一种吡唑并嘧啶酯类化合物

技术领域

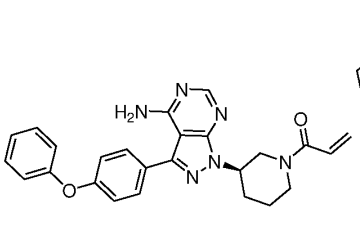
本发明属于医药技术领域，具体地说，是关于一种吡唑并嘧啶酯类化合物。

背景技术

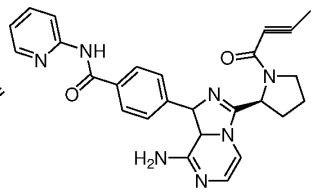
淋巴瘤是从淋巴细胞发展而来的血液癌症，淋巴细胞是在骨髓中产生并在血液及淋巴组织中发现的一种亚型血液细胞。淋巴瘤的两种主要类型是霍奇金淋巴瘤(HL)及非霍奇金淋巴瘤(NHL)，其中后者占 80%~90%。NHL 包括由淋巴组织引起的一组异质性恶性肿瘤，在中国最常见的亚型为 DLBCL（弥漫性大 B 细胞淋巴瘤）、CLL/SLL（慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞性淋巴瘤）、FL（滤泡性淋巴瘤）、MZL（淋巴结边缘区 B 细胞淋巴瘤）及 MCL（套细胞淋巴瘤），其中根据不同的淋巴细胞起源，约 85%为 B 细胞淋巴瘤。

BTK（布鲁顿酪氨酸激酶，Bruton's tyrosine kinase）是 Tec 家族中一种非受体类、细胞质中的酪氨酸蛋白激酶，参与 TLR、BAFF-R、BCR 以及 CXCR4/5 信号的转导，参与调控 B 细胞的增殖、分化、凋亡及迁移。BTK 在恶性 B 细胞淋巴瘤的发病过程中具有重要作用，BTK 抑制剂是 B 细胞淋巴瘤治疗的重要药物。

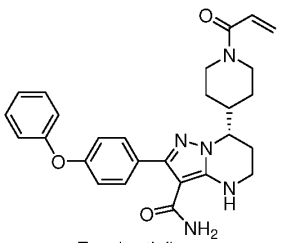
目前多种 BTK 抑制剂在临床试验中明确证实了其对于发病率最高的淋巴瘤——恶性 B 细胞淋巴瘤具有超越传统化疗的疗效。目前已上市的 BTK 抑制剂包括伊布替尼（Ibrutinib）、阿卡替尼(Acalabrutinib)、泽布替尼(Zanubrutinib)、替拉鲁替尼(Tirabrutinib)和奥布替尼(Orelabrutinib)等，其结构式分别如下所示：



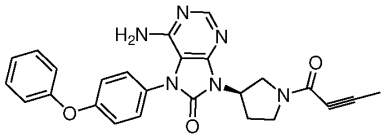
Ibrutinib



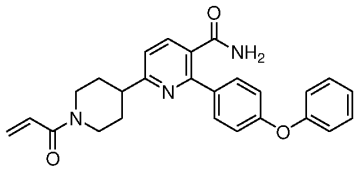
Acalabrutinib



Zanubrutinib



Tirabrutinib



Orelabrutinib

其中伊布替尼是全球第一个上市的 BTK 抑制剂，它改变了 CLL 和 MCL 的治疗模式，可以口服进行治疗，并获得相对持久的缓解。

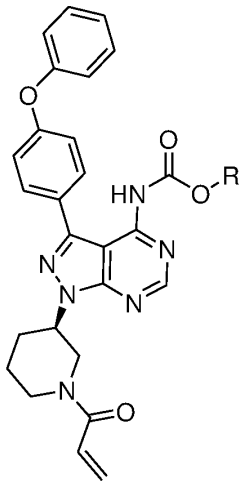
BTK 抑制剂的长期疗效已得到证实，但仍存在一些不足。如口服吸收后首过效应明显，导致绝对生物利用度低；体内血药达峰时间和消除半衰期均较短，导致血药浓度波动大。

使用 BTK 抑制剂一旦出现出血、骨髓抑制等不良反应，必须调整剂量甚至终止治疗。由于其吸收、消除速度快，血药浓度波动大，其较高的血药浓度峰值成为使用剂量的限制因素，直接影响药物疗效。

发明内容

基于 BTK 抑制剂在实际使用中所存在的上述缺点和不足，本案发明人对现有 BTK 抑制剂结构做了一系列的改造，并对改造后的各化合物的药物动力学等进行了研究，并从中成功地找到了一类吡唑并嘧啶酯类化合物。

