

一种IRAK抑制剂及其制备方法和用途

本申请要求 2019 年 9 月 24 日向中国国家知识产权局提交的，专利申请号为 201910906833.7，发明名称为“一种 IRAK 抑制剂及其制备方法和用途”的在先申请的优先权。所述申请的全文通过引用的方式结合于本申请中。

技术领域

本发明涉及药物化学领域，具体的涉及一种适用于治疗癌症和与白细胞介素-1 受体相关激酶(IRAK)相关的炎症疾病的化合物，并且更具体地是调节 IRAK-4 的功能的化合物。

背景技术

白细胞介素-1 受体相关激酶(IRAK) 是存在于细胞内的一类丝/苏氨酸蛋白激酶家族，有四个成员：IRAK1，IRAK2，IRAK-M 和 IRAK4，共同特征是具有典型的 N-末端死亡结构域，该结构域介导与 MyD88-家族衔接蛋白和位于中心的激酶结构域之间的相互作用，其中 IRAK1 和 IRAK4 具有激酶活性。IRAK4 是 Toll 样受体(TLR)/白介素-1 受体(IL-1R)介导的炎症信号转导通路下游的关键因子，TLR 细胞外部分识别病原特异性分子(如脂多糖，多肽，病毒 DNA 等)，与配体结合后，细胞内部分招募 MyD88 等形成复合体，激活 IRAK1 自磷酸化，进而活化下游丝氨酸/苏氨酸激酶 TAK1，激活 NF- κ B 及 MAPK 信号通路，随后产生促炎细胞因子、趋化因子和破坏性酶，最终导致产生炎症反应，介导先天性免疫。IL-1R 参与宿主防御和造血，是连接先天免疫和获得性免疫的桥梁。(Flannery, et. al. Biochem. Pharmacol., 2010, 80 (12): 1981-1991)。

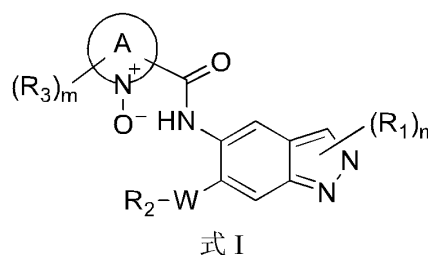
类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性、炎性、系统性的自身免疫性疾病，以关节和关节组织非化脓性炎症为主要特征，主要表现为关节滑膜炎，终致关节的软骨、韧带、肌腱等各种组织以及多脏器损害。研究显示，在 RA 患者中有多种免疫细胞参与并介导了自身免疫性炎症，其中包括 T/B 淋巴细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等。同时也有大量研究证明细胞因子与 RA 疾病直接关联，如白介素类(IL-1/IL-6 等)，TNF- α 等。

研究表明，在 LPS 或 CpG 诱导的人白细胞中，IRAK4 抑制剂能够有效地阻断促炎细胞因子肿瘤坏死因子(TNF)的产生；在胶原蛋白诱导关节炎的小鼠模型中，IRAK4 抑制剂能够显著抑制 TNF 的释放，从而控制疾病的进程；在 MyD88 依赖性炎症性痛风小鼠模型中，IRAK4 抑制剂能够剂量依赖性地阻断白细胞浸润(Priscilla N, et. al. J. Exp. Med., 2015, 13 (212): 2189-2201)。

因此可以认为，IRAK4 依赖性的 TLR/IL-1R 信号通路的过度激活与类风湿性关节炎发生发展密切相关，另多项研究也证实，IRAK4 酶活化与以下疾病的发生发展密切相关，如肿瘤、痛风、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、代谢综合症、动脉粥样硬化、心肌梗死、脓血症、炎症性肠病、哮喘和过敏等疾病(Chaudhary D, et. al., J. Med. Chem. 2015, 58 (1): 96-110)。

发明内容

为解决现有技术中存在的问题，本发明提供如下式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐：



其中，

环 A 为含有至少一个含 N 的 5-14 元杂芳基或 5-12 元杂环基；

每个 R_1 、 R_2 、 R_3 各自独立的选自氢、卤素、CN、OH 或任选被一个、两个或更多个 R 取代的如下基团：(C₁-C₁₂) 脂肪烃基，任选地包含一个、两个或更多个杂原子 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基，C₃₋₁₂ 环烷基、3-12 元杂环基、C₆₋₂₀ 芳基或 5-14 元杂芳基、-NR_aR_b；

W 选自 O，S，NH，单键；

每个 R_a 、 R_b 独立的选自 H、(C₁-C₁₂) 脂肪烃基；

每个 R 独立的选自卤素、CN、OH、SH、NR_aR_b 或选自任选被一个、两个或更多个 R' 取代的如下基团：(C₁-C₁₂) 脂肪烃基，任选地包含一个、两个或更多个杂原子 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基，C₃₋₁₂ 环烷基、3-12 元杂环基、C₆₋₂₀ 芳基或 5-14 元杂芳基；

每个 R' 独立的选自卤素、CN、OH、SH、NR_aR_b；

n 选自 1、2、3；m 选自 1、2、3、4、5、6。根据本发明的实施方案，

所述“任选地包含一个、两个或更多个杂原子的 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基”可以选自 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基氧基、(C₁-C₁₂) 脂肪烃基硫基、(C₁-C₆) 脂肪烃基氧基(C₁-C₆) 脂肪烃基、(C₁-C₆) 脂肪烃基硫基(C₁-C₆) 脂肪烃基、N-(C₁-C₃) 脂肪烃基胺基(C₁-C₆) 脂肪烃基、N,N-二-(C₁-C₃) 脂肪烃基胺基(C₁-C₆) 脂肪烃基；

所述“含有至少一个含 N 的 5-14 元杂芳基或 5-12 元杂环基”是指所述杂芳基或杂环基中至少含有一个氮原子，还可以含有其他选自 N、O、或 S 的一个或多个杂原子，例如选自吡啶，吡咯，哌啶或四氢吡咯等。

所述 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基可以选自 (C₁-C₁₂) 烷基、(C₂-C₁₂) 烯基、(C₂-C₁₂) 炔基，优选的，所述 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基可以选自 (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₆) 烯基、(C₂-C₆) 炔基；

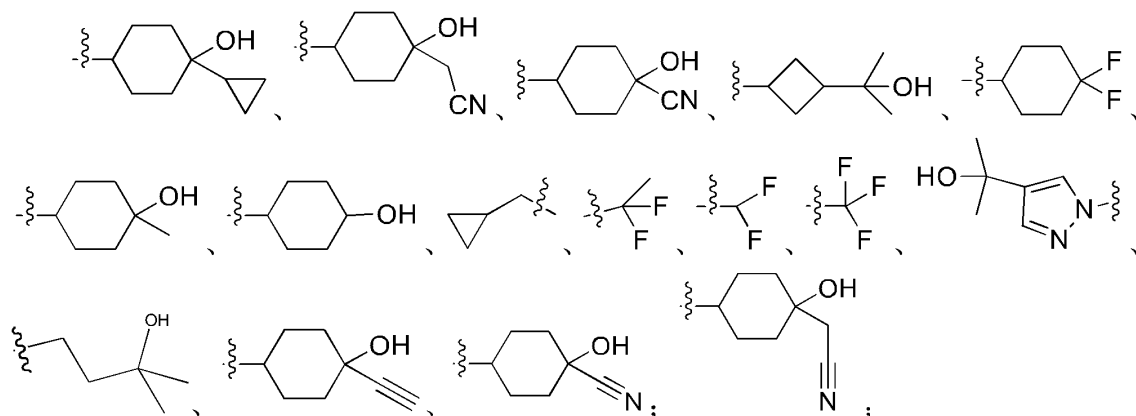
所述“卤素”选自 F、Cl、Br、I；

所述“C₃₋₁₂ 环烷基”可以选自环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

根据本发明的实施方案，

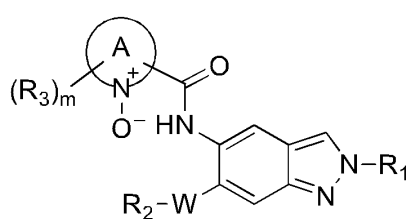
所述 R_1 、 R_2 、 R_3 可以各自独立的选自任选被一个、两个或更多个 R 取代的如下基团：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-甲基乙烯基、1-丁烯基、1-乙基乙烯基、1-甲基-2-丙烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-甲基-1-丙烯基、2-甲基-2-丙烯基、1-戊烯基、1-己烯基、乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、1-甲基-2-丙炔基、3-丁炔基、1-戊炔基、1-己炔基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、甲氧基，乙氧基，丙氧基，丁氧基，戊氧基，甲氧基甲基，乙氧基

基甲基、丙氧基甲基、甲氧基乙基、乙氧基乙基、丙氧基乙基、甲氧基丙基、乙氧基丙基、丙氧基丙基、N-甲基胺甲基、N-甲基胺乙基、N-乙基胺乙基、N,N-二甲基胺甲基、N,N-二甲基胺乙基、N,N-二乙基胺乙基、氨基、N,N-二甲基氨基、N,N-二乙基氨基、四氢吡咯基、哌啶基、吡啶基,吡嗪基、吡咯基,咪唑基、吡唑基、恶唑基、异恶唑基、

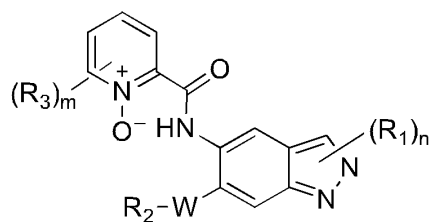


所述  示意所述基团的连接位点。

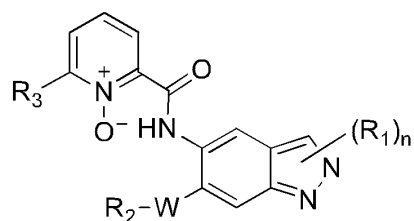
根据本发明的实施方案，所述式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐中，式 I 所示的化合物可以选自如下式 Ia、式 Ib、式 Ic、式 Id、式 Ie 结构：



