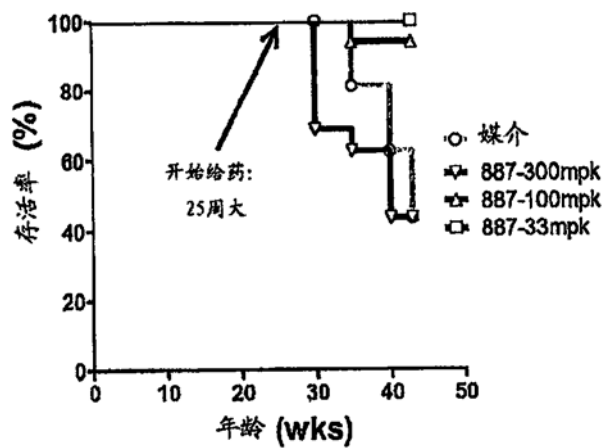


图4E

治疗 :	媒介	ER-892887		
剂量 (mpk):		33	100	300
死亡率 (#死亡/整个组#):	9/16	0/16	1/16	9/16
在死亡时给药持续时间 (天):	67, 67, 82, 84, 98, 102, 104, 104, 113		63	8, 19, 25, 26, 28, 60, 82, 92, 98

图4F

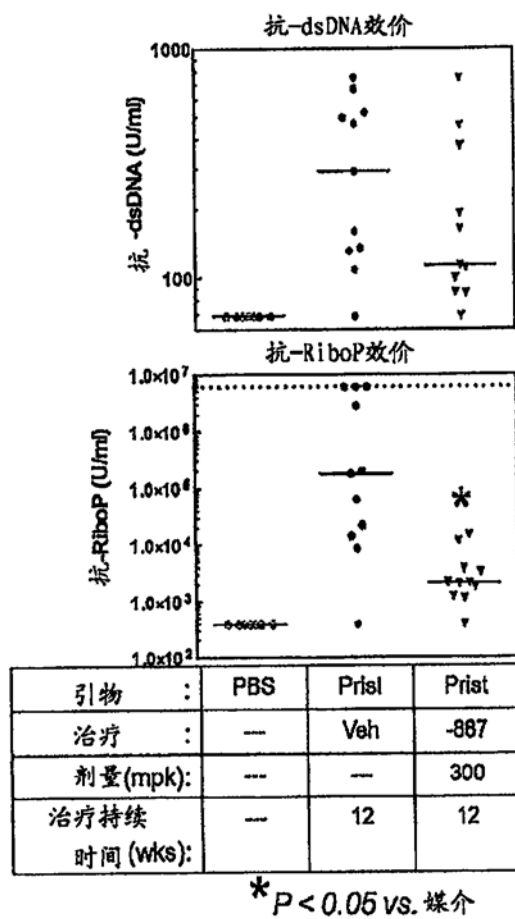


图5A

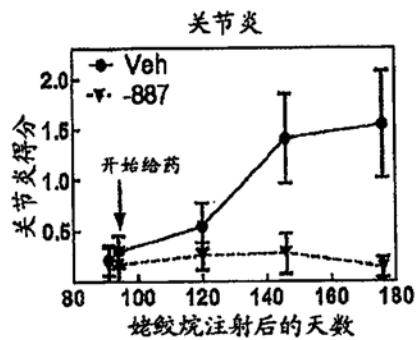


图5B

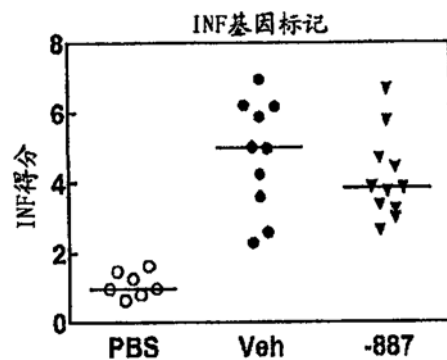


图5C

基因#:	基因名称:
1	<i>Mx1</i> *
2	<i>Ifi44</i> *
3	<i>Irf7</i>
4	<i>Ifit1</i>
5	<i>Isg15</i>
6	<i>Usp18</i>
7	<i>Ifi204</i>
8	<i>Oas3</i>
9	<i>Fcgr1</i>
10	<i>Oasl2</i>
11	<i>Xaf1</i>
12	<i>Mmp8</i>
13	<i>Ifi202b</i>
14	<i>Mmp9</i>
15	<i>Fpr1</i>
16	<i>C3</i>
17	<i>Ms4a6c</i>
18	<i>Stat1</i>
19	<i>Epsil1</i>
20	<i>Ifi35</i>
21	<i>Bst2</i>
在媒介+地肤烷 vs PBS对照之间显著上调的二十一个基因 (21)	
* 通过ER-892887显著减少 (2个基因)	

图5D

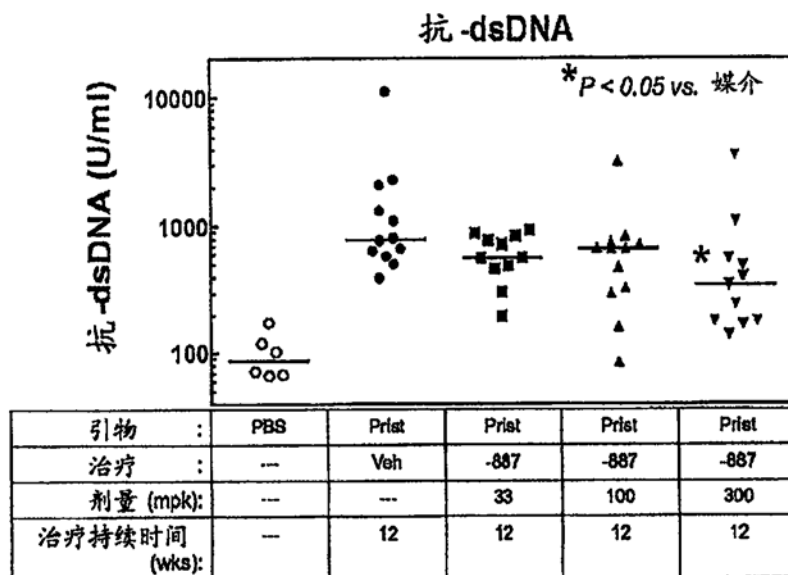


图6A

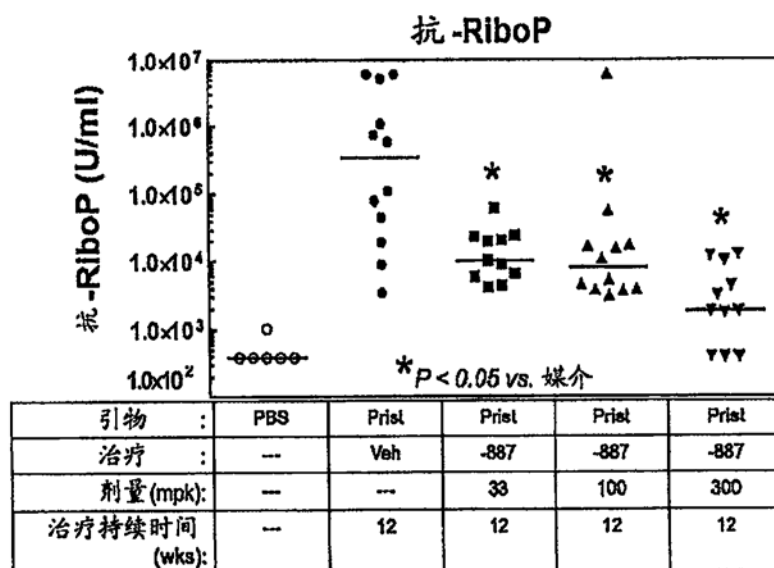


图6B

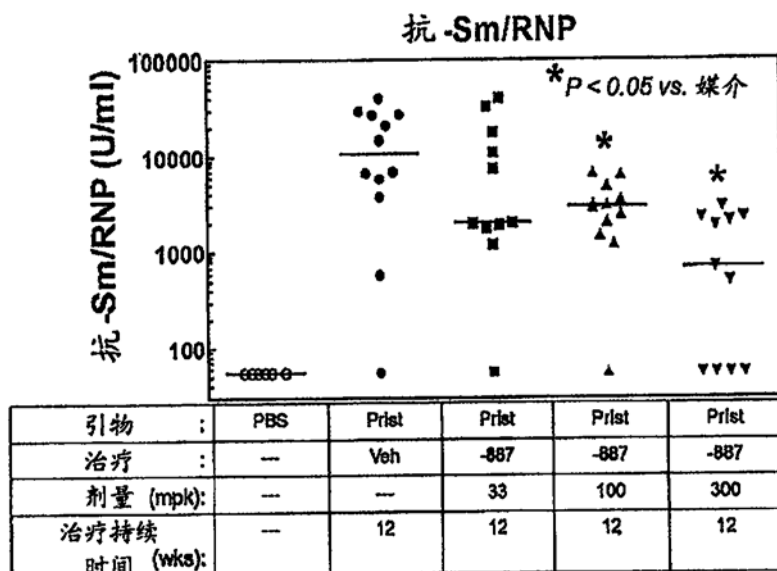


图6C

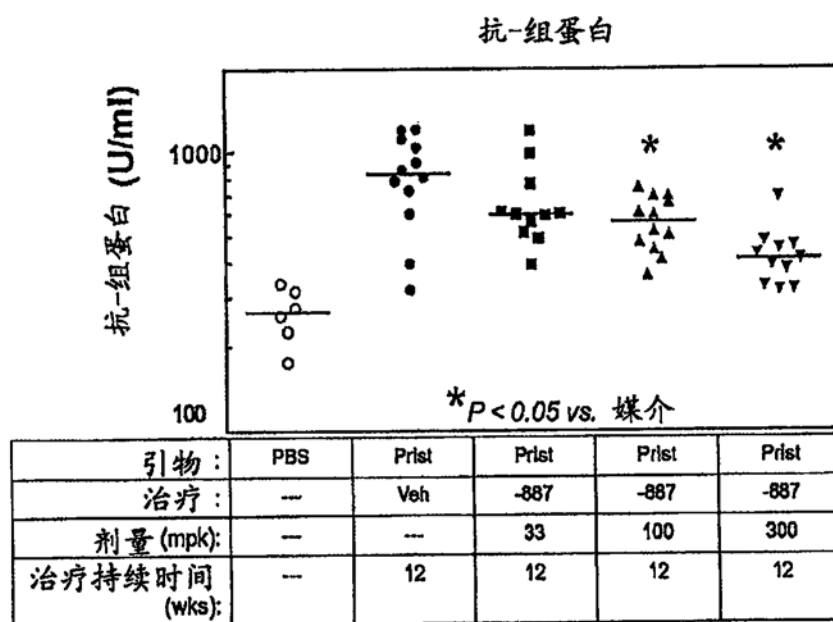


图6D

治疗:	媒介	ER-892887		
剂量 (mpk):		33	100	300
死亡率: (# 死亡/整个组 #)	0/12	1/12	0/12	1/12
死亡时给药持续时间 (天)		1		51

图6E

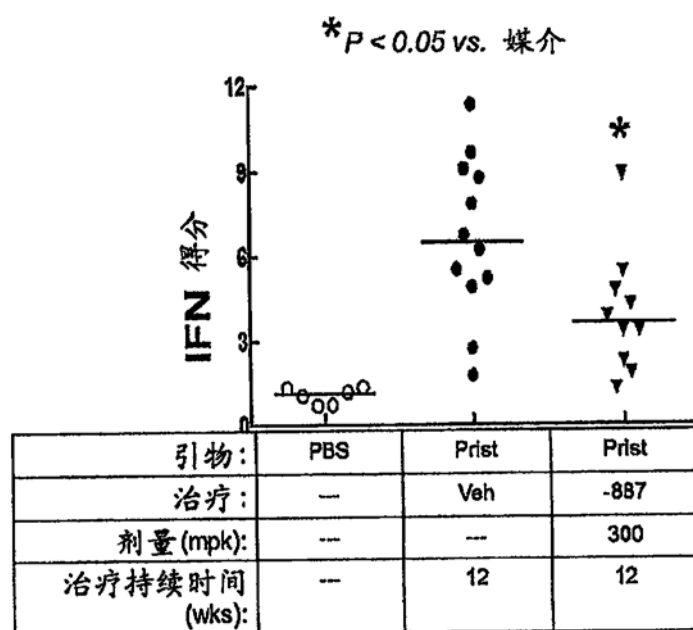


图6F

基因 #:	基因名称 :
1	Bst2 *
2	Herc6 *
3	Ifi204 *
4	Ifi44 *
5	Irf7
6	Ifi2712a
7	Oas3
8	Oasl2
9	Usp18
10	Mmp8
11	Fcgr1
12	Ifit3
13	Isg15
14	Xaf1
15	Ifit1
16	Ifih1
17	Tnfrsf13b
18	Cmpk2
19	Ms4a6c
20	Ccr2
21	Fpr1
22	Mmp9
在媒介+姥鲛烷 vs PBS对照之间显著上调的二十一个基因(22)	
* 通过ER-892887显著减少(4个基因)	

图6G

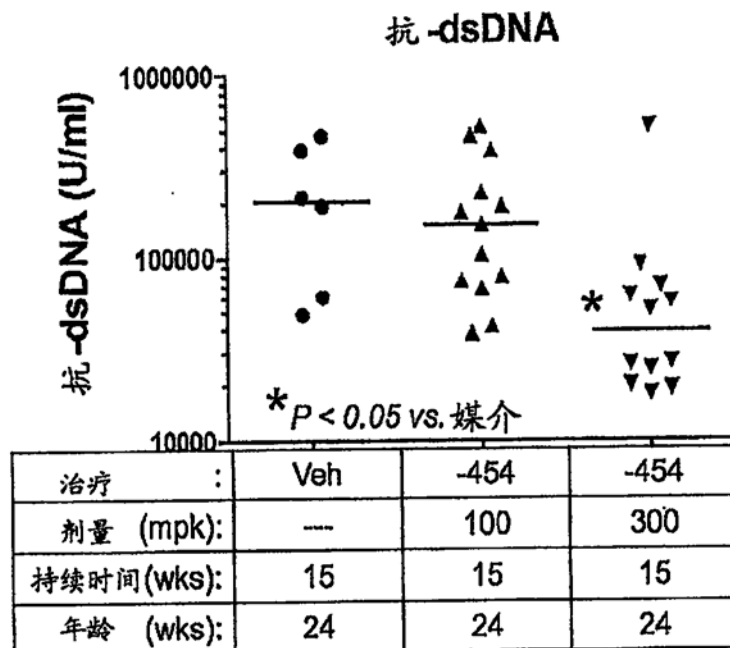


图7A

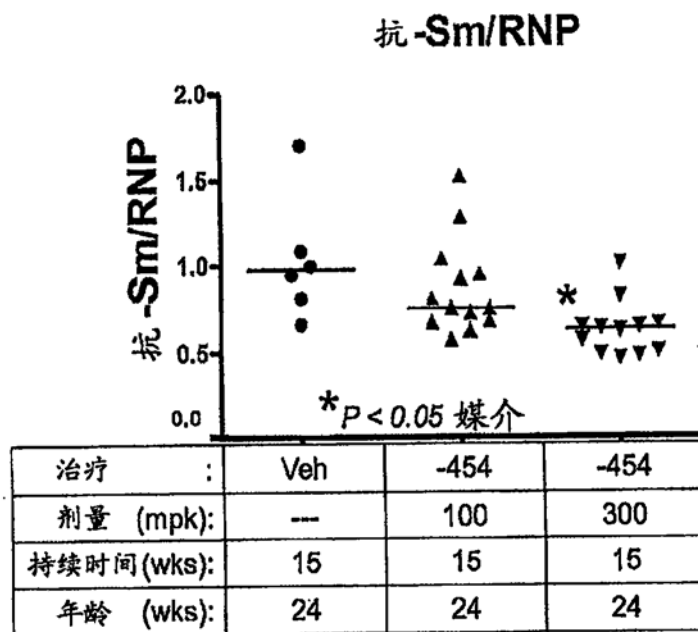


图7B

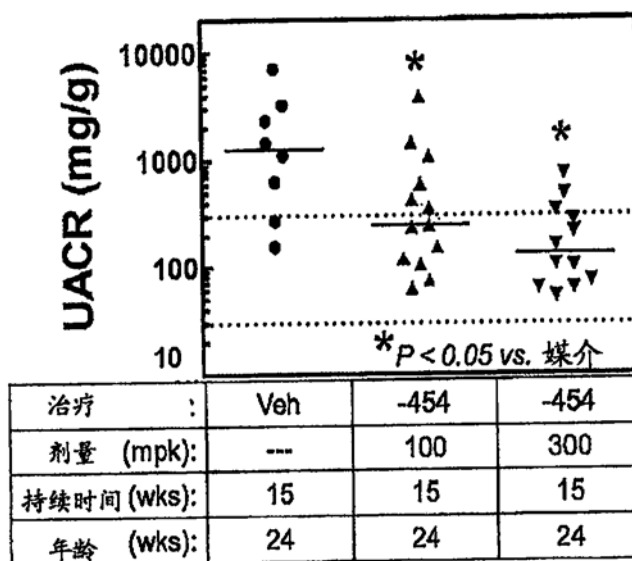


图7C

在BXSb-Yaa品系中肾小球肾炎(GN)评价				
		媒介	ER-885454 (100mpk)	ER-885454 (300mpk)
被检查的小鼠总数:		6	12	13
GN得分:				
0/1		2	11	10
2		1	1	3
3		2	0	0
4		1	0	0
等级3和4的百分比组合发病率		50%	0%	0%
等级0/1: 在正常范围内; 等级2: 轻微; 等级3: 一般; 等级4: 显著				