因此，本发明的第一个方面，提供了一种吡唑并嘧啶酯类化合物，其结构如通式（I）所示：

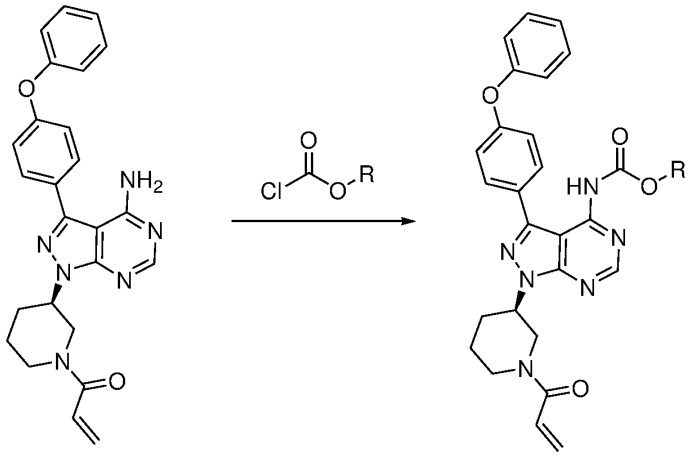


（I）

其中，R 选自-C_2H_5，-$CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_2CH_3$，-$(CH_2)_3CH_3$，-$CH_2CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_5CH_3$，-Bn，-$(CH_2)_{10}CH_3$，-$(CH_2)_{13}CH_3$，-$CH(C_2H_5)_2$，-$CH(CH(CH_3)_2)_2$，-$(CH_2)_7CH_3$以及-$CH_2CH(C_2H_5)_2$。

本发明的第二个方面，提供了所述吡唑并嘧啶酯类化合物的制备方法：

以市售的 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮为原料，与相应的氯甲酸酯反应得到目标化合物：



其中，R 选自-C_2H_5，-$CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_2CH_3$，-$(CH_2)_3CH_3$，-$CH_2CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_5CH_3$，-Bn，-$(CH_2)_{10}CH_3$，-$(CH_2)_{13}CH_3$，-$CH(C_2H_5)_2$，-$CH(CH(CH_3)_2)_2$，-$(CH_2)_7CH_3$以及-$CH_2CH(C_2H_5)_2$。

进一步的，所述吡唑并嘧啶酯类化合物的制备方法采用如下步骤：

在反应器中加入原料 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮、氯甲酸酯和溶剂，原料和氯甲酸酯溶于溶剂后加入碱发生反应。

进一步的，所述吡唑并嘧啶酯类化合物的制备方法还可采用如下步骤：

在反应器中加入原料 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮、溶剂和碱，原料和碱溶于溶剂后加入氯甲酸酯发生反应；

其中，以原料为基准，碱的加入量为 6.0±0.5eq.，氯甲酸酯的加入量为 2.0±0.5eq.，氯甲酸酯溶于溶剂后于 0-10℃加入反应。

进一步的，反应结束后通过后处理分离提纯，得到所述吡唑并嘧啶酯类化合物。

本发明的第三个方面，提供了所述吡唑并嘧啶酯类化合物用于制备治疗淋巴瘤和

淋巴细胞白血病等血液疾病的药物的应用。

本发明具有以下有益效果：

1、本发明的吡唑并嘧啶酯类化合物的首过效应较小，口服吸收后迅速进入血浆并水解为活性代谢物 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮，即水解为 4-氨基活性代谢物（4-AAM）发挥药效，所述 4-氨基活性代谢物是目前临床中普遍认可的活性物质。

与所述 4-氨基活性代谢物相比，本发明所述化合物由于吸收代谢行为不同，血药浓度峰值变小且 AUC 更大，药代动力学特性较现有的 BTK 抑制剂更适合临床需求。其中化合物 3 在血浆中水解速率最高，4-氨基活性代谢物 AUC 最高，且远高于化合物 3 本身。

2、本发明的吡唑并嘧啶酯类化合物的 AUC 相当于所述 4-氨基活性代谢物同物质的量给药的 77%-180%，且达峰时间最高达 2 h，平均滞留时间达 2.5-4.3h，较 4-氨基活性代谢物均有明显的优势。

其中，化合物 3 水解速率最高，4-氨基活性代谢物的 AUC 和血药浓度均高于化合物 3 本身，且 AUC 相当于所述 4-氨基活性代谢物同物质的量直接给药的 180%，达峰时间 2 h，平均滞留时间 2.9h；化合物 1 的 AUC 相当于所述 4-氨基活性代谢物同物质的量给药的 137%，达峰时间 1h，平均滞留时间 2.8h；化合物 4 的 AUC 相当于所述 4-氨基活性代谢物同物质的量给药的 127%，达峰时间 2h，平均滞留时间 2.5h；化合物 2 的 AUC 相当于所述 4-氨基活性代谢物同物质的量给药的 88%，达峰时间 2h，平均滞留时间 4.3h。

3、本发明的吡唑并嘧啶酯类化合物可提供更高的生物利用度、更平稳的血药浓度和更持久的作用时长。

附图说明

图 1 显示了 4-氨基活性代谢物大鼠灌胃给药后的药时曲线；

图 2 显示了化合物 1 大鼠灌胃给药后的药时曲线；

图 3 显示了化合物 2 大鼠灌胃给药后的药时曲线；

图 4 显示了化合物 3 大鼠灌胃给药后的药时曲线；

图 5 显示了化合物 4 大鼠灌胃给药后的药时曲线；

图 6 显示了化合物 5 大鼠灌胃给药后的药时曲线。

具体实施方式

下面结合附图，以具体实施例对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述。应理解，所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明的范围。