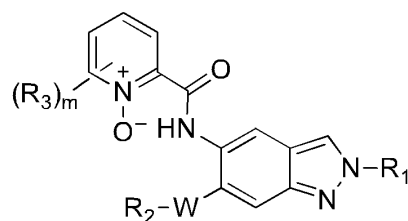
式 Ia



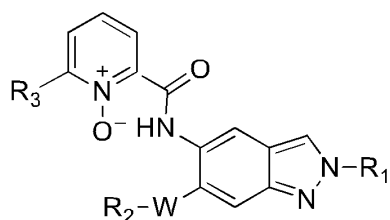
式 Ib



式 Ic



式 Id

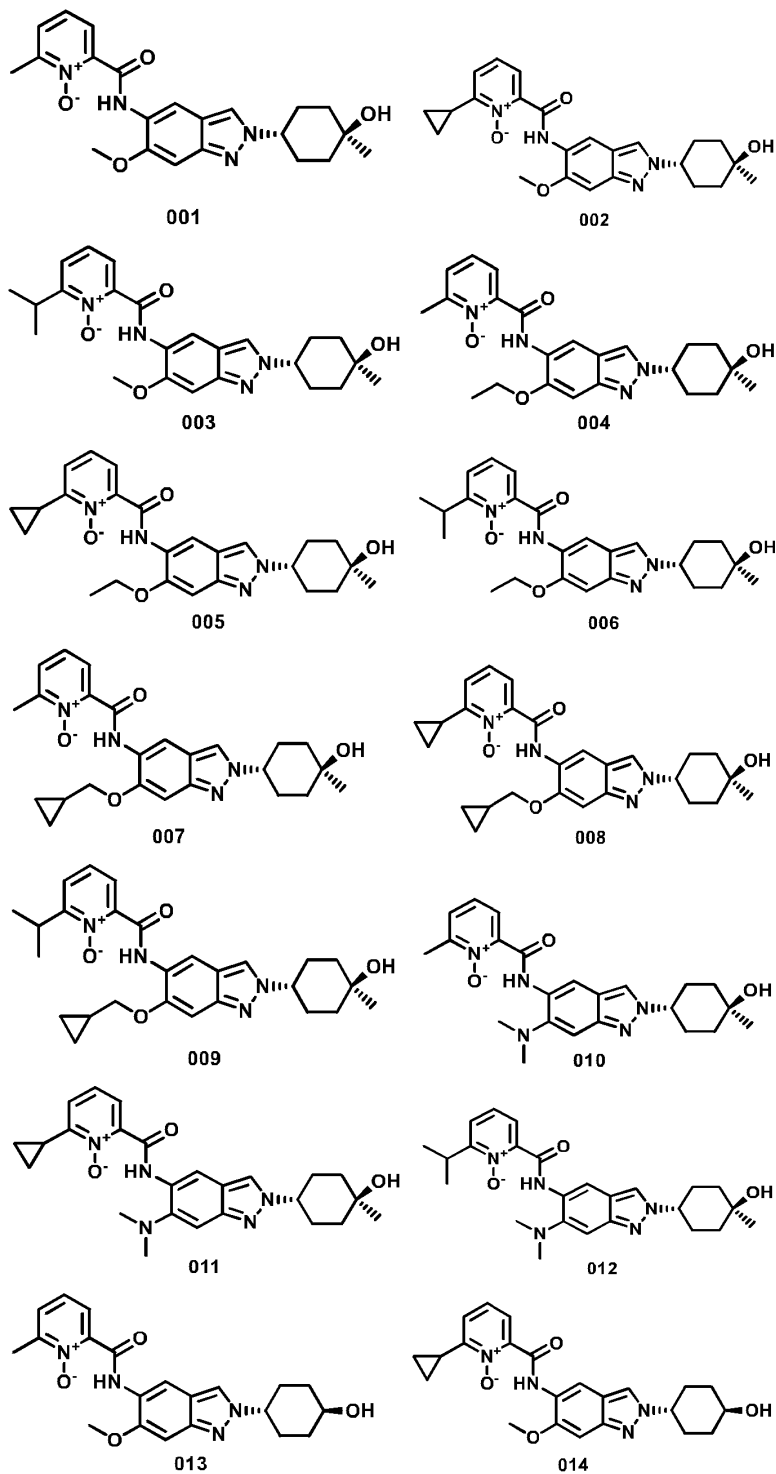


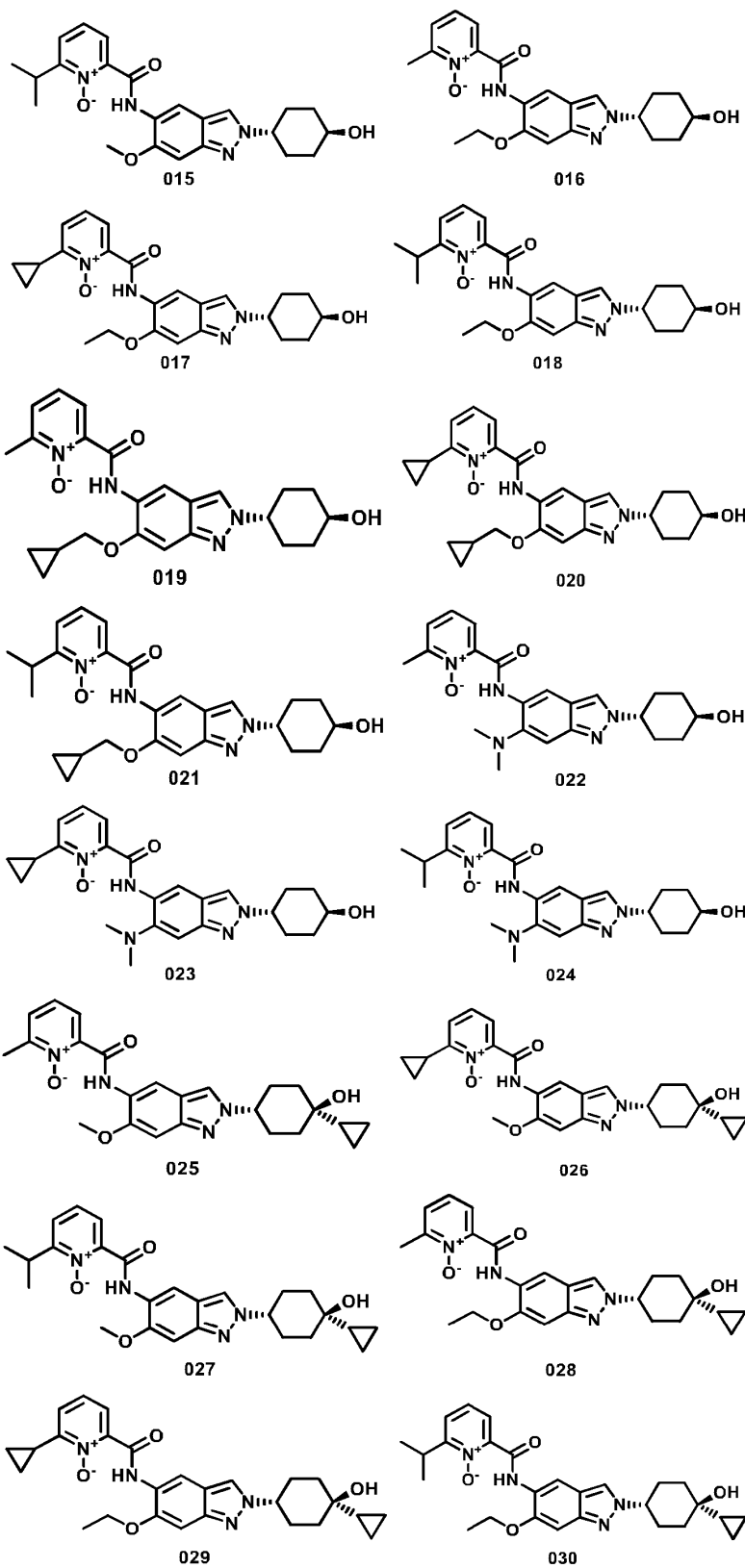
式 1e

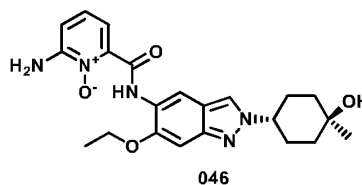
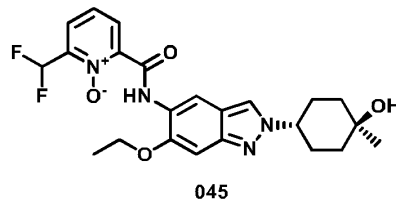
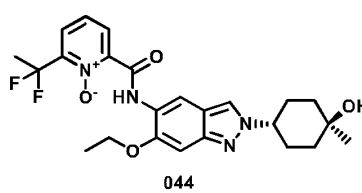
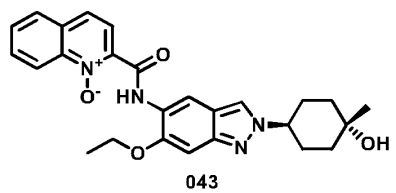
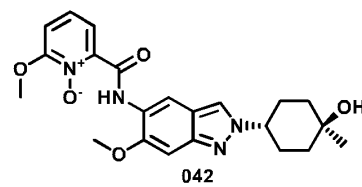
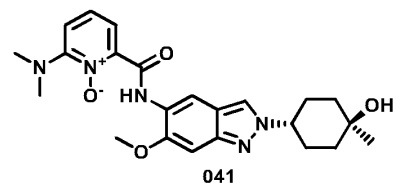
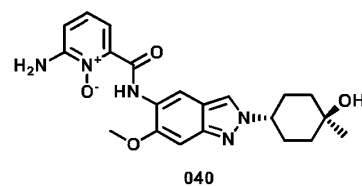
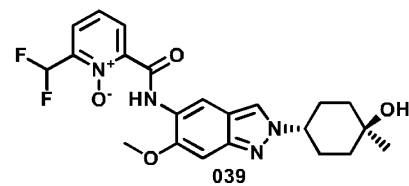
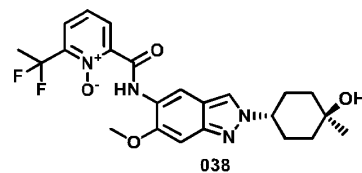
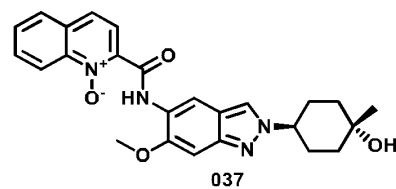
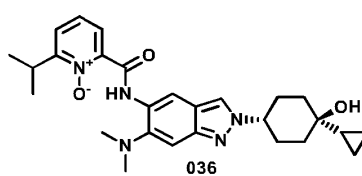
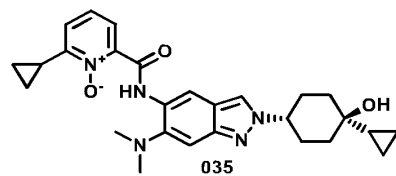
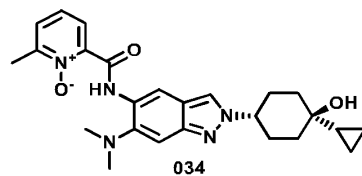
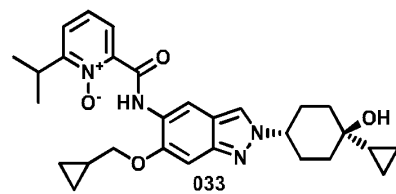
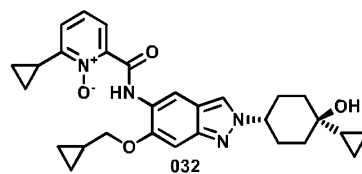
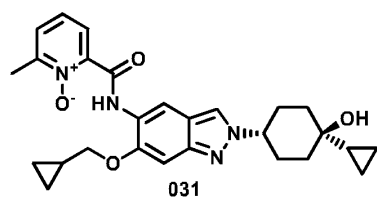
所述式 Ia、式 Ib、式 Ic、式 Id、式 Ie 中, R_1 , R_2 , R_3 , m , n , W 如式 I 所定义。

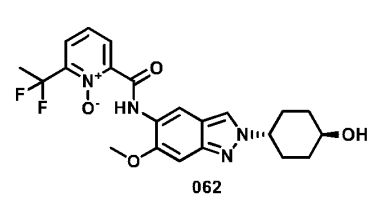
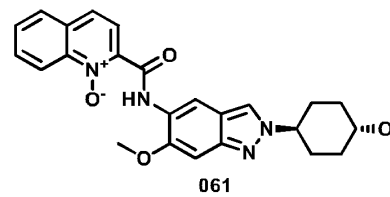
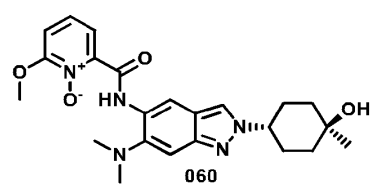
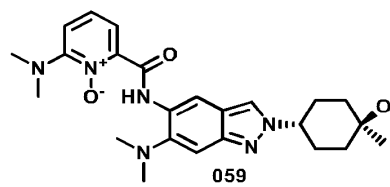
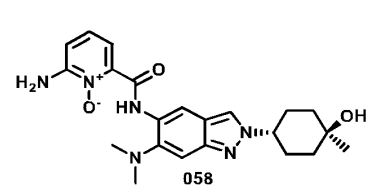
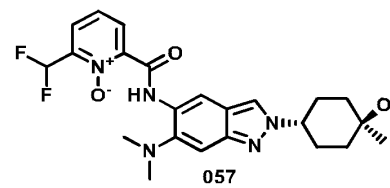
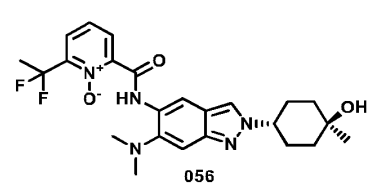
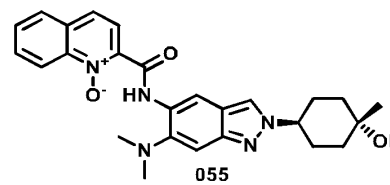
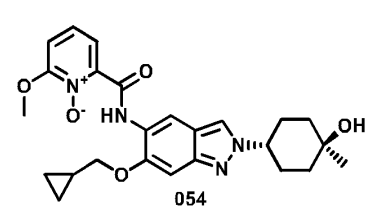
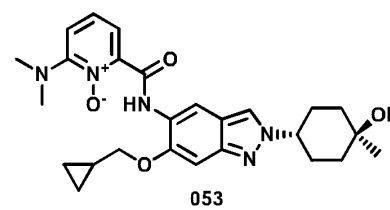
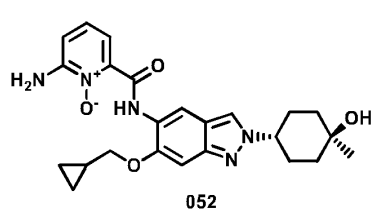
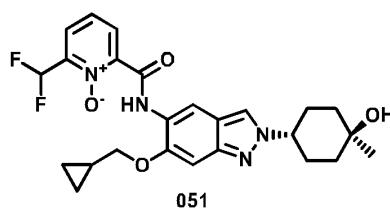
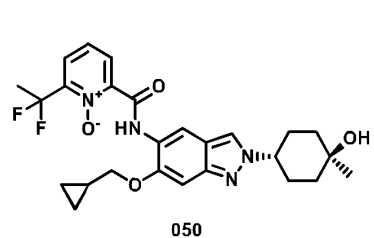
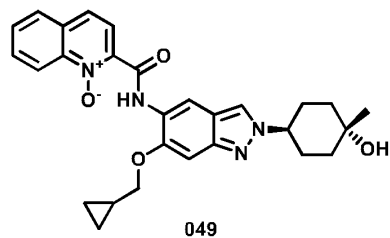
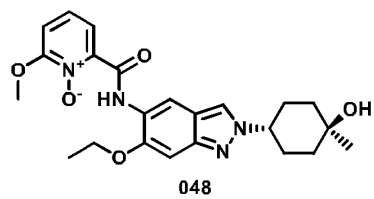
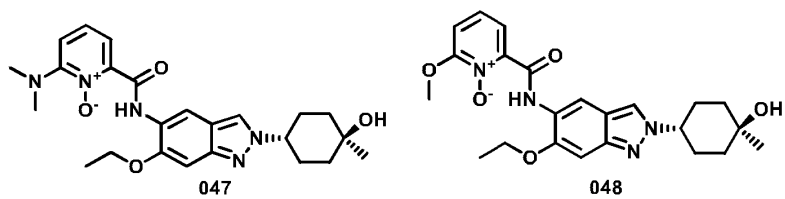
根据本发明的实施方案,所述式I所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、

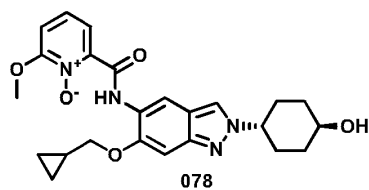
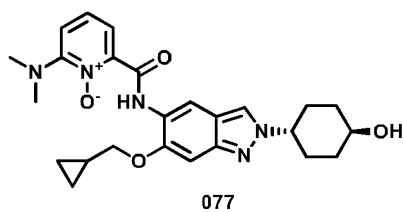
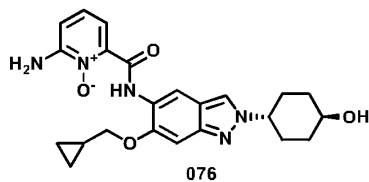
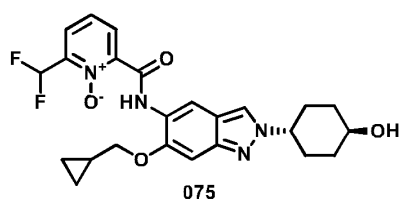
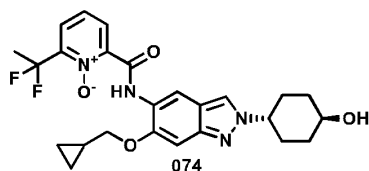
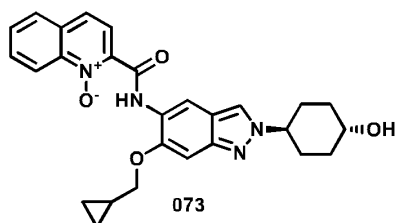
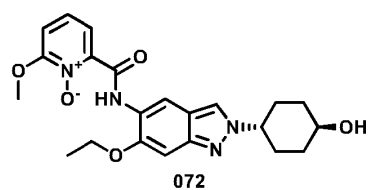
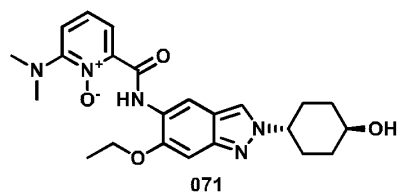
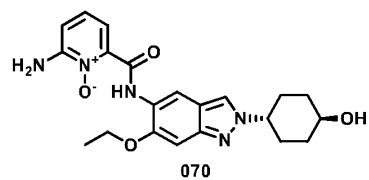
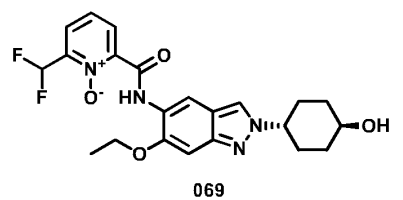
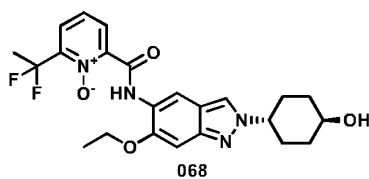
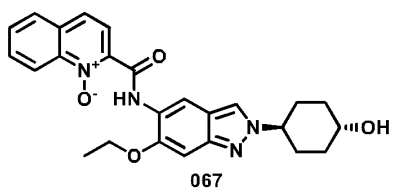
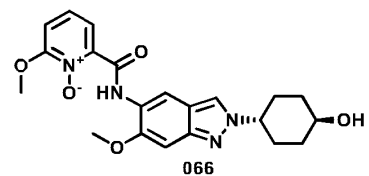
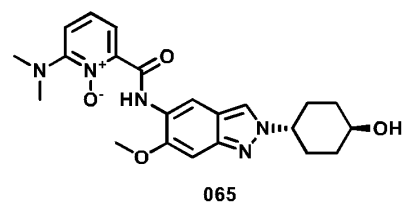
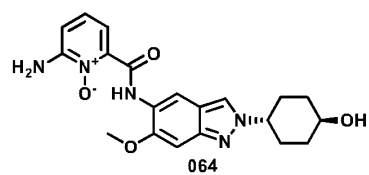
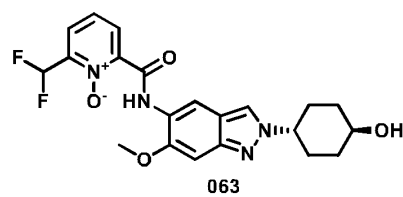
同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐中，式 I 所示的化合物可以选自如下结构：

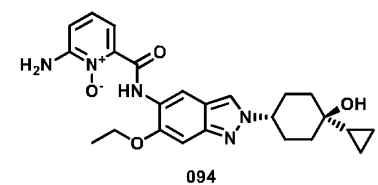
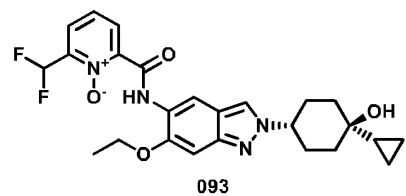
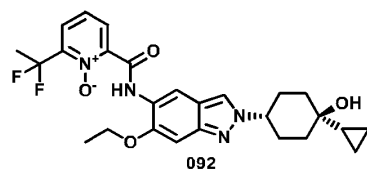
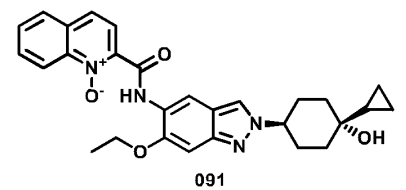
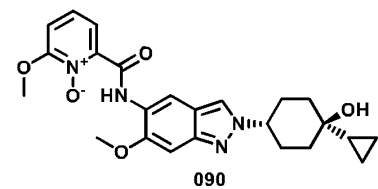
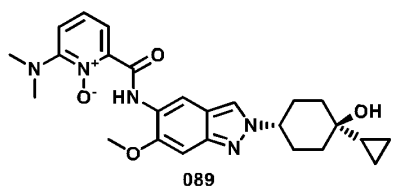
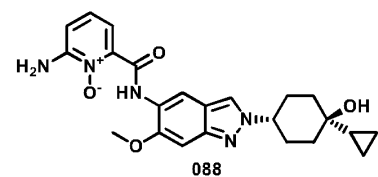
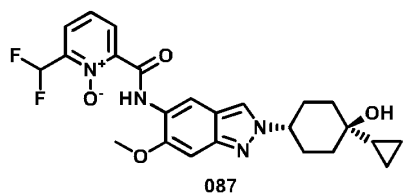
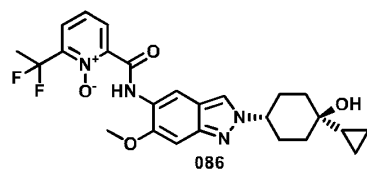
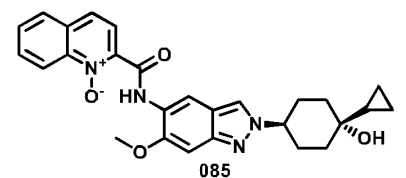
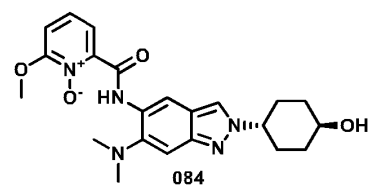
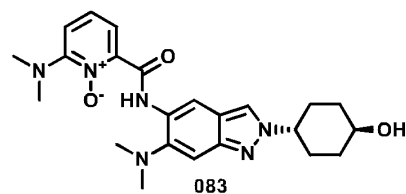
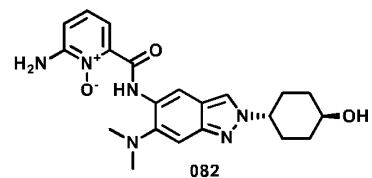
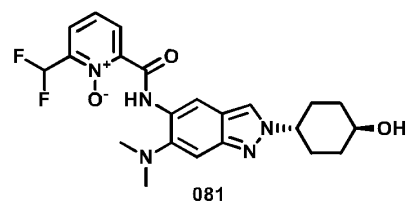
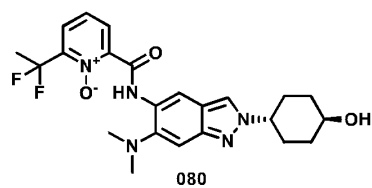
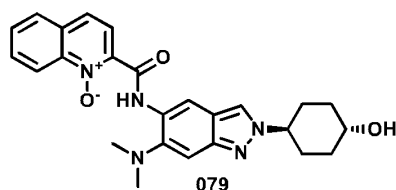


