



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104039790 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 13

(21) 申请号 201280064734. 5

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 10. 26

C07D 473/16(2006. 01)

(30) 优先权数据

C07D 519/00(2006. 01)

61/552, 746 2011. 10. 28 US

A61K 31/5355(2006. 01)

A61K 31/553(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 25/00(2006. 01)

2014. 06. 26

(56) 对比文件

(86) PCT国际申请的申请数据

WO 2010114494 A1, 2010. 10. 07,

PCT/IB2012/055929 2012. 10. 26

WO 2009146406 A1, 2009. 12. 03,

(87) PCT国际申请的公布数据

WO 2009053716 A1, 2009. 04. 30,

W02013/061305 EN 2013. 05. 02

审查员 韩涛

(73) 专利权人 诺华股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 E·布里亚尔 P·菲雷 A·莱奇纳

P·迈尔 B·拉德蒂奇

D·A·桑达姆 Y·朱

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 宋卫霞 黄革生

权利要求书6页 说明书50页

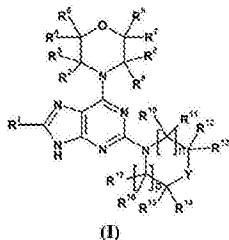
序列表4页

(54) 发明名称

嘌呤衍生物及它们在治疗疾病中的应用

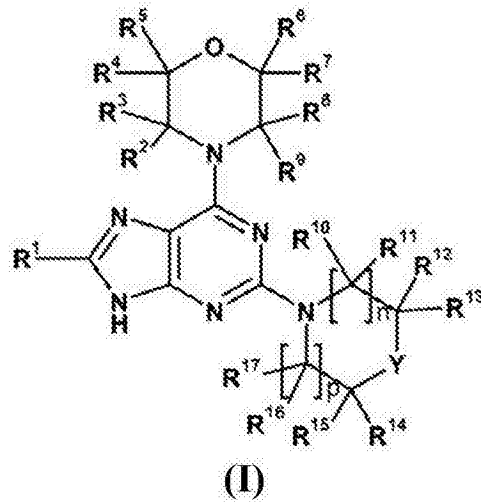
(57) 摘要

本发明涉及式 (I) 的 PI3K 抑制剂, 其中所有变量如说明书中所定义, 涉及它们的制备、它们的医药应用、特别是它们在治疗癌症和神经变性疾病中的应用、及包含它们的药物。

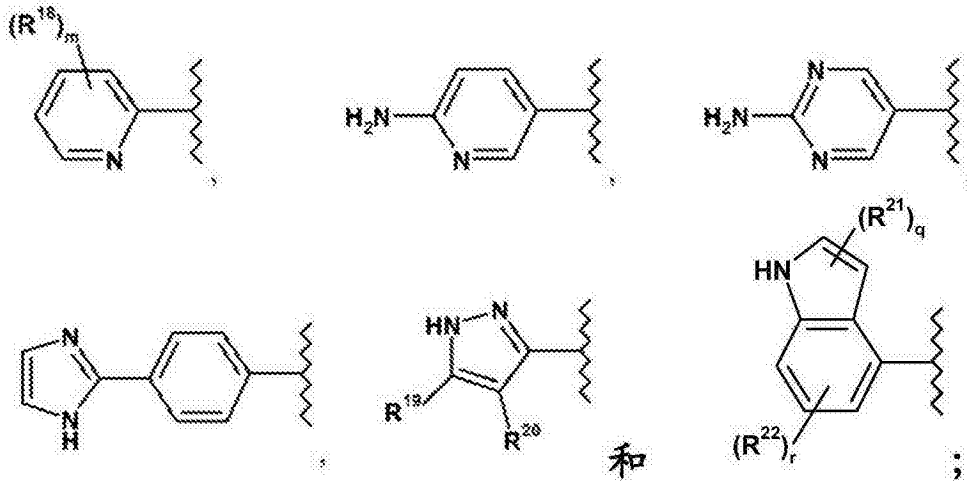


CN 104039790 B

1. 式 (I) 化合物或其可药用盐,



其中
R¹选自



其中

R¹⁸每次出现时独立地表示氟或甲基；

m 表示 0、1、2 或 3；

R¹⁹和 R²⁰独立地表示氢或氟；

R²¹表示氟；

R²²每次出现时独立地表示氟、甲氧基、羟基甲基或甲氧基羰基；

q 表示 0、1 或 2 且 r 表示 0、1、2 或 3, 条件是 q+r 不是 0；

R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸和 R⁹独立地表示氢、C₁₋₃烷基或氟代 -C₁₋₃烷基；或 R³和 R⁶一起形成亚甲基桥；或 R³和 R⁸一起形成亚乙基桥；或 R⁵和 R⁶一起形成亚乙基桥；

n 和 p 独立地表示 0、1 或 2；

R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶和 R¹⁷每次出现时独立地表示氢、C₁₋₃烷基、氟代 -C₁₋₃烷基或羟基 -C₁₋₃烷基；或 R¹¹和 R¹⁶一起形成亚乙基桥；或 R¹³和 R¹⁴一起形成亚乙基桥；或 R¹⁴和 R¹⁵与它们所连接的碳原子一起连接形成四氢吡喃基环；且

Y 表示 O、CHR²³、CR²⁴R²⁵或 NR²⁶，

其中

R²³表示羟基或氟代-C₁₋₃烷基；或R²³和R¹³与它们所连接的碳原子一起连接形成稠合的四氢呋喃基环；

R²⁴和R²⁵独立地表示氢或卤素；或R²⁴和R²⁵与它们所连接的碳原子一起连接形成四氢吡喃基环；且

R²⁶表示C₁₋₃烷基或氧杂环丁基；

以及

选自以下所列化合物的化合物或其可药用盐：

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(3-丙基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇；

8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇；

2-(3-乙基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(6-氧杂-2-氮杂-螺[3.5]壬-2-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(四氢-呋喃并[3,4-c]吡咯-5-基)-9H-嘌呤；

2-(六氢-呋喃并[3,4-c]吡啶-5-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-2-(3-异丙基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-三氟甲基-哌啶-1-基)-9H-嘌呤；

2-(2,6-二甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

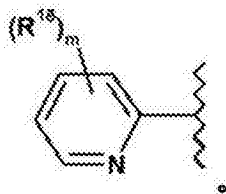
8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(7-氧杂-1-氮杂-螺[3.5]壬-1-基)-9H-嘌呤；

{4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇；和

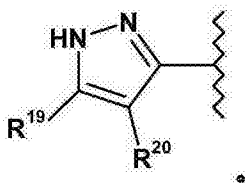
{4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗

啉-2-基}-甲醇。

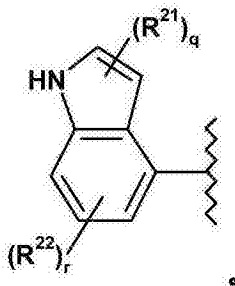
2. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中 R^1 表示



3. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中 R^1 表示



4. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其中 R^1 表示



5. 依据权利要求 1 至 4 中的任意一项的化合物或其可药用盐, 其中 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地表示氢或甲基; 或 R^3 和 R^6 一起形成亚甲基桥; 或 R^3 和 R^8 一起形成亚乙基桥; 或 R^5 和 R^6 一起形成亚乙基桥。

6. 依据权利要求 1 至 4 中的任意一项的化合物或其可药用盐, 其中 Y 表示 O。

7. 依据权利要求 5 的化合物或其可药用盐, 其中 Y 表示 O。

8. 依据权利要求 1 至 4 中的任意一项的化合物或其可药用盐, 其中 Y 表示 CHR²³ 或 CR²⁴R²⁵。

9. 依据权利要求 5 的化合物或其可药用盐, 其中 Y 表示 CHR²³ 或 CR²⁴R²⁵。

10. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 其选自:

2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤;

2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤;

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤;

8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

8-(6-氟-1H-吡啶-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

{4-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吡啶-6-基}-甲醇;

2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌

呤；

2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤；

2,6-二-吗啉-4-基-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤；

2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤；

2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-((R)-3-丙基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇；

8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇；

2-((R)-3-乙基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(6-氧杂-2-氮杂-螺[3.5]壬-2-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(四氢-呋喃并[3,4-c]吡咯-5-基)-9H-嘌呤；

2-(六氢-呋喃并[3,4-c]吡啶-5-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-2-((R)-3-异丙基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-三氟甲基-哌啶-1-基)-9H-嘌呤；

2-((2S,6R)-2,6-二甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(7-氧杂-1-氮杂-螺[3.5]壬-1-基)-9H-嘌呤；

{(S)-4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇；

{(R)-4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇；

5-[2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺；

5-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺；

5-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-嘧啶-2-基-胺；

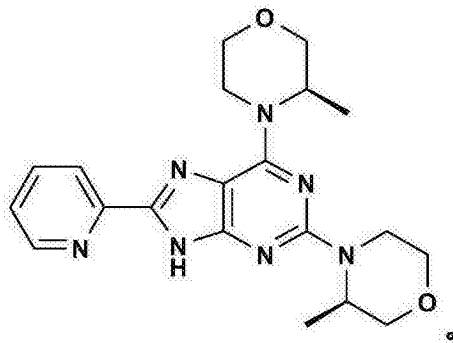
8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

8-(6-甲氧基-1H-吡啶-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

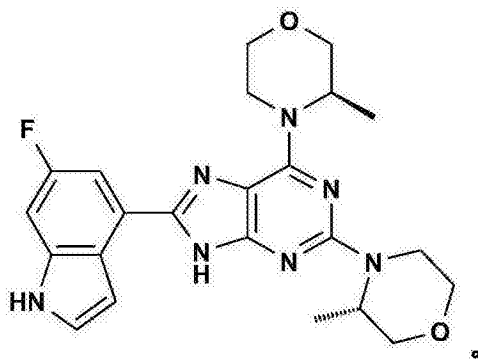
4-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吡啶-6-甲酸甲酯；
和

其可药用盐。

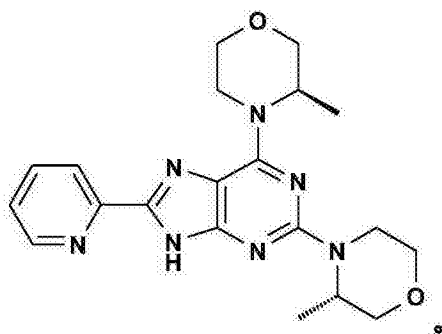
11. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 所述化合物为具有以下结构式的 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤



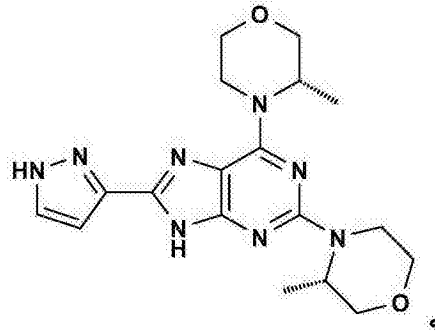
12. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 所述化合物为具有以下结构式的 8-(6-氟-1H-吡啶-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤



13. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 所述化合物为具有以下结构式的 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤



14. 依据权利要求 1 的化合物或其可药用盐, 所述化合物为具有以下结构式的 2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤



15. 药物组合物,其包含依据权利要求 1 至 14 中的任意一项的化合物或其可药用盐以及可药用赋形剂、稀释剂或载体。

16. 依据权利要求 1 至 14 中的任意一项的化合物或其可药用盐在制备药物中的应用,所述药物用于治疗或预防癌症、神经变性疾病或眼科疾病。

17. 组合产品,其包含依据权利要求 1 至 14 中的任意一项的化合物或其可药用盐以及另外的治疗剂。

嘌呤衍生物及它们在治疗疾病中的应用

发明领域

[0001] 本发明涉及嘌呤衍生物及其可药用盐、其制备方法、其在治疗疾病中的应用、其单独或与至少一种另外的治疗剂和任选与可药用载体的组合在制备药物制剂中的应用、该药物制剂在治疗疾病中的应用和治疗所述疾病的方法,该方法包括对温血动物、尤其是人施用所述嘌呤衍生物。

[0002] 发明背景

[0003] 磷脂酰肌醇-3-激酶超家族包含4种不同的PI3K相关脂质或蛋白激酶。I、II和III类是脂质激酶,它们通过其底物特异性存在差别,而IV类PI3K(也称作PIKK)是蛋白激酶。I类磷脂酰肌醇-3-激酶包括如下脂质激酶家族,它们催化磷酸向肌醇脂质的D-3'位置的转化,从而产生磷酸肌醇-3-磷酸(PIP)、磷酸肌醇-3,4-二磷酸(PIP₂)和磷酸肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP₃),然后它们通过与含有血小板-白细胞C激酶底物同系、FYVE、Phox及其他磷脂-结合域的蛋白结合为通常位于质膜的各种信号复合体而在信号级联中作为第二信使((Vanhaesebroeck等人,Annu. Rev. Biochem70:535(2001);Katso等人,Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615(2001))。在两种I类PI3K中,1A类PI3K是由具有催化性的p110亚单位(α 、 β 、 δ 同种型)和与之组成性结合的调节亚单位(可以是p85 α 、p55 α 、p50 α 、p85 β 或p55 γ)组成的异源二聚体。1B类亚类具有一个家族成员,它是由具有催化性的p110 γ 亚单位与两个调节亚单位(p101或p84)之一组成的异源二聚体(Fruman等人,Annu Rev. Biochem. 67:481(1998);Suire等人,Curr. Biol. 15:566(2005))。p85/55/50亚单位的调节域包括Src同源性(SH2)域,它与激活的受体和细胞质酪氨酸激酶上特定序列中的磷酸酪氨酸残基结合,导致1A类PI3K的激活和定位。1B类PI3K通过G蛋白-偶联受体直接激活,后者与肽和非肽配体的不同组成部分结合(Stephens等人,Cell189:105(1997));Katso等人,Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17:615-675(2001))。因此,得到的I类PI3K的磷脂产物与具有下游细胞活性的上游受体连接,所述活性包括增殖、存活、趋化性、细胞运输(cellular trafficking)、运动性、代谢、炎性和过敏反应、转录以及翻译(Cantley等人,Cell164:281(1991);Escobedo和Williams,Nature335:85(1988);Fantl等人,Cell169:413(1992))。

[0004] 在许多情况下,PIP₂和PIP₃募集Akt(病毒致癌基因v-Akt的人类同源物的产物)至质膜,在此其作为多种对于生长和存活非常重要的细胞内信号通路的节点(Fantl等人,Cell169:413-423(1992);Bader等人,Nature Rev. Cancer5:921(2005);Vivanco和Sawyer,Nature Rev. Cancer2:489(2002))。PI3K的异常调节(通常通过Akt的激活而增加存活)是在人类癌症中最普遍的事件之一,已经在多种水平上显示其存在。肿瘤抑制因子基因PTEN能够在肌醇环的3'位置上将磷酸肌醇磷脂脱磷酸化,并且藉此拮抗PI3K的活性,但在多种肿瘤中它被除去功能。在其他肿瘤中,p110 α 同种型(PIK3CA)的基因以及Akt的基因被扩增,它们的基因产物的蛋白表达的增加在各种人类癌症中已经得到证明。另外,用于上调p85-p110复合体的p85 α 的突变和易位在人类癌症中已有报道。此外,在PIK3CA中的能够激活下游信号通路的体细胞错义突变在多种人类癌症中都有广泛的报道(Kang

等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:802(2005); Samuels 等人, Science 304:554(2004); Samuels 等人, Cancer Cell 7:561-573(2005)。这些观察结果显示磷酸肌醇-3 激酶以及该信号通路的上游和下游成分的失调是与人类癌症和增生性疾病有关的最常见的失调之一 (Parsons 等人, Nature 436:792(2005); Hennessey 等人, Nature Rev. Drug Disc. 4:988-1004(2005))。

[0005] 雷帕霉素的哺乳动物靶标 (mTOR) 是 IV 类 PI3K 的成员。mTOR 组装信号传导网, 其转导营养信号和各种其他刺激以调节广泛的细胞功能, 包括细胞生长、增殖、存活、自噬、各种类型的分化和代谢。在哺乳动物细胞中, 发现 mTOR 蛋白在称作 mTORC1 和 mTORC2 的两种不同的实体中复合。mTORC1 复合物, 即与 raptor 结合的 mTOR 已经成为大量研究的物质。mTORC1 整合输入的营养物和生长因子, 且由此主要通过蛋白质合成调节剂例如 4EBP1 或 RPS6 负责细胞生长调节。mTORC1 调节需要用于激活的 PI3K 和 Akt 活化, 即 mTORC1 是 PI3K 途径的效应物。已经证实 mTOR 在结合入 mTOR 复合物 2 (mTORC2) 时负责通过使 S473 磷酸化来活化 Akt (Akt1 编号) (Sarbasov 等人, Science 307:7098(2005))。因此, mTORC2 被视为 Akt 的上游激活物。令人感兴趣的, mTOR 由此可以被视为重要的 Akt 上游和下游。mTOR 催化抑制由此可以代表通过确定上游和下游效应物寻求极为强烈的阻断 PI3K-Akt 途径的独特方式。

[0006] 还证实了 mTOR 抑制与自噬之间的相关性 (Ravikumar 等人, Nat Genet. 36(6):585-95(2004))。自噬对神经元动态平衡是必需的且其功能障碍与神经变性相关。神经元中自噬缺失导致小鼠神经变性疾病 (Komatsu 等人, Nature 441:880-4(2006); Hara 等人, Nature 441:885-9(2006)), 这启示自噬在维持神经元中蛋白质动态平衡中的关键作用。神经变性疾病的特征在于包含错折叠蛋白作为标志之一。诱导自噬促进错折叠蛋白清除且由此提出将其作为神经变性蛋白病的疗法。

[0007] 亨廷顿病 (HD) 是常染色体显性神经变性疾病, 其中编码亨廷顿 (Htt) 蛋白的 IT15 基因突变导致 Htt 的 Exon1 上聚谷氨酰胺伸展。这种突变型 Htt 蛋白的胞内聚集和脑萎缩 (特别是皮质和纹状体) 是 HD 的主要标志。它在临床上除导致精神障碍和体重减轻外还导致运动失调和认知功能障碍。

[0008] 抑制 mTOR 在 HD 体外和体内模型中诱导自噬和减少突变型 Htt 聚集和突变型 Htt-介导的细胞死亡 (Ravikumar 等人, Nat Genet. 36(6):585-95(2004))。mTOR 抑制由此为 HD 的药物干预和作为 HD 特征的受到破坏的细胞进程调节提供了机会。

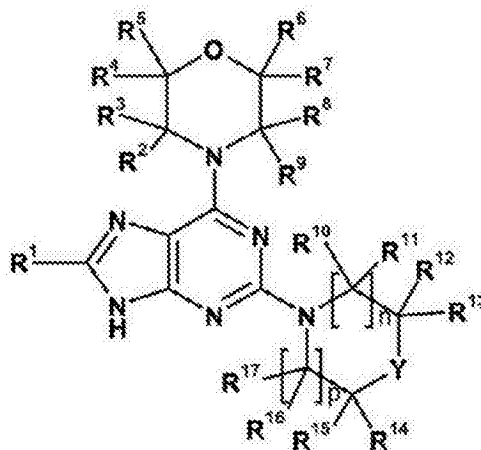
[0009] 鉴于上述观点, 认为 mTOR 抑制剂在治疗增殖性疾病和其他障碍、特别是 HD 中是有价值的。

[0010] 本发明涉及具有 mTOR 抑制活性的新的嘌呤衍生物、其制备方法、医疗用途和包含它们的药物。

[0011] 发明概述

[0012] 在第一个方面中, 本发明涉及式 (I) 化合物或其可药用盐,

[0013]

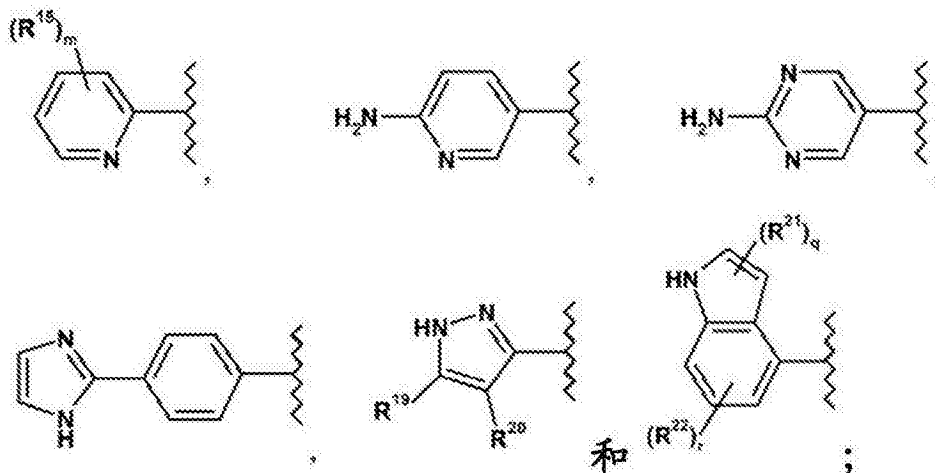


(I)

[0014] 其中

[0015] R^1 选自

[0016]



[0017] 其中

[0018] R^{18} 每次出现时独立地表示氟或甲基；

[0019] m 表示 0、1、2 或 3；

[0020] R^{19} 和 R^{20} 独立地表示氢或氟；

[0021] R^{21} 表示氟；

[0022] R^{22} 每次出现时独立地表示氟、甲氧基、羟基甲基或甲氧基羰基；

[0023] q 表示 0、1 或 2 且 r 表示 0、1、2 或 3,条件是 $q+r$ 不是 0；

[0024] R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地表示氢、 C_{1-3} 烷基或氟代- C_{1-3} 烷基；或 R^3 和 R^6 一起形成亚甲基桥；或 R^3 和 R^8 一起形成亚乙基桥；或 R^5 和 R^6 一起形成亚乙基桥；

[0025] n 和 p 独立地表示 0、1 或 2；

[0026] R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 和 R^{17} 每次出现时独立地表示氢、 C_{1-3} 烷基、氟代- C_{1-3} 烷基或羟基- C_{1-3} 烷基；或 R^{11} 和 R^{16} 一起形成亚乙基桥；或 R^{13} 和 R^{14} 一起形成亚乙基桥；或 R^{14} 和 R^{15} 与它们所连接的碳原子一起连接形成四氢吡喃基环；且

[0027] Y 表示 O 、 CHR^{23} 、 $CR^{24}R^{25}$ 或 NR^{26} ，

[0028] 其中

[0029] R^{23} 表示羟基或氟代 $-C_{1-3}$ 烷基 ;或 R^{23} 和 R^{13} 与它们所连接的碳原子一起连接形成稠合的四氢呋喃基环 ;

[0030] R^{24} 和 R^{25} 独立地表示氢或卤素 ;或 R^{24} 和 R^{25} 与它们所连接的碳原子一起连接形成四氢吡喃基环 ;且

[0031] R^{26} 表示 C_{1-3} 烷基或氧杂环丁基 ;

[0032] 以及

[0033] 选下以下所列的化合物的化合物或其可药用盐 :

[0034] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤 ;

[0035] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(3-丙基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 ;

[0036] 8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇 ;

[0037] 8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇 ;

[0038] 2-(3-乙基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 ;

[0039] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤 ;

[0040] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(6-氧杂-2-氮杂-螺[3.5]壬-2-基)-9H-嘌呤 ;

[0041] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤 ;

[0042] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(四氢-呋喃并[3,4-c]吡咯-5-基)-9H-嘌呤 ;

[0043] 2-(六氢-呋喃并[3,4-c]吡啶-5-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 ;

[0044] 8-(1H-吡啶-4-基)-2-(3-异丙基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 ;

[0045] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-三氟甲基-哌啶-1-基)-9H-嘌呤 ;

[0046] 2-(2,6-二甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 ;

[0047] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(7-氧杂-1-氮杂-螺[3.5]壬-1-基)-9H-嘌呤 ;

[0048] {4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇 ;和

[0049] {4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇。

[0050] 定义

[0051] 本文所用的术语“卤素”或“卤代”是指氟、氯、溴和碘。

[0052] 本文所用的术语“C₁₋₃烷基”是指具有至多 3 个碳原子的完全饱和支链或非支链烃基团。有代表性的 C₁₋₃烷基实例包括甲基、乙基、正丙基和异丙基。

[0053] 本文使用的术语“羟基 -C₁₋₃烷基”是指被一个羟基取代的如上文定义的 C₁₋₃烷基。羟基 -C₁₋₃烷基代表性的实例包括但不限于羟基 - 甲基、2- 羟基 - 乙基、2- 羟基 - 丙基和 3- 羟基 - 丙基。

[0054] 本文使用的术语“氟代 -C₁₋₃烷基”是指被一个或多个氟基团取代的如上文定义的 C₁₋₃烷基。氟代 -C₁₋₃烷基的实例包括三氟甲基、二氟甲基、氟甲基、2, 2, 2- 三氟乙基、1- 氟甲基 -2- 氟乙基和 3, 3- 二氟丙基。

[0055] 除非上下文中另有指示或有清楚的相反说明, 否则本文所用的单数形式的术语、“所述”和本发明上下文中(尤其是权利要求上下文中)使用的类似术语应视为覆盖单数和复数。本文提供的任意和所有实施例或示例性语言(如“例如”)的应用仅用于更好地阐明本发明, 而不对另外请求保护的本发明的范围作出限定。

[0056] 术语“本发明化合物”(除非另外具体指明)是指式(I)化合物、实施例的各化合物、所述化合物的可药用盐和 / 或所述化合物的水合物或溶剂合物以及所有的立体异构体(包括非对映异构体和对映体)、互变体和同位素标记的化合物(包括氘)。术语“本发明的活性剂”旨在具有与“本发明化合物”相同的意义。

[0057] 本文使用的术语“抑制”指减少或压制给定病症、症状或障碍或疾病, 或者指显著减少生物活性或过程的基线活性。

[0058] 本文使用的术语“异构体”是指具有相同的分子式但是原子排列和结构不同的不同化合物。同样, 本文使用的术语“光学异构体”或“立体异构体”是指给定的本发明化合物可能存在的各种立体异构体, 包括几何异构体。应当理解, 取代基可以连接在碳原子的手性中心上。术语“手性”是指与其镜像分子对具有不重叠性的分子, 而术语“非手性”是指与其镜像分子对具有可重叠性的分子。因此, 本发明包括化合物的对映异构体、非对映异构体或外消旋体。“对映异构体”是一对立体异构体, 它们彼此的镜像是不可重叠的。一对对映异构体的 1:1 的混合物为“外消旋”混合物。如果适当的话, 该术语用于指外消旋混合物。“非对映异构体”是具有至少两个不对称原子的立体异构体, 但是它们彼此不为镜像。绝对立体化学可以根据 Cahn-Ingold-Prelog R-S 系统规定。当化合物为纯的对映体时, 每个手性碳处的立体化学可以指定为 R 或 S。绝对构型未知的拆分了的化合物可以根据它们在钠 D 线波长处使得平面偏振光旋转的方向(右旋或左旋)而指定为 (+) 或 (-)。本文中所述某些化合物包含一或多个不对称中心或轴, 因此可以产生对映异构体、非对映异构体以及根据绝对立体化学定义为 (R)- 或 (S)- 的其它立体异构形式。

[0059] 本文使用的术语“可药用载体”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣材料、表面活性剂、抗氧化剂、防腐剂(例如抗菌剂、抗真菌剂)、等渗剂、吸收延迟剂、盐、防腐剂、药物、药物稳定剂、粘合剂、赋形剂、崩解剂、润滑剂、增甜剂、矫味剂、染料等以及它们的组合, 它们是那些本领域的技术人员众所周知的(参见, 例如, 雷明顿药物科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences), 第 18 版, Mack Printing Company, 1990, 第 1289-1329 页)。除了与活性成分不相容的那些常规载体外, 其他常规载体均可以用于治疗或药物组合物

中。

[0060] 本文使用的术语任何具体疾病或障碍的“预防”是指在疾病或障碍的任何症状变得明显之前向个体施用本发明化合物。

[0061] 本文使用的术语“盐”是指本发明化合物的酸加成盐。“盐”特别包括“可药用的盐”。术语“可药用的盐”是指能够保持本发明化合物的生物学有效性和性能的盐，它们通常不是生物学或其它方面所不可用的。

[0062] 本文使用的术语“个体”是指动物。所述动物通常为哺乳动物。个体也是指例如灵长类（例如人类，男性或女性）、牛、绵羊、山羊、马、犬、猫、兔、大鼠、小鼠、鱼、鸟等。在某些实施方案中，所述个体为灵长类。在另一个实施方案中，所述个体为人类。

[0063] 本文中使用的“需要”治疗的个体是指通过所述治疗所述个体在生物学上、医学上或生活质量方面能够受益。

[0064] 术语本发明化合物的“治疗有效量”是指能够引起个体的生物学或医学响应的本发明化合物的量，所述响应例如降低或抑制酶或蛋白质的活性，或者改善症状、减轻障碍、阻碍或延迟疾病进展或预防疾病等。在一个非限制性实施方案中，术语“治疗有效量”是指当施用于个体时能够有效地发挥下列作用的本发明化合物的量：(1) 至少部分减轻、抑制、预防和 / 或改善 (i) 由 mTOR 介导的或 (ii) 与 mTOR 有关的或 (iii) 其特征在于 mTOR 活性（正常或异常）的病症、障碍或疾病；或 (2) 降低或抑制 mTOR 的活性。在另一个非限制性实施方案中，术语“治疗有效量”是指，当施用给细胞或组织或非细胞生物材料或介质时，能够有效地至少部分地降低或抑制 mTOR 活性的本发明化合物的量。上面 mTOR 的实施方案中所描述的术语“治疗有效量”的意义也可以以相同的意义应用于其它相关蛋白 / 肽 / 酶，诸如 IV 类 PI3K。

[0065] 在一个实施方案中，本文使用的术语任何疾病或障碍的“治疗”是指缓解疾病或障碍（即减缓或中止或减轻疾病或其至少一种临床症状的发展）。在另一个实施方案中，“治疗”是指调节疾病或障碍，包括机体上的（例如稳定可识别症状）、生理学上的（例如稳定机体参数），或者它们两者。

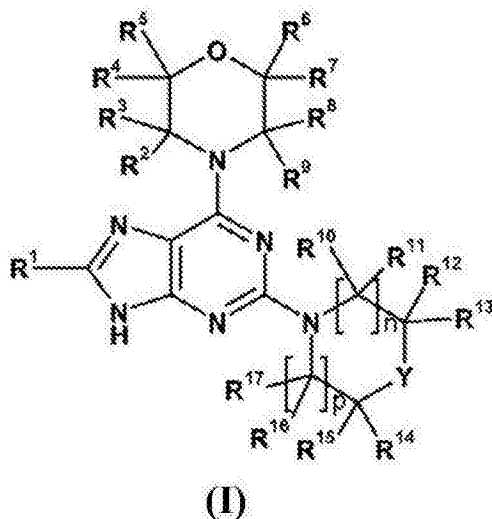
[0066] 发明详述

[0067] 本发明提供了可用于治疗或预防通过抑制 mTOR 调节的疾病、病症和 / 或障碍的化合物及其药物制剂。

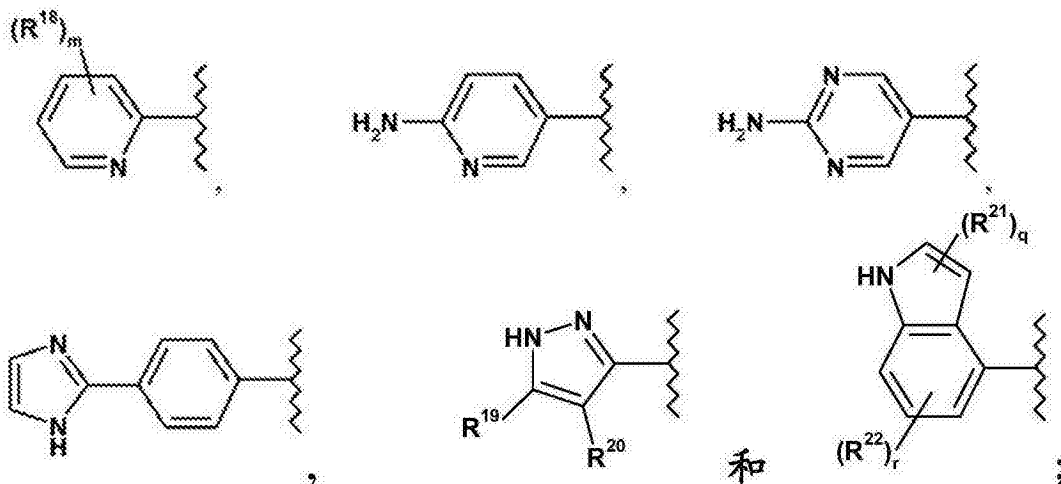
[0068] 实施方案 1: 如上文所述的式 (I) 化合物或其可药用盐。

[0069] 实施方案 2: 式 (I) 化合物或其可药用盐：

[0070]



[0071] 其中
 [0072] R¹选自
 [0073]



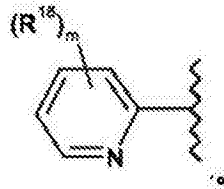
[0074] 其中
 [0075] R¹⁸每次出现时独立地表示氟或甲基；
 [0076] m 表示 0、1、2 或 3；
 [0077] R¹⁹和 R²⁰独立地表示氢或氟；
 [0078] R²¹表示氟；
 [0079] R²²每次出现时独立地表示氟、甲氧基、羟基甲基或甲氧基羰基；
 [0080] q 表示 0、1 或 2 且 r 表示 0、1、2 或 3,条件是 q+r 不是 0；
 [0081] R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸和 R⁹独立地表示氢、C₁₋₃烷基或氟代 -C₁₋₃烷基；或 R³和 R⁶一起形成亚甲基桥；或 R³和 R⁸一起形成亚乙基桥；或 R⁵和 R⁶一起形成亚乙基桥；
 [0082] n 和 p 独立地表示 0、1 或 2；
 [0083] R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶和 R¹⁷每次出现时独立地表示氢、C₁₋₃烷基、氟代 -C₁₋₃烷基或羟基 -C₁₋₃烷基；或 R¹¹和 R¹⁶一起形成亚乙基桥；或 R¹³和 R¹⁴一起形成亚乙基桥；或 R¹⁴和 R¹⁵与它们所连接的碳原子一起连接形成四氢吡喃基环；且
 [0084] Y 表示 O、CHR²³、CR²⁴R²⁵或 NR²⁶，
 [0085] 其中

[0086] R^{23} 表示羟基或氟代 $-C_{1-3}$ 烷基 ;或 R^{23} 和 R^{13} 与它们所连接的碳原子一起连接形成稠合的四氢呋喃基环 ;

[0087] R^{24} 和 R^{25} 独立地表示氢或卤素 ;或 R^{24} 和 R^{25} 与它们所连接的碳原子一起连接形成四氢吡喃基环 ;且

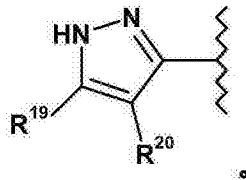
[0088] R^{26} 表示 C_{1-3} 烷基或氧杂环丁基。

[0089] 实施方案 3: 依据实施方案 1 或实施方案 2 的化合物或其可药用盐,其中 R^1 表示
[0090]



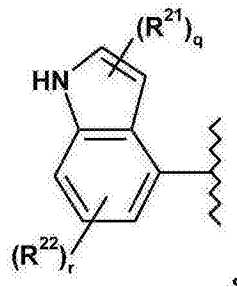
[0091] 实施方案 4: 依据实施方案 3 的化合物或其可药用盐,其中 m 表示 0。

[0092] 实施方案 5: 依据实施方案 1 或实施方案 2 的化合物或其可药用盐,其中 R^1 表示
[0093]



[0094] 实施方案 6: 依据实施方案 5 的化合物或其可药用盐,其中 R^{19} 和 R^{20} 均表示氢。

[0095] 实施方案 7: 依据实施方案 1 或实施方案 2 的化合物或其可药用盐,其中 R^1 表示
[0096]



[0097] 实施方案 8: 依据实施方案 7 的化合物或其可药用盐,其中 q 表示 0 或 1,且 r 表示 0、1 或 2。

[0098] 实施方案 9: 依据实施方案 1 至 8 中的任意一项的化合物或其可药用盐,其中 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 和 R^9 独立地表示氢或甲基 ;或 R^3 和 R^6 一起形成亚甲基桥 ;或 R^3 和 R^8 一起形成亚乙基桥 ;或 R^5 和 R^6 一起形成亚乙基桥。

[0099] 实施方案 10: 依据实施方案 1 至 9 中的任意一项的化合物或其可药用盐,其中 Y 表示 0。

[0100] 实施方案 11: 依据实施方案 1 至 9 中的任意一项的化合物或其可药用盐,其中 Y 表示 CHR^{23} 或 $CR^{24}R^{25}$ 。

[0101] 实施方案 12: 依据实施方案 1 的化合物或其可药用盐,其选自 :

[0102] 2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤 ;

[0103] 2-(3-甲基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡唑-3-基)-9H-嘌

呤；

[0104] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤；

[0105] 8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0106] 8-(6-氟-1H-吡啶-4-基)-2-(3-甲基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0107] {4-[2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吡啶-6-基}-甲醇；

[0108] 2-(3-甲基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤；

[0109] 2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤；

[0110] 2,6-二-吗啉-4-基-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤；

[0111] 2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤；

[0112] 2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤；

[0113] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(3-丙基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0114] 8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇；

[0115] 8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇；

[0116] 2-(3-乙基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0117] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

[0118] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(6-氧杂-2-氮杂-螺[3.5]壬-2-基)-9H-嘌呤；

[0119] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

[0120] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(四氢-呋喃并[3,4-c]吡咯-5-基)-9H-嘌呤；

[0121] 2-(六氢-呋喃并[3,4-c]吡啶-5-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0122] 8-(1H-吡啶-4-基)-2-(3-异丙基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0123] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-三氟甲基-哌啶-1-基)-9H-嘌呤；

[0124] 2-(2,6-二甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0125] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-2-(7-氧杂-1-氮杂-螺[3.5]壬-1-基)-9H-嘌呤；

[0126] {4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇;

[0127] {4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇;

[0128] 5-[2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺;

[0129] 5-[2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺;

[0130] 5-[2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-嘧啶-2-基-胺;

[0131] 8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

[0132] 8-(6-甲氧基-1H-吡啶-4-基)-2-(3-甲基-吗啉-4-基)-6-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

[0133] 4-[2,6-双-(3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吡啶-6-甲酸甲酯;及其可药用盐。

[0134] 实施方案 12: 依据实施方案 1 的化合物或其可药用盐,其选自:

[0135] 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤;

[0136] 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤;

[0137] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤;

[0138] 8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

[0139] 8-(6-氟-1H-吡啶-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

[0140] {4-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吡啶-6-基}-甲醇;

[0141] 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤;

[0142] 2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤;

[0143] 2,6-二-吗啉-4-基-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤;

[0144] 2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤;

[0145] 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤;

[0146] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-((R)-3-丙基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

[0147] 8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇;

[0148] 8-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇;

[0149] 2-((R)-3-乙基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤;

[0150] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-甲基-哌

嗪-1-基)-9H-嘌呤；

[0151] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(6-氧杂-2-氮杂-螺[3.5]壬-2-基)-9H-嘌呤；

[0152] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤；

[0153] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(四氢-呋喃并[3,4-c]吡咯-5-基)-9H-嘌呤；

[0154] 2-(六氢-呋喃并[3,4-c]吡啶-5-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0155] 8-(1H-吡啶-4-基)-2-((R)-3-异丙基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0156] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-三氟甲基-哌啶-1-基)-9H-嘌呤；

[0157] 2-((2S,6R)-2,6-二甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0158] 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(7-氧杂-1-氮杂-螺[3.5]壬-1-基)-9H-嘌呤；

[0159] {(S)-4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇；

[0160] {(R)-4-[8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇；

[0161] 5-[2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺；

[0162] 5-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺；

[0163] 5-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-嘧啶-2-基-胺；

[0164] 8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0165] 8-(6-甲氧基-1H-吡啶-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤；

[0166] 4-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吡啶-6-甲酸甲酯；及

[0167] 其可药用盐。

[0168] 由于式(I)化合物中可能存在一或多个不对称碳原子,所以相应的式(I)化合物可能以纯的光学活性形式或光学异构体混合物形式存在,例如外消旋混合物形式。所有所述纯光学异构体及其所有混合物(包括外消旋混合物)均为本发明的组成部分。

[0169] 根据选择的原料和工艺方法,所述化合物可以以可能的异构体形式之一存在,或者以其异构体混合物的形式存在,例如作为纯光学异构体或异构体混合物,例如根据不对称碳原子的数目,为外消旋体和非对映异构体混合物。本发明应当包括所有此类可能存在的异构体,包括外消旋混合物、非对映异构体混合物和光学纯形式。光学活性的(R)-和(S)-异构体可以采用手性合成子或手性试剂制备,或者采用常规技术拆分。如果所述化合

物含有双键,则取代基可以是E或Z构型。如果所述化合物含有二取代的环烷基,则该环烷基取代基可以为顺式-或反式-构型。如果本文中绘制的包含一个或多个手性中心的化合物结构中绘制了所述的立体化学,则意欲表示单独的光学异构体。如果本文中绘制的包含一个或多个手性中心的化合物结构中没有绘制所述的立体化学,则不意欲表示一个特定的旋光异构体,且绘制的化学结构可表示任何旋光异构体或具有该结构的异构体的混合物,例如外消旋混合物或非对映异构体混合物。

[0170] 在一个实施方案中提供了作为分离的立体异构体的实施例化合物,其中所述化合物具有一个立构中心,且所述立体异构体为R构型。

[0171] 在一个实施方案中提供了作为分离的立体异构体的实施例化合物,其中所述化合物具有一个立构中心,且所述立体异构体为S构型。

[0172] 在一个实施方案中提供了作为分离的立体异构体的实施例化合物,其中所述化合物具有两个立构中心,且所述立体异构体为RR构型。

[0173] 在一个实施方案中提供了作为分离的立体异构体的实施例化合物,其中所述化合物具有两个立构中心,且所述立体异构体为RS构型。

[0174] 在一个实施方案中提供了作为分离的立体异构体的实施例化合物,其中所述化合物具有两个立构中心,且所述立体异构体为SR构型。

[0175] 在一个实施方案中提供了作为分离的立体异构体的实施例化合物,其中所述化合物具有两个立构中心,且所述立体异构体为SS构型。

[0176] 在一个实施方案中提供了实施例的化合物,其中所述化合物具有一个或两个立构中心,为外消旋混合物。

[0177] 本发明的中间体和化合物也可能存在不同的互变异构形式,所有此类形式均包含在本发明的范围内。术语“互变异构体”或“互变异构形式”是指不同能量的结构异构体,它们可以通过较低的能量屏障即可互相转化。例如,质子互变异构体(也称为质子互变异构体)包括通过质子迁移的相互转化,例如酮-烯醇和亚胺-烯胺的异构化。质子互变异构体的具体示例是其中质子可以在两个环氮原子之间迁移的咪唑部分。化合价互变异构体包括通过某些结合电子重排的相互转化。

[0178] 由于存在氨基或类似基团,本发明化合物能够形成酸盐。

[0179] 在一个实施方案中,本发明涉及游离形式的本文所定义的式(I)化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及盐形式的本文所定义的式(I)化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及酸加成盐形式的本文所定义的式(I)化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及可药用的盐形式的本文所定义的式(I)化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及可药用的酸加成盐形式的本文所定义的式(I)化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及游离形式的任何一种实施例化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及盐形式的任何一种实施例化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及酸加成盐形式的任何一种实施例化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及可药用的盐形式的任何一种实施例化合物。在另一个实施方案中,本发明涉及可药用的酸加成盐形式的任何一种实施例化合物。

[0180] 可药用的酸加成盐可以采用无机酸和有机酸形成,例如乙酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、溴化物/氢溴酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、樟脑磺酸盐、氯化物/盐酸盐、氯茶碱盐(chlortheophyllonate)、柠檬酸盐、乙磺酸盐、富马酸盐、葡庚糖

酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、马尿酸盐、氢碘酸盐 / 碘化物、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、十二烷基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、萘甲酸盐、萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、十八酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、磷酸盐 / 磷酸氢盐 / 磷酸二氢盐、聚半乳糖醛酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、磺基水杨酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。

[0181] 可制备盐的无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等。

[0182] 可制备盐的有机酸包括例如乙酸、丙酸、乙醇酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、磺基水杨酸等。

[0183] 本发明的可药用的盐可以通过常规化学法自酸性部分合成。通常,此类盐可以通过使得这些化合物的游离碱形式与化学计算量的适当的酸反应而制备。此类反应通常在水或有机溶剂中或者在它们两者的混合物中进行。通常,如果适用的话,最好采用非水介质,如乙醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈。其它适当的盐的目录可以参考例如“雷明顿药物科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)”,第 20 版、Mack Publishing Company、Easton、Pa., (1985);和“药用盐手册:性质、选择和使用 (Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use)”, Stahl and Wermuth (Wiley-VCH、Weinheim、德国、2002)。

[0184] 另外,本发明化合物(包括其盐)也可以以其水合物的形式获得,或者包含用于其结晶的其它溶剂。本发明化合物由于自身特性可以或者通过设计可以与可药用的溶剂(包括水)形成溶剂化物;因此,本发明应当包括溶剂化物和溶剂化物两种形式。术语“溶剂化物”是指由本发明化合物(包括其可药用的盐)与一或多个溶剂分子形成的分子复合物。此类溶剂分子是那些制药领域中常用的,已知它们对于受体是无害的,例如水、乙醇等。术语“水合物”是指其中溶剂分子为水的复合物。

[0185] 含有能够作为氢键供体和 / 或受体的基团的本发明化合物(即式(I)化合物)能够与适当的共结晶形成剂形成共结晶(co-crystal)。这些共结晶可以根据已知的共结晶形成方法制备自式(I)化合物。所述方法包括研磨、加热、共升华、共融,或者在结晶条件下使得式(I)化合物与共结晶形成剂在溶液中接触,然后分离由此形成的共结晶。适当的共结晶形成剂包括那些描述于 WO 2004/078163 中的形成剂。因此,本发明还提供了含有式(I)化合物的共结晶。