本发明的上下文中，所涉及的术语的定义如下：

血药浓度：指药物吸收后在血浆内的总浓度，包括与血浆蛋白结合的或在血浆游离的药物，有时也可泛指药物在全血中的浓度。药物作用的强度与药物在血浆中的浓度成正比，药物在体内的浓度随着时间而变化。

达峰时间：指单次服药以后，血药浓度达到峰值的时间。这个时间点，血药浓度最高，用来分析合理的服药时间。

AUC 是血药浓度-时间曲线下的面积的简写，在现代药物动力学的研究中，AUC 是药物体内的一个重要参数，该面积代表一次服药后某时间内的药物吸收总量，而且可用来计算药物的生物利用度。

消除半衰期：指药物达到分布平衡后的血药浓度减少 50%所需的时间。

首过效应：指内服药物经胃肠道给药，在尚未吸收进入血循环之前，在肠粘膜和肝脏被代谢，而使进入血循环的原形药量减少的现象。

本发明的上下文中，所涉及的结构通式（I）的化合物，其编号与 R 基的对应关系如表 1 所示：

表 1

化合物编号	R 基
1	$-CH(CH_3)_2$
2	$-(CH_2)_2CH_3$
3	$-(CH_2)_3CH_3$
4	$-CH_2CH(CH_3)_2$
5	$-(CH_2)_5CH_3$
6	-Bn
7	$-(CH_2)_{10}CH_3$
8	$-(CH_2)_{13}CH_3$

9	$-CH(C_2H_5)_2$
10	$-CH(CH(CH_3)_2)_2$
11	$-(CH_2)_7CH_3$
12	$-C_2H_5$
13	$-CH_2CH(C_2H_5)_2$

实施例 1 化合物 1 的制备

在氮气保护下的 500ml 三口瓶中，加入底物（1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮）10g、溶剂（二氯甲烷）200g 和氯甲酸异丙酯 10g，底物和氯甲酸异丙酯溶于溶剂后，降温至 10 度，滴加碱（吡啶）6.45g，10-20 分钟滴完，保温反应 3-4 小时，TLC 监控至几乎无原料点时停止反应。

加入冰水 100g，分液，水相通过 50g 二氯甲烷萃取，合并分液和萃取后的有机相，水洗，浓缩过柱得产品 5.0g，收率 41.9%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.78 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.37–7.40 (t, *J* = 5.2Hz, 2H), 7.15-7.18(m, 3H), 7.07-7.09(m, 2H), 6.54-6.65 (m, 1H), 6.27-6.33(t, *J* =12Hz, 1H), 5.66–5.74(dd, *J* =25.2, 6.8Hz, 1H), 4.82-4.86(m, 1H), 4.01-4.61(m, 1H), 3.19-3.82(m, 1H) , 2.38-2.46(m, 1H), 2,27-2.29(m, 1H) , 2.00-2.04(m, 2H), 1.74-1.76(m, 1H) , 1.20-1.34(m, 8H).

^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 171.19, 165.77, 158.51, 156.46, 155.13, 153.04, 150.88, 144.12, 129.94(2C), 129.70(2C), 128.19, 127.81, 127.56,123.98, 119.43(2C), 119.03(2C), 102.16, 70.41, 53.77, 52.75, 49.98, 46.01, 30.13(2C), 25.31。

质谱测得$[M+H]^+$=527.3，与分子式相符。

实施例 2 化合物 2 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于以氯甲酸丙酯替代氯甲酸异丙酯，得目标化合物 5.5g，收率 46.1%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.77 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.60-7.67 (m, 2H), 7.37– 7.40 (t, *J* = 5.2Hz, 2H), 7.15-7.19(m, 3H), 7.07-7.10(m, 2H), 6.54-6.65 (m, 1H), 6.27-6.33(t, *J* =12Hz, 1H), 5.66–5.74(dd, *J* =26.4, 6.8Hz, 1H), 4.89-4.91(m, 1H), 4.04-4.61(m, 1H), 3.20-3.82(m, 1H) , 2.38-2.45(m, 1H), 2,27-2.29(m, 1H) , 2.02-2.04(m, 2H), 1.74-1.76(m, 1H) , 1.52-1.64(m, 3H) , 1.26-1.46(m, 1H) , 0.79-1.04(m, 4H).