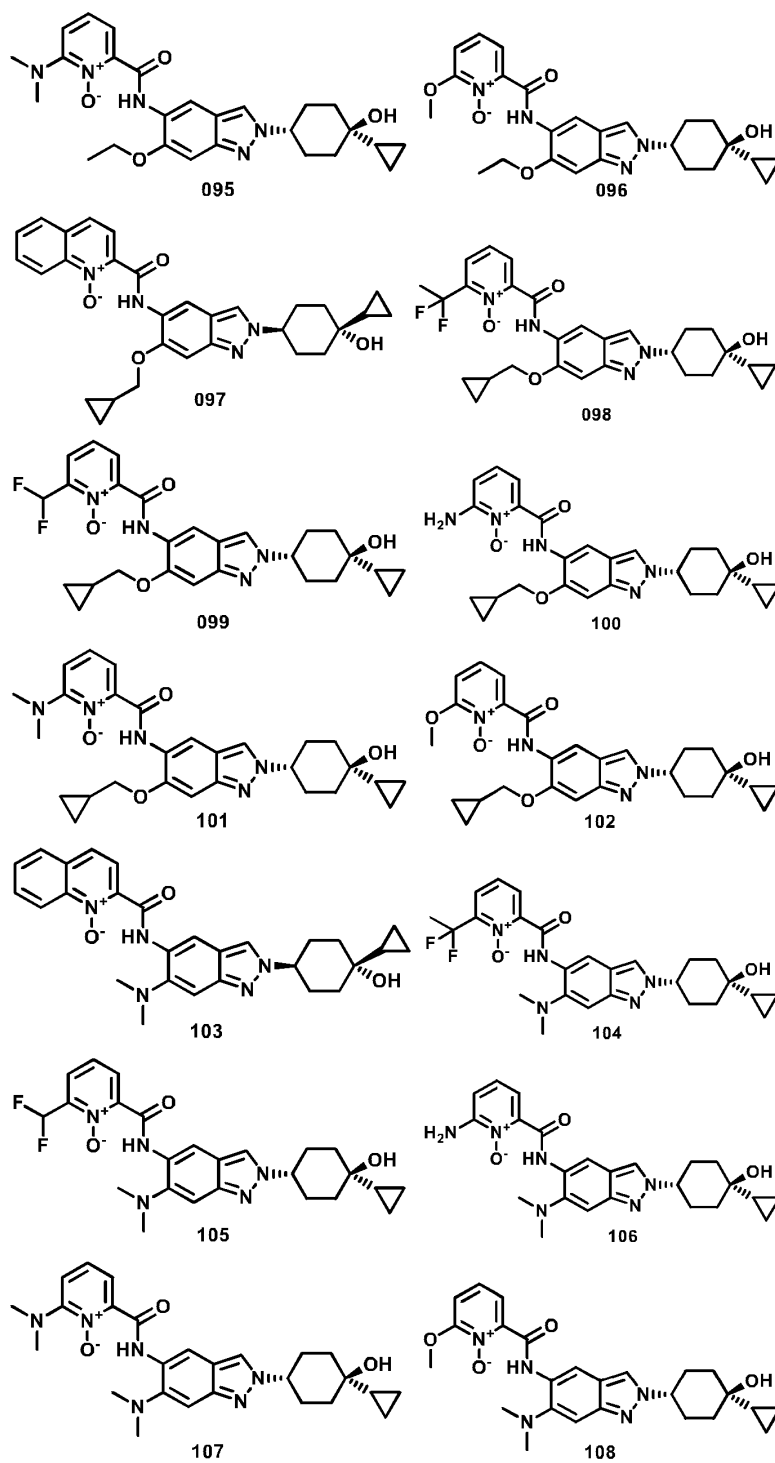


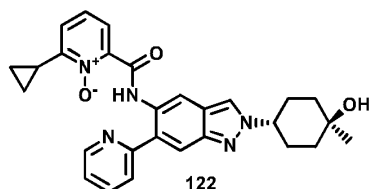
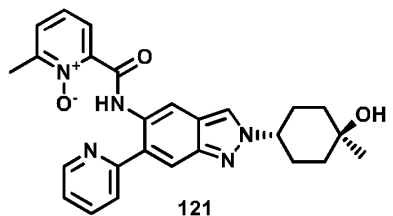
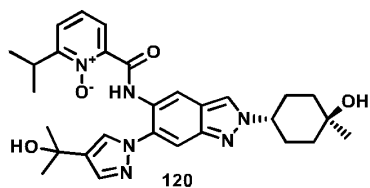
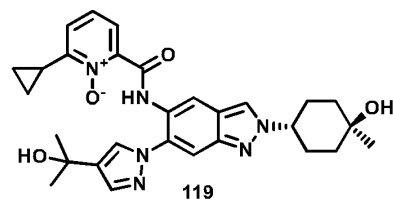
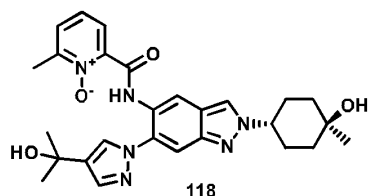
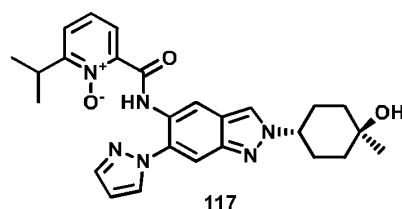
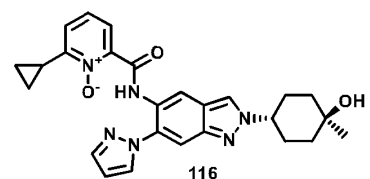
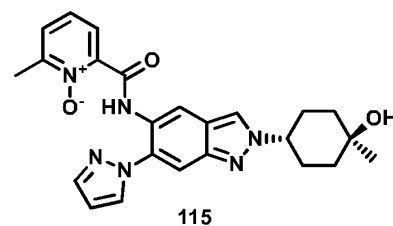
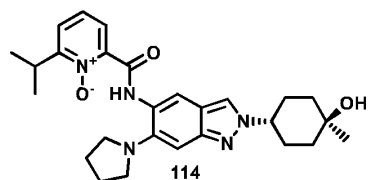
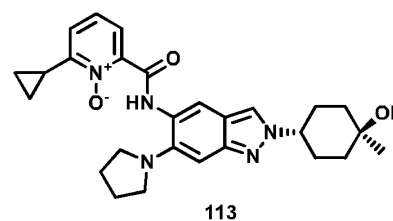
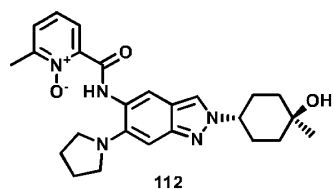
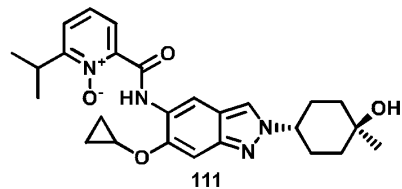
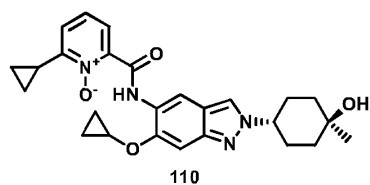
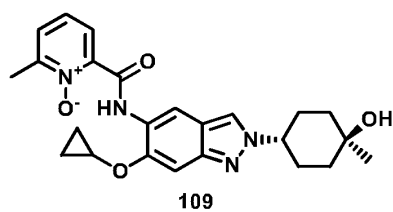


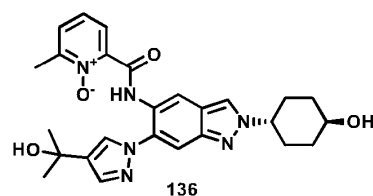
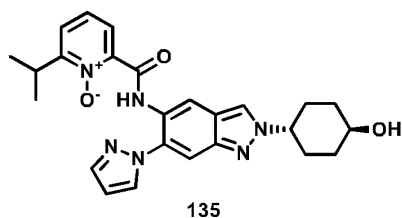
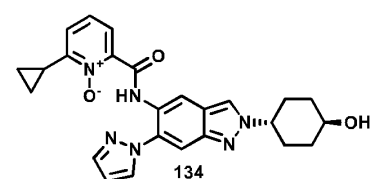
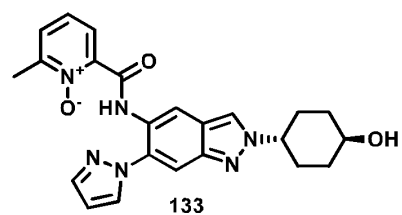
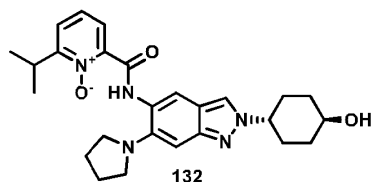
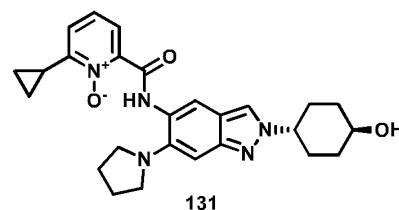
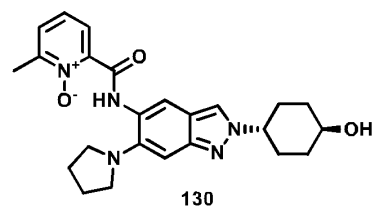
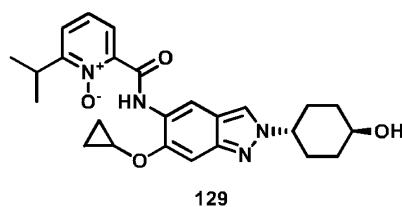
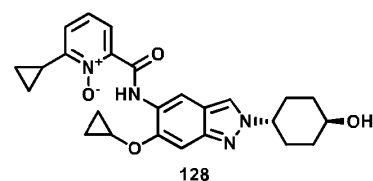
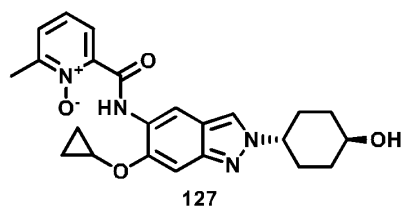
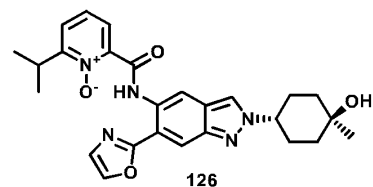
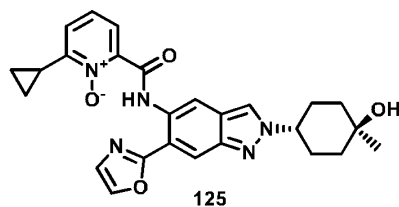
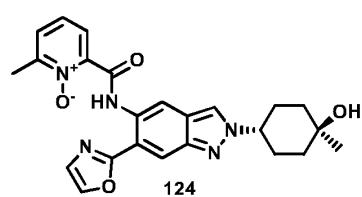
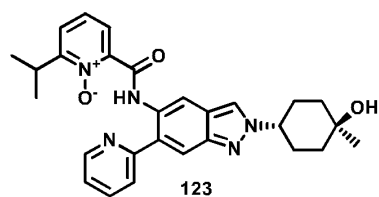