[0186] 本发明化合物(包括其盐、水合物和溶剂化物)自身可以或者通过设计可以形成多晶形物。

[0187] 本文中给出的任何分子式也应当代表化合物的未标记形式以及同位素标记形式。同位素标记的化合物具有本文所给出的分子式所表述的结构,但是一或多个原子被具有选定原子质量或质量数的原子所替代。可以掺入本发明化合物中的同位素的示例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,分别例如²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³¹P、³²P、³⁵S、³⁶Cl、¹²⁵I。本发明应当包括本文所定义的各种同位素标记化合物,例如那些其中存在放射性同位素(例如³H和¹⁴C)的化合物或非放射性同位素(例如²H和¹³C)的化合物。所述同位素标记化合物可以用于代谢研究(采用¹⁴C)、反应动力学研究(采用例如²H或³H)、检测或成像技术(例如正电子发射断层扫描(PET)或单光子发射计算机断层扫描(SPECT),包括药物或底物组织分布研究,或者用于患者的放射治疗。尤其特别的是,¹⁸F标记化合物可以特别令人满意地

用于 PET 或 SPECT 研究。同位素标记的式 (I) 化合物通常可以通过本领域技术人员已知的常规方法制备, 或根据下面实施例和制备方法中所述类似工艺, 采用适当的同位素标记试剂代替以前使用的非标记试剂制备。

[0188] 另外, 由于其具有较好的代谢稳定性, 采用较重同位素 (特别是氘 (即 ^2H 或 D)) 的取代可以提供一定的治疗上的益处, 例如增加体内半衰期或降低剂量需要或者改善治疗指数。应当理解, 在本文中, 氘被视为是式 (I) 化合物的取代基。所述较重同位素 (特别是氘) 的浓度可以根据同位素富集因子定义。如本文使用的术语“同位素富集因子”是指指定同位素的同位素丰度与天然丰度之间的比例。如果本发明化合物中的取代基用氘表示, 则该化合物中每个指定氘原子的同位素富集因子为至少 3500 (每个指定氘原子 52.5% 的氘掺入)、至少 4000 (60% 的氘掺入)、至少 4500 (67.5% 的氘掺入)、至少 5000 (75% 的氘掺入)、至少 5500 (82.5% 的氘掺入)、至少 6000 (90% 的氘掺入)、至少 6333.3 (95% 的氘掺入)、至少 6466.7 (97% 的氘掺入)、至少 6600 (99% 的氘掺入) 或至少 6633.3 (99.5% 的氘掺入)。

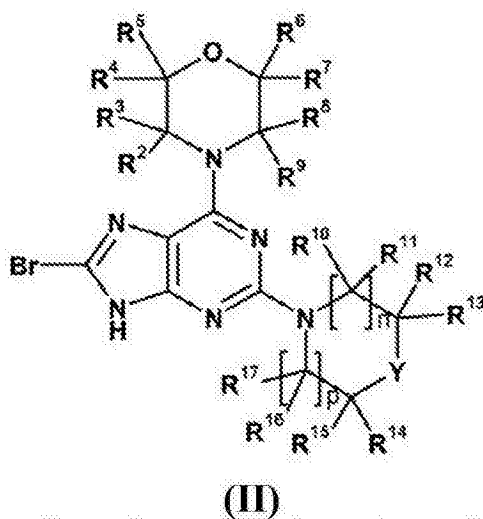
[0189] 本发明的可药用的溶剂化物包括其中结晶溶剂是同位素取代的溶剂的那些, 例如 D_2O 、 d_6 -丙酮、 d_6 -DMSO。

[0190] 本发明化合物可以根据包含化学领域中众所周知的类似工艺的合成路线合成, 特别是根据本文说明书中所述路线合成。原料通常可以获自商业途径, 例如 Sigma-Aldrich, 或者可以采用本领域技术人员所熟知的方法容易地制备 (例如, 下列文献中描述的通用方法: Louis F. Fieser 和 Mary Fieser、有机合成试剂、第 1-19 卷、Wiley、纽约 (1967-1999ed.), 或 Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4. Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin、包括附录 (也可以通过 Beilstein 在线数据库获得)。

[0191] 在进一步的方面, 本发明涉及制备游离形式或可药用盐形式的式 (I) 化合物的方法, 其包括

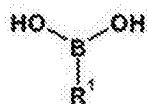
[0192] (a) 将式 (II) 化合物

[0193]

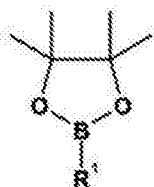


[0194] 其中 Y、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、n 和 p 如对式 (I) 所定义, 与式 (III)、(IV) 或 (V) 的化合物反应

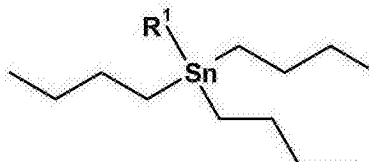
[0195]



(III)



(IV)

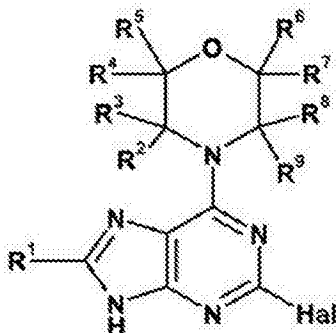


(V)

[0196] 其中 R¹如式 (I) 所定义,或

[0197] (b) 将式 (VI) 化合物

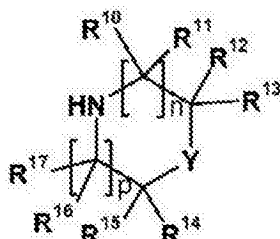
[0198]



(VI)

[0199] 其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸和 R⁹如式 (I) 所定义,且 Hal 表示卤素、例如氯,与式 (VII) 化合物反应

[0200]



(VII)

[0201] 其中 Y、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、n 和 p 如式 (I) 所定义,且

[0202] (c) 将获得的化合物进行任选的还原、氧化或其它官能团化反应,

[0203] (d) 裂解存在的任何保护基团,

[0204] (e) 回收如此获得的游离形式或可药用盐形式的式 (I) 化合物,

[0205] (f) 任选将光学活性异构体的混合物分离为它们的光学活性异构体形式。

[0206] 所述反应可以根据常规方法进行。例如,上文步骤 (a) 中描述的反应可在适合的金属催化剂例如 Pd(PPh₃)₄或 PdCl₂(dppf)、任选的适合的碱例如氟化铯、适合的溶剂例如甲苯或 NEt₃、乙腈 / 水的存在下、并在适合的温度、例如 90 至 150℃进行。

[0207] 上文步骤 (b) 中描述的反应可在适合的碱例如 DIPEA、适合的溶剂例如 1- 丁醇的存在下、并在适合的温度、例如 70 至 90℃进行。

[0208] 式 (I) 化合物的其它任选的还原、氧化或其它官能团化反应可以根据本领域技术人员众所周知的方法实施。

[0209] 在本文范围内,除非本文中另有说明,只有并非本发明特定需要的终产物的构成部分的、易于除去的基团才被指定为“保护基团”。通过此类保护基团对官能团的保护、保护基团本身及其裂解反应描述于例如标准参考著作,例如 J. F. W. McOmie、“有机化学中的保护基团 (Protective Groups in Organic Chemistry)”、Plenum Press、London and New York 1973 ; T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts、“有机合成中的保护基团 (Protective Groups in Organic Synthesis)”、第三版、Wiley、纽约 1999 ; “肽 (The Peptides)” ; 第 3 卷 (编者 : E. Gross 和 J. Meienhofer)、Academic Press、London and New York 1981 ; “Methoden der organischen Chemie (有机化学方法)”、Houben Weyl、第 4 版、第 15/I 卷、Georg Thieme Verlag、Stuttgart 1974 ; H. -D. Jakubke 和 H. Jeschkeit、“**Aminosäuren、Peptide、Proteine** (氨基酸, 肽, 蛋白质)”、Verlag Chemie、Weinheim、Deerfield Beach 和 Basel 1982。保护基团的特征在于它们易于被除去 (即不会发生不需要的二级反应), 例如通过溶剂分解、还原、光解或在生理学条件下 (例如通过酶裂解) 除去。

[0210] 具有至少一个盐形成基团的本发明化合物的盐可以根据本领域技术人员已知的方法制备。例如, 本发明化合物的酸加成盐可以通过常规方法获得, 例如采用酸或适当的阴离子交换试剂处理所述化合物。

[0211] 盐可以根据本领域技术人员已知的方法转化为游离化合物。酸加成盐可以例如通过采用适当的碱性试剂处理而转化。

[0212] 任何获得的异构体混合物可以根据成分的物理化学性质的不同而分离为纯的或基本上纯的几何或光学异构体、非对映异构体、外消旋体, 例如通过色谱和 / 或分步结晶的方法分离。

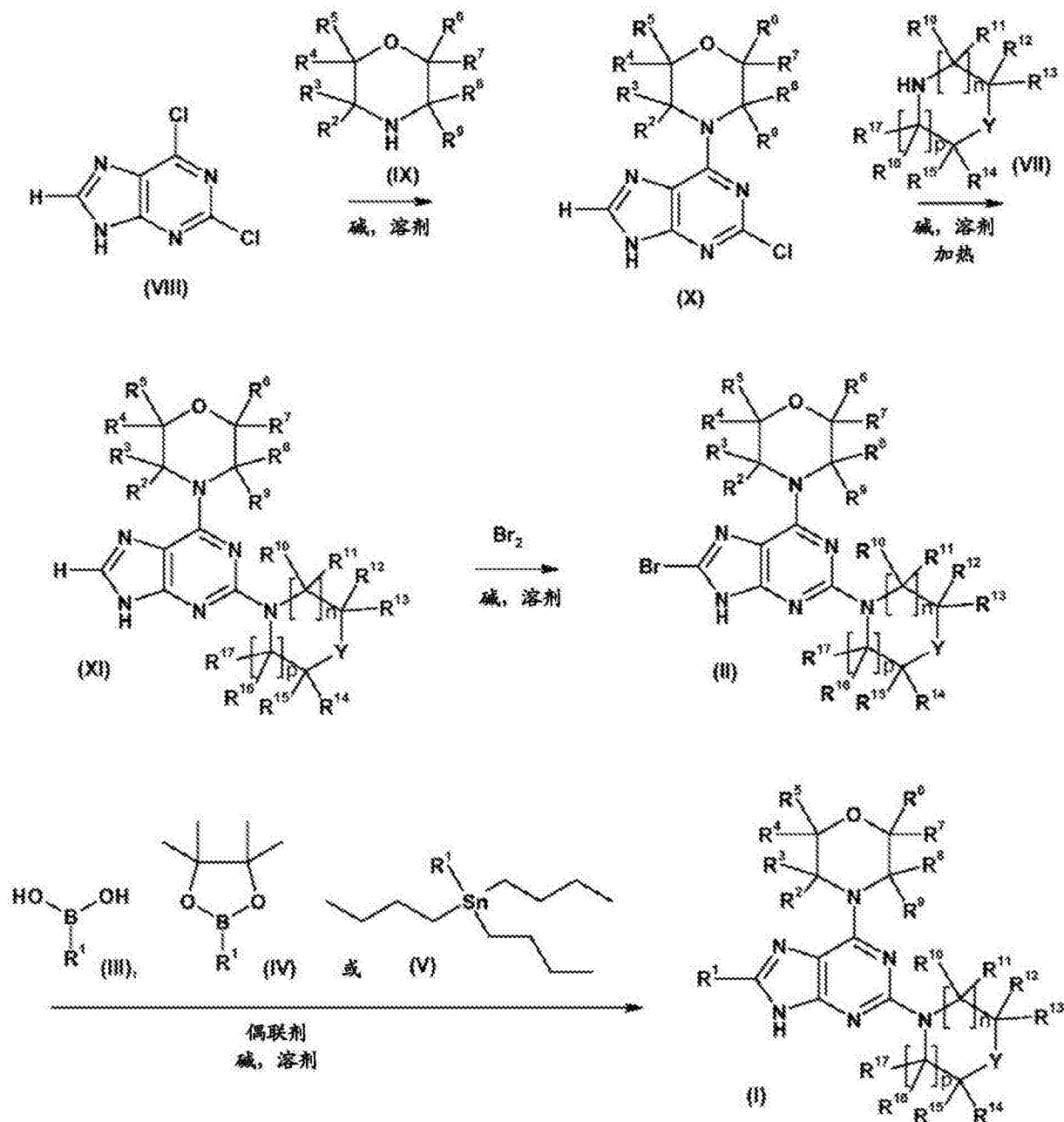
[0213] 对于那些含有不对称碳原子的化合物, 化合物可以单独的光学活性异构体形式存在, 或者是以其混合物的形式存在, 例如外消旋体和非对映异构体混合物。非对映异构体混合物可以通过本领域技术人员已知的方法根据其物理化学性质的不同而分离为其单独的非对映异构体, 例如通过色谱和 / 或分步结晶的方法分离。对映异构体可以通过将对映体混合物转化为非对映体混合物而分离, 采用与适当的光学活性化合物 (例如手性助剂, 如手性醇或 Mosher 酰氯) 的反应, 分离非对映异构体并将单独的非对映异构体转化 (例如水解) 为相应的纯对映异构体。对映异构体也可以通过采用获自商业的手性 HPLC 柱分离。

[0214] 本发明还包括本方法的任何变通方法, 其中可以采用反应成分的盐形式或光学纯材料。本发明化合物和中间体也可以根据本领域技术人员公知的方法彼此转化。

[0215] 为了说明性的目的, 下面描述的反应流程提供了本发明化合物以及关键中间体的可能的合成路线。为了更详细地描述各个反应步骤, 可以参见下面的实施例章节。本领域技术人员应当理解, 其它合成路线也可以用于合成本发明化合物。尽管在下面的流程和讨论中描述了具体的原料和试剂, 然而也可以容易地替换为其它原料和试剂以获得多种衍生物和 / 或反应条件。另外, 通过下述方法制备的多种化合物可以根据本公开采用本领域技术人员公知的常规化学方法进一步修饰。

[0216] 流程 1. 合成嘌呤化合物的通用方法 1

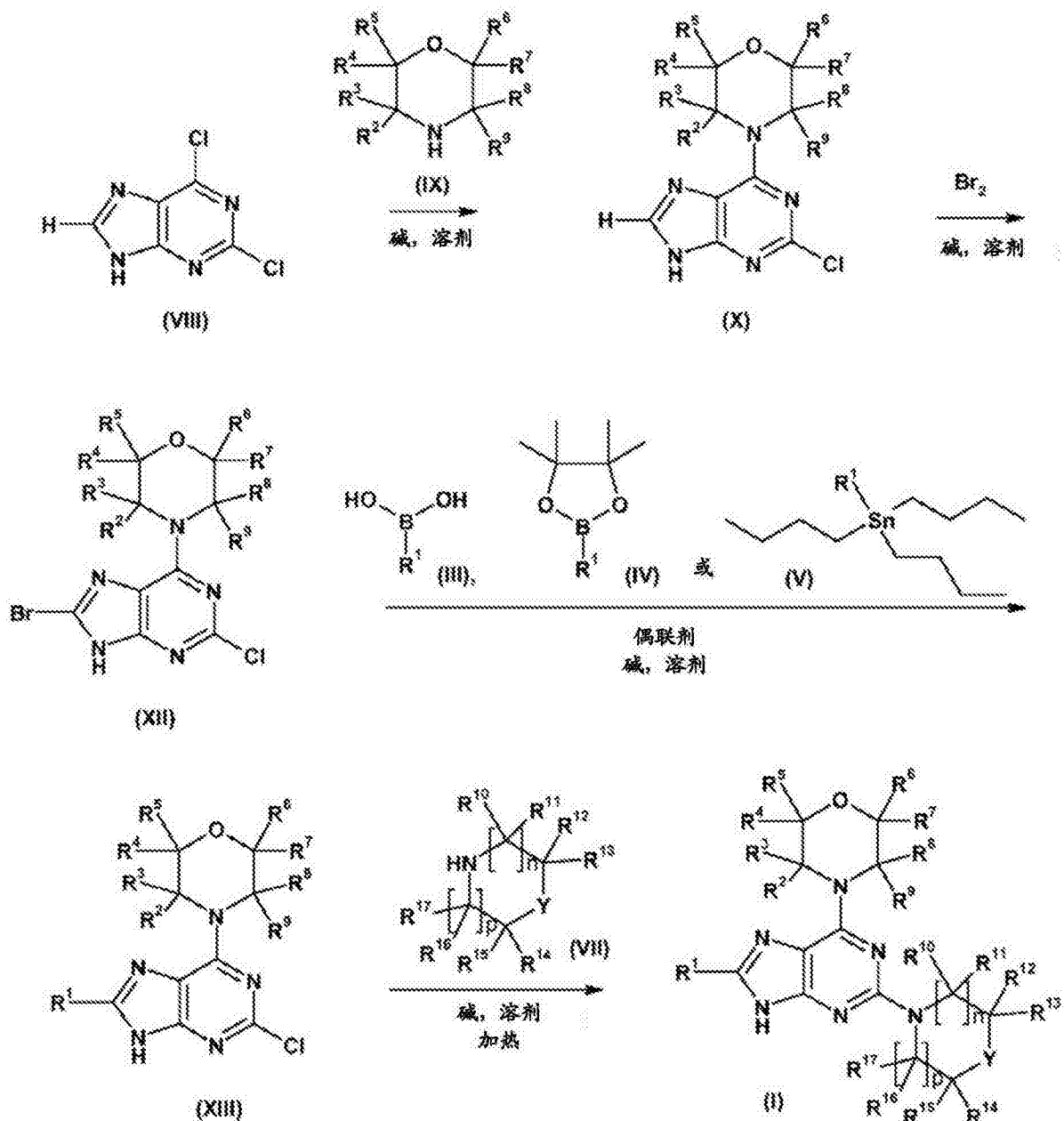
[0217]



[0218] 通常,可以根据流程 1 在四个步骤中由商购可得物质 (VIII) 作为原料制备式 (I) 化合物。关于如上所示的流程中的各单独的步骤,步骤 1 包括通过用亲核试剂例如官能团化的吗啉代中间体 (IX) 替代氯来制备中间体 (X)。可以通过使中间体 (X) 与中间体 (VII) 在足量碱例如二异丙基乙胺、溶剂例如二甲基乙酰胺的存在下、并加热进行反应来制备中间体 (XI)。步骤 3 包括使用在适合的溶剂诸如二氯甲烷中的溴将中间体 (XI) 溴化为中间体 (II)。通过使用金属催化剂(最常见的实例是商购可得的钯复合物)将中间体 (II) 与多种商购可得的或合成的结构 (III) 或 (IV) 的硼酸或酯或式 (V) 的三丁基锡烷基衍生物进行偶联可以制备式 (I) 目标化合物。

[0219] 流程 2. 合成嘌呤化合物的通用方法 2

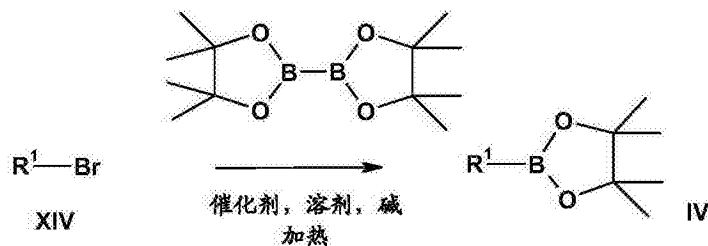
[0220]



[0221] 通常,可以根据流程 2 在四个步骤中由商购可得物质 (VIII) 作为原料制备式 (I) 化合物。关于如上所示的流程中的各单独步骤,步骤 1 包括通过使用亲核试剂诸如式 (IX) 的官能团化的吗啉代中间体替代氯来制备中间体 (X)。中间体 (XII) 可以通过在适合的溶剂诸如二氯甲烷的存在下溴化中间体 (X) 来制备。步骤 3 包括使用金属催化剂(最常见的实例是商购可得的钯复合物)将中间体 (XII) 与多种商购可得的或合成的结构 (III) 或 (IV) 的硼酸或酯或式 (V) 的三丁基锡烷基衍生物进行偶联。可以通过在足量碱诸如二异丙基乙胺、溶剂诸如二甲基乙酰胺的存在下、并加热或在微波辐照下用官能团化的吗啉代中间体 (VII) 处理中间体 (XIII) 来制备式 (I) 的目标化合物。

[0222] 流程 3. 合成烷基硼酸酯的通用方法

[0223]



[0224] 可以根据流程 3 在一个步骤中制备式 (IV) 的硼酸酯, 其中 R¹ 如对式 (I) 中所述。所述步骤包括在商购可得的钯催化剂、溶剂诸如二噁烷的存在下、并在 80°C 至 120°C 的范围的温度将式 (XIV) 的取代的芳基溴或杂芳基溴与联硼酸频哪醇酯 (bis(pinacolato)diboron) 进行反应。

[0225] 本发明还包括本发明方法的任何变型, 其中反应组分以它们的盐或旋光纯物质形式使用。本发明化合物和中间体还可以根据本领域技术人员公知的方法相互转化。

[0226] 游离形式或可药用盐形式的式 (I) 的化合物、下文通常称作“本发明的活性剂”在体外测试时显示有价值的药理学特性且由此可以用于药物中、疗法中的或用作研究化学品, 例如用作工具化合物。

[0227] 本发明的活性剂是 mTOR 的抑制剂。本发明化合物对 mTOR 的抑制特性可以在如下文所述的试验中评价。

[0228] 生物学试验

[0229] 试验 1: 基于用于重组人 mTOR 的 TR-FRET mTOR ATP-结合试验

[0230] 1. 在 384-孔“主培养板 (masterplate)”中在 90% DMSO 中进行化合物的 8-点系列稀释 (10mM 储备溶液), 并将 50nL 转移至 384-孔测定板 (白色聚苯乙烯小容量; Matrix/Thermo Scientific 目录号 #4365)。

[0231] 2. 该试验的最终体积为 10 μL, 添加次序如下:

[0232] 50nL 化合物稀释液;

[0233] GST-mTOR 与有或没有 PI3K/mTOR 抑制剂 PI-103 (3-(4-(4-吗啉基)吡啶并 [3', 2': 4, 5] 呋喃并 [3, 2-d] 嘧啶 -2-基) 苯酚, Calbiochem) 的钨抗 -GST 抗体的 5 μL 混合液;

[0234] 5 μL 示踪剂 -314。

[0235] 在室温温育 60 分钟。

[0236] 在以下条件下在 Biotek Synergy2 读板器测定 TR-FRET:

[0237] 激发 340nm/ 发射 665nm

[0238] 激发 340nm/ 发射 620nm

[0239] 测定缓冲液由 50mM HEPES pH7.5、5mM MgCl₂、1mM EGTA、0.01% Pluronic F-127 组成。示踪剂 -314 (Alexa **Fluor**® 647-标记的 ATP-竞争性激酶抑制剂; 目录号 PV6087)、钨抗 -GST 抗体 (目录号 PV5594) 和 N-端 GST-标记的截短的人 mTOR (FRAP1) (目录号 PV4754) 从 Invitrogen 获得。

[0240] 使用以下的最终浓度:

[0241] 3nM GST-mTOR;

[0242] 1nM 钨抗 -GST 抗体;