图7D

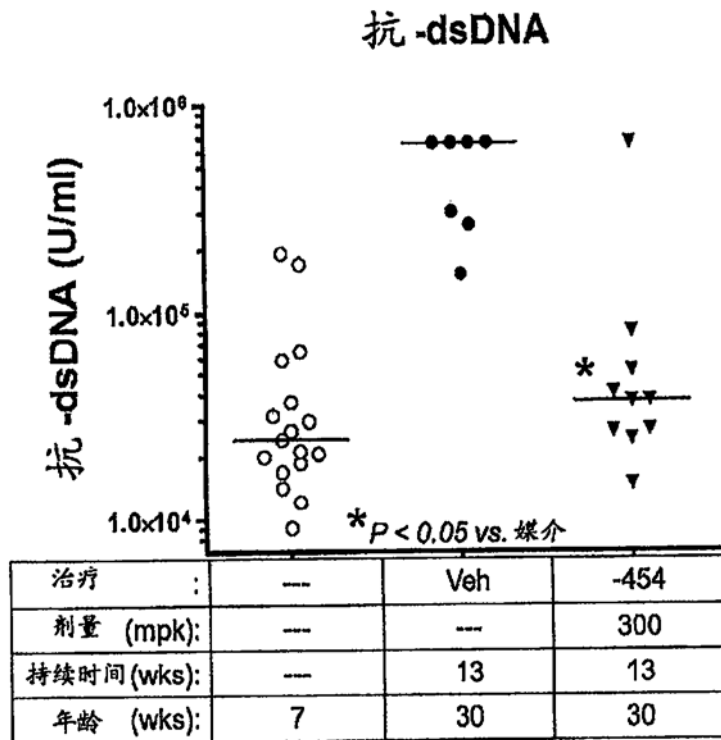


图8A

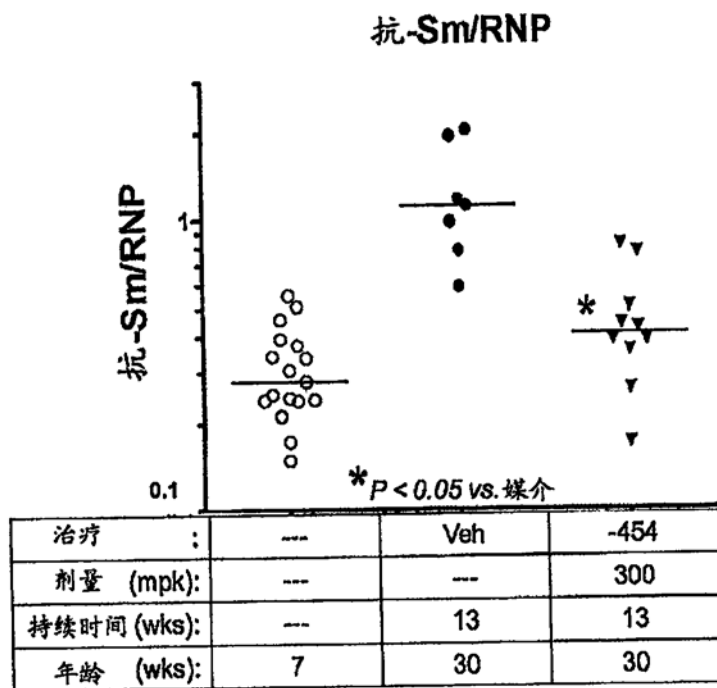


图8B

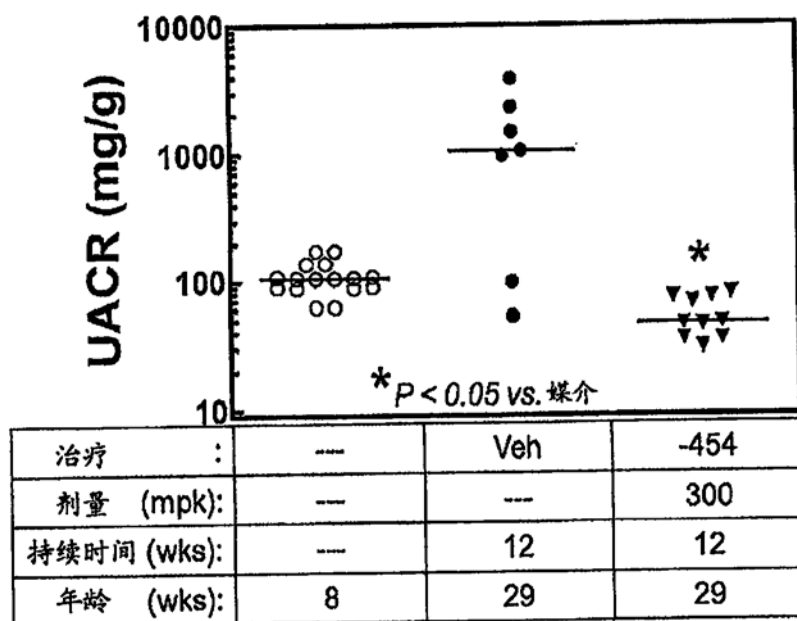


图8C

在BXSb-Yaa品系中肾小球肾炎(GN)评价			
		媒介	ER-885454 (300mpk)
被检查的小鼠总数:		7	10
	GN得分:		
	0/1	2	10
	2	0	0
	3	3	0
	4	2	0
等级3和4的百分比组合发病率		71%	0%
等级0/1: 在正常范围内; 等级2: 轻微; 等级3: 一般; 等级4: 显著			

图8D

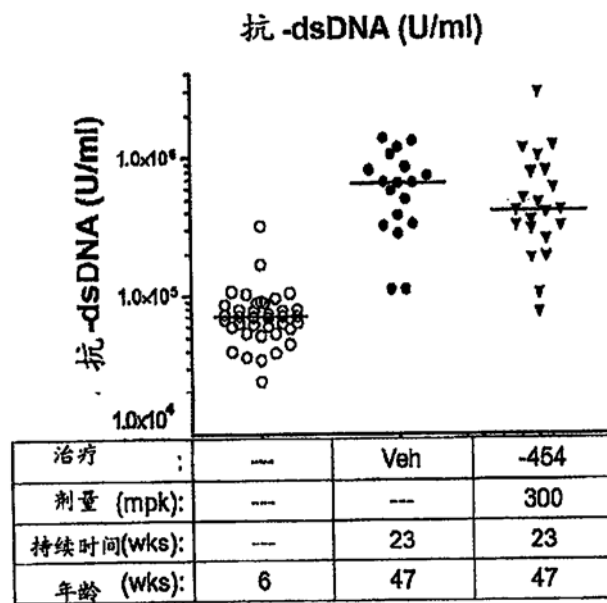


图9A

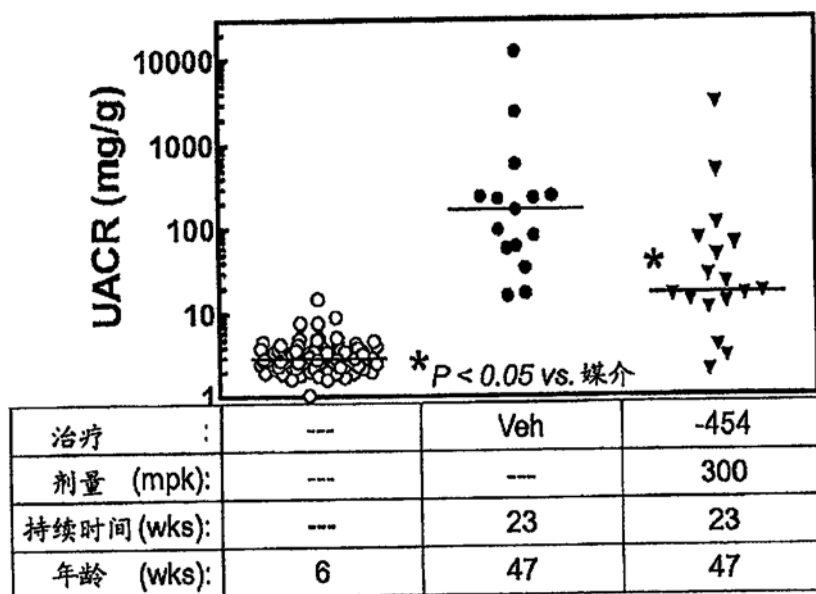


图9B

在NZBxNZW品系中肾小球肾炎 (GN) 评价			
		媒介	ER-885454 (300mpk)
被检查的小鼠总数:		17	21
GN得分:	0	12/17	21
	1	4/17	0
	2	0	0
	3	1/17	0
	4	0	0
	等级3和4的百分比组合发病率	6%	0%
等级0/1: 在正常范围内; 等级2: 轻微; 等级3: 一般; 等级4: 显著			

图9C

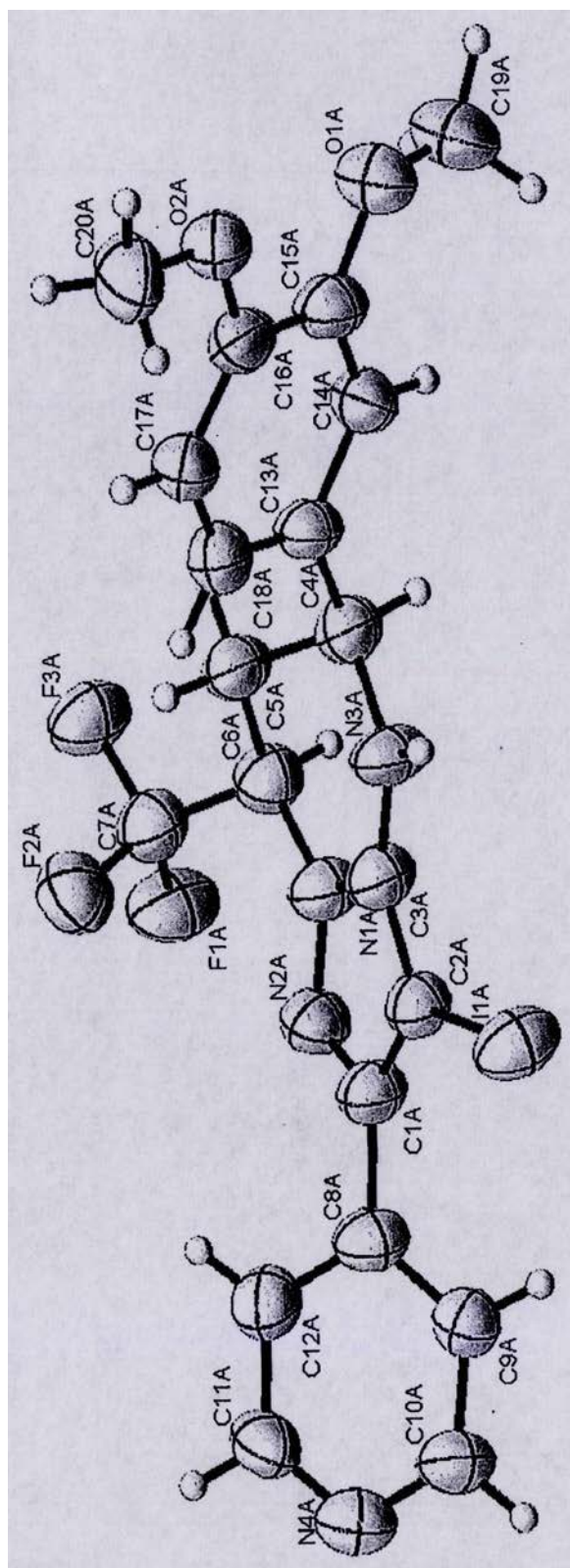


图10

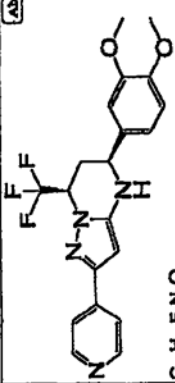
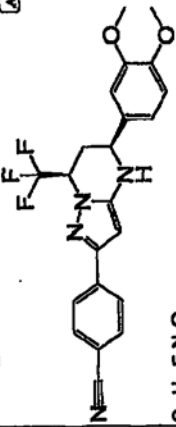
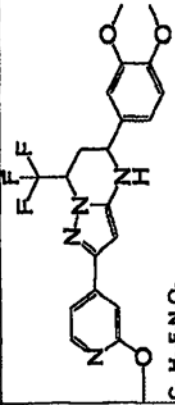
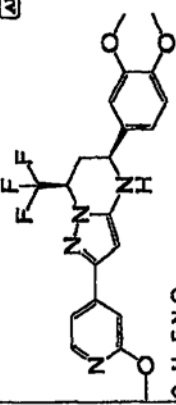
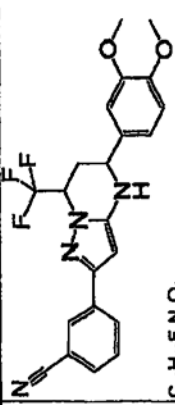
ER编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-885454		(5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.050	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.29 - 2.46 (m, 2 H) 2.47 - 2.60 (m, 2 H) 3.91 (s, 3 H) 3.93 (s, 3 H) 4.36 (s, 1 H) 4.45 (d, J=9.96 Hz, 1 H) 4.93 (dt, J=11.28, 5.79 Hz, 2 H) 5.85 (s, 1 H) 6.85 - 6.93 (m, 1 H) 6.93 - 7.04 (m, 2 H) 7.59 - 7.70 (m, 2 H) 8.56 - 8.66 (m, 2 H)	405.2
ER-885890		4-((5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-吡啶	0.050	> 10	参见 ER-885484	
ER-888434		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-甲氧基吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.080	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.36 - 2.47 (m, 1 H) 2.54 (d, J=6.14 Hz, 1 H) 3.94 (s, 3 H) 3.96 (s, 3 H) 4.00 (s, 3 H) 4.34 (s, 1 H) 4.47 (dd, J=11.73, 2.08 Hz, 1 H) 4.89 - 5.01 (m, 1 H) 5.84 (s, 1 H) 6.89 - 6.96 (m, 1 H) 6.99 - 7.04 (m, 2 H) 7.09 - 7.13 (m, 1 H) 7.35 (dd, J=5.36, 1.39 Hz, 1 H) 8.20 (dd, J=5.36, 0.51 Hz, 1 H)	435.6
ER-886522		(5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-甲氧基吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.020	> 10	参见 ER-886434	
ER-887238		3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)吡啶	0.070	> 10		

图11A

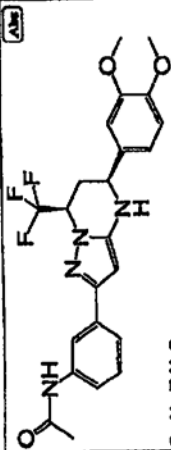
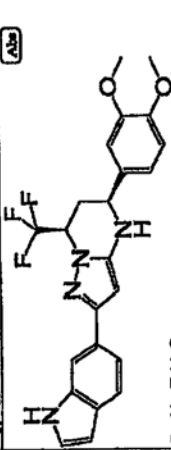
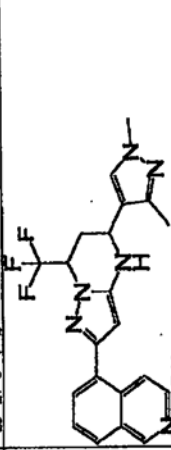
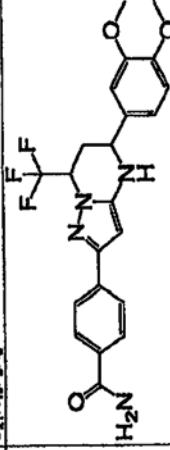
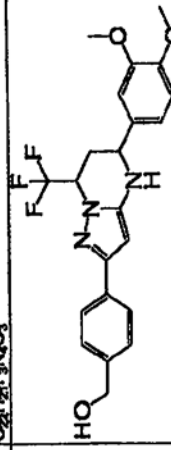
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-887734		N-(3-(4,4-dimethoxy-5-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)phenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-ylamine	0.100	> 10		481.3
ER-887738		(5S,7R)-5-(3,4-dimethoxy-5-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)phenyl)-2-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-ylamine	0.090	> 10		443
ER-889862		5-(5-(1,3-dimethoxy-4-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)phenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-2-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-ylamine	0.040	> 10		413
ER-889871		4-(5-(3,4-dimethoxy-5-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)phenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-2-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-ylamine	0.020	> 10		447.5
ER-889874		4-(5-(3,4-dimethoxy-5-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)phenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-2-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzothiazol-2-ylamine	0.060	> 10		434

图11B

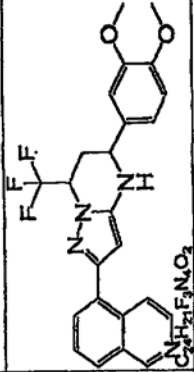
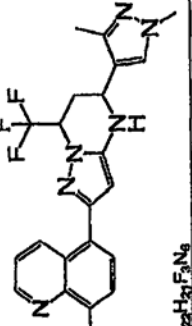
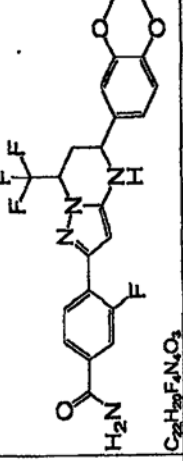
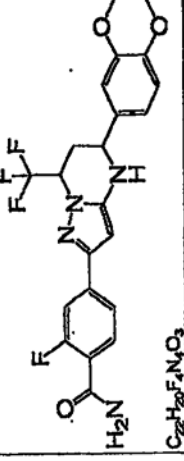
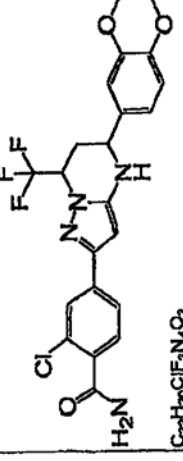
图编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-889825		5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)异喹啉	0.030	> 10		455.1
ER-890007		5-(5-(1,3-二甲基)-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-8-甲基喹啉	0.050	> 10		427
ER-890017		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酰胺	0.070	> 10	参见 ER-892892	465
ER-890019		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酰胺	0.020	> 10		465
ER-890020		2-氯-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-苯甲酰胺	0.030	> 10		481