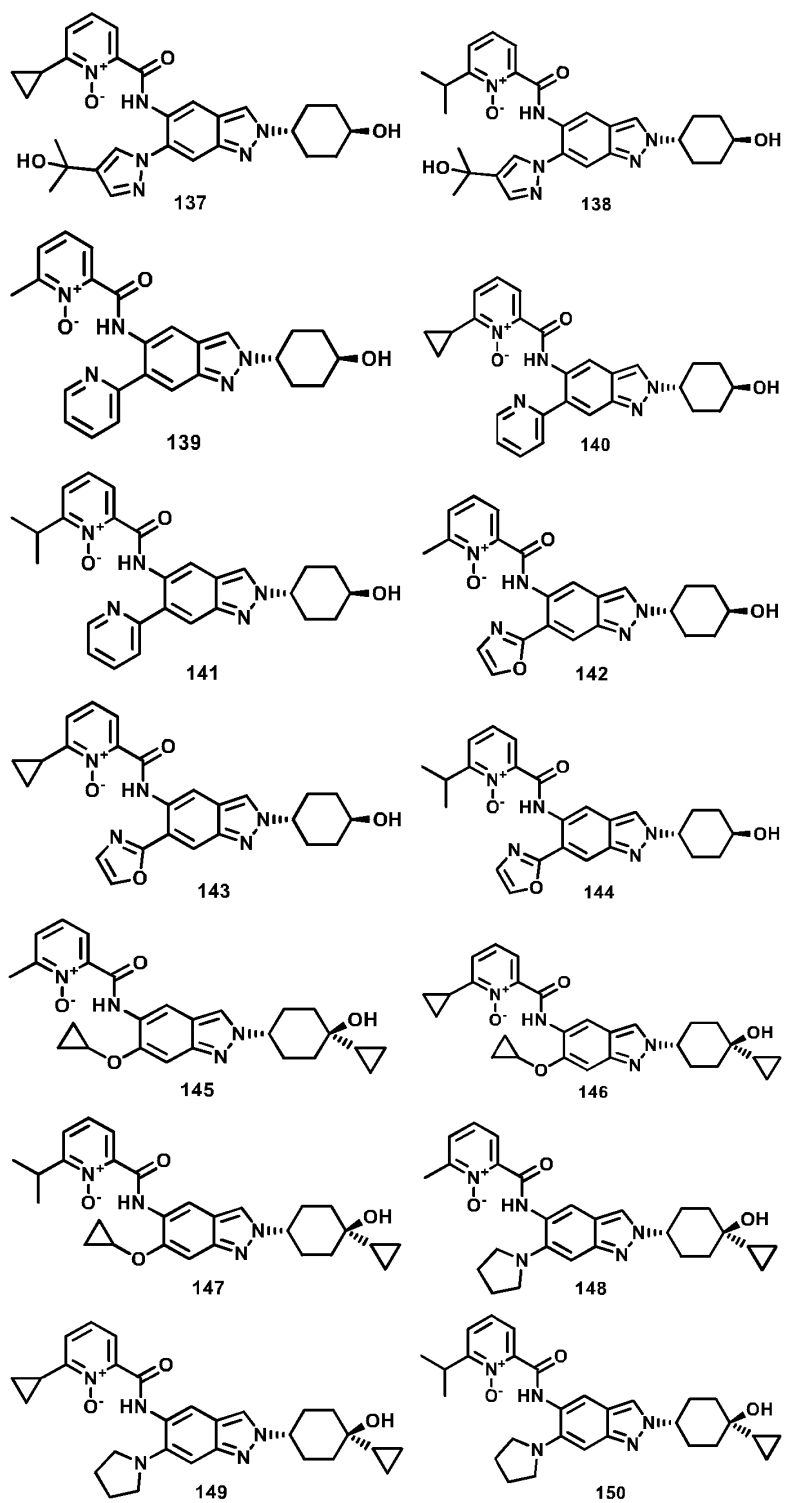


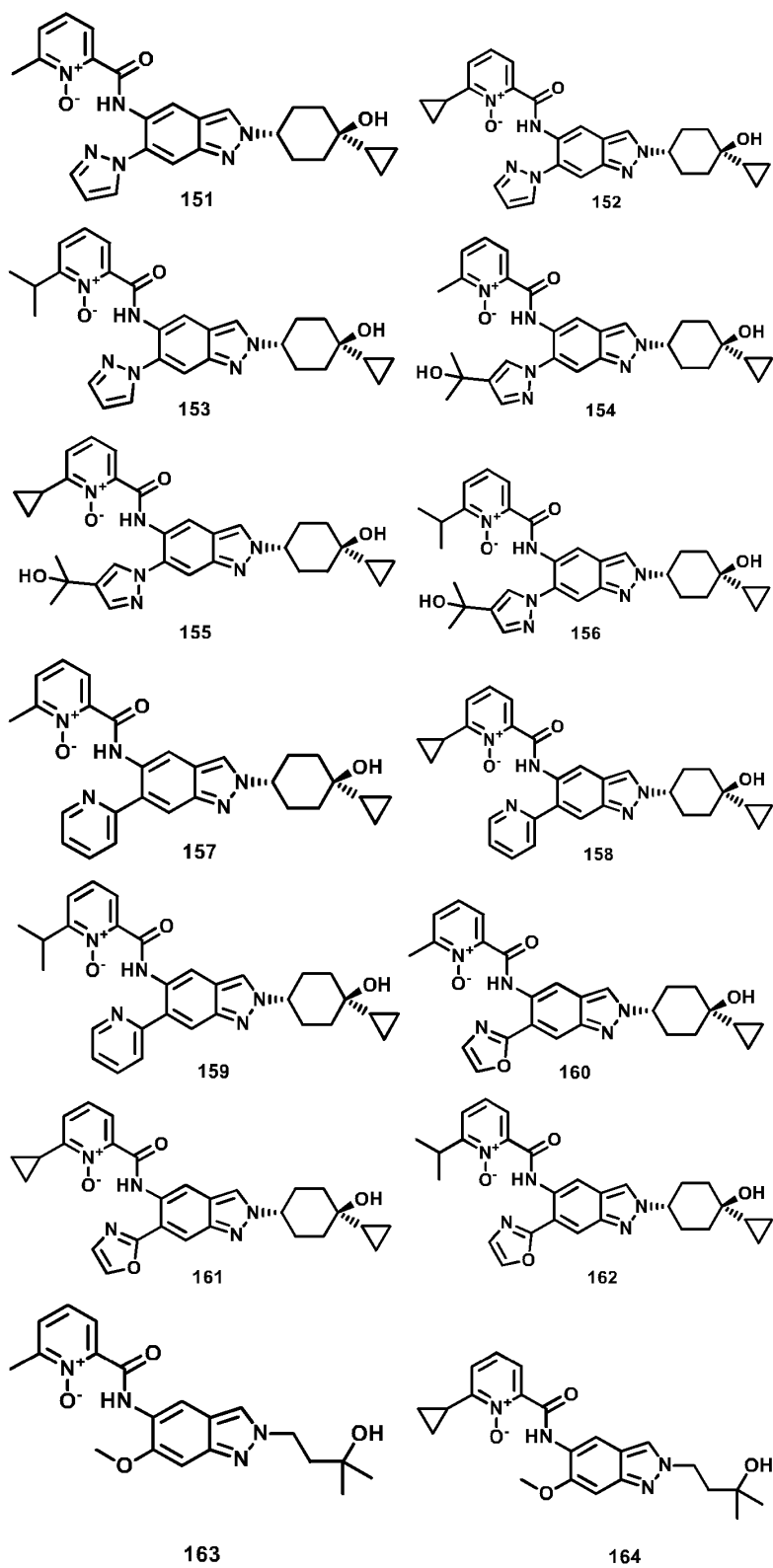


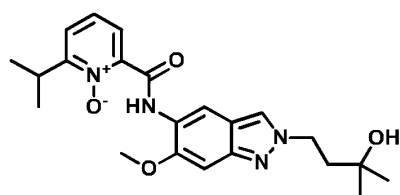




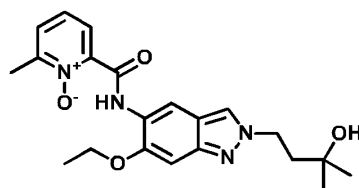




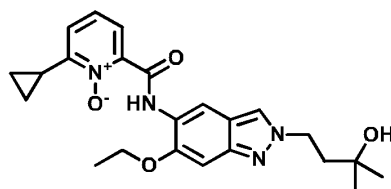




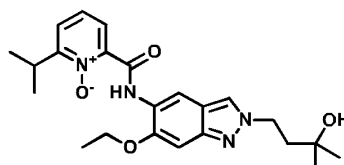
165



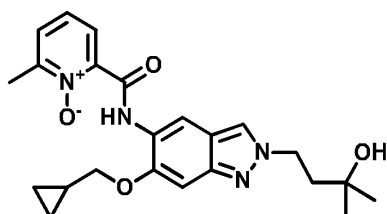
166



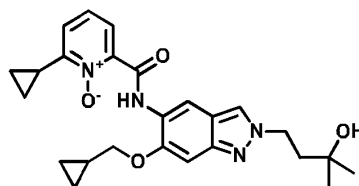
167



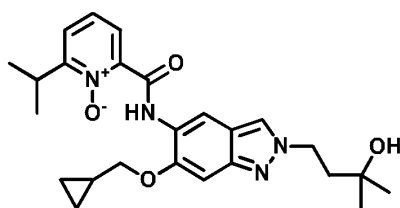
168



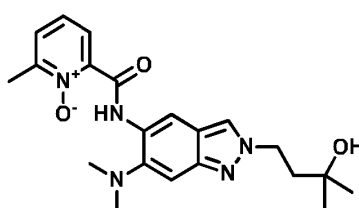
169



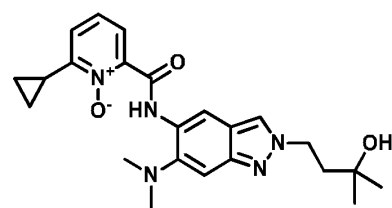
170



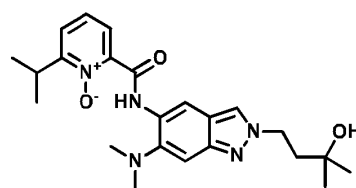
171



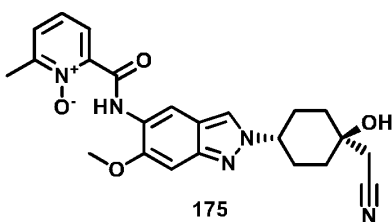
172



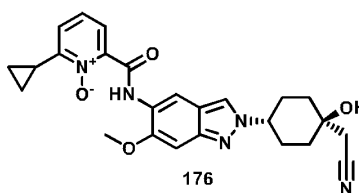
173



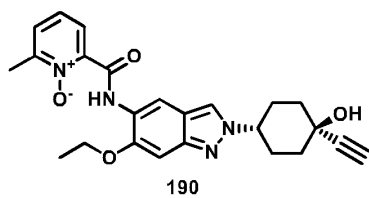
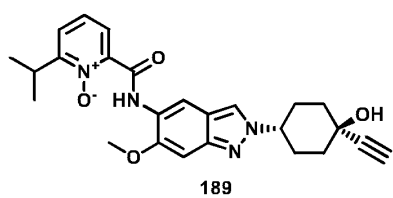
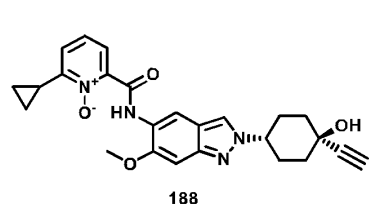
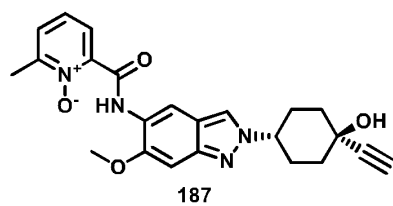
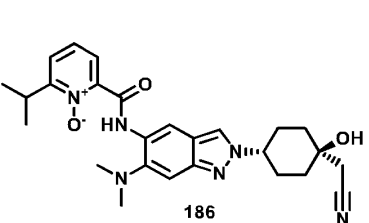
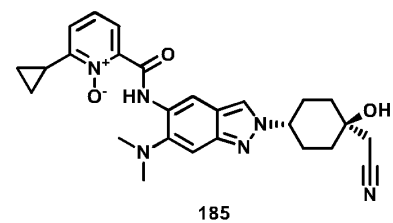
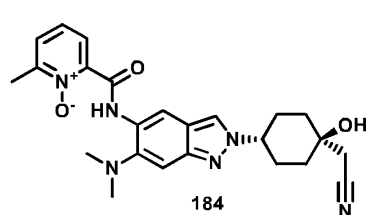
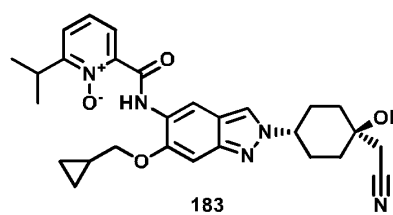
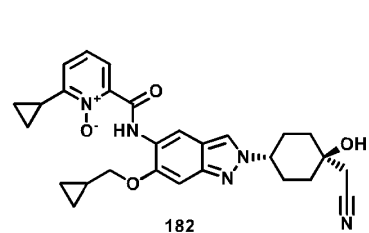
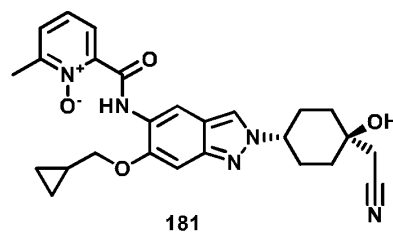
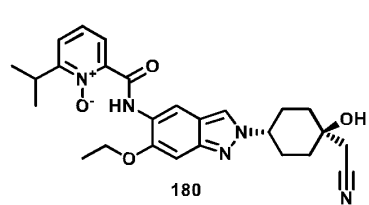
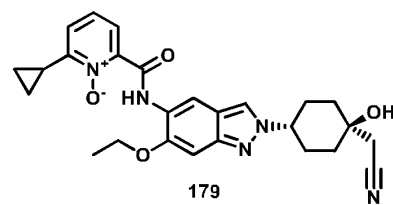
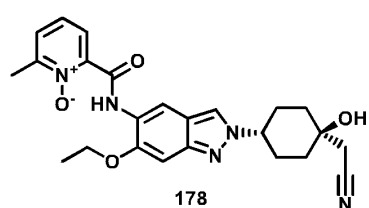
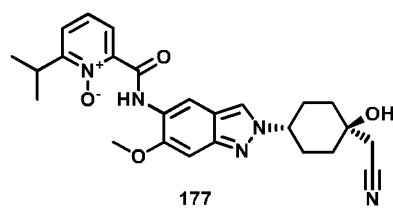
174

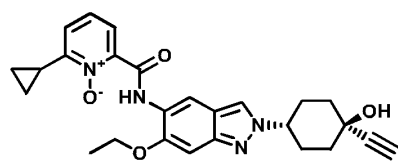


175

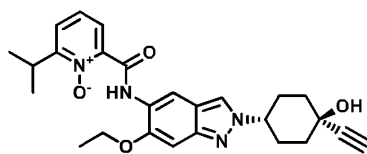


176

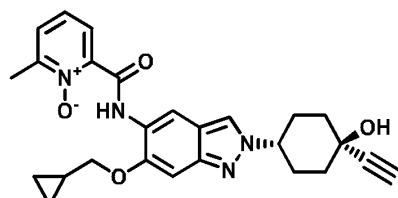




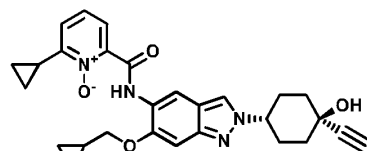
191



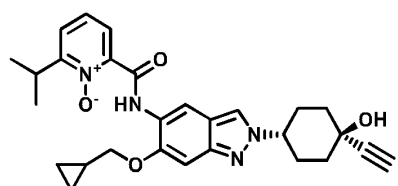
192



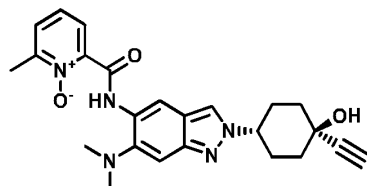
193



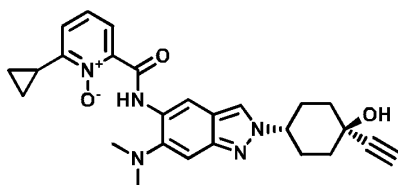
194



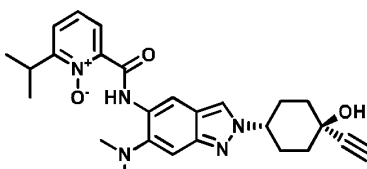
195



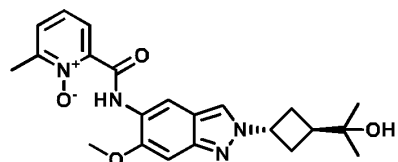
196



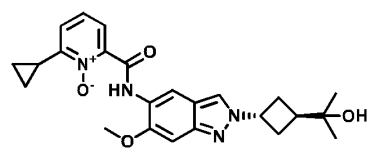
197



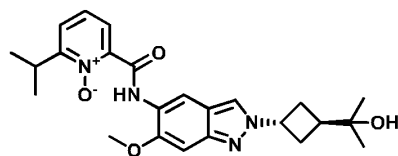
198



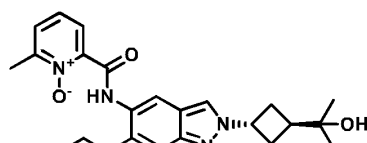
199



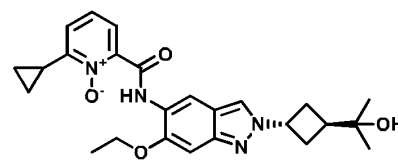
200



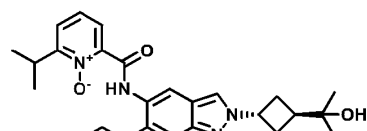
201



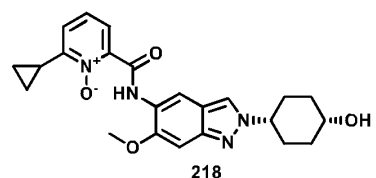
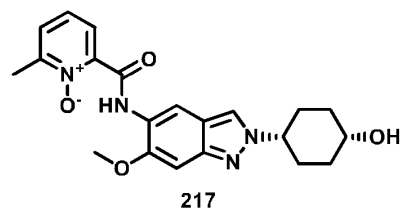
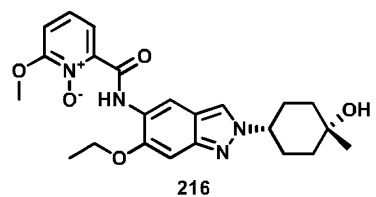
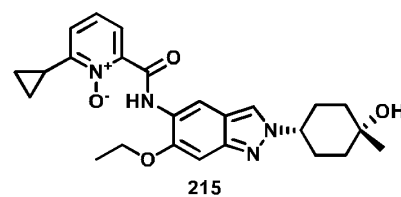
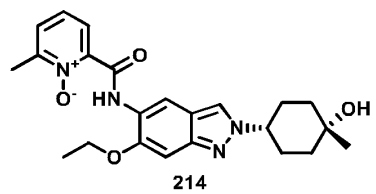
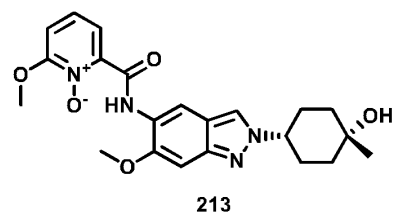
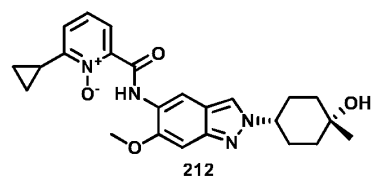
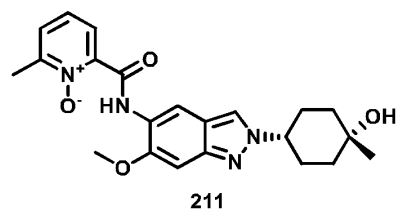
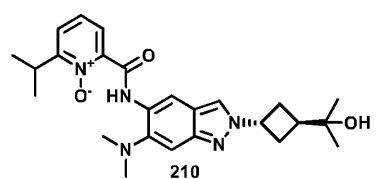
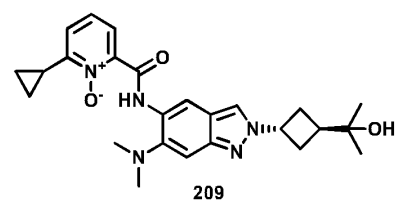
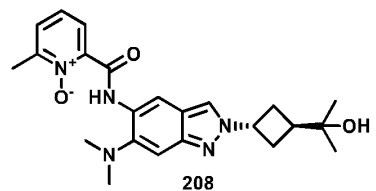
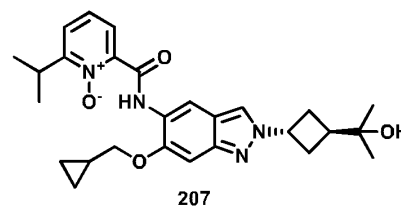
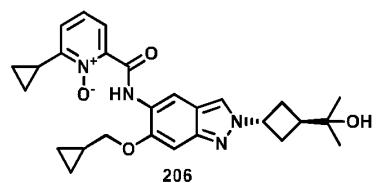
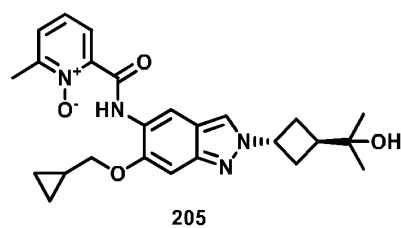
202