[0243] +/-10 μ M PI-103 ;且

[0244] 10nM 示踪剂 -314。

[0245] 稀释化合物的最终浓度为 9091 ;2730 ;910 ;273 ;91 ;27 ;9 ;和 3nM。DMSO 的最终浓度是 0.45%

[0246] 使用以下的对照 :

[0247] 高信号 : 溶剂介质、GST-mTOR、Eu- 抗 -GST 抗体、示踪剂 -314 ;

[0248] 低信号 : 溶剂介质、GST-mTOR、Eu- 抗 -GST 抗体、PI-103、示踪剂 -314。

[0249] 3. IC₅₀测定可如下进行 :

[0250] 用在 340/620 处的原始信号除以在 340/665 处的原始信号得到发射比例 (emission ratio)。

[0251] 将发射比例转化为各化合物浓度的抑制百分比。通过将 S 形剂量 - 效应曲线拟合至试验读数相对化合物浓度的图来计算 IC₅₀值。使用 Xlfit4 程序 (ID Business Solutions, Guildford, UK) 进行所有的拟合和分析。

[0252] 试验 2:细胞 mTOR试验

[0253] 在源自缺乏 TSC1 (Tuberosclerosis Complex1, mTOR 激酶活性的强效抑制基因) 的小鼠的 MEF (小鼠胚胎成纤维细胞) 细胞中进行基于细胞的试验 (384- 孔模式), 用于测定化合物对细胞 mTOR 激酶的活性。由于缺乏 TSC1, mTOR 激酶被组成性激活, 导致 S6 激酶 1 (S6K1) 的 Thr389 (为 mTOR 的下游靶点之一) 的持久增加的磷酸化 (Kwiatkowski D. J., Zhang H., Bandura J. L. 等 (2002))。TSC1 的小鼠模型显示肝血管瘤的性别依赖的致死性, 和在 TSC 裸细胞中的 p70S6 激酶活性的向上调节。Hum. Mol. Gen. 11:525-534)。

[0254] 第 0 天 :

[0255] 细胞接种 : 在补充有 10% 热灭活 FCS 和 2% HEPES 的 DMEM 高葡萄糖培养液中培养亚融合的 TSC1-/-MEF。将 mTOR 在这些细胞中组成性激活, 造成 p70S6 激酶的持久增加的磷酸化。通过胰蛋白酶消化收获细胞, 再混悬于生长培养基中, 计数, 并调节至 133, 333 细胞 /ml。使用 Multidrop 装置 (Thermo scientific) 向 384 孔 - 板中每孔加入 30 μ l, 得到 4000 细胞 / 孔。将板在 37°C /5% CO₂的条件下温育 20 小时 (使得沉降并粘附于表面)。

[0256] 第 1 天 :

[0257] 化合物处理 : 在 90% DMSO 中制备测试 - 化合物的八个 3- 倍系列稀释 (在 1.8mM 开始), 并安排在 384 孔主培养板 (Greiner) 中。将 pan-pPI3K/mTOR 抑制剂 (0.8mM 在 90% DMSO 中的 8-(6- 甲氧基 - 吡啶 -3- 基) -3- 甲基 -1-(4- 哌嗪 -1- 基 -3- 三氟甲基 - 苯基) -1, 3- 二氢 - 咪唑并 [4, 5-c] 喹啉 -2- 酮) 加入各孔中作为低对照 (low control)。将 90% DMSO 加入各孔中作为高对照 (high control)。转移 250nl (Hummingbird) 化合物至 384 孔 - 聚丙烯微孔板 (化合物板) 中。用 Multidrop 将 50 μ l 生长培养基加入化合物板中 (稀释 1:200)。震荡后 (2000rpm, 1 分钟), 用 Matrix Plate Mate2x3 移液器将 10 μ l 第一次稀释液转移至细胞板 (最终稀释 1:4)。处理 1 小时后, 将培养基从板中除去, 并将 20 μ l Surefire 裂解缓冲液用 Multidrop 加入每孔中。

[0258] Surefire 测定 : 将细胞裂解物冷冻 15 分钟, 振荡解冻, 并转移至实验的 384 孔 - Proxiplate (5 μ l / 孔) 中, 用于 P-P70S6K (T389) Surefire 测定 (Perkin Elmer#TGR70S50)。第一批混合液由反应缓冲液 (含特异性抗体)、激活缓冲液和受体小珠

组成（分别为 40 体积、10 体积和 1 体积）。使用 **Zephyr®** SPE 工作站 (Caliper Life Sciences) 以 5 μ l/孔将其加入裂解物中,并在室温在振荡下温育 2 小时。该温育时间后,用相同的装置将稀释缓冲液和供体小珠（分别为 20 体积和 1 体积）的第二批混合液加入板中 (2 μ l/孔)。2 小时后,可以用 **EnVision®** Multilabel Reader (Perkin Elmer) 读取该板。由于小珠为光敏的,它们的转移和温育在暗室中进行 (绿光)。

[0259] 第 2 天:

[0260] 数据分析:使用原始数据以得到测试化合物的剂量响应曲线,并由此计算 IC₅₀ 值。

[0261] 试验 3:自噬试验

[0262] 自噬是能够使氨基酸和脂肪酸再循环的溶酶体隔室中降解散状胞质溶胶的分解代谢途径。自噬的关键调节剂之一是雷帕霉素的哺乳动物靶标 (mTOR),即保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,当营养物、生长因子和能量可得到时它抑制自噬过程的启动。为了对 mTOR 抑制剂诱导的自噬定量,我们使用 mCherry-GFP-LC3 报道分子,它易于将逆转录病毒递送入哺乳动物细胞、稳定表达和通过荧光显微镜检查分析。

[0263] mCherry-GFP-LC3 受体

[0264] 如下显示了 mCherry-GFP-LC3 构建体的氨基酸序列 (SEQ ID NO:1)。给 mCherry 序列加下划线, GFP 序列以粗体表示,给 LC3A 序列加框。

[0265] MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQ
FMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKT
MWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAE
GRHSTGGMDELYKPVATMVSKGEELFTGVVPILEVELDGDVNGHKFSVSGEGEDATYGKLTCLKFICTTGKLPVWPWT
LVTTLTYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNI
LGHKLEYNYNSHNVYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALS
KDPNE
KRDHMLLEFVTAAGITLGMDELYKSGLRSAQASNSAVD **MPSDRP**

FKQRRSFADRCKEVQQIRDQHPSKIPVIERKGEKQLPVLDTKFLVPD

HVNMSSELVKIIRRLQLNPTQAFFLLVNQHSMVSVSTPIADIYEQEKDED

GFLYMVYASQETFGF

[0266] 下文描述了用于显示和测定自噬途径中的改变的成像方案和图像识别算法。

[0267] 使用高容量成像和分析的自噬定量

[0268] 1. 第 0 天:细胞铺板。通过胰蛋白酶消化收集亚汇合的 H4mCherry-GFP-LC3 细胞,再混悬于生长培养基,计数 (H4 细胞:人神经胶质瘤细胞系 (ATCC))。制备 66`000 细胞 /mL 的细胞混悬液,使用电子多通道移液管将 30 μ l 加入 384-孔培养板的各孔。这导致以 2000 细胞 /孔铺板。将培养板短暂自旋,置于 37°C 和 5% CO₂。

[0269] 2. 第 1 天:化合物处理:用 DMSO 制备化合物。然后用介质将化合物按 1:50 稀释。将 10 μ l 稀释的化合物加入到 30 μ l 细胞中,得到原始化合物的最终 1:200 稀释度和 0.5% DMSO 的终浓度。一式三份地进行化合物 - 处理。将 384-孔培养板置于 37°C 和 5% CO₂。化合物处理进行 16-18h (参见注释 1)。

[0270] 3. 第2天:细胞固定:通过添加10 μ L/孔5x浓缩的补充了25 μ g/mL Hoechst33342的Mirsky固定剂固定细胞。这导致是总体积为50 μ L/孔且浓度为1x Mirsky固定剂和5 μ g/mL Hoechst33342。将384-孔培养板短暂自旋,在室温温育1h。然后用384-孔培养板洗涤器、使用抽取使体积降至10 μ L/孔、然分配100 μ L/孔1X TBS的方案洗涤细胞。将抽吸和分配步骤重复4次,保持终体积100 μ L/孔。使用粘性PCR箔密封培养板。

[0271] 4. 成像:用70%乙醇清洁培养板底部,然后使用InCell11000自动表面荧光显微镜成像。使用20x放大倍数,每个孔成像4个不同区域(视野),这典型地捕捉到总计约400个细胞/孔。使用360nm激发(D360_40x过滤器)、460nm发射(HQ460_40M过滤器)和150ms曝光时间获取Hoechst33342图。使用475nm激发(S475_20x过滤器)、535nm发射(HQ535_50M过滤器)和1s曝光时间获取GFP图像。使用535nm激发(HQ535_50x过滤器)、620nm发射(HQ620_60M过滤器)和1s曝光时间获取mCherry图像。将四倍通带镜(quadruple band pass mirror)用于全部图像。

[0272] 5. 图像分析:InCell分析软件用于使用多靶标分析算法分析图像。首先,使用顶-帽分段(top-hat segmentation)和50 μ m²的最小核面积检测Hoechst33342图像中的核。使用核周围10 μ m环确定细胞。其次,使用多-顶-帽分段(multi-top-hat segmentation)鉴定mCherry图像中的点(细胞器)。第三,将mCherry点的掩蔽物转入GFP图像上。第四,测定mCherry点掩蔽物内侧的GFP荧光强度(对照强度)。

[0273] 6. `细胞器`参数反映出mCherry-GFP-LC3报道分子的mCherry-阳性点并且用于计算`LC3点/细胞`。为了该目的,计算每个细胞的细胞器数量并且求指定孔内全部细胞的平均值(基于每个细胞的平均值)。将mCherry-阳性LC3点数(y-轴)对化合物剂量响应值(x-轴)作图并且对每种化合物计算EC50值。EC50值表示自噬活化方面的化合物效力(例如mCherry-阳性LC3点数的增加)。

[0274] 注

[0275] 1. 在3-4h的化合物处理时间后已经可以观察到mCherry-GFP-LC3的自噬-调节和再分布。然而,使用16-18h的处理时间观察到更显著的效果。

[0276] 实施例中的化合物在上述测定中测试时显示下表1中所示的值。

[0277] 表1

[0278]

实施例 编号	试验 1: mTOR 结合试 验 IC ₅₀ (nM)	试验 2: T389 细胞试 验 IC ₅₀ (nM)	试验 3: 自噬 EC ₅₀ (nM)
1	139	1010	351
2	104	131	1050
3	164	76	422
4	2122	1550	2155
5	21	122	n.d.
6	66	1185	423
7	184	997	1317
8	1027	806	n.m.
9	860	n.d.	n.d.
10	343	135	1439
11	385	190	1524
12	194	534	674
13	143	618	935
14	76	250	855
15	60	194	752
16	308	259	n.m.
17	112	224	663
18	91	249	n.m.
19	296	471	727
20	484	319	n.m.
21	122	179	n.d.

[0279]

22	1510	1040	1682
23	78	104	n.m.
24	369	229	302
25	380	1930	n.d.
26	67	318	n.d.
27	2412	1191	4743
28	754	272	2371
29	1314	498	3606
30	364	1137	1457
31	28	71	145
32	533	1120	>6000

[0280] n. d. = 未测定 ;n. m. = 不能测定

[0281] 如上文所述的试验结果所示,本发明化合物可用于治疗通过抑制 mTOR 酶而调节的疾病、病症和障碍;因此,本发明化合物(包括其中使用的组合物和方法)可以用于制备本文所述的治疗应用的药物。因此,本发明的另一个实施方案是药物组合物,其包含本发明化合物或其可药用盐以及可药用赋形剂、稀释剂或载体。

[0282] 通过混合本发明化合物和载体、稀释剂或赋形剂制备典型制剂。适合的载体、稀释剂和赋形剂是本领域技术人员众所周知的且包括这样的材料,例如碳水化合物、蜡、水溶性和/或可溶胀性聚合物、亲水性或疏水性材料、明胶、油、溶剂、水等。所用的具体载体、稀释剂或赋形剂取决于本发明化合物的应用方式和目的。溶剂一般基于本领域技术人员认为安全施用于哺乳动物的溶剂选择。一般而言,安全的溶剂是无毒性水性溶剂例如水和其他可溶于水或易于与水溶混的无毒性溶剂。适合的水性溶剂包括水、乙醇、丙二醇、聚乙二醇(例如 PEG400、PEG300)等及其混合物。制剂还可以包括一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、湿润剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、香味剂、矫味剂和其他已知给药物(即本发明化合物或其药物组合物)提供优美外观或有助于制备药物产品(即药物)的添加剂。

[0283] 可以使用溶解和混合方法制备制剂。例如,将原料药(即本发明化合物或该化合物的稳定形式(例如与环糊精衍生物或其他已知复合试剂复合))在一种或多种赋形剂的存在下溶于适合的溶剂。典型地将本发明化合物配制成药物剂型,得到药物剂量易于可控并且得到美观和易于操控的产品。

[0284] 可以以不同方式包装用于应用的药物组合物(或制剂),这取决于用于施用药物的方法。一般而言,用于分配的制品包括其中贮存适合形式的药物制剂的容器。适合的容器是本领域技术人员众所周知的且包括这样的材料,例如瓶(塑料和玻璃)、小药囊、安瓿、塑料袋、金属量筒等。该容器还可以包括防干扰装置以防止不慎进入包装内容物。此外,该容器上存在描述容器内容物的标签。所述标签还可以包括适当的警告性语言。

[0285] 在一个实施方案中,本发明涉及由 mTOR 介导的细胞增殖性疾病、例如肿瘤和/或癌性细胞生长的治疗。疾病包括那些显示 PI3K α 的过表达或扩增、Rheb、PIK3CA 的体细

胞突变或 PTEN 的种系突变或体细胞突变、TSC1、TSC2、或用于正调节 p85-p110 复合物的 p85 α 的突变和易位的那些疾病。具体而言，化合物可用于治疗人或动物（例如鼠科动物（murine））癌症，包括例如肉瘤；肺癌；支气管癌；前列腺癌；乳腺癌（包括散发的乳腺癌和考登病患者）；胰腺癌；胃肠癌；结肠癌；直肠癌；结肠癌；结肠直肠腺瘤；甲状腺癌；肝癌；肝内胆管癌；肝细胞癌；肾上腺癌；胃癌；胃癌；神经胶质瘤；胶质母细胞瘤；子宫内膜癌；黑素瘤；肾癌；肾盂癌；膀胱癌；子宫体癌；子宫颈癌；阴道癌；卵巢癌；多发性骨髓瘤；食管癌；白血病；急性髓性白血病；慢性髓性白血病；淋巴细胞白血病；髓性白血病；脑癌；脑的癌；口腔和咽癌；喉癌；小肠癌；非霍奇金淋巴瘤；黑素瘤；绒毛状结肠腺瘤；瘤形成；上皮特征的瘤形成；淋巴瘤；乳癌；基底细胞癌；鳞状细胞癌；光化性角化病；肿瘤疾病，包括实体瘤；颈或头部肿瘤；真性红细胞增多症；原发性血小板增多症；骨髓纤维化伴骨髓化生；和瓦尔登斯特伦病。

[0286] 在其他实施方案中，所述病症或障碍选自：真性红细胞增多症、特发性血小板增多症、骨髓纤维化伴骨髓化生、哮喘、COPD、ARDS、勒夫勒综合征、嗜酸细胞性肺炎、寄生虫（特别是后生动物）侵染（包括热带嗜酸细胞增多）、支气管肺曲霉病、结节性多动脉炎（包括丘-斯综合征）、嗜酸细胞肉芽肿、由药物反应引起的影响气道的与嗜酸性细胞有关的障碍、银屑病、接触性皮炎、特应性皮炎、斑秃、多形性红斑、疱疹样皮炎、硬皮病、白斑、变应性血管炎、荨麻疹、大疱性类天疱疮、红斑狼疮、天疱疮、后天性大疱性表皮松解、自身免疫性血液病（例如溶血性贫血、再生障碍性贫血、纯红细胞贫血和特发性血小板减少）、系统性红斑狼疮、多发性软骨炎、硬皮病、韦格纳肉芽肿病、皮炎、慢性活动性肝炎、重症肌无力、斯-琼氏综合征、特发性口炎性腹泻、自身免疫性炎症肠病（例如溃疡性结肠炎和克罗恩病）、内分泌性眼病、格雷夫斯病、结节病、肺泡炎、慢性过敏性肺炎、多发性硬化症、原发性胆汁性肝硬化、（前和后）眼色素层炎、肺间质纤维化、银屑病关节炎、肾小球肾炎、心血管疾病、动脉粥样硬化、高血压、深部静脉血栓形成、卒中、心肌梗死、不稳定心绞痛、血栓栓塞、肺栓塞、血栓溶解性疾病、急性动脉缺血、外周血栓性阻塞和冠状动脉疾病、再灌注损伤、视网膜病、例如糖尿病性视网膜病或高压氧引起的视网膜病，以及以升高眼内压或眼房水分泌为特征的病症、例如青光眼。

[0287] 与 mTOR 激酶活性失调具有确立或潜在的分子关联的另外的综合征例如描述在下列文献中：“K. Inoki 等人；Disregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease, Nature Genetics, 第 37 卷, 19-24”；“D. M. Sabatini；mTOR and cancer: insights into a complex relationship, Nature Reviews, 第 6 卷, 729-734”；和“B. T. Hennessy 等人；Exploiting the PI3K/Akt pathway for cancer drug discovery, Nature Reviews, 第 4 卷, 988-1004”，以及如下：

[0288] • 器官或组织移植排斥，例如用于治疗例如心脏、肺、复合心-肺、肝、肾、胰腺、皮肤或角膜移植的接受者；移植物抗宿主病，例如骨髓移植后；

[0289] • 再狭窄

[0290] • 结节性硬化症；

[0291] • 淋巴管平滑肌瘤病；

[0292] • 色素性视网膜炎和其他视网膜变性障碍；

[0293] • 自身免疫疾病，包括脑脊髓炎、胰岛素依赖性糖尿病、狼疮、皮炎、关节炎和风

湿性疾病；

- [0294] • 类固醇抗性急性淋巴母细胞白血病；
- [0295] • 纤维变性疾病,包括硬皮病、肺纤维化、肾纤维化、囊性纤维化；
- [0296] • 肺动脉高压；
- [0297] • 免疫调节；
- [0298] • 多发性硬化；
- [0299] • VHL 综合征；
- [0300] • Carney 综合征；
- [0301] • 家族性腺瘤性息肉病；
- [0302] • 幼年性息肉病综合征
- [0303] • Birt-Hogg-Duke 综合征；
- [0304] • 家族性肥大性心肌病；
- [0305] • Wolf-Parkinson-White 综合征；
- [0306] • 神经变性疾病,例如 tau 突变导致的帕金森病、亨廷顿病、阿尔茨海默病和痴呆、脊髓小脑共济失调 3 型、SOD1 突变导致的运动神经元病、神经元蜡样脂褐质沉积症 /Batten 病 (儿科神经变性)
- [0307] • 眼科疾病,诸如湿和干性黄斑变性、眼色素层炎 (包括自身免疫性眼色素层炎)、视网膜病、诸如糖尿病性视网膜病或高压氧 - 诱导的视网膜病和青光眼
- [0308] • 肌萎缩 (萎缩,恶病质) 和肌病,例如 Danon 病；
- [0309] • 细菌和病毒感染,包括结核分枝杆菌 (M. tuberculosis)、A 组链球菌、HSV I 型、HIV 感染；
- [0310] • 神经纤维瘤病,包括 1 型神经纤维瘤 ;和
- [0311] • 波伊茨 - 耶格综合征、考登病。
- [0312] 对 mTORC1 具有抑制活性的化合物已经在免疫调节和治疗增殖性疾病、例如晚期肾细胞癌或结节 - 硬化 (TSC) 种系突变相关障碍中显示了有益性。
- [0313] 对于以上用途,所需的剂量当然将根据施用方式、所治疗的具体病症和所期望的作用而改变。通常,以约 0.03 至约 100.0mg/kg 体重,例如约 0.03 至约 10.0mg/kg 体重的日剂量全身施用表明可获得满意的结果。大型 哺乳动物、例如人的指示日剂量的范围为约 0.5mg 至约 3g,例如约 5mg 至约 1.5g,其方便地例如以一天最多四次的分剂量或以延迟释放形式施用。适合于口服施用的单位剂型包含约 0.1 至约 500mg,例如约 1.0 至约 500mg 活性成分。
- [0314] 通常,本发明化合物将作为药物组合物通过如下途径的任意一种施用 :口服、全身 (例如透皮、鼻内或通过栓剂) 或胃肠外 (例如肌内、静脉内或皮下) 施用。优选的施用方式是使用便利的每日剂量方案口服,可以根据病患程度调整。组合物可以采用片剂、丸剂、胶囊、半固体、粉末、缓释制剂、溶液、混悬液、酞剂、气雾剂或任意其他适合的组合物的形式。用于施用本发明化合物的另一种优选的方式是吸入。这是用于将治疗剂直接递送至呼吸道的有效方法。
- [0315] 因此,本发明还提供了：
- [0316] • 在需要治疗的个体中预防或治疗通过激活 PI3K (例如 PI3 激酶 α) 酶和 / 或

mTOR 酶所介导的病症、障碍或疾病的方法,例如以上所示的那些疾病,该方法包括向所述个体施用有效量的本发明化合物或其可药用盐。在一个实施方案中,提供了在需要治疗的个体中预防或治疗癌症、神经变性疾病或眼科疾病的方法,该方法包括向所述个体施用有效量的本发明化合物或其可药用盐。在另一个实施方案中,所述的神经变性疾病是帕金森病、亨廷顿病或阿尔茨海默病。在又一个实施方案中,所述的神经变性疾病是亨廷顿病。

[0317] • 用作药物的本发明化合物或其可药用盐,例如用于本文所述的任何病症、障碍或疾病中,特别是用于一种或多种磷脂酰肌醇 3- 激酶介导的疾病。在一个实施方案中,提供了本发明化合物或其可药用盐,其用于预防或治疗癌症、神经变性疾病或眼科疾病。在另一个实施方案中,所述的神经变性疾病是帕金森病、亨廷顿病或阿尔茨海默病。在又一个实施方案中,所述的神经变性疾病是亨廷顿病。

[0318] • 本发明化合物或其可药用盐在药物中作为药物活性成分的应用,例如用于治疗或预防本文所述的任何病症、障碍或疾病中、特别是用于治疗或预防一种或多种磷脂酰肌醇 3- 激酶介导的疾病。在一个实施方案中, 提供了在药物中作为药物活性成分的本发明化合物或其可药用盐,所述药物用于预防或治疗癌症、神经变性疾病或眼科疾病。在另一个实施方案中,所述的神经变性疾病是帕金森病、亨廷顿病或阿尔茨海默病。在又一个实施方案中,所述的神经变性疾病是亨廷顿病。

[0319] • 本发明化合物或其可药用盐在制备用于治疗或预防一种或多种磷脂酰肌醇 3- 激酶介导的疾病的药物中的应用。在一个实施方案中,提供了本发明化合物或其可药用盐在制备用于预防或治疗癌症、神经变性疾病或眼科疾病的药物中的应用。在另一个实施方案中,所述的神经变性疾病是帕金森病、亨廷顿病或阿尔茨海默病。在又一个实施方案中,所述的神经变性疾病是亨廷顿病。

