

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113924305 A

(43) 申请公布日 2022.01.11

(21) 申请号 202080039438.4

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

(22) 申请日 2020.05.26

11517

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2019/088573 2019.05.27 CN

(51) Int.Cl.

C07D 519/00 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.11.26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2020/092351 2020.05.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/238900 EN 2020.12.03

(71) 申请人 迪哲(江苏)医药股份有限公司

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技
园区亮景路199号

(72) 发明人 齐长河 徐汉忠 曾庆北 杨振帆

张小林

权利要求书13页 说明书88页

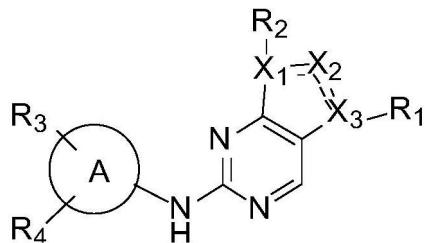
(54) 发明名称

DNA依赖性蛋白激酶抑制剂

(57) 摘要

本文公开了适用作DNA-PK抑制剂的式(I)化
合物和其药学上可接受的盐。本文还公开了包含
一种或多种式(I)化合物的药物组合物，和使用
这些化合物或组合物治疗DNA-PK相关病症(例
如，癌症)的方法。

1. 一种式I化合物



式 I

和其药学上可接受的盐，

其中，

X₁、X₂和X₃各自独立地为C或N，条件是X₁、X₂和X₃中的至少一个为N且X₁、X₂和X₃中的至少一个为C；

短划线“—”意指X₁与X₂之间的键和X₂与X₃之间的键可为单键或双键，条件是X₁与X₂之间的键和X₂与X₃之间的键中的至少一个为单键；

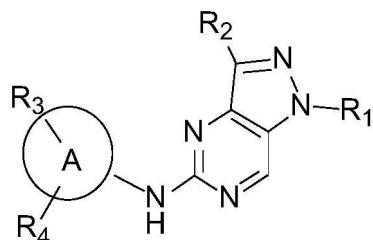
R¹不存在或为C₁₋₆烷基，其中所述C₁₋₆烷基可任选地被羟基、卤素或氨基单取代或独立地多取代；

每个R²、R³和R⁴独立地选自不存在、卤素、羟基、氨基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、-(CH₂)_n-Q，其可以任选地被以下单取代或独立地多取代：氨基、羟基、氨基、氨基、卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤烷基、(C≡N)-C₁₋₆烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤烷氧基、C₃₋₈环烷基、C₃₋₈环烷氧基、3元至8元芳基或3元至8元杂环基，

其中n为0、1或2，Q为3元至8元饱和或不饱和碳环基，或3元至8元饱和或不饱和杂环基；

环A为5元至12元芳基，具有1至5个选自氧、硫和氮的环杂原子的5元至12元杂芳基，具有0至5个选自氧、硫和氮的环杂原子的8元至10元双环，其中环A不为苯基。

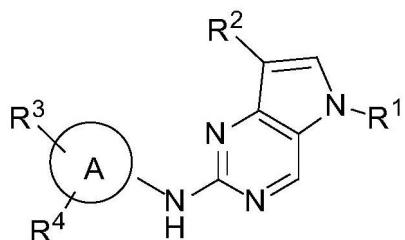
2. 根据权利要求1所述的化合物，其具有式Ia的结构



式 Ia

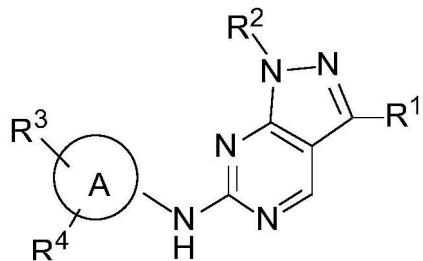
和其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1所述的化合物，其具有式Ib的结构



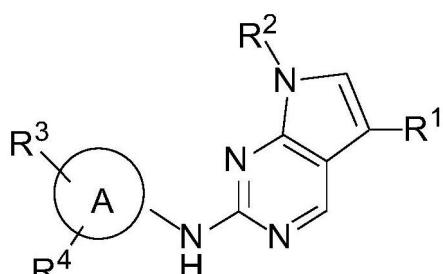
和其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1所述的化合物,其具有式Ic的结构



和其药学上可接受的盐。

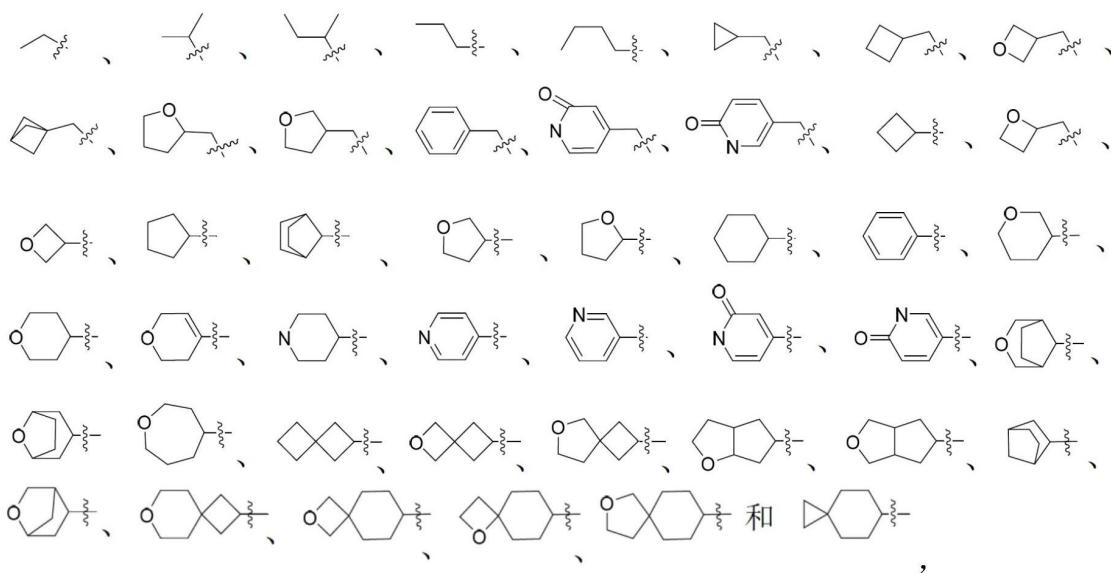
5. 根据权利要求1所述的化合物,其具有式Id的结构



和其药学上可接受的盐。

6. 根据权利要求1所述的化合物,其中R²选自甲基、乙基、丙基、丁基、环丙基、环丁基、氧杂环丁烷基、环戊烷基、四氢呋喃基、环己烷基、四氢吡喃基、环庚烷基、哌啶基、苯基、吡啶基、吡啶酮基、氧杂环辛烷基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、螺[3.3]庚烷基、螺[2.5]辛烷基、双环[1.1.1]戊烷基、双环[3.2.1]辛烷基、8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基,其可以任选地被以下单取代或独立地多取代:羟基、氰基、卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤烷氧基、C₃₋₈环烷基、C₃₋₈环烷氧基、3元至8元芳基或3元至8元杂环基,其可另外任选地被以下单取代或独立地多取代:卤素、氘、羟基、氨基、氰基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤烷基、C₁₋₆烷氧基或C₁₋₆卤烷氧基。

7. 根据权利要求1所述的化合物,其中R²选自:



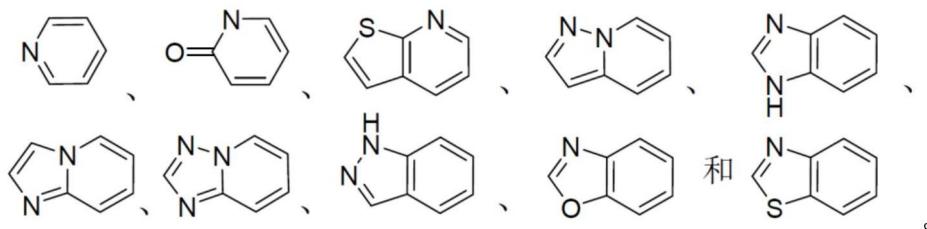
其可任选地被羟基、氰基、氟、氯、溴、甲基、乙基、甲氧基、二氟甲基、二氟甲氧基或三氟甲氧基单取代或独立地多取代。

8. 根据权利要求1所述的化合物，其中R²为环己烷基或四氢吡喃基，其可以任选地被卤素、C₁₋₆烷基或C₁₋₆烷氧基单取代或独立地多取代。

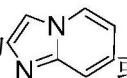
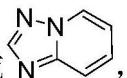
9. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基或异丁基，其可以任选地被羟基、卤素或氘单取代或独立地多取代。

10. 根据权利要求1所述的化合物，其中R¹为甲基、乙基、三氟甲基或三氘甲基。

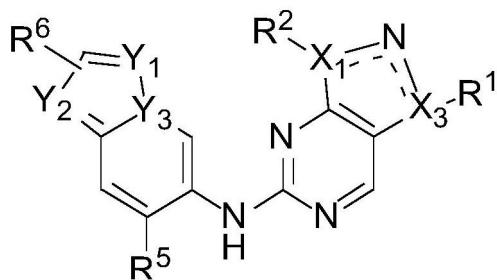
11. 根据权利要求1所述的化合物，其中环A为具有1个环杂原子氮的6元杂芳基，具有2至3个选自氧、硫和氮的环杂原子的9元双环，任选地，所述9元双环为苯基或吡啶基稠合双环，任选地，环A选自



12. 根据权利要求1所述的化合物，其中每个R³和R⁴独立地选自不存在、卤素、羟基、氰基、C₁₋₆烷基、CN-C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤烷氧基、3元至8元饱和或不饱和杂环基，其中所述杂环基可以任选地另外被C₁₋₃烷基单取代或独立地多取代。

13. 根据权利要求1所述的化合物，其中环A为或，每个R³和R⁴独立地选自不存在、甲基、氰基、甲氧基、氯、氰基-甲基、吡唑基、恶唑基，其中所述吡唑基或恶唑基可以任选地另外被C₁₋₃烷基单取代或独立地多取代。

14. 根据权利要求1所述的化合物，其具有式Ie的结构



式 Ie

和其药学上可接受的盐，

其中，

X₁和X₃中的一个为N且另一个为C,短划线“——”意指X₁与N之间的键和N与X₃之间的键可为单键或双键,条件是X₁与N之间的键和N与X₃之间的键中的至少一个为单键；

R¹为C₁₋₃-烷基，

R²为环戊基、环己烷基、四氢吡喃基或8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基,其可以任选地被卤素或C₁₋₃-烷氧基单取代或独立地多取代，

Y₁、Y₂和Y₃各自独立地为C或N,条件是Y₁、Y₂和Y₃中的至少一个为N；

R⁵为卤素或C₁₋₃-烷基，

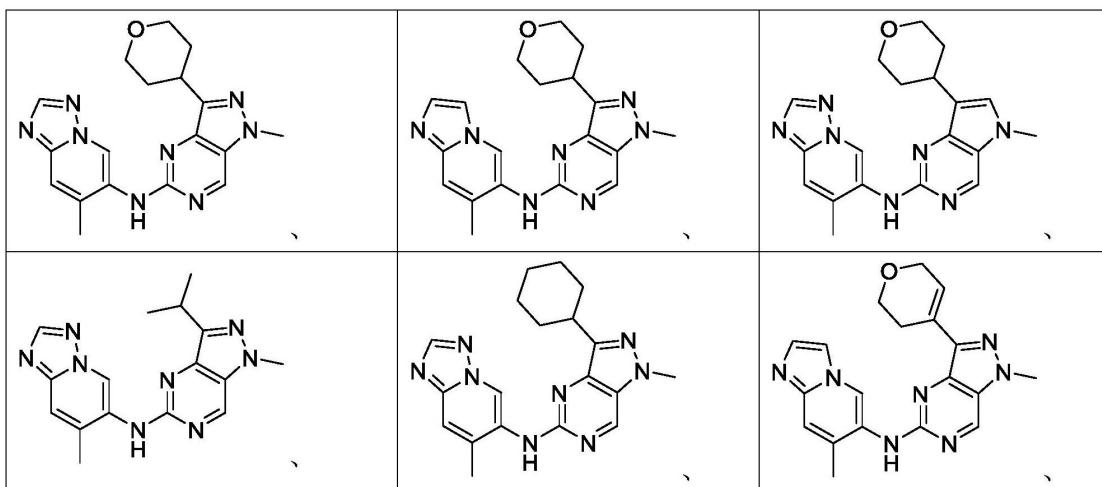
R⁶为C₁₋₃-烷基。

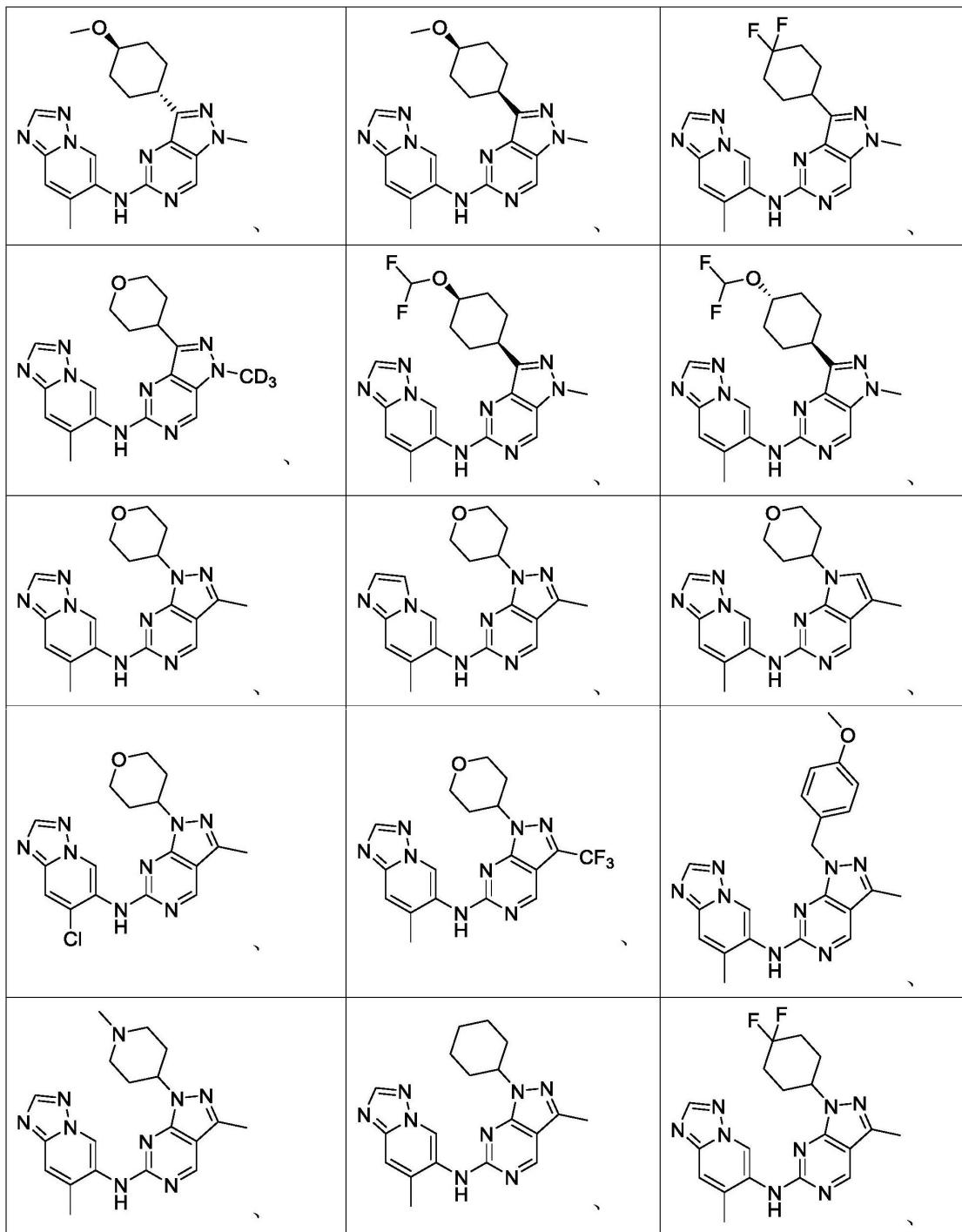
15. 根据权利要求14所述的化合物,其中R²为未被取代的环戊基、环己烷基、四氢吡喃基或8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基,其可任选地被卤素或C₁₋₃-烷氧基单取代或独立地多取代。

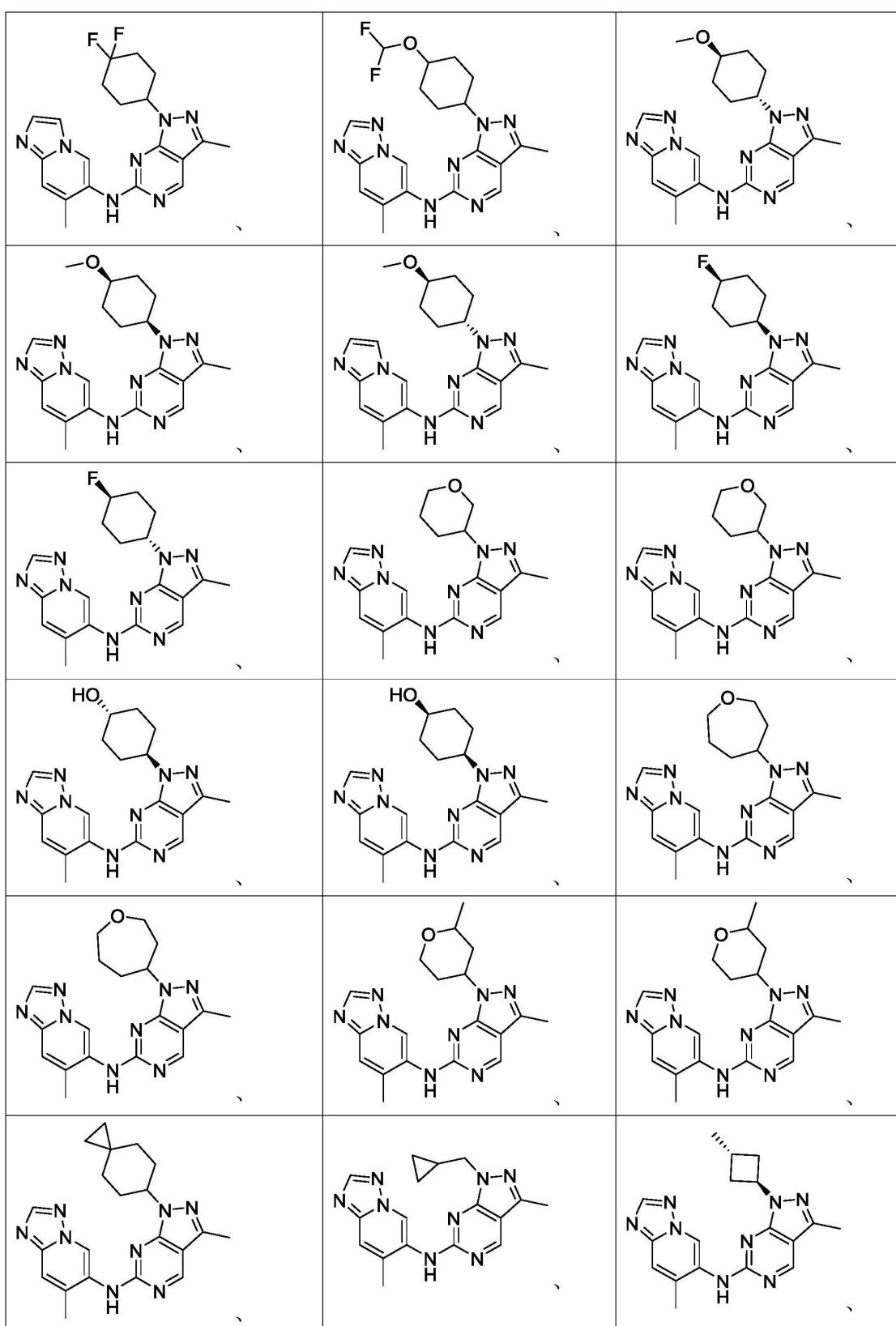
16. 根据权利要求14所述的化合物,其中Y₃为N且Y₁和Y₂中的至少一个为N。

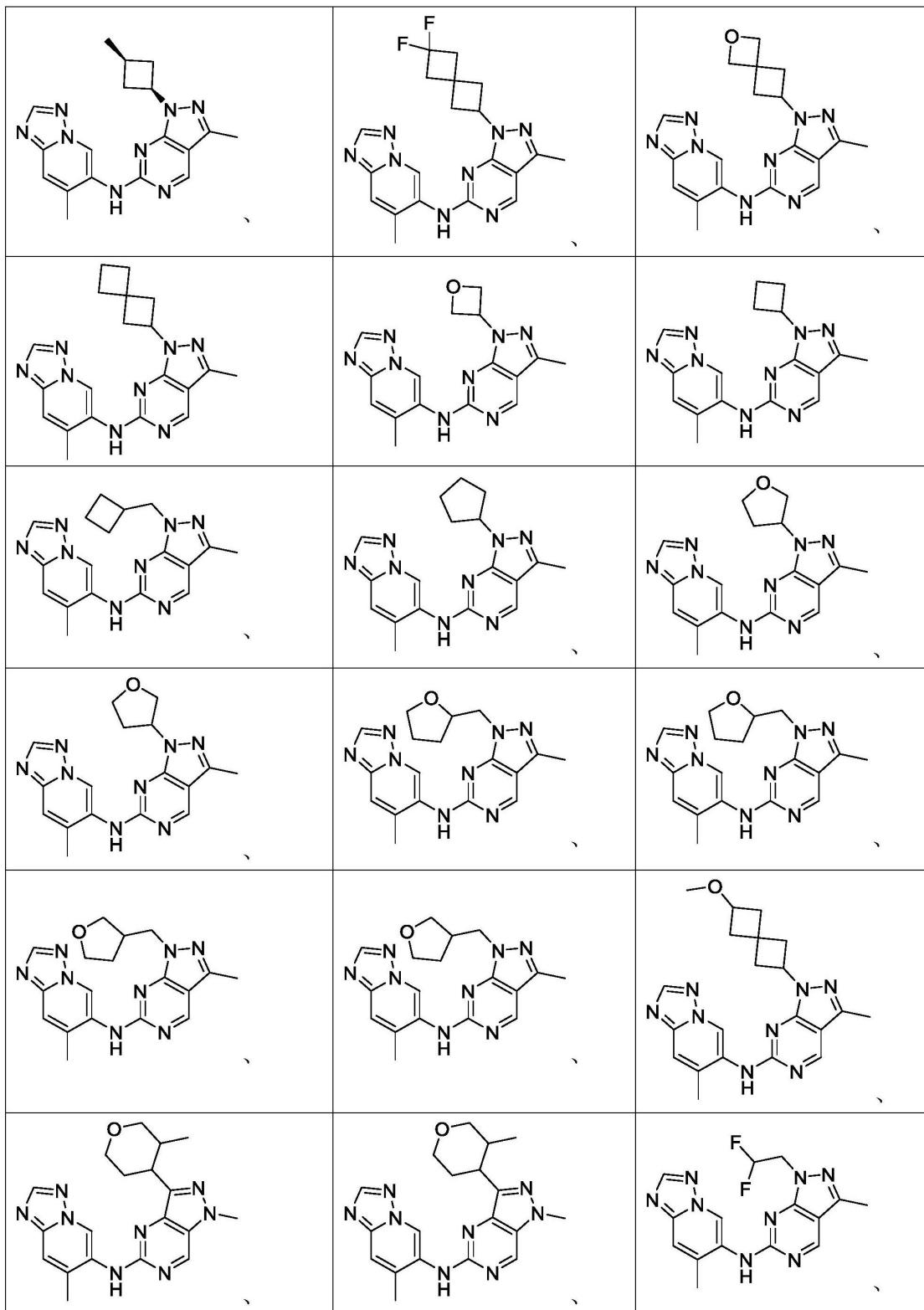
17. 根据权利要求14所述的化合物,其中R⁵为甲基。

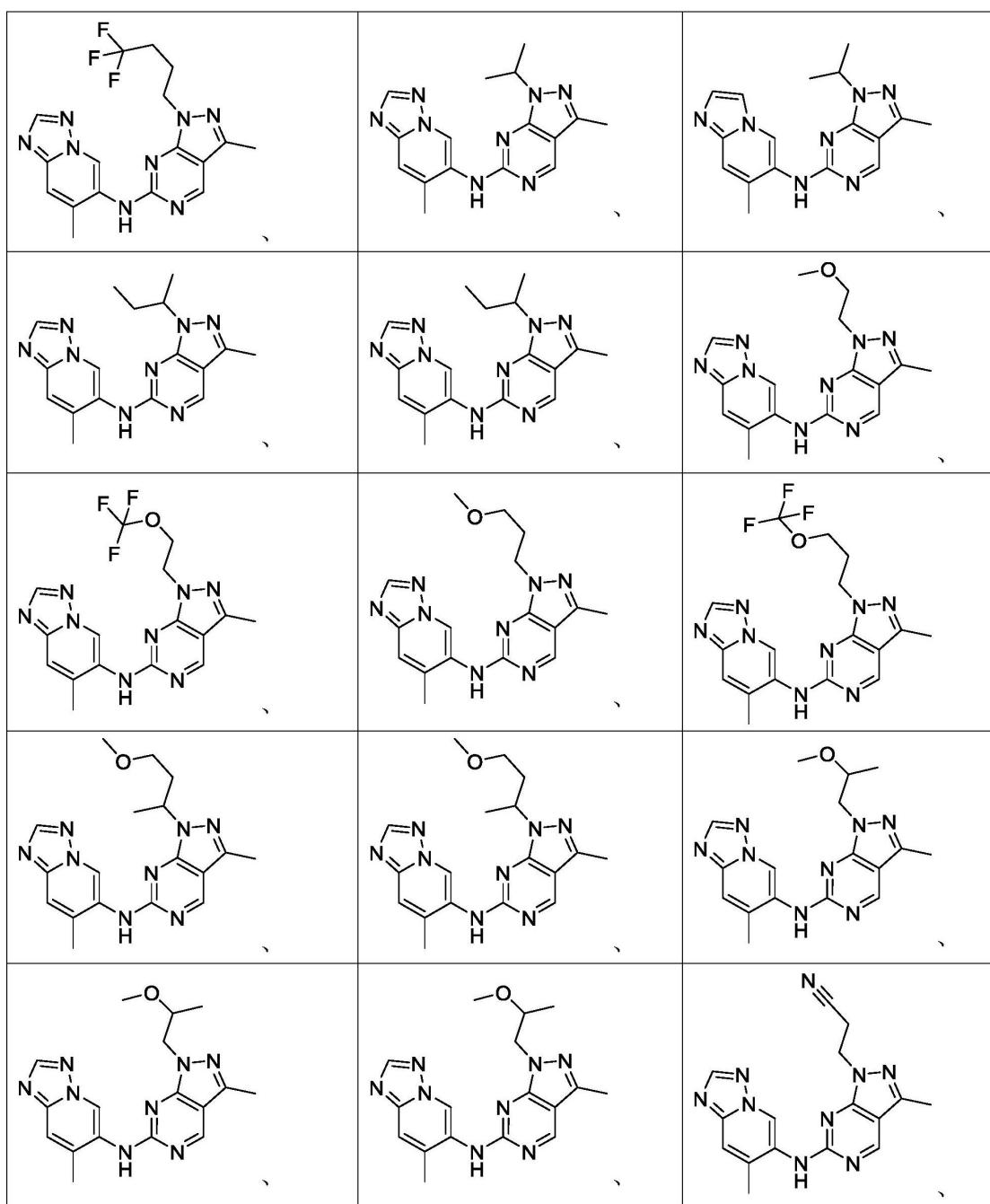
18. 根据权利要求1所述的化合物,其选自由以下组成的组:

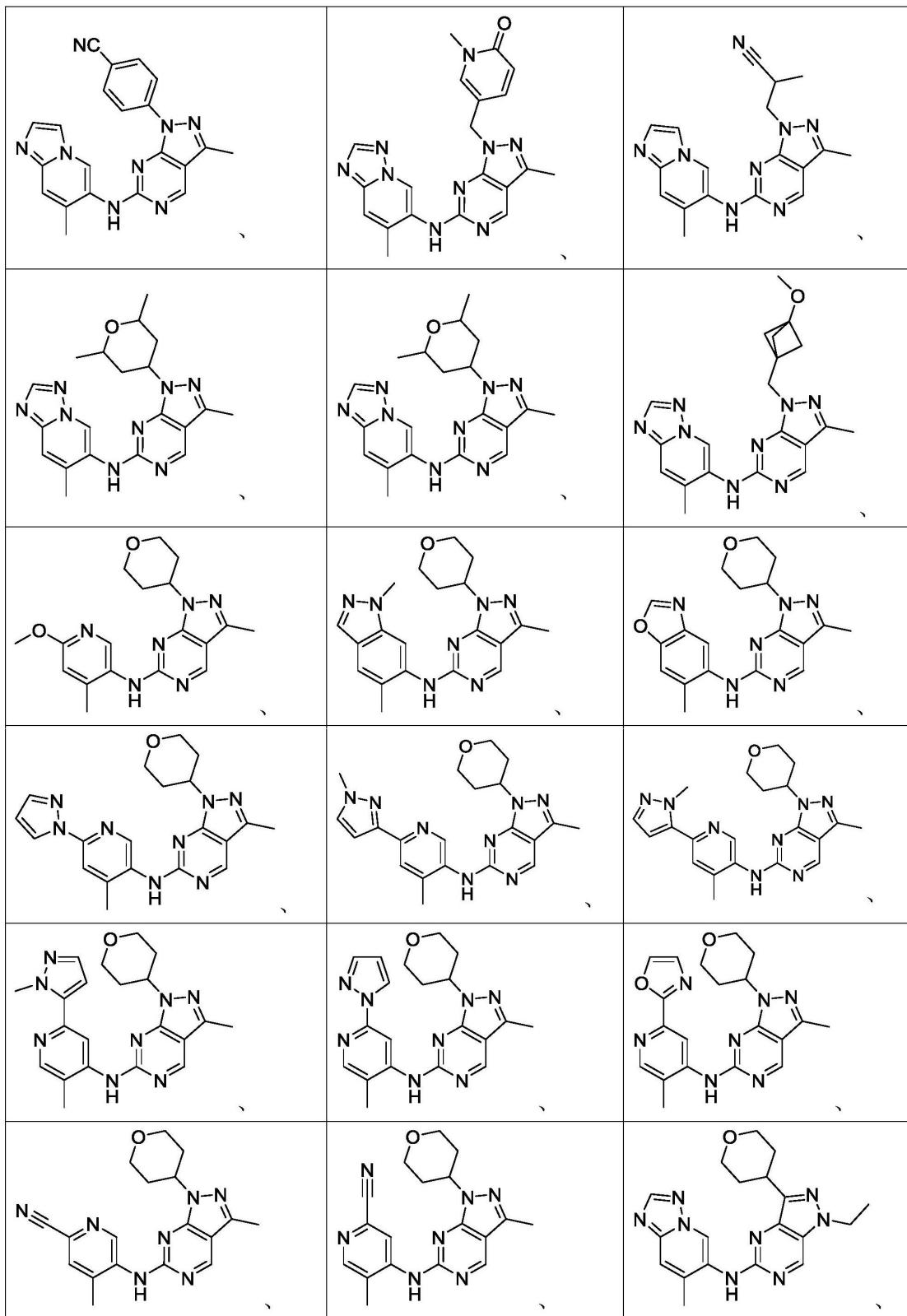


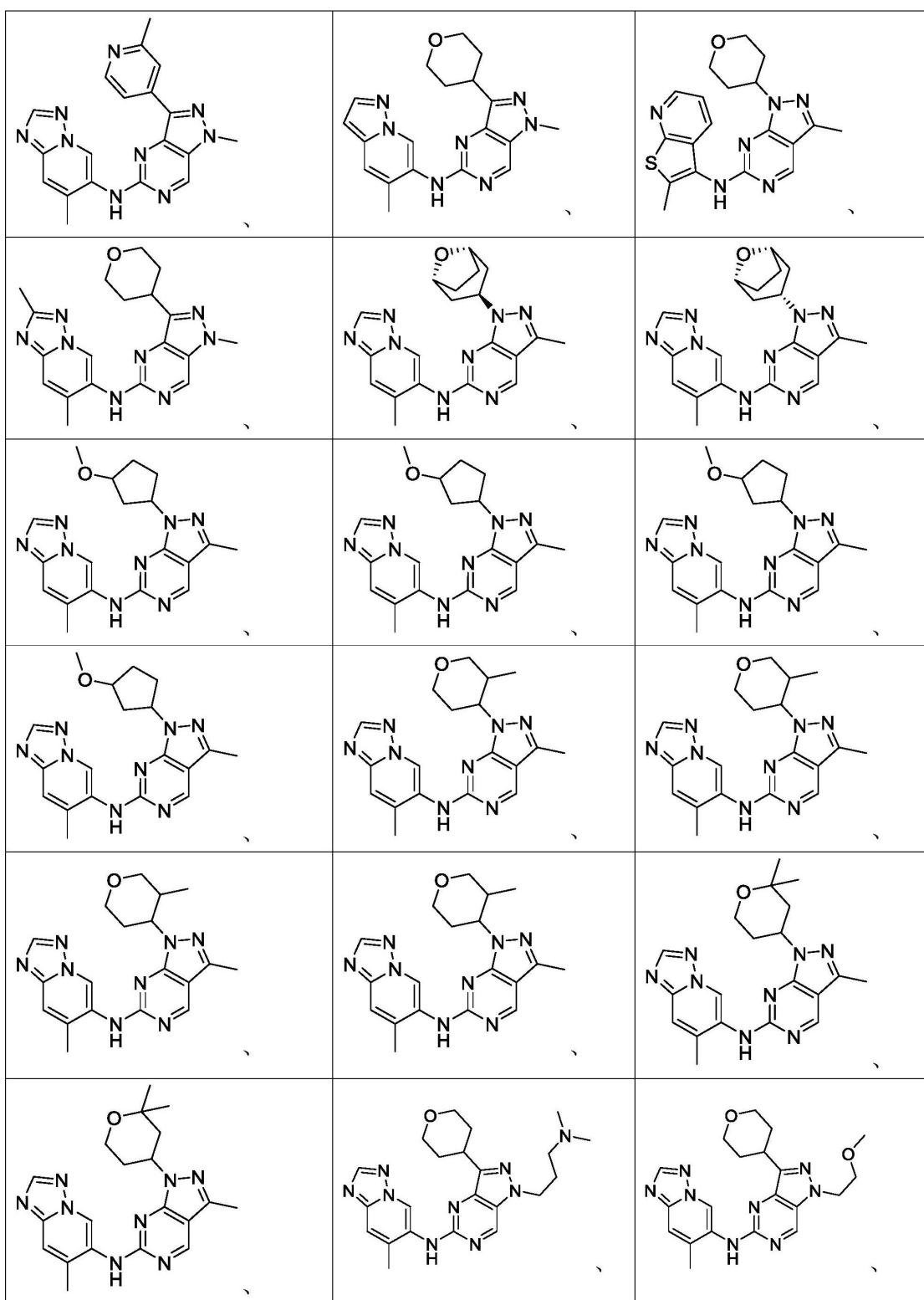


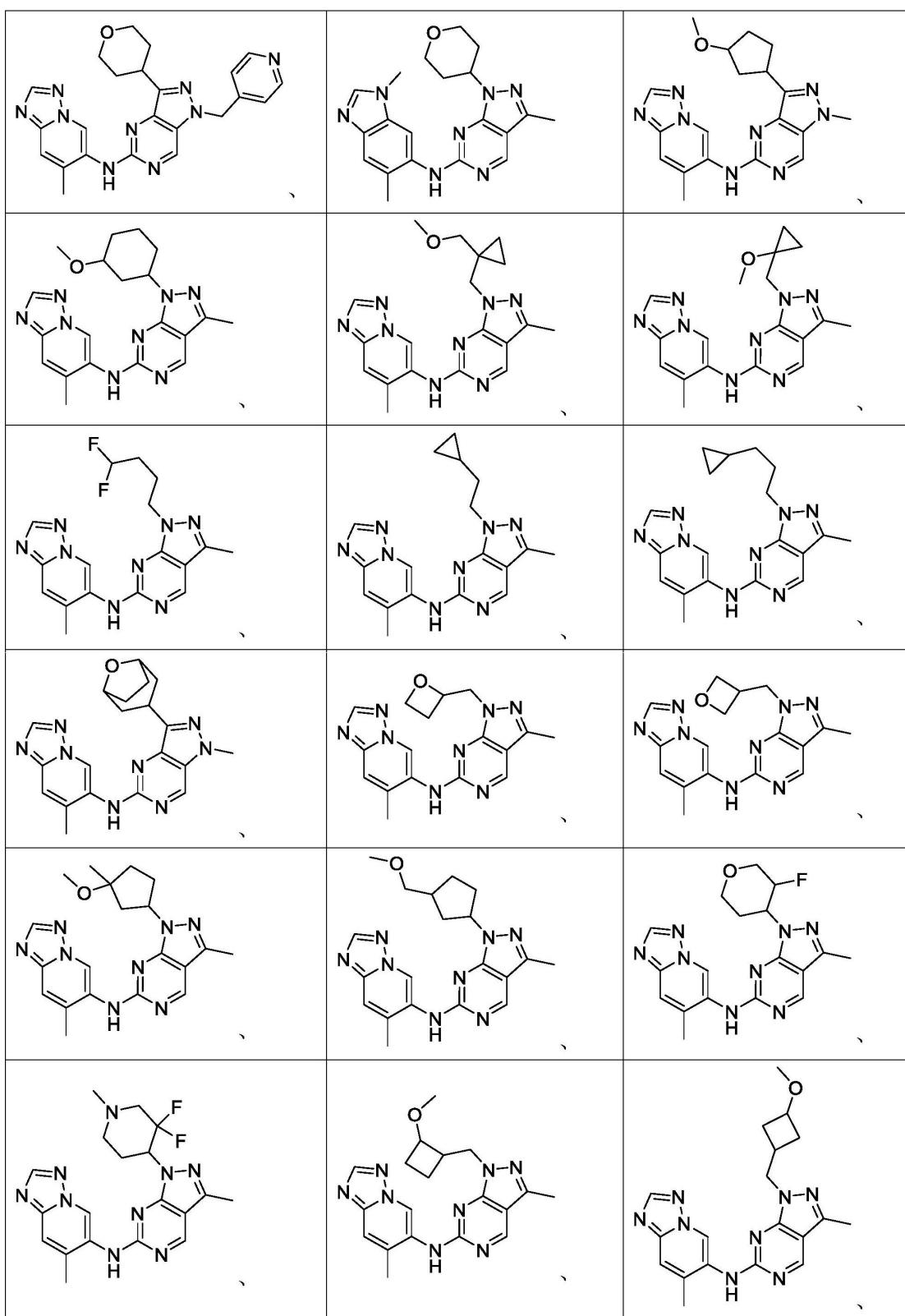


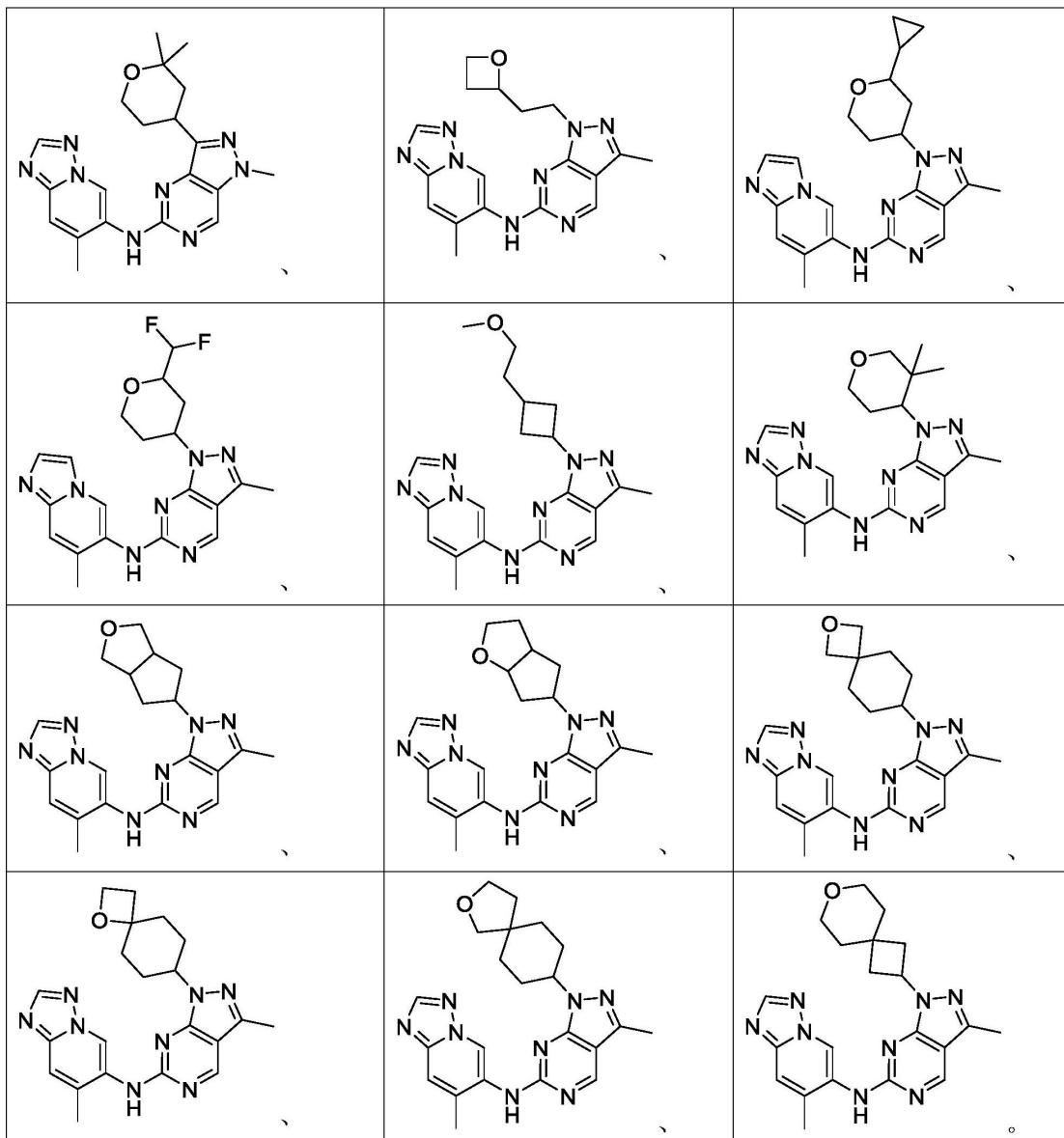












19. 根据权利要求1至18中任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其呈结晶形式。

20. 一种药物组合物,其包含一种或多种根据权利要求1至19中任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐作为第一活性成分,和药学上可接受的稀释剂、赋形剂或载体。

21. 根据权利要求1至19中任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,或根据权利要求20所述的药物组合物,其用于抑制DNA依赖性蛋白激酶(DNA-PK)。

22. 一种抑制DNA-PK的方法,其通过使用一种或多种根据权利要求1至19中任一项所述的化合物、其药学上可接受的盐或根据权利要求20所述的药物组合物来进行。

23. 一种治疗受试者的DNA-PK相关病症的方法,其包括向所述受试者施用有效量的一种或多种根据权利要求1至19中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐或根据权利要求20所述的药物组合物。

24. 根据权利要求19所述的方法,其中所述受试者是温血动物,如人类。

25. 根据权利要求19所述的方法,其中所述DNA-PK相关病症是癌症。

26. 根据权利要求1至19中任一项所述的式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其与第

二治疗剂,优选地抗癌剂组合。

DNA依赖性蛋白激酶抑制剂

发明领域

[0001] 本说明书一般涉及选择性调节DNA依赖性蛋白激酶(“DNA-PK”)的新颖化合物和其药学上可接受的盐。本公开还涉及包含一种或多种化合物作为活性成分的药物组合物，和所述化合物在治疗DNA-PK相关疾病(包括癌症)中的用途。

背景技术

[0002] DNA-PK是由催化亚单位DNA-PK和Ku蛋白质(Ku70/Ku80)的杂二聚体构成的核丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶复合物。功能上，DNA-PK是在DNA双链断裂(double strand break; DSB)的修复中用于维持基因组完整性和在V(D)J重组的过程中产生分别在B细胞和T细胞上发现的抗体/免疫球蛋白和T细胞受体的高度多样目录的关键组分。另外，DNA-PK和其组分参与多种其它生理过程，包括染色质结构的调节、端粒维持、转录调节和对复制应激的反应(Smith和Jackson, 1999; Goodwin和Knudsen, 2014)。

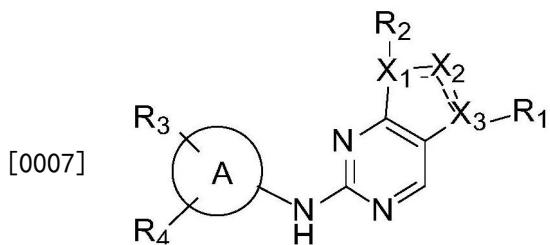
[0003] 呈DNA形式的人类基因组恒定地暴露于活性氧(reactive oxygen species; ROS)的冲击，所述活性氧主要是氧化代谢的副产物。ROS能够引起呈单链断裂形式的DNA损伤。如果出现极为接近的先前单链断裂，那么可发生DSB。另外，当DNA复制叉遭遇破坏的碱基图案时，产生单链断裂链和单链-双链断裂。此外，如电离辐射(例如， γ 或粒子辐射)的外来影响和某些抗癌药(例如，B.博莱霉素(B. Bleomycin))能够引发DSB。DSB还可以作为体细胞重组的中间物出现，这是形成所有脊椎动物的功能性免疫系统重要的过程。

[0004] 如果未校正或不恰当地校正DSB，那么会发生可能导致细胞死亡的突变和/或染色体畸变。为了解决由DSB引起的严重威胁，真核细胞已经进化出数种机制(例如，DNA非同源末端连接(NHEJ)和同源重组(HR))以介导其修复，其中DNA-PK发挥关键作用。生物化学研究已显示，通过DNA DSB的出现最有效地活化DNA-PK。DNA-PK组分突变并为非功能的细胞系被证明对辐射敏感(Smith和Jackson, 1999)。DNA-PK抑制剂也可以有效作为具有高内源性DNA损伤水平的肿瘤的单一药剂。DNA-PK抑制剂被证实可适用于肿瘤学，可包括靶向具有高复制应激水平的肿瘤(Lin等人, 2014; Ashley等人, 2014; Buisson等人, 2015)，在前列腺癌(Goodwin等人, 2013)和乳腺癌(Medunjanin等人, 2010)方面呈单一疗法形式或与其它药剂组合。

[0005] 因此，需要抑制DNA-PK的化合物作为药理学工具，并且作为治疗DNA-PK相关病症(如癌症)的药物具有相当大的益处。

发明内容

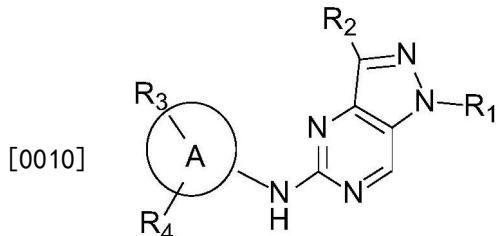
[0006] 在一个方面中，本公开提供一种由式(I)表示的化合物：



式 (I)

[0008] 或其药学上可接受的盐,其中X₁、X₂、X₃、R¹、R²、R³和环A如本文所定义。

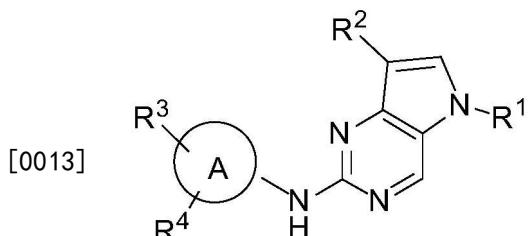
[0009] 在另一方面中,本公开提供一种由式 (Ia) 表示的化合物:



式 Ia

[0011] 或其药学上可接受的盐,其中或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²、R³、R⁴、n和环A如本文所定义。

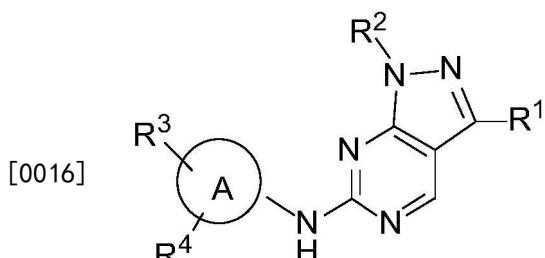
[0012] 在另一方面中,本公开提供一种由式 (Ib) 表示的化合物:



式 Ib

[0014] 或其药学上可接受的盐,其中或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²、R³、R⁴和环A如本文所定义。

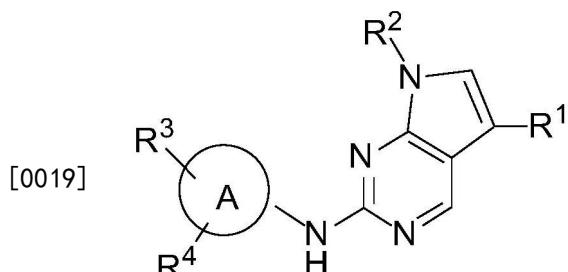
[0015] 在另一方面中,本公开提供一种由式 (Ic) 表示的化合物:



式 Ic

[0017] 或其药学上可接受的盐,其中或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²、R³、R⁴和环A如本文所定义。

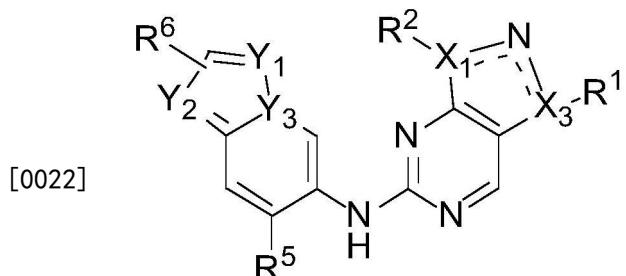
[0018] 在另一方面中,本公开提供一种由式 (Id) 表示的化合物:



式 Id

[0020] 或其药学上可接受的盐,其中或其药学上可接受的盐,其中R¹、R²、R³、R⁴和环A如本文所定义。

[0021] 在另一方面中,本公开提供一种由式(Ie)表示的化合物:



式 Ie

[0023] 和其药学上可接受的盐,其中或其药学上可接受的盐,其中X₁、X₃、Y₁、Y₂、Y₃、R¹、R²、R⁵和R⁶如本文所定义。

[0024] 在另一方面中,本公开提供一种药物组合物,其包含一种或多种式(I)、式(Ia)、式(Ib)、式(Ic)、式(Id)、式(Ie)化合物或其药学上可接受的盐作为活性成分。

[0025] 在另一方面中,本公开另外提供一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐或前述中的一种或多种的药物组合物,其用于抑制DNA-PK激酶。

[0026] 在又一方面中,本公开提供一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐或前述中的一种或多种的药物组合物在制造用于抑制受试者的DNA-PK激酶的药剂中的用途。

[0027] 在另一方面中,本公开提供一种通过使用一种或多种式(I)化合物或其药学上可接受的盐或前述中的一种或多种的药物组合物来抑制DNA-PK激酶的方法。

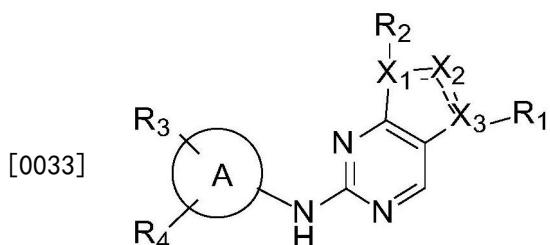
[0028] 在另一方面中,本公开提供一种通过使用式(I)化合物或其药学上可接受的盐或前述中的一者或多者的药物组合物来治疗DNA-PK相关病症(例如,癌症)的方法。在另一方面中,本公开提供一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐,其与第二治疗剂(优选地抗肿瘤剂)组合。

[0029] 在另一方面中,本公开提供一种式(I)化合物或其药学上可接受的盐与第二治疗剂(优选地抗肿瘤剂)的组合用途。

[0030] 实施方式

[0031] 化合物

[0032] 在一个方面中,本公开提供了式(I)化合物:



式 (I)

[0034] 或其药学上可接受的盐，

[0035] 其中，

[0036] X_1 、 X_2 和 X_3 各自独立地为C或N，条件是 X_1 、 X_2 和 X_3 中的至少一个为N且 X_1 、 X_2 和 X_3 中的至少一个为C；

[0037] 短划线“—”意指 X_1 与 X_2 之间的键和 X_2 与 X_3 之间的键可为单键或双键，条件是 X_1 与 X_2 之间的键和 X_2 与 X_3 之间的键中的至少一个为单键；

[0038] R^1 为不存在、卤素或 C_{1-6} 烷基，其中所述 C_{1-6} 烷基可以任选地被羟基、卤素或氘单取代或独立地多取代；

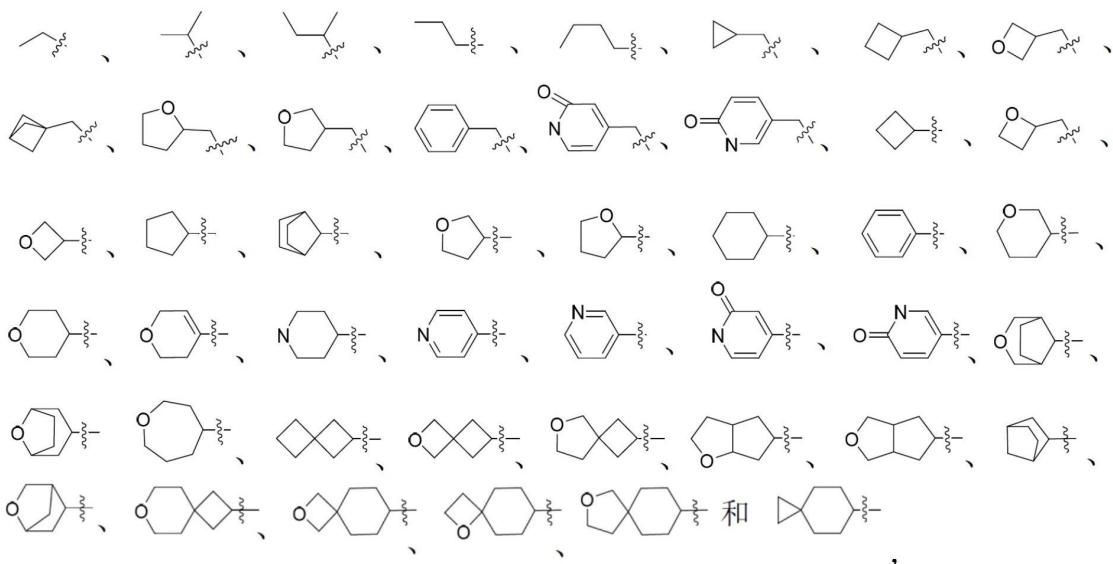
[0039] 每个 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地选自不存在、卤素、羟基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-(CH_2)_n-Q$ ，其可以任选地被以下单取代或独立地多取代：氘、羟基、氨基、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤烷基、 $(C\equiv N)-C_{1-6}$ 烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤烷氧基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{3-8} 环烷氧基、3元至8元芳基或3元至8元杂环基，

[0040] 其中n为0、1或2，Q为3元至8元饱和或不饱和碳环基，或3元至8元饱和或不饱和杂环基；

[0041] 环A为5元至12元芳基，具有1至5个选自氧、硫和氮的环杂原子的5元至12元杂芳基，具有0至5个选自氧、硫和氮的环杂原子的8元至10元双环，其中环A不为苯基。

[0042] 在一些实施方案中， R^2 选自甲基、乙基、丙基、丁基、环丙基、环丁基、氧杂环丁烷基、环戊烷基、四氢呋喃基、环己烷基、四氢吡喃基、环庚烷基、哌啶基、苯基、吡啶基、吡啶酮基、氧杂环辛烷基、四氢吡喃基、二氢吡喃基、螺[3.3]庚烷基、螺[2.5]辛烷基、双环[1.1.1]戊烷基、双环[3.2.1]辛烷基、8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基，其可以任选地被以下单取代或独立地多取代：羟基、氰基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 卤烷氧基、 C_{3-8} 环烷基、 C_{3-8} 环烷氧基、3元至8元芳基或3元至8元杂环基，其可另外任选地被以下单取代或独立地多取代：卤素、氘、羟基、氨基、氰基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤烷基、 C_{1-6} 烷氧基或 C_{1-6} 卤烷氧基。

[0043] 在一些实施方案中， R^2 选自：



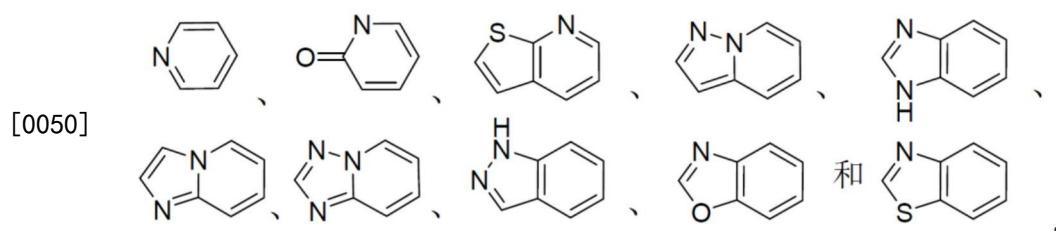
[0045] 其可任选地被羟基、氰基、氟、氯、溴、甲基、乙基、甲氧基、二氟甲基、二氟甲氧基或三氟甲氧基单取代或独立地多取代。

[0046] 在一些实施方案中, R^2 为环己烷基或四氢吡喃基, 其可以任选地被卤素、 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 烷氧基单取代或独立地多取代。

[0047] 在一些实施方案中, R^1 为甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基或异丁基, 其可以任选地被羟基、卤素或氘单取代或独立地多取代。

[0048] 在一些实施方案中, R^1 为甲基、乙基、三氟甲基或三氘甲基。

[0049] 在一些实施方案中,环A为具有1个环杂原子氮的6元杂芳基,具有2至3个选自氧、硫和氮的环杂原子的9元双环,任选地,所述9元双环为苯基或吡啶基稠合双环,任选地,环A选自

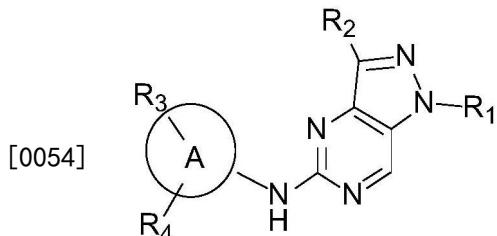


[0051] 在一些实施方案中，每个R³和R⁴独立地选自不存在、卤素、羟基、氰基、C₁₋₆烷基、CN-C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆卤烷氧基、3元至8元饱和或不饱和杂环基，其中所述杂环基可以任选地另外被C₁₋₃烷基单取代或独立地多取代。

[0052] 在一些实施方案中,环A为或3和R⁴独立地选自不存在、甲

基、氰基、甲氧基、氯、氰基-甲基、吡唑基、恶唑基，其中所述吡唑基或恶唑基可以任选地另外被C₁-C₆烷基单取代或独立地多取代。

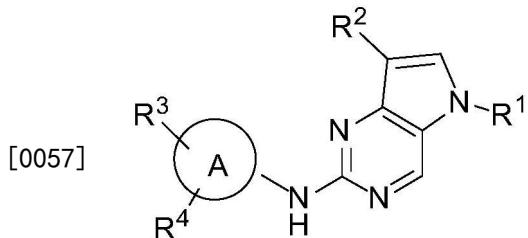
[0053] 在一些实施方案中,本文所提供的化合物具有式Ia的结构



式 Ia

[0055] 和其药学上可接受的盐,其中R₁、R₂、R₃、R₄、环A如本文所定义。

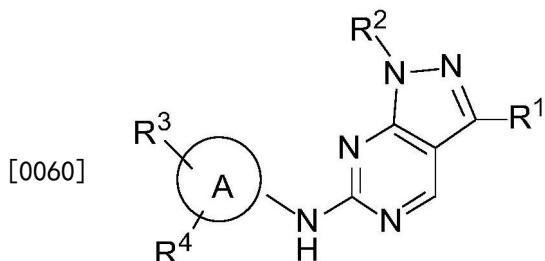
[0056] 在一些实施方案中,本文所提供的化合物具有式Ib的结构



式 Ib

[0058] 和其药学上可接受的盐,其中R₁、R₂、R₃、R₄、环A如本文所定义。

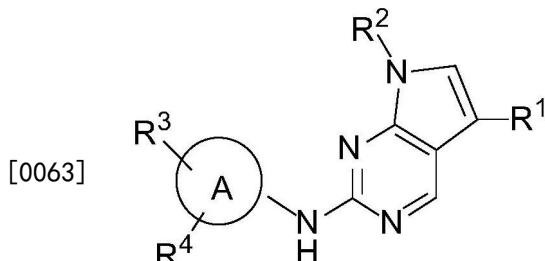
[0059] 在一些实施方案中,本文所提供的化合物具有式Ic的结构



式 Ic

[0061] 和其药学上可接受的盐,其中R₁、R₂、R₃、R₄、环A如本文所定义。

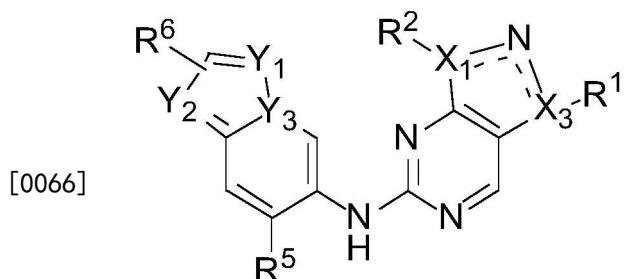
[0062] 在一些实施方案中,本文所提供的化合物具有式Id的结构



式 Id

[0064] 和其药学上可接受的盐,其中R₁、R₂、R₃、R₄、环A如本文所定义。

[0065] 在一些实施方案中,本文所提供的化合物具有式Ie的结构



式 Ie

[0067] 和其药学上可接受的盐，

[0068] 其中，

[0069] X_1 和 X_3 中的一个为N且另一个为C, 短划线“—”意指 X_1 与N之间的键和N与 X_3 之间的键可为单键或双键, 条件是 X_1 与N之间的键和N与 X_3 之间的键中的至少一个为单键；

[0070] R^1 为 C_{1-3} 烷基，

[0071] R^2 为环戊基、环己烷基、四氢吡喃基或8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基, 其可以任选地被卤素或 C_{1-3} 烷氧基单取代或独立地多取代，

[0072] Y_1 、 Y_2 和 Y_3 各自独立地为C或N, 条件是 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 中的至少一个为N；

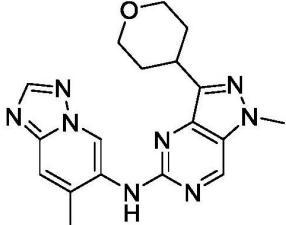
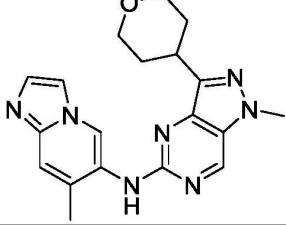
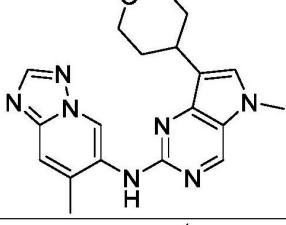
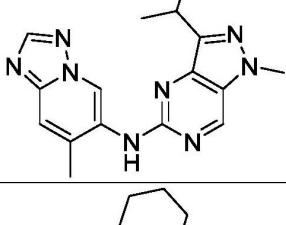
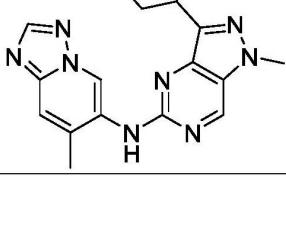
[0073] R^5 为卤素或 C_{1-3} 烷基，

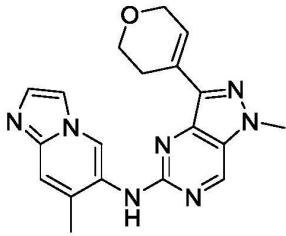
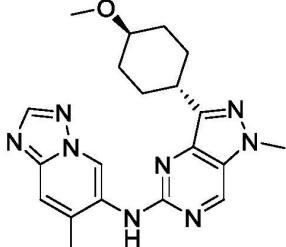
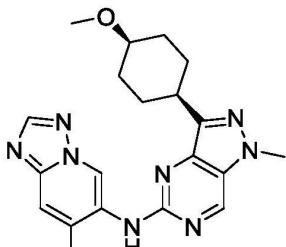
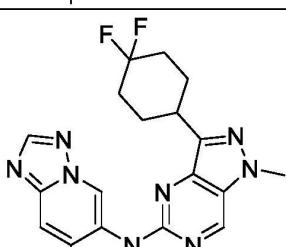
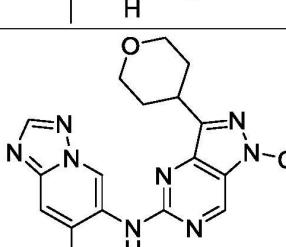
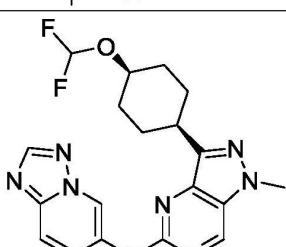
[0074] R^6 为 C_{1-3} 烷基。

[0075] 在一些实施方案中, 式Ie的 R^2 为未被取代的环戊基、环己烷基、四氢吡喃基或8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基, 其可以任选地被卤素或 C_{1-3} 烷氧基单取代或独立地多取代。在一些实施方案中, 式Ie的 Y_3 为N且 Y_1 和 Y_2 中的至少一个为N。在一些实施方案中, 式Ie的 R^5 为甲基。

[0076] 式(I)的示范性化合物1至149阐述于下表1中。

[0077] 表1.示范性化合物1至149

实例编号	结构	名称
[0078]		1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
		1-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
		7-甲基-N-(5-甲基-7-(四氢-2H-吡喃-4-基)-5H-吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺
		3-异丙基-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
		3-环己基-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

	6		3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	7		3-((1r,4r)-4-甲氧基环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	8		3-((1s,4s)-4-甲氧基环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
[0079]	9		3-(4,4-二氟环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	10		1-(甲基-d3)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	11		3-((1s,4s)-4-(二氟甲氧基)环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

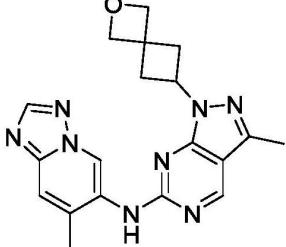
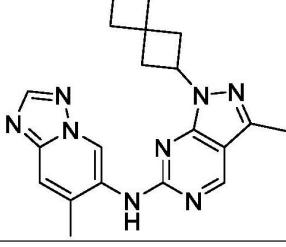
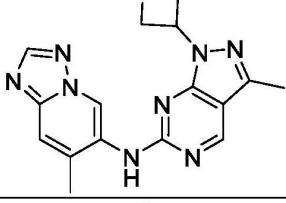
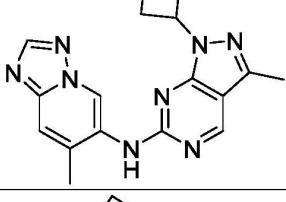
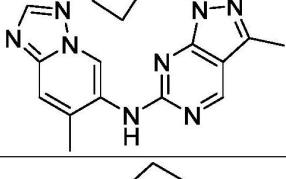
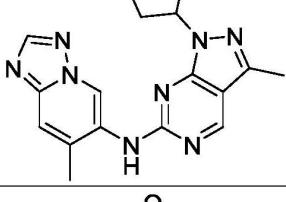
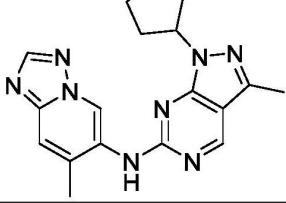
12		3-((1r,4r)-4-(二氟甲氧基)环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
13		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
14		3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0080]		7-甲基-N-(5-甲基-7-(四氢-2H-吡喃-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基)-1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺
16		N-(7-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
17		N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

18		1-(4-甲氧基苯甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
19		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(1-甲基哌啶-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
20		1-环己基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0081]		1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
		1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
23		1-(4-(二氟甲氧基)环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

24		1-((1r,4r)-4-甲氧基环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
25		1-((1s,4s)-4-甲氧基环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
26		1-((1r,4r)-4-甲氧基环己基)-3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0082]		1-((1s,4s)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
27		1-((1r,4r)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
28		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)