^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 165.78, 158.58, 156.45 155.22, 154.74, 152.79, 151.25,

143.97, 129.95(2C), 129.78(2C), 128.21, 127.55, 124.01, 119.42(2C), 119.14, 119.09(2C), 102.01, 53.79, 52.79, 49.99, 45.92, 42.20, 25.30, 23.88, 14.20。

质谱测得$[M+H]^+$=527.3，与分子式相符。

实施例 3 化合物 3 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于以氯甲酸丁酯替代氯甲酸异丙酯，得目标化合物 5.8g，收率 47.3%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.77 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.64-7.66 (m, 2H), 7.38– 7.44 (t, *J* = 5.2Hz, 2H), 7.16-7.19(m, 3H), 7.08-7.09(m, 2H), 6.54-6.65 (m, 1H), 6.27-6.33(t, *J* =12Hz, 1H), 5.66–5.74(dd, *J* =26.0, 6.4Hz, 1H), 4.89-4.90(m, 1H), 4.06-4.61(m, 1H), 3.19-3.81(m, 1H) , 2.35-2.45(m, 1H), 2,27-2.29(m, 1H) , 2.01-2.09(m, 2H), 1.74-1.76(m, 1H) , 1.52-1.60(m, 3H) , 1.14-1.38(m, 3H) , 0.81-0.95(m, 4H).

^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 165.77, 158.64, 156.42, 155.29, 154.74, 152.81, 151.13, 143.84, 129.95(2C), 129.81(2C), 128.19, 127.56,124.02, 119.56, 119.44(2C), 119.12(2C), 106.47, 66.20, 53.80, 52.79, 49.98, 45.91, 42.19, 29.99, 25.29, 23.88。

质谱测得$[M+H]^+$=541.3，与分子式相符。

实施例 4 化合物 4 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于以氯甲酸异丁酯替代氯甲酸异丙酯，得目标化合物 5.2g，收率 42.4%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.78 (s, 1H), 8.06(s, 1H), 7.76-7.77 (d, *J* = 4.4Hz, 2H), 7.37– 7.40 (t, *J* = 5.2Hz, 2H), 7.15-7.18(m, 3H), 7.07-7.09(m, 2H), 6.54-6.65 (m, 1H), 6.27-6.33(t, *J* =12.6Hz, 1H), 5.66–5.74(dd, *J* =26.0, 6.4Hz, 1H), 4.89-4.91(m, 1H), 4.04-4.61(m, 1H), 3.20-3.80(m, 1H) , 2.38-2.45(m, 2H), 2,27-2.29(m, 1H) , 2.01-2.04(m, 2H), 1.88-1.92(m, 2H) , 0.76-1.02(m, 8H).

^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 165.78, 158.63, 156.37, 155.32, 154.75, 152.77, 151.07, 143.77, 129.96(2C), 129.85(2C), 129.73, 128.21, 127.54, 124.06, 119.40(2C), 119.06(2C), 101.72, 72.23, 53.80, 52.79, 49.98, 46.09, 29.99(2C), 25.29, 23.87。

质谱测得$[M+H]^+$=541.3，与分子式相符。

实施例 5 化合物 5 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于以氯甲酸己酯替代氯甲酸异丙酯，得目标化合物 4.8g，收率 37.3%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.77 (s, 1H), 8.11-8.13 (d, *J* = 8.4Hz, 1H), 7.64-7.67(m, 2H), 7.37– 7.40 (t, *J* = 5.2Hz, 2H), 7.15-7.18(m, 3H), 7.07-7.09(m, 2H), 6.54-6.63 (m, 1H), 6.27-6.33(t, *J* =12.8Hz, 1H), 5.66–5.74(dd, *J* =26.0, 6.8Hz, 1H), 4.89-4.91(m, 1H), 4.01-4.61(m, 1H), 3.19-3.81(m, 1H) , 2.35-2.45(m, 1H), 2,27-2.29(m, 1H) , 2.01-2.03(m, 2H), 1.74-1.76(m, 1H) , 1.50-1.59(m, 3H) , 1.24-1.37(m, 7H) , 0.84-0.90(m, 4H).

^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 165.79, 158.56, 156.47, 155.27, 154.75, 152.79, 151.19, 143.78, 129.94(2C), 129.80(2C), 128.21, 127.54, 124.00, 119.56, 119.37(2C), 119.14(2C), 101.93, 66.51, 53.80, 52.79, 49.98, 45.92, 42.20, 32.77, 30.26, 29.98, 23.88, 14.20。

质谱测得$[M+H]^+$=569.3 与分子式相符。

实施例 6 化合物 6 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于以氯甲酸苄酯替代氯甲酸异丙酯，得目标化合物 6.5g，收率 49.9%。

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.77(s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.63-7.65 (m, 2H), 7.34– 7.38 (m, 7H), 7.13-7.18(m, 3H), 7.06-7.07(d, *J* = 5.6Hz, 2H), 6.53-6.65 (m, 1H), 6.27-6.33(t, *J* =9.2Hz, 1H), 5.65–5.74(dd, *J* =26.8, 6.0Hz, 1H), 5.10(s, 2H), 4.88-4.90(m, 1H), 4.04-4.60(m, 1H), 3.19-3.80(m, 1H) , 2.36-2.42(m, 1H), 2,26-2.28(m, 1H) , 2.01-2.03(m, 1H), 1.70-1.75(m, 3H).