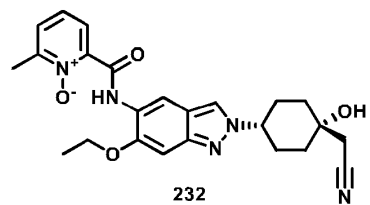
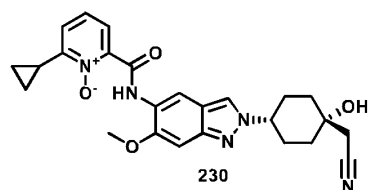
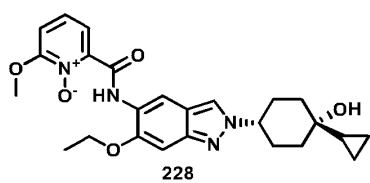
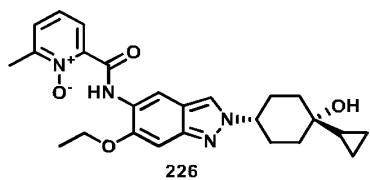
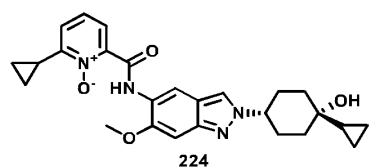
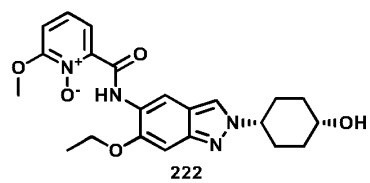
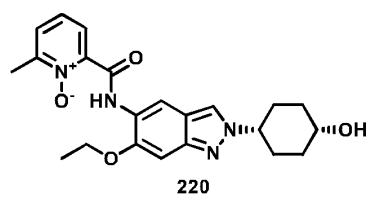


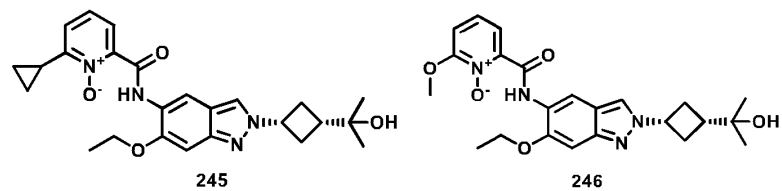
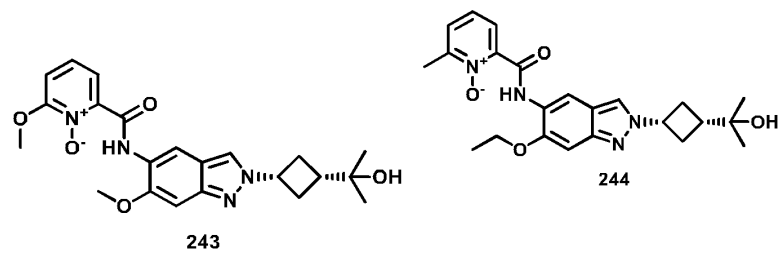
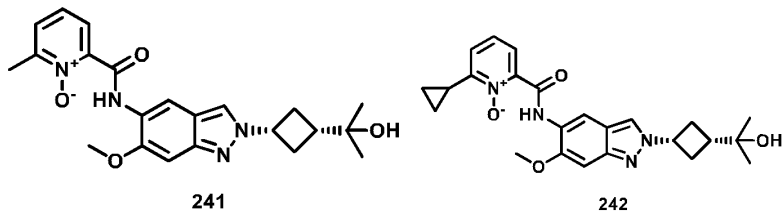
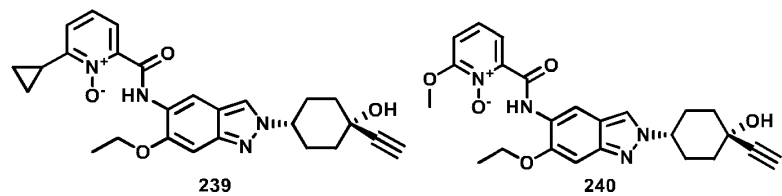
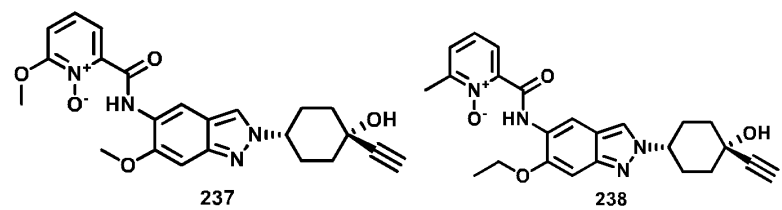
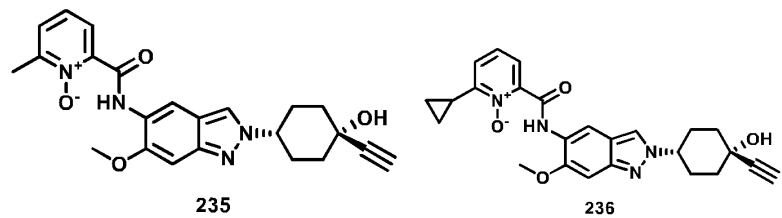
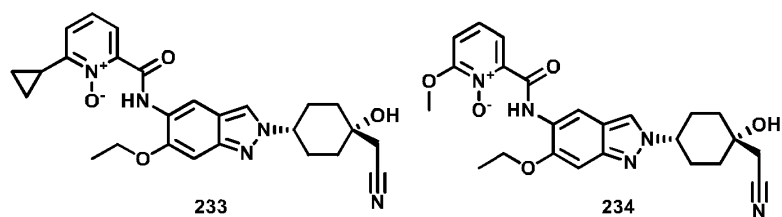
203

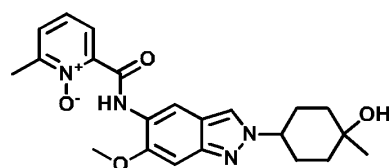


204

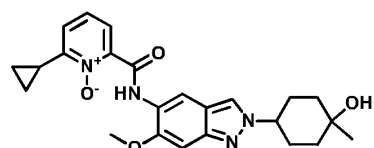




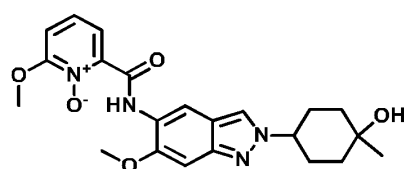




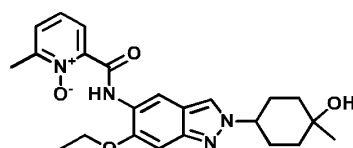
247



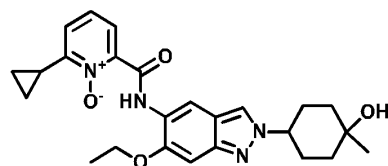
248



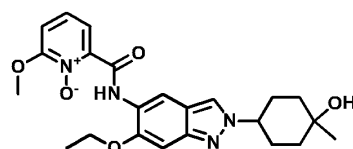
249



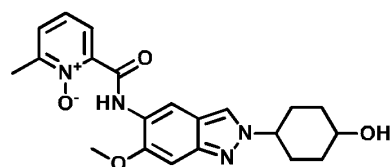
250



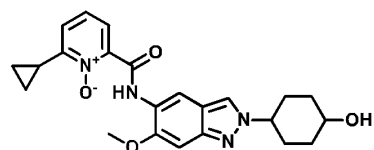
251



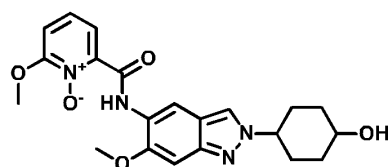
252



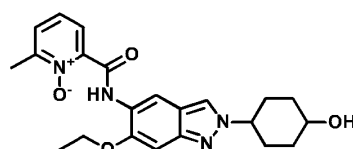
253



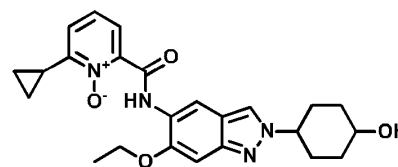
254



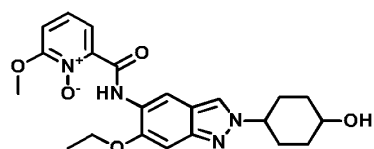
255



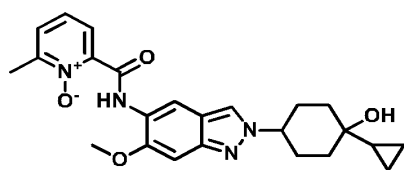
256



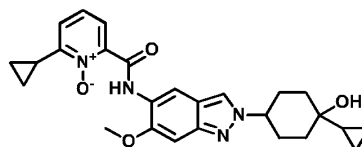
257



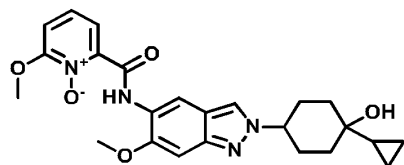
258



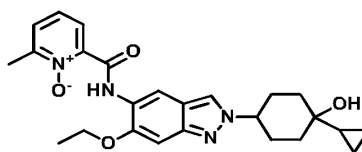
259



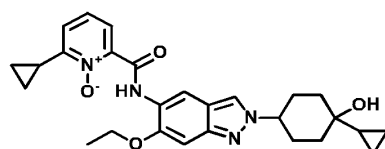
260



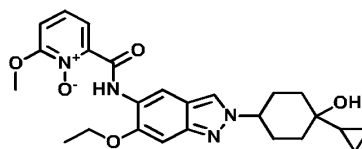
261



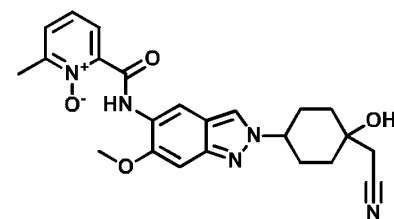
262



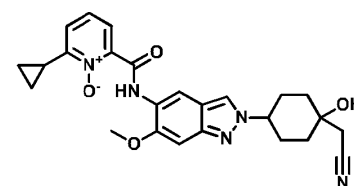
263



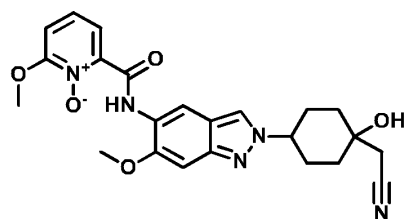
264



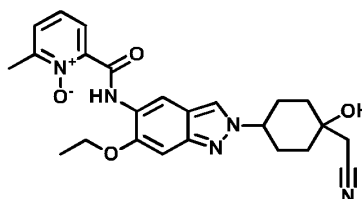
265



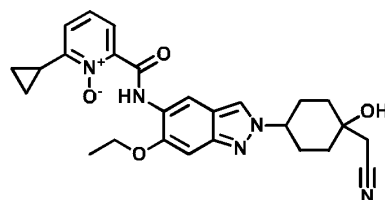
266



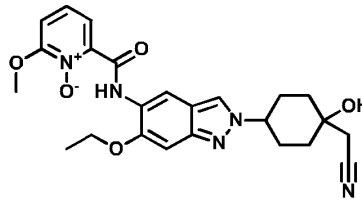
267



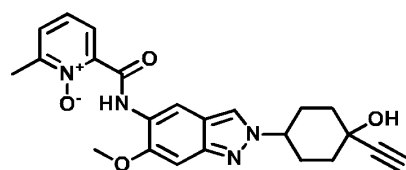
268



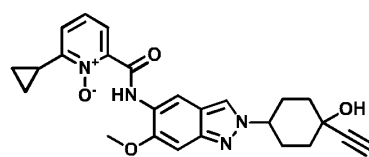
269



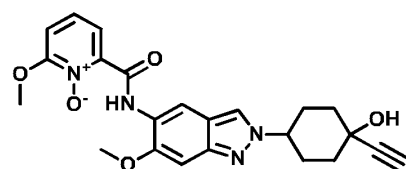
270



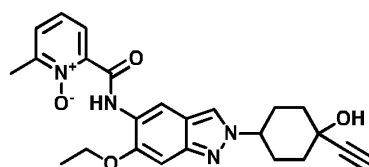
271



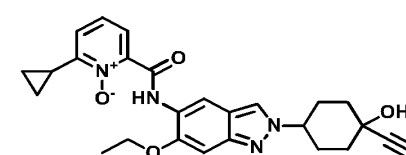
272



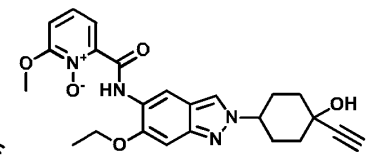
273



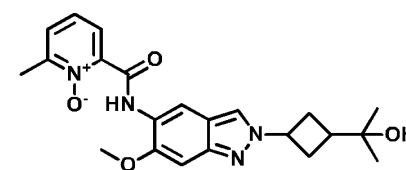
274



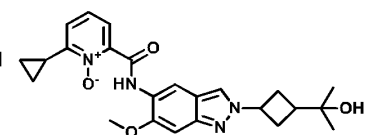
275



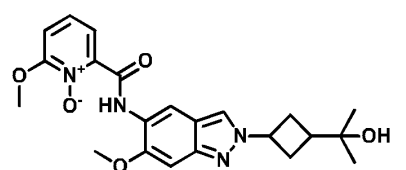
276



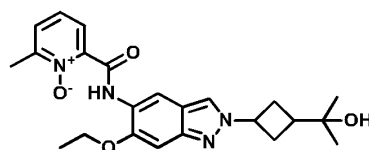
277



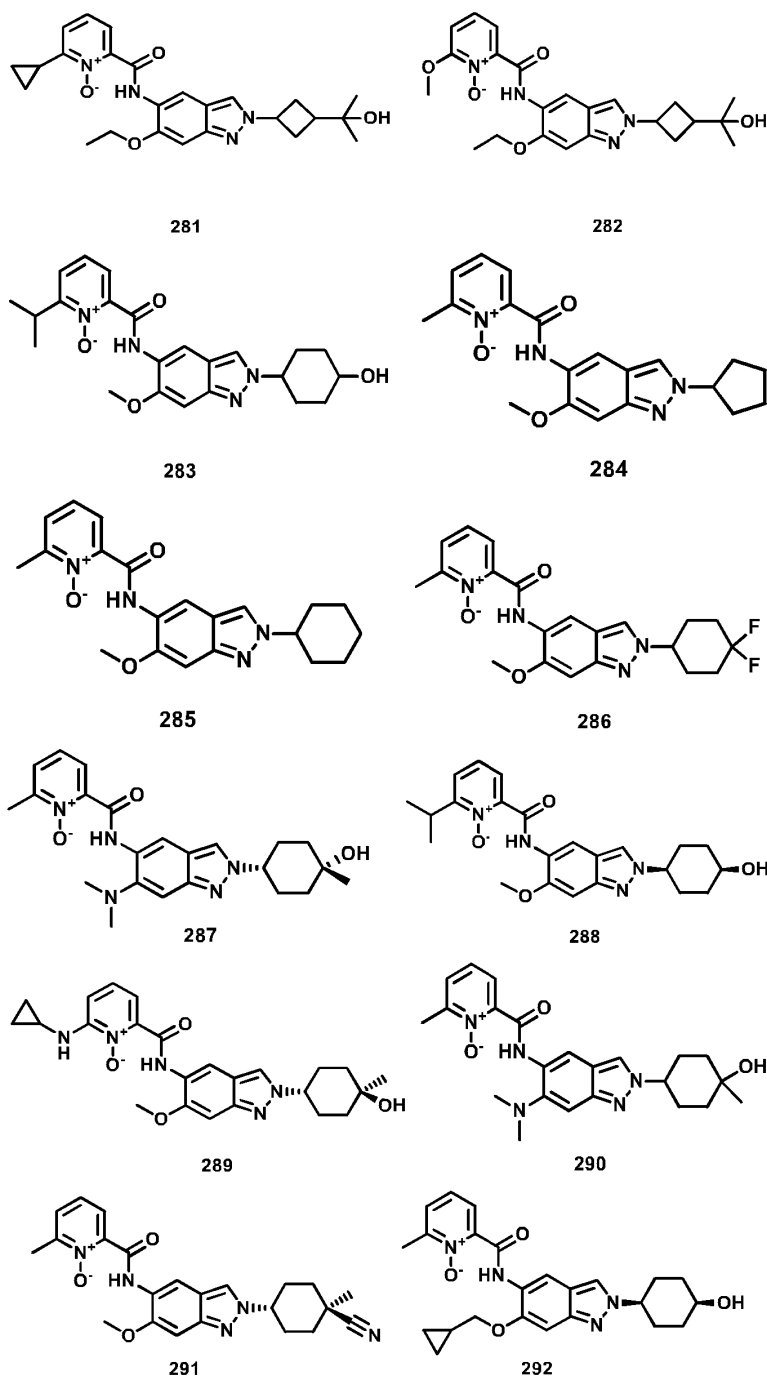
278



279

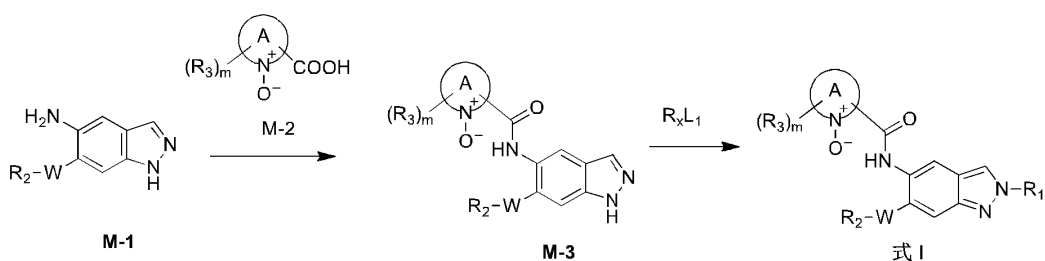


280

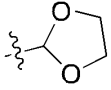


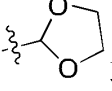
本发明还提供所述式 I 所示的化合物（包括式 Ia-式 Ie）、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐的制备方法，但不仅限于以下描述的方法。