图11C

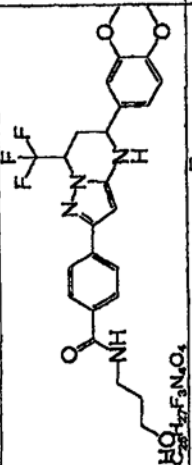
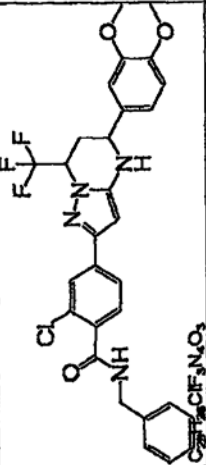
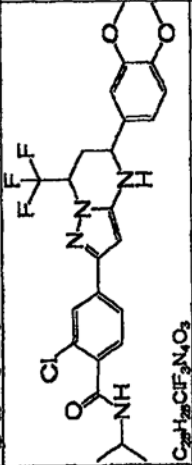
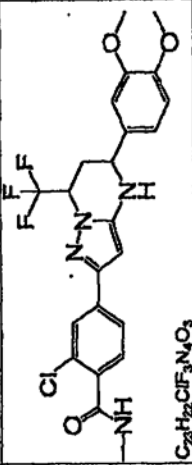
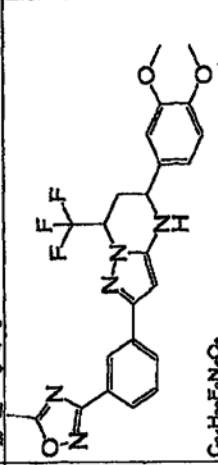
ER 编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-890024		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(3-羧丙基)苯甲酰胺	0.050	> 10	参见 ER-892883	505
ER-890027		N-苄基-2-氟-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-苯甲酰胺	0.030	> 10		571
ER-890028		2-氟-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-异丙基苯甲酰胺	0.030	> 10		523
ER-890029		2-氟-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-甲基苯甲酰胺	0.030	> 10	参见 ER-892889	495
ER-890035		3-(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-5-甲基-1,2,4-噁二唑	0.002	> 10		486

图11D

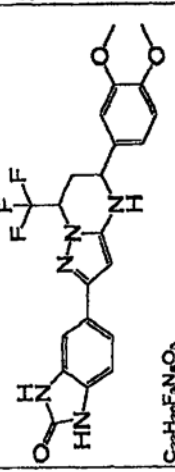
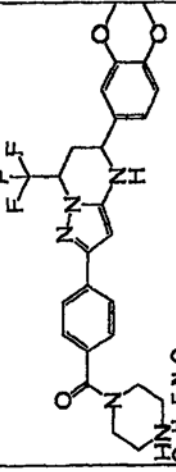
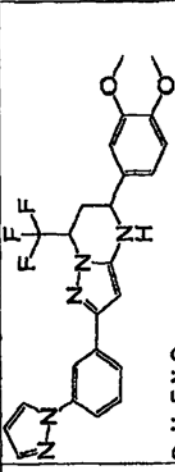
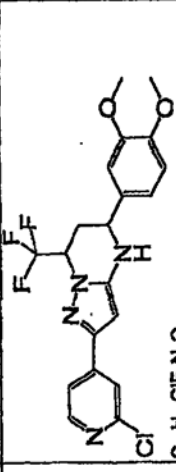
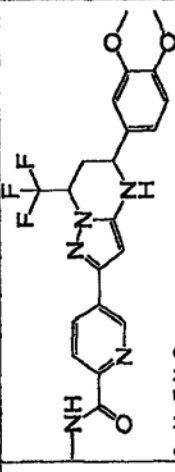
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-890043		5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2(3H)-酮	0.010	> 10		460
ER-890044		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-(咪唑-1-基)甲酮	0.005	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.23 (dt, J=13.30, 11.35 Hz, 1 H) 2.54 (ddd, J=13.36, 6.28, 2.46 Hz, 1 H) 2.82 (br s, 2 H) 2.90 (br s, 2 H) 3.66-3.79 (m, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 3.88 (s, 3 H) 4.46 (dd, J=11.70, 2.30 Hz, 1 H) 5.01-5.16 (m, 1 H) 5.86 (s, 1 H) 6.99 (d, J=8.33 Hz, 1 H) 7.06 (dd, J=8.33, 1.92 Hz, 1 H) 7.12 (d, J=1.92 Hz, 1 H) 7.39-7.49 (m, 2 H) 7.80-7.90 (m, 2 H)	516.6
ER-890050		2-(3-(1H-吡唑-1-基)苯基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.005	> 10		470
ER-890978		2-(2-嘧啶-4-基)苯基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.23 (dt, J=13.32, 11.42 Hz, 1 H) 2.53 (ddd, J=13.36, 6.04, 2.31 Hz, 1 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (s, 4 H) 4.47 (dd, J=11.80, 2.21 Hz, 1 H) 5.07-5.17 (m, 1 H) 5.96 (s, 1 H) 6.86-7.00 (m, 1 H) 7.03-7.07 (m, 1 H) 7.10 (d, J=1.87 Hz, 1 H) 7.70 (dd, J=5.26, 1.41 Hz, 1 H) 7.75-7.80 (m, 1 H) 8.33 (dd, J=5.25, 0.55 Hz, 1 H)	439.5
ER-891029		5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-甲基吡啶酰胺	0.050	> 10		462

图11E

ER 编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-891043		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1,7-二甲基-1H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.004	> 10		472
ER-891044		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1,4-二甲基-1H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.010	> 10		472
ER-891047		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1,6-二甲基-1H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.008	> 10		472
ER-891058		N-环丙基-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯甲酰胺	0.050	> 10		505
ER-892887		4-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基(咪唑-1-基)甲酮	0.006	6.02	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.15 (d, J=6.15 Hz, 1 H) 2.23 (dt, J=13.27, 11.34 Hz, 1 H) 2.54 (ddd, J=13.38, 6.28, 2.49 Hz, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 (s, 4 H) 4.46 (dd, J=11.57, 2.16 Hz, 1 H) 5.09 (dd, J=10.93, 6.05 Hz, 1 H) 5.88 (s, 1 H) 6.96-7.01 (m, 1 H) 7.03-7.08 (m, 1 H) 7.11 (d, J=1.84 Hz, 1 H) 7.47-7.56 (m, 2 H) 7.81-7.95 (m, 2 H)	516.5

图11F

ER 编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	1H NMR	MS
ER-892887		4-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰胺嘧啶-1-鎓氯化物	0.010	> 10	参见 ER-890044	516.6
ER-892889		2-氯-4-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-甲基苯甲酰胺	0.020	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.23 (dt, J=13.29, 11.38 Hz, 1 H) 2.53 (ddd, J=13.34, 6.19, 2.44 Hz, 1 H) 2.86-2.96 (m, 3 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.45 (dd, J=11.62, 2.23 Hz, 1 H) 5.03-5.16 (m, 1 H) 5.86 (s, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.05 (dd, J=8.34, 1.93 Hz, 1 H) 7.11 (d, J=1.91 Hz, 1 H) 7.46 (d, J=7.97 Hz, 1 H) 7.72 (dd, J=7.97, 1.56 Hz, 1 H) 7.83 (d, J=1.45 Hz, 1 H)	496
ER-892890		2-氯-4-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰胺	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.20-2.29 (m, 1 H) 2.50-2.58 (m, 1 H) 3.83-3.86 (m, 3 H) 3.86-3.90 (m, 3 H) 4.46 (dd, J=11.85, 2.12 Hz, 1 H) 5.10-5.11 (m, 1 H) 5.87 (s, 1 H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 7.06 (dd, J=8.32, 2.02 Hz, 1 H) 7.11 (d, J=1.91 Hz, 1 H) 7.51-7.55 (m, 1 H) 7.70-7.75 (m, 1 H) 7.84 (d, J=1.49 Hz, 1 H)	482.2
ER-892892		4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯甲酰胺	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.20 (dt, J=13.28, 11.41 Hz, 1 H) 2.50 (ddd, J=13.36, 6.20, 2.45 Hz, 1 H) 3.27 (dt, J=3.31, 1.84 Hz, 1 H) 3.80 (s, 4 H) 3.83 (s, 5 H) 4.42 (dd, J=11.57, 2.20 Hz, 1 H) 5.02-5.12 (m, 1 H) 5.92 (d, J=4.21 Hz, 1 H) 6.94 (d, J=8.35 Hz, 1 H) 7.02 (dd, J=8.39, 1.90 Hz, 1 H) 7.08 (d, J=1.98 Hz, 1 H) 7.58-7.72 (m, 2 H) 8.00 (t, J=7.84 Hz, 1 H)	485.5
ER-892900		2-(1,4-二甲苯基-1H-咪唑-5-基)-5-(1,3-二甲苯基-1H-吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶	0.100	> 10		430.1

图11G

ER编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-892908		N-(叔丁基)-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺	0.050	> 10		521
ER-892930		N-(2,3-二羟基丙基)-4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺	0.030	> 10		
ER-892931		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.040	> 10		444
ER-893888		1-(4-(5-(1,3-二甲氧基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)脲	0.020	> 10	δ 2.04, (m, 1H), 2.12, (s, 3H), 2.36, (m, 1H), 3.69, (s, 3H), 4.35, (m, 1H), 5.24, (m, 1H), 5.56, (s, 1H), 5.79, (s, 2H), 6.44, (s, 1H), 7.31, (d, 2H), 7.49, (d, 2H), 7.65, (s, 1H), 8.52, (s, 1H)	
ER-893961		((S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1,6-二甲氧基-1H-吡唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.24 (dt, J=13.17, 11.38 Hz, 2H) 2.48-2.66 (m, 1H) 2.56 (s, 4H) 3.84 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.05 (s, 3H) 4.47 (dd, J=11.58, 2.08 Hz, 1H) 5.02-5.16 (m, 1H) 5.62 (s, 1H) 6.98 (d, J=8.28 Hz, 1H) 7.03-7.10 (m, 1H) 7.12 (d, J=1.87 Hz, 1H) 7.41 (s, 1H) 7.78 (s, 1H) 7.91-7.99 (m, 1H)	472.5

图11H

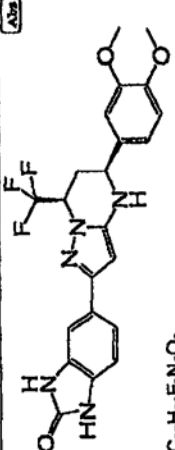
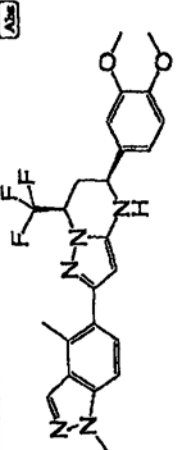
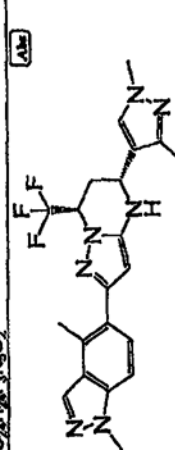
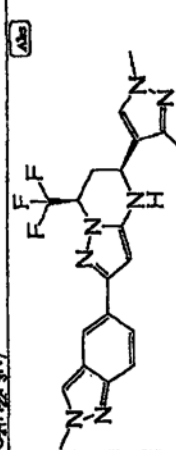
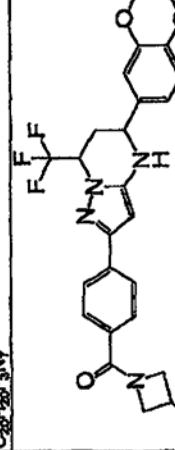
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7/IC50 (μ M)	HEK/ TLR8/IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-893969		5-((5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶-2-基)-1H-苯并[d]咪唑-2-(3H)-酮	0.020	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.16-2.28 (m, 1H) 2.47-2.56 (m, 1H) 3.84 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.44 (dd, J=11.62, 2.12 Hz, 1H) 5.04 (dd, J=11.37, 5.46 Hz, 1H) 5.77 (s, 1H) 6.95-7.01 (m, 1H) 7.02-7.08 (m, 1H) 7.09-7.14 (m, 1H) 7.40-7.49 (m, 1H) 7.52-7.60 (m, 2H) 7.60-7.70 (m, 2H)	460.5
ER-893972		(5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(1, 4-二甲基-1H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.010	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.21 (dt, J=13.06, 11.42 Hz, 1H) 2.47-2.55 (m, 1H) 2.65 (s, 3H) 3.78-3.82 (重叠信号, 5H) 3.83 (s, 4H) 3.87-3.91 (m, 1H) 4.03 (s, 3H) 4.45 (dd, J=11.63, 2.22 Hz, 1H) 5.07 (m, J=4.70 Hz, 1H) 5.61 (s, 1H) 6.95 (d, J=8.35 Hz, 1H) 7.04 (dd, J=8.37, 1.81 Hz, 1H) 7.10 (d, J=1.96 Hz, 1H) 7.35 (d, J=8.81 Hz, 1H) 7.52 (d, J=8.68 Hz, 1H) 8.06 (d, J=0.88 Hz, 1H)	472.3
ER-893987		(5R, 7S)-2-(1, 4-二甲基-1H-咪唑-5-基)-5-(1, 3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.090	> 10	δ 2.05, (m, 1H), 2.14, (s, 3H), 2.36, (m, 1H), 2.62, (s, 3H), 3.70, (s, 3H), 3.97, (s, 3H), 4.38, (m, 1H), 5.22, (m, 1H), 5.51, (s, 1H), 6.44, (s, 1H), 7.38, (d, 1H), 7.49, (d, 1H), 7.63, (s, 1H), 8.08, (s, 1H)	
ER-893990		(5S, 7R)-5-(1, 3-二甲基-1H-吡唑-4-基)-2-(2-甲基-2H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.080	> 10	δ 2.03, (m, 1H), 2.11, (s, 3H), 2.33, (m, 1H), 3.69, (s, 3H), 4.09, (s, 3H), 4.33, (m, 1H), 5.19, (m, 1H), 5.67, (s, 1H), 6.48, (s, 1H), 7.50, (d, 1H), 7.62, (d, 1H), 7.65, (s, 1H), 7.91, (s, 1H), 8.26, (s, 1H)	
ER-894462		(4-(5-(3, 4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶-2-基)苯基)-(3-羟基氮杂环丁烷-1-基)甲酮	0.060	> 10		503

图111

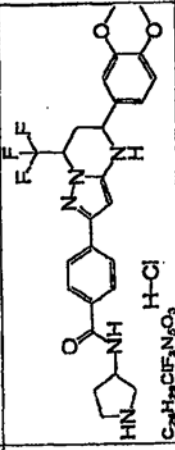
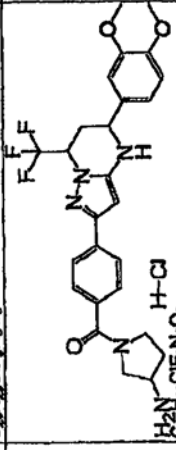
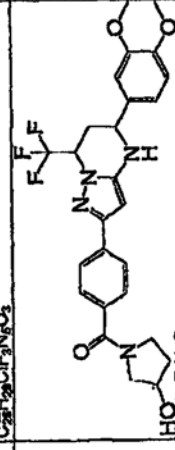
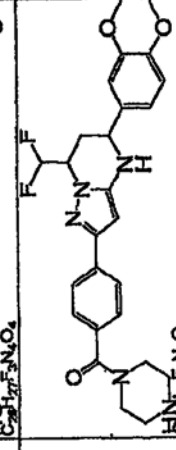
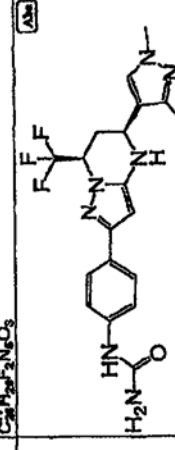
ER 编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-894463		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-1H-吡咯烷-3-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.050	6.09		
ER-894464		(3-氨基吡咯烷-1-基)(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-1H-吡咯烷-3-基)苯基)甲酰胺盐酸盐	0.006	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.82 (dd, 1H) 2.17-2.32 (m, 2H) 2.54 (dd, 1H) 3.38 (m, 1H) 3.47-3.60 (m, 1H) 3.60-3.74 (m, 2H) 3.74-3.83 (m, 1H) 3.85 (m, 3H) 3.87 (m, 3H) 4.48 (d, 1H) 5.00-5.14 (m, 1H) 6.91-7.02 (m, 2H) 7.02-7.16 (m, 2H) 7.57 (d, 2H) 7.84 (d, 2H)	516.6
ER-894465		(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(3-羟基吡咯烷-1-基)甲酰胺	0.009	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.89-2.16 (m, 重叠信号, 3H) 2.23 (dt, 1H) 2.52 (ddd, 1H) 3.39 (d, 1H) 3.46-3.62 (m, 1H) 3.62-3.81 (m, 2H) 3.84 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.28-4.54 (m, 2H) 4.98-5.17 (m, 1H) 6.91-7.20 (m, 4H) 7.48-7.65 (m, 2H) 7.77-7.94 (m, 2H)	518.6
ER-894466		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(吡啶-1-基)甲酰胺	0.010	10.00	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.21-2.37 (m, 1H) 2.89-2.92 (m, 4H) 2.99-3.02 (m, 重叠信号, 1H) 3.48-3.50 (m, 2H) 3.67-3.75 (m, 2H) 3.85 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.47 (dd, 1H) 4.65-4.80 (m, 1H) 6.49 (d, 6.63 (br, 1H) 7.05 (m, 4H) 7.36-7.49 (m, 2H) 7.79-7.89 (m, 2H)	498.6
ER-894595		1-(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)吡啶-1-基)甲酰胺	0.060	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.04 (m, 1H) 2.12 (s, 3H) 2.36 (m, 1H) 3.69 (s, 3H) 4.35 (m, 1H) 6.24 (m, 1H) 6.56 (s, 1H) 5.79 (s, 2H) 6.44 (s, 1H) 7.31 (d, 2H) 7.49 (d, 2H) 7.65 (s, 1H) 8.52 (s, 1H)	