^{13}C NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 165.77, 158.69, 156.35, 154.72, 152.54, 150.72, 143.62, 135.14, 129.99(2C), 129.88(2C), 128.75 , 128.65(2C), 128.58, 128.42(2C), 128.22, 127.54, 124.09, 124.06, 119.50(2C), 119.14(2C), 101.75, 67.87, 53.82, 45.84, 42.19, 30.28, 25.29。

质谱测得$[M+H]^+$=575.3，与分子式相符。

实施例 7 化合物 7 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于用 5eq.正十一醇和 7.5eq.三乙胺及 2.5 eq.三光气制备氯甲酸正十一醇酯粗品，所述粗品直接替代实施例 1 中的氯甲酸异丙酯，反应后柱层析得到目标化合物 1.38g，收率 19.1%。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.48 (s, 1H), 8.84 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.42 – 7.37 (m, 2H), 7.15 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.10 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.07 –

7.03 (m, 2H), 6.76 (ddd, *J* = 39.6, 16.3, 10.5 Hz, 1H), 6.07 (t, *J* = 15.7 Hz, 1H), 5.63 (dd, *J* = 32.5, 10.3 Hz, 1H), 4.45 – 4.01 (m, 5H), 2.13 – 1.98 (m, 2H), 1.86 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 1.58 (dd, *J* = 13.6, 6.6 Hz, 2H), 1.43 (s, 1H), 1.24 (dd, *J* = 24.6, 8.0 Hz, 18H), 0.81 (dd, *J* = 9.0, 4.6 Hz, 3H).

质谱测得$[M+H]^+$=639.39，与分子式相符。

实施例 8　化合物 8 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于用 5eq.正十四醇和 7.5eq.三乙胺及 2.5 eq.三光气制备氯甲酸正十四醇酯粗品，粗品直接替代实施例 1 中的氯甲酸异丙酯，反应后柱层析得到目标化合物 1.35g，收率 17.5%。

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11.47 (s, 1H), 8.88 – 8.77 (m, 1H), 7.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.40 – 7.36 (m, 2H), 7.14 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.11 – 7.05 (m, 2H), 7.05 – 7.01 (m, 2H), 6.82 – 6.67 (m, 1H), 6.05 (dd, *J* = 23.3, 17.2 Hz, 1H), 5.61 (dd, *J* = 49.7, 10.5 Hz, 1H), 4.44 ,4.00(d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 4.30 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.19 – 4.05 (m, 3H), 3.50, 2.90 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 3.12 – 3.05 (m, 1H) , 2.02 – 1.95 (m, 1H), 1.85 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 1.60 – 1.53 (m, 2H), 1.28 – 1.16 (m, 24H), 0.79 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

质谱测得$[M+H]^+$=681.23，与分子式相符。

实施例 9　化合物 9 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于用 5eq.3-戊醇和 7.5eq.三乙胺及 2.5 eq.三光气制备氯甲酸 3-戊醇酯粗品，粗品直接替代实施例 1 中的氯甲酸异丙酯，反应后柱层析得到目标化合物 1.11g，收率 17.1%。

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11.44 (s, 1H), 8.86 – 8.47 (m, 1H), 7.82 – 7.32 (m, 5H), 7.25 – 6.89 (m, 6H), 6.74 (ddd, *J* = 25.8, 16.0, 10.2 Hz, 1H), 6.05 (dd, *J* = 23.7, 17.5 Hz, 1H), 5.61 (dd, *J* = 55.1, 10.5 Hz, 1H), 5.02 – 3.74 (m, 6H), 1.79 – 1.29 (m, 8H), 0.81 (dt, *J* = 27.6, 7.4 Hz, 6H).

质谱测得$[M+H]^+$=555.19，与分子式相符。

实施例 10　化合物 10 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于用 5eq.2,4-二甲基-3-戊醇和 7.5eq.三乙胺及

2.5 eq.三光气制备氯甲酸-2,4-二甲基-3-戊醇酯粗品，粗品直接替代实施例 1 中的氯甲酸异丙酯，反应后柱层析得到目标化合物 1.07g，收率 16.3%。

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.43 (s, 1H), 8.88 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.42 – 7.37 (m, 2H), 7.17 – 7.04 (m, 5H), 6.86 – 6.68 (m, 1H), 6.07 (t, *J* = 15.8 Hz, 1H), 5.69 – 5.54 (m, 1H), 4.46 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 4.37 – 4.30 (m, 1H), 4.12 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 3.99 (dd, *J* = 14.2, 7.1 Hz, 1H), 2.07 (dd, *J* = 13.2, 10.0 Hz, 2H), 1.96 – 1.82 (m, 4H), 1.44 (s, 1H), 1.26 – 1.12 (m, 1H), 0.85 (d, *J* = 6.4 Hz, 12H).