	30		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
[0083]	31		(1r,4r)-4-(3-甲基-6-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)环己-1-醇
	32		(1s,4s)-4-(3-甲基-6-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)环己-1-醇
	33		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氮杂环庚-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)
	34		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氮杂环庚-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
	35		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)

36		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
37		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(螺[2.5]辛-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
38		1-(环丙基甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0084]		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-((1r,3r)-3-甲基环丁基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
40		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-((1s,3s)-3-甲基环丁基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
41		1-(6,6-二氟螺[3.3]庚-2-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

42		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-氧杂螺[3.3]庚-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
43		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(螺[3.3]庚-2-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
44		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氧杂环丁-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0085]		1-环丁基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
46		1-(环丁基甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
47		1-环戊基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
48		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢呋喃-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(异构体1)

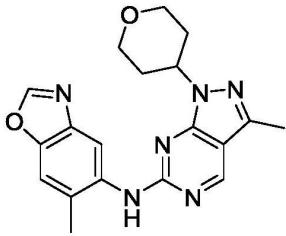
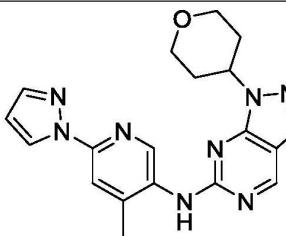
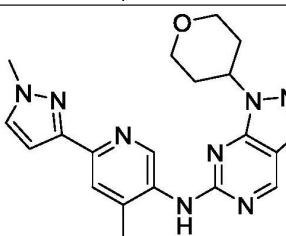
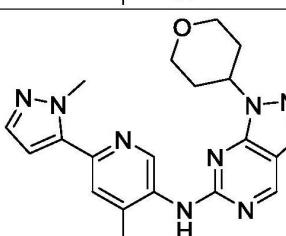
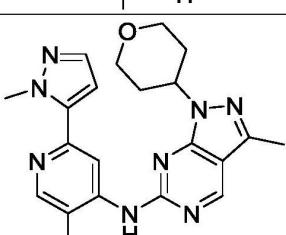
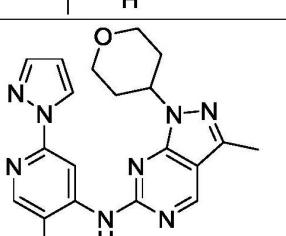
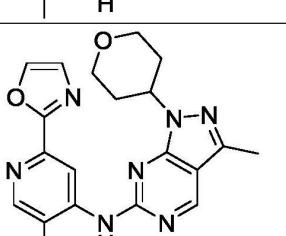
	49		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢呋喃-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
	50		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-((四氢呋喃-2-基)甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)
	51		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-((四氢呋喃-2-基)甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
[0086]	52		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-((四氢呋喃-3-基)甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)
	53		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-((四氢呋喃-3-基)甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
	54		1-(6-甲氧基螺[3.3]庚-2-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	55		1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (异构体 1)

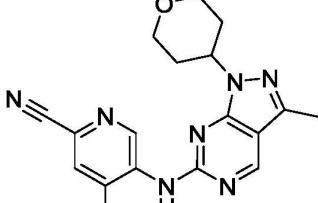
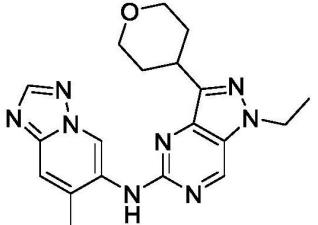
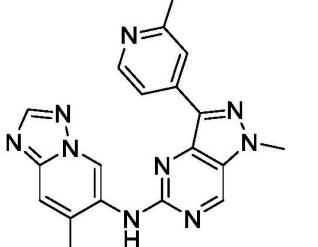
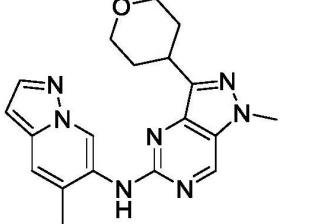
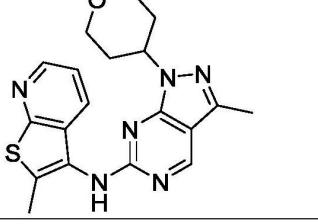
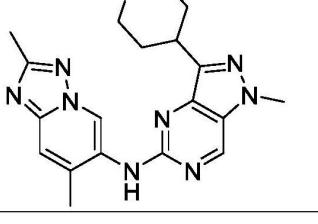
	56		1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (异构体 2)
	57		1-(2,2-二氟乙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	58		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(4,4,4-三氟丁基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
[0087]	59		1-异丙基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	60		1-异丙基-3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
	61		1-(仲丁基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (异构体 1)
	62		1-(仲丁基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (异构体 2)

	63		1-(2-甲氧基乙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	64		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-(三氟甲氧基)乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	65		1-(3-甲氧基丙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0088]	66		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-(三氟甲氧基)丙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	67		1-(4-甲氧基丁-2-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)
	68		1-(4-甲氧基丁-2-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)

69		1-(2-甲氧基丙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (外消旋体)
70		1-(2-甲氧基丙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)
71		1-(2-甲氧基丙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
[0089]		
72		3-(3-甲基-6-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)丙腈
73		4-(3-甲基-6-((7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)苯甲腈
79		1-甲基-5-((3-甲基-6-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)甲基)吡啶-2(1H)-酮

80		2-甲基-3-(3-甲基-6-((7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)丙腈
86		1-(2,6-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 1)
86-1		1-(2,6-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体 2)
[0090]		1-((3-甲氧基双环[1.1.1]戊-1-基)甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
87		
89		N-(6-甲氧基-4-甲基吡啶-3-基)-3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
90		N-(1,5-二甲基-1H-吲唑-6-基)-3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

91		6-甲基-N-(3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)苯并[d]恶唑-5-胺
92		3-甲基-N-(4-甲基-6-(1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
93		3-甲基-N-(4-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-3-基)吡啶-3-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0091]		3-甲基-N-(4-甲基-6-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)吡啶-3-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
95		3-甲基-N-(5-甲基-2-(1-甲基-1H-吡唑-5-基)吡啶-4-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
96		3-甲基-N-(5-甲基-2-(1H-吡唑-1-基)吡啶-4-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
97		3-甲基-N-(5-甲基-2-(恶唑-2-基)吡啶-4-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

98		4-甲基-5-((3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)氨基)吡啶甲腈
99		5-甲基-4-((3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)氨基)吡啶甲腈
101		1-乙基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
[0092]		1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(2-甲基吡啶-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
103		1-甲基-N-(5-甲基吡唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
104		2-甲基-N-(3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)噻吩并[2,3-b]吡啶-3-胺
105		N-(2,7-二甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-甲基-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

	106		1-((1R,3r,5S)-8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	107		1-((1R,3s,5S)-8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0093]	108		1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体1)
	109		1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体2)
	110		1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体3)
	111		1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体4)
	112		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (异构体1)

	113		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺（异构体 2）
	114		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺（异构体 3）
	115		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺（异构体 4）
[0094]	116		1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺（异构体 1）
	117		1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺（异构体 2）
	118		1-(3-(二甲氨基)丙基)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5-胺
	119		1-(2-甲氧基乙基)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-5-胺

120		N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(吡啶-4-基甲基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
121		N-(1,5-二甲基-1H-苯并[d]咪唑-6-基)-3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
122		3-(3-甲氧基环戊基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
123 [0095]		1-(3-甲氧基环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
124		1-((1-(甲氧基甲基)环丙基)甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
125		1-((1-甲氧基环丙基)甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
126		1-(4,4-二氟丁基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

127		1-(2-环丙基乙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
128		1-(3-环丙基丙基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
129		3-(8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
[0096]		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氧杂环丁-2-基甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
131		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氧杂环丁-3-基甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
132		1-(3-甲氧基-3-甲基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
133		1-(3-(甲氧基甲基)环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

134		1-(3-氟四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
135		1-(3,3-二氟-1-甲基哌啶-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
136		1-((2-甲氧基环丁基)甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0097]		1-((3-甲氧基环丁基)甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
138		3-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺
139		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-(氧杂环丁-2-基)乙基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

140		1-(2-环丙基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
141		1-(2-(二氟甲基)四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
142 [0098]		1-(3-(2-甲氧基乙基)环丁基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
143		1-(3,3-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
144		1-(六氢-1H-环戊[c]呋喃-5-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
145		1-(六氢-2H-环戊[b]呋喃-5-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

	146		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-氧杂螺[3.5]壬-7-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	147		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(1-氧杂螺[3.5]壬-7-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
[0099]	148		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-氧杂螺[4.5]癸-8-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺
	149		3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(7-氧杂螺[3.5]壬-2-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

[0100] 应了解,为清楚起见而在单独实施方案的上下文中描述的本公开的某些特征也可组合提供于单一实施方案中。相反,为简洁起见而描述于单个实施方案的上下文中的本公开的各种特征也可以单独提供或以任何合适的子组合形式提供。

[0101] 在本公开的多处,描述了连接取代基。在结构明确需要连接基团的情况下,关于所述基团所列的马库什变量(markush variable)应理解为连接基团。举例来说,如果结构需要连接基团并且所述变量的马库什组定义列举“烷基”,那么应理解,所述“烷基”表示连接亚烷基。

[0102] 如本文所使用,当提到化学基团时,术语“被取代”意指所述化学基团具有一个或多个被去除且被取代基替换的氢原子。如本文所使用,术语“取代基”具有所属领域中已知的普通含义并且指共价连接至,或在适当时稠合至母基团的化学部分。如本文所用,术语“任选地被取代”或“任选地…被取代”意指化学基团可以不具有取代基(即,未被取代)或可具有一个或多个取代基(即,被取代)。应理解,给定原子处的取代受原子价限制。

[0103] 如本文所使用,术语“C_{i-j}”指示碳原子数的范围,其中i和j为整数,并且碳原子数的范围包括端点(即i和j)和介于其间的每个整数点,并且其中j大于i。举例来说,C₁₋₆指示一至六个碳原子的范围,包括一个碳原子、二个碳原子、三个碳原子、四个碳原子、五个碳原

子和六个碳原子。在一些实施方案中，术语“C₁₋₁₂”指示1至12个，包括1至10个、1至8个、1至6个、1至5个、1至4个、1至3个或1至2个碳原子。

[0104] 如本文所用，术语“烷基”无论作为另一术语的一部分还是独立地使用，都是指饱和或不饱和烃链，而后者可以另外细分成具有至少一个双键或三键的烃链(烯基或炔基)。在一些实施方案中，烷基是指饱和烃链。上文所提及的烃链可以是直链或分支链。术语“C_{i-j}烷基”是指具有i至j个碳原子的烷基。饱和烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基；高级同系物，如2-甲基-1-丁基、正戊基、3-戊基、正己基、1,2,2-三甲基丁基等。不饱和烷基的实例包括但不限于乙烯基、正丙烯基、异丙烯基、正丁烯基、仲丁烯基、乙炔基、丙炔-1-基、丙炔-2-基等。“C₁₋₆烷基”的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、异丁基和叔丁基。“C₁₋₃烷基”的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基和异丙基。

[0105] 当“烷基”表示连接亚烷基时，亚烷基的实例包括但不限于亚甲基、1,1-亚乙基、1,2-亚乙基、1,1-亚丙基、1,2-亚丙基、1,3-亚丙基、2,2-亚丙基、叔亚丁基等。

[0106] 如本文所使用，术语“氨基”是指式“-NH₂”的基团。

[0107] 如本文所用，术语“氨甲酰基”是指氨基羰基(即NH₂-C(=O)-)。

[0108] 如本文所使用，术语“氰基”是指式“-C≡N”的基团。

[0109] 如本文所使用，术语“卤基”和“卤素”是指氟基、氯基、溴基或碘基。

[0110] 如本文所使用，术语“羟基”是指式“-OH”的基团。

[0111] 如本文所使用，无论作为另一术语的部分还是独立地使用，术语“烷氧基”是指式-O-烷基的基团。

[0112] 术语“C_{i-j}烷氧基”意指烷氧基的烷基部分具有i至j个碳原子。烷氧基的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基(例如，正丙氧基和异丙氧基)、叔丁氧基等。“C₁₋₁₂烷氧基”的实例是甲氧基、乙氧基和丙氧基。

[0113] 如本文所用，术语“羟基C₁₋₁₂烷基”是指式“-C₁₋₁₂烷基-OH”的基团，其中所述基团的烷基部分具有1至12个碳原子，并且一个或多个羟基可连接到烷基部分中的任何碳原子。在一些实施方案中，“C_{i-j}烷基-OH”具有一个羟基。“C₁₋₁₂烷基-OH”的实例是羟甲基、1-羟乙基、2-羟乙基和1-羟异丙基。

[0114] 如本文所用，术语“C_{i-j}卤烷基”是指经卤素取代的(经单取代或多取代的)C_{i-j}烷基。“C₁₋₁₂卤烷基”的实例是氟甲基、二氟甲基、三氟甲基、氟乙基、二氟乙基、三氟乙基、氯乙基和溴异丙基。“二氟乙基”的实例是1,1-二氟乙基。“三氟乙基”的实例是2,2,2-三氟乙基和1,2,2-三氟乙基。

[0115] “C_{i-j}卤烷氧基”的实例是氟甲氧基、二氟甲氧基或三氟甲氧基。“三氟乙氧基”的实例是2,2,2-三氟乙氧基和1,2,2-三氟乙氧基。

[0116] 如本文所使用，术语“芳基”或“芳族”不管是作为另一术语的一部分还是独立地使用，都是指在形成环的原子之间具有交替的双键和单键的环系统。在本公开中，术语“芳基”或“芳族”也意图包括假芳族。术语“假芳族”是指并非绝对芳族的环系统，但其借助于电子的离域而稳定且表现方式与芳族环类似。芳基或芳族基团可具有单环或多环。芳基的实例包括但不限于苯基、萘基、四氢萘基、茚满基等。

[0117] 如本文所使用，如本文所使用的术语“杂芳基”是指含有至少一个选自O、S、N、P等

的成环杂原子的芳基。杂芳基包括但不限于呋喃基、噻吩基、吡啶基(pyridinyl)、三嗪基、吡啶基(pyridyl)、吡咯基、恶唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异恶唑基、异噻唑基、吲哚基、吲哚基、异吲哚基、吲哚啉基、1,2,3-恶二唑基、1,2,4-恶二唑基、1,2,4-恶二唑-5-酮、1,2,3-三唑基、1,3,4-噻二唑基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、喹唑啉基、异喹唑啉基、1,3,5-三嗪基、1H-噻吩并[2,3-c]吡唑基、噻吩并[2,3-b]呋喃基、3H-吲哚基、苯并[b]呋喃基、苯并[b]噻吩基、1H-吲唑基、苯并咪唑基、四唑基、尿苷基和胞嘧啶基。

[0118] 如本文所用,术语“碳环基”无论作为另一术语的一部分还是独立地使用,均指任何环,包括单环或多环环(例如,具有2个或3个稠环、桥环或螺环),其中所有环原子为碳且含有至少三个成环碳原子。如本文所用,术语“螺环”是指具有通过一个单个共同原子连接的两个环的环系统;术语“稠环”是指具有共享两个相邻原子的两个环的环系统;并且术语“桥环”是指具有共享三个或更多个原子的两个环的环系统。

[0119] 在一些实施方案中,碳环基可以含有3至12个成环碳原子(即3元至12元碳原子)、3至10个成环碳原子、3至9个成环碳原子或3至8个成环碳原子。碳环基可为饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的。在一些实施方案中,碳环基可以是饱和环状烷基。在一些实施方案中,碳环基可为在其环系统中含有至少一个双键的不饱和环状烷基。在一些实施方案中,不饱和碳环基可以含有一个或多个芳族环。在一些实施方案中,饱和或不饱和碳环基的一个或多个成环-CH₂-基团可经-C(0)-基团替换。

[0120] 在一些实施方案中,碳环基是单环烷基。在一些实施方案中,碳环基是饱和单环烷基。饱和单环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环戊烯基、环己烯基等。

[0121] 3元至8元“饱和或不饱和碳环基”是分别具有3至8个、3至6个或5至8个成环碳原子的饱和、部分不饱和或完全不饱和单环或多环环系统,其中一个或多个成环-CH₂-基团可以任选地由-C(0)-基团替换。

[0122] “3元至8元饱和或不饱和碳环基”的实例是C₃₋₆环烷基、环己基、环己烯基、环戊基、苯基、萘基和双环[1.1.1]戊-1-基。“C₃₋₈环烷基”的实例是环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。术语“C₃₋₈环烷氧基”是指式“C₃₋₈环烷基-0-”的基团。

[0123] 如本文所用,术语“杂环基”是指碳环基,其中一个或多个(例如,1个、2个或3个)环原子由杂原子替换,所述杂原子包括但不限于O、S、N、P等。在一些实施方案中,杂环基是饱和杂环基。在一些实施方案中,杂环基是在其环系统中具有一个或多个双键的不饱和杂环基。在一些实施方案中,杂环基是部分不饱和杂环基。在一些实施方案中,杂环基是完全不饱和杂环基。在一些实施方案中,不饱和杂环基可含有一个或多个芳族环。在一些实施方案中,杂环基的一个或多个成环-CH₂-基团可以任选地由-C(0)-、-S-、-S(0)-或-S(0)₂-基团替换。在一些实施方案中,其中杂环基在其环系统中含有硫,所述成环硫原子可任选地氧化以形成S-氧化物。在一些实施方案中,杂环基通过其成环碳连接到化合物的其它部分。在一些实施方案中,杂环基通过其成环氮连接到化合物的其它部分。

[0124] 在一些实施方案中,3元至8元饱和或不饱和单环或多环杂环基,其具有选自1、2或3个选自N、O或S的杂原子。

[0125] 3元至8元“饱和或不饱和杂环基”是分别具有3至8个成环原子的饱和、部分不饱和或完全不饱和单环或多环环(例如,具有2个或3个稠环、桥环或螺环)系统,其中至少一个成

环原子选自氮、硫或氧，除非另外规定，否则其可通过其成环碳或氮连接到化合物的其它部分，其中饱和或不饱和杂环基的一个或多个成环-CH₂-基团可由-C(0)-、-S-、-S(0)-或-S(0)₂-基团替换，并且其中当杂环基在其环系统中含有硫时，所述环硫原子可以任选地氧化以形成S-氧化物。

[0126] 示范性单环杂环基包括但不限于氧杂环丁烷基、吡喃基、1,1-二氧化硫杂环丁烷基吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯基、呋喃基、噻吩基、吡唑基、咪唑基、恶唑基、噻唑基、哌啶基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、吡啶基、嘧啶基、哒嗪基、三嗪基、吡啶酮基、嘧啶酮基、吡嗪酮基(pyrazinonyl)、嘧啶酮基、哒嗪酮基(pyridazonyl)、三嗪酮基(triazinonyl)等。

[0127] 螺杂环基的实例包括但不限于螺吡喃基、螺恶嗪基等。稠合杂环基的实例包括但不限于苯基稠环或吡啶基稠环，如喹啉基、异喹啉基、喹喔啉基、喹嗪基、喹唑啉基、氮杂吲哚嗪基、喋啶基、色烯基(chromenyl)、异色烯基、吲哚基、异吲哚基、吲哚嗪基、吲唑基、嘌呤基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、咔唑基、吩嗪基、吩噻嗪基、啡啶基、咪唑[1,2-a]吡啶基、[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡啶基、[1,2,3]三唑并[4,3-a]吡啶基等。桥接杂环基的实例包括但不限于吗啡烷基(morphanyl)、六亚甲基四氨基、8-氮杂-双环[3.2.1]辛烷、1-氮杂-双环[2.2.2]辛烷、1,4-二氮杂双环[2.2.2]辛烷(DABCO)等。

[0128] 除非另外说明，否则本公开的“化合物”意图涵盖所描绘结构的所有立体异构体、几何异构体和互变异构体。

[0129] 术语“立体异构体”是指不对称化合物(例如，具有一个或多个不对称取代的碳原子或“不对称中心”的化合物)的各种立体异构构型(例如，对映异构体、非对映异构体和外消旋体)中的任一种。含有不对称中心的本公开的化合物可以光学活性(对映异构体或非对映异构体)或光学非活性(外消旋)形式分离。术语“对映异构体”包括不互为可重叠镜像的立体异构体对。一对对映异构体的1:1混合物是“外消旋混合物”。术语“非对映异构体(diastereomer/diastereoisomer)”包括具有至少两个不对称原子但不互为镜像的立体异构体。含有一个或多个不对称中心的某些化合物可以产生对映异构体、非对映异构体或其它立体异构形式，其可根据卡恩-英格尔-普雷洛格(Cahn-Ingold-Prelog)R-S系统，在每个不对称中心处关于绝对构型定义为(R)-或(S)-。绝对构型未知的拆分的化合物可在不对称中心处使用术语“或”指示。关于如何由外消旋混合物制备光学活性形式的方法是所属领域中已知的，如通过HPLC拆分或立体选择性合成。

[0130] 术语“几何异构体”或“顺式和反式异构体”是指具有相同化学式，但其官能团在三维空间中旋转到不同定向的化合物。

[0131] 术语“互变异构体”包括处于具有相同化学式和总电荷的化合物的异构质子化状态的质子转移互变异构体。质子转移互变异构体的实例包括但不限于酮-烯醇对、酰胺-亚氨酸对、内酰胺-内酰亚胺对、烯胺-亚胺对和环状形式，其中质子可占据杂环系统的两个或更多个位置，例如1H-咪唑和3H-咪唑、1H-1,2,4-三唑、2H-1,2,4-三唑和4H-1,2,4-三唑、1H-异吲哚和2H-异吲哚，和1H-吡唑和2H-吡唑。互变异构体可以处于平衡状态或通过适当取代而空间锁定成一种形式。除非另外说明，否则通过名称或结构识别为一种特定互变异构形式的本公开化合物意图包括其它互变异构形式。

[0132] 本公开的“化合物”还意图涵盖化合物中原子的所有同位素。原子的同位素包括具有相同原子数但质量数不同的原子。举例来说,除非另外说明,否则本公开的“化合物”中的氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯、溴或碘意指还包括其同位素,如(但不限于):¹H、²H、³H、¹¹C、¹²C、¹³C、¹⁴C、¹⁴N、¹⁵N、¹⁶O、¹⁷O、¹⁸O、³¹P、³²P、³²S、³³S、³⁴S、³⁶S、¹⁷F、¹⁹F、³⁵Cl、³⁷Cl、⁷⁹Br、⁸¹Br、¹²⁷I和¹³¹I。在一些实施方案中,氢包括氕、氘和氚。在一些实施方案中,术语“被氘取代”或“氘取代的”指用氘替换化学基团中的氢的其他同种型(例如氕)。在一些实施方案中,碳包括¹²C和¹³C。在一些实施方案中,本公开的“化合物”仅涵盖化合物中氢的同位素。在一些实施方案中,本公开的“化合物”仅涵盖呈天然丰度的原子的同位素。

[0133] 还应理解,本公开的“化合物”可呈溶剂化形式以及非溶剂化形式(如例如,水合形式、固体形式)存在,且本公开打算涵盖所有这类溶剂化和非溶剂化形式。

[0134] 应另外理解,本公开的“化合物”可以药学上可接受的盐形式存在。

[0135] 如本文所使用,术语“药学上可接受的”是指在合理医学判断的范围内,适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。在一些实施方案中,药学上可接受的化合物、材料、组合物和/或剂型是指由管理机构(如美国食品和药物管理局(U.S.Food and Drug Administration)、中国食品和药物管理局(China Food and Drug Administration)或欧洲药物管理局(European Medicines Agency))批准或公认药典(如美国药典(U.S.Pharmacopoeia)、中国药典(China Pharmacopoeia)或欧洲药典(European Pharmacopoeia))中所列的可用于动物且特别是人类的那些药学上可接受的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0136] 如本文所使用,“药学上可接受的盐”是指本公开的化合物的衍生物,其中母体化合物通过将现有酸性部分(例如,羧基等)或碱性部分(例如,胺、碱金属等)转化为其盐形式而被修饰。在许多情况下,本公开的化合物能够凭借氨基和/或羧基或其类似基团的存在而形成酸盐和/或碱盐。药学上可接受的盐是保留母体化合物的生物有效性和特性,通常不会在生物学上或其它方面不合需要的酸盐和/或碱盐。本公开的化合物的合适的药学上可接受的盐包括例如酸加成盐,这种盐可以衍生自例如无机酸(例如,盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等)或有机酸(例如,甲酸、乙酸、丙酸、乙醇酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、苯均三酸、柠檬酸、乳酸、苯乙酸、苯甲酸、扁桃酸、甲基磺酸、萘二磺酸、乙磺酸、甲苯磺酸、三氟乙酸、水杨酸、磺基水杨酸等)。在一些实施方案中,本公开的化合物的药学上可接受的盐是甲酸盐。在一些实施方案中,本公开的化合物的药学上可接受的盐是TFA盐。

[0137] 本公开的化合物的合适的药学上可接受的盐还包括例如碱加成盐,其可以衍生自例如无机碱(例如,周期表的第I列至第XII列的金属,如钙、镁、铁、银、锌、铜等的钠盐、钾盐、铵盐和氢氧化物、碳酸盐、碳酸氢盐)或有机碱(例如,伯胺、仲胺和叔胺、被取代的胺,包括天然存在的被取代的胺、环胺、碱性离子交换树脂等)。某些有机胺包括但不限于异丙胺、苯乍生(benzathine)、胆酸盐、二乙醇胺、二乙胺、赖氨酸、甲葡胺、哌嗪和缓血酸胺。所属领域的技术人员应理解,除了实例中所示以外,添加用于形成酸加成盐/碱加成盐的酸或碱也是可能的。其它合适的盐的列表可见于例如“雷明顿氏药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)”,第20版,马克出版公司(Mack Publishing Company),宾夕法尼亚州伊斯顿(Easton,Pa.), (1985);和Stahl和Wermuth的“药用盐手册:特性、选择和用途

(Handbook of Pharmaceutical Salts:Properties,Selection, and Use)" (德国魏因海姆的威立德国化学学会出版社(Wiley-VCH, Weinheim, Germany), 2002) 中。在一些实施方案中,本公开的化合物的合适的药学上可接受的盐是无机碱盐。

[0138] 本公开还包括本公开的化合物的活性中间物、活性代谢物和前药。如本文所用,“活性中间物”是指合成方法中的中间化合物,其展现与最终合成的化合物相同或基本上相同的生物活性。

[0139] 如本文所用,“活性代谢物”是指通过在动物或人体内代谢或生物转化产生的本公开的化合物或其盐或前药的分解或最终产物,其展现与指定化合物相同或基本上相同的生物活性。这类代谢物可由例如使施用的化合物或盐或前药氧化、还原、水解、酰胺化、脱酰胺、酯化、脱酯化、酶裂解等产生。

[0140] 如本文所用,“前药”是指当施用于动物或人类受试者时释放活性母体药物的任何化合物或结合物。前药可通过以一种方式修饰化合物中存在的官能团制备,所述方式使得修饰在常规操作中或在体内可由母体化合物裂解。前药包括其中羟基、氨基、硫氢基或羧基键结到任何基团,使得当将其施用于哺乳动物受试者时可分别裂解形成游离羟基、氨基、硫氢基或羧基的化合物。前药的实例包括但不限于本公开的化合物中醇官能团和胺官能团的乙酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物。前药的制备和使用论述于THiguchi和V.Stella,“作为新颖递送系统的前药(Pro-drugs as Novel Delivery Systems)”,《美国化学会会议论文集(A.C.S.Symposium Series)》第14卷,和《药物设计中的生物可逆载体(Bioreversible Carriers in Drug Design)》,Edward B.Roche编,美国药剂师协会和培格曼出版社(American Pharmaceutical Association and Pergamon Press),1987,二者特此以全文引用的方式并入。

[0141] 本文公开了可以选择性抑制DNA-PK的新型化合物或药学上可接受的盐。当与其它临幊上可用的DNA-PK抑制剂相比时,本公开的化合物或其药学上可接受的盐展现某些改善的特性,例如更高的BBB穿透率(因此使其潜在地可用于治疗已转移到CNS的癌症,特别是脑部转移和软脑膜转移)、更好的效力等。其还可具有与已知DNA-PK抑制剂相比有利的毒性概况和/或有利的代谢或药物动力学概况。

[0142] 因此,这类化合物或其药学上可接受的盐可尤其适用于治疗癌症,尤其是具有脑部癌转移的那些癌症。

[0143] 合成方法

[0144] 本文提供的化合物,包括其盐、酯、水合物或溶剂合物或立体异构体的合成,在实例中的合成流程中说明。本文所提供的化合物可使用任何已知的有机合成技术制备且可根据多种可能的合成途径中的任一种合成,且因此,这些流程只是说明性的且不打算限制可用于制备本文所提供的化合物的其它可能的方法。此外,所述流程中的步骤是为了更好地说明且可在适当时改变。出于研究和可能提交给管理机构的目的,实例中的化合物实施方案是在中国合成。

[0145] 用于制备本公开的化合物的反应可以在合适的溶剂中进行,这些溶剂可以由有机合成领域的技术人员容易地选择。合适的溶剂可在反应进行的温度下,例如在溶剂的冷冻温度至溶剂的沸腾温度的温度下,大体上不与起始材料(反应物)、中间物或产物反应。给定反应可在一种溶剂或超过一种溶剂的混合物中进行。取决于特定反应步骤,用于特定反应

步骤的合适溶剂可以由熟练技术人员选择。

[0146] 本公开的化合物的制备可以涉及各种化学基团的保护和脱保护。对保护和脱保护的需求和对适当的保护基团的选择可以由所属领域的技术人员容易地确定。保护基的化学性质可见于例如T.W.Greene和P.G.M.Wuts,《有机合成中的保护基(Protective Groups in Organic Synthesis)》,第3版,威利父子公司(Wiley&Sons, Inc.),纽约(1999),其以全文引用的方式并入本文中。

[0147] 可根据所属领域中已知的任何合适方法监测反应。举例来说,可以通过光谱手段,如核磁共振光谱(例如,¹H或¹³C)、红外光谱(IR)、分光光度法(例如,UV-可见光)、质谱(MS),或通过色谱法,如高效液相色谱(HPLC)、液相色谱-质谱(LCMS)或薄层色谱(TLC)来监测产物形成。所属领域的技术人员可通过多种方法,包括高效液相色谱法(HPLC)(“制备型LC-MS纯化:改善的化合物特异性方法优化(Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization)”,Karl F.Bлом、Brian Glass、Richard Sparks、Andrew P.Combs,《组合化学杂志(J.Combi.Chem.)》,2004,6(6),874-883,以全文引用的方式并入本文中)和正相二氧化硅色谱法来纯化化合物。

[0148] 如本文中所用的缩写定义如下:“1×”或“×1”为一次,“2×”或“×2”为两次,“3×”或“×3”为三次,“4×”或“×4”为四次,“5×”或“×5”为五次,“°C”为摄氏度,“eq”或“eq.”为当量(equivalent/equivalents),“g”为克(gram/grams),“mg”为毫克(milligram/milligrams),“L”为升(liter/liters),“mL”或“ml”为毫升(milliliter/milliliters),“μL”为微升(microliter/microliters),“N”为当量(normal),“M”为摩尔,“mmol”为毫摩尔(millimole/millimoles),“min”为分钟(minute/minutes),“h”或“hr”为小时(hour/hours),“r.t.”或“rt”为室温,“atm”为大气压,“psi”为磅/平方英寸,“conc.”为浓度,“sat”或“sat’d”为饱和,“MS”或“Mass Spec”为质谱法,“ESI”为电喷雾电离质谱法,“LCMS”为液相色谱质谱法,“HPLC”为高效液相色谱法,“RP”为反相,“TLC”或“tlc”为薄层色谱法,“SM”为起始材料,“NMR”为核磁共振光谱,“¹H”为质子,“δ”为δ(delta),“s”为单峰,“d”为二重峰,“t”为三重峰,“q”为四重峰,“m”为多重峰,“br”为宽峰,和“Hz”为赫兹。“α”、“β”、“R”、“S”、“E”和“Z”是所属领域技术人员熟悉的立体化学名称。

[0149] 药物组合物

[0150] 本公开提供了包含至少一种本公开的化合物的药物组合物。在一些实施方案中,所述药物组合物包含超过一种本公开的化合物。在一些实施方案中,所述药物组合物包含一种或多种本公开的化合物和药学上可接受的载体。

[0151] 药学上可接受的载体是所属领域中的常规药物载体,其可以按药学领域中众所周知的方式制备。在一些实施方案中,本公开的化合物可以与药学上可接受的载体混合以制备药物组合物。

[0152] 如本文所使用,术语“药学上可接受的载体”是指将本文提供的化合物从一个位置、体液、组织、器官(内部或外部)或身体的一部分载运或运输至另一位置、体液、组织、器官或身体的一部分所涉及的药学上可接受的材料、组合物或媒剂,如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或囊封材料。药学上可接受的载体可以是能够用于动物组织接触,而无过量毒性或不良作用的媒剂、稀释剂、赋形剂或其它材料。示范性药学上可接受的载体包括糖、淀粉、纤维素、麦芽、黄芪胶、明胶、林格氏溶液(Ringer's solution)、海藻酸、等渗生理

盐水、缓冲剂等。可用于本公开中的药学上可接受的载体包括所属领域中一般已知的那些载体,如以引用的方式并入本文中的《雷明顿药物科学(Remington Pharmaceutical Sciences)》,马克出版公司(Mack Pub.Co.),新泽西州(New Jersey)(1991)中所公开的那些。

[0153] 可充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素和其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;(4)粉末状黄蓍胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,如可可豆油和栓剂蜡;(9)油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)乙二醇,如丙二醇;(11)多元醇,如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;(12)酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)海藻酸;(16)无热原质水;(17)等渗盐水;(18)林格氏溶液;(19)醇,如乙醇和丙醇;(20)磷酸盐缓冲溶液;和(21)药物调配物中使用的其它无毒兼容物质,如丙酮。

[0154] 药物组合物可视需要含有药学上可接受的辅助物质以接近生理条件,如pH值调节剂和缓冲剂、毒性调节剂等,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠等。

[0155] 药物组合物的形式取决于多种标准,包括但不限于施用途径、疾病程度或待施用的剂量。所述药物组合物可以被配制用于口服、经鼻、经直肠、经皮、静脉内或肌肉内施用。举例来说,用于经鼻施用的剂型可以适宜地被配制为气雾剂、溶液、滴剂、凝胶或干粉;用于鼻内施用的剂型可以被配制为流体调配物。根据期望的施用途径,药物组合物可以被配制成片剂、胶囊、丸剂、糖衣药丸、散剂、颗粒剂、药囊、扁囊剂、口含锭、悬浮液、乳液、溶液、糖浆、气雾剂(呈固体形式或在液体介质中)、喷雾剂、油膏、糊浆、乳霜、洗剂、凝胶剂、贴片、吸入剂或栓剂形式。