图11J

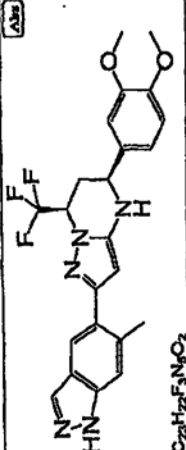
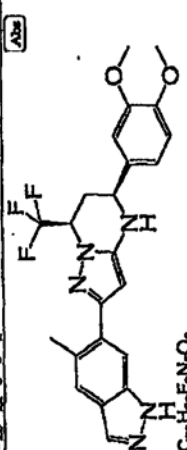
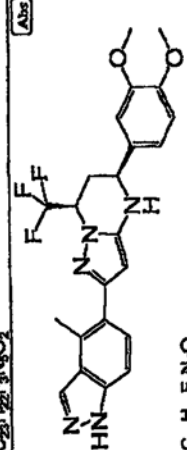
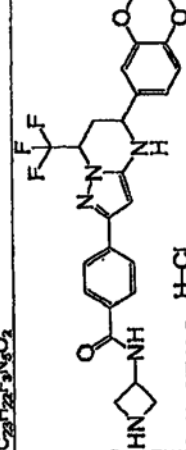
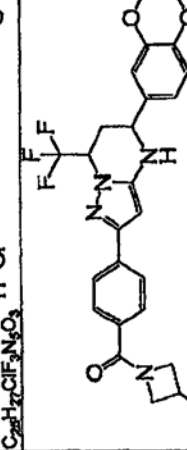
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-894646		(5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(6-甲氧基-1H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.030	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.33 (s, 3H), 2.50 (m, 1H), 2.56 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 4.34 (s, 1H), 4.41-4.50 (m, 1H), 4.94 (dt, J=11.27, 5.77 Hz, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.89 (d, J=8.20 Hz, 1H), 6.96-7.06 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.01 (s, 1H)	458.3
ER-894647		(5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(5-甲氧基-1H-咪唑-6-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.050	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.36 (s, 3H), 2.49-2.55 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 4.32 (s, 1H), 4.48 (d, J=9.92 Hz, 1H), 4.95 (dt, J=11.37, 5.76 Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 6.85-6.94 (m, 1H), 6.95-7.05 (m, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.63-7.68 (m, 2H)	
ER-894680		(5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(4-甲氧基-1H-咪唑-5-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.18-2.29 (m, 2H), 2.47-2.55 (m, 1H), 2.86 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 4.45 (dd, J=11.56, 2.18 Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 6.89-6.98 (m, 2H), 7.01-7.06 (m, 1H), 7.10 (d, J=1.94 Hz, 1H), 7.34 (d, J=8.64 Hz, 1H), 7.48 (d, J=8.64 Hz, 1H), 8.05-8.15 (m, 1H)	458.6
ER-895077		N-(氮杂环丁烷-3-基)-4-(5-(3, 4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.050	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.12-2.33 (m, 1H), 2.54 (dd, 1H), 2.95-3.12 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.86-3.92 (m, 3H), 3.92-4.00 (m, 2H), 4.00-4.08 (m, 2H), 4.46 (d, 2H), 5.04-5.15 (m, 1H), 6.94-7.17 (m, 4H), 7.78-7.91 (m, 4H)	502.6
ER-895078		(3-氨基氮杂环丁烷-1-基)-4-(5-(3, 4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.020	> 10		502

图11K

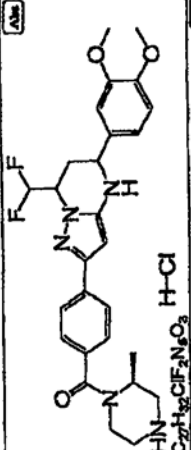
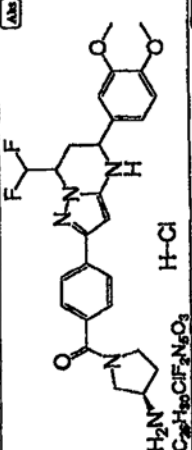
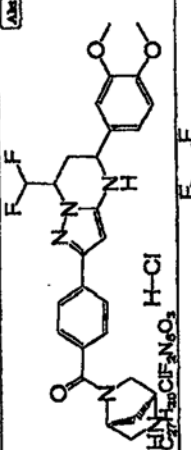
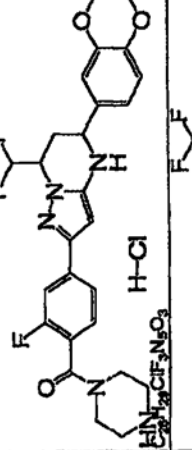
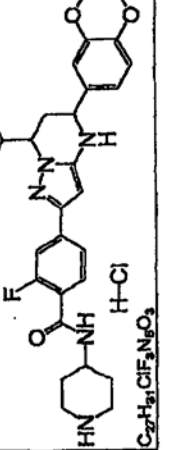
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895088		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)(S)-2-甲基咪唑-1-基)甲磺酸盐	0.020	8.99	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.18 - 1.30 (m, 1H) 1.36 (d, 3H) 2.21 - 2.41 (m, 2H) 2.63 - 2.77 (m, 2H) 2.84 (m, 2H) 2.93 (dd, 2H) 3.85 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.47 (cd, 1H) 6.93 - 7.02 (m, 1H) 7.02 - 7.18 (m, 2H) 7.41 (d, 2H) 7.76 - 7.89 (m, 4H)	512.7
ER-895089		((S)-3-氧基吡咯烷-1-基)(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)甲磺酸盐	0.020	7.73		498
ER-895090		((S,4S)-2,5-二氧杂二环[2.2.1]庚烷-2-基(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)甲磺酸盐	0.010	4.57	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.20 - 2.40 (m, 1H) 2.98 - 3.09 (m, 7H) 3.10 - 3.20 (m, 1H) 4.47 (m, 1H) 3.91 - 3.73 (m, 1H) 3.85 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.38 - 4.52 (m, 2H) 6.93 - 7.02 (m, 1H) 7.02 - 7.17 (m, 2H) 7.48 - 7.62 (m, 2H) 7.77 - 7.90 (m, 2H)	510.8
ER-895091		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-2-氧基)咪唑-1-基)甲磺酸盐	0.080	8.40		516
ER-895092		4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-2-氧基-1-基)苯基)甲磺酸盐	0.010	4.34		530

图11M

ER 编号	结构	化学名称	HEK1 TLR7 IC50 (μ M)	HEK1 TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895093		4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氮-N-(S)-咪唑-3-基) 苯甲酰胺盐	0.040	10.00		630
ER-895094		4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氮-N-(R)-咪唑-3-基) 苯甲酰胺盐	0.030	8.46		530
ER-895096		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氮-N-(R)-咪唑-3-基) 苯甲酰胺盐	0.030	9.35	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.12 - 1.38 (br. m., 6 H) 2.31 (m, 2 H) 2.59 (m, 1 H) 2.74 (m, 1 H) 2.94 (m, 1 H) 3.12 (m, 1 H) 3.22 (m, 2 H) 3.83 (s, 3 H) 3.86 (s, 3 H) 4.46 (d, 1 H) 4.74 (m, 1 H) 6.62 (t, 1 H) 6.95 - 7.11 (m, 4 H) 7.32 - 7.38 (m, 1 H) 7.53 - 7.67 (m, 2 H)	544
ER-895097		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氮-N-(R)-咪唑-3-基) 苯甲酰胺盐	0.050	4.27		516
ER-895098		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氮-N-(S)-咪唑-3-基) 苯甲酰胺盐	0.020	4.03	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.76 - 1.98 (m, 1 H) 2.12 - 2.39 (m, 2 H) 3.34 (br. s., 2 H) 3.53 - 3.81 (m, overlapping signals, 2 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 3.93 (br. s., 1 H) 4.47 (dd, 1 H) 4.63 - 4.83 (m, 1 H) 6.63 (t, 1 H) 6.92 - 7.02 (m, 1 H) 7.02 - 7.18 (m, 3 H) 7.51 - 7.65 (m, 2 H) 7.74 - 7.90 (m, 2 H)	498.6

图11N

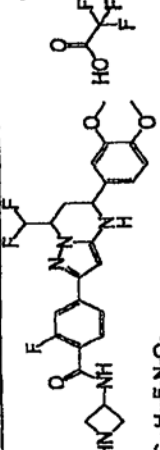
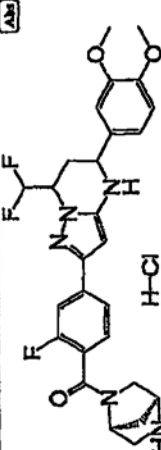
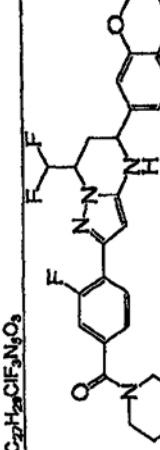
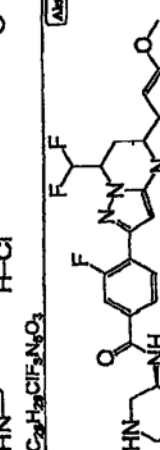
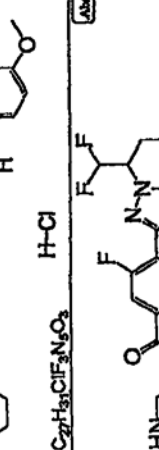
ER编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-895089		N-(2,2,2-三氟乙基)-4-(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯基)酰胺 2,2,2-三氟乙酸盐	0.030	4.48	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.31 (m, 2 H) 3.83 (s, 3 H) 3.86 (s, 3 H) 3.93 (m, 3 H) 4.04 (m, 2 H) 4.46 (d, 1 H) 4.72 (m, 1 H) 5.63 (t, 1 H) 6.93-7.12 (m, 4 H) 7.53-7.68 (m, 2 H) 7.74 (t, 1 H)	502
ER-895101		(1S,4S)-2,5-二氟杂二环-[2.2.1]庚烷-2-基(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯基)-甲酰胺盐	0.030	10.00	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.80 (dd, 2 H) 2.20-2.39 (m, 2 H) 2.91 (m, 1 H) 3.04 (m, 1 H) 3.23 (m, 1 H) 3.47 (m, 1 H) 3.61 (m, 1 H) 3.77 (m, 1 H) 3.83 (s, 3 H) 3.86 (s, 3 H) 4.46 (d, 1 H) 4.72 (m, 1 H) 6.63 (t, 1 H) 6.95-7.12 (m, 4 H) 7.39-7.49 (m, 2 H) 7.55-7.69 (m, 1 H)	528
ER-895102		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯基)(咪唑-1-基)甲酰胺盐	0.080	10.00		516
ER-895104		4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟-N-((S)-咪唑-3-基)苯甲酰胺盐	0.090	10.00		530
ER-895105		4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟-N-((R)-咪唑-3-基)苯甲酰胺盐	0.080	10.00		530

图110

ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895106		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯基)(S)-2-甲基咪唑-1-基)甲酰胺盐	0.060	10.00		530
ER-895107		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯基)(2R,5S)-2,5-二甲咪唑-1-基)甲酰胺盐	0.020	10.00		544
ER-895109		4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟-N-(S)-吡咯烷-3-基)苯甲酰胺盐	0.100	10.00		516
ER-895111		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯基)(2,6-二氟杂螺[3.3]庚烷-2-基)甲酰胺盐	0.090	10.00		528
ER-895112		(1S,4S)-2,5-二氟杂二环[2.2.1]庚烷-2-基(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-氟苯基)甲酰胺盐	0.060	10.00		528

图11P

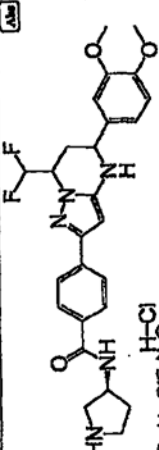
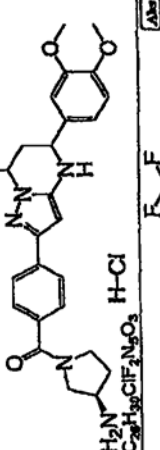
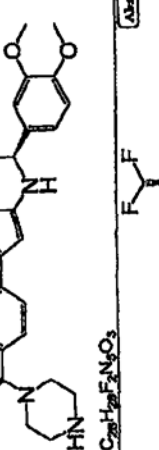
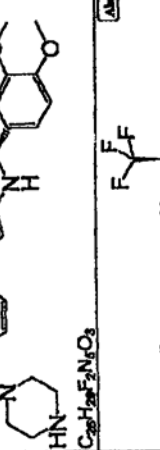
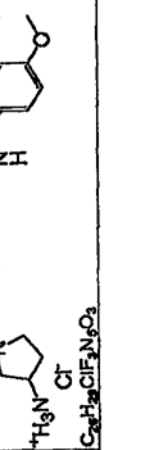
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895115		4-(7-(2,4-二甲氧基苯基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]噻吩-2-基)-N-(S)-噻吩-3-基)羧酸盐 甲磺酸盐形式	0.050	10.00	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.15 - 2.24 (m, 1 H) 2.27 (d, 1 H) 2.29 - 2.46 (m, 1 H) 3.11 - 3.25 (m, 3 H) 3.33 - 3.43 (m, 1 H) 3.43 - 3.65 (m, 2 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.42 - 4.53 (m, 1 H) 4.56 - 4.66 (m, 1 H) 6.63 (s, 1 H) 6.90 - 7.18 (m, 4 H) 7.79 - 7.93 (m, 2 H) 8.53 (s, 1 H)	498.6
ER-895116		(R)-3-氨基吡啶-1-基 (4-(7-(2,4-二甲氧基苯基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]噻吩-2-基)苯基)- 甲磺酸盐形式	0.030	10.00	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.67 - 1.92 (m, 1 H) 2.07 - 2.17 (m, 1 H) 2.17 - 2.42 (m, 1 H) 3.40 (dd, 1 H) 3.44 - 3.59 (m, 1 H) 3.62 - 3.75 (m, 2 H) 3.75 - 3.82 (m, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.47 (dd, 1 H) 4.52 - 4.80 (m, 1 H) 6.63 (t, 1 H) 6.94 - 7.02 (m, 1 H) 7.02 - 7.18 (m, 3 H) 7.57 (t, 2 H) 7.79 - 7.89 (m, 2 H)	498.7
ER-895302		(4-(5S, 7R)-7-(2,4-二甲氧基苯基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]噻吩-2-基)苯基 (噻吩-1-基) 甲磺酸盐形式	0.020	10.00		
ER-895303		(4-(5R, 7S)-7-(2,4-二甲氧基苯基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]噻吩-2-基)苯基 (噻吩-1-基) 甲磺酸盐形式	0.030	6.39		
ER-895396		1-(4-(5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]噻吩-2-基)苯基 吡啶-3-基氯化物形式	0.020	> 10		

图11Q

ER 编号	结构	化学名称	HEK1 TLR7 IC50 (μ M)	HEK1 TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895436		2-(4-(7-(2-氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4-二甲氧基吡唑并[4,5-b]喹啉-2-基)苯基)-1-(咪唑-1-基)乙酰胺盐	0.020	10.00	(DMSO-d6) δ 2.03 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 2.98 (m, 4H), 3.52 (s, 2H), 3.66 (m, 4H), 3.68 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 4.21 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 5.66 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.84 (br t, 1H), 6.92 (dd, 2H), 7.00 (s, 1H), 7.18 (d, 2H), 7.62 (d, 2H), 8.97 (s, 1H)	
ER-895437		N-(咪唑环丁烷-3-基)-2-(4-(7-(2-氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4-二甲氧基吡唑并[4,5-b]喹啉-2-基)苯基)-1-(咪唑-1-基)乙酰胺盐	0.080	10.00	(DMSO-d6) δ 2.03 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 3.40 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 4.01 (m, 5H), 4.40 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 5.65 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.84 (br t, 1H), 6.92 (m, 2H), 7.00 (s, 1H), 7.18 (d, 2H), 7.62 (d, 2H), 8.22 (br s, 1H), 8.32 (br s, 1H)	
ER-895438		1-(3-氟基咪唑环丁烷-1-基)-2-(4-(7-(2-氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4-二甲氧基吡唑并[4,5-b]喹啉-2-基)苯基)-1-(咪唑-1-基)乙酰胺盐	0.070	10.00	(DMSO-d6) δ 2.03 (m, 1H), 2.18 (m, 1H), 3.40 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.86 (m, 2H), 4.03 (m, 2H), 3.91 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 4.75 (m, 1H), 5.65 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.84 (br t, 1H), 6.92 (m, 2H), 7.00 (s, 1H), 7.18 (d, 2H), 7.62 (d, 2H), 8.84 (d, 2H)	
ER-895496		1-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)-1-(咪唑-1-基)乙酰胺盐	0.030	>10	报道的外消旋体的NMR	
ER-895498		3-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)-1-(咪唑-1-基)乙酰胺盐	0.020	>10		

图11R

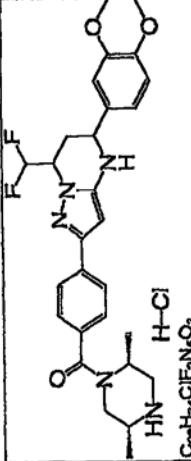
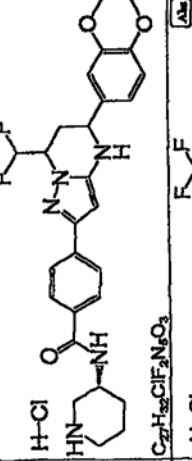
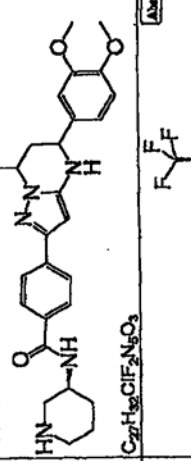
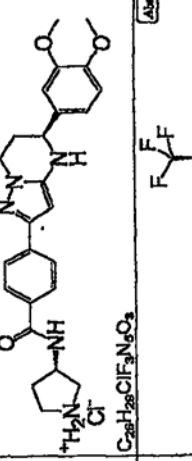
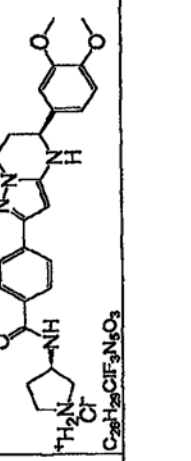
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895548		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(2R,5S)-2,5-二甲基咪唑啉-1-基)甲酰胺盐	0.008	10.00		
ER-895550		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(R)-咪唑啉-3-基)苯甲酰胺盐	0.030	5.97		
ER-895577		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(S)-咪唑啉-3-基)苯甲酰胺盐	0.020	7.82		
ER-895676		(R)-3-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰胺-1-噻唑烷-1-噻唑烷化物	0.030	7.20	报道的外消旋体的NMR	
ER-895678		(S)-3-(4-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯甲酰胺-1-噻唑烷-1-噻唑烷化物	0.020	8.60	优选的外消旋体的NMR	