[0320] 本发明的活性剂可以作为单独的药物活性成分施用或作为与至少一种例如对治疗或预防癌症或神经变性疾病有效的另外的药物活性成分的组合施用。此类药物组合可以是单位剂型,该单位剂型包含预定量的所述至少两种活性组分中的每种以及至少一种可药用赋形剂、稀释剂或载体。或者,该药物组合可以是分别包含所述至少两种活性组分的包装形式,例如用于同时或分别施用至少所述两种活性组分的包装或分配装置,其中这些活性组分分别放置。另一方面,本发明涉及所述药物组合。

[0321] 在进一步的方面,因此本发明涉及含本发明的活性剂或其可药用盐和另外的治疗剂的组合产品。

[0322] 在一个实施方案中,所述组合产品是含本发明的活性剂或其可药用盐和另外的治疗剂以及可药用赋形剂、稀释剂或载体的药物组合物。

[0323] 在一个实施方案中,所述组合产品是药盒,其包含两种或更多种单独的药物组合物,其中至少一种包含本发明的活性剂。在一个实施方案中,该药盒包含用于分别保存所述组合物的装置,例如容器、分开的瓶或分开的箔包装。此类药盒的实例是泡罩包装,如常用于片剂、胶囊等的泡罩包装。本发明的药盒可用于施用不同的剂型,例如口服和胃肠外剂型,用于在不同的剂量间隔施用单独的组合物,或用于针对彼此逐步增加所述单独的组合物的剂量。为了协助顺应性,本发明的药盒通常包括施用说明书。

[0324] 由于它们的 mTOR 抑制活性,本发明化合物单独或组合可用于治疗癌症。因此,在一个实施方案中,本发明涉及与另外的治疗剂组合的本发明化合物或其可药用盐,其中所

述另外的治疗剂选自下文所述的抗癌剂：

[0325] (a) 激酶抑制剂：例如表皮生长因子受体 (EGFR) 激酶抑制剂，例如小分子喹唑啉类，包括吉非替尼 (US5457105、US5616582 和 US5770599)、ZD-6474 (W001/32651)、厄洛替尼 (**Tarceva**®，US5,747,498 和 W096/30347) 和拉帕替尼 (US6,727,256 和 W002/02552)；血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 激酶抑制剂，包括 SU-11248 (W001/60814)、SU5416 (US5,883,113 和 W099/61422)、SU6668 (US5,883,113 和 W099/61422)、CHIR-258 (US6,605,617 和 US6,774,237)、瓦他拉尼或 PTK-787 (US6,258,812)、VEGF-Trap (W002/57423)、B43-染料木素 (Genistein) (W0-09606116)、芬维 A 胺 (fenretinide) (维 A 酸对-羟基苯胺) (US4,323,581)、IM-862 (W002/62826)、贝伐单抗或 **Avastin**® (W094/10202)、KRN-951、3-[5-(甲基磺酰基哌啶甲基)-吡啶基]-喹诺酮、AG-13736 和 AG-13925、吡咯并 [2,1-f] [1,2,4] 三嗪类、ZK-304709、**Veglin**®、VMDA-3601、EG-004、CEP-701 (US5,621,100)、Cand5 (W004/09769)；Erb2 酪氨酸激酶抑制剂，例如帕妥珠单抗 (W001/00245)、曲妥珠单抗和利妥昔单抗；Akt 蛋白激酶抑制剂，例如 RX-0201；蛋白激酶 C (PKC) 抑制剂，例如 LY-317615 (W095/17182) 和 哌立福新 (US2003171303)；Raf/Map/MEK/Ras 激酶抑制剂，包括索拉非尼 (BAY43-9006)、ARQ-350RP、LErafAON、BMS-354825AMG-548 和其他公开于 W003/82272 的抑制剂；成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 激酶抑制剂；细胞依赖性激酶 (CDK) 抑制剂，包括 CYC-202 或 roscovitine (W097/20842 和 W099/02162)；血小板衍生生长因子受体 (PGFR) 激酶抑制剂，例如 CHIR-258、3G3mAb、AG-13736、SU-11248 和 SU6668；和 Bcr-Abl 激酶抑制剂和融合蛋白，例如 STI-571 或 **Gleevec**® (伊马替尼)。

[0326] (b) 抗雌激素药：选择性雌激素受体调节剂 (SERM)，包括他莫西芬、托瑞米芬、雷洛西芬；芳香酶抑制剂，包括 **Arimidex**® 或阿那曲唑；雌激素受体下调剂 (ERD)，包括 **Faslodex**® 或氟维司群。

[0327] (c) 抗雄激素药：诸如氟他胺、比卡鲁胺、非那甾胺、氨鲁米特、酮康唑和皮质甾类。

[0328] (d) 其他抑制剂：诸如蛋白法呢基转移酶抑制剂，包括替匹法尼或 R-115777 (US2003134846 和 W097/21701)、BMS-214662、AZD-3409 和 FTI-277；拓扑异构酶抑制剂，包括美巴龙 (merbarone) 和二氟替康 (diflomotecan) (BN-80915)；有丝分裂驱动蛋白纺锤体蛋白 (KSP) 抑制剂，包括 SB-743921 和 MKI-833；蛋白酶体调节剂，例如硼替佐米 (bortezomib) 或 **Velcade**® (US5,780,454)、XL-784；和环氧酶 2 (COX-2) 抑制剂，包括非甾体抗炎药 I (NSAID)。

[0329] (e) 癌症化疗药：诸如阿那曲唑 (**Arimidex**®)、必卡他胺 (**Casodex**®)、硫酸争光霉素 (**Blenoxane**®)、白消安 (**Myleran**®)、白消安注射剂 (**Busulfex**®)、卡培他滨 (**Xeloda**®)、N4-戊氧基羰基-5-脱氧-5-氟胞苷、卡铂 (**Paraplatin**®)、卡氮芥 (**BicNU**®)、苯丁酸氮芥 (**Leukeran**®)、顺铂 (**Platinol**®)、克拉屈滨 (**Leustatin**®)、环磷酰胺 (**Cytoxan**® 或 **Neosar**®)、阿糖胞苷

(cytarabine)、阿糖胞苷 (cytosine arabinoside) (**Cytosar-U**®)、阿糖胞苷脂质体注射液 (**DepoCyt**®)、氮烯唑胺 (**DTIC-Dome**®)、放线菌素 D (Actinomycin D, Cosmegen)、柔红霉素盐酸盐 (**Cerubidine**®)、柔红霉素柠檬酸盐脂质体注射液 (**DaunoXome**®)、地塞米松、多烯紫杉醇 (**Taxotere**®)、多柔比星盐酸盐 (**Adriamycin**®、**Rubex**®)、足叶乙甙 (**Vepesid**®)、氟达拉滨磷酸盐 (**Fludara**®)、5-氟尿嘧啶 (**Adrucil**®、**Efudex**®)、氟他胺 (**Eulexin**®)、替扎他滨 (tezacitibine)、吉西他滨 (二氟去氧胞苷)、羟基脲 (**Hydrea**®)、依达比星 (**Idamycin**®)、异环磷酰胺 (**IFEX**®)、依立替康 (**Camptosar**®)、L-天门冬酰胺酶 (**ELSPAR**®)、甲酰四氢叶酸钙、美法仑 (**Alkeran**®)、6-巯基嘌呤 (**Purinethol**®)、甲氨蝶呤 (**Folex**®)、米托蒽醌 (**Novantrone**®)、吉妥单抗 (mylotarg)、紫杉醇 (**Taxol**®)、phoenix (Yttrium90/MX-DTPA)、喷司他丁、卡莫司汀植入膜剂 20 (polifeprosan20) (**Gliadel**®)、他莫西芬柠檬酸盐 (**Nolvadex**®)、替尼泊甙 (**Vumon**®)、6-巯鸟嘌呤、噻替派、替拉扎明 (**Tirazone**®)、注射用拓扑替康盐酸盐 (**Hycamptin**®)、长春碱 (**Velban**®)、长春新碱 (**Oncovin**®) 和长春瑞滨 (**Navelbine**®)。

[0330] (f) 烷化剂：诸如 VNP-40101M 或 cloretizine、奥沙利铂 (US4,169,846、W003/24978 和 W003/04505)、葡磷酰胺、马磷酰胺、依托泊苷 (US5,041,424)、泼尼莫司汀、曲奥舒凡、白消安、伊洛福芬 (iroflufen) (酰基富烯)、五氯甲定 (penclomedine)、吡唑并吡啶 (PD-115934)、06-苄基鸟嘌呤、地西他滨 (5-氮杂-2-去氧胞苷)、溴他利星、丝裂霉素 C (MitoExtra)、TLK-286 (**Telcyta**®)、替莫唑胺、曲贝替定 (US5,478,932)、AP-5280 (顺铂的铂酸盐制剂)、甲基丝裂霉素和 clearazide (meclorothamine)。

[0331] (g) 螯合剂：诸如四硫钼酸铵 (W001/60814)、RP-697、Chimeric T84.66 (cT84.66)、钆磷维塞 (gadofosveset) (**Vasovist**®)、去铁胺以及任选与电穿孔 (electroporation) (EPT) 联合应用的博来霉素。

[0332] (h) 生物响应调节剂：诸如免疫调节剂，包括星孢素及其大环类似物，包括 UCN-01、CEP-701 和米喹妥林 (参见 WO 02/30941、WO 97/07081、WO 89/07105、US5,621,100、WO 93/07153、WO 01/04125、WO 02/30941、WO 93/08809、WO 94/06799、WO 00/27422、WO 96/13506 和 W088/07045)；角鲨胺 (WO 01/79255)；DA-9601 (WO 98/04541 和 US6,025,387)；阿来组单抗；干扰素类 (例如 IFN-a、IFN-b 等)；白细胞介素，特别是 IL-2 或阿地白介素以及 IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12 及其活性生物学变体 (其氨基酸序列大于 70% 的天然人类序列)；六甲蜜胺 (**Hexalen**®)；SU 101 或来氟米特 (W004/06834 和 US6,331,555)；咪唑并喹啉类，

例如雷西莫特和咪喹莫特 (US4, 689, 338、5, 389, 640、5, 268, 376、4, 929, 624、5, 266, 575、5, 352, 784、5, 494, 916、5, 482, 936、5, 346, 905、5, 395, 937、5, 238, 944 和 5, 525, 612) ; 和 SMIP, 包括吡啶类、葱醌类、缩氨基硫脲类和色胺酮类 (WO 04/87153、WO 04/64759 和 WO 04/60308)。

[0333] (i) 癌症疫苗 : 包括 **Avicine®** (TetrahedronLetters26, 19742269-70)、奥戈伏单抗 (**OvaRex®**)、**Theratope®** (STn-KLH)、黑素瘤疫苗、GI-4000 系列 (GI-4014、GI-4015 和 GI-4016) (其涉及在 Ras 蛋白中的 5 种突变)、GlioVax-1、MelaVax、**Advexin®** 或 INGN-201 (WO 95/12660)、Sig/E7/LAMP-1、编码 HPV-16E7、MAGE-3 疫苗或 M3TK (WO 94/05304)、HER-2VAX、ACTIVE (它刺激针对肿瘤特异的 T- 细胞)、GM-CSF 癌症疫苗和基于产单核细胞的利斯特菌属的疫苗。

[0334] (j) 反义疗法 : 包括反义组合物, 例如 AEG-35156 (GEM-640)、AP-12009 和 AP-11014 (TGF- β 2- 特殊反义寡核苷酸) ; AVI-4126、AVI-4557、AVI-4472、奥利美生 (**Genasense®**)、JFS2、阿普卡生 (WO 97/29780)、GTI-2040 (R2 核糖核苷酸还原酶 mRNA 反义寡核苷酸) (WO 98/05769) ; GTI-2501 (WO 98/05769)、脂质体包囊的 c-Raf 反义脱氧核苷酸 (LErafAON) (WO 98/43095) 和 Sirna-027 (基于 RNAi 的治疗靶向 VEGFR-1mRNA)。

[0335] 因此, 在另一个实施方案中, 本发明提供了药物组合物, 其包含 :

[0336] i) 本发明化合物或其可药用盐, 和

[0337] ii) 至少一种选自以下的化合物

[0338] (a) 激酶抑制剂,

[0339] (b) 抗雌激素药,

[0340] (c) 抗雄激素药,

[0341] (e) 癌症化疗药,

[0342] (f) 烷化剂,

[0343] (g) 螯合剂,

[0344] (h) 生物响应调节剂, 和

[0345] ii) 一种或多种可药用赋形剂、稀释剂或载体。

[0346] 在一个实施方案中, 本发明提供了包含本发明化合物或其可药用盐和依维莫司 (**Afinitor®**) 的药物组合物。

[0347] 由于它们的 mTOR 抑制活性, 本发明化合物单独或组合可用于治疗神经变性疾病。因此, 在一个实施方案中, 本发明涉及与另外的治疗剂组合的本发明化合物或其可药用盐, 其中所述另外的治疗剂选自 :

[0348] (a) 乙酰胆碱酯酶抑制剂 : 例如多奈哌齐 (Aricept™)、卡巴拉汀 (Exelon™) 和加兰他敏 (Razadyne™) ;

[0349] (b) 谷氨酸拮抗剂 : 例如美金刚 (memantine) (Namenda™) ;

[0350] (c) 抗抑郁药 : 用于情绪低落和易怒, 例如西酞普兰 (citalopram) (Celexa™)、氟西汀 (Prozac™)、帕罗西汀 (Paxil™)、舍曲林 (Zoloft™) 和曲唑酮 (Desyrel™) ;

[0351] (d) 抗焦虑药 : 用于焦虑症、坐立不安、言语破坏性行为 and 抗性, 例如劳拉西泮

(AtivanTM) 和奥沙西洋 (SeraxTM) ;

[0352] (e) 抗精神病药物 :用于幻觉、妄想、攻击、激动、敌视和不合作性,例如阿立哌唑 (aripiprazole) (AbilifyTM)、氯氮平 (ClozarilTM)、氟哌啶醇 (HaldolTM)、奥氮平 (ZyprexaTM)、喹硫平 (SeroquelTM)、利培酮 (RisperdalTM) 和齐拉西酮 (GeodonTM) ;

[0353] (f) 情绪稳定剂 :例如卡马西平 (TegretolTM) 和双丙戊酸 (DepakoteTM) ;

[0354] (g) 烟碱 α -7 激动剂 ;

[0355] (h) mGluR₅ 拮抗剂 ;

[0356] (i) H3 激动剂 ;和

[0357] (j) 淀粉样蛋白治疗疫苗。

[0358] 因此,在另一个实施方案中,本发明提供了药物组合物,其包含 :

[0359] i) 本发明化合物或其可药用盐,和

[0360] ii) 至少一种选自以下的化合物

[0361] (a) 乙酰胆碱酯酶抑制剂,

[0362] (b) 谷氨酸盐拮抗剂,

[0363] (c) 抗抑郁药,

[0364] (d) 抗焦虑药,

[0365] (e) 抗精神病药,

[0366] (f) 情绪稳定剂,

[0367] (g) 烟碱 α -7 激动剂,

[0368] (h) mGluR₅ 拮抗剂,

[0369] (i) H3 激动剂,和

[0370] ii) 一种或多种可药用赋形剂、稀释剂或载体。

[0371] 因此,本发明在另外的方面提供了

[0372] • 药物组合,例如用于本文所述的任何方法的药物组合,其包括用于同时或依次施用的治疗有效量的本发明化合物或其可药用盐以及另外的治疗剂。

[0373] • 组合产品,其包含本发明化合物或其可药用盐以及另外的治疗剂。

[0374] • 组合产品,其包含本发明化合物或其可药用盐以及另外的治疗剂,其作为组合制剂用于疗法,例如用于本文所述的任何疗法。在一个实施方案中,所述疗法是癌症或神经变性疾病的治疗或预防。在另一个实施方案中,所述疗法是帕金森病、亨廷顿病或阿尔茨海默病的治疗或预防。在另一个实施方案中,所述疗法是亨廷顿病的治疗或预防。

[0375] • 药物组合物,其包含本发明化合物或其可药用盐、另外的治疗剂和可药用赋形剂、稀释剂或载体。

[0376] • 如上文定义的方法,其包括共同施用、例如同时或依次施用治疗有效量的本发明化合物或其可药用盐以及例如如上所述的另外的治疗剂。

[0377] • 药物组合,例如药盒,其包含 a) 第一种活性剂,其为如本文公开的本发明化合物或其可药用盐;和 b) 另外的治疗剂,例如如上所述的另外的治疗剂;由此所述药盒包含用于其施用的说明书。

[0378] 以下本发明化合物的实施例示例了本发明。所述化合物的制备方法如下所述。

实施例

[0379]	EtOAc	乙酸乙酯
[0380]	AcOH	乙酸
[0381]	brs	宽单峰
[0382]	CDCl ₃	氘代氯仿
[0383]	CsF	氟化铯
[0384]	d	双峰
[0385]	CH ₂ Cl ₂	二氯甲烷
[0386]	DIPEA	二-异丙基乙胺
[0387]	DMSO	二甲基亚砷
[0388]	DMSO-d ₆	氘代二甲基亚砷
[0389]	dppf	1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁
[0390]	EtOH	乙醇
[0391]	LC-MS	液相色谱-质谱
[0392]	MeOH	甲醇
[0393]	m	多重峰
[0394]	MS	质谱
[0395]	NEt ₃	三乙胺
[0396]	NMR	核磁共振
[0397]	¹ HNMR	质子核磁共振
[0398]	Pd(PPh ₃) ₄	四(三苯基膦)钯
[0399]	PPh ₃	三苯膦
[0400]	s	单峰
[0401]	TFA	三氟乙酸
[0402]	THF	四氢呋喃
[0403]	UV	紫外线
[0404]	EtOH	乙醇
[0405]	CDCl ₃	氘代氯仿
[0406]	SiO ₂	硅胶
[0407]	MgSO ₄	硫酸镁
[0408]	Na ₂ SO ₄	硫酸钠
[0409]	Pd	钯
[0410]	aq	含水的
[0411]	TBME	叔丁基甲醚
[0412]	mL	毫升
[0413]	LDA	二异丙基氨基锂
[0414]	Raney-Ni	阮内镍
[0415]	ax	轴向
[0416]	eq	平伏异构体

- [0417] MHz 兆赫
 [0418] Rt 保留时间
 [0419] Na₂S₂O₃ 硫代硫酸钠
 [0420] 分析方法

[0421] NMR: 除非另有说明, 否则在 Bruker Avancespectrometer 或 Varian Oxford400 波谱仪记录氢谱。化学位移以相对于二甲亚砜 (δ 2.50) 或氯仿 (δ 7.26) 的 ppm 表示。将少量干样品 (2-5mg) 溶于适合的氘代溶剂 (1mL) 中。

[0422] LC/MS:

[0423] 将样品溶于适合的溶剂、诸如 MeCN、DMSO 或 MeOH 中, 使用自动样品处理机直接进样至柱中。使用以下方法之一进行分析:

[0424] LC-MS-方法 1

[0425] 柱: Acquity HSS T3, 1.8 μ m, 2.1x50mm;

[0426] 洗脱剂: 水 (+0.05% 甲酸 +3.75mM 乙酸铵): 乙腈 (+0.04% 甲酸), 从 98:2 至 2:98, 1.4 分钟, 保持 98% 达 0.75 分钟;

[0427] 流速 / 温度: 1.2ml/min 在 50°C。

[0428] LC-MS-方法 2

[0429] 柱: Machery-Nagel Nucleosil100-3C18 (70x4.6mm);

[0430] 溶剂 / 梯度: A: 0.05% 在水中的 TFA; B: 0.05% 在乙腈中的 TFA; 从 95% A/5% B 至 5% A/95% B, 8 分钟。

[0431] 流速 / 温度: 1.4ml/min, 在 45°C。

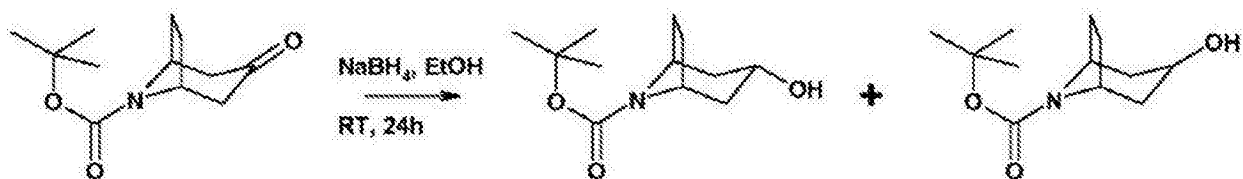
[0432] 胺中间体的合成

[0433] 胺中间体为商购可得, 或者可如文献中所述或以类似的方式制备, 或者可以如下文所述或以类似的方式制备。

[0434] 二环胺中间体的合成

[0435] 二环胺 1: 3-羟基-8-氮杂-二环 [3.2.1] 辛烷-8-甲酸叔丁酯

[0436]



[0437] 向 3-氧代-8-氮杂-二环 [3.2.1] 辛烷-8-甲酸叔丁酯 (1.03g, 4.57mmol) 在 EtOH (20mL) 中的溶液中滴加 NaBH₄。将该混合液在室温在氮气下搅拌 4.5 小时, 随后第二次加入 NaBH₄ (0.36g, 9.60mmol)。将该反应混合液在室温搅拌 17.5 小时, 并最后一次加入 NaBH₄ (0.36g, 9.60mmol)。将该溶液在室温搅拌 2 小时, 然后加入饱和的氯化铵溶液, 并将水相用 EtOAc 萃取。将合并的有机部分经 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 并浓缩。将粗品经硅胶快速色谱使用环己烷 / EtOAc 作为洗脱剂进行纯化, 蒸发后, 得到轴向和平伏异构体 (186mg, 17.9%) 和 (205mg, 19.7%), 为白色固体。¹H NMR (600MHz, CDCl₃): 4.57 (d, 1H), 4.02 (m, 2H), 3.89 (d, 1Hax), 1.89-1.71 (m, 5H), 1.65-1.54 (m, 1H), 1.47-1.28 (m, 11H) 和 4.60 (d, 1H) 3.99 (m, 2H), 3.91 (m, 1Heq), 2.18-2.03 (m, 2H), 1.92-1.72 (m, 4H), 1.67 - 1.56 (m, 2H), 1.39 (s, 9H)

[0438] 二环胺 2:8- 氮杂 - 二环 [3.2.1] 辛 -3- 醇

[0439]



[0440] 将 HCl (4N 在二噁烷中, 0.82mL, 3.27mmol) 的溶液加入 3- 羟基 -8- 氮杂 - 二环 [3.2.1] 辛烷 -8- 甲酸叔丁酯在乙腈中的混悬液中。将该混合液在 70°C 搅拌 1 小时, 冷却, 并浓缩。将产物 (138mg, 93%) 分离, 为盐酸盐。

[0441] $^1\text{H NMR}$ (600MHz, CDCl_3): 9.07 - 8.49 (m, 1H), 3.94 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 1.97-1.74 (m, 6H), 1.60 (t, 2H)