[0156] 药物组合物还可以被配制用于在通过采用所属领域中已知的程序施用于患者之后,提供活性成分的快速、持续或延迟释放。在一些实施方案中,药物组合物被配制成持续释放形式。如本文所使用,术语“持续释放形式”是指活性剂从药物组合物释放以使得其在受试者的胃肠道中,在较长时间段(延长释放)内或在某一位置(控制释放)可被生物吸收。在一些实施方案中,较长时间段可以是约1小时至24小时、2小时至12小时、3小时至8小时、4小时至6小时、1至2天或更长时间。在某些实施方案中,较长时间段是至少约4小时、至少约8小时、至少约12小时或至少约24小时。药物组合物可以被配制成片剂形式。举例来说,活性剂的释放速率不仅可以通过活性剂溶解于胃肠液中且随后独立于pH自片剂或丸剂扩散进行控制,而且还受片剂崩解和溶蚀的物理过程影响。在一些实施方案中,公开于“控制释放的医学应用(Medical Applications of Controlled Release)”,Langer和Wise(编),CRC出版社(CRC Pres.),佛罗里达州波卡拉顿(Boca Raton,Florida)(1974);“受控的药物生物利用率(Controlled Drug Bioavailability)”,《药品设计和性能(Drug Product Design and Performance)》,Smolen和Ball(编),Wiley,纽约(1984);Ranger和Peppas,1983,《高分子科学-高分子化学评述(J Macromol.Sci.Rev.Macromol Chem.)》23:61中;也参见Levy等人,1985,《科学(Science)》228:190;During等人,1989,《神经病学年评(Ann.Neurol.)》25:351;Howard等人,1989,《神经外科杂志(J.Neurosurg.)》71:105的聚合材料可用于持续释放。以上参考文献都以全文引用的方式并入本文中。

[0157] 在某些实施方案中,药物组合物包含约0.0001mg至约100mg的本公开化合物(例

如,约0.0001mg至约10mg、约0.001mg至约10mg、约0.01mg至约10mg、约0.1mg至约10mg、约0.1mg至约5mg、约0.1mg至约4mg、约0.1mg至约3mg、约0.1mg至约2mg、约0.1mg至约1mg、约0.1mg至约0.5mg、约1mg至约10mg、约1mg至约5mg、约5mg至约10mg、约5mg至约20mg、约5mg至约30mg、约5mg至约40mg、约5mg至约50mg、约10mg至约100mg、约20mg至约100mg、约30mg至约100mg、约40mg至约100mg、约50mg至约100mg)。每天每位受试者的合适剂量可以是约0.1mg至约10mg,优选地是约0.1mg至约5mg、约5mg至约10mg或约1mg至约5mg。

[0158] 在某些实施方案中,药物组合物可配制成单位剂型,每种剂量含有约0.0001mg至约10mg、约0.001mg至约10mg、约0.01mg至约10mg、约0.1mg至约10mg、约0.1mg至约5mg、约0.1mg至约4mg、约0.1mg至约3mg、约0.1mg至约2mg、约0.1mg至约1mg、约0.1mg至约0.5mg、约1mg至约10mg、约5mg至约10mg、约5mg至约20mg、约5mg至约30mg、约5mg至约40mg、约5mg至约50mg、约10mg至约100mg、约20mg至约100mg、约30mg至约100mg、约40mg至约100mg、约50mg至约100mg的本公开化合物。术语“单位剂型”是指适用作人类受试者和其它哺乳动物的单位剂量的物理离散单元,每个单元含有与合适的药物载体结合的经计算以产生所期望的治疗作用的预定量的活性材料。

[0159] 在一些实施方案中,药物组合物包含一种或多种本公开的化合物作为第一活性成分,且还包含第二活性成分。第二活性成分可为所属领域中已知的任何免疫调节剂或抗肿瘤剂,包括但不限于化学治疗剂、免疫治疗剂、细胞信号转导抑制剂、细胞信号转导抑制剂、烷化剂、拓扑异构酶抑制剂、有丝分裂抑制剂、抗激素剂等。这类免疫调节剂或抗肿瘤剂的实例为铂类化学治疗剂(例如,顺铂(Cisplatin)(DDP)、卡铂(Carboplatin)(CBP)、硫酸根-1,2-二氨基环己烷铂(SHP)、奈达铂(Nedaplatin)、奥沙利铂(Oxaliplatin)(OXA)、乐铂(Laboplatin))、多西他赛(Docetaxel)、太平洋紫杉醇(Paclitaxel)、多柔比星(Doxorubicin)、依托泊昔(Etoposide)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、CTLA-4抑制剂、抗CTLA-4抗体、PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、抗PD-1/PD-L1抗体、CD39抑制剂、抗CD39抗体、CD73抑制剂、抗CD73抗体、CCR2抑制剂、抗CCR2抗体、EGFR抑制剂、CDK4/6抑制剂、MELK抑制剂、OX40激动剂、抗雄激素抑制剂、IgG4同型抗体、酪氨酸激酶抑制剂、DNA甲基转移酶抑制剂、Hsp90抑制剂、FGFR抑制剂、mTOR抑制剂、芳香酶抑制剂、VEGF抑制剂、LHRH拮抗剂、PI3K抑制剂、AKT抑制剂、极光激酶抑制剂(aurora kinase inhibitor)、MEK抑制剂、HDAC抑制剂、BET抑制剂、PIK3CA抑制剂、蛋白酶体抑制剂、其它SERD、法呢基转移酶抑制剂(farnesyltransferase inhibitor)、VEGF-A抗体、ErbB3(Her3)抗体、蛋白酶体抑制剂、蛋白激酶C β 抑制剂、抗IGF-1R抗体、抗HER2抗体、SERM、IGF抑制剂、抗IgG抗体等。用于治疗癌症或肿瘤的抗肿瘤剂的代表性实例可包括但不限于顺铂、卡铂、SHP、奈达铂、奥沙利铂、乐铂、多西他赛、太平洋紫杉醇、多柔比星、依托泊昔、米托蒽醌、长春新碱(vincristine)、长春花碱(vinblastine)、吉西他滨(gemcitabine)、环磷酰胺、苯丁酸氮芥(chlormabucil)、卡莫司汀(carmustine)、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、放线菌素、表柔比星(epirubicin)、蒽环霉素(anthracycline)、博来霉素(bleomycin)、丝裂霉素-C(mitomycin-C)、伊立替康(irinotecan)、拓扑替康(topotecan)、替尼泊甙(teniposide)白介素、干扰素、曲美单抗(tremelimumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、派立珠单抗(pembrolizumab)、纳武单抗(nivolumab)、阿维鲁单抗(avelumab)、度伐单抗(durvalumab)、阿特珠单抗(atezolizumab)、IPH 52、IPH 53、CPI-006、普洛利单抗(plozalizumab)、MLN1202、西妥昔

单抗(cetuximab)、拉帕替尼(lapatinib)、埃罗替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、来那替尼(neratinib)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、阿多-曲妥珠单抗恩他新(ado-trastuzumab emtansine)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、MCLA-128、阿那曲唑(anastrazole)、雷诺昔酚(raloxifene)、G1T38、他莫昔芬(tamoxifen)、戈舍瑞林(goserelin)、恩杂鲁胺(enzalutamide)、伏立诺他(vorinostat)、恩替诺特(entinostat)、舒尼替尼(sunitinib)、帕唑帕尼(pazopanib)、贝伐单抗(bevacizumab)、兰比珠单抗(ranibizumab)、哌加他尼(pegaptanib)、西地尼布(cediranib)、达沙替尼(dasatinib)、GDC-0980、吉达昔布(gedatolisib)、阿普昔布(alpelisib)、BKM120、考帕昔布(copanlisib)、AZD8835、GDC-0941、塔瑟昔布(taselisib)、替西罗莫司(temsirolimus)、依维莫司(everolimus)、萨帕塞替(sapanisertib)、AZD5363、MK2206、帕尼单抗(panitumumab)、派立珠单抗(pembrolizumab)、索拉非尼(sorafenib)、帕博希布(palbociclib)、玻玛西林(abemaciclib)、瑞博西林(ribociclib)、克唑替尼(crizotinib)、多韦替尼(dovitinib)、卢佐替尼(ruxolitinib)、阿扎胞苷(azacitidine)、CC-486、HSP90加利特皮(HSP90 ganetespib)、Debio 1347、伊达替尼(erdafitinib)、维瑟塞替(vitusertib)、阿立塞替(alisertib)、司美替尼(selumetinib)、GS-5829、GSK525762、MLN9708、GDC-0810、AFP464、替吡法尼(tipifarnib)、塞利班单抗(seribantumab)、硼替佐米(bortezomib)、恩扎妥林(enzastaurin)、AVE1642、森吐珠单抗(xentuzumab)、达罗吐珠单抗(dalotuzumab)、AMG479等。

[0160] 这类抗肿瘤剂的实例还可见于V.T.Devita和S.Hellman(编)的《癌症原理和肿瘤学实践(Cancer Principles and Practice of Oncology)》,第6版(2001年2月15日),利平科特威廉姆斯和维尔金斯出版社(Lippincott Williams&Wilkins Publishers)中。所属领域的普通技术人员还将能够基于药物的特定特征和所涉及的癌症辨别哪些药剂组合将是有用的。

[0161] 根据本公开的这一方面,提供一种适用于治疗癌症的组合,其包含如上文所定义的式(I)化合物或其药学上可接受的盐;以及上文所列的免疫调节剂或抗肿瘤剂中的任一种。

[0162] 因此,在本公开的另一方面中,提供一种与选自上文所列的免疫调节剂或化学治疗剂组合的式(I)化合物或其药学上可接受的盐。

[0163] 本文中,在使用术语“组合”的情况下,应理解是指同时、分开或依序施用。在一些实施方案中,“组合”是指同时施用。在本公开的另一方面中,“组合”是指分开放用。在本公开的另一方面中,“组合”是指依序施用。当依续或分开放用时,延迟施用第二组分不应使得失去所述组合的有益作用。

[0164] 根据本公开的另一方面,提供一种药物组合物,其包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐与选自以上列出的免疫调节剂或抗肿瘤剂的组合,以及药学上可接受的稀释剂或载体。

[0165] 根据本公开的另一方面,提供一种供用于产生免疫调节或抗癌作用的药物组合物,其包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐与选自上文所列的免疫调节剂或抗肿瘤剂的组合,以及药学上可接受的稀释剂或载体。

[0166] 根据本公开的另一方面,提供一种用于治疗DNA-PK相关病症,例如NSCLC、RCC、前

列腺癌或乳腺癌等的药物组合物,其包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐与选自上文所列的免疫调节剂或抗肿瘤剂的组合,以及药学上可接受的稀释剂或载体。

[0167] 根据本公开的另一方面,提供一种试剂盒,其包含式(I)化合物或其药学上可接受的盐与选自上文所列的免疫调节剂或抗肿瘤剂的组合。

[0168] 根据本公开的另一方面,提供一种试剂盒,其包含:

[0169] a) 呈第一单位剂型的式(I)化合物或其药学上可接受的盐;

[0170] b) 呈第二单位剂型的选自上文所列的免疫调节剂或抗肿瘤剂;和

[0171] c) 用于容纳所述第一剂型和第二剂型的容器。

[0172] 除了用于治疗药物以外,式(I)化合物或其药学上可接受的盐还适用作体外和体内测试系统的开发和标准化中的药理学工具,所述测试系统用于评估DNA-PK在如猫、狗、兔、猴、大鼠和小鼠的实验动物中的活性或表达,作为探索新型治疗剂的部分。

[0173] 在上文其它药物组合物、过程、方法、用途和药物制造特征中,本文所描述的本公开化合物的替代方案和优选实施方案也适用。

[0174] 治疗方法

[0175] 本公开提供一种治疗DNA-PK相关病症的方法,其包括向受试者施用有效量的一种或多种本公开的化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物。

[0176] 本公开还提供一种治疗DNA-PK相关病症的方法。在某些实施方案中,所述方法包括向受试者施用有效量的一种或多种本公开的化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物。

[0177] 如本文所用,术语“DNA-PK相关病症”是指发作或发展或二者与DNA-PK的表达或活性有关的疾病。实例包括但不限于过度增殖性病症(例如,癌症)。

[0178] 在一些实施方案中,DNA-PK相关病症是癌症,优选的是过度表达DNA-PK的癌症。“过度表达DNA-PK的癌症”是与相同组织类型的非癌性细胞相比在癌症或肿瘤细胞中具有较高水平的DNA-PK蛋白质的癌症。这类过度表达可能是由基因扩增或增加的转录或翻译引起的。可通过评估存在于细胞中的DNA-PK蛋白质的水平的增加(例如,通过免疫组织化学分析;IHC)而在诊断或预后分析中测定DNA-PK过度表达。替代地或另外,我们可例如通过荧光原位杂交(FISH;参见1998年10月公布的W098/45479)、DNA印迹法(southern blotting)或聚合酶链反应(PCR)技术,如实时定量PCR(RT-PCR)(《方法(Methods)》132:73-80(1990))来测量细胞中编码DNA-PK的核酸的水平。除了上述分析之外,所属领域的技术人员可使用各种体内分析。举例来说,我们可使患者体内的细胞暴露于任选地用可检测标记,例如放射性同位素标记的抗体,并且可例如通过外部扫描放射性或通过分析从先前暴露于抗体的患者取得的活组织检查来评估抗体与细胞在患者体内的结合。

[0179] 确切地说,癌症包括不限于肺癌(例如,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer;NSCLC)、小细胞肺癌、肺腺癌、大细胞肺癌、鳞状细胞肺癌)、肾细胞癌(renal cell carcinoma;RCC)、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、骨癌、子宫癌、结肠癌、白血病、成胶质细胞瘤、黑素瘤、软骨肉瘤、脑癌、胆管癌、骨肉瘤、淋巴瘤、腺瘤、骨髓瘤、肝细胞癌、肾上腺皮质癌、胰腺癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、结直肠癌、食道癌、睾丸癌、皮肤癌、肾癌、间皮瘤、神经母细胞瘤、甲状腺癌、头颈癌、食道癌、眼癌、鼻咽癌或口腔癌。在一些实施方案中,癌症是NSCLC、RCC、前列腺癌或乳腺癌。除非另外规定,否则如本文中提到的癌症可

处于任何分期。在一些实施方案中，癌症是早期癌症。在一些实施方案中，癌症是局部晚期癌症。在一些实施方案中，癌症是局部晚期癌症和/或转移性癌症。在一些实施方案中，癌症是侵入性癌症。在一些实施方案中，癌症是对现有疗法具有抗性的癌症。

[0180] 如本文所使用，术语“治疗(treatment/treat/treating)”是指逆转、缓解如本文所描述的疾病或病症或其一种或多种症状，延迟其发作或抑制其进展。在一些实施方案中，治疗可在已出现一种或多种症状后施用。在其它实施方案中，治疗可在不存在症状的情况下施用。举例来说，治疗可以在症状发作之前(例如，根据症状历史和/或根据遗传或其它易感因素)施用于易感个体。治疗也可以在症状消退后继续，例如以防止或延缓其复发。

[0181] 在一些实施方案中，通过肠胃外途径或非肠胃外途径施用本文所提供的一种或多种化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物。在一些实施方案中，所述一种或多种化合物、其药学上可接受的盐、水合物、溶剂合物或立体异构体或药物组合物是口服、肠内、经颊、经鼻、鼻内、经粘膜、经表皮、透皮、经皮、经眼、经肺、经直肠、舌下、经阴道、经表面、皮下、静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、心内、皮内、腹膜内、经气管、表皮下、关节内、囊下、脊椎内、蛛网膜下或胸骨内施用。

[0182] 本文提供的化合物可以呈纯形式、与其它活性成分组合或呈本公开的药物组合物形式施用。在一些实施方案中，本文所提供的化合物可以与所属领域中已知的一种或多种抗癌剂或消炎剂组合同时或依序施用于有需要的受试者。这类组合中的个别化合物是在分开的或组合的药物组合物中依序或同时施用。优选地，个别化合物将在组合的药物组合物中同时施用。所属领域的技术人员将了解已知治疗剂的适当剂量。

[0183] 在一些实施方案中，施用是一天一次、一天两次、一天三次或每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次、每六天一次、一周一次进行。

[0184] 如本文所提供的化合物或其药学上可接受的盐的治疗有效量将取决于所属领域中已知的各种因素，如体重、年龄、既往病史、当前药物、受试者的健康状态和交叉反应、过敏、敏感和不良副作用的可能性，以及施用途径和疾病发展程度。如由这些和其它情况或要求所指示，所属领域的技术人员(例如，医生或兽医)可按比例减少或增加剂量。

[0185] 在一些实施方案中，本文所提供的一种或多种化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物口服施用。对于口服施用，实现所期望的目标的任何剂量都是适当的。在一些实施方案中，合适的日剂量在约0.001至100mg之间，优选地在0.1mg与5g之间，更优选地在5mg与1g之间，更优选地在10mg与500mg之间，并且一天一次、一天两次、一天三次、每天或一周3至5天进行施用。在一些实施方案中，本文所提供的一种或多种化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物的剂量范围介于每天约0.0001mg，优选地0.001mg、0.01mg、0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.8mg、0.9mg、1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg之间。

[0186] 化合物的用途

[0187] 在某些实施方案中，本公开提供本公开的化合物、其药学上可接受的盐或药物组合物在制造用于治疗DNA-PK相关病症的药剂中的用途。在某些实施方案中，DNA-PK相关病症包括癌症。

[0188] 本公开中的化合物和其药物组合物可用于预防或治疗哺乳动物(尤其人类)的DNA-PK相关病症(表达或活性)中的任一种的发作或发展。

[0189] 在这种情况下,本公开还提供一种筛选适于用单独的本公开的化合物或药物组合物或其与其它成分(例如,第二活性成分,例如抗炎剂或抗癌剂)的组合进行治疗患者的方法。所述方法包括对来自患者的组织样品进行测序并且检测患者中的DNA-PK的积聚。

[0190] 实例

[0191] 以下进一步阐明本公开的通用方法。本公开的化合物可以通过所属领域中已知的方法制备。以下说明本公开的优选化合物的详细制备方法。然而,这些决不限制本公开的化合物的制备方法。

[0192] 合成实例

[0193] 在实例中的合成流程中说明本文所提供的化合物(包括其药学上可接受的盐)的合成。本文所提供的化合物可使用任何已知的有机合成技术制备且可根据多种可能的合成途径中的任一种合成,且因此,这些流程只是说明性的且不打算限制可用于制备本文所提供的化合物的其它可能的方法。此外,所述流程中的步骤是为了更好地说明且可在适当时改变。出于研究和可能提交给管理机构的目的来合成实例中的化合物的实施方案。

[0194] 用于制备本公开的化合物的反应可在合适的溶剂中进行,所述溶剂可由有机合成领域的技术人员容易地选择。合适的溶剂可在进行反应的温度下,例如可在介于溶剂的冷冻温度至溶剂的沸腾温度的温度下,大体上不与起始材料(反应物)、中间物或产物反应。给定反应可在一种溶剂或超过一种溶剂的混合物中进行。取决于特定反应步骤,用于特定反应步骤的合适溶剂可以由熟练技术人员选择。

[0195] 本公开的化合物的制备可涉及各种化学基团的保护和脱保护。对保护和脱保护的需求和对适当的保护基团的选择可以由所属领域的技术人员容易地确定。保护基的化学性质可见于例如T.W.Greene和P.G.M.Wuts,《有机合成中的保护基》,第3版,威利父子公司,纽约(1999),其以全文引用的方式并入本文中。

[0196] 可根据所属领域中已知的任何合适方法监测反应。举例来说,可通过光谱手段,如核磁共振光谱(例如,¹H或¹³C)、红外光谱、分光光度法(例如,UV-可见光)、质谱,或通过色谱法,如高效液相色谱(HPLC)、液相色谱-质谱(LCMS)或薄层色谱(TLC)来监测产物形成。所属领域的技术人员可通过多种方法,包括高效液相色谱(HPLC)(“制备型LC-MS纯化:改善的化合物特异性方法优化”,Karl F.Bлом,Brian Glass,Richard Sparks,Andrew P.Combs,《组合化学杂志》,2004,6(6),874-883,其以全文引用的方式并入本文中)和正相二氧化硅色谱来纯化化合物。

[0197] 通过核磁共振(NMR)或/和液相色谱-质谱(LC-MS)来表征实例中的化合物的结构。以10⁻⁶(ppm)为单位给出NMR化学位移(δ)。在Bruker AVANCE NMR(300MHz或400MHz)光谱仪上使用ICON-NMR(在TopSpin程序控制下),使用四甲基硅烷作为内标以二甲亚砜-d₆(DMSO-d₆)或CDCl₃或CD₃OD或D₂O或丙酮-d₆或CD₃CN(来自伊诺凯(Innochem)或西格玛-奥德里奇(Sigma-Aldrich)或剑桥同位素实验室公司(Cambridge Isotope Lab., Inc.))记录¹H-NMR光谱。

[0198] 使用具有电喷雾源的Shimadzu 2020质谱仪在正离子和负离子模式下进行MS测量。

[0199] 在Shimadzu LC-20AD系统或Shimadzu LC-20ADXR系统或Shimadzu LC-30AD系统上,使用Shim-pack XR-ODS C18柱(3.0*50mm,2.2μm)或Ascentis Express C18柱(2.1*

50mm, 2.7μm) 或 Agilent Poroshell HPH-C18柱 (3.0*50mm, 2.7μm) 进行高效液相色谱 (HPLC) 测量。

[0200] 使用中国医药化学试剂北京有限公司 (Sinopharm Chemical Reagent Beijing Co.,Ltd.) 和信诺化学 (Xinnuo Chemical) 硅胶板进行薄层色谱。用于薄层色谱 (TLC) 的硅胶板为175-225μm。用于通过TLC分离和纯化产物的硅胶板为1.0mm。

[0201] 纯化的色谱柱使用硅胶作为载体 (100~200、200~300或300~400目,由乳山市上邦新材料有限公司 (Rushanshi Shangbang Xincailiao Co.,Ltd.) 或乳山太阳干燥剂有限公司 (Rushan Taiyang Desiccant Co.,Ltd.etc.) 等制造) 或Agela Technologies快速系统中的快速柱 (反相C18柱20-45μm,由艾杰尔科技公司 (Agela Technologies) 制造)。根据化合物的量来调整柱的大小。

[0202] 本公开的已知起始材料可通过使用或根据所属领域中已知的方法合成或可购自阿法埃莎 (Alfa Aesar)、梯希爱 (TCI)、西格玛-奥德里奇、书亚医药 (Bephar)、毕得医药科技 (Bide pharmatech)、药石 (PharmaBlock)、烯胺 (Enamine)、伊诺凯和杰达维医药科技 (JW&Y PharmLab) 等。

[0203] 除非另外规定,否则反应全部在氩气或氮气气氛下进行。氩气或氮气气氛是指将反应烧瓶连接到体积为约1L的氩气或氮气气球。通常在压力下进行氢化。除非另外规定,否则实例中的反应温度是环境温度,其为10°C~30°C。通过TLC或/和LC-MS监测反应进程。用于反应的洗脱剂系统包括二氯甲烷-甲醇系统和石油醚-乙酸乙酯系统。根据化合物的不同极性调整溶剂的体积比。

[0204] 用于纯化化合物的柱色谱的洗脱系统和TLC的洗脱系统包括二氯甲烷-甲醇系统和石油醚-乙酸乙酯系统。根据化合物的不同极性调整溶剂的体积比。可添加少量碱性或酸性试剂 (0.1%~1%) ,如甲酸或乙酸、或TFA、或氨以进行调整。

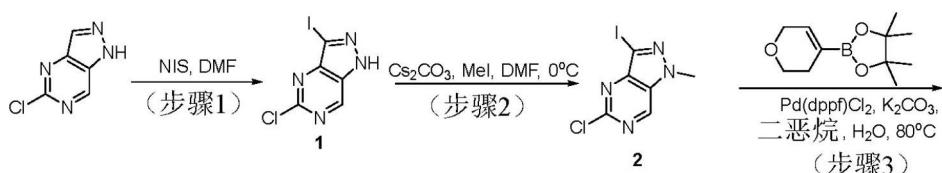
[0205] 在本文提供的化合物的合成中使用的化学试剂的缩写列于下文:

[0206]	(Boc) ₂ O	二碳酸二叔丁酯
	Brettphos	2-(二环己基膦)3,6-二甲氧基-2',4',6'-三异丙基-1,1'-联二苯
	CH ₃ CN	乙腈
	Cs ₂ CO ₃	碳酸铯
	DCM	二氯甲烷
	DIEA	N,N-二异丙基乙胺
	DMF	N,N-二甲基甲酰胺
	DMSO	二甲亚砜
	EtOAc	乙酸乙酯
	EtOH	乙醇
	HATU	1-[双(二甲氨基)亚甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物六氟磷酸盐
	K ₂ CO ₃	碳酸钾
	LiOH	氢氧化锂
	MeOH	甲醇
	2-MeTHF	2-甲基四氢呋喃

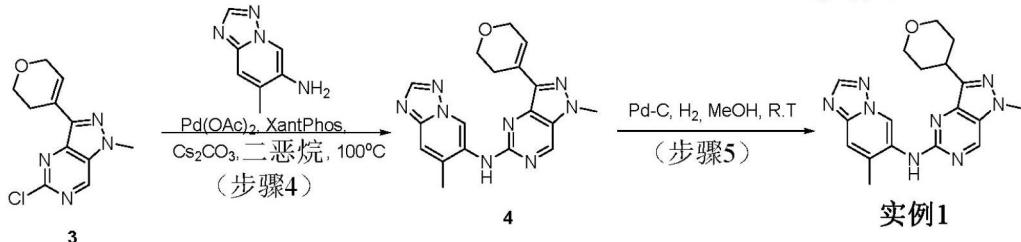
[0207]	Mg(OTf) ₂	三氟甲烷磺酸镁
	MTBE	甲基叔丁基醚
	Na ₂ CO ₃	碳酸钠
	NaCl	氯化钠
	NaHCO ₃	碳酸氢钠
	NaOH	氢氧化钠
	Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-双(二苯基膦基)二茂铁]二氯钯(II)
	PE	石油醚
	TEA	三乙胺
	TFA	三氟乙酸
	THF	四氢呋喃
	TosMIC	甲苯磺酰基甲基异氰化物

[0208] 实例1

[0209] 制备1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.1)



[0210]



[0211] 流程1

[0212] 步骤1. 5-氯-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0213] 在空气气氛下在0℃下将5-氯-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(3.00g, 19.410mmol, 1.00当量)和NIS(7.86g, 34.936mmol, 1.80当量)于DMF(60.00mL)中的混合物搅拌过夜。用EtOAc(3×150mL)萃取所得混合物。用盐水(3×200mL)洗涤合并的有机层。将合并的有机层用Na₂S₂O₃(3×200mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。通过硅胶柱色谱来纯化残余物, 用PE/EtOAc(20:1)洗脱, 以获得呈黄色固体状的5-氯-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(2.4g, 44.09%)。LCMS:m/z(ESI), [M+H]⁺=281.0。

[0214] 步骤2. 5-氯-3-碘-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0215] 在氮气气氛下在0℃下将Cs₂CO₃(3.49g, 10.697mmol, 3当量)、CH₃I(2.53g, 17.828mmol, 5.00当量)和5-氯-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(1.00g, 3.566mmol, 1.00当量)于DMF(20.00mL)中的混合物搅拌1h。用水(100mL)稀释所得混合物并用EtOAc(3×80mL)萃取。将合并的有机层用盐水(3×100mL)洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。粗产物从EtOAc/PE(1:5 300mL)再结晶, 以获得呈黄色固体状的5-氯-3-碘-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(850mg, 80.95%)。LCMS:m/z(ESI), [M+H]⁺=295.0。

[0216] 步骤3. 5-氯-3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0217] 在氮气气氛下在80℃下将含K₂CO₃(1210.85mg, 8.761mmol, 3当量)、Pd(dppf)

$\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (476.98mg, 0.584mmol, 0.2当量)、2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊(797.57mg, 3.797mmol, 1.3当量)和5-氯-3-碘-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(860.00mg, 2.920mmol, 1.00当量)的二恶烷(15.00mL)和 H_2O (3.00mL)搅拌16小时。用水(100mL)稀释所得混合物。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=12:1$ (3×50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(2×100mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。通过制备型TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=12:1$)来纯化残余物,以获得呈灰色固体状的5-氯-3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(380mg, 51.90%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=251.2$ 。

[0218] 步骤4. 3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

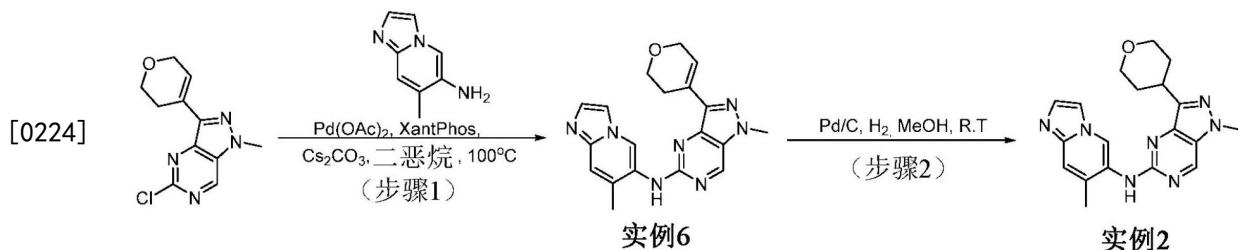
[0219] 在氮气气氛下在100°C下将 Cs_2CO_3 (2599.38mg, 7.978mmol, 2.50当量)、XantPhos(553.94mg, 0.957mmol, 0.30当量)、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (143.29mg, 0.638mmol, 0.20当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(567.40mg, 3.829mmol, 1.20当量)和5-氯-3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(800.00mg, 3.191mmol, 1.00当量)于二恶烷(20.00mL)中的混合物搅拌过夜。用水(200mL)稀释所得混合物。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=(12:1)$ (3×200mL)萃取所得混合物,经无水 Na_2SO_4 干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。粗产物从EtOAc/PE(1:6 300mL)再结晶,以获得呈棕色固体状的3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(600mg, 51.88%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=363.3$ 。

[0220] 步骤5. 1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-(氧杂环己-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺。(Ex.1)

[0221] 在氮气气氛下在室温下将Pd/C(47.92mg, 0.450mmol, 1.36当量)和3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(120mg, 0.331mmol, 1当量)于 MeOH (200mL)和THF(100mL)中的混合物搅拌2小时。过滤所得混合物,用 MeOH (3×100mL)洗涤滤饼。减压浓缩滤液。通过制备型HPLC使用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水(0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 移动相B:ACN; 流动速率:60mL/min; 梯度:7min内, 25B至51B)来纯化粗产物(120mg),以获得呈白色固体状的1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-(氧杂环己-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(55mg, 45.12%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=365.2$ 。 ^1H NMR(300MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) δ 1.95 (4H, t), 2.42 (3H, d), 3.14-3.30 (1H, m), 3.47 (2H, d), 3.93 (2H, d), 4.04 (3H, s), 7.71 (1H, t), 8.37 (1H, s), 8.84 (1H, s), 9.15 (1H, s), 9.34 (1H, s)

[0222] 实例2

[0223] 制备1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.2)和3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺。(Ex.6)



[0225] 流程2

[0226] 步骤1. 3- (3,6-二氢-2H-吡喃-4-基) -1-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺。(Ex.6)

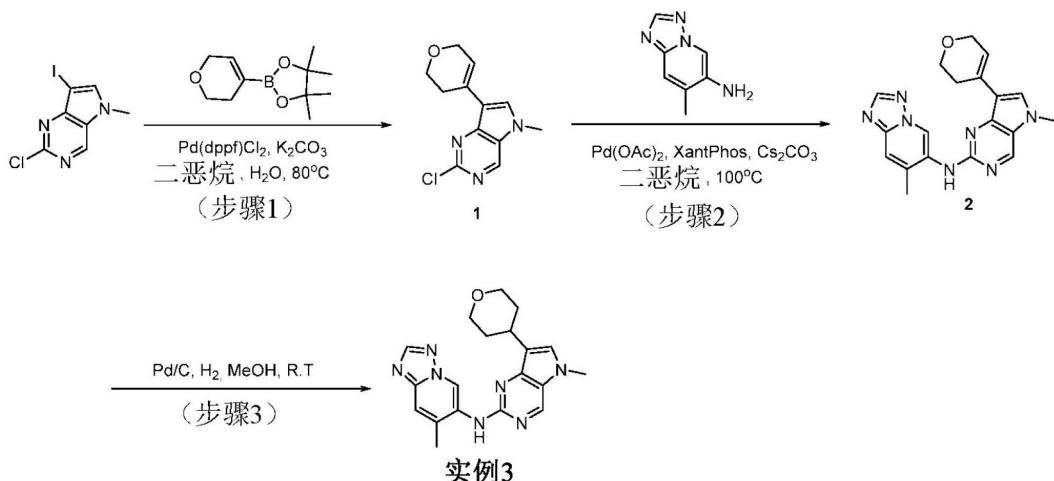
[0227] 在氮气气氛下在100℃下将 Cs_2CO_3 (682.34mg, 2.094mmol, 2.5当量)、XantPhos(96.94mg, 0.168mmol, 0.2当量)、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (37.61mg, 0.168mmol, 0.2当量)、7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-胺(147.95mg, 1.005mmol, 1.2当量)和5-氯-3- (3,6-二氢-2H-吡喃-4-基) -1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(210.00mg, 0.838mmol, 1.00当量)于二恶烷(6.00mL)中的混合物搅拌过夜。可通过LCMS来检测所需产物。过滤所得混合物，用DCM($3 \times 50\text{mL}$)洗涤滤饼。减压浓缩滤液。通过制备型TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=12:1$)来纯化残余物，以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A: 水(0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)，移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 26B至36B)来纯化粗产物(170mg)，以获得呈黄色固体状的3- (3,6-二氢-2H-吡喃-4-基) -1-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(100mg, 57.65%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=362.2$ 。 ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) δ 2.30 (3H, d), 2.58 (2H, s), 3.83 (2H, t), 4.06 (3H, s), 4.25 (2H, d), 7.07-7.12 (1H, m), 7.43 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.84 (1H, t), 8.81 (2H, d), 9.14 (1H, s)

[0228] 步骤2. 1-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-3-(氧杂环己-4-基)吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺。(Ex.2)