图11S

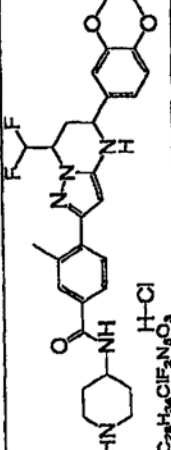
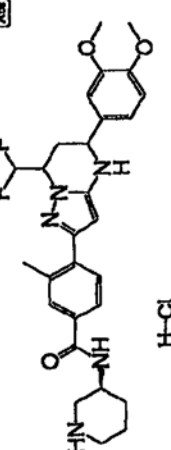
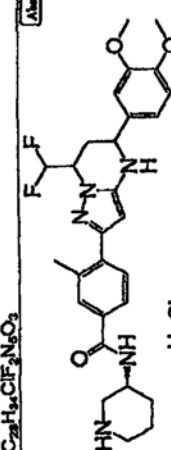
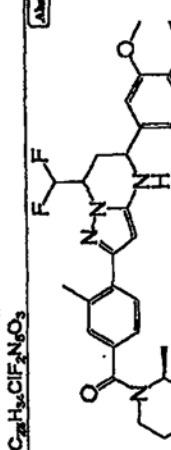
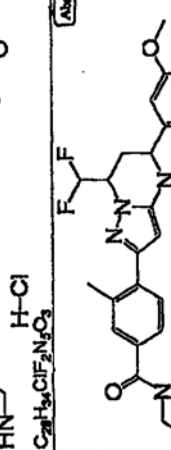
ER 编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895718		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-3-甲基-N-(咪啉-4-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.040	10.00		526
ER-895719		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-3-甲基-N-(咪啉-4-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.030	5.24		526
ER-895720		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-3-甲基-N-(咪啉-4-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.030	4.96		526
ER-895721		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-3-甲基-N-(咪啉-4-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.050	10.00		526
ER-895722		(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)-3-甲基-N-(咪啉-4-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.070	10.00		526

图11T

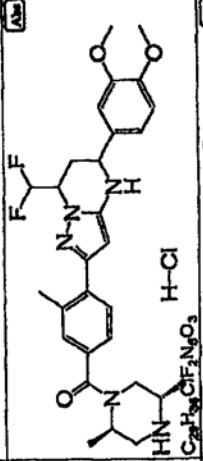
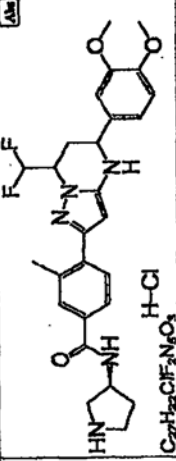
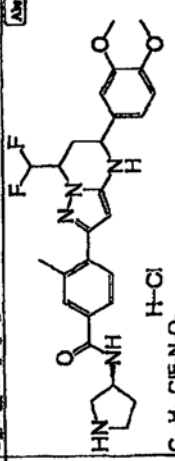
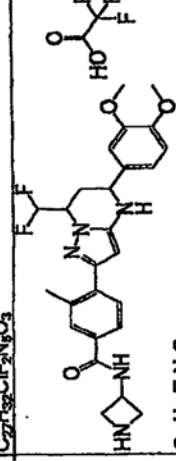
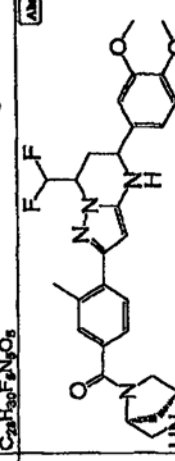
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895723		(4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯基)(2R,5S)-2,5-二甲氧基咪唑-1-基)甲酮盐酸盐	0.030	10.00		540
ER-895725		4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基-N-((S)-吡咯烷-3-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.030	2.91		512
ER-895726		4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基-N-((R)-吡咯烷-3-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.030	1.29		512
ER-895727		N-(氮杂环丁烷-3-基)-4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酯盐	0.030	5.50		498
ER-895729		(1S,4S)-2,5-二氧杂-二氢[2,2,1]庚烷-2-基(4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-3-甲基苯基)甲酮盐酸盐	0.040	10.00		524

图11U

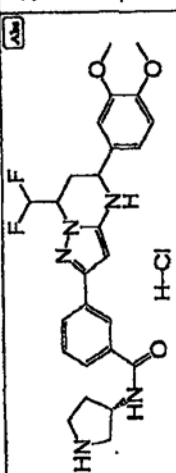
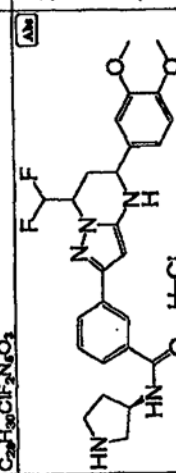
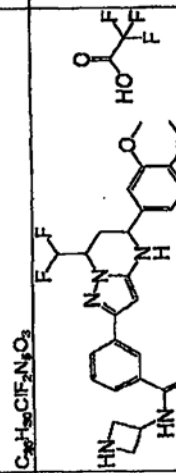
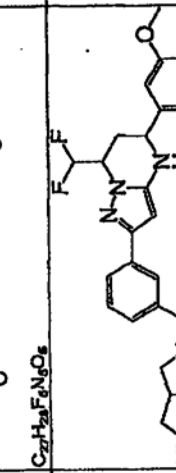
编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-895739		3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(1S)-吡咯烷-3-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.010	0.31		498
ER-895740		3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(1R)-吡咯烷-3-基)苯甲酰胺盐酸盐	0.020	1.38		498
ER-895741		N-(氮杂环丁烷-3-基)-3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐	0.070	7.95		484
ER-895744		(3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(六氟吡咯并[3,4-c]吡咯-2-(1H)-基)甲酰胺盐酸盐	0.040	0.15	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.20 - 2.44 (m, 1 H) 2.70 (br. s, 1 H) 2.83 (d, 1 H) 2.95 (br. s, 1 H) 3.03 - 3.14 (m, 1 H) 3.18 (dd, 1 H) 3.33 - 3.36 (m, 1 H) 3.41 (d, 1 H) 3.60 (d, 1 H) 3.70 - 3.81 (m, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.47 (dd, 1 H) 4.66 - 4.80 (m, 1 H) 6.63 (t, 1 H) 6.92 - 7.02 (m, 1 H) 7.02 - 7.17 (m, 3 H) 7.49 - 7.61 (m, 2 H) 7.76 - 7.89 (m, 2 H)	524.7

图11W

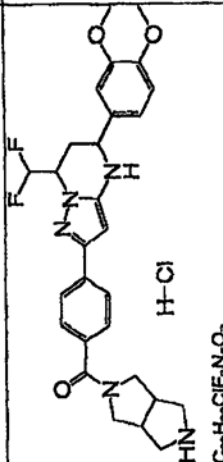
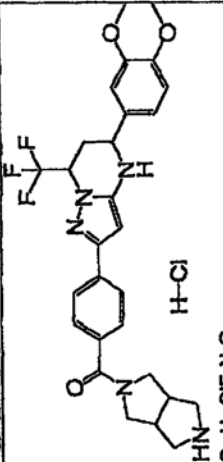
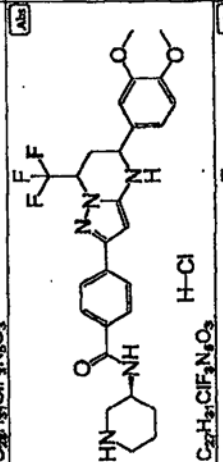
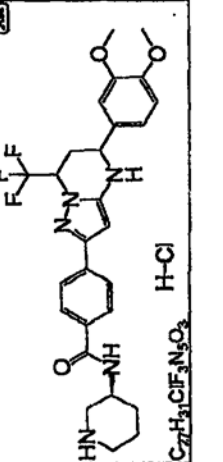
编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-895745		(4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(六氢吡啶并[3,4-c]吡咯-2(1H)-基) 甲磺酸盐	0.080	3.86		524
ER-895746		(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氧甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(六氢吡啶并[3,4-c]吡咯-2(1H)-基) 甲磺酸盐	0.020	3.51		542
ER-895748		(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氧甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(S)-吡啶-3-基) 苯甲磺酸盐	0.030	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.57 - 1.72 (m, 2 H) 1.77 - 1.88 (m, 1 H) 2.04 (d, 1 H) 2.23 (d, 1 H) 2.48 - 2.71 (m, 3 H) 3.00 (d, 1 H) 3.21 (dd, 1 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (m, 3 H) 3.98 - 4.13 (m, 1 H) 4.46 (dd, 1 H) 5.02 - 5.16 (m, 1 H) 6.91 - 7.16 (m, 4 H) 7.78 - 7.92 (m, 4 H)	530.7
ER-895749		(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氧甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(R)-吡啶-3-基) 苯甲磺酸盐	0.030	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.56 - 1.71 (m, 2 H) 1.82 (d, 1 H) 2.05 (br. s, 1 H) 2.23 (d, 1 H) 2.54 (dd, 1 H) 2.58 - 2.70 (m, 2 H) 3.00 (d, 1 H) 3.21 (dd, 1 H) 3.85 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.01 - 4.11 (m, 1 H) 4.46 (dd, 1 H) 5.03 - 5.14 (m, 1 H) 6.99 (d, 1 H) 7.06 (dd, 1 H) 7.12 (d, 2 H) 7.78 - 7.90 (m, 4 H)	530.6

图11X

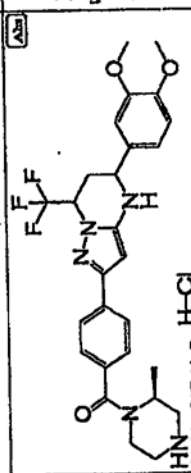
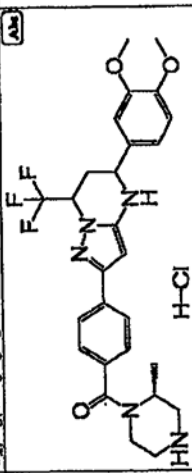
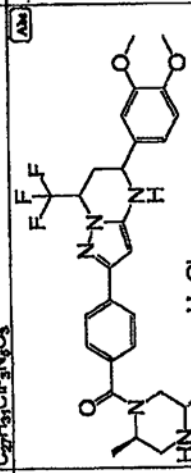
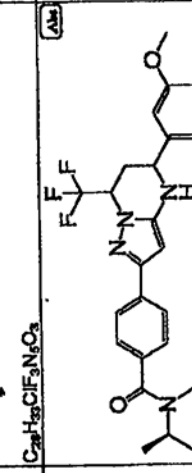
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-895750		(4-(5-(3,4,4-三甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(S)-2-甲基咪唑-1-基)甲酮盐酸盐	0.040	> 10		530
ER-895751		(4-(5-(3,4,4-三甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(R)-2-甲基咪唑-1-基)甲酮盐酸盐	0.030	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.12 - 2.31 (m, 2H) 2.54 (ddd, 2H) 2.63 - 2.78 (m, 2H) 2.78 - 2.88 (m, 2H) 2.94 (dd, 2H) 3.85 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.46 (dd, 1H) 5.09 (dt, 1H) 6.90 - 7.02 (m, 1H) 7.02 - 7.16 (m, 3H) 7.42 (d, 2H) 7.85 (d, 4H)	530.7
ER-895752		(4-(5-(3,4,4-三甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(2R,5S)-2,5-二甲基咪唑-1-基)甲酮盐酸盐	0.009	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 1.20 (m, 3H) 1.35 (d, 3H) 2.09 - 2.31 (m, 1H) 2.45 - 2.62 (m, 2H) 2.94 (m, 1H) 3.15 (br s, 1H) 3.22 (dd, 1H) 3.43 (dd, 1H) 3.85 (s, 3H) 3.87 (s, 3H) 4.46 (dd, 1H) 5.09 (dt, 1H) 6.92 - 7.02 (m, 2H) 7.02 - 7.16 (m, 2H) 7.40 (d, 2H) 7.85 (d, 2H)	544.6
ER-895753		(4-(5-(3,4,4-三甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)(2R,5R)-2,5-二甲基咪唑-1-基)甲酮盐酸盐	0.070	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 1.00 (br s, 1H) 1.09 - 1.26 (m, 4H) 1.26 - 1.42 (m, 3H) 2.23 (dt, 1H) 2.54 (ddd, 1H) 2.95 (br s, 1H) 3.20 (m, 1H) 3.24 (dd, 1H) 3.38 - 3.51 (m, 1H) 3.85 (s, 3H) 3.87 (m, 3H) 4.46 (dd, 1H) 4.98 - 5.17 (m, 1H) 6.93 - 7.02 (m, 1H) 7.02 - 7.18 (m, 3H) 7.40 (d, 2H) 7.85 (d, 2H)	544.6

图11Y

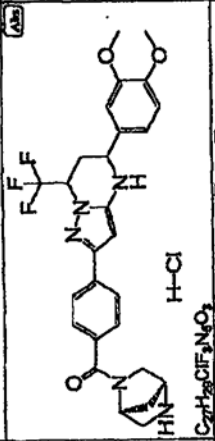
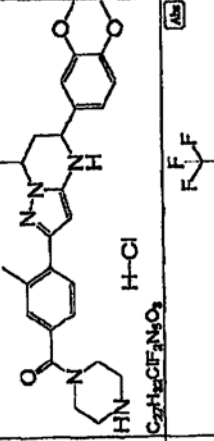
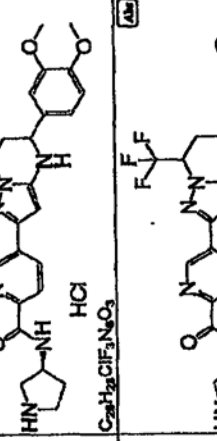
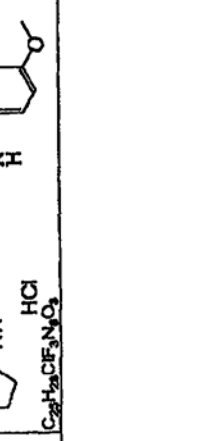
编号	结构	化学名称	HEK1 TLR7 IC50 (μ M)	HEK1 TLR9 IC50 (μ M)	^1H NMR	MS
ER-895754	 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_3$	(1S, 4S)-2,5-二氧杂二环 [2.2.1]庚烷-2-基-(4-(5- 氧甲基)-4,5,6,7-四氢吡 并[1,5-a]噻吩-2-基)苯基 甲磺酸盐	0.020	5.95		528
ER-895755	 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_3$	(4-(7-(二氧甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并 [1,5-a]噻吩-2-基)-3-甲 基苯基)(咪唑-1-基)甲磺 酸盐	0.040	10.00		512
ER-895809	 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_3$	5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氧甲基)-4,5,6,7- 四氢吡唑并[1,5-a]噻吩- 2-基)-N-(S)-吡咯烷-3- 基)吡啶羧酸盐	0.030	3.83		517.5
ER-895810	 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_3$	5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氧甲基)-4,5,6,7- 四氢吡唑并[1,5-a]噻吩-2- 基)-N-(R)-吡咯烷-3-基) 吡啶羧酸盐	0.030	2.83		517.5

图11Z

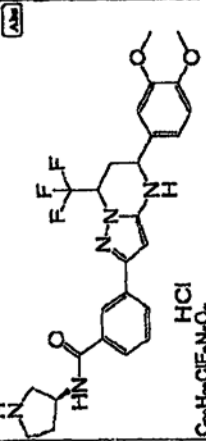
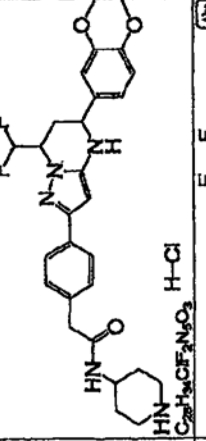
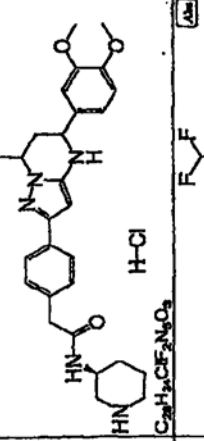
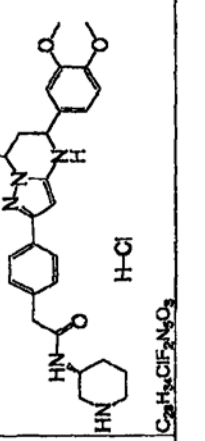
编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	1H NMR	MS
ER-895811		3-(5-(3,4-二甲氧基苄基)-7-(三氧基苄基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(S)-吡啶-3-基)苯甲酰胺盐三氟甲磺酸盐	0.040	5.31	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm: 2.04 (m, 1H), 2.12 (dd, 1H), 2.20-2.33 (m, 1H), 2.44 (m, 1H), 3.17-3.27 (m, 2H), 3.33-3.43 (m, 2H), 3.76 and 3.79 (2s, 6H), 4.46 (d, 1H), 4.53 (m, 1H), 5.27-5.28 (m, 1H), 5.84 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.96-7.01 (m, 2H), 7.08 (s, 1H), 7.49 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.89 (d, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.81 (s, 1H).	516.5
ER-896059		2-(4-(7-(二氧基苄基)-5-(3,4-二甲氧基苄基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苄基)-N-(吡啶-4-基)乙酰胺盐	0.090	0.19		526
ER-896060		2-(4-(7-(二氧基苄基)-5-(3,4-二甲氧基苄基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苄基)-N-(S)-吡啶-3-基)乙酰胺盐	0.030	10.00		526
ER-896061		2-(4-(7-(二氧基苄基)-5-(3,4-二甲氧基苄基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苄基)-N-(R)-吡啶-3-基)乙酰胺盐	0.030	9.41		526

图 11AA

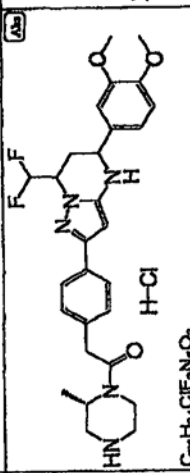
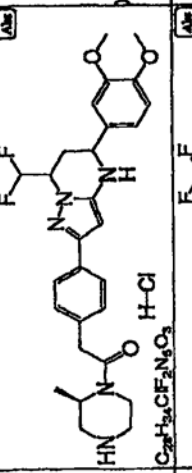
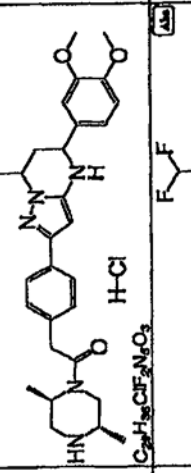
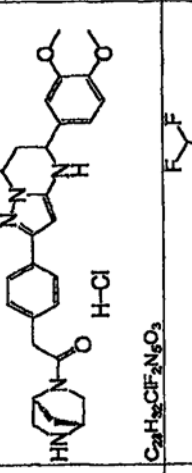
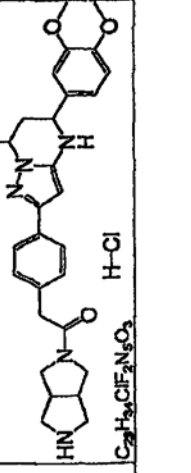
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-896062		2-(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-1-(1-(S)-2-甲基咪唑-1-基)乙酮盐酸盐	0.030	8.93		526
ER-896063		2-(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-1-(1-(R)-2-甲基咪唑-1-基)乙酮盐酸盐	0.070	9.62		526
ER-896064		2-(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-1-(1-(2R,5S)-2,5-二甲基咪唑-1-基)乙酮盐酸盐	0.060	6.95		540
ER-896067		1-(1S,4S)-2,5-二氟杂二环[2.2.1]庚烷-2-基)-2-(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)乙酮盐酸盐	0.040	9.54		524
ER-896068		2-(4-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-1-(1-(六氢吡咯并[3,4-c]吡啶-2(1H)-基)乙酮盐酸盐	0.040	7.80		538