[0442] 以相同的方式制备轴向异构体 (137mg, 93%)。

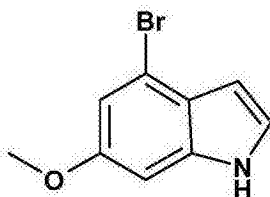
[0443] $^1\text{H NMR}$ (600MHz, CDCl_3): 9.01 - 8.44 (m, 1H), 3.89 (m, 3H), 2.29 (d, 2H), 2.07 (dt, 2H), 1.96-1.84 (m, 2H), 1.83-1.71 (m, 2H)

[0444] 吡啶中间体的合成

[0445] 吡啶中间体为商购可得, 或者可如文献中所述或以类似的方式制备, 或者可以如下文所述或以类似的方式制备。

[0446] 吡啶 1:4- 溴 -6- 甲氧基 -1H- 吡啶

[0447]



[0448] (a) N-(3- 溴 -5- 甲氧基 - 苯基) -N- 羟基 - 乙酰胺

[0449] 将 3- 溴 -5- 硝基苯甲醚 (1.5g, 6.46mmol) 溶于 20mL 1, 2- 二氯乙烷和 20mL 乙醇中, 并将该混合液冷却至 0°C。在 10 分钟内加入阮内镍 (30mg) 和水合肼 (0.79mL, 12.9mmol), 并将该反应混合液在室温搅拌 4 小时, 此时加入 50mg 阮内镍。搅拌 16 小时后, 加入另外的 50mg 阮内镍, 再搅拌 4 小时后, 加入另外的 50mg 阮内镍。在室温继续搅拌 4 小时, 此时原料已经完全消失。将该反应混合液经由 Celite 过滤, 并将溶剂减压除去, 得到固体状的 N-(3- 溴 -5- 甲氧基 - 苯基) -N- 羟胺, 将其溶于 80ml 甲苯中。加入碳酸氢钠 (597mg, 7.11mmol)、随后加入乙酰氯 (0.51mL, 7.11mol)。在室温继续搅拌 20 小时。然后将该反应混合液过滤, 并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (40g SiO_2 ; EtOAc/ 庚烷, 梯度 5/95 至 1/3), 得到标题化合物, 为固体 (360mg, 21% 历经 2 个步骤)。LC-MS, 在 254nm; $[\text{M}+\text{H}]$ 260.0/262.1; Rt 0.82 分钟; (LCMS 方法 1)。 $^1\text{H-NMR}$ (600MHz; DMSO-d_6): 10.85 (brs, 1H), 7.50 (dd, 1H), 7.26 (dd, 1H), 6.94 (dd, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.22 (s, 3H)。

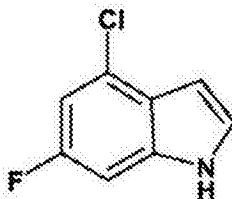
[0450] (b) 4- 溴 -6- 甲氧基 -1H- 吡啶

[0451] 将 N-(3- 溴 -5- 甲氧基 - 苯基) -N- 羟基 - 乙酰胺 (360mg, 1.384mmol) 溶于醋酸乙烯酯 (1.92mL, 20.8mmol) 中, 并加入 Li_2PdCl_4 (18.2mg, 69 μmol)。将该反应混合液在 60°C

搅拌 3 小时。将该反应混合液用 EtOAc 和盐水稀释；将有机层分离，并减压浓缩，得到固体，将其溶于 20mL MeOH 中。加入 1N NaOH 水溶液 (2.61mL, 2.61mmol)，并将该反应混合液在室温搅拌 2 小时。通过加入 2N HCl 水溶液 (1.3mL, 2.6mmol)、随后加入 500mg Na₂CO₃ 将该反应混合液淬灭。加入 50mL EtOAc 后，将有机层分离，经 Na₂SO₄ 干燥，过滤，并浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (20g SiO₂, EtOAc/庚烷, 梯度为 0/100 至 1/4)，得到标题化合物，为液体 (145mg, 46% 历经 2 个步骤)。¹H-NMR (600MHz; DMSO-d⁶): 11.26 (brs, 1H), 7.31 (dd, 1H), 6.93 (d, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.29 (dd, 1H), 3.78 (s, 3H)。

[0452] 吡啶 2:4- 氯 -6- 氟 -1H- 吡啶

[0453]



[0454] (a) 1- 氯 -3- 氟 -5- 硝基 - 苯

[0455] 将四水合过硼酸钠 (7.69g, 50.0mmol) 混悬于 30mL 乙酸中，并将该混悬液温至 55°C。将 3- 氯 -5- 氟苯胺 (1.46g, 10mmol) 溶于 20mL 乙酸中，并在 1 小时内加入。将该反应混合液在 55°C 搅拌 1 小时，然后冷却至室温。加入 300mL TBME，并将该反应混合液过滤。将有机层用盐水洗涤、随后用 20mL Na₂S₂O₃ 水溶液洗涤、之后用盐水洗涤。将有机层经 Na₂SO₄ 干燥，并减压浓缩，得到残余物，将其经柱色谱纯化 (40g SiO₂; 环己烷)，得到标题化合物，为固体 (320mg, 18%)。¹H-NMR (400MHz; DMSO-d⁶): 8.20 (s, 1H), 8.18 (d, 1H), 8.07 (d, 1H)。

[0456] (b) N-(3- 氯 -5- 氟 - 苯基) -N- 羟基 - 乙酰胺

[0457] 将 1- 氯 -3- 氟 -5- 硝基 - 苯 (320mg, 1.82mmol) 溶于 5mL 1, 2- 二氯乙烷和 5mL 乙醇中，并将该混合液冷却至 0°C。在 10 分钟内加入阮内镍 (30mg, 2.0mmol) 和水合肼 (0.11mL, 1.82mmol)，并将该反应混合液在室温搅拌 4 小时，此时加入 50mg 阮内镍。搅拌 16 小时后，加入另外的 50mg 阮内镍，再搅拌 4 小时后，加入另外的 50mg 阮内镍。继续在室温搅拌 4 小时，此时原料已经完全消失。将该反应混合液经由 Celite 过滤，并将溶剂减压除去，得到固体状的 N-(3- 溴 -5- 氟 - 苯基) -N- 羟胺，将其溶于 15mL 甲苯中。加入碳酸氢钠 (160mg, 1.91mmol)、随后加入在 0.5mL 甲苯中的乙酰氯 (136 μL, 1.91mmol)。在室温继续搅拌 20 小时。然后将该反应混合液过滤，并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (40g SiO₂; EtOAc/庚烷, 梯度为 5/95 至 1/3)，得到标题化合物，为固体 (214mg, 53% 历经 2 个步骤)。LC-MS, 在 254nm; [M+H]⁺ 204.1; Rt 0.83 分钟; (LCMS 方法 1)。¹H-NMR (DMSO-d⁶): 10.95 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.51 (dd, 1H), 7.19 (d, 1H), 2.24 (s, 3H)。

[0458] (c) 4- 氯 -6- 氟 -1H- 吡啶

[0459] 将 N-(3- 氯 -5- 氟 - 苯基) -N- 羟基 - 乙酰胺 (200mg, 982 μmol) 溶于醋酸乙烯酯 (1.81mL, 19.6mmol) 中，并加入 Li₂PdCl₄ (25.7mg, 98 μmol)。将该反应混合液在 60°C 搅拌 3hr。将该反应混合液用 EtOAc 和盐水稀释；将有机层分离，并减压浓缩，得到固体，将其溶于 8mL MeOH 中。加入 1N NaOH 水溶液 (1.89mL, 1.89mmol)，并将该反应混合液在室温搅拌 2 小时。通过加入 2N HCl 水溶液 (0.95mL, 1.9mmol)、随后加入 300mg Na₂CO₃ 将该反应混

合液淬灭。加入 50mL EtOAc 后,将有机层分离,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (12g SiO_2 ; EtOAc/庚烷, 梯度为 0/100 至 1/4), 得到标题化合物, 为液体 (72mg, 45% 历经 2 个步骤)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 11.52 (brs, 1H), 7.45 (d, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.05 (d, 1H), 6.45 (d, 1H)。

[0460] 烃基硼酸酯中间体的合成

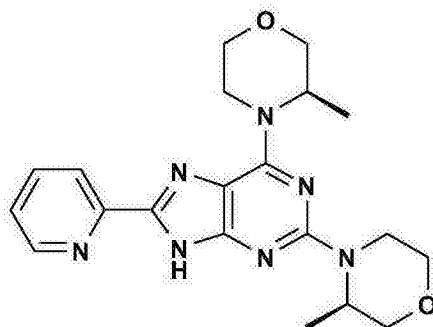
[0461] 用于制备本发明化合物的烃基硼酸酯中间体为商购可得, 或者可如文献中所述或以类似的方式制备, 或者可以如下文所述或以类似的方式制备。

[0462] 烃基硼酸酯 1: 6-甲氧基-4-(4,4,5,5-四甲基-[1,3,2]二氧杂硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶

[0463] 在氩气下向 4-溴-6-甲氧基-1H-吡啶 (200mg, 885 μmol) 在二噁烷 (5mL) 中的溶液中加入联硼酸频哪醇酯 (bis(pinacolato)diboron) (247mg, 973 μmol), 随后加入三环己基膦 (14.9mg, 53 μmol)、双(二亚苄基丙酮)Pd (15.3mg, 27 μmol) 和醋酸钾 (130mg, 1.33mmol)。将该反应混合液在 65°C 在氩气下搅拌 18 小时。然后通过加入 30ml EtOAc 和 20ml 盐水将该反应混合液稀释。将有机溶剂分离, 经 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (20g SiO_2 , 叔丁基甲醚/庚烷比例为 3/7), 得到产物 (190mg, 79%)。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 10.89 (brs, 1H), 7.22 (dd, 1H), 7.03 (dd, 1H), 7.00 (d, 1H), 6.64 (dd, 1H), 3.77 (s, 3H), 1.33 (s, 12H)。

[0464] 实施例 1: 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤

[0465]



[0466] a) 2-氯-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0467] 将 2,6-二氯-9H-嘌呤 (2.36g, 12.5mmol)、(R)-3-甲基吗啉盐酸盐 (1.89g, 13.8mmol) 和二异丙基乙胺 (5.46mL, 31.3mmol) 溶于 15mL 异丙醇中, 并将该反应混合液在 75°C 搅拌 18 小时。然后将该反应混合液用 200mL CH_2Cl_2 稀释。将有机溶剂用 Na_2CO_3 水溶液洗涤、随后用水和盐水洗涤。经 Na_2SO_4 干燥、过滤, 并减压浓缩, 得到残余物, 将其经柱色谱纯化 (比例为 96/4/0.1 的 150g SiO_2 、 CH_2Cl_2 /EtOH/ NH_3 水), 得到产物, 为固体 (2.87g, 91%)。

[0468] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 254.1/256.1; Rt 0.72 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0469] $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): 13.25 (1H, brs), 8.17 (1H, s), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.96 (dd, 1H), 3.76 (d, 1H), 3.67 (dd, 1H), 3.51 (ddd, 1H), 1.31 (d, 3H)

[0470] b) 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0471] 将 2-氯-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (1.02g, 4mmol)、二异丙基乙胺 (1.40mL, 8mmol) 和 (R)-3-甲基吗啉盐酸盐 (826mg, 6mmol) 在 2-丁醇 (5mL) 中在封闭

的微波管中在氩气下在 50℃ 搅拌直至所有的成分溶解。然后将该反应混合液在 180℃ 搅拌 100 小时。然后将该反应混合液冷却至室温,并用 200mL CH_2Cl_2 稀释。

[0472] 将有机层用 Na_2CO_3 水溶液和盐水洗涤。经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并减压浓缩,得到残余物,将其经柱色谱纯化 (120g SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}/\text{NH}_3$ 水,以 100/0/0.1 至 94/6/0.1 的比例的梯度),得到产物,为泡沫 (1.11g, 87%)。

[0473] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 319.0; Rt 0.71 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0474] ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 12.44 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.51 (dd, 1H), 4.15 (dd, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.94 (dd, 1H), 3.89 (dd, 1H), 3.73 (d, 1H), 3.69 (d, 1H), 3.65 (dd, 1H), 3.58 (dd, 1H), 3.50 (ddd, 1H), 3.42 (dd, 1H), 3.07 (ddd, 1H), 1.27 (d, 3H) 1.15 (d, 3H)。

[0475] c) 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9-(四氢-吡喃-2-基)-9H-嘌呤

[0476] 将 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (600mg, 1.89mmol) 在氩气下溶于 EtOAc (25mL) 中。加入 3,4-二氢-2H-吡喃 (172 μL , 1.89mmol)、三氟乙酸酐 (27 μL , 188 μmol) 和三氟乙酸 (319 μL , 4.15mmol) 后,将该反应混合液加热至 70℃。6 小时后,加入 3,4-二氢-2H-吡喃 (1.44mL, 15.7mmol)。然后将该反应混合液搅拌 22 小时在 70℃,然后冷却至室温。加入 500mg 固体 Na_2CO_3 ,并继续搅拌 10 分钟。将该反应混合液用 EtOAc 稀释,将有机层分离,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并减压浓缩,得到残余物,将其经柱色谱纯化 (40g SiO_2 , 庚烷/EtOAc, 9/1 至 2/3 的梯度),得到产物,为泡沫 (600mg, 79%)。

[0477] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 403.3; Rt 1.11 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0478] d) 8-溴-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9-(四氢-吡喃-2-基)-9H-嘌呤

[0479] 在 -60℃ 将二异丙基胺 (290 μL , 2.04mmol) 溶于 4mL THF 中,此时加入在己烷中的丁基锂 (1.27mL, 2.04mmol) 以形成 LDA。将 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9-(四氢-吡喃-2-基)-9H-嘌呤 (585mg, 1.45mmol) 溶于 8mL THF 中,并在 -78℃ 在 10 分钟内加入该反应混合液中。将该反应混合液在 -78℃ 搅拌 1 小时。在 10 分钟内将在 4mL THF 中的二溴四氯乙烷 (947mg, 2.91mmol) 加入。将该反应混合液在 -78℃ 搅拌 2 小时。通过加入饱和的 NH_4Cl 水溶液将该反应淬灭,并温至室温。将该混合液用 80mLEtOAc 和 50mL 盐水稀释。将有机层分离,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并浓缩,得到残余物,将其经柱色谱纯化 (30g SiO_2 , 庚烷/TBME, 比例 7/3),得到产物,为泡沫 (546mg, 78%)。

[0480] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 481.3/483.2; Rt 1.37 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0481] ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 5.50 (dd, 1H), 5.4-4.5 (brs, 2H), 4.48 (brs, 1H), 4.13 (dd, 1H), 4.01 (d, 1H), 3.93-3.87 (m, 2H), 3.74-3.66 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 3H), 3.5-3.0 (brs, 1H), 3.46 (ddd, 1H), 3.40 (dd, 1H), 3.11-3.03 (m, 1H), 3.00-2.90 (m, 1H), 1.96 (d, 1H), 1.78 (d, 1H), 1.70-1.48 (m, 3H), 1.24 (d, 3H), 1.14 (d, 3H)。

[0482] e) 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9-(四氢-吡喃-2-基)-9H-嘌呤

[0483] 将 8-溴-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9-(四氢-吡喃-2-基)-9H-嘌呤 (40mg, 83 μmol) 在氩气下在微波小瓶中溶于 2ml 甲苯中,并加入 2-(三丁基锡烷基)-吡啶 (36mg, 83 μmol) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (4.8mg, 4.2 μmol)。将微波小瓶盖上盖,并将该反应混合

液在 120℃ 搅拌 3 小时。将小瓶冷却至室温,并打开。将该混合液用 EtOAc (20mL) 和盐水稀释。将有机层分离,经 Na₂SO₄干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (12g SiO₂, 庚烷/TBME, 梯度为 4/1 至 2/3), 得到产物, 为固体 (35mg, 88%)。

[0484] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 480.3; Rt 1.34 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0485] ¹H NMR (DMSO-d₆): 8.68 (d, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.94 (dd, 1H), 7.46 (dd, 1H), 6.53 (d, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.58-4.48 (m, 1H), 4.18 (dd, 1H), 3.99-3.86 (m, 3H), 3.78-3.69 (m, 2H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.64-3.56 (m, 1H), 3.5-3.0 (brs, 1H), 3.55-3.39 (m, 3H), 3.28-3.17 (m, 1H), 3.15-3.05 (m, 1H), 2.00-1.92 (m, 1H), 1.85 (dd, 1H), 1.65-1.45 (m, 3H), 1.28 (d, 3H), 1.18 (d, 3H)。

[0486] f) 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤

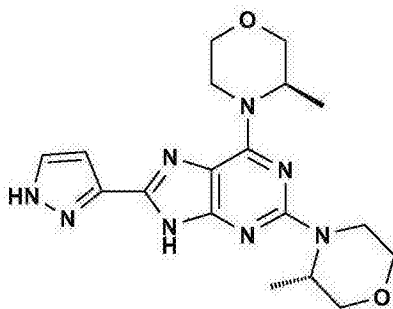
[0487] 将 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9-(四氢-吡喃-2-基)-9H-嘌呤 (33mg, 69 μmol) 溶于 3mL THF 中。加入 2N HCl 水溶液 (344 μL, 688 μmol), 并将该反应混合液在室温搅拌 2 小时。加入 100mg Na₂CO₃ 和 10mL CH₂Cl₂, 并将该反应混合液搅拌 20 分钟。将有机层分离, 经 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (12g SiO₂, 庚烷/EtOAc, 梯度为 100/0 至 3/2), 得到产物, 为固体 (24mg, 88%)。

[0488] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 396.3; Rt 1.03 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0489] ¹H NMR (DMSO-d₆): 12.98 (s, 1H), 8.62 (d, 1H), 8.12 (d, 1H), 7.89 (ddd, 1H), 7.40 (dd, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.57 (dd, 1H), 4.20 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.97 (dd, 1H), 3.8-3.9 (dd, 1H), 3.76 (d, 1H), 3.71-3.66 (m, 2H), 3.57 (dd, 1H), 3.53 (ddd, 1H), 3.41 (ddd, 1H), 3.0-3.9 (ddd, 1H), 1.30 (d, 3H), 1.17 (d, 3H)。

[0490] 实施例 2: 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤

[0491]



[0492] a) 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0493] 将 2-氯-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (712mg, 2.81mmol)、二异丙基乙胺 (0.98mL, 5.61mmol) 和 (S)-3-甲基吗啉盐酸盐 (579mg, 4.21mmol) 在封闭的 5mL 微波管中在氩气下在 50℃ 在 2-丁醇 (3mL) 中搅拌直至所有的成分溶解。然后将该反应混合液在 175℃ 搅拌 48 小时。将有机层用 200mL CH₂Cl₂ 稀释, 并用盐水洗涤。经 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 并减压浓缩, 得到残余物, 将其经柱色谱纯化 (40g SiO₂, CH₂Cl₂/EtOH/NH₃水, 梯度为 100/0/0.1 至 90/10/0.1), 得到产物, 为固体 (588mg, 66%)。

[0494] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 319.2; Rt 0.70 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0495] ¹H NMR (DMSO-d₆): 12.42 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.50 (dd, 1H), 4

. 09 (d, 1H), 4. 0-3. 0 (brs, 1H), 3. 92 (dd, 1H), 3. 87 (d, 1H), 3. 71 (d, 1H), 3. 67 (d, 1H), 3. 64 (dd, 1H), 3. 56 (dd, 1H), 3. 48 (ddd, 1H), 3. 40 (dd, 1H), 3. 05 (ddd, 1H), 1. 24 (d, 3H) 1. 12 (d, 3H)。

[0496] b) 8-溴-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0497] 将 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (786mg, 2.47mmol) 溶于 CH_2Cl_2 (25mL) 中。在 2 分钟内缓慢加入在 2mL CH_2Cl_2 中稀释的溴 (0.16mL, 3.09mmol)。将该反应混合液在室温搅拌 6 小时。将 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液 (10mL) 加入该反应混合物中, 并继续搅拌 15 分钟。将有机层用盐水和 NaHCO_3 水溶液洗涤。经 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 并减压浓缩, 得到残余物, 将其经柱色谱纯化 (40g SiO_2 , 庚烷/EtOAc, 梯度为 2/3 至 4/1), 得到产物, 为泡沫 (455mg, 46%)。

[0498] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 399.1/397.2; Rt 0.94 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0499] c) 2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤

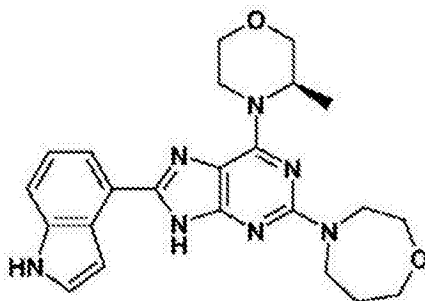
[0500] 将 8-溴-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (50mg, 126 μmol) 溶于二甲氧基乙烷 (2mL) 和水 (0.2mL) 中, 随后在氩气下加入 1H-吡啶-3-基硼酸 (21.1mg, 189 μmol)、 $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (9.21mg, 13 μmol) 和 NEt_3 (53 μl , 378 μmol)。将该反应混合液加热至 85°C 达 23 小时。然后将该反应混合液用 EtOAc 稀释, 将有机层分离, 用盐水洗涤, 经 MgSO_4 干燥, 过滤, 并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (12g SiO_2 , EtOAc), 得到产物 (19mg, 39% 收率)。

[0501] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 385.3; Rt 0.81 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0502] ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 13.13 (s, 1H), 12.72 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.54 (d, 1H), 4.13 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.95 (d, 1H), 3.89 (d, 1H), 3.74 (d, 1H), 3.71-3.64 (m, 2H), 3.57 (d, 1H), 3.51 (dd, 1H), 3.41 (dd, 1H), 3.07 (dd, 1H), 1.26 (d, 3H) 1.15 (d, 3H)

[0503] 实施例 3: 8-(1H-吡啶-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤

[0504]



[0505] a) 8-溴-2-氯-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0506] 向 2-氯-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (950mg, 3.74mmol) 在 CH_2Cl_2 (19mL) 中的溶液中加入溴 (0.23mL, 4.49mmol)。将该混合液在环境温度搅拌 19 小时。加入饱和的硫代硫酸钠。将水层用二氯甲烷萃取两次。将有机层合并, 经 Na_2SO_4 干燥, 并减压除去溶剂。将粗品经快速柱色谱纯化 (0-70% EtOAc/环己烷梯度), 得到产物, 为白

色固体 (495mg, 39%)。LC-MS, 在 254nm; [M+H] 334.1; Rt0.89 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0507] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): 14.09 (br. s., 1H), 5.4-4.9 (m, 2H) 3.96 (d, 1H) 3.75 (d, 1H) 3.65 (dd, 1H) 3.42-3.57 (m, 1H), 3.41-3.37 (m, 1H), 1.29 (d, 3H)