[0229] 在氢气气氛下在40℃下将Pd/C(70.67mg, 0.664mmol, 3.00当量)和3- (3,6-二氢-2H-吡喃-4-基) -1-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(80.00mg, 0.221mmol, 1.00当量)于MeOH(20.00mL)中的混合物搅拌3小时。可通过LCMS来检测所需产物。过滤所得混合物，用MeOH($3 \times 10\text{mL}$)洗涤滤饼。减压浓缩滤液。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A: 水(0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)，移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 22B至33B; RT1: 6.63)来纯化粗产物(50mg)，以获得呈黄色固体状的1-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-3-(氧杂环己-4-基)吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(20mg, 24.61%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=364.2$ 。 ^1H NMR (300MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) δ 1.96 (4H, d), 2.28 (3H, d), 3.21 (1H, t), 3.47 (2H, d), 3.93 (2H, d), 4.03 (3H, s), 7.42 (1H, q), 7.49 (1H, d), 7.81 (1H, t), 8.69 (1H, s), 8.84 (1H, s), 9.09 (1H, s)

[0230] 实例3

[0231] 制备7-甲基-N- (5-甲基-7- (四氢-2H-吡喃-4-基) -5H-吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-基) -[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(Ex.3)



[0232] [0233] 流程3

[0234] 步骤1. 2-氯-7-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-5-甲基-5H-吡咯并[3,2-d]嘧啶

[0235] 在氮气气氛下在80℃下将2-氯-7-碘-5-甲基吡咯并[3,2-d]嘧啶(300.00mg, 1.022mmol, 1.00当量)、2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊(279.16mg, 1.329mmol, 1.30当量)、Pd(dppf)Cl₂(149.59mg, 0.204mmol, 0.2当量)和K₂CO₃(423.81mg, 3.067mmol, 3当量)于二恶烷(6.00mL)和H₂O(1.20mL)中的混合物搅拌3小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(PE/EtOAc 1:3)来纯化残余物,以获得呈棕色固体状的2-氯-7-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-5-甲基吡咯并[3,2-d]嘧啶(196mg, 76.79%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=250.2。

[0236] 步骤2. 7-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-5-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-胺

[0237] 在氮气气氛下在100℃下将2-氯-7-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-5-甲基吡咯并[3,2-d]嘧啶(196.00mg, 0.785mmol, 1.00当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(139.56mg, 0.942mmol, 1.20当量)、Pd(AcO)₂(35.25mg, 0.157mmol, 0.20当量)、XantPhos(136.25mg, 0.235mmol, 0.30当量)和Cs₂CO₃(639.37mg, 1.962mmol, 2.50当量)于二恶烷(3.00mL)中的混合物搅拌3小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=10:1)来纯化残余物,以获得呈黄色固体状的7-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-5-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-胺(170mg, 59.93%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=362.3。

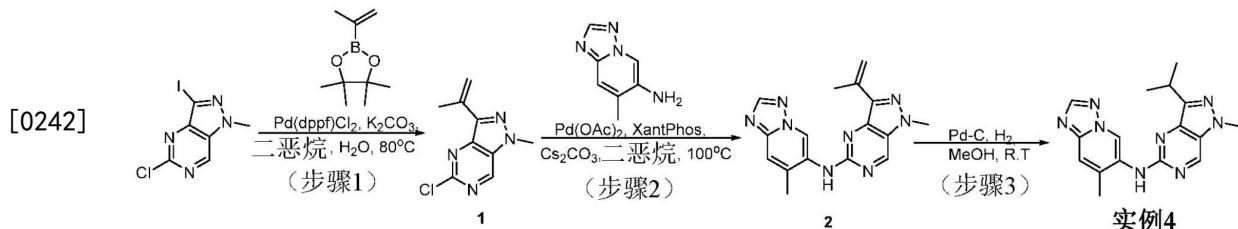
[0238] 步骤3. 7-甲基-N-(5-甲基-7-(四氢-2H-吡喃-4-基)-5H-吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(Ex.3)

[0239] 在氢气气氛下在室温下将7-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-5-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-胺(170.00mg, 0.470mmol, 1.00当量)和Pd/C(250.29mg, 2.352mmol, 5.00当量)于MeOH(20.00mL)和THF(50.00mL)中的混合物搅拌过夜。过滤所得混合物,用MeOH(5×30mL)洗涤滤饼。减压浓缩滤液,以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A:水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:25mL/min; 梯度:7min内, 30B至45B; RT1:6.02)来纯化粗产物(100mg),以获得呈白色固体状的5-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]

吡啶-6-基]-7-(氧杂环己-4-基)吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-胺(29mg,16.96%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=364.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ1.76 (2H, d), 1.88-2.01 (2H, m), 2.46 (3H, d), 3.02 (1H, t), 3.47 (2H, td), 3.80 (3H, s), 3.88-4.05 (2H, m), 7.51 (1H, s), 7.61-7.75 (1H, m), 8.33 (2H, d), 8.74 (1H, s), 9.49 (1H, s)

[0240] 实例4

[0241] 制备3-异丙基-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.4)



[0243] 流程4

[0244] 步骤1. 5-氯-1-甲基-3-(丙-1-烯-2-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0245] 在氮气气氛下在80℃下将Pd (dppf) Cl₂(124.24mg, 0.170mmol, 0.2当量)、K₂CO₃(293.33mg, 2.122mmol, 2.5当量)、4,4,5,5-四甲基-2-(丙-1-烯-2-基)-1,3,2-二氧杂硼戊(213.99mg, 1.273mmol, 1.5当量)和5-氯-3-碘-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(250.00mg, 0.849mmol, 1.00当量)于二恶烷(5.00mL)和H₂O(1.00mL)中的混合物搅拌2小时。可通过LCMS来检测所需产物。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (PE/EtOAc 1:3) 来纯化残余物,以获得呈粉色固体状的5-氯-1-甲基-3-(丙-1-烯-2-基)吡唑并[4,3-d]嘧啶(130mg, 73.39%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=209.6。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ2.22 (3H, t), 4.18 (3H, s), 5.50 (1H, p), 6.43 (1H, d), 9.45 (1H, s)

[0246] 步骤2. 1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(丙-1-烯-2-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

[0247] 在氮气气氛下在100℃下将Cs₂CO₃(468.47mg, 1.438mmol, 2.5当量)、XantPhos(66.56mg, 0.115mmol, 0.2当量)、Pd (AcO)₂(25.82mg, 0.115mmol, 0.2当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(127.82mg, 0.863mmol, 1.50当量)和5-氯-1-甲基-3-(丙-1-烯-2-基)吡唑并[4,3-d]嘧啶(120.00mg, 0.575mmol, 1.00当量)于二恶烷(4.00mL)中的混合物搅拌3小时。可通过LCMS来检测所需产物。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=15:1) 来纯化残余物,以获得呈黄色固体状的1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-(丙-1-烯-2-基)吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(90mg, 48.85%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=321.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ2.18 (3H, s), 2.45 (3H, d), 4.09 (3H, d), 5.33 (1H, d), 6.35 (1H, d), 7.70-7.78 (1H, m), 8.38 (1H, s), 8.96 (1H, s), 9.22 (1H, s), 9.37 (1H, s)

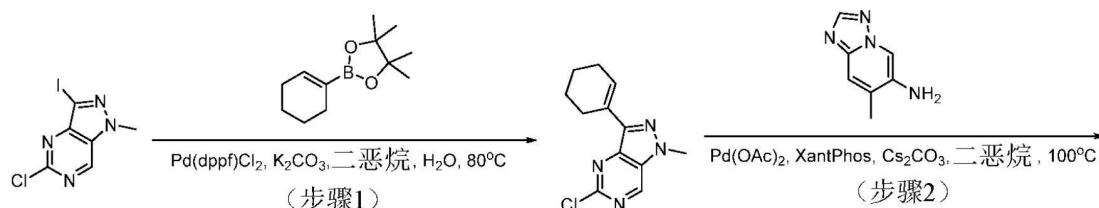
[0248] 步骤3. 3-异丙基-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.4)

[0249] 在氢气气氛下在室温下将Pd/C(89.69mg, 0.843mmol, 3当量)和1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-(丙-1-烯-2-基)吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(90.00mg, 0.281mmol, 1.00当量)于MeOH(10.00mL)中的混合物搅拌过夜。可通过LCMS来检

测所需产物。过滤所得混合物,用MeOH ($4 \times 50\text{mL}$)洗涤滤饼。在减压下浓缩滤液。通过制备型 TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH } 12:1$) 来纯化残余物,以获得粗产物。通过HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, $19 \times 250\text{mm}, 5\mu\text{m}$; 移动相A:水 ($0.05\% \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 移动相B:MeOH; 流动速率: 25mL/min ; 梯度:7min内,58B至70B; RT1 5.57)来纯化粗产物(80mg),以获得呈白色固体状的3-异丙基-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺($50\text{mg}, 54.66\%$)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 323.2$ 。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz , $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.39 (6H, d), 2.45 (3H, d), 3.18-3.34 (1H, m), 4.04 (3H, s), 7.69-7.75 (1H, m), 8.37 (1H, s), 8.79 (1H, s), 9.16 (1H, s), 9.44 (1H, s)

[0250] 实例5

[0251] 制备3-环己基-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.5)



[0252]



[0253] 流程5

[0254] 步骤1. 5-氯-3-(环己-1-烯-1-基)-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0255] 在氮气气氛下在 80°C 下将含 K_2CO_3 ($293.33\text{mg}, 2.122\text{mmol}, 2.50$ 当量)、2-(环己-1-烯-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊($265.01\text{mg}, 1.273\text{mmol}, 1.50$ 当量)和5-氯-3-碘-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶($250.00\text{mg}, 0.849\text{mmol}, 1.00$ 当量)的二恶烷(5.00mL)和 H_2O (1.00mL)搅拌2小时。可通过LCMS来检测所需产物。减压浓缩所得混合物。通过制备型 TLC (PE/EtOAc 1:2) 来纯化残余物,以获得呈粉色固体状的5-氯-3-(环己-1-烯-1-基)-1-吡唑并[4,3-d]嘧啶($150\text{mg}, 71.04\%$)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 249.3$ 。 $^1\text{H NMR}$ (300MHz , $\text{DMSO}-d_6$) δ 1.61-1.80 (4H, m), 2.29 (2H, s), 2.54 (2H, s), 4.14 (3H, s), 7.17-7.27 (1H, m), 9.40 (1H, s)

[0256] 步骤2. 3-(环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

[0257] 在氮气气氛下在 100°C 下将 Cs_2CO_3 ($458.51\text{mg}, 1.407\text{mmol}, 2.5$ 当量)、XantPhos ($65.14\text{mg}, 0.113\text{mmol}, 0.2$ 当量)、 $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ ($25.28\text{mg}, 0.113\text{mmol}, 0.2$ 当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺($125.11\text{mg}, 0.844\text{mmol}, 1.5$ 当量)和5-氯-3-(环己-1-烯-1-基)-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶($140.00\text{mg}, 0.563\text{mmol}, 1.00$ 当量)于二恶烷(4.00mL)中的混合物搅拌3小时。可通过LCMS来检测所需产物。减压浓缩所得混合物。通过制备型 TLC

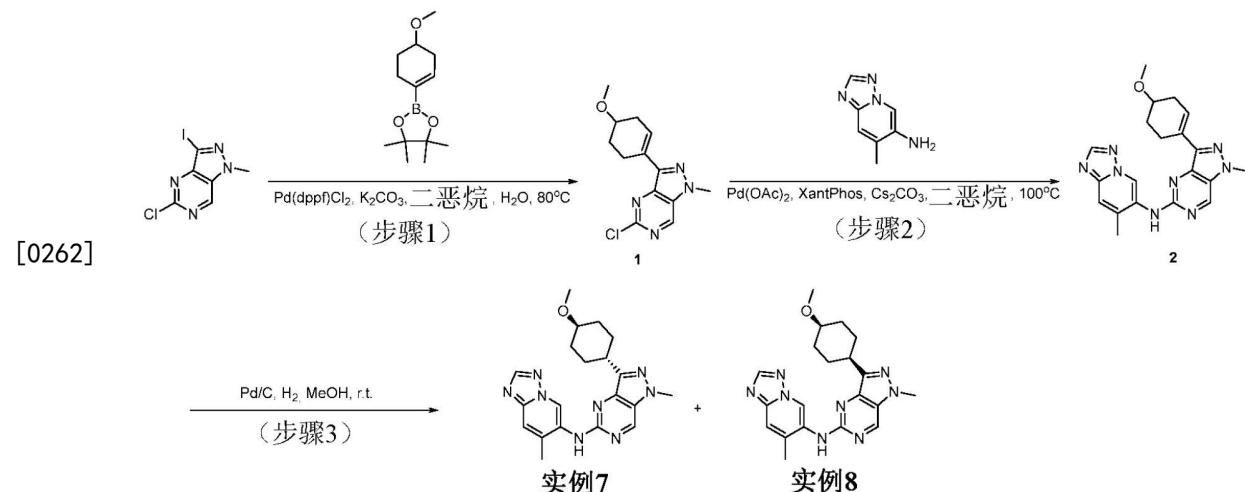
(CH₂Cl₂/MeOH=15:1) 来纯化残余物, 以获得呈黄色固体状的3- (环己-1-烯-1-基) -1-甲基-N- [7-甲基- [1, 2, 4] 三唑并 [1, 5-a] 吡啶-6-基] 吡唑并 [4, 3-d] 噻啶-5-胺 (140mg, 69.00%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=361.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.61-1.83 (4H, m), 2.17-2.33 (4H, m), 2.46 (3H, d), 4.06 (3H, s), 7.21 (1H, s), 7.73 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.88 (1H, s), 9.19 (1H, s), 9.46 (1H, s)

[0258] 步骤3. 3-环己基-1-甲基-N- (7-甲基- [1, 2, 4] 三唑并 [1, 5-a] 吡啶-6-基) -1H-吡唑并 [4, 3-d] 噻啶-5-胺 (Ex.5)

[0259] 在氢气气氛下在室温下将3- (环己-1-烯-1-基) -1-甲基-N- [7-甲基- [1, 2, 4] 三唑并 [1, 5-a] 吡啶-6-基] 吡唑并 [4, 3-d] 噻啶-5-胺 (160.00mg, 0.444mmol, 1.00当量) 和Pd/C (236.21mg, 2.220mmol, 5.00当量) 于THF (40.00mL) 和MeOH (80.00mL) 中的溶液搅拌3天。通过过滤收集沉淀的固体并用MeOH (5×30mL) 洗涤。减压浓缩所得混合物。通过制备型HPLC利用以下条件 (柱: XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A: 水 (0.05% NH₃ • H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 40B至50B; RT1: 6.55) 来纯化粗产物 (150mg), 以获得呈白色固体状的3-环己基-1-甲基-N- [7-甲基- [1, 2, 4] 三唑并 [1, 5-a] 吡啶-6-基] 吡唑并 [4, 3-d] 噻啶-5-胺 (17.41mg, 10.82%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=363.2。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.33 (3H, d), 1.76 (5H, d), 2.00 (2H, d), 2.46 (3H, d), 2.88-3.05 (1H, m), 4.04 (3H, s), 7.72 (1H, t), 8.38 (1H, s), 8.78 (1H, s), 9.15 (1H, s), 9.51 (1H, s)

[0260] 实例8

[0261] 制备3- ((1r, 4r)-4-甲氧基环己基) -1-甲基-N- (7-甲基- [1, 2, 4] 三唑并 [1, 5-a] 吡啶-6-基) -1H-吡唑并 [4, 3-d] 噻啶-5-胺 (Ex.7) 和3- ((1s, 4s)-4-甲氧基环己基) -1-甲基-N- (7-甲基- [1, 2, 4] 三唑并 [1, 5-a] 吡啶-6-基) -1H-吡唑并 [4, 3-d] 噻啶-5-胺 (Ex.8)



[0263] 流程8

[0264] 步骤1. 5-氯-3- (4-甲氧基环己-1-烯-1-基) -1-甲基-1H-吡唑并 [4, 3-d] 噻啶

[0265] 在氮气气氛下在80 °C下将K₂CO₃ (234.66mg, 1.698mmol, 2.5当量)、Pd (dppf) Cl₂CH₂Cl₂ (110.93mg, 0.136mmol, 0.2当量)、2- (4-甲氧基环己-1-烯-1-基) -4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊 (194.07mg, 0.815mmol, 1.2当量) 和5-氯-3-碘-1-甲基吡唑并 [4, 3-d] 噻啶 (200.00mg, 0.679mmol, 1.00当量) 于二恶烷 (5.00mL) 和H₂O (1.00mL) 中的混合物搅拌2小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (PE/EtOAc 1:2) 来纯化残余物, 以获得呈白

色固体状的5-氯-3-(4-甲氧基环己-1-烯-1-基)-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(175mg, 92.44%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=279.3。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ1.89 (2H, d) , 2.11 (1H, m) , 2.33 (1H, t) , 2.66 (1H, m) , 2.88 (1H, d) , 3.43 (3H, s) , 3.60 (1H, d) , 4.12 (3H, s) , 7.27 (1H, d) , 8.89 (1H, s)

[0266] 步骤2. 3-(4-甲氧基环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

[0267] 在氮气气氛下在100℃下将Cs₂CO₃(496.78mg, 1.525mmol, 2.5当量)、XantPhos (70.58mg, 0.122mmol, 0.2当量)、Pd (AcO)₂ (27.39mg, 0.122mmol, 0.2当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(99.40mg, 0.671mmol, 1.1当量)和5-氯-3-(4-甲氧基环己-1-烯-1-基)-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(170.00mg, 0.610mmol, 1.00当量)于二恶烷(5.00mL)中的混合物搅拌3小时。在减压下浓缩所得混合物。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=12:1) 来纯化残余物, 以获得呈黄色固体状的3-(4-甲氧基环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(100mg, 41.99%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=392.4。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ1.67 (1H, d) , 2.00 (1H, s) , 2.27 (1H, m) , 2.46 (3H, d) , 2.72 (1H, d) , 3.17 (2H, d) , 3.33 (3H, s) , 3.53 (1H, s) , 4.07 (3H, s) , 7.08 (1H, s) , 7.73 (1H, s) , 8.39 (1H, s) , 8.91 (1H, s) , 9.19 (1H, s) , 9.43 (1H, s)

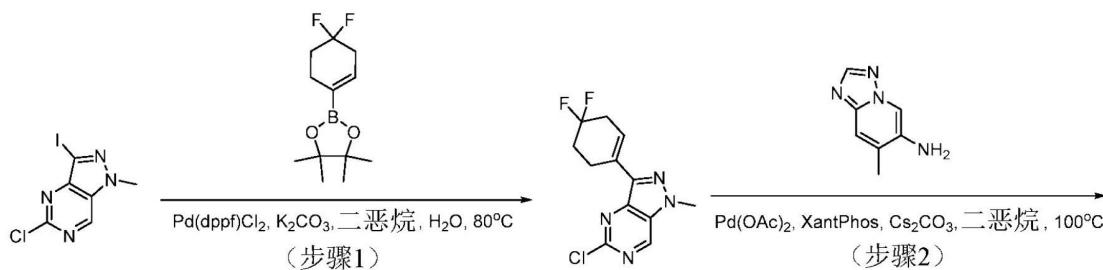
[0268] 步骤3. 3-((1r,4r)-4-甲氧基环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.7) 和3-((1s,4s)-4-甲氧基环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.8)

[0269] 在氢气气氛下在室温下将Pd/C (65.41mg, 0.615mmol, 3当量) 和3-(4-甲氧基环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(80.00mg, 0.205mmol, 1.00当量) 于MeOH (150.00mL) 和THF (80.00mL) 中的混合物搅拌过夜。过滤所得混合物, 用MeOH (3×50mL) 洗涤滤饼。在减压下浓缩滤液。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=12:1) 来纯化残余物, 以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A: 水 (0.05% NH₃ • H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 25mL/min; 梯度: 7min内, 37B至41B; RT1: 5.30/5.92) 来纯化粗产物(80mg), 以获得呈白色固体状的3-((1r,4r)-4-甲氧基环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.7, 60mg, 22.73%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=393.3。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ1.28 (2H, q) , 1.83 (2H, q) , 2.09 (4H, t) , 2.43 (3H, d) , 2.95 (1H, t) , 3.30 (4H, m) , 4.04 (3H, s) , 7.73 (1H, s) , 8.38 (1H, s) , 8.81 (1H, s) , 9.16 (1H, s) , 9.51 (1H, s);

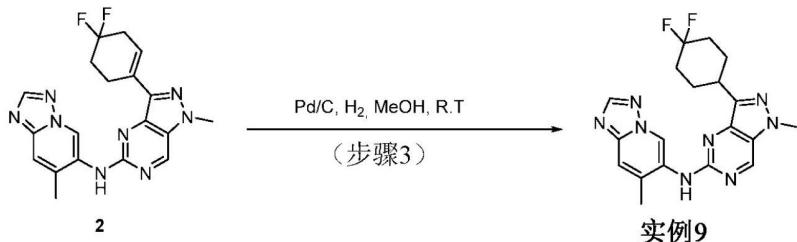
[0270] 呈白色固体状的3-((1s,4s)-4-甲氧基环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.8, 10mg, 12.19%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=393.2。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ1.57 (2H, t) , 1.76 (2H, m) , 1.86 (2H, m) , 2.04 (2H, q) , 2.43 (3H, d) , 3.05 (1H, m) , 3.20 (3H, s) , 3.42 (1H, s) , 4.04 (3H, s) , 7.72 (1H, s) , 8.37 (1H, s) , 8.80 (1H, s) , 9.14 (1H, s) , 9.34 (1H, s)。

[0271] 实例9

[0272] 制备3-(4,4-二氟环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.9)



[0273]



[0274] 流程9

[0275] 步骤1. 5-氯-3-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-1-甲基-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0276] 在氮气气氛下在80℃下将5-氯-3-碘-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(200.00mg, 0.679mmol, 1.00当量)、2-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊(198.93mg, 0.815mmol, 1.20当量)、Pd(dppf) Cl₂(99.39mg, 0.136mmol, 0.2当量)和K₂CO₃(234.66mg, 1.698mmol, 2.5当量)于二恶烷(3.00mL)和H₂O(0.60mL)中的混合物搅拌2小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(PE/EtOAc 2:3)来纯化残余物,以获得呈黄色固体状的5-氯-3-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(100mg, 51.72%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=285.3。

[0277] 步骤2. 3-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

[0278] 在氮气气氛下在100℃下将5-氯-3-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-1-甲基吡唑并[4,3-d]嘧啶(100.00mg, 0.351mmol, 1.00当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(62.45mg, 0.421mmol, 1.20当量)、Pd(OAc)₂(15.77mg, 0.070mmol, 0.20当量)、XantPhos(60.97mg, 0.105mmol, 0.30当量)和Cs₂CO₃(286.12mg, 0.878mmol, 2.50当量)于二恶烷(2.50mL)中的混合物搅拌2小时。在减压下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=12:1)来纯化残余物,以获得呈白色固体状的3-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(110mg, 79.00%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=397.3。

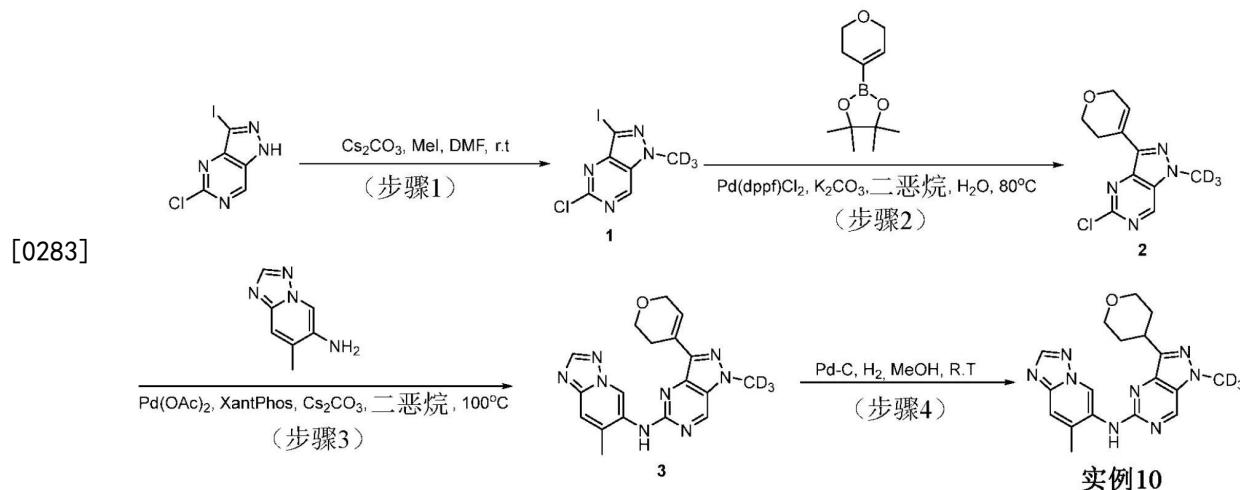
[0279] 步骤3. 3-(4,4-二氟环己基)-1-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.9)

[0280] 在氢气气氛下在30℃下将3-(4,4-二氟环己-1-烯-1-基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(130.00mg, 0.328mmol, 1.00当量)和Pd/C(174.50mg, 1.640mmol, 5.00当量)于MeOH(60.00mL)和THF(30.00mL)中的混合物搅拌5小时。过滤所得混合物,用CH₂Cl₂(3×40mL)洗涤滤饼。在减压下浓缩滤液。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=12:1)来纯化残余物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水(0.05%NH₃·H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:60mL/

min; 梯度: 7min内, 34B至48B; RT1: 5.97) 来纯化粗产物(70mg), 以获得呈粉色固体状的3-(4,4-二氟环己基)-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(17mg, 13.01%)。LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 399.3。¹H NMR (300MHz, MeOD-d₄) δ 1.80-2.22 (8H, m), 2.49 (3H, d), 3.22 (1H, s), 4.03 (3H, s), 7.58 (1H, t), 8.27 (1H, s), 8.98 (1H, s), 9.62 (1H, s)

[0281] 实例10

[0282] 1-(甲基-d₃)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.10)



[0284] 流程10

[0285] 步骤1. 5-氯-3-碘-1-(甲基-d₃)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0286] 在氮气气氛下在0℃下将Cs₂CO₃(1045.60mg, 3.209mmol, 3当量)、CD₃I(775.31mg, 5.349mmol, 5当量)和5-氯-3-碘-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(300.00mg, 1.070mmol, 1.00当量)于DMF(6.00mL)中的混合物搅拌1h。可通过LCMS来检测所需产物。用水(50mL)稀释所得混合物。用EtOAc(3×50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用饱和盐水(3×50mL)和Na₂S₂O₃(3×50mL)洗涤且经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液, 以获得呈粉色固体状的5-氯-3-碘-1-(甲基-d₃)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(260mg, 81.70%)。LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 298.0。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.45 (1H, s)。

[0287] 步骤2. 5-氯-3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-(甲基-d₃)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶

[0288] 在氮气气氛下在80℃下将K₂CO₃(313.58mg, 2.269mmol, 2.5当量)、Pd(dppf)Cl₂CH₂Cl₂(148.23mg, 0.182mmol, 0.2当量)、2-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼戊(228.79mg, 1.089mmol, 1.2当量)和5-氯-3-碘-1-(甲基-d₃)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(270.00mg, 0.908mmol, 1.00当量)于二恶烷(5.00mL)和水(1.00mL)中的混合物搅拌2小时。可通过LCMS来检测所需产物。在减压下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(己烷/EtOAc 1:2)来纯化残余物, 以获得呈粉色固体状的5-氯-3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-(甲基-d₃)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶(100mg, 43.43%)。LCMS: m/z (ESI), [M+H]⁺ = 254.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 2.62 (2H, m), 3.86 (2H, t), 4.33 (2H, q), 7.18 (1H, t), 9.43 (1H, s)

[0289] 步骤3. 3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-(甲基-d₃)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺

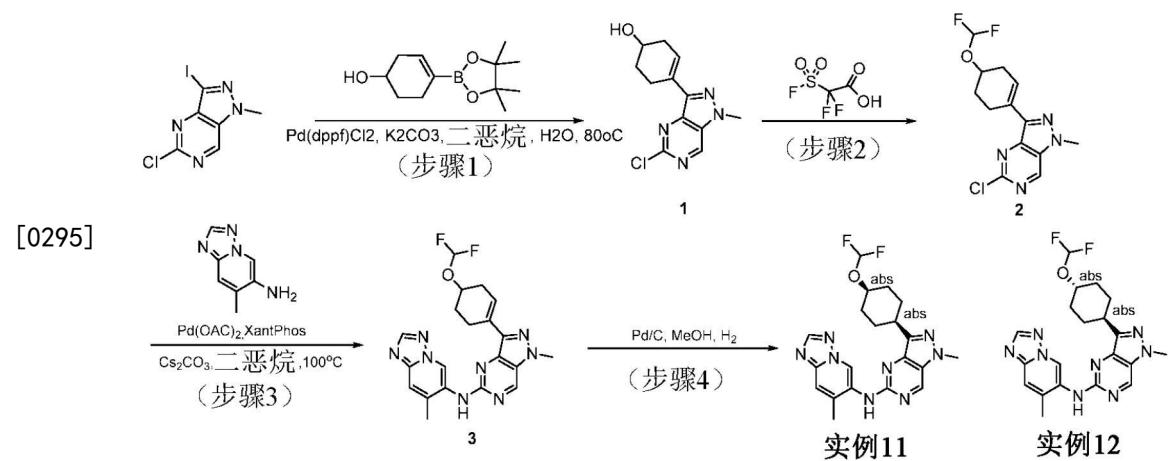
[0290] 在氮气气氛下在100℃下将Cs₂CO₃ (385.28mg, 1.182mmol, 3当量)、XantPhos (45.61mg, 0.079mmol, 0.2当量)、Pd(OAc)₂ (17.70mg, 0.079mmol, 0.2当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺 (70.08mg, 0.473mmol, 1.20当量) 和5-氯-3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-(甲基-d₃)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶 (100.00mg, 0.394mmol, 1.00当量) 于二恶烷 (3.00mL) 中的混合物搅拌2h。可通过LCMS来检测所需产物。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=12:1) 来纯化残余物, 以获得呈黄色固体状的3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-(甲基-d₃)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (100mg, 69.43%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=366.3。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 2.44 (2H, d), 2.61 (3H, s), 3.17 (1H, d), 3.85 (2H, t), 4.26 (2H, q), 7.72 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.94 (1H, s), 9.20 (1H, s), 9.37 (1H, s)。

[0291] 步骤4. 1-(甲基-d₃)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺。(Ex.10)

[0292] 在氢气气氛下在35℃下将Pd/C (87.37mg, 0.821mmol, 3当量) 和3-(3,6-二氢-2H-吡喃-4-基)-1-(甲基-d₃)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (100.00mg, 0.274mmol, 1.00当量) 于MeOH (10.00mL) 和THF (10.00mL) 中的混合物搅拌2h。可通过LCMS来检测所需产物。过滤所得混合物, 用MeOH (3×30mL) 和DCM (3×30mL) 洗涤滤饼。减压浓缩滤液。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=12:1) 来纯化残余物, 以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A: 水 (0.05%NH₃•H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 15B至35B; RT1: 6.4) 来纯化粗产物 (40mg), 以获得呈白色固体状的1-(甲基-d₃)-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-3-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺 (10mg, 9.85%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=368.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 1.94 (4H, d), 2.43 (3H, d), 3.24 (1H, d), 3.48 (2H, m), 3.93 (2H, m), 7.71 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.81 (1H, s), 9.15 (1H, s), 9.33 (1H, s)。

[0293] 实例11/12

[0294] 制备1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-[(1s,4s)-4-(二氟甲氧基)环己基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.11)和1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-[(1r,4r)-4-(二氟甲氧基)环己基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.12)



(1H, m), 6.35 (1H, t), 7.00 (1H, s), 7.61 (1H, s), 8.29 (1H, s), 8.82 (1H, s), 9.90 (1H, s)

[0303] 步骤4. 制备1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-[(1s,4s)-4-(二氟甲氧基)环己基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.11)和1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-[(1r,4r)-4-(二氟甲氧基)环己基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.12)

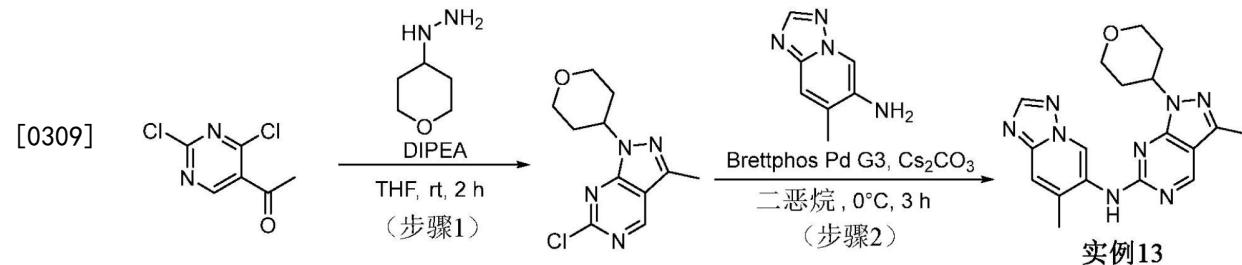
[0304] 在空气气氛下向3-[4-(二氟甲氧基)环己-1-烯-1-基]-1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(135.00mg, 0.317mmol, 1.00当量)于MeOH (20mL) 中的搅拌混合物中添加Pd/C (168.45mg, 1.583mmol, 5.00当量)。在氢气气氛下在40℃下将所得混合物搅拌4h。过滤所得混合物，且用DCM (8×100mL) 洗涤滤饼。减压浓缩滤液，以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水 (0.05% NH₃ • H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:60mL/min; 梯度:7min内, 34B至54B; RT1:5.93)来纯化粗产物，以获得固体。接着通过制备型HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK IG, 2*25cm, 5μm; 移动相A:Hex:DCM=3:1, 移动相B:EtOH; 流动速率:20mL/min; 梯度:15min内, 10B至10B; RT1:10; RT2:11;)来纯化产物，以获得呈白色固体状的1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-[(1s,4s)-4-(二氟甲氧基)环己基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.11, 15mg, 50.00%)和呈白色固体状的1-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-[(1r,4r)-4-(二氟甲氧基)环己基]吡唑并[4,3-d]嘧啶-5-胺(Ex.12, 5mg, 16.67%)。

[0305] (Ex.11) LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=429.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ1.87 (2H, d), 1.97 (4H, d), 2.09 (2H, d), 2.43 (3H, s), 3.07 (1H, d), 4.04 (3H, s), 4.37 (1H, s), 6.69 (1H, t), 7.70 (1H, s), 8.36 (1H, s), 8.79 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.33 (1H, s);