质谱测得$[M+H]^+$=583.32，与分子式相符。

实施例 11　化合物 11 的制备

制备步骤与实施例 1 相同，差别在于用 5eq.正辛醇和 7.5eq.三乙胺及 2.5 eq.三光气制备氯甲酸正辛酯粗品，粗品直接替代实施例 1 中的氯甲酸异丙酯，反应后柱层析得到目标化合物 0.57g，收率 8.4%。

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11.49 (s, 1H), 8.84 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.40 (dd, *J* = 8.2, 7.7 Hz, 2H), 7.16 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.11 (t, *J* = 9.6 Hz, 2H), 7.05 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 6.84 – 6.69 (m, 1H), 6.08 (dt, *J* = 22.5, 11.3 Hz, 1H), 5.64 (dd, *J* = 49.0, 10.3 Hz, 1H), 4.38 (d, *J* = 85.6 Hz, 1H), 4.21 – 3.95 (m, 4H), 3.52,2.92 (t, *J* = 11.2 Hz, 1H), 3.11 (dd, *J* = 22.3, 11.0 Hz, 1H), 2.10 – 1.85 (m, 4H), 1.65 – 1.56 (m, 2H), 1.27 – 1.20 (m, 10H), 0.83 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H).

质谱测得$[M+H]^+$=597.35，$[M+Na]^+$=619.33，与分子式相符。

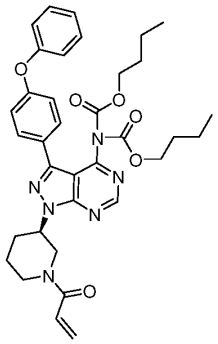
实施例 12 化合物 3 的制备

与实施例 3 相同，原料选取为氯甲酸丁酯，主要区别在于实施例 3 的加料顺序为底物和氯甲酸丁酯先溶于溶剂后，滴加碱发生反应，而本实施例的加料顺序为底物和碱溶于溶剂后，滴加氯甲酸丁酯发生反应，本对比例的制备步骤具体如下：

在反应瓶中加入底物（1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮）0.5g、溶剂（二氯甲烷）7.5mL 和 6.0 eq 碱（吡啶），底物和碱溶于溶剂后，将 2.0 eq 氯甲酸丁酯溶于溶剂（二氯甲烷）1mL 中于 0-10℃缓慢滴加至反应瓶中，升温至 10-20℃搅拌后取样检测。

通过 HPLC 分析显示反应产物中包括 0.97%的原料底物的剩余和 1.31%的双取代

产物，即结构如式（II）所示的产物，剩余部分为目标产物化合物 3。



（II）

对比例 1

原料同样选取为氯甲酸丁酯，加料顺序为底物和碱溶于溶剂后，滴加氯甲酸丁酯发生反应，本对比例的制备步骤具体如下：

在氮气保护下的 500ml 三口瓶中，加入底物（1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮）10g、溶剂（二氯甲烷）200g 和 3.6 eq 碱（吡啶），即吡啶 6.45g，底物和碱溶于溶剂后，于 25℃滴加 3.2 eq 氯甲酸丁酯，即氯甲酸丁酯 10g，滴完后于室温反应 3-4 小时。

通过 TLC 监控显示反应 3-4 小时后的主要产物为双取代产物，即结构如式（II）所示的产物，且部分起始物料未反应完。

对比例 2

原料同样选取为氯甲酸丁酯，加料顺序为底物和碱先溶于溶剂后，滴加氯甲酸丁酯发生反应，本对比例的制备步骤具体如下：

在反应瓶中加入底物（1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮）0.5g、溶剂（二氯甲烷）5mL 和 2.0 eq 碱（三乙胺），于 0-10℃缓慢滴加 2.0 eq 氯甲酸丁酯，搅拌 2h 后取样检测。

通过 HPLC 分析显示仍有大量原料剩余。

对比例 3

原料同样选取为氯甲酸丁酯，加料顺序为底物和碱先溶于溶剂后，滴加氯甲酸丁

酯发生反应，本对比例的制备步骤具体如下：

在反应瓶中加入底物（1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮）0.5g、溶剂（四氢呋喃）7.5mL 和 5.0 eq 碱（吡啶），将 6.0 eq 氯甲酸丁酯溶于溶剂（四氢呋喃）1mL 中并于 0-10℃缓慢滴加至反应瓶中，升温至 10-20℃搅拌后取样检测。

通过 HPLC 分析显示反应产物中，包括 53%目标产物化合物 3，和 32%双取代产物，即结构如式（II）所示的产物。

对比例 4

原料同样选取为氯甲酸丁酯，加料顺序为底物和碱先溶于溶剂后，滴加氯甲酸丁酯发生反应，本对比例的制备步骤具体如下：

在反应瓶中加入底物（1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮）0.5g、溶剂（二氯甲烷）7.5mL 和 6.0 eq 碱（吡啶），将 3.0 eq 氯甲酸丁酯溶于溶剂（二氯甲烷）1mL 中并于 0-10℃缓慢滴加至反应瓶中，升温至 10-20℃搅拌后取样检测。

通过 HPLC 分析显示反应产物中，包括 74.4%目标产物化合物 3，和 18.6%双取代产物，即结构如式（II）所示的产物。

根据上述实施例 12 和对比例 1-4 分析可得，采用底物和碱先溶于溶剂后，再滴加氯甲酸丁酯的加料方式时，须严格控制反应条件，包括碱的加入比例、氯甲酸酯的加入比例和氯甲酸酯的加入温度，以实施例 12 条件控制反应时，有利于生成 4-氨基单取代的目标产物；否则易反应得到 4-氨基双取代的杂质或导致原料反应不完全，无法得到 4-氨基单取代的目标产物。