在一些实施方式中，所述制备方法可以包括如下步骤：



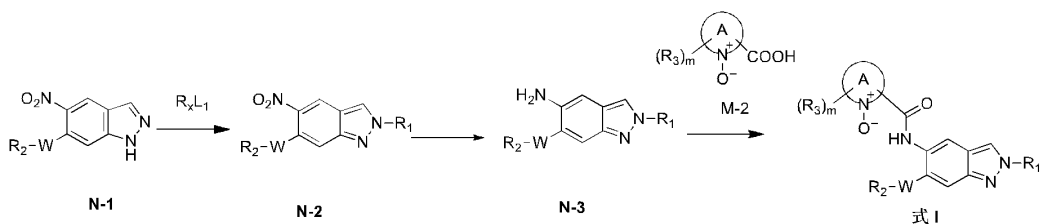
(a1) 采用 M-1 与 M-2 生成 M-3; 所述反应可以在 EDCI.HCl、吡啶存在条件下进行;

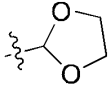
(a2) M-3 与 R_xL_1 反应, 其中 R_x 选自 R_1 或带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团;

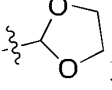
且当 R_x 选自带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团时, 反应需进一步包括经酸性、还原条件得到式 I 产品, 所述酸性条件可以选自 HCl, 还原条件可以选自硼氢化钠;

所述步骤中, R_1 , R_2 , R_3 , m , W 如式 I 所定义; 所述 L_1 为离去基团, 可以选自卤素或 OTs。

在一些实施方式中, 所述制备方法可以包括如下步骤:



(b1) N-1 与 R_xL_1 反应, 其中 R_x 选自 R_1 或带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团;

且当 R_x 选自带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团时, 反应需进一步包括经酸性、还原条件得到 N-2 产品; 该步骤中, 所述酸性条件可以选自 HCl, 还原条件可以选自硼氢化钠;

(b2) 将上步反应得到的 N-2 还原得到 N-3; 所述还原剂可以选自 Pd/C;

(b3) 将 N-3 和 M-2 反应得到式 I。

所述步骤中, R_1 , R_2 , R_3 , m , W 如式 I 所定义; 所述 L_1 为离去基团, 可以选自卤素或 OTs。

本发明进一步提供一种药物组合物, 其包含本发明所述式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐。

在一些实施方案中, 本发明所述的药物组合物进一步包含治疗有效量的本发明所述式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载体。

本发明进一步提供式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐在制备 IRAK 抑制剂中的用途。

本发明进一步提供式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗 IRAK 介导的疾病或病症的药物中的用途。

根据本发明的实施方案，所述 IRAK 介导的疾病或病症选自肿瘤、痛风、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、代谢综合症、动脉粥样硬化、心肌梗死、脓血症、炎症性肠病、哮喘和过敏等疾病。

本发明还提供式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐在制备预防和/或治疗与白细胞介素-1 受体相关激酶的疾病或病症的药物中的用途。

本发明还提供一种 IRAK 介导的疾病或病症的预防和/或治疗方法，包括向有此需要的个体施用治疗有效量的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐或所述药物组合物。

在一些实施方案中，所述 IRAK 选自 IRAK4 相关激酶。

本发明还提供一种与白细胞介素-1 受体相关疾病的预防和/或治疗方法，包括向有此需要的个体施用治疗有效量的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐或所述药物组合物。

根据本发明的实施方案，所述与白细胞介素-1 受体相关激酶的疾病或病症选自肿瘤、痛风、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、代谢综合症、动脉粥样硬化、心肌梗死、脓血症、炎症性肠病、哮喘、类风湿性关节炎、败血症、自身免疫性疾病和过敏等疾病。

本发明的方法可包括单独给予本发明化合物、以及将本发明化合物与一种或多种其它化学治疗剂组合给药。多种药物的给药可以同时或相继进行。

术语定义和缩写

除非另有说明，本申请说明书和权利要求书中记载的基团和术语定义，包括其作为实例的定义、示例性的定义、优选的定义、表格中记载的定义、实施例中具体化合物的定义等，可以彼此之间任意组合和结合。这样的组合和结合后的基团定义及化合物结构，应当属于本申请说明书记载的范围内。

本申请说明书和权利要求书记载的数值范围，当该数值范围被定义为“整数”时，应当理解为记载了该范围的两个端点以及该范围内的每一个整数。例如，“0~6 的整数”应当理解为记载了 0、1、2、3、4、5 和 6 的每一个整数。“更多个”表示三个或三个以上。

本文所述任选的被取代基所取代的情形涵盖了无取代以及被一个或多个取代基所取代的情形，例如“任选被一个、两个或更多个 R 取代”意味着可以不被 R 取代（无取代）或被一个、两个或更多个 R 取代。

术语“卤素”指 F、Cl、Br 和 I。换言之，F、Cl、Br 和 I 在本说明书中可描述为“卤素”。

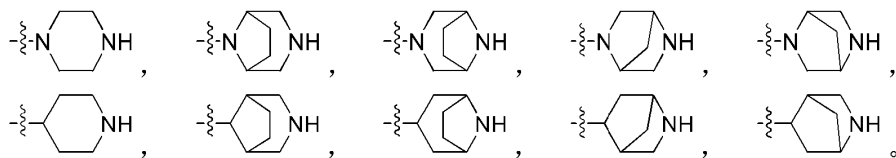
术语“脂肪烃基”包括饱和或不饱和，直链或支链的链状或环状烃基，所述脂肪烃基的类型可选自烷基、烯基、炔基等，所述脂肪烃基的碳原子数优选为 1~12，还可以为 1~10，进一步的优选范围为 1~6，具体可包括但不限于如下基团：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、

1-甲基乙烯基、1-丁烯基、1-乙基乙烯基、1-甲基-2-丙烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-甲基-1-丙烯基、2-甲基-2-丙烯基、1-戊烯基、1-己烯基、乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、1-甲基-2-丙炔基、3-丁炔基、1-戊炔基、1-己炔基、环丙基、环丁基、环戊基和环己基；

所述“脂肪烃基”可以任选地包含一个、两个或更多个杂原子（或解释为任选地杂原子插入至脂肪烃基中任选地 C-C 键和 C-H 键）。适宜的杂原子对于本领域技术人员而言是显而易见的，并且包括例如硫、氮、氧、磷和硅。所述包含杂原子的脂肪烃基基团可选自以下基团：(C₁-C₆)脂肪烃基氧基、(C₁-C₆)脂肪烃基硫基、(C₁-C₆)脂肪烃基氧基(C₁-C₆)脂肪烃基、(C₁-C₆)脂肪烃基硫基(C₁-C₆)脂肪烃基、N-(C₁-C₃)脂肪烃基胺基(C₁-C₆)脂肪烃基、N,N-二-(C₁-C₃)脂肪烃基胺基(C₁-C₆)脂肪烃基，例如可以为甲氧基，乙氧基，丙氧基，丁氧基，戊氧基，甲氧基甲基，乙氧基甲基、丙氧基甲基、甲氧基乙基、乙氧基乙基、丙氧基乙基、甲氧基丙基、乙氧基丙基、丙氧基丙基、N-甲基胺甲基、N-甲基胺乙基、N-乙基胺乙基、N,N-二甲基胺甲基、N,N-二甲基胺乙基、N,N-二乙基胺乙基；其他基团中所含“脂肪烃基”部分同上述解释。

术语“C₃₋₁₂ 环烷基”应理解为表示饱和或不饱和的一价单环或双环烃环，其具有 3-12 个碳原子，优选“C₃₋₁₀ 环烷基”。术语“C₃₋₁₀ 环烷基”应理解为表示饱和的一价单环或双环烃环，其具有 3、4、5、6、7、8、9 或 10 个碳原子。所述 C₃₋₁₀ 环烷基可以是单环烃基，如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环壬基或环癸基，或者是双环烃基如十氢化萘环。

术语“3-12 元杂环基”意指饱和或不饱和的一价单环或双环，其包含 1-5 个独立选自 N、O 和 S 的杂原子，含杂原子的基团不具有芳香性，所述 3-12 元杂环基，优选“3-10 元杂环基”。术语“3-10 元杂环基”意指饱和的一价单环或双环，其包含 1-5 个，优选 1-3 个选自 N、O 和 S 的杂原子。所述杂环基可以通过所述碳原子中的任一个或氮原子（如果存在的话）与分子的其余部分连接。特别地，所述杂环基可以包括但不限于：4 元环，如氮杂环丁烷基、氧杂环丁烷基；5 元环，如四氢呋喃基、四氢噻吩基、二氧杂环戊烯基、吡咯烷基、咪唑烷基、吡唑烷基、吡咯啉基；或 6 元环，如四氢吡喃基、哌啶基、吗啉基、二噻烷基、硫代吗啉基、哌嗪基或三噻烷基；或 7 元环，如二氮杂环庚烷基。任选地，所述杂环基可以是苯并稠合的。所述杂环基可以是双环的，例如但不限于 5,5 元环，如六氢环戊并[c]吡咯-2(1H)-基环，或者 5,6 元双环，如六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-2(1H)-基环。含氮原子的环可以是部分不饱和的，即它可以包含一个或多个双键，例如但不限于 2,5-二氢-1H-吡咯基、4H-[1,3,4]噻二嗪基、4,5-二氢噁唑基或 4H-[1,4]噻嗪基，或者，它可以是苯并稠合的，例如但不限于二氢异喹啉基。根据本发明，所述 3-12 元杂环基可以进一步选自如下基团：



术语“C₆₋₂₀ 芳基”应理解为优选表示具有 6-20 个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环，优选“C₆₋₁₄ 芳基”。术语“C₆₋₁₄ 芳基”应理解为优选表示具有 6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 个碳原子的一价芳香性或部分芳香性的单环、双环或三环烃环（“C₆₋₁₄ 芳基”），特别是具有 6 个碳原子的环（“C₆ 芳基”），例如苯基；或联苯基，或者是具有 9 个碳

原子的环 (“C₉ 芳基”), 例如茚满基或茚基, 或者是具有 10 个碳原子的环 (“C₁₀ 芳基”), 例如四氢化萘基、二氢萘基或萘基, 或者是具有 13 个碳原子的环 (“C₁₃ 芳基”), 例如蒽基, 或者是具有 14 个碳原子的环 (“C₁₄ 芳基”), 例如蒽基。

术语“5-14 元杂芳基”应理解为包括这样的一价单环、双环或三环芳族环系: 其具有 5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 个环原子, 特别是 5 或 6 或 9 或 10 个碳原子, 且其包含 1-5 个, 优选 1-3 各独立选自 N、O 和 S 的杂原子并且, 另外在每一种情况下可为苯并稠合的。特别地, 杂芳基选自噻吩基、呋喃基、吡咯基、噁唑基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、三唑基、噻二唑基、噻-4H-吡唑基等以及它们的苯并衍生物, 例如苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并咪唑基、苯并三唑基、吲唑基、吲哚基、异吲哚基等; 或吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、三嗪基等, 以及它们的苯并衍生物, 例如喹啉基、喹唑啉基、异喹啉基等; 或吡辛因基、吲哚基、嘌呤基等以及它们的苯并衍生物; 或噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、蔡啶基、蝶啶基、呋唑基、吡啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基等。

除非另有说明, 杂环基或杂芳基包括其所有可能的异构形式, 例如其位置异构体。因此, 对于一些说明性的非限制性实例, 吡啶基或亚吡啶基包括吡啶-2-基、亚吡啶-2-基、吡啶-3-基、亚吡啶-3-基、吡啶-4-基和亚吡啶-4-基; 噻吩基或亚噻吩基包括噻吩-2-基、亚噻吩-2-基、噻吩-3-基和亚噻吩-3-基。

在本文中, 所述“3-12 元杂环基”、“5-14 元杂芳基”还可以进一步包括含 N 的 5-12 元杂环基或 5-14 元杂芳基, 即含 N 的 5-12 元杂环基或 5-14 元杂芳基可选自“3-12 元杂环基”、“5-14 元杂芳基”术语定义范围内的相应基团。

根据其分子结构, 本发明的化合物可以是手性的, 因此可能存在各种对映异构体形式。因而这些化合物可以以消旋体形式或光学活性形式存在。本发明的化合物或其中间体可以通过本领域技术人员公知的化学或物理方法分离为对映异构体化合物, 或者以此形式用于合成。在外消旋的胺的情况下, 通过与光学活性的拆分试剂反应, 从混合物制得非对映异构体。适当的拆分试剂的示例是光学活性的酸, 例如 R 和 S 形式的酒石酸、二乙酰酒石酸、二苯甲酰酒石酸、扁桃酸、苹果酸、乳酸、适当的 N-保护的氨基酸 (例如 N-苯甲酰脯氨酸或 N-苯磺酰基脯氨酸) 或各种光学活性的樟脑磺酸。借助光学活性的拆分试剂 (例如固定在硅胶上的二硝基苯甲酰基苯基甘氨酸、三乙酸纤维素或其它碳水化合物的衍生物或手性衍生化的异丁烯酸酯聚合物), 也可有利地进行色谱对映体拆分。用于此目的的适当的洗脱剂是含水或含醇的溶剂混合物, 例如, 己烷/异丙醇/乙腈。

药学上可接受的盐可以是例如在链或环中具有氮原子的具有足够碱性的本发明的化合物的酸加成盐, 例如与如下无机酸形成的酸加成盐: 例如盐酸、氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、焦硫酸、磷酸或硝酸, 或硫酸氢盐、或者与如下有机酸形成的酸加成盐: 例如甲酸、乙酸、乙酰乙酸、丙酮酸、三氟乙酸、丙酸、丁酸、己酸、庚酸、十一烷酸、月桂酸、苯甲酸、水杨酸、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、樟脑酸、肉桂酸、环戊烷丙酸、二葡萄糖酸、3-羟基-2-萘甲酸、烟酸、扑酸、果胶酯酸、过硫酸、3-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、2-羟基乙磺酸、衣康酸、氨基磺酸、三氟甲磺酸、十二烷基硫酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-萘磺酸、萘二磺酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、己二酸、藻酸、马来酸、富马酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、抗坏血酸、葡庚酸、甘油磷

酸、天冬氨酸、磺基水杨酸、半硫酸或硫氰酸。

另外，具有足够酸性的本发明的化合物的另一种适合的药学上可接受的盐是碱金属盐（例如钠盐或钾盐）、碱土金属盐（例如钙盐或镁盐）、铵盐，或与提供生理学可接受的阳离子的有机碱形成的盐，例如与如下物质形成的盐：钠离子、钾离子、N-甲基葡糖胺、二甲基葡糖胺、乙基葡糖胺、赖氨酸、二环己基胺、1,6-己二胺、乙醇胺、葡糖胺、葡甲胺、肌氨酸、丝氨酸、三羟基甲基氨基甲烷、氨基丙二醇、1-氨基-2,3,4-丁三醇。作为实例，所述药学上可接受的盐包括基团-COOH与如下物质形成的盐：钠离子、钾离子、钙离子、镁离子、N-甲基葡糖胺、二甲基葡糖胺、乙基葡糖胺、赖氨酸、二环己基胺、1,6-己二胺、乙醇胺、葡糖胺、葡甲胺、肌氨酸、丝氨酸、三羟基甲基氨基甲烷、氨基丙二醇、1-氨基-2,3,4-丁三醇。

另外，碱性含氮基团可用如下试剂季铵化：低级烷基卤化物，例如甲基、乙基、丙基和丁基氯化物、溴化物和碘化物；硫酸二烷基酯，例如硫酸二甲酯、硫酸二乙酯、硫酸二丁酯和硫酸二戊酯；长链卤化物，例如癸基、月桂基、肉豆蔻基和硬脂基氯化物、溴化物和碘化物；芳烷基卤化物如苄基和苯乙基溴化物等。作为实例，药学上可接受的盐包括盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、硫酸氢盐、氢溴酸盐、醋酸盐、草酸盐、柠檬酸盐、甲磺酸盐、甲酸盐或葡甲胺盐等。

由于本发明的化合物可存在多个成盐位点，所述“药学上可接受的盐”不仅包括本发明化合物其中1个成盐位点上形成的盐，而且还包括其中2、3或全部成盐位点上形成的盐。为此，所述“药学上可接受的盐”中式(I)化合物与成盐所需的酸的根离子（阴离子）或碱的阳离子摩尔比可以在较大的范围内变化，例如可以是4:1~1:4，如3:1、2:1、1:1、1:2、1:3等。