[0306] (Ex.12) LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=429.3。¹H NMR (300MHz, MeOD-d₄) δ1.59-1.71 (2H, m), 1.95-2.09 (2H, m), 2.15-2.20 (4H, m), 2.55 (3H, s), 3.05-3.14 (1H, m), 4.09 (3H, s), 4.20-4.27 (1H, m), 6.71 (1H, t), 7.64 (1H, s), 8.31 (1H, s), 9.03 (1H, s), 9.85 (1H, s)。

[0307] 实例13

[0308] 制备3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.13)



[0310] 流程13

[0311] 步骤1. 6-氯-3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0312] 在氮气气氛下在室温下向1-(2,4-二氯嘧啶-5-基)乙酮(500.00mg, 2.618mmol, 1.00当量)和DIPEA (1353.26mg, 10.471mmol, 4.00当量)于THF (5.00mL) 中的搅拌混合物中逐份添加氧杂环己-4-基肼(364.89mg, 3.141mmol, 1.20当量)。并且在氮气气氛下在室温下将混合物搅拌2h。用EtOAc (3×50mL) 萃取所得混合物。将合并的有机层用水 (3×10mL) 洗

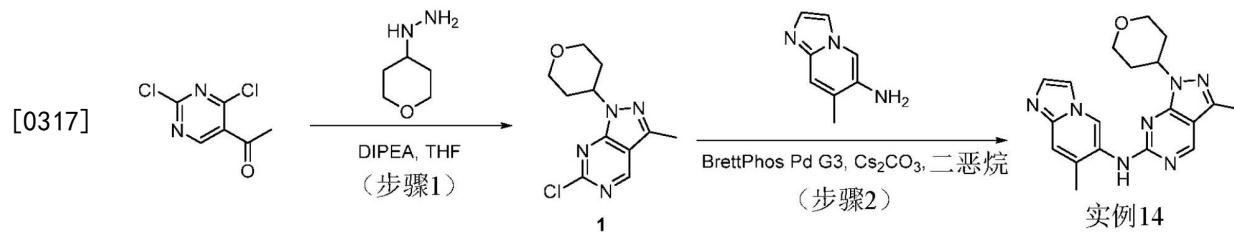
涤,经无水 Na_2SO_4 干燥。在过滤后,在减压下浓缩滤液。通过制备型TLC(PE/EtOAc 2:1)来纯化残余物,以获得呈黄色固体状的6-氯-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶(350mg,52.91%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=253.2$

[0313] 步骤2. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.13)

[0314] 在氮气气氛下在室温下向6-氯-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶(200mg,0.791mmol,1当量)、 Cs_2CO_3 (644.68mg,1.979mmol,2.5当量)和7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(140.72mg,0.950mmol,1.2当量)于二恶烷(20mL)中的搅拌混合物中逐份添加BrettPhos Pd G₃(143.49mg,0.158mmol,0.2当量)。并且在氮气气氛下在100℃下将混合物搅拌3h。用EtOAc(3×50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用水(3×50mL)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥。在过滤后,在减压下浓缩滤液。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:X select CSH OBD柱30×150mm,5μm;移动相A:水(0.05%TFA),移动相B:ACN;移动速率:60mL/min;梯度:7min内,18%B至29%; t_R :6.30min)来纯化粗产物,以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-(氧杂环己-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(74mg,25.66%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=365.3$ ¹H NMR(DMSO-d₆,300MHz) δ 1.7-1.9(2H,m),2.0-2.2(2H,m),2.4-2.5(6H,m),3.4(2H,td),3.9-4.1(2H,m),4.5-4.7(1H,m),7.8(1H,s),8.6(1H,s),8.9(1H,s),9.3(1H,s),9.3(1H,s)

[0315] 实例14

[0316] 制备3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.14)



[0318] 流程14

[0319] 步骤1. 6-氯-3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0320] 在氮气气氛下在0℃下将1-(2,4-二氯嘧啶-5-基)乙酮(250.00mg,1.309mmol,1.00当量)和氧杂环己-4-基肼(182.45mg,1.571mmol,1.20当量)、DIPEA(338.32mg,2.618mmol,2.00当量)于THF(10.00mL)中的溶液搅拌2h。用EtOAc(20mL×3)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(10mL×3)洗涤,经无水 Na_2SO_4 干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。通过制备型TLC(PE/EtOAc 5:1)来纯化残余物,以获得呈白色固体状的6-氯-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶(230mg,69.54%)。LCMS: m/z (ESI), $[\text{M}+\text{H}]^+=253.2$ 。

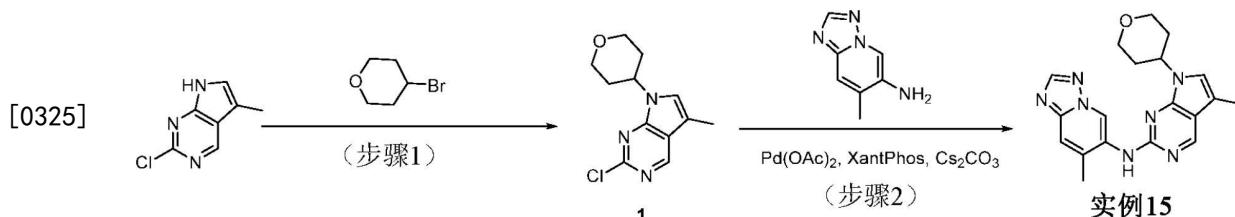
[0321] 步骤2. 3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.14)

[0322] 在氮气气氛下在100℃下将7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-胺(139.78mg,0.950mmol,1.50当量)和6-氯-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶(160mg,0.633mmol,1.00当量)、BrettPhos Pd G₃(57.40mg,0.063mmol,0.10当量)、 Cs_2CO_3 (412.59mg,1.266mmol,2.00当量)于二恶烷(5.00mL)中的混合物搅拌3h。通过硅胶柱色谱纯化残余物,

用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = (10:1)$ 洗脱,以获得粗产物。通过制备型HPLC来纯化粗产物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,17B至37B;RT1:6.75)来纯化粗产物,以获得呈灰白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基]-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(140mg,60.84%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=364.1,¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz) δ 1.79 (2H, d), 2.02-2.18 (2H, m), 2.23 (3H, d), 2.42 (3H, s), 3.44 (2H, dd), 3.94 (2H, dd), 4.62 (1H, dd), 7.42 (1H, s), 7.48 (1H, d), 7.84 (1H, s), 8.69 (1H, s), 8.85 (1H, s), 9.04 (1H, s)

[0323] 实例15

[0324] 制备7-甲基-N-(5-甲基-7-(四氢-2H-吡喃-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(Ex.15)



[0326] 流程15

[0327] 步骤1. 2-氯-5-甲基-7-(四氢-2H-吡喃-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶

[0328] 在氮气气氛下在120℃下将2-氯-5-甲基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(400.00mg, 2.387mmol, 1.00当量)、4-溴恶烷(3.94g, 23.874mmol, 10.00当量)和K₂CO₃(824.62mg, 5.967mmol, 2.50当量)于DMSO(50.00mL, 12.922mmol)中的混合物搅拌过夜。用水(150mL)稀释所得混合物。用EtOAc(3×50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水(3×30mL)洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后,减压浓缩滤液。通过制备型TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=10:1$)来纯化残余物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,28B至48B;RT1:5.80)来纯化粗产物(70mg),以获得呈黄色固体状的2-氯-5-甲基-7-(氧杂环己-4-基)吡咯并[2,3-d]嘧啶(40mg,6.66%)。

[0329] 步骤2. 7-甲基-N-(5-甲基-7-(四氢-2H-吡喃-4-基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(Ex.15)

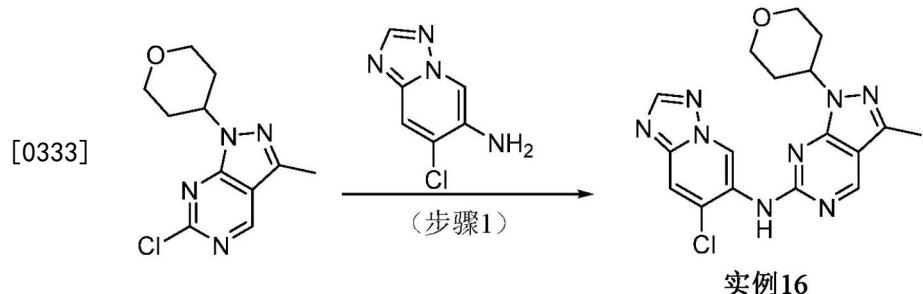
[0330] 在氮气气氛下在100℃下将2-氯-5-甲基-7-(氧杂环己-4-基)吡咯并[2,3-d]嘧啶(30.00mg, 0.119mmol, 1.00当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(21.19mg, 0.143mmol, 1.20当量)、Pd(AcO)₂(5.35mg, 0.024mmol, 0.20当量)、XantPhos(20.69mg, 0.036mmol, 0.30当量)和Cs₂CO₃(97.08mg, 0.298mmol, 2.50当量)于二恶烷(1.50mL)中的混合物搅拌2小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=12:1$)来纯化残余物,以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,26B至46B;RT1:6.37)来纯化粗产物(40mg),以获得呈白色固体状的5-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-7-(氧杂环己-4-基)吡咯并[2,3-d]嘧啶-2-胺(6mg, 13.85%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=364.3。¹H NMR (300MHz, MeOD-d₄) δ 1.79-1.91 (2H, m),

1-05-2-14 (2U)

1.95-2.14 (2H, m), 2.24 (3H, d), 2.43 (3H, d), 3.47 (2H, td), 3.93-4.05 (2H, m), 4.55-4.72 (1H, m), 7.18 (1H, d), 7.58-7.74 (1H, m), 8.37 (1H, s), 8.62 (2H, d), 9.32 (1H, s)

[0331] 实例16

[0332] 制备N- (7-氯- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基) -3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 16)



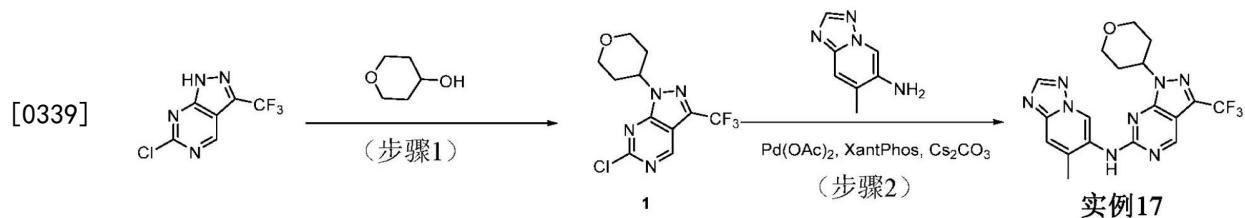
[0334] 流程16

[0335] 步骤1.N- (7-氯- [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基) -3-甲基-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 16)

[0336] 在氮气气氛下在100℃下将7-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(50.00mg, 0.297mmol, 1.00当量)、6-氯-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶(74.95mg, 0.297mmol, 1.00当量)、Pd(AcO)₂(13.32mg, 0.059mmol, 0.2当量)、XantPhos(51.48mg, 0.089mmol, 0.3当量)和Cs₂CO₃(241.59mg, 0.741mmol, 2.5当量)于二恶烷(4.00mL)中的混合物搅拌2小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=12:1)来纯化残余物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A:水(0.05% NH₃ • H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:25mL/min; 梯度:7min内, 30B至40B; RT1:6.62)来纯化粗产物(90mg), 以获得呈白色固体状的N-[7-氯-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(32.77mg, 28.71%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=385.2。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 1.84(2H, d), 2.13(2H, dd), 2.46(3H, s), 3.39-3.57(2H, m), 3.97(2H, dd), 4.54-4.77(1H, m), 8.23(1H, s), 8.57(1H, s), 8.93(1H, s), 9.36(2H, d)。

[0337] 实例17

[0338] 制备N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.17)



[0340] 流程17

[0341] 步骤1. 6-氯-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0342] 在氮气气氛下在0℃下向6-氯-3-(三氟甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶(340.00mg, 1.528mmol, 1.00当量)、氧杂环己-4-醇(624.11mg, 6.111mmol, 4.00当量)和PPh₃

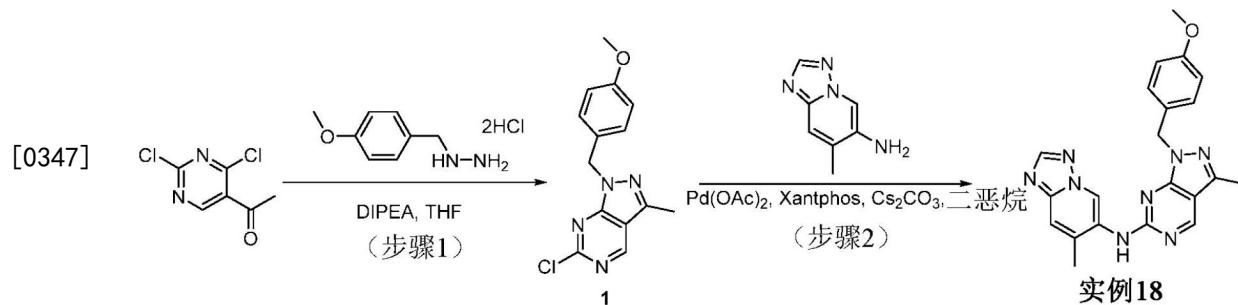
(1442.48mg, 5.500mmol, 3.60当量)于THF (2.50mL) 中的搅拌混合物中逐滴添加DIAD (1112.07mg, 5.500mmol, 3.60当量)。用EtOAc ($3 \times 20\text{mL}$) 萃取所得混合物, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=10:1) 来纯化残余物, 以获得呈白色固体状的6-氯-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶 (370mg, 78.98%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=307.3。

[0343] 步骤2.N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(四氢-2H-吡喃-4-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.17)

[0344] 在氮气气氛下在70℃下将6-氯-1-(氧杂环己-4-基)-3-(三氟甲基)吡唑并[3,4-d]嘧啶 (70.00mg, 0.228mmol, 1.00当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺 (33.82mg, 0.228mmol, 1.00当量)、Pd(AcO)₂ (10.25mg, 0.046mmol, 0.20当量)、XantPhos (39.62mg, 0.068mmol, 0.30当量) 和Cs₂CO₃ (185.93mg, 0.571mmol, 2.50当量) 于二恶烷 (3.00mL) 中的混合物搅拌3小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=12:1) 来纯化残余物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水 (0.05% NH₃ • H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:60mL/min; 梯度:7min内, 30B至50B; RT1:6.67) 来纯化粗产物 (90mg), 以获得呈白色固体状的N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-(氧杂环己-4-基)-3-(三氟甲基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (54.44mg, 53.86%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=419.2。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.77-2.01 (2H, m), 2.01-2.24 (2H, m), 2.39 (3H, d), 3.40-3.59 (2H, m), 3.98 (2H, d), 4.82 (1H, t), 7.78 (1H, d), 8.44 (1H, s), 9.13 (2H, d), 9.69 (1H, s)

[0345] 实例18

[0346] 制备1-(4-甲氧基苯甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.18)



[0348] 流程18

[0349] 步骤1. 6-氯-1-(4-甲氧基苯甲基)-3-甲基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0350] 在空气气氛下在0℃下向1-(2,4-二氯嘧啶-5-基)乙酮 (640.00mg, 3.351mmol, 1.00当量) 和DIPEA (433.04mg, 3.351mmol, 1.00当量) 于THF中的搅拌混合物中逐滴添加[(4-甲氧基苯基)甲基]肼 (764.93mg, 5.026mmol, 1.50当量)。在空气气氛下在室温下将所得混合物搅拌2h。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (PE:EA 1:1) 来纯化残余物, 以获得呈黄色固体状的6-氯-1-[(4-甲氧基苯基)甲基]-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶 (623mg, 64.40%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=289.2。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 2.58 (3H, s), 3.77 (3H, s), 5.47 (2H, s), 6.82-6.87 (2H, m), 7.30-7.35 (2H, m), 8.90 (1H, s)

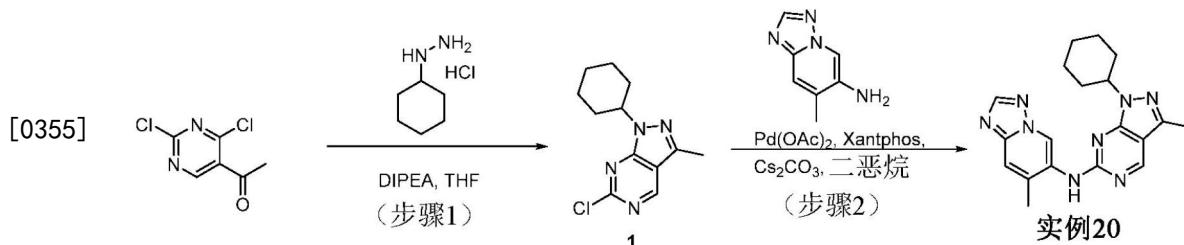
[0351] 步骤2. 1-(4-甲氧基苯甲基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-

6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.18)

[0352] 在空气气氛下在室温下向6-氯-1-[(4-甲氧基苯基) 甲基]-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶 (100.00mg, 0.346mmol, 1.00当量) 和7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺 (76.97mg, 0.519mmol, 1.50当量) 于二恶烷 (5mL) 中的搅拌混合物中逐滴添加Cs₂CO₃ (338.53mg, 1.039mmol, 3.00当量) 和XantPhos (40.08mg, 0.069mmol, 0.20当量) 、Pd (AcO)₂ (15.55mg, 0.069mmol, 0.20当量) 。在氮气气氛下在80℃下将所得混合物搅拌2h。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (CH₂Cl₂/MeOH=10:1) 来纯化残余物, 以获得黄色固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A: 水 (0.05% NH₃ • H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 26B至46B; RT1: 7.07) 来纯化粗产物 (70mg), 以获得呈白色固体状的1-[(4-甲氧基苯基) 甲基]-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (20mg, 28.57%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=401.2。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ2.38 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.71 (3H, s), 5.24 (2H, s), 6.85-6.88 (2H, m), 7.18 (2H, t), 7.77 (1H, s), 8.43 (1H, s), 8.95 (1H, s), 9.22 (2H, d)

[0353] 实例20

[0354] 制备1-环己基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.20)



[0356] 流程20

步骤1. 6-氯-1-环己基-3-甲基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0358] 在空气气氛下在0℃下向1- (2,4-二氯嘧啶-5-基) 乙酮 (180.00mg, 0.942mmol, 1.00当量) 和DIPEA (487.17mg, 3.769mmol, 4.00当量) 于THF (10mL) 中的搅拌混合物中逐份添加环己基肼盐酸盐 (184.56mg, 1.225mmol, 1.30当量) 。在空气气氛下在25℃下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC (PE/EA 1:2) 来纯化残余物, 以获得呈黄色固体状的6-氯-1-环己基-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶 (145mg, 61.37%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=251.2。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ1.42-1.48 (2H, m), 1.51-1.55 (2H, m), 1.99-2.08 (6H, m), 2.60 (3H, s), 4.66-4.76 (1H, m), 8.90 (1H, s)

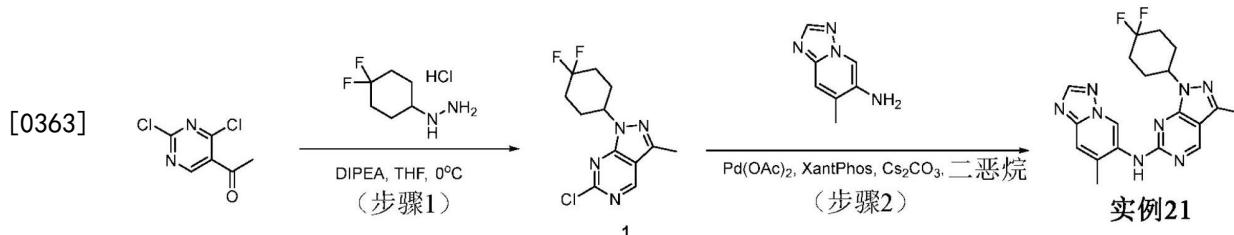
步骤2. 1-环己基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.20)

[0360] 在空气气氛下在室温下向6-氯-1-环己基-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶 (120.00mg, 0.479mmol, 1.00当量) 和7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺 (106.37mg, 0.718mmol, 1.5当量) 于二恶烷 (6mL) 中的搅拌混合物中逐份添加Cs₂CO₃ (467.81mg, 1.436mmol, 3当量) 和XantPhos (55.39mg, 0.096mmol, 0.2当量) 、Pd (AcO)₂ (21.49mg, 0.096mmol, 0.2当量) 。在氮气气氛下在80℃下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC

($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=10:1$) 来纯化残余物, 以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 30*150mm, 5 μm ; 相A: 水 (0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: %B: 254; 220nm; RT1: 6.50) 来纯化粗产物 (80mg), 以获得呈白色固体状的1-环己基-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (60mg, 34.59%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=363.2。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.23-1.38 (3H, m), 1.67 (1H, d), 1.81-1.97 (6H, m), 2.41-2.44 (6H, m), 4.36-4.43 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.15 (1H, s), 9.22 (1H, s)。

[0361] 实例21

[0362] 制备1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (Ex.21)



[0364] 流程21

[0365] 步骤1. 6-氯-1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0366] 在氮气气氛下在0°C下将DIPEA (338.32mg, 2.618mmol, 5当量)、(4,4-二氟环己基)肼 (86.48mg, 0.576mmol, 1.10当量) 和1-(2,4-二氯嘧啶-5-基)乙酮 (100.00mg, 0.524mmol, 1.00当量) 于THF (5.00mL) 中的混合物搅拌3小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC (己烷/EtOAc 1:1) 来纯化残余物, 以获得呈白色固体状的6-氯-1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶 (80mg, 53.30%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=287.3。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 82.03 (4H, d), 2.35 (4H, d), 2.60 (3H, s), 4.85 (1H, t), 8.92 (1H, s)。

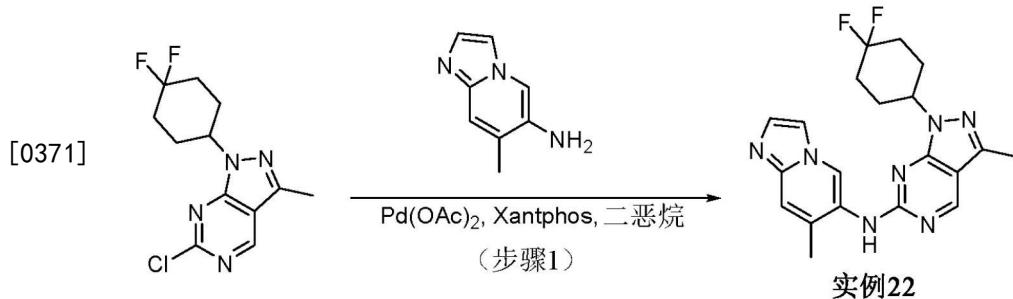
[0367] 步骤2. 1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (Ex.21)

[0368] 在氮气气氛下在100°C下将Cs₂CO₃ (227.28mg, 0.698mmol, 2.5当量)、XantPhos (32.29mg, 0.056mmol, 0.2当量)、Pd(AcO)₂ (12.53mg, 0.056mmol, 0.2当量)、7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺 (45.48mg, 0.307mmol, 1.1当量) 和6-氯-1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶 (80.00mg, 0.279mmol, 1.00当量) 于二恶烷 (3.00mL) 中的混合物搅拌2小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=12:1$) 来纯化残余物, 以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5 μm ; 移动相A: 水 (0.05% $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 31B至51B; RT1: 6.30) 来纯化粗产物 (100mg), 以获得呈白色固体状的1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (80mg, 71.96%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=399.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.99 (3H, s), 2.15 (5H, s), 2.38 (3H, d), 2.45 (3H, s), 4.62 (1H, s), 7.75 (1H, d), 8.42 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.13 (1H, s), 9.22 (1H, s)。

[0369] 实例22

[0370] 制备1-(4,4-二氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑

并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.22)



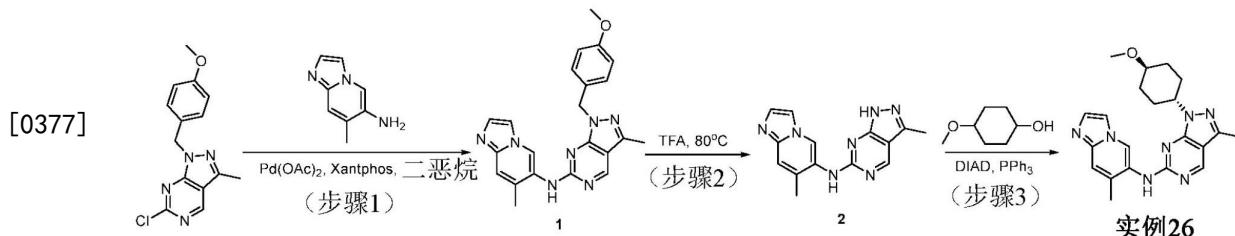
[0372] 流程22

[0373] 步骤1. 1- (4,4-二氟环己基) -3-甲基-N- (7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基) -1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.22)

[0374] 在氮气气氛下在80℃下将6-氯-1- (4,4-二氟环己基) -3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶(67.00mg, 0.234mmol, 1.00当量)、7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-胺(68.79mg, 0.467mmol, 2当量)、Pd(AcO)₂(10.49mg, 0.047mmol, 0.20当量)、XantPhos(40.56mg, 0.070mmol, 0.30当量)和Cs₂CO₃(190.35mg, 0.584mmol, 2.50当量)于二恶烷(5.00mL)中的混合物搅拌2小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=12:1)来纯化残余物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水(10MMOL/L NH₄HCO₃+0.1%NH₃·H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:60mL/min; 梯度:7min内, 38B至50B; RT1:5.63)来纯化粗产物(50mg), 以获得呈白色固体状的1- (4,4-二氟环己基) -3-甲基-N- [7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基] 吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(20mg)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=398.2。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 1.95 (3H, d), 2.15 (5H, d), 2.26 (3H, d), 2.44 (3H, s), 4.62 (1H, s), 7.44 (1H, s), 7.50 (1H, d), 7.86 (1H, t), 8.72 (1H, s), 8.88 (1H, s), 9.02 (1H, s)

[0375] 实例26

[0376] 制备1- ((1r,4r)-4-甲氧基环己基) -3-甲基-N- (7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基) -1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.26)



[0378] 流程26

[0379] 步骤1. 1- (4-甲氧基苯甲基) -3-甲基-N- (7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基) -1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

[0380] 在氮气气氛下在80℃下将6-氯-1- [(4-甲氧基苯基) 甲基]-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶(200.00mg, 0.693mmol, 1.00当量)、7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-胺(152.92mg, 1.039mmol, 1.50当量)、XantPhos(120.24mg, 0.208mmol, 0.30当量)、Pd(AcO)₂(31.10mg, 0.139mmol, 0.20当量)和Cs₂CO₃(564.21mg, 1.732mmol, 2.50当量)于二恶烷(3mL)中的混合物搅拌2小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=12:1)来纯化残余物, 以获得呈黄色固体状的1- [(4-甲氧基苯基) 甲基]-3-甲基-N- [7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-

基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(200mg,72.28%)。LCMS:m/z (ESI), $[M+H]^+$ =400.3。

[0381] 步骤2. 3-甲基-N-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

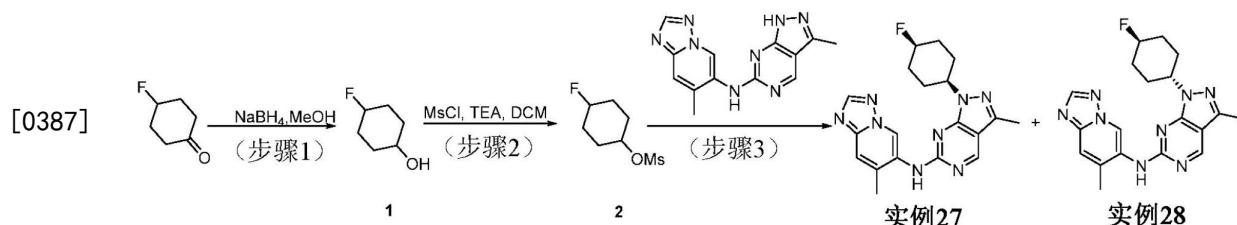
[0382] 在空气气氛下在80℃下将1-[(4-甲氧基苯基) 甲基]-3-甲基-N-[7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(190.00mg, 0.476mmol, 1.00当量) 和TFA (70.00mL, 613.910mmol, 1981.34当量) 的溶液搅拌2天。在真空中浓缩所得混合物。用DCM (10mL) 稀释所得混合物。通过过滤用饱和NaHCO₃ (水溶液) 将混合物调节至pH 8且用DCM (2 × 3mL) 洗涤。收集沉淀的固体, 以获得3-甲基-N-[7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(160mg, 80.00%), LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=280.2

[0383] 步骤3. 1-((1r,4r)-4-甲氧基环己基)-3-甲基-N-(7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 26)

[0384] 在氮气气氛下在0℃下将3-甲基-N-[7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(150.00mg,0.537mmol,1.00当量)、4-甲氧基环己-1-醇(174.79mg,1.343mmol,2.50当量)和PPh₃(422.58mg,1.611mmol,3.00当量)于THF(2.50mL)中的混合物搅拌20min,接着添加DIAD(325.78mg,1.611mmol,3.00当量),并且在70℃下将混合物搅拌2小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/EtOAc=12:1)来纯化残余物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(10MMOL/L NH₄HCO₃+0.1%NH₃·H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:9min内,29B至39B;RT1:6.22、7.43)来纯化粗产物(60.00mg),以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基]-1-[(1r,4r)-4-甲氧基环己基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(16mg,26.67%)。LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=392.2。¹H NMR(300MHz,MeOD-d₄)δ1.31-1.46(2H,m),2.00(2H,s),2.03-2.14(2H,m),2.21(2H,d),2.39(3H,d),2.50(3H,s),3.23(1H,d),3.38(3H,s),4.51(1H,t),7.46(1H,s),7.54(1H,d),7.80(1H,s),8.82(2H,s)。

[0385] 实例27

[0386] 制备1-((1s,4s)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.27)和1-((1r,4r)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.28)



[0388] 流程27

[0389] 步骤1. 4-氟环己-1-醇

[0390] 在0℃下向4-氟环己-1-酮(1.00g, 8.611mmol, 1.00当量)和MeOH(100.00mL)的搅拌混合物中逐份添加NaBH₄(0.98mg, 0.026mmol, 3.0当量)。在室温下将所得混合物搅拌16h。在0℃下用水淬灭反应物。减压浓缩所得混合物。用水(50mL)稀释所得混合物。用CH₂Cl₂(3×50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水洗涤,经无水Na₂SO₄干燥。过滤后,减压浓缩滤液,以获得呈淡黄色固体状的4-氟环己-1-醇(800mg, 78.63%)。¹HNMR(300MHz,

DMSO-d₆) δ 1.52-1.56 (5H, m), 1.88-1.90 (3H, m), 3.54-3.57 (1H, m), 4.55-4.58 (1H, m), 4.70-4.72 (1H, m)

[0391] 步骤2. 甲磺酸4-氟环己酯

[0392] 在0℃下向4-氟环己-1-醇(400.00mg, 3.385mmol, 1.00当量)和TEA(1027.74mg, 10.156mmol, 3.00当量)于DCM(10.00mL)中的搅拌混合物中逐滴添加甲磺酰氯(581.66mg, 5.078mmol, 1.5当量)。在室温下将所得混合物搅拌2小时。用水(50mL)稀释所得混合物。用CH₂Cl₂(3×50mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。减压浓缩所得混合物, 以获得呈淡黄色固体状的甲磺酸4-氟环己酯(650mg, 97.84%)。粗产物不经进一步纯化即直接用于下一步骤中。

[0393] ¹HNMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.52-1.90 (8H, m), 3.22 (3H, s), 4.60-4.78 (2H, m)

[0394] 步骤3. 1-((1s,4s)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.27)和1-((1r,4r)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.28)

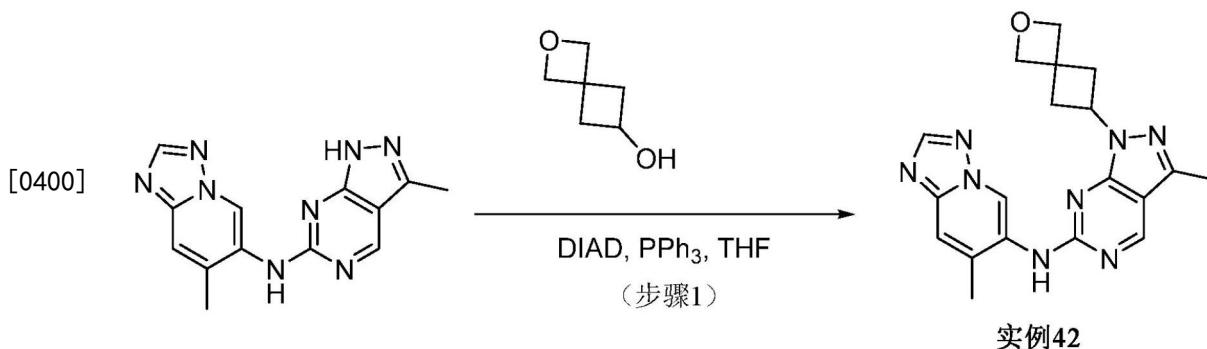
[0395] 在氮气气氛下在110℃下将3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(150.00mg, 0.535mmol, 1.00当量)、甲磺酸4-氟环己酯(1050.18mg, 5.352mmol, 10.00当量)和Cs₂CO₃(523.09mg, 1.605mmol, 3.00当量)于DMF(20.00mL)中的混合物搅拌16h。用水(20mL)稀释所得混合物。用EtOAc(3×20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率:60mL/min; 梯度:7min内, 39B至59B; RT1:6.4)来纯化粗产物(100mg), 以获得:

[0396] 呈白色固体状的1-((1s,4s)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.27, 6.8mg, 3.34%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=381.2。¹HNMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.66-1.68 (1H, m), 1.75 (3H, d), 2.04-2.06 (2H, m), 2.18-2.19 (2H, m), 2.38 (3H, d), 2.45 (3H, s), 4.50-4.53 (1H, m), 4.81-4.93 (1H, s), 7.73 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.15 (2H, d);

[0397] 呈白色固体状的1-((1r,4r)-4-氟环己基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.28, 18.8mg, 9.23%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=381.2。¹HNMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 1.63-1.65 (2H, m), 1.92-1.96 (4H, m), 2.00-2.04 (2H, m), 2.14 (3H, s), 2.41 (3H, s), 4.47-4.49 (1H, m), 4.61-4.65 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.19 (2H, d)。

[0398] 实例42

[0399] 制备3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-氧杂螺[3.3]庚-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.42)



[0401] 流程42

[0402] 步骤1. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(2-氧杂螺[3.3]庚-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.42)

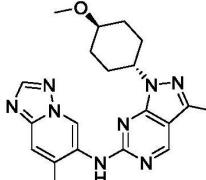
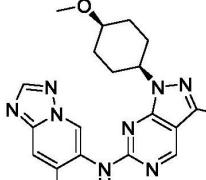
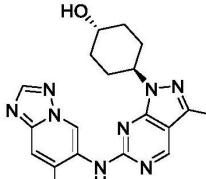
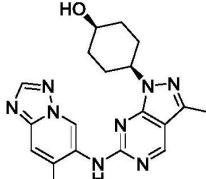
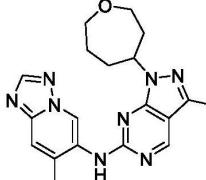
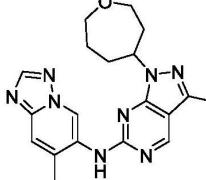
[0403] 在N₂气氛下在0℃下向3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(70.00mg, 0.250mmol, 1.00当量)和2-氧杂螺[3.3]庚-6-醇(57.01mg, 0.499mmol, 2.00当量)以及PPh₃(196.51mg, 0.749mmol, 3.00当量)于THF(10mL)中的搅拌混合物中逐份添加DIAD(151.50mg, 0.749mmol, 3.00当量)。在氮气气氛下在70℃下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(DCM/MeOH=15:1)来纯化残余物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(10MMOL/L NH₄HCO₃+0.1%NH₃·H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,26B至36B;RT1:5.88)来纯化粗产物(80mg),以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[2-氧杂螺[3.3]庚-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(40mg,50.00%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=337.3。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 2.37 (3H, s), 2.44 (3H, s), 2.65-2.80 (4H, m), 4.45 (2H, s), 4.64 (2H, s), 4.84-4.89 (1H, m), 7.76 (1H, s), 8.42 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.13 (1H, s), 9.18 (1H, s)。

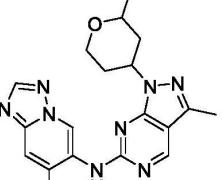
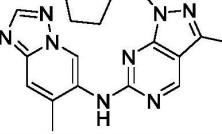
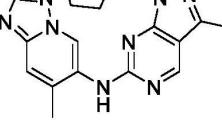
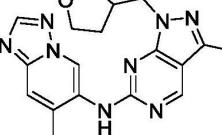
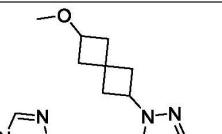
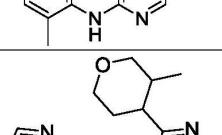
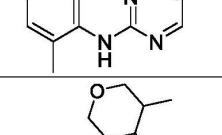
[0404] 通过实例42中所描述的类似方法合成下表2中的以下化合物。

[0405] 表2.