图11BB

编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-896071		N-(叔杂环丁烷-3-基甲基)-3-(7-(二氟甲基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐	0.090	10.00		498
ER-896072		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(3-(咪唑-1-基甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐	0.090	> 10		
ER-896073		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4-((4-甲基咪唑-1-基)甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐	0.050	8.64		
ER-896133		(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐) 甲酮二盐酸盐	0.020	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm: 2.25 (dd, 1H), 2.53-2.59 (m, 1H), 3.35 (m, 4H), 3.85 and 3.88 (2s, 6H), 3.91-4.03 (m, 4H), 4.49 (dd, 1H), 5.11-5.17 (m, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.06 (dd, 1H), 7.11 (d, 1H), 7.81 (d, 1H), 8.33 (dd, 1H), 9.01 (s, 1H).	517.5
ER-896134		5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-2-苯甲酰胺2,2,2-三氟乙酸盐) 吡啶二盐酸盐	0.020	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm: 1.57-1.63 (m, 2H), 1.89-2.03 (m, 2H), 2.23 (dd, 1H), 2.56-2.58 (m, 1H), 2.74 (t, 2H), 3.12 (d, 2H), 3.85 and 3.88 (2s, 6H), 4.03-4.07 (m, 1H), 4.48 (d, 1H), 5.10-5.16 (m, 1H), 6.00 (s, 1H), 7.00 (d, 1H), 7.06 (dd, 1H), 7.11 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 9.03 (s, 1H).	531.5

图11CC

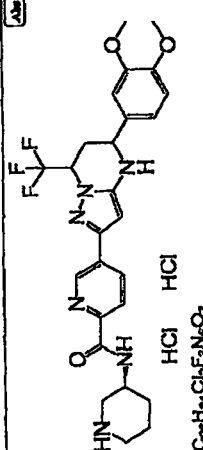
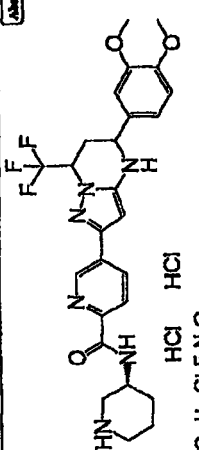
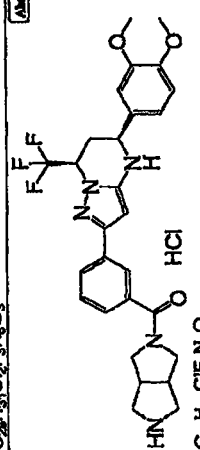
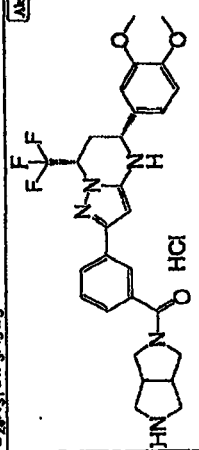
编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-896135		5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(S)-咪唑-3-基)吡啶酰胺二盐酸盐	0.030	7.94	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm: 1.84-1.89 (m, 2H), 2.06-2.10 (m, 2H), 2.24 (dd, 1H), 2.52-2.57 (m, 1H), 3.01-3.13 (m, 2H), 3.34-3.50 (m, 2H), 3.85 and 3.87 (2s, 6H), 4.30 (m, 1H), 4.48 (d, 1H), 5.10-5.16 (m, 1H), 5.84 (s, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.06 (dd, 1H), 7.11 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 9.03 (s, 1H).	531.5
ER-896136		5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(R)-咪唑-3-基)吡啶酰胺二盐酸盐	0.030	6.38	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm: 1.84-1.89 (m, 2H), 2.06-2.10 (m, 2H), 2.24 (dd, 1H), 2.52-2.57 (m, 1H), 3.01-3.14 (m, 2H), 3.34-3.52 (m, 2H), 3.85 and 3.88 (2s, 6H), 4.28-4.31 (m, 1H), 4.48 (d, 1H), 5.10-5.15 (m, 1H), 5.96 (s, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.06 (dd, 1H), 7.11 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 8.27 (d, 1H), 9.03 (s, 1H).	531.5
ER-896386		(3-((5S,7R)-5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-6-氧杂螺[3.4]吡咯-2(1H)-基)甲酰胺二盐酸盐	0.030	0.36	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 1.23-1.28 (m, 2H), 2.07-2.16 (dd, 1H), 2.42-2.46 (m, 1H), 3.00-4.00 (m, 8H), 3.76 and 3.79 (2s, 6H), 4.45 (dd, 1H), 5.24-5.30 (m, 1H), 5.81 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.96-7.01 (m, 2H), 7.07 (d, 1H), 7.41-7.47 (m, 2H), 7.79-7.82 (m, 2H).	542.4
ER-896387		(3-((5R,7S)-5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基)-6-氧杂螺[3.4]吡咯-2(1H)-基)甲酰胺二盐酸盐	0.060	0.39	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 1.23-1.28 (m, 2H), 2.07-2.16 (dd, 1H), 2.42-2.46 (m, 1H), 3.00-4.00 (m, 8H), 3.76 and 3.79 (2s, 6H), 4.45 (dd, 1H), 5.24-5.30 (m, 1H), 5.81 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.96-7.01 (m, 2H), 7.07 (d, 1H), 7.41-7.47 (m, 2H), 7.79-7.82 (m, 2H).	542.4

图11DD

编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-896388		(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)甲酰胺盐酸盐	0.030	> 10		515.2
ER-896389		(3R,5S)-3-氟基-5-甲基喹啉-1-基(3-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)苯基)甲酰胺盐酸盐	0.090	13.37		544.4
ER-896452		(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)甲酰胺盐酸盐	0.185	10.00	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 2.10 (dd, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 3.15-3.23 (m, 4H), 3.67-3.86 (m, 2H), 3.76 and 3.78 (2s, 6H), 4.12-4.26 (m, 2H), 4.45 (d, 1H), 5.26-5.33 (m, 1H), 5.66 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.05 (s, 1H), 9.13 (br, 2H).	440.3
ER-896453		5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(S)-喹啉-3-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-甲酰胺	0.224	10.00	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 1.62-1.71 (m, 2H), 1.84-1.87 (m, 2H), 2.11 (dd, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 2.89-2.91 (m, 1H), 3.17-3.22 (m, 2H), 3.75 and 3.76 (2s, 6H), 4.14-4.16 (m, 1H), 4.40 (dd, 1H), 5.29 (m, 1H), 5.74 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.97 (s, 2H), 7.05 (s, 1H), 7.86 (t, 1H), 8.84 (br, 1H), 9.05 (br, 2H).	454.3

图11EE

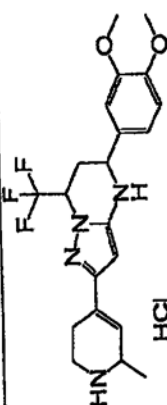
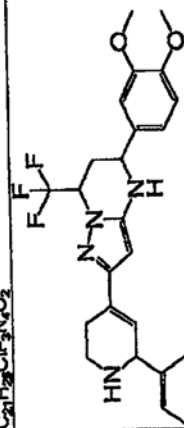
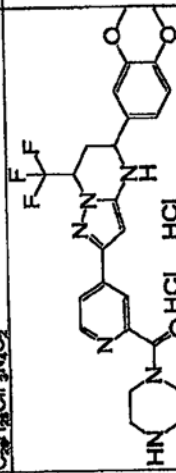
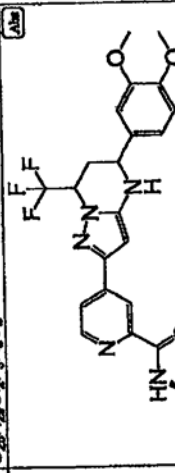
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR8 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-896993		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(6-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶盐酸盐	0.065	10.00		
ER-896997		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(6-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶盐酸盐	0.130	7.60		
ER-897034		(4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-(咪唑-1-基)甲酮二盐酸盐	0.110	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm: 2.25 (dd, 1H), 2.53-2.58 (m, 1H), 3.37 (m, 4H), 3.85 and 3.87 (2s, 6H), 3.80-4.20 (m, 4H), 4.49 (dd, 1H), 5.14-5.20 (m, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 7.10 (s, 1H), 8.02 (d, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.66 (d, 1H).	517.4
ER-897036		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-((S)-咪唑-3-基)吡啶酰胺二盐酸盐	0.010	5.06	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm: 1.83-1.90 (m, 2H), 2.09-2.12 (m, 2H), 2.25 (dd, 1H), 2.53-2.59 (m, 1H), 3.01-3.12 (m, 2H), 3.30-3.54 (m, 2H), 3.85 and 3.88 (2s, 6H), 4.31-4.38 (m, 1H), 4.50 (d, 1H), 5.14-5.20 (m, 1H), 6.99 (d, 1H), 7.08 (dd, 1H), 7.11 (d, 1H), 8.05 (d, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.67 (d, 1H).	531.4

图11FF

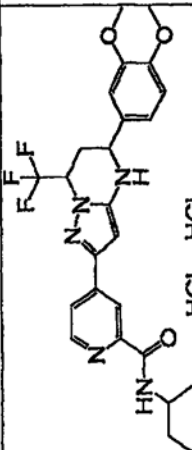
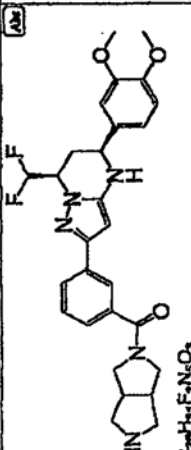
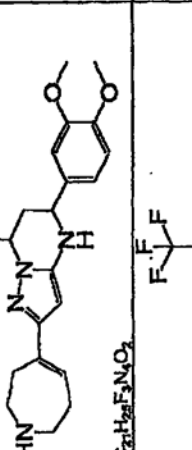
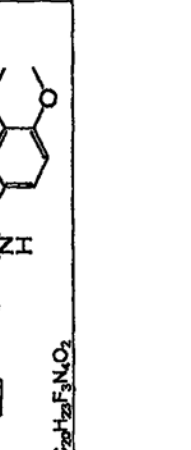
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-897037		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3-氧基苯基)-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)-N-(吡啶-4-基)吡啶酮 胺二盐酸盐	0.010	6.17	¹ H NMR (400 MHz, -d4) δ ppm: 1.90-2.00 (m, 2H), 2.21-2.30 (m, 3H), 2.53-2.59 (m, 1H), 3.13-3.21 (m, 2H), 3.49-3.52 (m, 2H), 3.85 and 3.87 (2s, 6H), 4.21-4.27 (m, 1H), 4.50 (d, 1H), 5.19-5.21 (m, 1H), 8.99 (d, 1H), 7.06 (dd, 1H), 7.11 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.67 (d, 1H).	531.5
ER-897077		(3-(5S,7R)-7-(二氧基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)苯基(六氢吡啶并[3,4-c]吡咯-2(1H)-基)甲酮	0.090	> 10		
ER-897090		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2,3,6,7-四氧-1H-杂环庚三烯-4-基)-7-(3-氧基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.030	10.00	可得到的各个异构体的NMR	423.06
ER-897097		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1,2,3,6)-四氢吡啶-4-基)-7-(3-氧基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.058	10.00	可得到的各个异构体的NMR	409.08

图116G

编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-897105		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1-(咪唑-4-基)-1H-吡唑-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉	0.010	3.25	可得到的各个异构体的NMR	477.08
ER-897130		2-(2,5-二氢-1H-吡咯-3-基)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉	0.059	10.00	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.08 - 2.26 (m, 1 H) 2.50 (ddd, 1 H) 3.76 - 3.91 (m, 8 H) 4.00 (d, 2 H) 4.36 - 4.44 (m, 1 H) 4.94 - 5.05 (m, 1 H) 5.51 (s, 1 H) 6.16 (t, 1 H) 6.90 - 7.14 (m, 3 H).	395.03
ER-897142		4-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)环己-3-醇胺	0.009	10.00	可得到的各个异构体的NMR	423.06
ER-897178		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-异丙基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉盐酸盐	0.050	6.87		
ER-897212		(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2,3,6,7-四氢-1H-咪唑并[4,5-b]吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉	0.030	6.29	(400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.57 - 1.81 (m, 2 H) 2.07 - 2.19 (m, 1 H) 2.43 (ddd, 1 H) 2.71 - 2.80 (m, 2 H) 2.99 - 3.09 (m, 2 H) 3.40 (d, 2 H) 3.77 - 3.84 (m, 6 H) 4.26 - 4.38 (m, 1 H) 4.87 - 4.96 (m, 1 H) 5.50 (s, 1 H) 6.29 (t, 1 H) 6.86 - 7.08 (m, 3 H).	423.44

图11HH

编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	1H NMR	MS
ER-897214		(5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1-哌啶-4-基)-1H-吡唑-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.009	6.21	¹ H-NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 1.83-2.01 (m, 2 H) 2.05-2.29 (m, 3 H) 2.46-2.58 (m, 1 H) 2.67-2.82 (m, 2 H) 3.17 (d, 2 H) 3.82-3.95 (m, 6 H) 4.21-4.35 (m, 1 H) 4.36-4.50 (m, 1 H) 4.96-5.10 (m, 1 H) 5.59-5.71 (m, 1 H) 6.89-7.19 (m, 3 H) 7.70-7.85 (m, 1 H) 7.93-8.07 (m, 1 H).	477.44
ER-897215		(5R, 7S)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1-哌啶-4-基)-1H-吡唑-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.060	3.50	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 1.82-2.01 (m, 2 H) 2.03-2.29 (m, 3 H) 2.40-2.58 (m, 1 H) 2.67-2.83 (m, 2 H) 3.17 (d, 2 H) 3.84 (s, 3 H) 3.86 (s, 3 H) 4.29 (ddd, 1 H) 4.41 (d, 1 H) 4.94-5.09 (m, 1 H) 5.60-5.68 (m, 1 H) 6.80-7.15 (m, 3 H) 7.70-7.81 (m, 1 H) 7.93-8.03 (m, 1 H)	477.44
ER-897268		(5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.030	> 10	¹ H-NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 2.04-2.20 (m, 1 H) 2.37-2.49 (m, 3 H) 2.89-3.02 (m, 2 H) 3.31 (s, 1 H) 3.35-3.43 (m, 2 H) 3.76-3.90 (m, 8 H) 4.26-4.38 (m, 1 H) 4.88-4.97 (m, 1 H) 5.50 (s, 1 H) 6.15 (br. s., 1 H) 6.86-7.11 (m, 1 H)	408.38
ER-897364		4-((5S, 7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶-2-基)环己-3-烯胺	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 1.29 (br. s., 1 H) 1.49-1.86 (m, 1 H) 1.92-2.08 (m, 2 H) 2.33-2.53 (m, 3 H) 2.62 (d, 1 H) 3.04 (br. s., 1 H) 3.82-3.88 (m, 8 H) 4.37 (d, 1 H) 4.82-5.00 (m, 1 H) 5.53 (d, 1 H) 6.13 (br. s., 1 H) 6.90-7.12 (m, 3 H).	424.44

图 11II

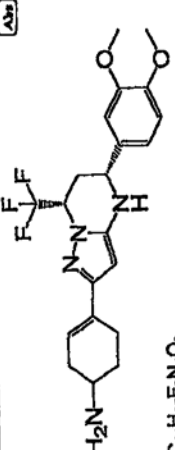
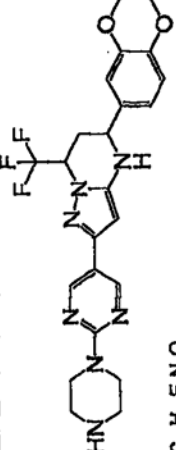
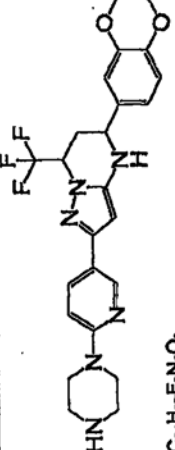
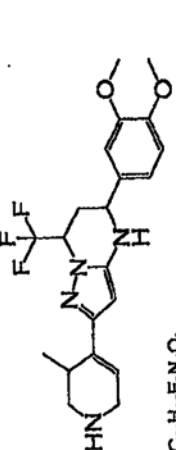
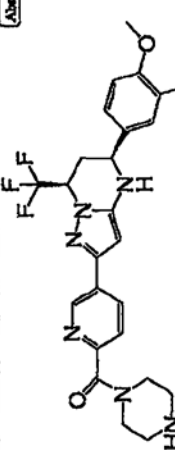
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-897365		4-(5R,7S)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(3-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)环己-3-烯胺	0.040	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.29 (br. s., 1 H) 1.48-1.84 (m, 1 H) 1.90-2.05 (m, 2 H) 2.33-2.53 (m, 3 H) 2.61 (d, 1 H) 3.02 (d, 1 H) 3.84 (d, 6 H) 4.36 (d, 1 H) 4.92-5.00 (m, 1 H) 5.49-5.56 (m, 1 H) 6.13 (br. s., 1 H) 6.92-7.12 (m, 3 H).	424.44
ER-897381		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-(6-(咪唑-1-基)吡啶-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶)环己-3-烯胺	0.030	4.73	可得到的各个异构体的NMR	490.07
ER-897405		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-(6-(咪唑-1-基)吡啶-3-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶)环己-3-烯胺	0.050	2.02	可得到的各个异构体的NMR	489.04
ER-897547		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-(3-甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-4-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶)环己-3-烯胺	0.070	8.78	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.12-1.21 (m, 3 H) 2.08-2.27 (m, 1 H) 2.42-2.55 (m, 1 H) 2.68-2.86 (m, 2 H) 3.01 (dt, 1 H) 3.35-3.43 (m, 2 H) 3.84 (s, 3 H) 3.86 (s, 3 H) 4.39 (d, 1 H) 4.98 (dd, 1 H) 5.46-5.53 (m, 1 H) 6.04-6.15 (m, 1 H) 6.91-7.15 (m, 3 H).	423.1
ER-897560		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-(5-(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡啶并[1,5-a]嘧啶-2-基)甲酰胺二盐酸盐)环己-3-烯胺	0.050	> 10	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.25 (1 H) 2.32 (1 H) 2.56 (1 H) 3.38 (4 H) 3.66 (1 H) 3.86 (6 H) 3.99 (4 H) 4.50 (1 H) 5.15 (1 H) 7.05 (4 H) 7.85 (1 H) 8.40 (1 H) 9.04 (1 H)	518.52