根据本发明，药学上可接受的阴离子包括选自由无机酸或有机酸电离生成的阴离子。所述“无机酸”包括但不限于盐酸、氢氟酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、焦硫酸、磷酸或硝酸。所述“有机酸”包括但不限于甲酸、乙酸、乙酰乙酸、丙酮酸、三氟乙酸、丙酸、丁酸、己酸、庚酸、十一烷酸、月桂酸、苯甲酸、水杨酸、2-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、樟脑酸、肉桂酸、环戊烷丙酸、二葡糖酸、3-羟基-2-萘甲酸、烟酸、扑酸、果胶酯酸、过硫酸、3-苯基丙酸、苦味酸、特戊酸、2-羟基乙磺酸、衣康酸、氨基磺酸、三氟甲磺酸、十二烷基硫酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-萘磺酸、萘二磺酸、樟脑磺酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、乳酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、己二酸、藻酸、马来酸、富马酸、D-葡糖酸、扁桃酸、抗坏血酸、葡庚酸、甘油磷酸、天冬氨酸、磺基水杨酸、半硫酸或硫氰酸。

根据不同取代基的位置和性质，本发明的化合物还可以包含一个或多个不对称中心。不对称碳原子可以(R)或(S)构型存在，仅有一个不对称中心时，产生外消旋混合物，含有多个不对称中心时，得到非对映异构体混合物。在某些情况下，由于围绕特定键的旋转受阻还可能不存在不对称性，例如该中心键连接特定化合物的两个被取代的芳族环。并且，取代基还可以顺式或反式异构的形式存在。

本发明化合物还包括其各自所有可能的立体异构体，其是单一立体异构体或所述立体异构体（例如R-异构体或S-异构体，或者E-异构体或Z-异构体）的任意比例的任意混合物的形式。可通过任意适合的现有技术方法（例如色谱法，特别是例如手性色谱法）实现本发明的化合物的单一立体异构体（例如单一对映异构体或单一非对映异构体）的分离。

术语“互变异构体”是指因分子中某一原子在两个位置迅速移动而产生的官能团异构体。本发明化合物可表现出互变异构现象。互变异构的化合物可以存在两种或多种可相互转化的

种类。质子移变互变异构体来自两个原子之间共价键合的氢原子的迁移。互变异构体一般以平衡形式存在，尝试分离单一互变异构体时通常产生一种混合物，其理化性质与化合物的混合物是一致的。平衡的位置取决于分子内的化学特性。例如，在很多脂族醛和酮如乙醛中，酮型占优势；而在酚中，烯醇型占优势。本发明包含化合物的所有互变异构形式。

在本发明中，所涉及的化合物亦包括经同位素标记的化合物，所述经同位素标记的化合物与式 I 中所示的那些相同，但是其中一或多个原子被原子质量或质量数不同于通常天然存在的原子质量或质量数的原子替代。可掺入本发明的化合物的同位素的实例包括 H、C、N、O、S、F 及 Cl 的同位素，分别诸如 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 及 ^{36}Cl 。含有上述同位素和/或其他原子的其他同位素的本发明的化合物、其前药、或者所述化合物或所述前药的药学上可接受的盐在本发明的范围内。本发明的某些经同位素标记的化合物，例如掺入放射性同位素(诸如 ^3H 和 ^{14}C)的化合物可用于药物和/或底物组织分布测定。氚(即 ^3H)和碳 14(即 ^{14}C)同位素因易于制备和可检测性而成为特别优选的。再者，以较重的同位素(诸如氘，即 ^2H)替代可提供源自更高的代谢稳定性的某些治疗优势(例如增加的体内半衰期或减少的剂量需求)，并因此可在某些情况下是优选的。如权利要求所请求保护的本发明化合物可特别地限定以氘或氚替代。此外，取代基中出现的氢未单独列明术语氘或氚并不表示排除氘或氚，而是同样也可以包含氘或氚。

术语“有效量”或者“治疗有效量”是指足以实现预期应用(包括但不限于如下定义的疾病治疗)的本发明所述化合物的量。治疗有效量可以取决于以下因素而改变：预期应用(体外或者体内)，或者所治疗的受试者和疾病病症如受试者的重量和年龄、疾病病症的严重性和给药方式等，其可以由本领域普通技术人员容易地确定。具体剂量将取决于以下因素而改变：所选择的特定化合物、所依据的给药方案、是否与其它化合物组合给药、给药的时间安排、所给药的组织和所承载的物理递送系统。

术语“辅料”是指可药用惰性成分。赋形剂种类的实例非限制性地包括粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂、稳定剂、填充剂和稀释剂等。赋形剂能增强药物制剂的操作特性，即通过增加流动性和/或粘性使制剂更适于直接压缩。适用于上述制剂的典型的药学上可接受的载体的实例为：糖类，例如乳糖、蔗糖、甘露醇和山梨醇；淀粉类，例如玉米淀粉、木薯淀粉和土豆淀粉；纤维素及其衍生物，例如羧甲基纤维素钠，乙基纤维素和甲基纤维素；磷酸钙类，例如磷酸二钙和磷酸三钙；硫酸钠；硫酸钙；聚乙烯吡咯烷酮；聚乙烯醇；硬脂酸；硬脂酸碱土金属盐，例如硬脂酸镁和硬脂酸钙；硬脂酸；植物油类，例如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油和玉米油；非离子、阳离子和阴离子表面活性剂；乙二醇聚合物；脂肪醇类；和谷物水解固形物以及其它无毒的可相容的填充剂、粘合剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、着色剂等。在药物制剂中常用到的辅料。

术语“溶剂化物”是本发明的化合物的那些形式，其以固体或液体的状态通过与溶剂分子的配位作用形成配合物。水合物是溶剂化物的特定形式，其中配位作用是与水进行。在本发明中，优选的溶剂化物是水合物。进一步的，本发明通式 I 化合物的药学上可接受的溶剂化物(水合物)是指化合物 I 与化学计量学的一个或多个分子的水或其他溶剂形成的共晶和包合物。可用于溶剂化物的溶剂包括但不限于：水、甲醇、乙醇、乙二醇和醋酸。

术语“前药”或称为“药物前体”，代表化合物在体内转化为前述通式或具体化合物所示的化合物。这样的转化受前体药物在血液中水解或在血液或组织中经酶转化为母体结构的影响。

本发明前药可以是酯，在本发明中酯可以作为前药的有苯酯类，脂肪族(C1-24)酯类，酰氧基甲基酯类，碳酸酯，氨基甲酸酯类和氨基酸酯类。例如本发明里的一个化合物包含羟基/羧基，即可以将其酰化得到前体药物形式的化合物。其他的前药形式包括磷酸酯，如这些磷酸酯类化合物是经母体上的羟基磷酸化得到的。

试剂英文缩写对应的试剂名称

试剂英文缩写	试剂名称
m-CPBA	间氯过氧苯甲酸
DCM	二氯甲烷
DIPEA	N,N-二异丙基乙胺
DMF	N,N-二甲基甲酰胺
HATU	O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐
EDCI.HCl	1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐
Py	吡啶
DMAP	4-二甲氨基吡啶
EA	乙酸乙酯
TsCl 或 TosCl	对甲苯磺酰氯
NMP	N-甲基吡咯烷酮
PE	石油醚
DAST	二乙胺基三氟化硫

有益效果

1) 本发明提供了一种具有新颖结构的通式 I 化合物，经实验验证，本发明化合物对于 IRAK4 激酶活性有明显的抑制作用，且相对于其他激酶，针对 IRAK4 激酶活性具有良好的选择性抑制作用；

2) 本发明化合物具有良好的用药安全性、广泛的适用性和较低的毒副作用，经实验验证，本发明化合物对人 hERG 的抑制率很低，对于人 CYP3A4 无明显的时间依赖性抑制，对人、大鼠、小鼠的血浆蛋白结合率适中，种属间的差异很小，同时，对人的 5 种 CYP 亚型均无明显的抑制作用；

3) 本发明化合物对 LPS 诱导的 Balb/c 雌性小鼠释放 TNF- α 具有明显的抑制作用；

4) 本发明化合物具有良好的药代动力学特征，在动物体内显示出良好的暴露量和滞留时间，且具有适宜的半衰期和良好的药物吸收性。

具体实施方式

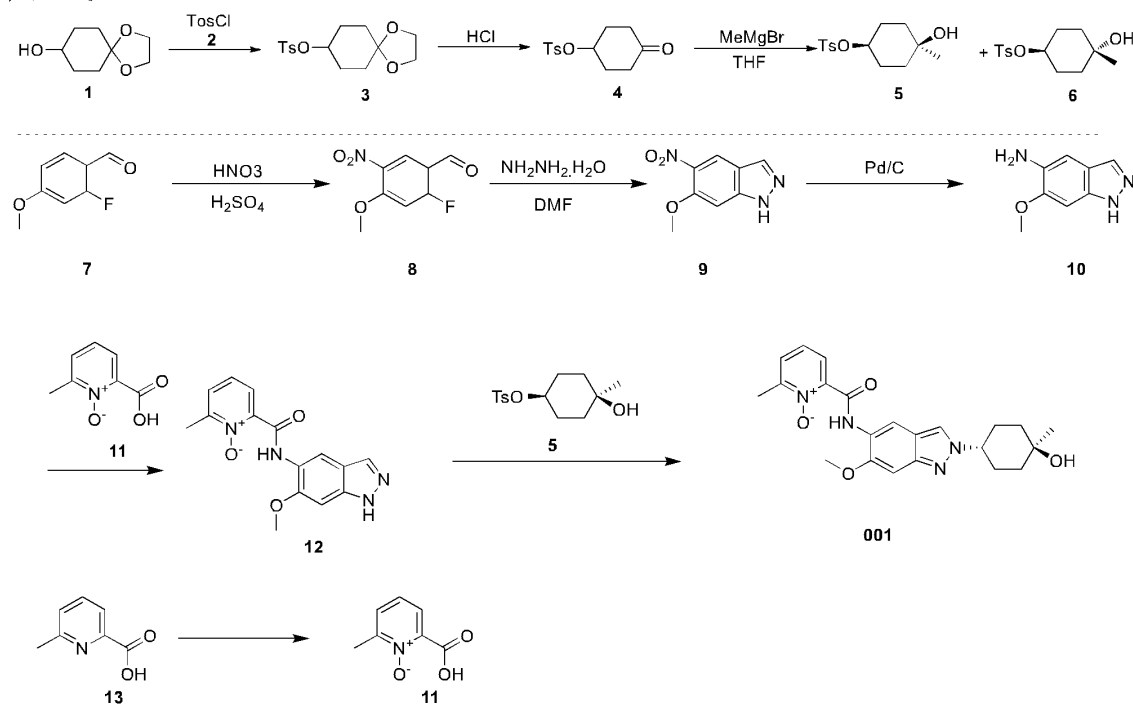
下文将结合具体实施例对本发明的技术方案做更进一步的详细说明。应当理解，下列实

实施例仅为示例性地说明和解释本发明，而不应被解释为对本发明保护范围的限制。凡基于本发明上述内容所实现的技术均涵盖在本发明旨在保护的范围内。

除非另有说明，以下实施例中使用的原料和试剂均为市售商品，或者可以通过已知方法制备。

实施例 1 化合物 001 的合成

反应式:



1. 化合物 3 的合成

15 摄氏度下依次向化合物 1 (50 g) 的二氯甲烷溶液 (500 mL) 中加入 DMAP (42.5 g), 化合物 2 (63.4 g), 和三乙胺 (63.9 g), 并在 25 摄氏度下搅拌反应 18 小时。向反应液中加入二氯甲烷 (200 mL) 用水洗涤 (300 mL*2), 1M 的稀盐酸(300 mL*3)洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到化合物 3 (98 g, 收率: 99%)。

2. 化合物 4 的合成

15 摄氏度下向化合物 3 (50 g) 的四氢呋喃溶液 (300 mL) 中加入 1M 稀盐酸 (300 mL) 并在 25 摄氏度下搅拌反应 20 小时。冷却到 0 摄氏度, 用 1M 的氢氧化钠溶液调到 PH=9, 用乙酸乙酯 (200 mL*3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用石油醚 (150 mL) 打浆得化合物 4 (39 g, 收率 91%)。

3. 化合物 5&6 的合成

-40 摄氏度下向甲基溴化镁(85.8 mL)的四氢呋喃溶液(500 mL)中滴加化合物 4(34.5 g)的四氢呋喃溶液(200 mL), 并在-40 摄氏度下搅拌反应 4 小时, 用饱和氯化铵溶液(100 mL)淬灭反应, 用乙酸乙酯(500 mL*3)萃取, 萃取液用饱和食盐水(300 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱纯化(石油醚:乙酸乙酯=5:1)得化合物 5 (4.3 g, 收率 10%), 化

合物 6 (7.0 g, 收率 17%) 和混合物 12g。

化合物 5

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.52-4.41 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.95-1.80 (m, 2H), 1.77-1.61 (m, 4H), 1.46-1.35 (m, 2H), 1.19 (s, 3H)。

化合物 6

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 4.74-4.64 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.92-1.79 (m, 2H), 1.77-1.62 (m, 4H), 1.49-1.38 (m, 2H), 1.23 (s, 3H)。

4. 化合物 8 的合成

零下 15 摄氏度下向化合物 7 (2.0 g) 的浓硫酸 (12 mL, 98%) 溶液中滴加硝酸 (1.6 mL, 70%) 的浓硫酸 (1.6 mL, 98%) 混合溶液。加完后混合体系零下 15 摄氏度搅拌 2 小时, 将反应液缓慢倾倒入冰水中并搅拌 5 分钟, 抽滤, 用水洗涤, 收集固体减压干燥得到化合物 8 (2.5 g, 收率: 97%)。

5. 化合物 9 的合成

室温下向化合物 8 (2.0 g) 的 DMF (20 mL) 溶液中加入水合肼 (2.4 mL, 98%), 加完后混合体系加热到 120 摄氏度搅拌 16 小时, 冷却到室温, 混合体系慢慢倒入冰水中并搅拌, 抽滤, 用水洗涤固体, 收集固体减压浓缩得到化合物 9 (1.3 g, 收率: 67%)。

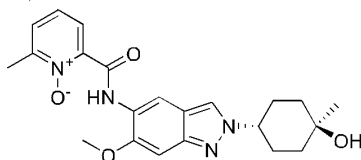
6. 化合物 10 的合成

15 摄氏度下将化合物 9 (12.4 g) 和钨碳 (7 g, 10%) 依次加入到 400 mL 乙酸乙酯中。加完后混合体系在 15 摄氏度氢气保护下搅拌 18 小时, 将反应液中钨碳滤掉后将滤液浓缩蒸干得到化合物 10 (10.4 g, 收率 99%)。

7. 化合物 12 的合成

25 摄氏度下将 $\text{EDCI} \cdot \text{HCl}$ (2.6 g) 加到化合物 10 (1.5 g) 和化合物 11 (1.4 g) 的 Py (15 mL) 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液浓缩蒸干, 残留物通过 $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 20 \text{ mL}/20 \text{ mL}$ 打浆得到化合物 12 (1.3 g, 收率 48%)。

8. 化合物 001 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-甲基环己基)-6-甲氧基-2H-吡啶-5-基)氨基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成



001

25 摄氏度下将碳酸铯 (985 mg) 加入到化合物 12 (300 mg) 和化合物 5 (344 mg) 的 5 mL 的 DMF 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 30 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}(0.1\%\text{NH}_4\text{HCO}_3) = 15-45\%$, UV: 214nm, 流速: 15ml/min) 纯化得到化合物 001 (70 mg, 收率 17%)。

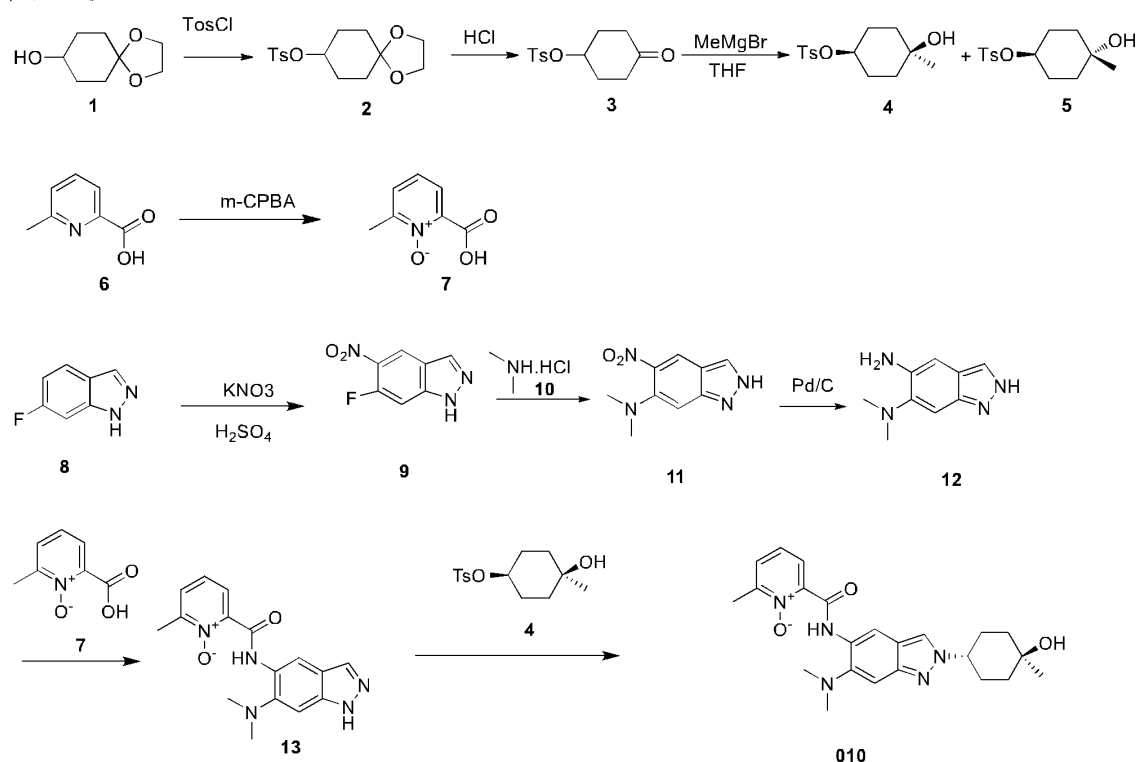
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14.16 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.32-8.30 (m, 1H), 7.77 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 4.45 (s, 1H), 4.43-4.40 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.09-2.00 (m, 4H), 1.68-1.58 (m, 4H), 1.22 (s, 3H). LCMS: $R_t = 3.646 \text{ min}$, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 411.1$.