实例编号	结构	LCMS	NMR
[0406]	19	378.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.70-1.75 (2H, m), 1.95-2.15 (4H, m), 2.22 (3H, d), 2.27-2.45 (6H, m), 2.73-2.90 (2H, m), 4.33-4.42 (1H, m), 7.75 (1H, s), 8.42 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.18 (2H, s)

[0407]

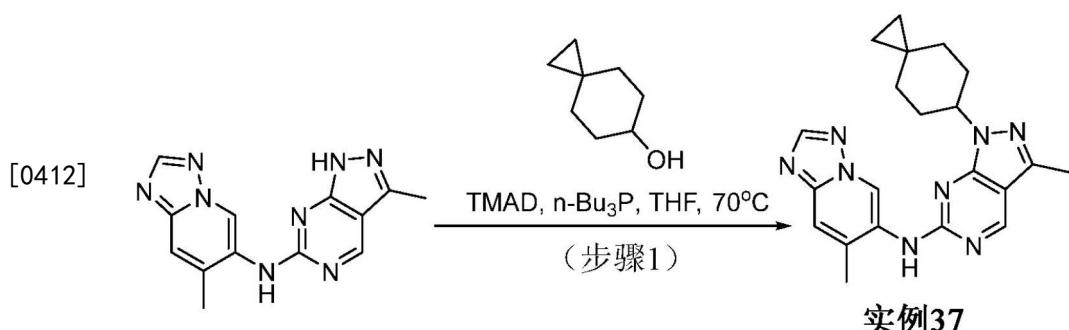
		429.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.50-1.63 (2H, m), 1.93-2.11 (6H, m), 2.40 (3H, s), 2.44 (3H, s), 4.13-4.20 (1H, m), 4.42-4.49 (1H, m), 6.48-6.99 (1H.m), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.21 (2H, d)
		393.3	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.19-1.35 (2H, m), 1.91-1.98 (4H, m), 2.01-2.12 (2H, m), 2.40 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.18-3.24 (1H, m), 3.26(3H, s), 4.38-4.44 (1H, m), 7.73 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.16 (1H, s), 9.22 (1H, s)
		393.3	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.40-1.58 (2H, m), 1.63 (2H, t), 1.98 (2H, t), 2.09-2.19 (2H, m), 2.38 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.21 (3H, s), 3.42 (1H, s), 4.41-4.47 (1H, m), 7.73 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.90 (1H, s), 9.15 (2H, s)
		379.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.17-1.51 (2H, m), 1.83-2.07 (6H,m), 2.41 (3H,s), 2.43 (3H,s), 3.52 (1H, d), 4.34-4.43 (1H,m), 4.63 (1H,s), 7.74 (1H,s), 8.40 (1H, s), 8.90 (1H, d), 9.14 (1H, s), 9.21 (1H, s)
		379.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.56-1.63 (4H, m), 1.77-1.81 (2H,m), 2.07-2.37 (2H,m), 2.39 (3H,s), 2.45 (3H,s), 3.87 (1H, d), 4.38-4.46 (2H,m), 7.73 (1H,s), 8.40 (1H, s), 8.90 (1H, d), 9.12 (1H, s), 9.18 (1H, s)
		379.3	¹ HNMR (300M Hz, MeOD-d ₄) δ 1.91 (2H, m), 2.04 - 2.12 (2H, m), 2.37 - 2.41 (2H, m), 2.51 (6H, d), 3.82 - 3.85 (4H, m), 4.87 (1H,t), 7.66 - 7.69 (1H, m), 8.34 (1H, s), 8.86 (1H, s), 9.43 (1H, s). (异构体 1)
		379.3	¹ HNMR (300MHz , MeOD-d ₄) δ 1.91 - 1.93 (2H, m), 2.04 - 2.14 (2H, m), 2.33 - 2.37 (2H, m), 2.51 (6H, s), 3.82 - 3.85 (4H, m), 4.85 (1H,dd), 7.66 (1H, s), 8.34 (1H, s), 8.87 (1H, s), 9.43 (1H, s), (异构体 2)
		379.3	¹ HNMR (300MHz , DMSO-d ₆) δ 1.05 (3H, d), 1.67 - 1.69 (1H, m), 1.93 - 1.96 (1H, m), 2.13 (2H, d), 2.36 - 2.39 (3H, m), 2.45 (3H, s), 3.71 (1H, d), 3.82 (1H, d), 4.01 (1H, s), 4.82 (1H, d), 7.72 (1H, s), 8.39 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.15 (2H, d)。 (异构体 1)

		379.3	¹ H NMR (300MHz , DMSO-d ₆) δ 1.05 (3H, d), 1.66 - 1.69(1H, m), 2.03 - 2.08 (1H, m), 2.13 - 2.16 (2H, m), 2.37 (3H, d), 2.45 -2.47 (3H, m), 3.71 (1H, d), 3.81 - 3.84 (1H, m), 4.00 - 4.05 (1H, s), 4.80 (1H, d), 7.72 (1H, s), 8.39 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.15 (2H, d)。 (异构体 2)
		365.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.82-1.93 (4H, m), 2.40 (3H, s), 2.45 (3H, s), 3.55-3.76 (2H, m), 4.01-4.27 (3H, m), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.94 (1H, s), 9.21 (2H, d)。 (异构体 1)
		365.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.84-1.93 (4H, m), 2.40 (3H, s), 2.45 (3H, s), 3.55-3.77 (2H, m), 4.02-4.27 (3H, m), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.94 (1H, s), 9.21 (2H, d)。 (异构体 2)
		365.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.56-1.67 (1H, m), 1.83-1.94 (1H,m), 2.39 (3H,s), 2.45 (3H,s), 2.66-2.80 (1H,m), 3.50 (1H, d), 3.57-3.76 (3H,m), 4.03-4.16 (2H,m), 7.75 (1H,s), 8.41 (1H, s), 8.94 (1H, d), 9.18 (1H, s), 9.21 (1H, s) (异构体 1)
[0408]		365.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.56-1.67 (1H, m), 1.83-1.94 (1H,m), 2.39 (3H,s), 2.45 (3H,s), 2.66-2.80 (1H,m), 3.50 (1H, d), 3.57-3.76 (3H,m), 4.03-4.16 (2H,m), 7.75 (1H,s), 8.41 (1H, s), 8.94 (1H, d), 9.18 (1H, s), 9.21 (1H, s) (异构体 2)
		405.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.85 (1H,d), 1.92 (1H,d), 2.01-2.14 (1H,m), 2.28-2.44 (9H,m), 2.61-2.69 (2H,m), 3.28 (3H,d), 3.73 (1H,t), 4.92 (1H, t), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.17 (1H,s)。
		379.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 0.52 (3H, d), 1.74 (1H, d), 2.06-2.31 (2H, m), 2.36 (3H, d), 2.45 (3H, s), 3.07 (1H, t), 3.43 (1H, t), 3.82-4.00 (2H, m), 4.14-4.27 (1H, m), 7.69-7.76 (1H, m), 8.39 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.15 (2H, d) (异构体 1)
		379.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 0.70 (3H, d), 1.74-1.91 (1H, m), 2.23 (1H, dd), 2.37 (4H, d), 2.44 (3H, s), 3.44-3.65 (2H, m), 3.72 (1H, dd), 4.05 (1H, dt), 4.79 (1H, dt), 7.72 (1H, s), 8.39 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.17 (2H, s) (异构体 2)

[0409]	66		407.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.14-2.22 (2H, m), 2.38 (3H, s), 2.45 (3H, s), 4.04 (2H, t), 4.22 (2H, t), 7.73 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.94 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.22 (1H, s)
	67		367.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.45 (3H, s), 1.80-2.13 (2H, m), 2.40 (3H, s), 2.46 (3H, s), 2.97-3.04 (1H, m), 3.09 (3H, s), 3.15-3.22 (1H, m), 4.74-4.81 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.22 (1H, s) (异构体 1)
	68		367.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.45 (3H, s), 1.80-2.15 (2H, m), 2.41 (3H, s), 2.46 (3H, s), 2.97-3.04 (1H, m), 3.09 (3H, s), 3.15-3.22 (1H, m), 4.74-4.81 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.22 (1H, s) (异构体 2)
	69		353.2	¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 400 MHz) δ 1.07 (3H, t), 2.40 (3H, s), 2.45 (3H, s), 3.16 (3H, d), 3.75-3.81 (1H, m), 4.01-4.06 (1H, m), 4.14 - 4.24 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, d), 8.94 (1H, d), 9.20 (2H, d), (外消旋体)
	70		353.3	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.08 (3H, d), 2.40 (3H, d), 2.46 (3H, s), 3.16 (3H, s), 3.75-3.80 (1H, m), 4.05 (1H, d), 4.20 (1H, d), 7.75 (1H, m), 8.41 (1H, s), 8.95 (1H, s), 9.22 (2H, d) (异构体 1)
	71		353.3	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.07 (3H, d), 2.40 (3H, d), 2.45 (3H, m), 3.16 (3H, s), 3.75-3.80 (1H, m), 4.04 (1H, d), 4.19 (1H, d), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.94 (1H, m), 9.21 (2H, d). (异构体 2)

[0410] 实例37

[0411] 制备3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(螺[2.5]辛-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 37)



[0413] 流程37

[0414] 步骤1. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(螺[2.5]辛-

6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.37)

[0415] 在氮气气氛下在70℃下将TMAD (276.43mg, 1.605mmol, 3.00当量)、n-Bu₃P (324.81mg, 1.605mmol, 3.00当量)、螺[2.5]辛-6-醇 (202.61mg, 1.605mmol, 3.00当量) 和3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (150.00mg, 0.535mmol, 1.00当量) 于THF (25.00mL) 中的混合物搅拌2h。用水 (100mL) 稀释所得混合物。将所得混合物用CH₂Cl₂ (3×50mL) 萃取, 经无水Na₂SO₄ 干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。粗产物从MeOH (20mL) 再结晶, 以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 19*250mm, 5μm; 移动相A: 水 (0.05%NH₃ • H₂O), 移动相B: MeOH; 流动速率: 25mL/min; 梯度: 7min内, 58B至70B) 来纯化粗产物 (60mg), 以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[螺[2.5]辛-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺 (30mg, 14.29%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=389.3。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 0.20 (2H, d), 0.33 (2H, d), 0.98 (2H, d), 1.84 (4H, m), 2.08 (2H, m), 2.39 (3H, d), 2.45 (3H, s), 4.45 (1H, d), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.16 (2H, d)

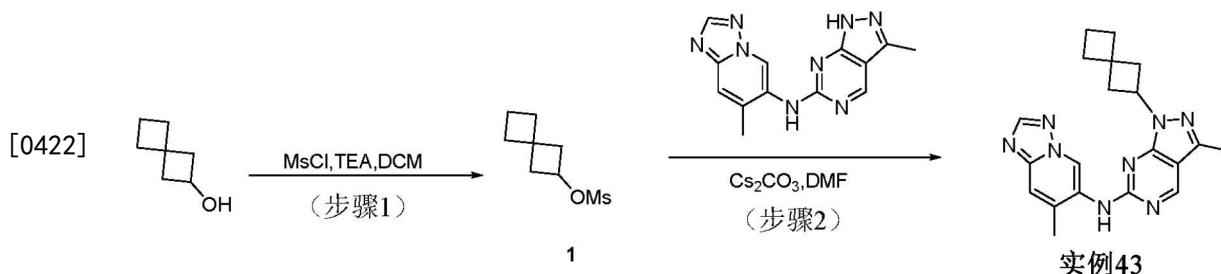
[0416] 通过实例37中所描述的类似方法来合成下表3中的以下化合物。

[0417] 表3.

实例编号	结构	LCMS	NMR
[0418]		349.3	¹ H NMR (DMSO-d ₄ , 300 MHz) δ 1.27 (3H, d), 2.02-2.10 (2H, m), 2.40 (3H, s), 2.47 (3H, s), 2.72 - 2.82 (2H, m), 3.32 (1H, s), 5.14-5.25 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.16 (1H, s), 9.22 (1H, s)
[0419]		349.3	¹ H NMR (甲醇-d ₄ , 300 MHz) δ 1.13 (3H, d), 2.27 - 2.39 (3H, m), 2.47 - 2.65 (8H, m), 4.93-5.07 (1H, m), 7.69 (1H, s), 8.37 (1H, s), 8.90 (1H, d), 9.44 (1H, s)

[0420] 实例43

[0421] 制备3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(螺[3.3]庚-2-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.43)



[0423] 流程43

[0424] 步骤1. 甲磺酸螺[3.3]庚-2-基酯

[0425] 在氮气气氛下在0℃下向螺[3.3]庚-2-醇 (300.00mg, 2.674mmol, 1.00当量) 和TEA (811.89mg, 8.023mmol, 3.00当量) 于DCM (50.00mL) 中的搅拌混合物中逐滴添加甲磺酰氯

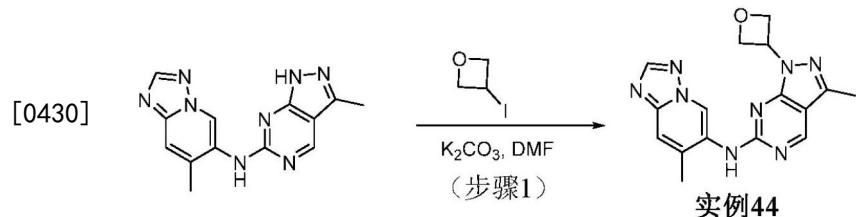
(459.50mg, 4.012mmol, 1.50当量)。用水(20mL)稀释所得混合物。用CH₂Cl₂(3×20mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。这得到呈淡黄色油状的甲磺酸螺[3.3]庚-2-基酯(500mg, 98.26%)。

[0426] 步骤2. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(螺[3.3]庚-2-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 43)

[0427] 在氮气气氛下在100℃下将3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(100.00mg, 0.357mmol, 1.00当量)、甲磺酸螺[3.3]庚-2-基酯(678.78mg, 3.568mmol, 10.00当量)和Cs₂CO₃(348.73mg, 1.070mmol, 3.00当量)于DMF(20.00mL)中的混合物搅拌16h。用水(40mL)稀释所得混合物。用EtOAc(3×100mL)萃取所得混合物。将合并的有机层用盐水洗涤, 经无水Na₂SO₄干燥。在过滤后, 减压浓缩滤液。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A: 水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 39B至59B; RT1: 6.4)来纯化粗产物, 以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[螺[3.3]庚-2-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(31.8mg, 23.80%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=375.3。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 1.81-1.95(2H, m), 1.89-1.91(2H, m), 2.09-2.11(2H, m), 2.42(8H, d), 2.59-2.63(2H, m), 4.89-4.93(1H, m), 7.76(1H, s), 8.42(1H, s), 8.92(1H, s), 9.17(2H, d)

[0428] 实例44

[0429] 制备3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氧杂环丁-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 44)



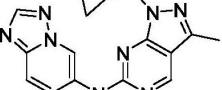
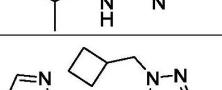
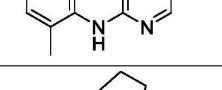
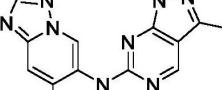
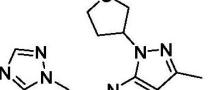
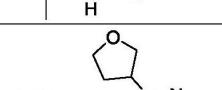
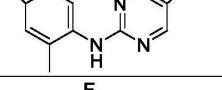
[0431] 流程44

[0432] 步骤1. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(氧杂环丁-3-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 44)

[0433] 在空气气氛下在室温下向3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(80.00mg, 0.285mmol, 1.00当量)和3-碘氧杂环丁烷(78.76mg, 0.428mmol, 1.50当量)于DMF(10mL)中的搅拌混合物中添加K₂CO₃(118.34mg, 0.856mmol, 3.00当量)。在空气气氛下在80℃下将所得混合物搅拌2h。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂:MEOH 12:1)来纯化残余物, 以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A: 水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 12B至32B; RT1: 6.62)来纯化粗产物(100mg), 以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-(氧杂环丁-3-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex. 44, 40mg, 41.67%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=337.2。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 2.38(3H, s), 2.49(3H, s), 4.89-5.02(4H, m), 5.72(1H, t), 7.75(1H, s), 8.42(1H, s), 8.96(1H, s), 9.15(1H, s), 9.27(1H, s)

[0434] 通过实例44中所描述的类似方法来合成下表4中的以下化合物。

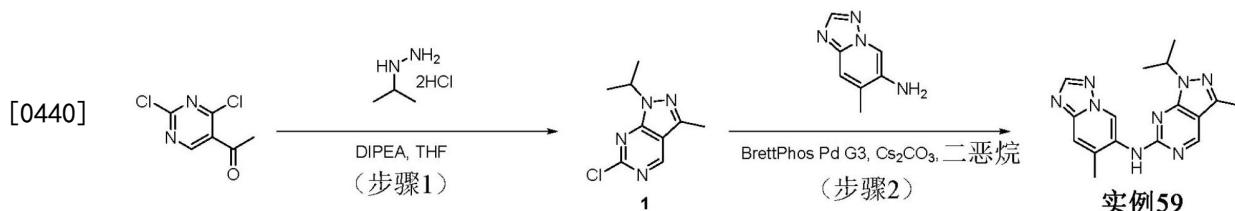
[0435] 表4.

实例编号	结构	LCMS	NMR
[0436]	38 	335.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 0.32 (2H, t), 0.47 (2H, m), 1.21 (1H, t), 2.39 (3H, d), 2.45 (3H, s), 3.98 (2H, d), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.17 (2H, s)
	45 	335.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.82 (2H, dd), 2.25 - 2.40 (5H, m), 2.44 (3H, s), 2.56 - 2.71 (2H, m), 5.01 (1H, t), 7.72 (1H, s), 8.38 (1H, s), 8.90 (1H, s), 9.12 (1H, s), 9.19 (1H, s)
	46 	349.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.74-1.86 (4H, m), 1.92-1.97 (2H, m), 2.40 (3H, s), 2.44 (3H, s), 2.77 (1H, dd), 4.14 (2H, d), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.21 (1H, s)
	47 	349.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.65-1.78 (2H, m), 1.81-1.87 (2H, m), 1.92-2.05 (4H, m), 2.39 (3H, s), 2.45 (3H, s), 4.88-4.95 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.91 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.18 (1H, s).
	48 	351.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.33 (2H, d), 2.38 (3H, d), 3.46 (3H, s), 3.81-3.88 (2H, m), 3.95-4.04 (2H, m), 5.15-5.23 (1H, m), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.94 (1H, s), 9.18 (1H, s), 9.22 (1H, s), (异构体 1)
	49 	351.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.23-2.39 (5H, m), 3.45 (3H, s), 3.78-3.88 (2H, m), 3.95-4.04 (2H, m), 5.15-5.23 (1H, m), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.94 (1H, s), 9.17 (1H, s), 9.22 (1H, s) (异构体 2)
	57 	345.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.38 (3H, s), 2.45 (3H, t), 4.46-4.60 (2H, m), 6.20-6.58 (1H, m), 7.73 (1H, s), 8.39 (1H, s), 8.96 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.31 (1H, s)
	58 	391.2	¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz) δ 1.98-2.06 (2H, m), 2.22-2.34 (2H, m), 2.38 (3H, s), 2.46 (3H, s), 4.19 (2H, t), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.95 (1H, s), 9.14 (1H, s), 9.22 (1H, s)

	61		337.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 0.62-0.80 (3H, m), 1.38 (3H,d), 1.71-1.93 (2H,m), 2.39 (3H,s), 2.45 (3H,s) , 4.48-4.55 (1H,m), 7.74 (1H,s), 8.40 (1H, s), 8.93 (1H, d), 9.14 (1H, s), 9.19 (1H, s) (异构体 1)
	62		337.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 0.62-0.82 (3H, m), 1.38 (3H,d), 1.71-1.93 (2H,m), 2.39 (3H,s), 2.45 (3H,s) , 4.48-4.55 (1H,m), 7.74 (1H,s), 8.40 (1H, s), 8.93 (1H, d), 9.14 (1H, s), 9.19 (1H, s) (异构体 2)
[0437]	63		339.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.39 (3H, s), 2.45 (3H, s), 3.18 (3H, s), 3.72 (2H, t), 4.26 (2H, t), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.19 (2H, s)
	64		393.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.38 (3H, d), 2.47 (3H, s), 4.45 (4H, dd), 7.75 (1H, t), 8.41 (1H, s), 8.96 (1H, s), 9.13 (1H, s), 9.26 (1H, s)
	65		353.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.95-2.03 (2H, m), 2.40 (3H, s), 2.45 (3H, s), 3.14 (3H, s), 3.22 (2H, t), 4.17 (2H, t), 7.74 (1H, s), 8.40 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.17 (1H, s), 9.20 (1H, s)。

[0438] 实例59

[0439] 制备1-异丙基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.59)



[0441] 流程59

[0442] 步骤1. 6-氯-1-异丙基-3-甲基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶

[0443] 在空气气氛下在0℃下向1-(2,4-二氯嘧啶-5-基)乙酮(150.00mg, 0.785mmol, 1.00当量)和DIPEA(54.13mg, 0.419mmol, 4.00当量)于THF中的搅拌混合物中逐滴添加异丙基肼(15.26mg, 0.136mmol, 1.30当量)。在空气气氛下在室温下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(PE:EA 1:1)来纯化残余物,以获得呈黄色固体状的6-氯-1-异丙基-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶(120mg, 72.53%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺ = 211.2。¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.54 (6H, d) , 2.61 (3H, s) , 5.12 (1H, dd) , 8.90 (1H, s)

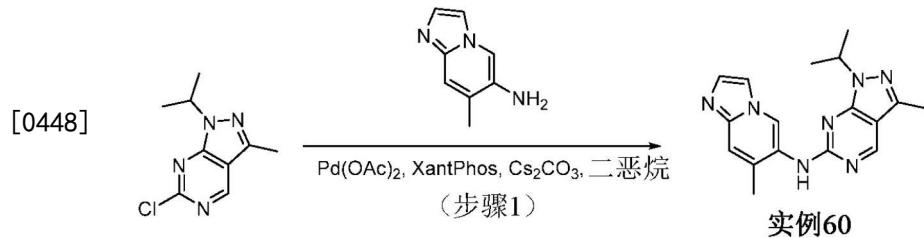
[0444] 步骤2. 1-异丙基-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.59)

[0445] 在空气气氛下在室温下向6-氯-1-异丙基-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶(120.00mg,

0.570mmol, 1.00当量) 和7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-胺(108.99mg, 0.740mmol, 1.30当量)于二恶烷(10mL)中的搅拌混合物中添加XantPhos(65.92mg, 0.114mmol, 0.20当量)、Pd(AcO)₂(25.58mg, 0.114mmol, 0.20当量)和Cs₂CO₃(556.77mg, 1.709mmol, 3.00当量)。在氮气气氛下在60℃下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=10:1)来纯化残余物,以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率: 60mL/min; RT1: 6.67)来纯化粗产物(100mg), 以获得呈白色固体状的1-异丙基-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(62mg, 33.76%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=323.4。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 1.41 (6H, d), 2.40 (3H, d), 2.45 (3H, s), 4.73-4.82 (1H, m), 7.74 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.16 (1H, s), 9.19 (1H, s)

[0446] 实例60

[0447] 制备1-异丙基-3-甲基-N-(7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.60)



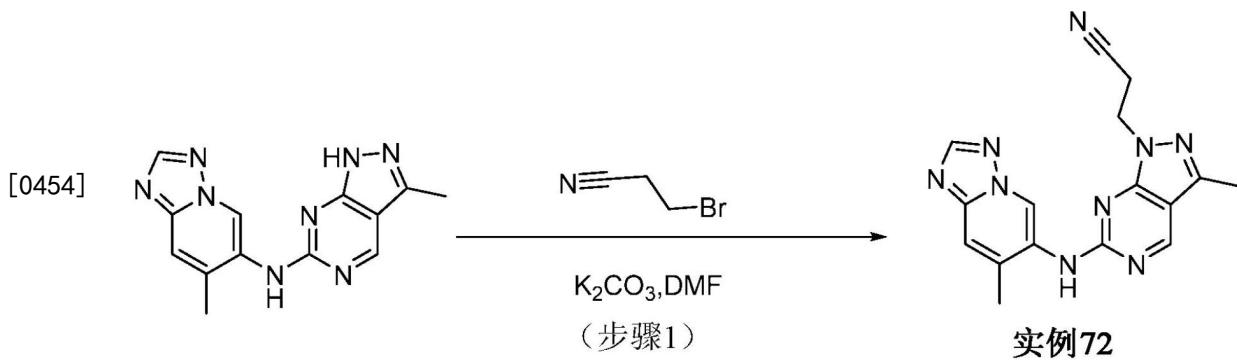
[0449] 流程60

[0450] 步骤1. 1-异丙基-3-甲基-N-(7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.60)

[0451] 在氮气气氛下在100℃下将6-氯-1-异丙基-3-甲基吡唑并[3,4-d]嘧啶(80.00mg, 0.380mmol, 1.00当量)、7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-胺(67.07mg, 0.456mmol, 1.20当量)、Pd(AcO)₂(17.05mg, 0.076mmol, 0.20当量)、XantPhos(65.92mg, 0.114mmol, 0.30当量)和Cs₂CO₃(309.32mg, 0.949mmol, 2.50当量)于二恶烷(10.00mL)中的混合物搅拌3小时。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=10:1)来纯化残余物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A:水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B:ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 21B至41B; RT1: 7.02)来纯化粗产物(100mg), 以获得呈白色固体状的1-异丙基-3-甲基-N-[7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(55.77mg, 45.70%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=322.2。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 1.38 (6H, d), 2.25 (3H, d), 2.44 (3H, s), 4.67-4.89 (1H, m), 7.47 (2H, dd), 7.87 (1H, t), 8.67 (1H, s), 8.86 (1H, s), 9.03 (1H, s)

[0452] 实例72

[0453] 制备3-(3-甲基-6-((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)丙腈(Ex.72)



[0455] 流程72

[0456] 步骤1. 3- (3-甲基-6- ((7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)丙腈(Ex.72)

[0457] 向3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(70.00mg, 0.250mmol, 1.00当量)和丙腈, 3-溴-(66.92mg, 0.499mmol, 2.00当量)于DMF(10mL)中的搅拌混合物中添加K₂CO₃(103.55mg, 0.749mmol, 3.00当量)。在空气气氛下在80°C下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(DCM:MeOH=15:1)来纯化残余物, 以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱: XBridge Prep OBD C18柱, 30×150mm, 5μm; 移动相A: 水(0.05%NH₃•H₂O), 移动相B: ACN; 流动速率: 60mL/min; 梯度: 7min内, 8B至28B; RT1: 7.70)来纯化粗产物, 以获得呈白色固体状的3-[3-甲基-6- ([7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]氨基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]丙腈(40mg, 48.05%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=334.3。¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 2.39(3H, s), 2.47(3H, s), 3.08(2H, t), 4.36(2H, t), 7.75(1H, s), 8.41(1H, s), 8.97(1H, s), 9.17(1H, s), 9.29(1H, s)。

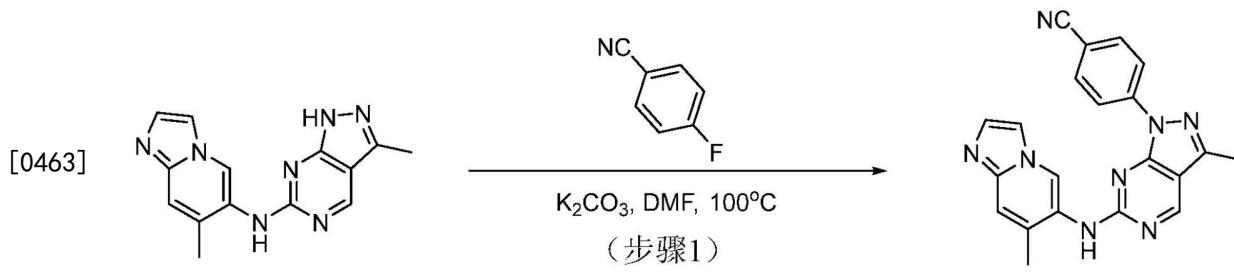
[0458] 通过实例72中所描述的类似方法来合成下表5中的以下化合物。

[0459] 表5.