图11JJ

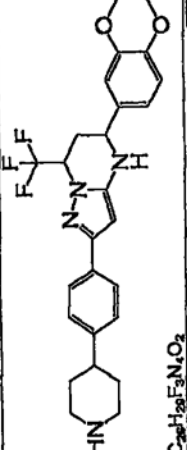
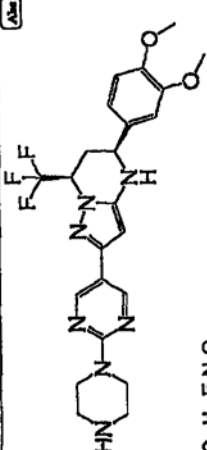
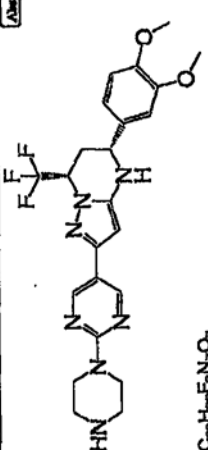
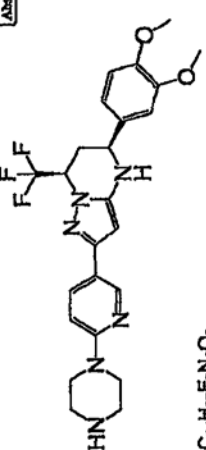
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-897597		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(4-(吡啶-4-基)苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.020	2.07	可得到的各个异构体的NMR	486.95
ER-897714		(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-(咪唑-1-基)嘧啶-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.020	2.20	¹ H-NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.13 - 2.29 (m, 1 H) 2.52 (ddd, 1 H) 2.82 - 2.95 (m, 4 H) 3.76 - 3.94 (m, 10 H) 4.37 - 4.48 (m, 1 H) 4.98 - 5.12 (m, 1 H) 5.74 (s, 1 H) 6.91 - 7.18 (m, 3 H) 8.56 - 8.73 (m, 2 H)	490.22
ER-897715		(5R,7S)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(2-(咪唑-1-基)嘧啶-5-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.070	2.41	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.15 - 2.28 (m, 1 H) 2.44 - 2.59 (m, 1 H) 2.81 - 2.98 (m, 4 H) 3.74 - 4.06 (m, 10 H) 4.36 - 4.50 (m, 1 H) 5.05 (dt, 1 H) 5.74 (s, 1 H) 6.91 - 7.28 (m, 3 H) 8.65 (s, 2 H)	490.26
ER-897716		(5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(6-(咪唑-1-基)吡啶-3-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]嘧啶	0.008	4.47	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.14 - 2.30 (m, 1 H) 2.52 (ddd, 1 H) 2.88 - 3.02 (m, 4 H) 3.50 - 3.59 (m, 4 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.35 - 4.51 (m, 1 H) 4.95 - 5.13 (m, 1 H) 5.74 (s, 1 H) 6.85 (d, 1 H) 6.94 - 7.17 (m, 3 H) 7.92 (dd, 1 H) 8.45 (d, 1 H)	489.25

图11KK

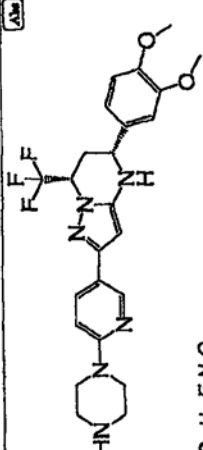
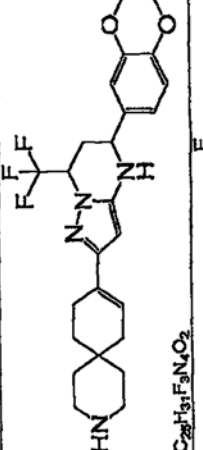
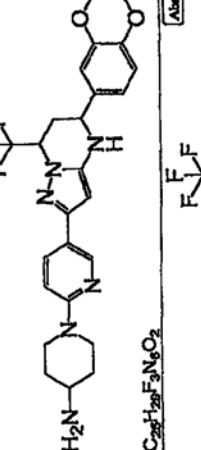
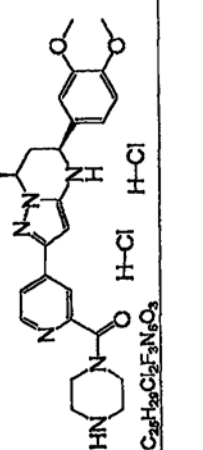
编号	结构	化学名称	HEK/TLR7 IC50 (μM)	HEK/TLR9 IC50 (μM)	¹ H NMR	MS
ER-897717		(5R,7S)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(6-(吗啉-1-基)吡啶-3-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉	0.070	0.87	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 2.14-2.30 (m, 1 H) 2.52 (ddd, 1 H) 2.90-3.02 (m, 4 H) 3.49-3.61 (m, 4 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.38-4.48 (m, 1 H) 4.97-5.11 (m, 1 H) 5.74 (s, 1 H) 6.86 (d, 1 H) 6.95-7.17 (m, 3 H) 7.93 (dd, 1 H) 8.45 (d, 1 H).	489.29
ER-897728		5-(3,4-二甲氧基苯基)-2-(3-氟杂螺[5.5]十一烯-9-基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉	0.010	5.46	可得到的各个异构体的NMR	477.13
ER-897765		1-(5-(5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)吡啶-2-基)哌啶-4-胺	0.080	2.13	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.45 (qd, 2 H) 1.96 (d, 2 H) 2.14-2.30 (m, 1 H) 2.52 (ddd, 1 H) 2.86-3.10 (m, 3 H) 3.82-3.95 (m, 7 H) 4.29-4.47 (m, 3 H) 4.99-5.09 (m, 1 H) 5.73 (s, 1 H) 6.82-7.14 (m, 4 H) 7.90 (dd, 1 H) 8.43 (d, 1 H).	503.04
ER-897777		(4-((5S,7R)-5-(3,4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4,5,6,7-四氢吡唑并[1,5-a]喹啉-2-基)吡啶-2-基)(哌啶-1-基)甲酰胺二盐酸盐	0.100	10.00		

图11LL

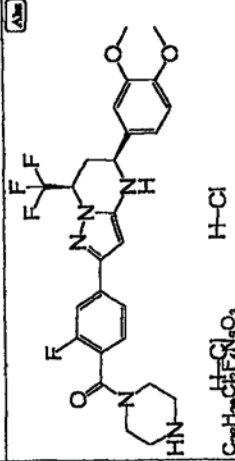
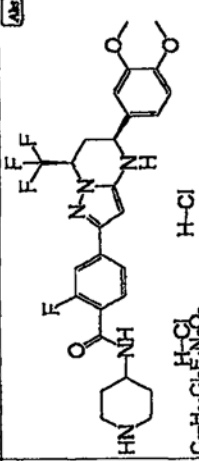
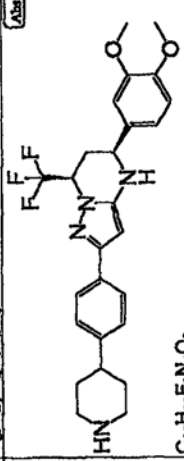
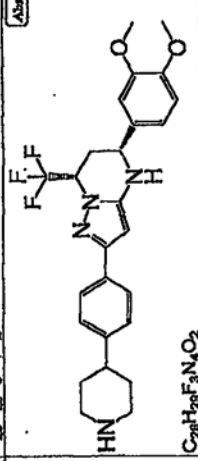
编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μM)	HEK/ TLR9 IC50 (μM)	^1H NMR	MS
ER-897789		(4-((5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶-2-基)-2-氟苯基)(咪唑-1-基)甲酮二盐酸盐	0.050	10.00		
ER-897791		(4-((5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶-2-基)-2-氟-N-(咪唑-4-基)苯甲酰胺二盐酸盐	0.040	5.99		
ER-897814		(5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(4-(咪唑-4-基)苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.030	1.37	^1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.61 - 1.79 (m, 2 H) 1.81 - 1.95 (m, 2 H) 2.13 - 2.31 (m, 1 H) 2.53 (ddd, 1 H) 2.64 - 2.85 (m, 3 H) 3.18 (d, 2 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.38 - 4.49 (m, 1 H) 5.00 - 5.11 (m, 1 H) 5.76 - 5.82 (m, 1 H) 6.94 - 7.14 (m, 3 H) 7.23 - 7.30 (m, 2 H) 7.63 - 7.72 (m, 2 H).	
ER-897815		(5R, 7S)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(4-(咪唑-4-基)苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑并[1, 5-a]嘧啶	0.100	2.00	^1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 1.63 - 1.77 (m, 2 H) 1.79 - 1.94 (m, 2 H) 2.09 - 2.31 (m, 1 H) 2.53 (ddd, 1 H) 2.63 - 2.84 (m, 3 H) 3.17 (d, 2 H) 3.84 (s, 3 H) 3.87 (s, 3 H) 4.38 - 4.49 (m, 1 H) 4.99 - 5.12 (m, 1 H) 5.79 (s, 1 H) 6.94 - 7.14 (m, 3 H) 7.26 (d, 2 H) 7.64 - 7.71 (m, 2 H).	

图11MM

编号	结构	化学名称	HEK/ TLR7 IC50 (μ M)	HEK/ TLR9 IC50 (μ M)	¹ H NMR	MS
ER-697851		(5S, 7R)-5-(3, 4-二甲氧基苯基)-2-(3-氟杂螺[5.5]十一-8-烯-9-基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡嗪并[1, 5-a]喹啉	0.041	8.63	¹ H NMR (400 MHz, 甲醇-d ₄) δ ppm 1.36-1.48 (m, 4 H) 1.52-1.65 (m, 2 H) 1.97-2.20 (m, 3 H) 2.27-2.51 (m, 3 H) 2.68-2.89 (m, 4 H) 3.74-3.84 (m, 9 H) 4.24-4.37 (m, 1 H) 4.90 (dd, 1 H) 5.44-5.50 (m, 1 H) 6.02-6.14 (m, 1 H) 6.86-7.09 (m, 3 H).	477.3