[0508] b) 2-氯-8-(1H-咪唑-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0509] 在密封管中向 8-溴-2-氯-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (495mg, 1.49mmol) 在 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (11/1, 1mL) 中的溶液中加入氟化铯 (452mg, 2.98mmol)、咪唑-4-硼酸 (266mg, 1.64mmol) 和四(三苯基膦)钯 (172mg, 0.15mmol)。然后在微波辐照下在 160°C 将该反应进行 30 分钟。将溶剂减压除去, 并将粗品经快速柱色谱纯化 (20-100% EtOAc/环己烷梯度), 得到 2-氯-8-(1H-咪唑-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (350mg, 63.8%), 为浅黄色固体。LC-MS, 在 254nm; [M+H] 369.2; Rt1.00 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0510] (400MHz, DMSO- d_6): 13.59 (s, 1H), 11.41 (s, 1H), 7.73 (dd, 1H), 7.58-7.49 (m, 2H), 7.38-7.20 (m, 2H), 5.14 (s, 1H), 4.05-4.01 (m, 1H), 3.79-3.88 (m, 1H), 3.69-3.79 (m, 1H), 3.57 (s, 1H), 3.60 (s, 1H), 1.41 (d, 3H)

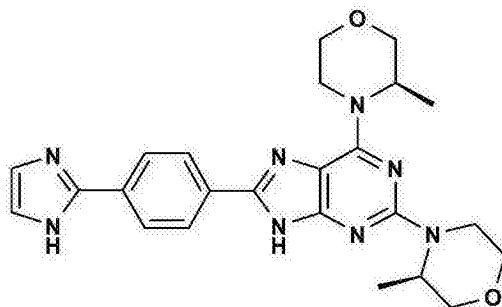
[0511] c) 8-(1H-咪唑-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-[1,4]氧杂氮杂环庚-4-基-9H-嘌呤

[0512] 向 2-氯-8-(1H-咪唑-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (50mg, 0.14mmol) 在 1-丁醇 (300 μL) 中的溶液中加入 1,4-氧杂氮杂环庚烷 (20.6mg, 0.20mmol)、随后加入 DIPEA (47.4 μL , 0.27mmol)。将该混合液在 120°C 搅拌 24 小时。反应完成后, 将该溶液倾入水中。将水层用 CH_2Cl_2 萃取三次。将合并的有机层经 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 减压浓缩, 并将粗品经快速柱色谱纯化 (30-100% EtOAc/环己烷梯度), 得到 2-((2S,6R)-2,6-二甲基-吗啉-4-基)-6-吗啉-4-基-9H-嘌呤 (35mg, 59%), 为浅褐色固体。LC-MS, 在 254nm; [M+H] 432.3; Rt1.00 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0513] ^1H NMR(400MHz, DMSO- d_6) 12.47 (br. s., 1H), 11.00 (br. s., 1H), 7.67 (d, 1H), 7.43-7.39 (m, 2H), 7.28 (br. s., 1H), 7.16 (t, 1H), 5.45 (d, 1H), 5.08 (d, 1H), 4.10-3.95 (m, 1H), 3.91-3.85 (m, 4H), 3.82-3.75 (m, 4H), 3.69-3.65 (m, 2H), 3.63-3.57 (m, 1H), 3.48-3.40 (m, 1H), 1.98-1.90 (m, 2H), 1.23-1.18 (m, 3H) μ

[0514] 实施例 4: 8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0515]



[0516] a) 8-溴-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0517] 将 2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (637mg, 2mmol) 溶于 50mL CH_2Cl_2

中,并在氩气下搅拌。将溴 (124 μ l, 2.4mmol) 溶于 2mL CH_2Cl_2 中,并在 2 分钟内加入。将该反应混合液在室温搅拌 6 小时。加入 5mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液,将该混合液搅拌 15 分钟,并将有机溶剂分离,用盐水和 NaHCO_3 水溶液洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (40g SiO_2 ,庚烷/EtOAc,梯度为 2/3 至 4/1),得到泡沫 (422mg, 53%)。

[0518] ^1H NMR (DMSO-d_6): 13.20 (1H, brs), 5.4-4.5 (brs, 2H), 4.48 (d, 1H), 4.12 (d, 1H), 3.93 (d, 1H), 3.89 (dd, 1H), 3.73 (d, 1H), 3.68 (d, 1H), 3.64 (d, 1H), 3.56 (dd, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.41 (ddd, 1H), 3.4-3.1 (brs, 1H), 3.07 (ddd, 1H), 1.26 (d, 3H), 1.15 (d, 3H)

[0519] b) 8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

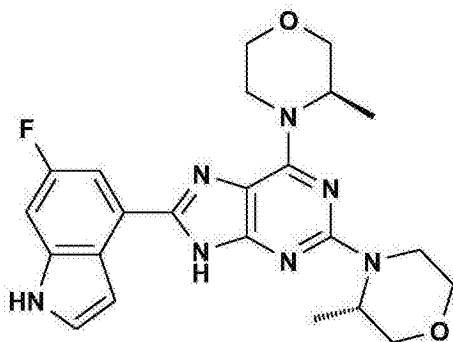
[0520] 在氩气下将 8-溴-2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (99mg, 250 μ mol) 溶于 2mL 乙腈和 0.2mL 水中。加入 4-(1H-咪唑-2-基)苯基硼酸 (58.7mg, 313 μ mol)、 CsF (57mg, 375 μ mol) 和 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (28.9mg, 25 μ mol)。将该混悬液在 50 $^\circ\text{C}$ 在封闭的微波小瓶中搅拌 10 分钟。然后将其在微波装置下辐照 40 分钟在 150 $^\circ\text{C}$ 。将该小瓶冷却,并打开盖,并将该反应混合液用 50mL CH_2Cl_2 和 10mL 异丙醇稀释。将有机溶剂用盐水和 NaHCO_3 水溶液洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (40g SiO_2 , CH_2Cl_2 /EtOH/ NH_3 水,梯度为 100/0/0.1 至 90/10/0.1),得到产物,为固体 (58mg, 48%)。

[0521] LC-MS, 在 254nm; [M+H] 461.3; Rt 0.76 分钟; (LCMS 方法 1)。

[0522] ^1H NMR (600MHz, DMSO-d_6): 13.03 (s, 1H), 12.62 (s, 1H), 8.10 (d, 2H), 8.02 (d, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.55 (dd, 1H), 4.20 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.99 (dd, 1H), 3.92 (dd, 1H), 3.79 (d, 1H), 3.74-3.68 (m, 2H), 3.61 (dd, 1H), 3.55 (ddd, 1H), 3.45 (ddd, 1H), 3.12 (ddd, 1H), 1.32 (d, 3H), 1.19 (d, 3H)

[0523] 实施例 5: 8-(6-氟-1H-吡啶-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤

[0524]



[0525] 在氩气下将 4-氯-6-氟-1H-吡啶 (72mg, 0.42mmol) 溶于 4mL 二噁烷中。在氩气下加入联硼酸频哪醇酯 (198mg, 778 μ mol)、三环己基膦 (19.8mg, 71 μ mol)、双(二亚苄基丙酮)钯 (20.3mg, 35 μ mol) 和醋酸钾 (104mg, 1.06mmol)。将该反应混合液在 80 $^\circ\text{C}$ 搅拌 24 小时。将该反应混合液冷却至室温,并用 30mL EtOAc 稀释。将有机层用 20mL 盐水洗涤,经 Na_2SO_4 干燥,过滤,并减压浓缩。将残余物经柱过滤 (40g SiO_2 ; EtOAc/庚烷,梯度为 0/100 至 12/88),得到一个混合液,将其减压浓缩,然后在氩气下溶于 2mL 乙腈和 0.2mL 水中。加入 8-溴-2-((S)-3-甲基吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤 (100mg, 153 μ mol),随后加入氟化铯 (25.8mg, 170 μ mol) 和四(三苯基膦)钯 (26mg, 23 μ mol)。

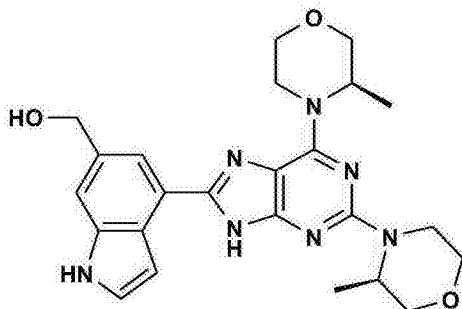
将该反应混合液在 135℃ 在密封的小瓶中搅拌 2 小时。将该反应混合液冷却至室温,并用 40mLEtOAc 稀释。将有机层用盐水洗涤,经 Na₂SO₄干燥,过滤,并浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (10g SiO₂;叔丁基甲醚),得到标题化合物,为泡沫 (36mg, 19% 历经 2 个步骤)。

[0526] LC-MS, 在 254nm ;[M+H] 452. 3 ;Rt1. 06 分钟 ;(LCMS 方法 1)。

[0527] ¹H-NMR (400MHz ;DMSO-d⁶) :12. 95 (s, 1H), 11. 33 (s, 1H), 7. 57 (d, 1H), 7. 45 (s, 1H), 7. 25 (s, 1H), 7. 23 (d, 1H), 6. 0-4. 5 (brs, 2H), 4. 56 (d, 1H), 4. 17 (d, 1H), 4. 0-3. 0 (brs, 1H), 4. 00 (d, 1H), 3. 91 (d, 1H), 3. 80 (d, 1H), 3. 75-3. 68 (m, 2H), 3. 60 (d, 1H), 3. 57 (dd, 1H), 3. 44 (d, 1H), 3. 11 (ddd, 1H), 1. 35 (d, 3H), 1. 18 (d, 3H)。

[0528] 实施例 6: {4-[2, 6- 双 -((R)-3- 甲基 - 吗啉 -4- 基) -9H- 嘌呤 -8- 基] -1H- 吡啶 -6- 基} - 甲醇

[0529]



[0530] 在氩气下将 4-[2, 6- 双 -((R)-3- 甲基 - 吗啉 -4- 基) -9H- 嘌呤 -8- 基] -1H- 吡啶 -6- 甲酸甲酯 (实施例 32, 72mg, 146 μ mol) 溶于 10ml THF 中。在 5℃ 加入 1N 在 THF 中的 LiAlH₄ (0. 22mL, 0. 22mmol), 并将该反应混合液在室温搅拌 2 小时。通过加入饱和的 Na₂SO₄ 水溶液 (1mL) 将该反应淬灭。将该混合液用 30mL CH₂Cl₂ 和 3mL 异丙醇稀释。将有机相分离, 经 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 并浓缩。将残余物经柱色谱纯化 (12g SiO₂, CH₂Cl₂/EtOH, 梯度为 100/0 至 88/12), 得到产物, 为固体 (58mg, 84%)。

[0531] LC-MS, 在 254nm ;[M+H] 464. 3 ;Rt0. 88 分钟 ;(LCMS 方法 1)。

[0532] ¹H NMR (600MHz, DMSO-d₆) :12. 83 (s, 1H), 11. 22 (s, 1H), 7. 63 (d, 1H), 7. 44 (s, 1H), 7. 40 (dd, 1H), 7. 18 (dd, 1H), 6. 0-4. 5 (brs, 2H), 5. 16 (t, 1H), 4. 61 (d, 2H), 4. 55 (dd, 1H), 4. 1-9 (d, 1H), 4. 0-3. 0 (brs, 1H), 3. 99 (dd, 1H), 3. 90 (dd, 1H), 3. 79 (d, 1H), 3. 74-3. 68 (m, 2H), 3. 59 (dd, 1H), 3. 56 (ddd, 1H), 3. 44 (ddd, 1H), 3. 10 (ddd, 1H), 1. 35 (d, 3H), 1. 17 (d, 3H)

[0533] 实施例 7 至 32

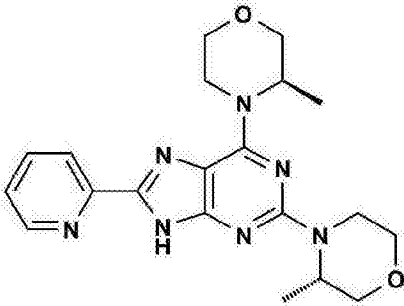
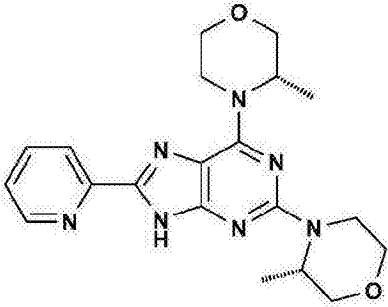
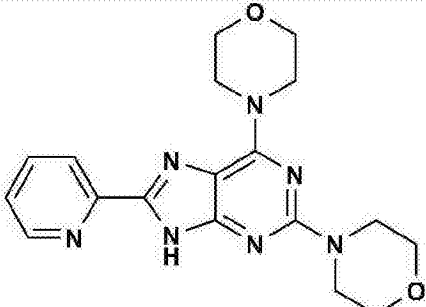
[0534] 使用与实施例 1 中所述的那些类似的方法、使用适合的羟基硼酸或羟基硼酸酯中间体可以制备以下表 2 中的实施例 7 至 9。

[0535] 使用与实施例 2 中所述的那些类似的方法、使用适合的羟基硼酸或羟基硼酸酯中间体可以制备以下表 2 中的实施例 10 至 11。

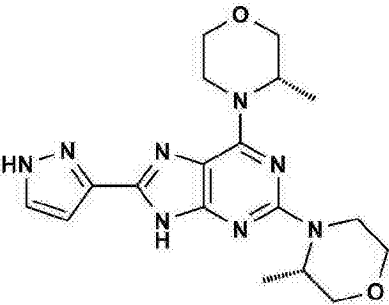
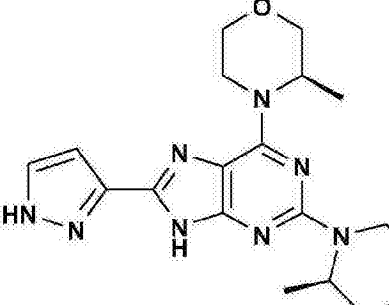
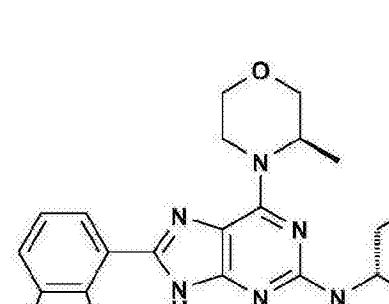
[0536] 使用与实施例 3 中所述的那些类似的方法、使用适合的羟基硼酸或羟基硼酸酯中间体可以制备以下表 2 中的实施例 12 至 26。

[0537] 使用与实施例 4 中所述的那些类似的方法、使用适合的羟基硼酸或羟基硼酸酯中间体可以制备以下表 2 中的实施例 27 至 32。

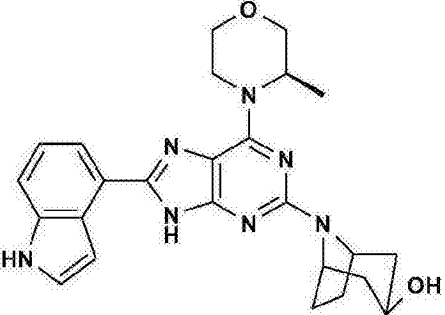
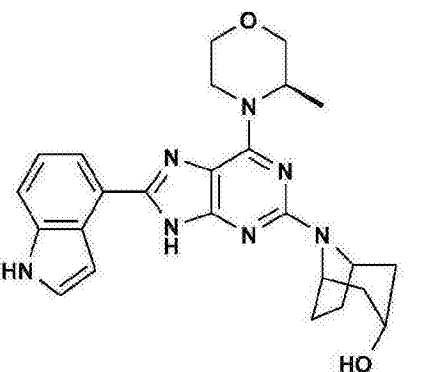
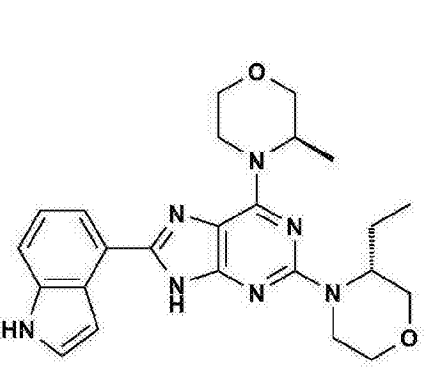
[0538]

实施例编号	结构和名称	¹ H NMR	LC/MS
7	 <p>2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 13.00 (s, 1 H), 8.64 (d, 1 H), 8.14 (d, 1H), 7.91 (ddd, 1H), 7.42 (ddd, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.59 (dd, 1H), 4.19 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.99 (dd, 1H), 3.91 (dd, 1H), 3.79 (d, 1H), 3.73-3.68 (m, 2H), 3.59 (dd, 1H), 3.56 (ddd, 1H), 3.43 (ddd, 1H), 3.11 (ddd, 1H), 1.31 (d, 3 H) 1.18 (d, 3 H)	方法 1 保留时间: 1.06 分钟 质量(ES ⁺): 396.4
8	 <p>2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.99 (s, 1 H), 8.62 (d, 1 H), 8.12 (d, 1H), 7.89 (ddd, 1H), 7.40 (ddd, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.56 (dd, 1H), 4.19 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.96 (dd, 1H), 3.89 (dd, 1H), 3.76 (d, 1H), 3.71-3.66 (m, 2H), 3.57 (dd, 1H), 3.53 (ddd, 1H), 3.41 (ddd, 1H), 3.09 (ddd, 1H), 1.30 (d, 3 H) 1.16 (d, 3 H)	方法 1 保留时间: 1.04 分钟 质量(ES ⁺): 396.4
9	 <p>2,6-二吗啉-4-基-8-吡啶-2-基-9H-嘌呤</p>		方法 2 保留时间: 4.38 分钟 质量(ES ⁺): 367.95

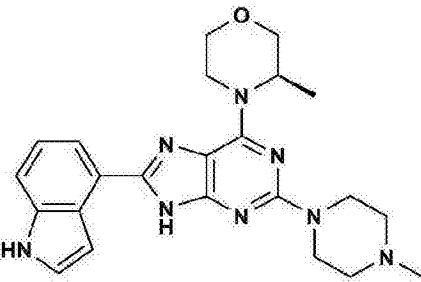
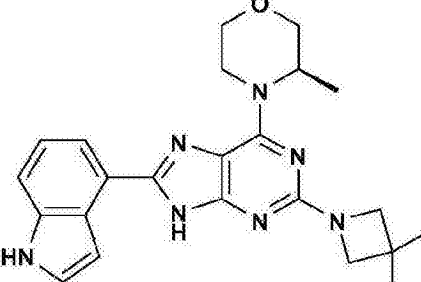
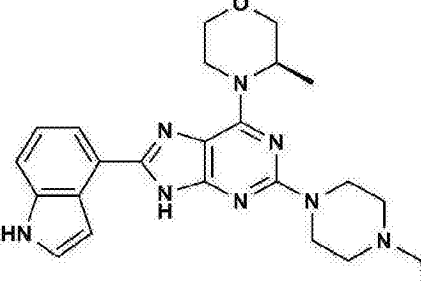
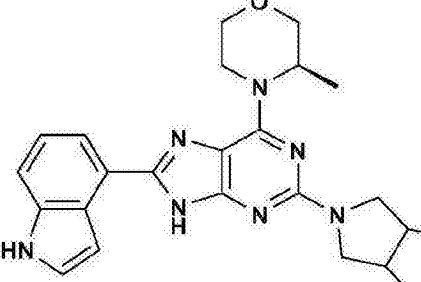
[0539]

10	 <p>2,6-双-((S)-3-甲基-咪唑-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 13.13 (s, 1H), 12.72 (s, 1 H), 7.84 (dd, 1 H), 6.75 (dd, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.6-4.47 (m, 1H), 4.16 (dd, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.96 (dd, 1H), 3.90 (dd, 1H), 3.76 (d, 1H), 3.73-3.64 (m, 2H), 3.59 (dd, 1H), 3.52 (dd, 1H), 3.43 (dd, 1H), 3.09 (dd, 1H), 1.29 (d, 3 H) 1.17 (d, 3 H)	<p>方法 1 保留时间: 0.81 分钟 质量(ES⁺): 385.3</p>
11	 <p>2,6-双-((R)-3-甲基-咪唑-4-基)-8-(1H-吡啶-3-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 13.12 (s, 1H), 12.71 (s, 1 H), 7.82 (d, 1 H), 6.74 (d, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.52 (d, 1H), 4.16 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.95 (d, 1H), 3.88 (d, 1H), 3.74 (d, 1H), 3.71-3.63 (m, 2H), 3.57 (d, 1H), 3.51 (dd, 1H), 3.41 (dd, 1H), 3.08 (ddd, 1H), 1.27 (d, 3 H), 1.15 (d, 3 H)	<p>方法 1 保留时间: 0.81 分钟 质量(ES⁺): 385.3</p>
12	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-咪唑-4-基)-2-((R)-3-丙基-咪唑-4-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.77 (br. s., 1 H), 11.28 (br. s., 1 H), 7.66 (d, 1 H), 7.46 - 7.43 (m, 2 H), 7.25 (t, 1 H), 7.15 (t, 1 H), 5.6-5.4 (s, 1 H), 5.1-4.8 (m, 1H), 4.49 (t, 1H), 4.27 (d, 1H), 3.98 (dd, 1H), 3.85 (dd, 1H), 3.79 (d, 2H), 3.72 (d, 1H), 3.59 - 3.48 (m, 2H), 3.45 - 3.35 (m, 1H), 3.31 (br. s., 1H), 3.10 (td, 1H), 1.75 - 1.68 (m, 1H), 1.60 - 1.53 (m, 1H), 1.37 - 1.20 (m, 5H), 0.89 (t, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 1.17 分钟 质量(ES⁺): 462.3</p>

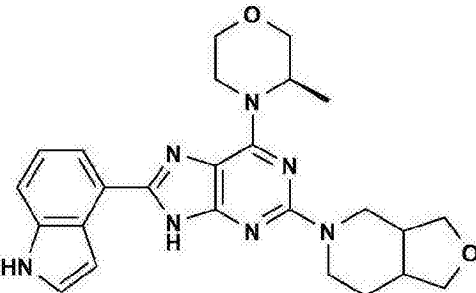
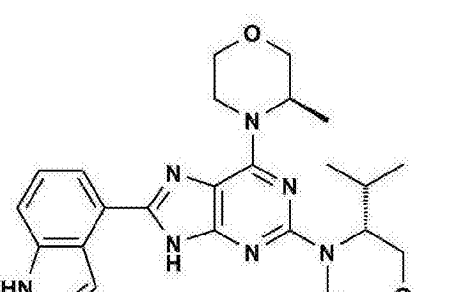
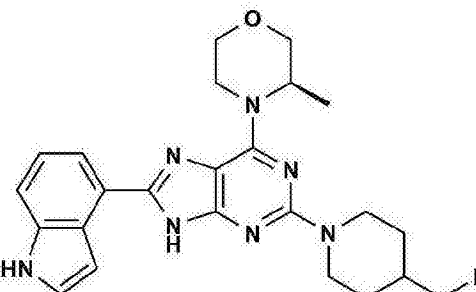
[0540]