根据对比例 1 结果，对所述碱和氯甲酸酯的加入比例、氯甲酸酯的加入温度控制不当时，无法生成单取代目标产物；

根据对比例 2 结果，对所述碱的加入比例控制不当时，导致取代反应难以发生；

根据对比例 3、4 结果，对所述碱和氯甲酸酯的加入比例控制不当时，极易生成相当比例的双取代杂质，使得单取代的目标产物的含量大大降低。

实施例 13　化合物药代动力学检测

仪器：超高压液相色谱（Acquity UPLC, Waters）、三重四极杆质谱（Qtrap 5500，Sciex）、高速冷冻离心机（5430R, Eppendorf）。

色谱条件：色谱柱 Waters BEH C18 2.1 x 50 mm，1.7μm，柱温 45 ℃。流动相由 0.1%甲酸水溶液（A）和乙腈构成，梯度见表 2 所示：

表 2

Gradient Table			
Time	Flow Rate	%A	%B
initial	0.400	70.0	30.0
3.00	0.400	0.0	100.0
3.50	0.400	0.0	100.0
4.00	0.400	0.0	100.0
4.10	0.400	70.0	30.0
5.10	0.400	70.0	30.0

质谱条件：正离子多反应监测（MRM）模式，Curtain Gas 及 Gas1、Gas2 均设为 45 psi，离子源温度 500℃，离子源电压 5000V。

各化合物的母离子（Q1）、子离子（Q3）及碰撞能量（CE）见表 3：

表 3

	ID	Q1 Mass（Da）	Q3 Mass（Da）	Time（msec）	CE(volts)
1	4-AAM	441.200	304.100	100.0	40.000
2	1	527.200	441.200	100.0	35.000
3	2	527.200	441.200	100.0	35.000
4	3	541.300	441.200	100.0	40.000
5	4	541.300	441.200	100.0	40.000
6	5	569.300	441.200	100.0	40.000
7	IS	570.300	138.100	100.0	35.000

实验动物：雄性 SD 大鼠，体重 200-240 克，实验前禁食过夜。

药物配制：精确称量所述 4-氨基活性代谢物及各供试化合物（化合物 1~5），给药剂量 30.0 mg/kg，分散于 0.5%CMC-Na 溶液中制备成混悬液，给药体积 2 ml/200g，给药前配制。

动物给药取血：大鼠灌胃给药，给药前及给药后 10 min，20 min，40 min，1 h，

1.5 h，4.5h，7 h，9 h，10h、22 h、24h 取血 100 ul，置于冰浴上，离心制备血浆，冻存。

血药浓度数据及药代动力学参数计算：

血药浓度数据由 MultiQuan3.0（Sciex）处理，药代动力学参数计算采用 DAS 2.0 软件进行分析，血药浓度单位为 ug/L。

图 1-图 6 分别显示了 4-氨基活性代谢物以及化合物 1-5 测试组的血药浓度与时间的关系图，化合物 1-5 吸收后迅速进入血浆并水解为所述 4-氨基活性代谢物（4-AAM）发挥药效。表 4 显示了药代动力学的试验结果。

表 4

参数	单位	4-AAM	化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4	化合物 5
AUC(0-t)	ug/L*h	757.5	1038.6	663.0	1366.7	964.1	584.0
AUC(0-∞)	ug/L*h	822.2	1059.6	706.3	1375.6	976.4	587.1
AUMC(0-t)		1316.6	2950.4	2844.3	3939.9	2405.5	1659.5
AUMC(0-∞)		2805.6	3200.9	3495.04	4052.0	2586.7	1696.7
MRT(0-t)	h	1.7	2.8	4.29	2.9	2.5	2.8
MRT(0-∞)	h	3.4	3.0	4.9	2.9	2.6	2.9
VRT(0-t)	h^2	2.0	4.6	7.2	3.3	2. 9	3.0
VRT(0-∞)	h^2	47.6	6.3	13.5	3.8	4.8	3.5
t1/2z	h	8.9	1.7	2.338	1.3	2.5	1.3
Tmax	h	1.5	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0
CLz/F	L/h/kg	36.5	28.3	42.5	21.8	30.7	51.1
Vz/F	L/kg	470.6	71.3	143.3	42.0	109.1	92.6
Cmax	ug/L	312.0	257.2	111.0	304.4	256.7	143.9

由图 1-6 以及表 4 的药代动力学试验结果可知，本发明所述的化合物首过效应小，口服吸收后在血浆中发挥药效，化合物 1、3、4 同物质的量给药的 AUC 显著高于 4-氨基活性代谢物，且本发明的化合物的血药浓度峰值变小、达峰时间延后、平均滞留时间更长，药代动力学特性更适合临床需求。

其中，化合物 3 的水解速率最高，4-氨基活性代谢物的 AUC 和血药浓度均高于化合物 3 本身，且 AUC 相当于所述 4-氨基活性代谢物同物质的量直接给药的 180%，达峰时间 2 h，平均滞留时间 2.9h；