图 11NN

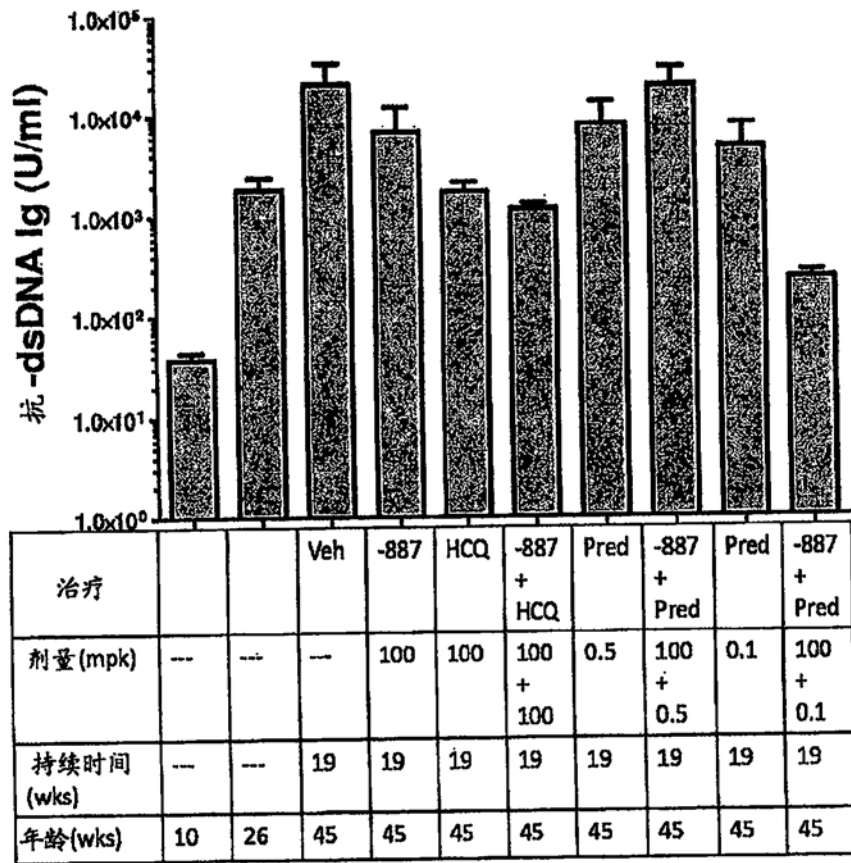


图12A

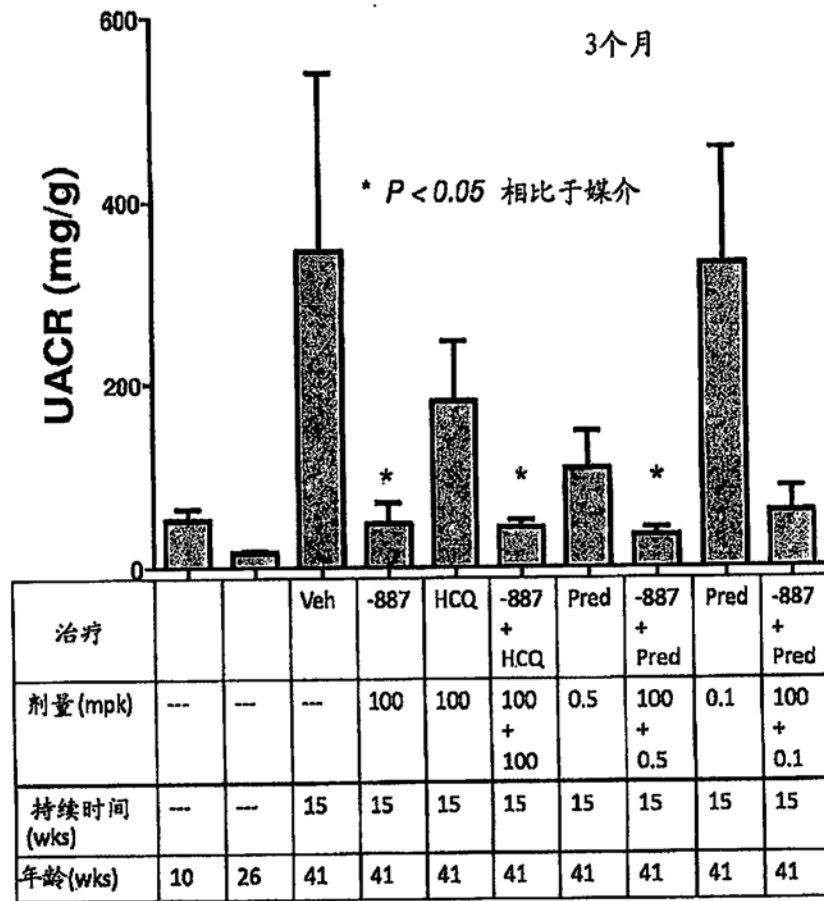


图12B

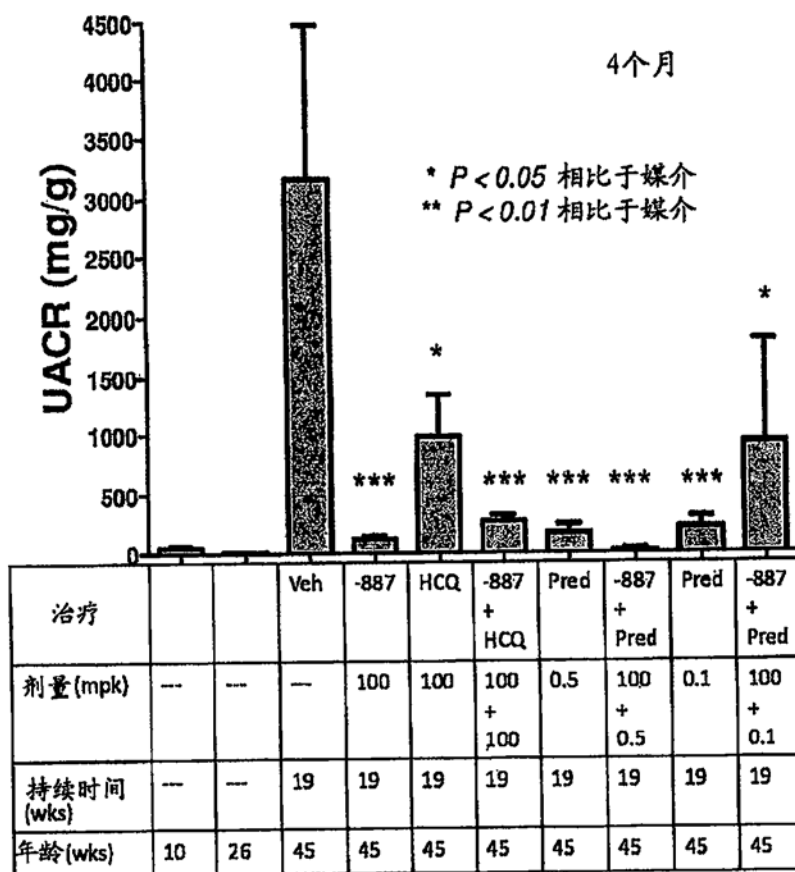


图12C

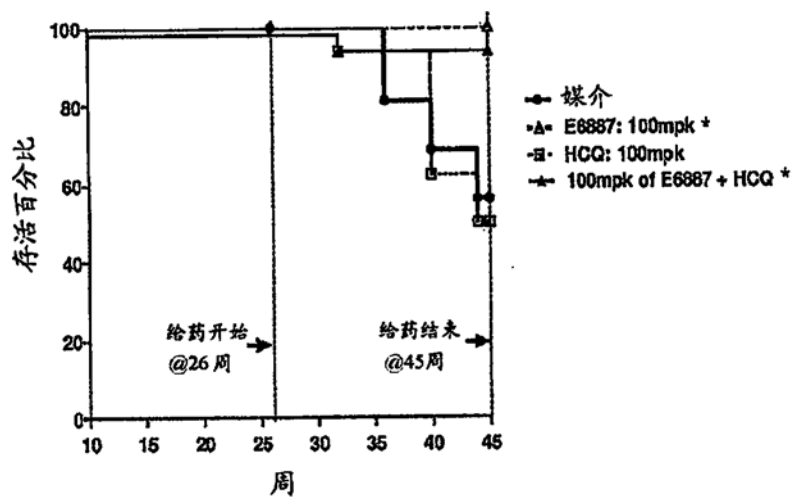


图12D

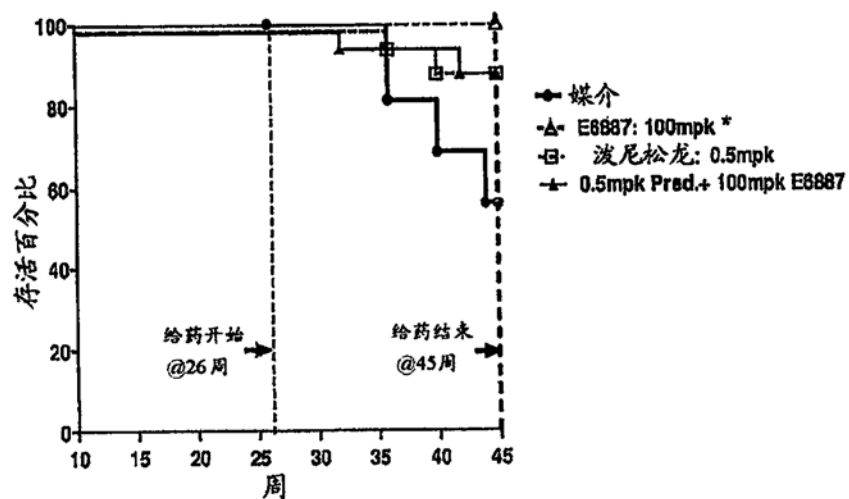


图12E

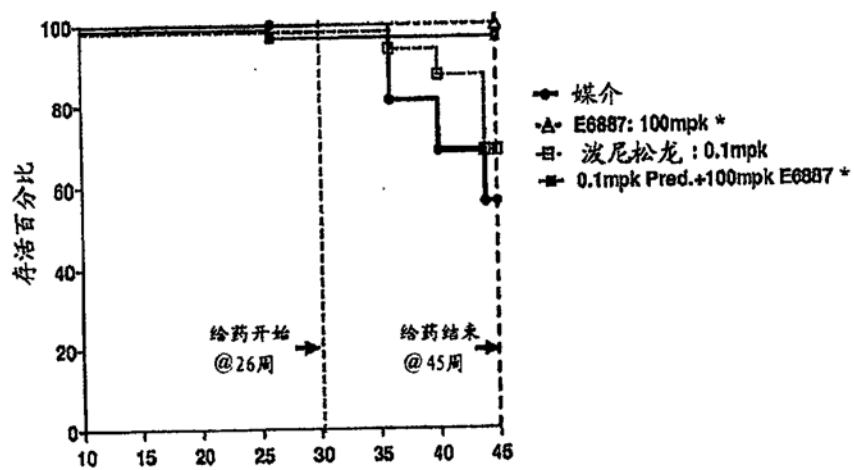


图12F

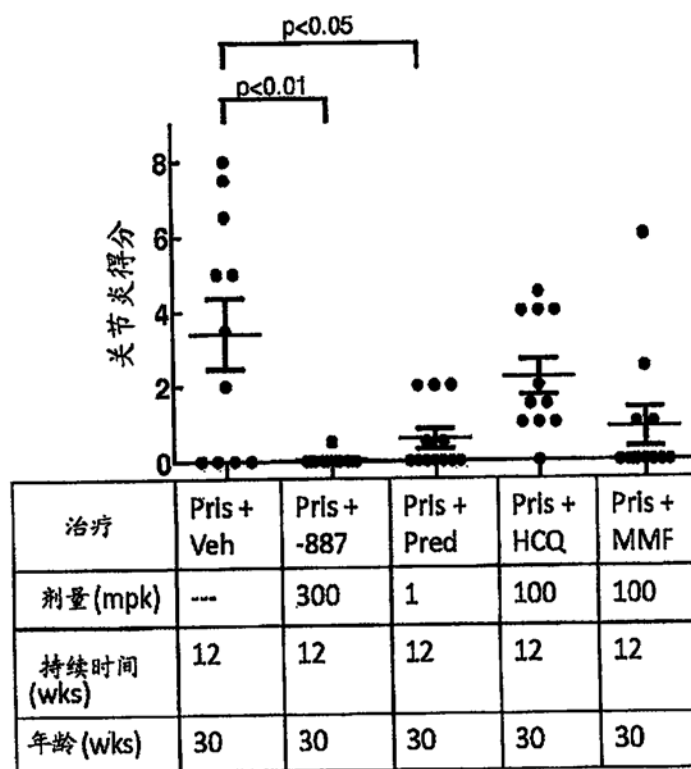


图13A

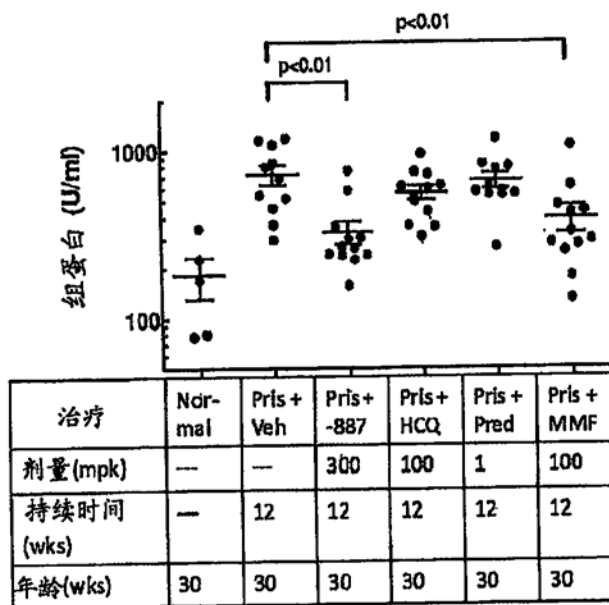
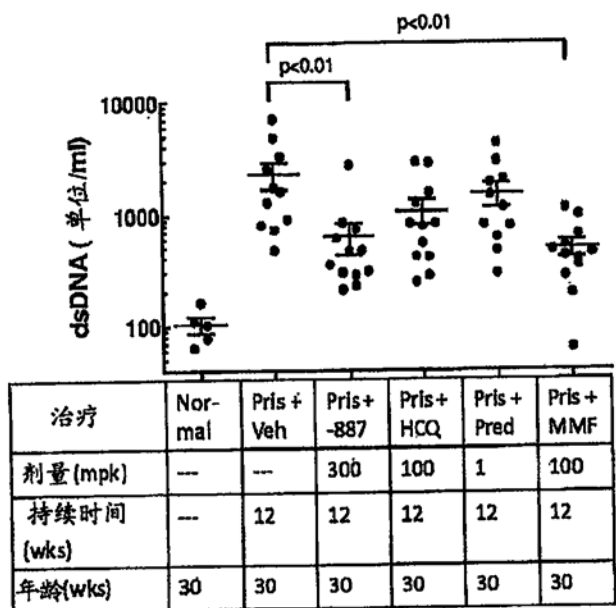


图13B

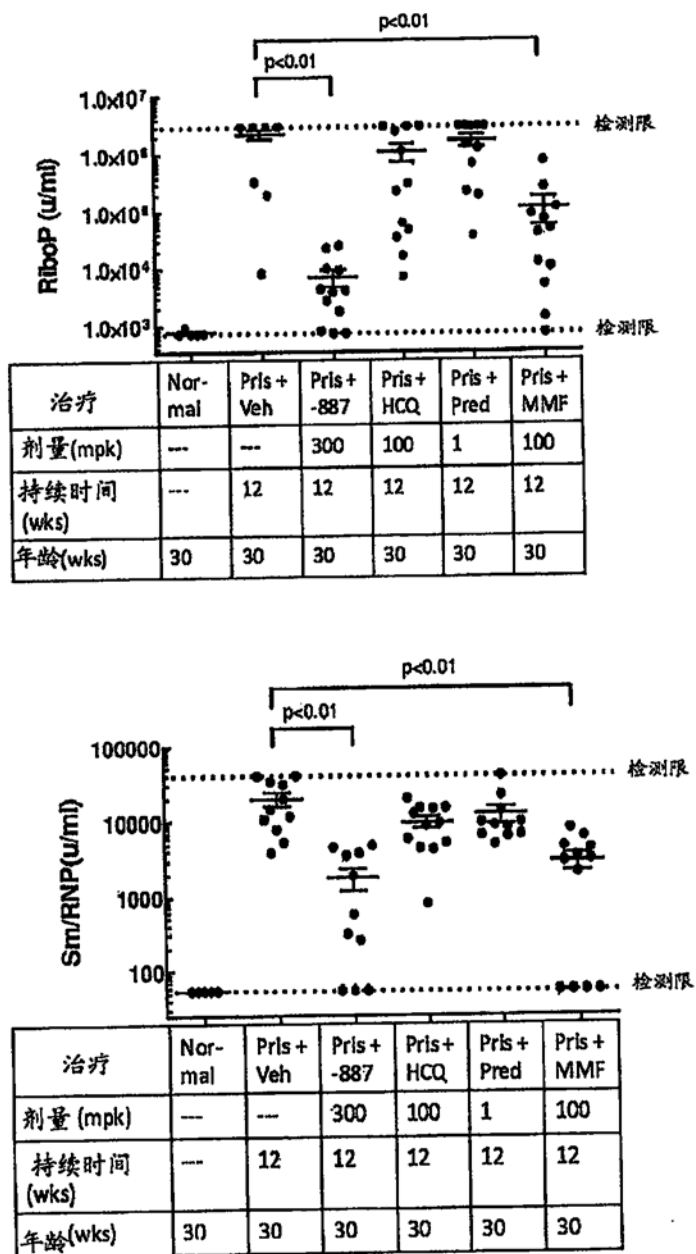


图13B(续)

基因 #:	基因名称
1	Ccl2
2	Ifit1*
3	Ifit3
4	Ifi44*
5	Oasl2*
6	Isg15
7	Mmp8
8	Fcgr1*
9	Ifi27/2a*
10	Oas3*
11	Usp18*
12	C1qa*
13	Irf7
14	Ddx60*
15	Cmpk2*
16	Xaf1
17	Fpr1
18	Ifi204*
19	Cxcl10
20	Siglec1*
21	Mx1*
22	Herc6*
23	Ms4a8c
24	Ifi202b
25	Il6
26	Cd40
27	Prf1
28	Cd38
29	Irf5
30	Lta
31	Il6ra
32	Trex1

图13C

33	Ccl5
在姥蛟烷+媒介 vs 未诱导的PBS对照之间显著上调的三十三基因 (33) ($p < 0.05$, 至少1.5倍变化)	
* 通过ER-892887显著降低 vs. 媒介治疗的姥蛟烷诱导的小鼠 (14个基因) ($p < 0.05$, 至少1.5倍变化)	

图13C (续)

通过姥蛟烷调节的基因的IFN得分

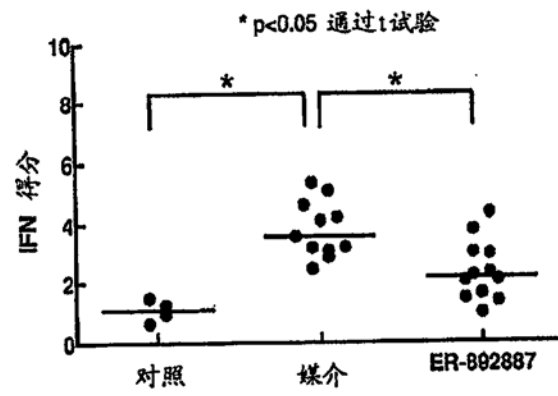


图13D

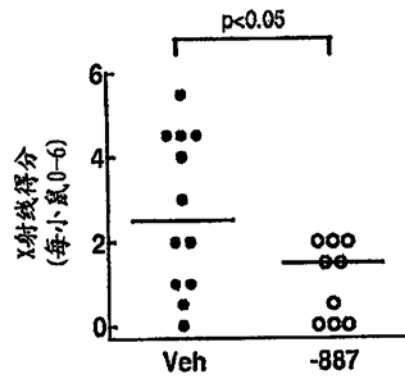
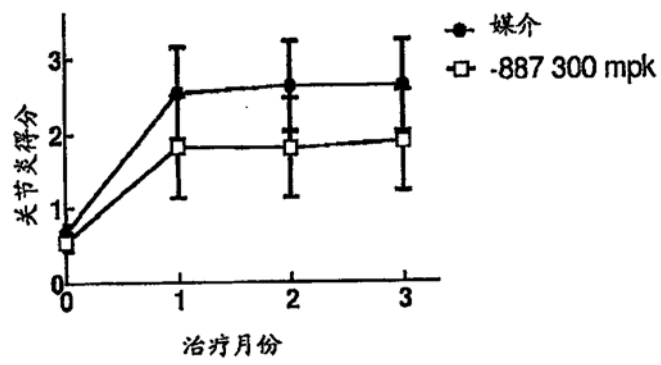


图14A

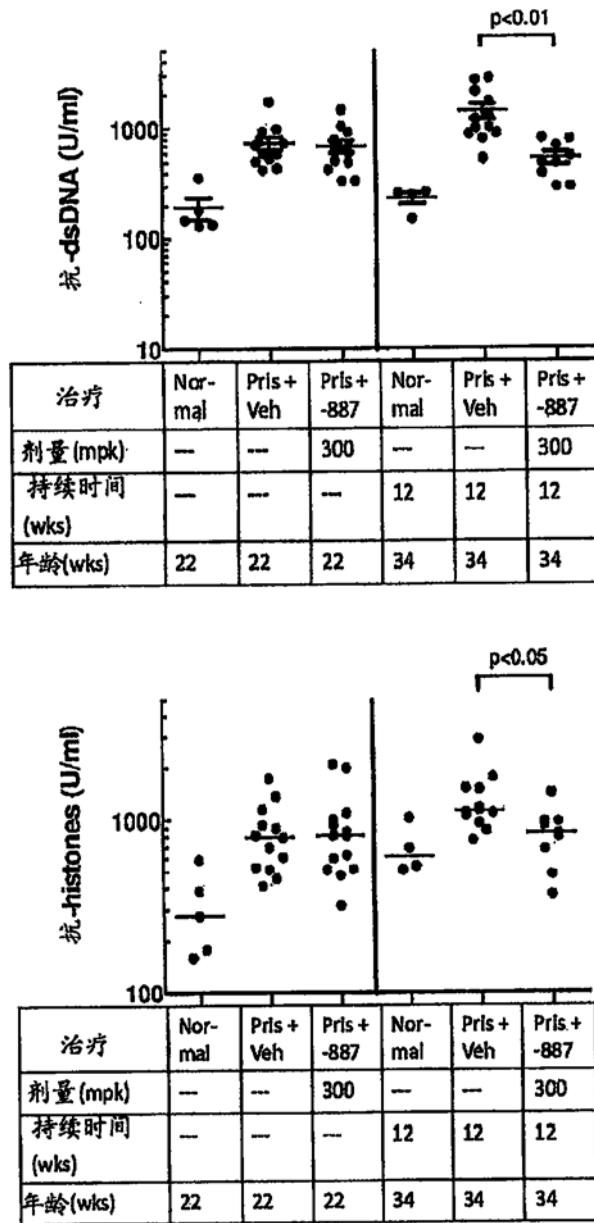


图14B

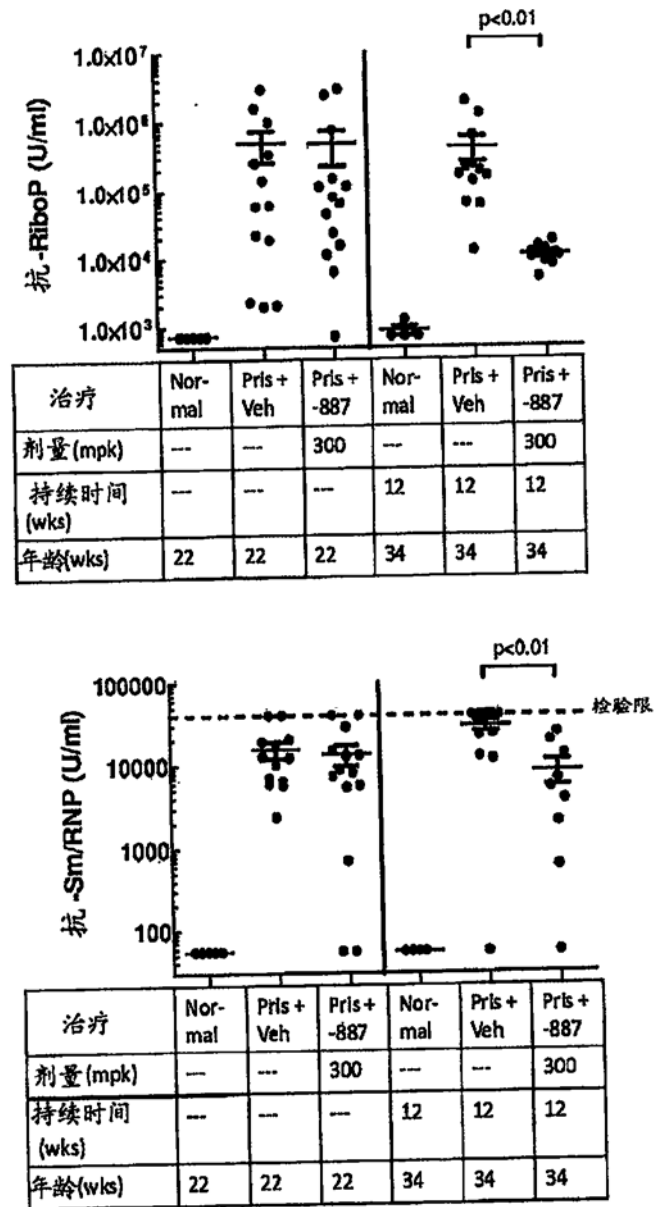


图14B (续)