实例编号	结构	LCMS	NMR
[0460]	29	365.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.75-1.81 (2H, m), 1.98-2.12 (1H, m), 2.16-2.28 (1H, m), 2.40 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.35-3.40 (1H, m), 3.65 (1H, t), 3.83-3.92 (2H, m), 4.44-4.54 (1H, m), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.21 (2H, d)。异构体 1
	30	365.2	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 1.75-1.81 (2H, m), 2.02-2.15 (1H, m), 2.18-2.28 (1H, m), 2.40 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.35-3.40 (1H, m), 3.65 (1H, t), 3.83-3.92 (2H, m), 4.46-4.53 (1H, m), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.21 (2H, s)。异构体 2
	41	411.3	¹ H NMR (DMSO-d ₆ , 300 MHz) δ 2.38 (3H, d), 2.45 (3H, s), 2.51 - 2.61 (4H, m), 2.62-2.83 (4H, m), 4.99 (1H, p), 7.72 - 7.79 (1H, m), 8.42 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.16 (2H, d)
	72	334.3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ 2.39 (3H, s), 2.47 (3H, s), 3.08 (2H, t), 4.36 (2H, t), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.97 (1H, s), 9.17 (1H, s), 9.29 (1H, s)。

[0461] 实例73

[0462] 制备4-(3-甲基-6-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)苯甲腈(Ex.73)



[0464] 流程73

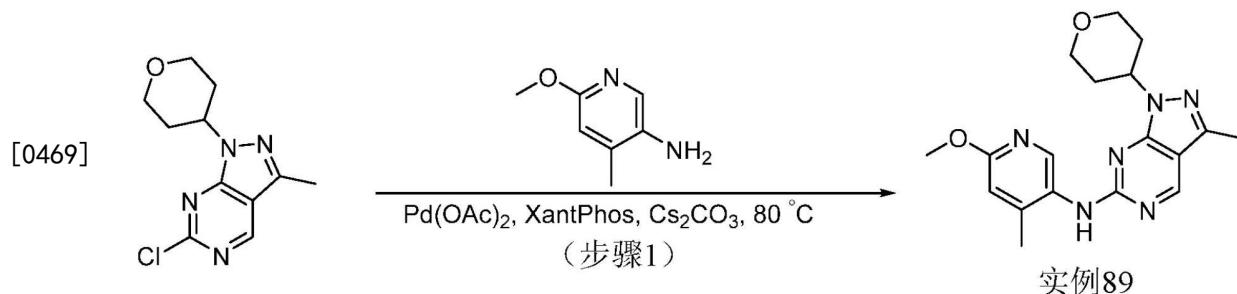
[0465] 步骤1. 4-(3-甲基-6-(7-甲基咪唑并[1,2-a]吡啶-6-基氨基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基)苯甲腈(Ex.73)

[0466] 在100℃下将7-甲基-N-[3-甲基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基]-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-胺(150.00mg, 0.535mmol, 1.00当量)、苯甲腈, 4-氟- (97.57mg, 0.806mmol, 1.50当量)、苯甲腈(97.22mg, 0.803mmol, 1.50当量)和K₂CO₃(221.88mg, 1.605mmol, 3.0当量)于DMF(50.00mL)中的混合物搅拌16h。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH=10:1)来纯化残余物, 以获得呈淡黄色固体状的4-[3-甲基-6-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基氨基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]苯甲腈(40mg, 粗物质)。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Shield RP18 OBD柱, 19*250mm, 10μm; 移动相A:水

(10MMOL/L NH₄HCO₃+0.1%NH₃•H₂O),移动相B:ACN;流动速率:20mL/min;梯度:7min内,36B至46B;RT1:5.73)来纯化粗产物(40mg),以获得呈白色固体状的4-[3-甲基-6-([7-甲基咪唑[1,2-a]吡啶-6-基]氨基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-1-基]苯甲腈(8.8mg,4.31%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=381.3。¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ 2.45 (3H, d), 2.62 (3H, s), 7.08 (1H, s), 7.54 (2H, s), 7.65 (1H, s), 7.75 (2H, d), 8.42-8.44 (2H, m), 8.85 (1H, s), 9.06 (1H, d)。

[0467] 实例89

[0468] 制备6-甲氧基-4-甲基-N-[3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基]吡啶-3-胺



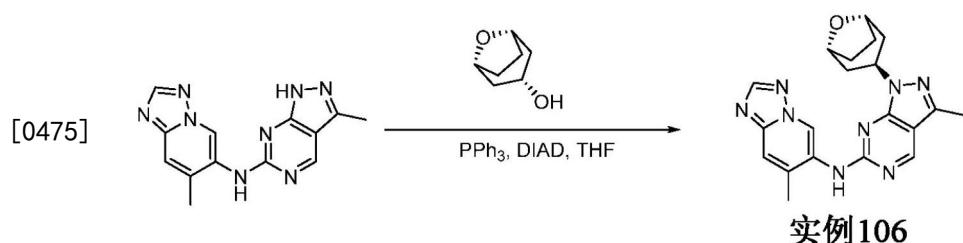
[0470] 流程89

[0471] 步骤1. 6-甲氧基-4-甲基-N-[3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基]吡啶-3-胺(Ex.89)

[0472] 在氮气气氛下在80℃下将6-氯-3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶(80.00mg,0.317mmol,1.00当量)、6-甲氧基-4-甲基吡啶-3-胺(52.49mg,0.380mmol,1.20当量)、Pd(AcO)₂(14.22mg,0.063mmol,0.20当量)、XantPhos(54.95mg,0.095mmol,0.30当量)和Cs₂CO₃(257.87mg,0.791mmol,2.50当量)于二恶烷(2.50mL)中的混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH 15:1)来纯化残余物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Shield RP18 OBD柱,30*150mm,5μm;移动相A:水(0.05%NH₃H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,25B至55B;254;220nm;RT1:5.20)来纯化粗产物(100mg),以获得呈白色固体状的6-甲氧基-4-甲基-N-[3-甲基-1-(氧杂环己-4-基)吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基]吡啶-3-胺(70mg,62.39%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=355.2。¹H-NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1.79 (2H, d), 1.99-2.20 (5H, m), 2.42 (3H, s), 3.43-3.56 (2H, m), 3.83 (3H, s), 3.96 (2H, dd), 4.58 (1H, t), 6.74 (1H, s), 8.11 (1H, s), 8.82 (1H, s), 8.98 (1H, s)。

[0473] 实例106

[0474] 制备1-((1R,3r,5S)-8-氧杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺



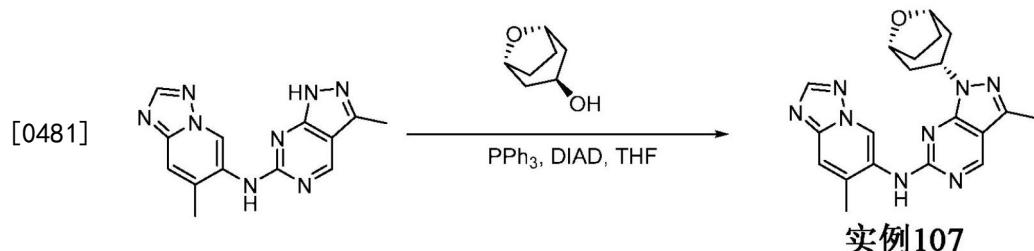
[0476] 流程106

[0477] 步骤1. 1-((1R,3r,5S)-8-氧杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

[0478] 在氮气气氛下在0℃下向3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(100.00mg,0.357mmol,1.00当量)、(1R,3S,5S)-8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-醇(137.18mg,1.070mmol,3.00当量)和PPh₃(280.72mg,1.070mmol,3当量)于THF(10.00mL)中的搅拌混合物中逐滴添加DIAD(216.42mg,1.070mmol,3当量)。在氮气气氛下在70℃下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH 12:1)来纯化残余物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(0.05%NH₃H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,37B至57B)来纯化粗产物,以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[(1R,3R,5S)-8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.106,50mg,50.00%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=391.3。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆) δ 1.74 (4H, s), 2.22-2.45 (10H, m), 4.35 (2H, s), 4.63 (1H, s), 7.75 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.93 (1H, s), 9.17 (1H, s), 9.21 (1H, s)。

[0479] 实例107

[0480] 制备1-((1R,3s,5S)-8-氧杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺



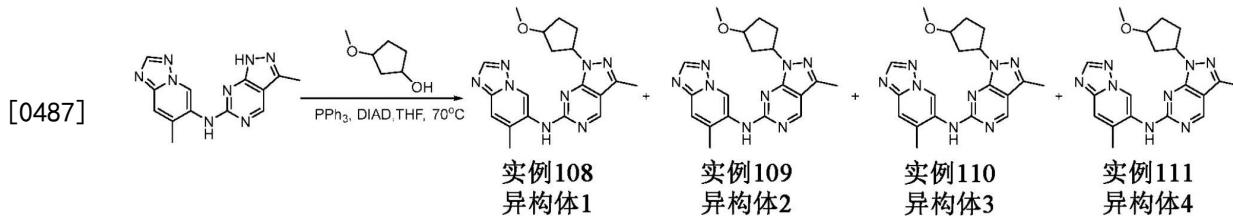
[0482] 流程107

[0483] 步骤1. 1-((1R,3s,5S)-8-氧杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

[0484] 在氮气气氛下在0℃下向3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(80.00mg,0.285mmol,1.00当量)、(1R,3R,5S)-8-氧杂双环[3.2.1]辛-3-醇(109.75mg,0.856mmol,3.00当量)和PPh₃(224.58mg,0.856mmol,3.00当量)于THF(16.00mL)中的搅拌混合物中逐滴添加DIAD(173.14mg,0.856mmol,3.00当量)。在氮气气氛下在70℃下将所得混合物搅拌2h。在真空下浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH 12:1)来纯化残余物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Prep OBD C18柱,30×150mm,5μm;移动相A:水(0.05%NH₃H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,37B至50B)来纯化粗产物,以获得呈白色固体状的1-((1R,3s,5S)-8-氧杂-双环[3.2.1]辛-3-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.107,45mg,45.00%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=391.4。¹H NMR (300MHz,DMSO-d₆) δ 1.78-1.94 (6H, m), 2.07-2.25 (2H, m), 2.42 (3H, s), 2.45 (3H, s), 4.44 (2H, s), 4.88-4.96 (1H, m), 7.73 (1H, s), 8.41 (1H, s), 8.92 (1H, s), 9.18 (1H, s), 9.29 (1H, s)。

[0485] 实例108/109/110/111

[0486] 1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.108,异构体1)/1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.109,异构体2)/1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.110,异构体3)/1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.111,异构体4)



[0488] 流程108-111

[0489] 步骤1. 制备1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(108/109的混合物)和制备1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(110/111的混合物)

[0490] 在0℃下历时10min向3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(220.00mg,0.785mmol,1.00当量)、PPh₃(617.59mg,2.355mmol,3.00当量)和3-甲氧基环戊-1-醇(273.52mg,2.355mmol,3.00当量)于THF(20.00mL)中的搅拌混合物中逐滴添加含DIAD(476.13mg,2.355mmol,3.00当量)的THF(3mL)。在氮气气氛下在70℃下将所得混合物搅拌2h。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂C₁₂/MeOH 10:1)来纯化残余物,以获得呈淡黄色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(150mg)。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:YMC-Actus Triart C18,30*250,5μm;移动相A:水(0.05%NH₃H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:8.5min内,34B至46B)来纯化粗产物(150mg),以获得呈白色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.108/109的混合物,25mg,16.67%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=379.3。¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ1.81-1.85(2H,m),1.98-2.02(2H,m),2.09-2.11(1H,m),2.38-2.41(4H,m),2.45(3H,s),3.18(3H,s),3.83-3.85(1H,m),4.85-4.89(1H,m),7.74(1H,s),8.40(1H,s),8.91(1H,s),9.14(2H,s),和呈白色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.110/111的混合物,80mg,53.33%)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=379.3。¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆) δ1.61-1.63(1H,m),1.82-1.98(1H,m),2.38-2.41(4H,m),2.39(3H,s),2.45(3H,s),3.18(3H,s),3.93-3.96(1H,m),5.00-5.06(1H,m),7.74(1H,s),8.40(1H,s),8.91(1H,s),9.15(2H,d)。

[0491] 步骤2. 制备1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.108,异构体1)/1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.109,异

构体2)

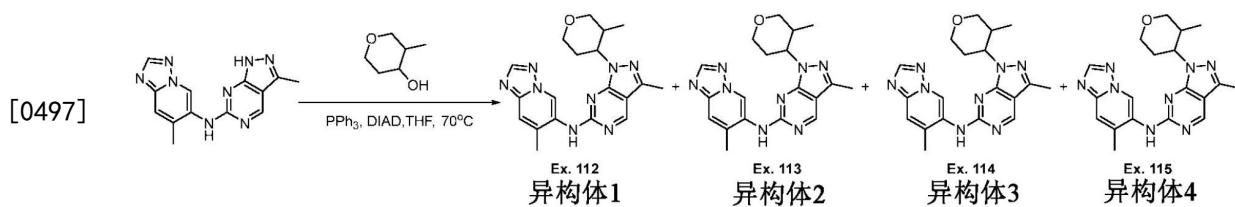
[0492] 通过手性制备型HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK AD-H,2.0cm I.D.*25cm L;移动相A:Hex (8mmol/L NH₃.MeOH) --HPLC,移动相B:IPA--HPLC;流动速率:40mL/min;梯度:18min内,20B至20B)来纯化Ex.108/109的混合物(25mg),以获得呈白色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.108,4.5mg,18.00%)(异构体1)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=379.3。¹HNMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.81-1.85 (2H,m), 1.98-2.01 (2H,m), 2.06-2.09 (1H,m), 2.38-2.43 (4H,m), 2.45 (3H,s), 3.18 (3H,s), 3.80-3.85 (1H,m), 4.82-4.87 (1H,m), 7.74 (1H,s), 8.40 (1H,s), 8.91 (1H,s), 9.14 (2H,s) 和呈白色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.109,3.8mg,12.00%)(异构体2)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=379.3。¹HNMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.81-1.83 (2H,m), 1.97-2.01 (2H,m), 2.10-2.12 (1H,m), 2.37-2.43 (4H,m), 2.45 (3H,s), 3.18 (3H,s), 3.81-3.85 (1H,m), 4.80-4.89 (1H,m), 7.73 (1H,s), 8.40 (1H,s), 8.91 (1H,s), 9.14 (2H,s)。

[0493] 步骤4. 1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.110,异构体3)/1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.111,异构体4)

[0494] 通过制备型HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK AD-H,2.0cm I.D.*25cm L;移动相A:Hex (8mmol/L NH₃.MeOH) --HPLC,移动相B:IPA--HPLC;流动速率:40mL/min;梯度:12min内,30B至30B)来纯化Ex.110/111的混合物(80mg),以获得呈白色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.110,39.1mg,48.87%)(异构体3)LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=379.3。¹HNMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.67-1.69 (1H,m), 1.93-1.99 (1H,m), 2.10-2.15 (4H,m), 2.39 (3H,s), 2.44 (3H,s), 3.16 (3H,s), 3.94 (1H,s), 5.00-5.08 (1H,m), 7.74 (1H,s), 8.40 (1H,s), 8.91 (1H,s), 9.16 (2H,d) 和呈白色固体状的1-(3-甲氧基环戊基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.111,35.2mg)(异构体4)。LCMS:m/z (ESI), [M+H]⁺=379.3。¹HNMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.65-1.69 (1H,m), 1.93-1.97 (1H,m), 2.09-2.14 (4H,m), 2.39 (3H,d), 2.44 (3H,s), 3.15 (3H,s), 3.93-3.96 (1H,m), 5.00-5.08 (1H,m), 7.74 (1H,s), 8.41 (1H,s), 8.91 (1H,s), 9.16 (2H,d)。

[0495] Ex.112/113/114/115.

[0496] 制备3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.112,异构体1)/3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.113,异构体2)/3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.114,异构体3)/3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.115,异构体4)



[0498] 流程112-115

[0499] 步骤1. 3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[3-甲基氧杂环己-4-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.112/113的混合物)和3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[3-甲基氧杂环己-4-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.114/115的混合物)

[0500] 在0℃下搅拌3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(200.00mg,0.714mmol,1.00当量)、3-甲基氧杂环己-4-醇(248.65mg,2.141mmol,3.00当量)和PPh₃(561.45mg,2.141mmol,3.00当量)于THF(10.00mL)中的混合物,且在氮气气氛下在70℃下逐滴添加DIAD(432.85mg,2.141mmol,3.00当量),搅拌2小时。减压浓缩所得混合物。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH 15:1)来纯化残余物,以获得粗固体。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:XBridge Shield RP18 OBD柱,30*150mm,5μm;移动相A:水(0.05%NH₃H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,18B至48B)来纯化粗产物(120mg),以获得呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[3-甲基氧杂环己-4-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.112/113的混合物,30mg,25.00%)。LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=379.3。¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆)δ0.52(3H,d),1.74(2H,d),2.06-2.31(1H,m),2.36(3H,d),2.45(3H,s),3.07(1H,t),3.43(1H,t),3.82-4.00(2H,m),4.14-4.27(1H,m),7.69-7.76(1H,m),8.39(1H,s),8.91(1H,s),9.15(2H,d)和呈白色固体状的3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]-1-[3-甲基氧杂环己-4-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.114/115的混合物,70mg,57.75%)。LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=379.3。¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆)δ0.70(3H,d),1.74-1.91(1H,m),2.23(1H,d),2.37(4H,d),2.44(3H,s),3.44-3.65(2H,m),3.72(1H,dd),4.05(1H,dt),4.79(1H,dt),7.72(1H,s),8.39(1H,s),8.93(1H,s),9.17(2H,s)

[0501] 步骤2. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.112,异构体1)和3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.113,异构体2)

[0502] 通过制备型手性HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK IE-3,4.6*50mm 3μm;移动相A:Hex(0.1%DEA):EtOH=50:50)来纯化粗产物3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.112/113的混合物,30.00mg,0.079mmol,1.00当量),以获得呈白色固体状的3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.112,异构体1,12.22mg,40.73%)。LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=379.3。¹HNMR(400MHz,DMSO-d₆)δ0.52(3H,d),1.74(2H,d),2.06-2.31(1H,m),2.36(3H,d),2.45(3H,s),3.07(1H,t),3.43(1H,t),3.82-4.00(2H,m),4.14-4.27(1H,m),7.69-7.76(1H,m),8.39(1H,s),8.91

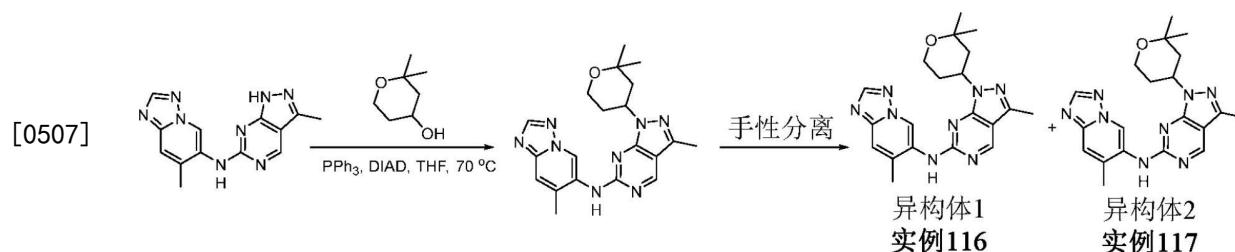
(1H, s) , 9.15 (2H, d) 和呈白色固体状的3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.113, 异构体2, 8.37mg, 27.90%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=379.3。¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 0.52 (3H, d) , 1.74 (2H, d) , 2.06-2.31 (1H, m) , 2.36 (3H, d) , 2.45 (3H, s) , 3.07 (1H, t) , 3.43 (1H, t) , 3.82-4.00 (2H, m) , 4.14-4.27 (1H, m) , 7.69-7.76 (1H, m) , 8.39 (1H, s) , 8.91 (1H, s) , 9.15 (2H, d)

[0503] 步骤3. 3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.114, 异构体3)和3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.115, 异构体4)

[0504] 通过制备型手性HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK IE-3, 4.6*50mm 3μm; 移动相A:Hex (0.1%DEA):EtOH=50:50)来纯化粗产物3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.114/115的混合物, 70.00mg, 0.185mmol, 1.00当量), 以获得呈白色固体状的3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.114, 异构体3, 32.98mg, 47.11%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=379.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 0.70 (3H, d) , 1.74-1.91 (1H, m) , 2.23 (1H, d) , 2.37 (4H, d) , 2.44 (3H, s) , 3.44-3.65 (2H, m) , 3.72 (1H, d) , 4.05 (1H, t) , 4.79 (1H, t) , 7.72 (1H, s) , 8.39 (1H, s) , 8.93 (1H, s) , 9.17 (2H, s), 和呈白色固体状的3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1-(3-甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(Ex.115, 异构体4, 33.45mg, 41.39%)。LCMS:m/z (ESI) , [M+H]⁺=379.3。¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 0.70 (3H, d) , 1.74-1.91 (1H, m) , 2.23 (1H, d) , 2.37 (4H, d) , 2.44 (3H, s) , 3.44-3.65 (2H, m) , 3.72 (1H, d) , 4.05 (1H, t) , 4.79 (1H, t) , 7.72 (1H, s) , 8.39 (1H, s) , 8.93 (1H, s) , 9.17 (2H, s)

[0505] 实例116/117

[0506] 制备1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(实例116, 异构体1)和1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(实例117, 异构体2)



[0508] 流程116

[0509] 步骤1. 1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺

[0510] 在0℃下向250mL圆底烧瓶中添加含2,2-二甲基氧杂环己-4-醇(627.03mg, 4.816mmol, 3.00当量)和3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(450.00mg, 1.605mmol, 1.00当量)、PPh₃(1263.26mg, 4.816mmol, 3.00

当量)的THF(60.00mL)。在N₂下在0℃下将DIAD(973.90mg,4.816mmol,3.00当量)于THF(10mL)中的溶液逐滴添加到上述溶液中,且在室温下搅拌3min。在70℃下将反应混合物继续搅拌2h。在减压下浓缩所得混合物。用DCM(20mL)稀释所得混合物且过滤,用DCM(2×5mL)洗涤滤饼。在减压下浓缩滤液。通过制备型TLC(CH₂Cl₂/MeOH 15:1)来纯化残余物,以获得粗产物。通过制备型HPLC利用以下条件(柱:YMC-Actus Triart C18,30*250,5μm;移动相A:水(0.05%NH₃H₂O),移动相B:ACN;流动速率:60mL/min;梯度:7min内,37B至57B)来纯化粗产物(250mg),以获得呈白色固体状的1-[2,2-二甲基氧杂环己-4-基]-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(170mg,26.98%)。LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=393.2

[0511] 步骤2. 1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(实例116,异构体1)/1-(2,2-二甲基四氢-2H-吡喃-4-基)-3-甲基-N-(7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(实例117,异构体2)

[0512] 通过手性制备型HPLC利用以下条件(柱:CHIRALPAK-AD-H-UL001,20*250mm,5μm;移动相A:Hex(8mmol/L NH₃.MeOH)--HPLC,移动相B:IPA--HPLC;流动速率:20mL/min;梯度:15min内,25B至25B;RT1:10.12;RT2:11.691)来纯化粗产物(170mg),以获得rel-1-[(4R)-2,2-二甲基氧杂环己-4-基]-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(实例116,异构体1)(70mg,41.18%),LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=393.3。¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ1.21(6H,d),1.80(2H,dd),1.89(1H,t),2.05(1H,qd),2.35-2.48(6H,m),3.66-3.81(2H,m),4.75-4.95(1H,m),7.74(1H,d),8.40(1H,s),8.92(1H,s),9.20(2H,d);和呈白色固体状的rel-1-[(4R)-2,2-二甲基氧杂环己-4-基]-3-甲基-N-[7-甲基-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-6-基]吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-胺(实例117,异构体2)(70mg,41.18%),LCMS:m/z(ESI),[M+H]⁺=393.3。¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ1.21(6H,d),1.80(2H,dd),1.89(1H,t),2.05(1H,qd),2.35-2.48(6H,m),3.66-3.81(2H,m),4.75-4.95(1H,m),7.74(1H,d),8.40(1H,s),8.92(1H,s),9.20(2H,d)。

[0513] 生物实例

[0514] 本文所公开的示范性化合物已经在以下一个或多个生物分析中表征。

[0515] 生物实例1:

[0516] 酶促分析

[0517] 通过测量荧光标记的肽底物转化成磷酸化产物的TRF-RET来测定化合物针对DNA-PK的抑制活性。所有分析都在黑色Greiner 384孔小体积板(葛莱娜(Greiner))中进行,总反应体积为6μL且最终DMSO浓度为0.5%(v/v)。全长人类DNAPK蛋白、荧光素-P53(Ser15)肽底物(荧光素-EPPLSQEAFADLWKK)和LanthaScreen™ Tb-抗磷酸-p53[pSer15]抗体试剂盒都购自赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific)。最初,将DNA-PK蛋白质与化合物在室温下在反应缓冲液(50mM HEPES pH 7.5,0.01%Brig-35,10mM MgCl₂,1mM EGTA,1mM DTT,10μg/ml小牛胸腺DNA)中培育30分钟。接着通过添加ATP和荧光素-P53(Ser15)肽底物引发反应。在60分钟后通过添加含有20mM EDTA、4nM Tb抗磷酸-p53[Ser15]抗体的6μl终止缓冲液来淬灭激酶反应(10μM ATP,1.6μM肽底物)。将反应物再培育一小时,且在Spark 20M(Tecan)上读取板。分析数据,且使用四参数逻辑拟合与XLfit来计算对相应激酶产生50%

抑制的化合物的浓度(IC_{50})。示范性化合物的DNA-PK抑制活性展示于下表5中。可以看出,本公开的化合物已展现出强效的DNA-PK抑制活性。

[0518] 表5.DNA-PK酶促活性

实例编号	DNA-PK IC ₅₀ (nM)	实例编号	DNA-PK IC ₅₀ (nM)
1	0.8	46	3.3
2	1.4	47	1.7
3	10.2	48	1.8
4	1.6	49	1.7
5	0.4	50	7.0
6	1.6	51	12.0
7	0.8	52	10.8
8	0.7	53	7.2
9	0.7	54	1.5
10	1.7	55	2.5
11	0.7	56	1.1
12	1.1	57	12.2
13	3.9	58	2.2
14	1.6	59	4.5
15	35.2	60	13.5
16	8.4	61	3.5
17	5.2	62	5.1
18	2.6	63	36.0
19	25.9	64	3.6
20	1.3	65	8.0
21	1.4	66	2.0
22	1.3	67	27.0
23	0.7	68	65.3
24	0.4	69	8.8
25	1.8	70	4.3
26	3.0	71	6.4
27	1.0	72	1.8
28	1.3	73	1.3
29	2.0	80	2.1
30	15.7	86	2.4
31	1.8	86-1	3
32	1.9	89	6.2
33	1.5	102	0.9
34	1.2	106	0.9
35	2.8	107	1.3
36	1.4	108	1.9
37	0.9	109	4
38	11.1	110	1.8
39	2.1	111	1.1
40	4.2	112	3.7
41	1.4	113	3.2
42	7.5	114	1.7
43	1.5	115	1.9
44	24.0	116	1.6
45	4.3	117	1.8

[0521] 生物实例2:

[0522] 代谢稳定性分析(大鼠肝细胞Clint)

[0523] 使用台盼蓝(trypan blue)测定冷冻保存的肝细胞的生存力,并且用缓冲液将所

述细胞浓度调节至106个细胞/毫升。将1 μ M化合物(于乙腈中;0.01%DMSO)在96深孔板中与250 μ L肝细胞(1百万个细胞/毫升)一起培育。在不同时间点(0min、0.5min、5min、15min、30min、45min、60min、80min、100min和120min)处通过将3体积的冷却乙腈添加到20 μ L反应混合物中并在4℃下离心15min来停止反应。用纯水将40 μ L上清液稀释到200 μ L并使用LCMS/MS进行分析。

[0524] 基于从初始浓度测定的化合物消失的消除半衰期($T_{1/2}$)来估计体外肝细胞清除率。计算每种化合物(测试或对照)与IS的峰面积比。根据以下等式计算药物消除速率常数k(min⁻¹)、 $T_{1/2}$ (min)和体外固有清除率CL_{int}(μ L/min/E6)：

[0525] $k = -\text{斜率}$

[0526] $T_{1/2} = 0.693/k$

[0527] $CL_{int} = k/C_{hep}$

[0528] 其中 C_{hep} (细胞 \times μ L⁻¹)是培育系统中的细胞浓度。

[0529] 数据如下表6中所展示。

[0530] 代谢稳定性分析(人类微粒体C1int)

[0531] 在37℃下在含有1mM NADPH溶液的250 μ L缓冲液(100mM磷酸盐缓冲液,pH-7.4)中将1 μ M化合物与1mg/mL微粒体(具有20mg/ml蛋白质锥体(protein cone)的混合HLM)一起培育。在新制96孔板中,在不同时间点0min、0.5min、5min、10min、15min、20min和30min处,用5体积的冷却乙腈淬灭20 μ L的培育混合物。将淬灭板在4000rpm下离心15min。用纯水将40 μ L上清液稀释到200 μ L并使用LC-MS/MS进行分析。

[0532] 以与肝细胞中的CL_{int}类似的方式计算药物在微粒体中的体外固有清除率CL_{int}(μ 1/min/mg)。数据也如下表6中所展示。

[0533] MDCKII-MDR1-BCRP流出分析

[0534] 在MDCKII-MDR1-BCRP细胞单层上测量化合物在HBSS(25mM HEPES,pH 7.4)中的顶端至底外侧(A-B)和底外侧至顶端(B-A)转运。使培育在大致37℃下进行120min,其中使用5 μ M地高辛(digoxin)作为阳性对照底物来确认测试系统的功能性。通过在培育期开始时定量供体隔室的培育介质中的底物浓度并且在培育期结束时定量供体隔室和受体隔室两者中的底物浓度来测定5 μ M化合物和对照化合物的转运。数据用于计算表观渗透率(Papp)。进行所有培育,重复三次,并且使用标记荧光黄确认细胞单层的完整性。

[0535] 使用以下等式计算渗透率系数Pexact(cm/s)：

[0536] $Papp = (dCr/dt) \times Vr / (A \times C0)$

[0537] $Pexact = -(Vd \times Vr) / (Vd + Vr) / A / t \times \ln(1 - (Vd + Vr) \times Cr / (Vd \times Cd + Vr \times Cr))$

[0538] 使用以下等式计算Pexact比：

[0539] Pexact或Papp比=Pexact或Papp(+抑制剂)/Pexact或Papp(-抑制剂)

[0540] 使用等式计算流出比：

[0541] 流出比=Pexact或Papp(BA)/Pexact或Papp(AB)

[0542] 其中dCr/dt是随时间变化的化合物在受体腔室中的累积浓度(μ M/s);Vr是受体腔室中的溶液体积(在顶端侧上为0.1mL,在底外侧上为0.3mL);A是用于转运的表面面积,即单层面积为0.11cm²;C0是供体腔室中的初始浓度(μ M)。数据展示于下表6中。

[0543] 表6.体外代谢稳定性和流出比

说 明 书

CN 113924305 A

85/88 页

实例编号	大鼠肝细胞 CL _{int} (微升/ 分钟/10 ⁻⁶ 个细胞)	人类肝微粒体 CL _{int} (μl/min/mg)	MDCK-Mdr1-BCRP 流出比
1	5.4	19.8	5.9
2	3.0	12.7	3.3
3	9.8	39.7	3.1
4	10.7	47.3	0.9
5	22.8	134.6	0.8
6	6.8	35.5	4.9
7	7.5	75.1	2.3
8	20.7	233.5	1.7
9	11.3	135.4	1.3
10	6.8	17.2	7.2
11	190.4	>300	1.8
12	70.3	108.7	2.1
13	< 1	12.9	2.8
14	1.7	9.9	2.3
15	14.6	69.6	0.8
16	11.8	26.4	0.8
17	7.2	54.7	1.5
18	31.7	153.0	1.1
19	6.8	4.3	13.1
20	52.0	117.1	0.8
21	10.0	101.6	1.3
22	40.9	114.8	
23	21.2	115.4	0.9

[0544]

[0545]

24	5.5	72.3	1.4
25	17.7	209.4	1.3
26	13.6	133.8	4.2
27	10.8	41.4	
28	14.1	70.0	
29	13.3	24.5	1.6
30	4.5	17.7	1.2
31	12.4	6.6	31.2
32	11.5	9.1	9.4
33	11.3	41.5	3.0
34	12.7	31.4	3.5
35	21.7	55.4	1.7
36	11.6	51.5	2.1
37	71.1	200.5	0.6
38	15.3	34.2	1.4
39	153.3	151.1	0.9
40	144.4	125.3	0.9
41	65.5	216.3	1.5
42	34.2	19.5	4.8
43	16.9	173.3	
44	1.9	8.8	4.3
45	64.0	70.0	
46	60.9	104.9	
47	43.3	89.7	
48	< 1	11.1	3.6
49	< 1	8.7	3.4
50	2.1	12.2	2.7
51	< 1	20.9	1.9
52	4.9	14.1	3.2
53	5.0	15.2	2.4
57	4.2	20.9	1.6
58	32.9	70.8	1.9
59	5.5	20.2	0.7
60	22.7	20.4	0.7
61	5.2	34.5	
62	11.7	42.4	
63	5.3	5.5	2.4
64	38.6	50.8	
65	13.3	17.1	2.0
66	15.3	120.1	1.9
67	8.3	103.8	
68	37.0	201.9	
69	6.3	13.6	3.0
72	1.0	5.9	7.5
80	9.3	23.5	19
86	33.4	>300	1.4
86-1	42.7	>300	0.9
89	9.6	10.1	0.8
102	32.0	15.0	14

[0546]	106	17.6	68.9	2.1
	107	4.5	13.9	2.7
	108	17.2	89.0	2
	109	11.9	87.2	2
	110	17.4	64.8	1.7
	111	17.0	68.5	1.8
	112	7.8	47.0	3.5
	113	8.2	60.5	4
	114	8.5	50.4	2
	115	7.7	53.5	2
	116	9.6	71.1	2
	117	9.1	50.4	1.8

[0547] 生物实例3:

[0548] 血脑屏障穿透分析

[0549] 人们认为,K_p,uu是大脑和血浆中非结合药物的浓度之间的关系,是预测CNS作用的关键,并且应是针对药物研发中所测量和优化的主要参数(Di L等人,《药物化学杂志》(Journal of Medicinal Chemistry)》[2013],56:2-12)。

[0550] 通过使用平衡透析方法用半渗透膜进行体外血浆和大脑结合分析。向血浆和稀释的脑匀浆(1:4,其中DPBS pH7.4)外加5μM测试化合物(重复三次),并且在37℃下在缓慢旋转的板中对相等体积的150μL 100mM PBS缓冲液(pH 7.4)透析18小时。在培育结束时,取出来自受体侧的50μL等分试样和来自供体腔室的5μL等分试样。用45μL空白血浆或脑匀浆进一步稀释5μL样品。将配对样品与缓冲液或空白血浆/脑匀浆进行基质匹配且混合2min,并随后用150μL冷乙腈与100ng/mL甲苯磺丁脲作为内标进行沉淀。在4000rpm下离心20分钟后,将上清液用0.1%甲酸水溶液稀释并进行LC/MS/MS分析(API 4000,应用生物系统公司(Applied Biosystems),福斯特市(Foster City))。通过缓冲液侧反应与脑匀浆/血浆侧反应的比率来计算脑匀浆和稀释的血浆中测试化合物的游离份数(fu),并且通过以下等式根据所测量的匀浆和血浆中的fu来计算未稀释的血浆和组织中测试化合物的游离份数(fu、p1和fu、br):fu,bl(fu,br)=(1/D)/[(1/fu-1)+1/D]。D是稀释系数。

[0551] 短期口服吸收(Short oral absorption;SOA)模型是用于鉴定化合物的脑渗透的体内筛选模型。向从北京维通利华(Beijing Vital River)购买的六只雄性Han Wistar大鼠口服给药10mg/kg的于1%甲基纤维素中的化合物。在给药后0.5小时、1小时、2小时、4小时、7小时和16小时,从小脑延髓池收集脑脊液(cerebral spinal fluid;CSF)。血浆样品将在收集的半小时内通过大致4℃、3,000g下的离心来进行血浆处理。将血浆样品移到标记的试管且存储在-80℃下直到分析为止。收获脑组织并在3X体积的100mM磷酸盐缓冲盐水(pH 7.4)中均质化。在LC/MS/MS分析之前,将所有样品存储在约-70℃下。

[0552] 通过掺入范围为0.5至500ng/mL的空白血浆、脑匀浆和人工CSF来制备标准品。通过添加3倍体积的含有冷乙腈的内标物(40ng/mL地塞米松(Dexamethasone)和40ng/mL双氯芬酸(Diclofenac))沉淀均质化的脑组织以及血浆样品,并且用100μL的含有冷乙腈的内标物沉淀10μL的CSF样品。涡旋2min并在14,000rpm下离心5min后,通过LC/MS/MS (API 4000,应用生物系统公司,福斯特市)分析上清液。在血浆样品分析中每个批料开始和结束时运行两组标准曲线。对于脑样品和CSF样品,分析一条标准曲线和测试样品。

[0553] 通过口服施用后,啮齿动物中的AUC大脑/AUC血浆来测量表示为大脑/血液比(K_p)

的大脑总水平。通过体外血浆和大脑结合分析测定生物基质中测试化合物的游离部分。通过以下等式计算 $K_{p,uu}$: $K_{p,uu} = AUC(\text{大脑}) / AUC(\text{血浆}) \times (f_u, \text{大脑} / f_u, \text{血浆})$ 。数据展示于表7中。

[0554] 表7. $K_{p,uu}$ (大脑) 数据

[0555]

实例编号	$K_{p,uu}$ (大脑)
1	0.17
2	0.14
7	0.10
21	0.08
24	0.10
34	0.24
106	0.19
107	0.30
110	0.25
111	0.36

[0556] 尽管已经参照具体实施方案(其中一部分是优选实施方案)具体地显示和描述本公开,但所属领域的技术人员应理解,可以在不脱离如本文所公开的本质和范围情况下,对其中的形式和细节作出各种变化。