13	 <p>8-[8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇</p>	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.93 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.67 (d, 1H), 7.56 - 7.44 (m, 2H), 7.28 (br. s., 1H), 7.16 (t, 1H), 5.5-5.0 (m, 1H), 4.56 (br. s., 2H), 4.36 (d, 1H), 4.07 - 3.95 (m, 3H), 3.84 - 3.71 (m, 2H), 3.62-3.55 (m, 1H), 1.94 (d, 2H), 1.82 - 1.66 (m, 4H), 1.66 - 1.49 (m, 2H), 1.45 - 1.31 (m, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.85 分钟 质量(ES⁺): 460.4</p>
14	 <p>8-[8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-8-氮杂-二环[3.2.1]辛-3-醇</p>	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.87 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.66 (d, 1H), 7.50 - 7.40 (m, 2H), 7.30-7.25 (m, 1H), 7.16 (t, 1H), 5.6-5.0 (m, 1H), 4.58-4.46 (m, 3H), 4.07 - 3.94 (m, 2H), 3.88 (br. s., 1H), 3.85 - 3.68 (m, 2H), 3.58 (t, 1H), 3.44-3.40 (m, 1H), 2.26 (d, 2H), 2.14-2.06 (d, 2H), 2.94 - 1.79 (m, 2H), 1.65-1.57 (m, 2H), 1.36 (d, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.86 分钟 质量(ES⁺): 460.3</p>
15	 <p>2-((R)-3-乙基-吗啉-4-基)-8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.79 (s, 1H), 11.27 (br. s., 1H), 7.66 (d, 1H), 7.48 - 7.42 (m, 2H), 7.25 (br. s., 1H), 7.14 (t, 1H), 5.7-4.7 (m, 2H), 4.37 (t, 1H), 4.27 (d, 1H), 3.99 (dd, 1H), 3.88 - 3.77 (m, 3H), 3.72 (d, 1H), 3.62 - 3.47 (m, 2H), 3.42 (td, 2H), 3.12 - 3.06 (m, 1H), 1.79 - 1.72 (m, 1H), 1.63 - 1.56 (m, 1H), 1.40 - 1.29 (m, 3H), 0.87 (t, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 1.07 分钟 质量(ES⁺): 448.3</p>

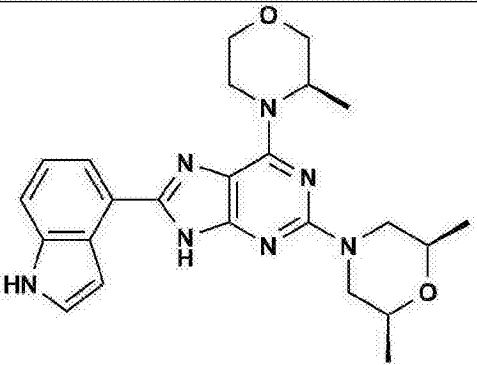
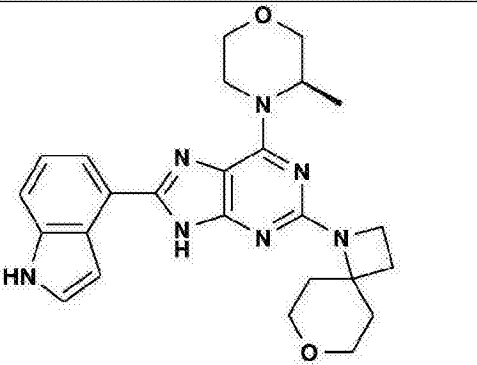
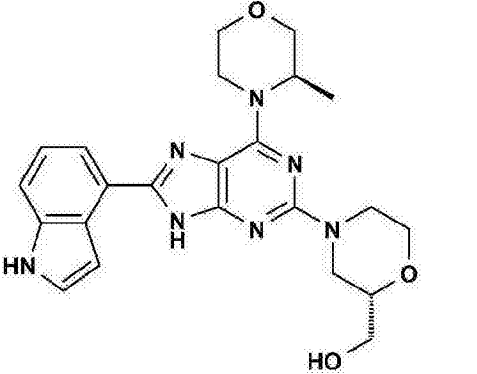
[0541]

16	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-甲基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) 12.81 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.65 (d, 1H), 7.53 - 7.43 (m, 2H), 7.25 (t, 1H), 7.15 (t, 1H), 5.6-5.0 (m, 2H), 3.99 (dd, 1H), 3.82 - 3.76 (m, 1H), 3.75 - 3.65 (m, 3H), 3.58-3.53 (m, 1H), 3.49-3.46 (m, 1H), 3.40 (t, 1H), 3.34-3.29 (m, 1H), 2.39 - 2.27 (m, 4H), 2.26 - 2.10 (m, 3H), 1.34 (d, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.69 分钟 质量(ES⁺): 433.3</p>
17	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(6-氧杂-2-氮杂-螺[3.5]壬-2-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.95 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.63 - 7.60 (m, 1H), 7.46 - 7.40 (m, 2H), 7.25 (t, 1H), 7.14 (t, 1H), 5.65-4.85 (m, 2H), 4.00 - 3.95 (m, 1H), 3.81 - 3.75 (m, 1H), 3.73 - 3.66 (m, 3H), 3.65 - 3.59 (m, 4H), 3.57 - 3.44 (m, 3H), 3.42-3.38 (m, 1H), 1.83 - 1.68 (m, 2H), 1.55 - 1.43 (m, 2H), 1.34 (d, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.97 分钟 质量(ES⁺): 460.3</p>
18	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-氧杂环丁烷-3-基-哌嗪-1-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.83 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.64 (d, 1H), 7.50 - 7.42 (m, 2H), 7.25 (br. s., 1H), 7.15 (t, 1H), 5.75-4.70 (m, 2H), 4.55 (t, 2H), 4.47 (t, 2H), 3.99 (dd, 1 H), 3.81 - 3.76 (m, 1 H), 3.75 - 3.64 (m, 5 H), 3.62 - 3.51 (m, 1 H), 3.46 - 3.38 (m, 2H), 2.30 (t, 4H), 1.34 (d, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.72 分钟 质量(ES⁺): 475.3</p>
19	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(5,6-二氢-2H-吡咯并[2,3-b]呋喃-2-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.89 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.68-7.64 (m, 1H), 7.48 - 7.44 (m, 2H), 7.28 (t, 1H), 7.16 (t, 1H), 5.7-4.2 (m, 2H), 4.01 (dd, 1 H), 3.89 - 3.79 (m, 3H), 3.77 - 3.66 (m, 3H), 3.62 - 3.55 (m, 3H), 3.54 -	<p>方法 1 保留时间: 0.88 分钟 质量(ES⁺): 446.3</p>

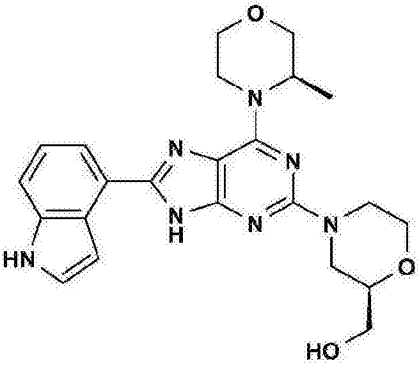
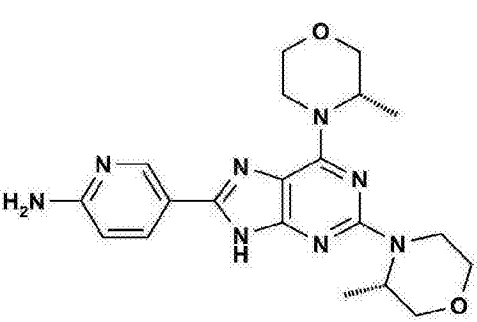
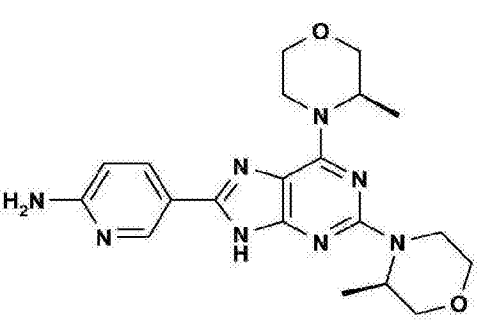
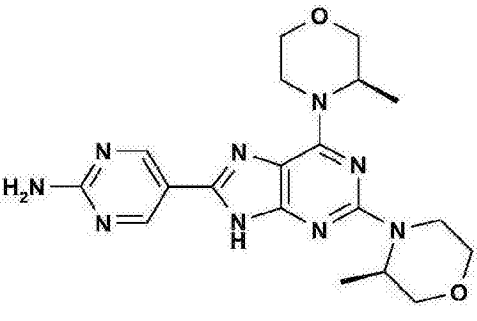
[0542]

	8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(四氢-咪唑并[3,4-c]吡咯-5-基)-9H-嘌呤	3.42 (m, 2H), 3.32 (s, 1H), 3.02 - 2.91 (m, 2H), 1.37 (d, 3H)	
20	 <p>2-(6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吲哚-4-基)-9H-嘌呤-2-基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[3,4-c]吡咯</p>	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.81 (s, 1H), 11.29 (br. s., 1H), 7.69 - 7.64 (m, 1H), 7.49 - 7.44 (m, 2H), 7.27 (br. s., 1H), 7.16 (t, 1H), 5.6-4.8 (m, 2H), 3.98 - 3.90 (m, 1H), 3.84 - 3.71 (m, 6H), 3.62 - 3.54 (m, 2H), 3.48 - 3.39 (m, 3H), 3.33 - 3.30 (m, 1H), 2.49 - 2.33 (m, 2H), 1.77 (br. s., 1H), 1.52 (br. s., 1H), 1.36 (d, 3H)	方法 1 保留时间: 0.95 分钟 质量(ES ⁺): 460.3
21	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-2-((R)-3-异丙基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.75 (s, 1H), 11.27 (br. s., 1H), 7.64 (d, 1H), 7.38 - 7.45 (m, 2H), 7.24 (t, 1H), 7.14 (t, 1H), 5.2-4.7 (m, 2H), 4.45 (d, 1H), 4.29 (d, 1H), 3.98 - 3.92 (m, 2H), 3.84 - 3.78 (m, 2H), 3.74 - 3.69 (m, 1H), 3.60 - 3.53 (m, 1H), 3.43 - 3.35 (m, 2H), 3.32 - 3.21 (m, 1H), 3.09 (td, 1H), 2.48 - 2.30 (m, 1H), 1.34 (d, 3H), 1.00 (d, 3H), 0.77 (d, 3H)	方法 1 保留时间: 1.12 分钟 质量(ES ⁺): 462.3
22	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(4-三氟甲基-吡啶-1-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.84 (br. s., 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.65 (d, 1H), 7.47 - 7.43 (m, 2H), 7.25 (br. s., 1H), 7.15 (t, 1H), 5.7-5.3 (m, 1H), 4.75 (d, 2H), 4.00 (d, 1H), 3.82 - 3.77 (m, 1H), 3.76 - 3.70 (m, 1H), 3.57 (t, 1H), 3.37 (br. s., 1H), 2.86 (t, 2H), 2.64 - 2.56 (m, 1H), 1.83 (d, 2H), 1.43-1.36 (m, 3H), 1.34 (d, 3H)	方法 1 保留时间: 1.24 分钟 质量(ES ⁺): 486.3

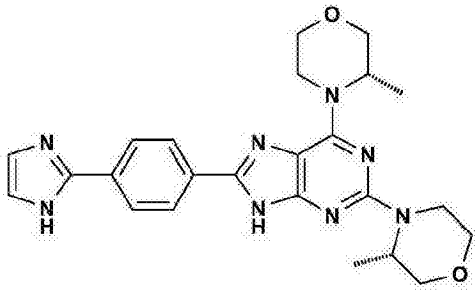
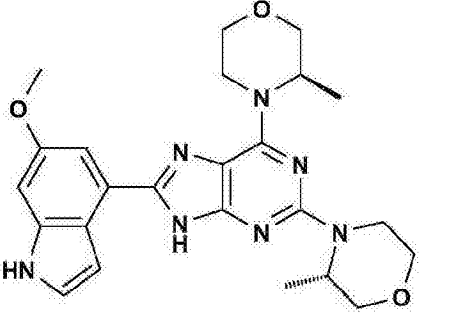
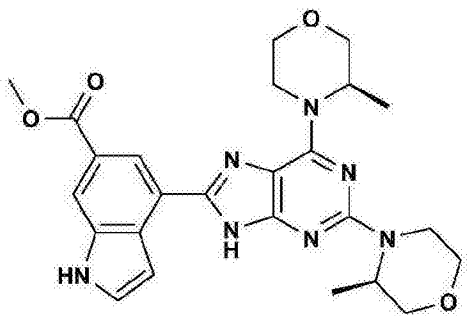
[0543]

23	 <p>2-((2S,6R)-2,6-二甲基-吗啉-4-基)-8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.83 (br. s., 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.65 (d, 1H), 7.53 - 7.42 (m, 2H), 7.25 (br. s., 1H), 7.15 (t, 1H), 5.5-5.0 (m, 2H), 4.42 (d, 2H), 4.00 (d, 1H), 3.80 (d, 1H), 3.73 (d, 1H), 3.60 - 3.52 (m, 3H), 3.3 (m, 1H), 2.48-2.43 (m, 2H), 1.35 (d, 3H), 1.15 (d, 6H)	<p>方法 1 保留时间: 1.1 分钟 质量(ES⁺): 448.3</p>
24	 <p>8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-(7-氧杂-1-氮杂-螺[3.5]壬-1-基)-9H-嘌呤</p>	¹ H NMR (600 MHz, CHLOROFORM- <i>d</i>): 8.42 (br. s., 1H), 7.55 (d, 1H), 7.49 (d, 1H), 7.38 (br. s., 1H), 7.31 - 7.26 (m, 2H), 4.17 - 4.07 (m, 3H), 4.01 (dd, 3H), 3.88 (d, 2H), 3.77-3.64 (m, 3H), 3.43 (t, 3H), 2.73 (br. s., 2H), 2.25 (t, 2H), 1.76 (d, 2H), 1.51 (br. s., 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.92 分钟 质量(ES⁺): 460.3</p>
25	 <p>{(S)-4-[8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.87 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.65 (d, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.25 (br. s., 1H), 7.15 (t, 1H), 5.7-4.9 (m, 2H), 4.80 (t, 1H), 4.53 (d, 1H), 4.36 (d, 1H), 4.00 (d, 1H), 3.91 (d, 1H), 3.80 (d, 1H), 3.73 (d, 1H), 3.60 - 3.46 (m, 3H), 3.44 - 3.36 (m, 3H), 2.90 (t, 1H), 2.58 - 2.64 (m, 1H), 1.35 (d, 3H)	<p>方法 1 保留时间: 0.82 分钟 质量(ES⁺): 450.3</p>

[0544]

26	 <p>{(R)-4-[8-(1H-吲哚-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-2-基]-吗啉-2-基}-甲醇</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.86 (s, 1H), 11.28 (br. s., 1H), 7.65 (d, 1H), 7.55 - 7.43 (m, 2H), 7.27-7.23 (m, 1H), 7.15 (t, 1H), 5.7-5.0 (m, 2H), 4.81 (t, 1H), 4.52 (d, 1H), 4.42 - 4.32 (m, 1H), 3.99 (d, 1H), 3.91 (d, 1H), 3.80 (d, 1H), 3.73 (d, 1H), 3.56 - 3.38 (m, 6H), 2.93 - 2.86 (m, 1H), 2.64 - 2.58 (m, 1H), 1.33 (d, 3H)	方法 1 保留时间: 0.83 分钟 质量(ES ⁺): 450.3
27	 <p>5-[2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.72 (s, 1 H), 8.58 (d, 1 H), 7.97 (dd, 1H), 6.51 (d, 1H), 6.36 (s, 2H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.52 (dd, 1H), 4.16 (dd, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.96 (dd, 1H), 3.90 (dd, 1H), 3.76 (d, 1H), 3.72-3.64 (m, 2H), 3.60 (dd, 1H), 3.52 (ddd, 1H), 3.44 (ddd, 1H), 3.09 (ddd, 1H), 1.29 (d, 3 H) 1.17 (d, 3 H)	方法 1 保留时间: 0.73 分钟 质量(ES ⁺): 411.3
28	 <p>5-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-吡啶-2-基胺</p>	¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.72 (s, 1 H), 8.58 (d, 1 H), 7.97 (dd, 1H), 6.51 (d, 1H), 6.36 (s, 2H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.52 (dd, 1H), 4.16 (dd, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.96 (dd, 1H), 3.90 (dd, 1H), 3.76 (d, 1H), 3.72-3.64 (m, 2H), 3.60 (dd, 1H), 3.52 (ddd, 1H), 3.44 (ddd, 1H), 3.09 (ddd, 1H), 1.29 (d, 3 H) 1.17 (d, 3 H)	方法 1 保留时间: 0.73 分钟 质量(ES ⁺): 411.3
29		¹ H NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): 12.84 (s, 1 H), 8.80 (s, 2H), 7.08 (s, 2H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.49 (dd, 1H), 4.14 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.94 (dd, 1H), 3.88 (dd, 1H), 3.74 (d, 1H), 3.71-3.63 (m, 2H), 3.58 (dd, 1H), 3.50 (ddd, 1H), 3.42	方法 1 保留时间: 0.78 分钟 质量(ES ⁺): 412.3

[0545]

	5-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-嘧啶-2-基-胺	(ddd, 1H), 3.07 (ddd, 1H), 1.27 (d, 3 H) 1.15 (d, 3 H)	
30	 <p>8-[4-(1H-咪唑-2-基)-苯基]-2,6-双-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤</p>	<p>1H NMR (600 MHz, DMSO-<i>d</i>₆): 13.82 (brs, 1H), 13.11 (s, 1 H), 8.17 (d, 2H), 8.05 (d, 2 H), 7.47 (s, 2H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.55 (dd, 1H), 4.20 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.99 (dd, 1H), 3.92 (dd, 1H), 3.79 (d, 1H), 3.74-3.66 (m, 2H), 3.61 (dd, 1H), 3.55 (ddd, 1H), 3.45 (ddd, 1H), 3.12 (ddd, 1H), 1.33 (d, 3 H), 1.19 (d, 3 H)</p>	<p>方法 1 保留时间: 0.76 分钟 质量(ES⁺): 461.3</p>
31	 <p>8-(6-甲氧基-1H-吲哚-4-基)-2-((S)-3-甲基-吗啉-4-基)-6-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤</p>	<p>1H NMR (600 MHz, DMSO-<i>d</i>₆): 12.87 (s, 1 H), 11.04 (s, 1H), 7.39 (d, 1H), 7.29 (dd, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.56 (d, 1H), 4.16 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.99 (d, 1H), 3.90 (dd, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.79 (d, 1H), 3.75-3.67 (m, 2H), 3.60 (dd, 1H), 3.56 (dd, 1H), 3.44 (dd, 1H), 3.10 (ddd, 1H), 1.34 (d, 3H), 1.17 (d, 3H).</p>	<p>方法 1 保留时间: 1.02 分钟 质量(ES⁺): 464.3</p>
32	 <p>4-[2,6-双-((R)-3-甲基-吗啉-4-基)-9H-嘌呤-8-基]-1H-吲哚-6-甲酸甲酯</p>	<p>1H NMR (400 MHz, DMSO-<i>d</i>₆): 13.11 (s, 1 H), 11.70 (s, 1H), 8.34 (d, 1 H), 8.09 (s, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.32 (dd, 1H), 6.0-4.5 (brs, 2H), 4.56 (dd, 1H), 4.19 (d, 1H), 4.0-3.0 (brs, 1H), 3.99 (dd, 1H), 3.90 (dd, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.79 (d, 1H), 3.75-3.68 (m, 2H), 3.60 (dd, 1H), 3.56 (ddd, 1H), 3.44 (ddd, 1H), 3.11 (ddd, 1H), 1.36 (d, 3 H), 1.18 (d, 3 H)</p>	<p>方法 1 保留时间: 1.05 分钟 质量(ES⁺): 492.3</p>

[0001]

<110> 诺华股份有限公司

<120> 新的嘌呤衍生物及它们在治疗疾病中的应用

<130> 54855-US-PSP

<160> 1

<170> PatentIn 版本 3.3

<210> 1

<211> 615

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 用于自噬试验的融合蛋白

<220>

<221> mCherry

<222> (1).. (236)

<220>

<221> GFP

<222> (241).. (479)

<220>

<221> LC3A

<222> (495).. (615)

<400> 1

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Asp Asn Met Ala Ile Ile Lys Glu Phe
 1 5 10 15

Met Arg Phe Lys Val His Met Glu Gly Ser Val Asn Gly His Glu Phe
 20 25 30

Glu Ile Glu Gly Glu Gly Glu Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr
 35 40 45

Ala Lys Leu Lys Val Thr Lys Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Trp Asp
 50 55 60

[0002]

Ile Leu Ser Pro Gln Phe Met Tyr Gly Ser Lys Ala Tyr Val Lys His
65 70 75 80

Pro Ala Asp Ile Pro Asp Tyr Leu Lys Leu Ser Phe Pro Glu Gly Phe
85 90 95

Lys Trp Glu Arg Val Met Asn Phe Glu Asp Gly Gly Val Val Thr Val
100 105 110

Thr Gln Asp Ser Ser Leu Gln Asp Gly Glu Phe Ile Tyr Lys Val Lys
115 120 125

Leu Arg Gly Thr Asn Phe Pro Ser Asp Gly Pro Val Met Gln Lys Lys
130 135 140

Thr Met Gly Trp Glu Ala Ser Ser Glu Arg Met Tyr Pro Glu Asp Gly
145 150 155 160

Ala Leu Lys Gly Glu Ile Lys Gln Arg Leu Lys Leu Lys Asp Gly Gly
165 170 175

His Tyr Asp Ala Glu Val Lys Thr Thr Tyr Lys Ala Lys Lys Pro Val
180 185 190

Gln Leu Pro Gly Ala Tyr Asn Val Asn Ile Lys Leu Asp Ile Thr Ser
195 200 205

His Asn Glu Asp Tyr Thr Ile Val Glu Gln Tyr Glu Arg Ala Glu Gly
210 215 220

Arg His Ser Thr Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys Pro Val Ala Thr
225 230 235 240

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu
245 250 255

Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly
260 265 270

[0003]

Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile
 275 280 285

Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr
 290 295 300

Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys
 305 310 315 320

Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu
 325 330 335

Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu
 340 345 350

Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly
 355 360 365

Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr
 370 375 380

Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn
 385 390 395 400

Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser
 405 410 415

Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly
 420 425 430

Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu
 435 440 445

Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe
 450 455 460

Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys Ser
 465 470 475 480

[0004]

Gly Leu Arg Ser Arg Ala Gln Ala Ser Asn Ser Ala Val Asp Met Pro
 485 490 495

Ser Asp Arg Pro Phe Lys Gln Arg Arg Ser Phe Ala Asp Arg Cys Lys
 500 505 510

Glu Val Gln Gln Ile Arg Asp Gln His Pro Ser Lys Ile Pro Val Ile
 515 520 525

Ile Glu Arg Tyr Lys Gly Glu Lys Gln Leu Pro Val Leu Asp Lys Thr
 530 535 540

Lys Phe Leu Val Pro Asp His Val Asn Met Ser Glu Leu Val Lys Ile
 545 550 555 560

Ile Arg Arg Arg Leu Gln Leu Asn Pro Thr Gln Ala Phe Phe Leu Leu
 565 570 575

Val Asn Gln His Ser Met Val Ser Val Ser Thr Pro Ile Ala Asp Ile
 580 585 590

Tyr Glu Gln Glu Lys Asp Glu Asp Gly Phe Leu Tyr Met Val Tyr Ala
 595 600 605

Ser Gln Glu Thr Phe Gly Phe
 610 615