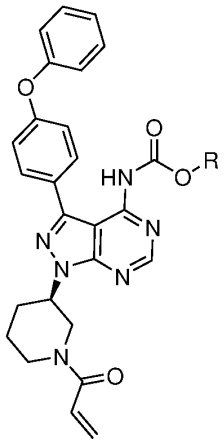
化合物 1 的 AUC 相当于 4-氨基活性代谢物同物质的量给药的 137%，达峰时间 1h，平均滞留时间 2.8h；化合物 4 的 AUC 相当于 4-氨基活性代谢物同物质的量给药

的 127%，达峰时间 2h，平均滞留时间 2.5h；化合物 2 的 AUC 相当于 4-氨基活性代谢物同物质的量给药的 88%，达峰时间 2h，平均滞留时间 4.3h。

本发明所述化合物可提供更高的生物利用度、更平稳的血药浓度和更持久的作用时长，较现有药物均有明显的改善。

权 利 要 求 书

1、一种吡唑并嘧啶酯类化合物，其特征在于，所述化合物的结构通式如下：



其中，R 选自-C_2H_5，-$CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_2CH_3$，-$(CH_2)_3CH_3$，-$CH_2CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_5CH_3$，-Bn，-$(CH_2)_{10}CH_3$，-$(CH_2)_{13}CH_3$，-$CH(C_2H_5)_2$，-$CH(CH(CH_3)_2)_2$，-$(CH_2)_7CH_3$以及-$CH_2CH(C_2H_5)_2$。

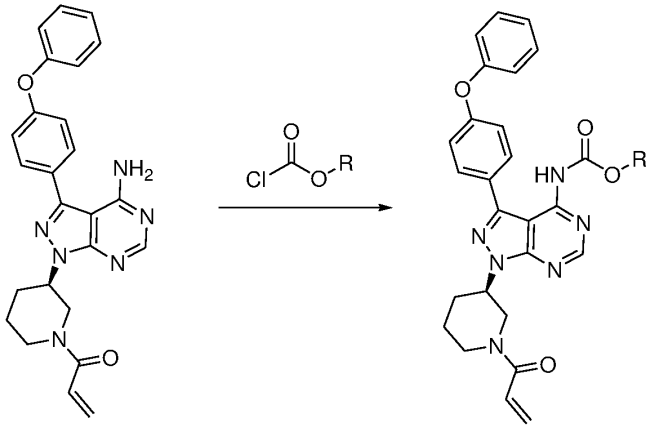
2、根据权利要求 1 所述的吡唑并嘧啶酯类化合物，其特征在于，所述 R 选自：-$CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_2CH_3$，-$(CH_2)_3CH_3$，-$CH_2CH(CH_3)_2$ 以及-$(CH_2)_5CH_3$。

3、根据权利要求 2 所述的吡唑并嘧啶酯类化合物，其特征在于，所述 R 选自：-$(CH_2)_3CH_3$。

4、根据权利要求 2 所述的吡唑并嘧啶酯类化合物，其特征在于，所述 R 选自：-$(CH_2)_2CH_3$。

5、根据权利要求 2 所述的吡唑并嘧啶酯类化合物，其特征在于，所述 R 选自：-$CH(CH_3)_2$ 和-$CH_2CH(CH_3)_2$。

6、权利要求 1-5 中任一项所述的吡唑并嘧啶酯类化合物的制备方法，其特征在于，所述方法以 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮为原料，与相应的氯甲酸酯反应得到目标化合物，反应式如下：



其中，R 选自-C_2H_5，-$CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_2CH_3$，-$(CH_2)_3CH_3$，-$CH_2CH(CH_3)_2$，-$(CH_2)_5CH_3$，-Bn，-$(CH_2)_{10}CH_3$，-$(CH_2)_{13}CH_3$，-$CH(C_2H_5)_2$，-$CH(CH(CH_3)_2)_2$，-$(CH_2)_7CH_3$以及-$CH_2CH(C_2H_5)_2$。

7、根据权利要求 6 所述的制备方法，其特征在于，所述制备方法包括如下步骤：

在反应器中加入原料 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮、氯甲酸酯和溶剂，原料和氯甲酸酯溶于溶剂后加入碱发生反应。

8、根据权利要求 6 所述的制备方法，其特征在于，所述制备方法包括如下步骤：

在反应器中加入原料 1-[(3R)-3-[4-氨基-3-(4-苯氧基苯基)-1H-吡唑并[3,4-D]嘧啶-1-基]-1-哌啶基]-2-丙烯-1-酮、溶剂和碱，原料和碱溶于溶剂后加入氯甲酸酯发生反应；

其中，以原料为基准，碱的加入量为 6.0±0.5eq.，氯甲酸酯的加入量为 2.0±0.5eq.，氯甲酸酯溶于溶剂后于 0-10℃加入反应。

9、权利要求 1-5 中任一项所述的吡唑并嘧啶酯类化合物的应用，其特征在于，用于制备治疗淋巴瘤和淋巴细胞白血病的药物。