9. 化合物 11 的合成

25 摄氏度下将 m-CPBA (25 g) 加到化合物 **13** (10 g) 的 200 mL DCM 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液过滤, 滤液用 15.6 g 亚硫酸钠配成的饱和溶液淬灭, 混合溶液搅拌 2 小时, 萃取, 水相用稀盐酸调至 PH<7, DCM 萃取 (50 mL*3), 有机相合并浓缩, 残余物用 300 mL EA 打浆得到化合物 11 (10.1 g, 收率 90%)。

实施例 2 化合物 010 的合成

反应式:



1. 化合物 2 的合成

15 摄氏度下依次向化合物 **1** (50 g) 的二氯甲烷溶液 (500 mL) 中加入 DMAP (42.5 g), TsCl (63.4 g), 和三乙胺 (63.9 g), 并在 25 摄氏度下搅拌反应 18 小时。向反应液中加入二氯甲烷 (200 mL) 用水洗涤 (300 mL*2), 1M 的稀盐酸 (300 mL*3) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到化合物 **2** (98 g, 收率: 99%)。

2. 化合物 3 的合成

15 摄氏度下向化合物 **2** (50 g) 的四氢呋喃溶液 (300 mL) 中加入 1M 稀盐酸 (300 mL) 并在 25 摄氏度下搅拌反应 20 小时。冷却到 0 摄氏度, 用 1M 的氢氧化钠溶液调到 $\text{PH}=9$, 用乙酸乙酯 (200 mL*3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用石油醚 (150 mL) 打浆得化合物 **3** (39 g, 收率 91%)。

3. 化合物 4&5 的合成

-40 摄氏度下向甲基溴化镁 (85.8 mL) 的四氢呋喃溶液 (500 mL) 中滴加化合物 **3** (34.5 g) 的四氢呋喃溶液 (200 mL), 并在 -40 摄氏度下搅拌反应 4 小时, 用饱和氯化铵溶液 (100 mL) 淬灭反应,

用乙酸乙酯(500 mL×3)萃取, 萃取液用饱和食盐水(300 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱纯化(石油醚:乙酸乙酯=5:1)得化合物 **4** (4.3 g, 收率 10%), 化合物 **5** (7.0 g, 收率 17%) 和混合物 12g。

化合物 **4**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 7.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.52-4.41 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.95-1.80 (m, 2H), 1.77-1.61 (m, 4H), 1.46-1.35 (m, 2H), 1.19 (s, 3H)。

化合物 **5**

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 4.74-4.64 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.92-1.79 (m, 2H), 1.77-1.62 (m, 4H), 1.49-1.38 (m, 2H), 1.23 (s, 3H)。

4. 化合物 **7** 的合成

25 摄氏度下将 m-CPBA (25 g) 加到化合物 **6** (10 g) 的 200 mL DCM 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液过滤, 滤液用 15.6 g 亚硫酸钠配成的饱和溶液淬灭, 混合溶液搅拌 2 小时, 萃取, 水相用稀盐酸调至 $\text{pH} < 7$, DCM 萃取 (50 mL×3), 有机相合并浓缩, 残余物用 300 mL EA 打浆得到化合物 **7** (10.1 g, 收率 90%)。

5. 化合物 **9** 的合成

将 80 mL 浓硫酸加入到 500 mL 三口瓶, 冷却至零下 7 摄氏度, 缓慢加入化合物 **8** (10 g), 在此温度下搅拌 5 分钟后, 冷却至零下 15 摄氏度, 缓慢加入硝酸钾 (8.9 g), 在此温度下搅拌 1 小时。合并的反应液倒入 1.2 L 冰水中, 将析出的固体过滤, 滤饼溶于 2 L 乙酸乙酯, 加入 4 L 碳酸氢钠溶液调至碱性, 乙酸乙酯萃取 (2 L×3), 有机相浓缩蒸干, 残留物通过硅胶柱 (DCM/MeOH=300/1) 纯化得到化合物 **9** (12.3 g, 收率 27%)。

6. 化合物 **11** 的合成

室温下将化合物 **9** (400 mg), 化合物 **10** (1.81 g) 和 DIPEA (2.86 g), 依次加入到 20 mL 的 DMF 溶液中, 反应液在闷罐中 80 摄氏度搅拌过夜, 反应结束后加入水, 乙酸乙酯萃取三次, 减压浓缩通过硅胶柱纯化 (DCM/CH₃OH=200/1) 得到化合物 **11** (570 mg, 收率 83%)。

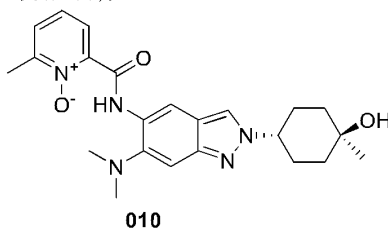
7. 化合物 **12** 的合成

室温下将化合物 **11** (80 mg) 和 Pd/C (5 mg) 依次加入到 10 mL 的甲醇溶液中, 反应液在氢气保护下 55°C 搅拌过夜, 反应结束后过滤, 滤液减压浓缩后通过硅胶柱纯化 (DCM/CH₃OH=100/1) 得到化合物 **12** (60 mg, 收率 65%)。

8. 化合物 **13** 的合成

25 摄氏度下将 EDCL·HCl (950 mg) 加到化合物 **12** (580 mg) 和化合物 **7** (505 mg) 的 Py (11 mL) 溶液中, 反应液 40 摄氏度搅拌 16 小时。反应液浓缩蒸干, 残余物通过硅胶柱 (PE:EA=1:1) 纯化得到化合物 **13** (550 mg, 收率 55%)。

9. 化合物 **010** 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-甲基环己基)-6-二甲基氨基-2H-吡啶-5-基) 氨甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成



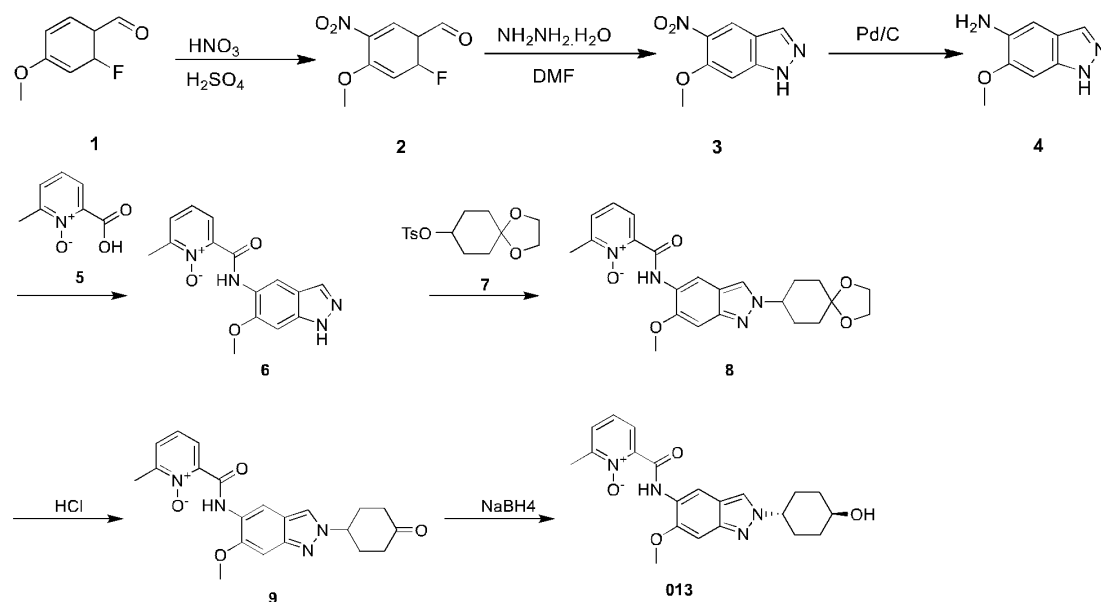
25 摄氏度下将碳酸铯 (936 mg) 加入到化合物 **13** (300 mg) 和化合物 **4** (409 mg) 的 6 mL

的 DMF 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 30 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=20-70%, UV:214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 010 (59 mg, 收率 14%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.01 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.33-8.30 (m, 1H), 7.77-7.74 (m, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 4.44-4.41 (m, 2H), 2.72 (s, 6H), 2.52 (s, 3H), 2.06-2.01 (m, 4H), 1.68-1.55 (m, 4H), 1.23 (s, 3H). LCMS: Rt = 3.318 min, [M+H]⁺ = 424.2.

实施例 3 化合物 013 的合成

反应式:



1. 化合物 2 的合成

零下 15 摄氏度下向化合物 1 (2.0 g) 的浓硫酸 (12 mL, 98%) 溶液中滴加硝酸 (1.6 mL, 70%) 的浓硫酸 (1.6 mL, 98%) 混合溶液。加完后混合体系零下 15 摄氏度搅拌 2 小时, 将反应液缓慢倾倒入冰水中并搅拌 5 分钟, 抽滤, 用水洗涤, 收集固体减压干燥得到化合物 2 (2.5 g, 收率: 97%)。

2. 化合物 3 的合成

室温下向化合物 2 (2.0 g) 的 DMF (20 mL) 溶液中加入水合肼 (2.4 mL, 98%), 加完后混合体系加热到 120 摄氏度搅拌 16 小时, 冷却到室温, 混合体系慢慢倒入冰水中并搅拌, 抽滤, 用水洗涤固体, 收集固体减压浓缩得到化合物 3 (1.3 g, 收率: 67%)。

3. 化合物 4 的合成

15 摄氏度下将化合物 3 (12.4 g) 和钯碳 (7 g, 10%) 依次加入到 400 mL 乙酸乙酯中。加完后混合体系在 15 摄氏度氢气保护下搅拌 18 小时, 将反应液中钯碳滤掉后将滤液浓缩蒸干得到化合物 4 (10.4 g, 收率 99%)。

4. 化合物 6 的合成

25 摄氏度下将 EDCl.HCl (2.6 g) 加到化合物 4 (1.5 g) 和化合物 5 (1.4 g) 的 Py (15 mL) 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液浓缩蒸干, 残留物通过 MeOH/H₂O=20 mL/20 mL 打浆得到化合物 6 (1.3 g, 收率 48%)。

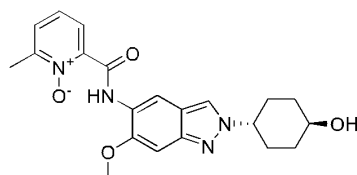
5. 化合物 8 的合成

25 摄氏度下将碳酸铯 (3.3 g) 加入到化合物 6 (1 g) 和化合物 7 (1.3 g) 的 20 mL 的 DMF 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 50 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱(CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=20-60%, UV:214nm, 流速:15ml/min)纯化得到化合物 8 (370 mg, 收率 25%)。

6. 化合物 9 的合成

25 摄氏度下向化合物 8 (350 mg) 的 5 mL 二氧六环溶液中加入 5 mL 2 M 稀盐酸, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液用碳酸钠溶液调至碱性, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 有机相减压浓缩得到化合物 9 (150 mg, 收率 48%)。

7. 化合物 013 即 2-((2-(反式-4-羟基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基羰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成



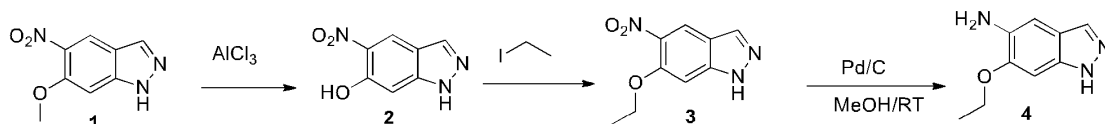
013

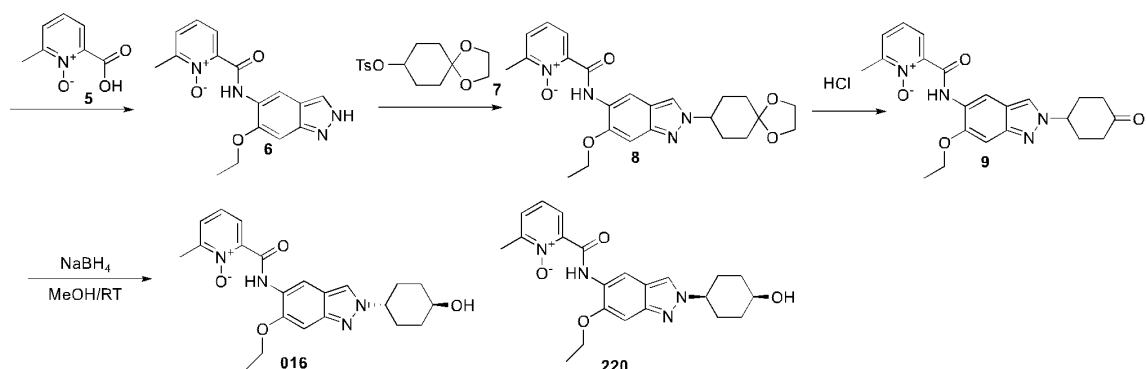
0 摄氏度下将硼氢化钠 (25 mg) 加到化合物 9 (130 mg) 的 2 mL 甲醇溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 2 小时。反应液用 10 mL 氯化铵溶液淬灭, 乙酸乙酯萃取 (5 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱(CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=10-60%, UV:214nm, 流速:15ml/min)纯化得到化合物 013 (54 mg, 收率 41%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.16 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.31-8.29 (m, 2H), 7.78-7.76 (m, 1H), 7.58 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.10 (s, 1H), 4.71 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.40-4.34 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.57-3.50 (m, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.09-2.06 (m, 2H), 1.97-1.88 (m, 4H), 1.45-1.34 (m, 2H). LCMS: Rt = 2.541 min, [M+H]⁺ = 397.2.

实施例 4 化合物 016 和化合物 220 的合成

反应式:





1. 化合物 2 的合成

18 摄氏度下将化合物 1 (2 g)和 AlCl_3 (4.13 g) 依次加入到二氯甲烷 (150 mL)中, 反应液 55 摄氏度搅拌 18 小时。反应液用 50 mL 水淬灭后用 150 mL 二氯甲烷萃取后再用乙酸乙酯萃取 (150 mL*3), 有机相浓缩蒸干, 残留物用 30 mL 二氯甲烷打浆得到化合物 2 (1.6 g, 收率 86%)。

2. 化合物 3 的合成

25 摄氏度下将碳酸钾 (93 mg) 加入到化合物 2 (0.1 g) 和碘乙烷 (105 mg) 的 2 mL 的 DMF 溶液中, 反应液 60 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 20 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (5 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯=2/1) 得到化合物 3 (0.1 g, 收率 86%)。

3. 化合物 4 的合成

25 摄氏度下向化合物 3 (1.1 g) 的 100 mL 甲醇溶液中加入 0.3 g Pd/C, 反应液 25 摄氏度, 一个氢气球压力下 (760 Torr) 搅拌 16 小时。反应液过滤, 滤液旋干得到化合物 4 (0.71g, 收率 76%)。

4. 化合物 6 的合成

25 摄氏度下将化合物 5 (558 mg) 加入到化合物 4 (710 mg) 和 EDCI (840 mg) 的 25 mL 的吡啶溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 100 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过硅胶柱纯化 (二氯甲烷/甲醇=60/1) 得到化合物 6 (0.67 g, 收率 54%)。

5. 化合物 8 的合成

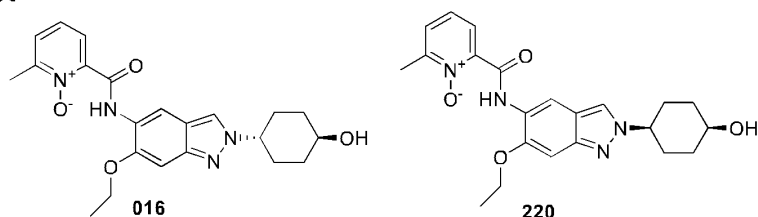
25 摄氏度下将化合物 6 (630 mg) 加入到化合物 7 (945 mg) 和碳酸铯 (1.97 g) 的 25 mL 的 DMF 溶液中, 反应液氮气保护下, 90 摄氏度搅拌 16 小时。将反应液加到 100 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}(0.1\%\text{NH}_4\text{HCO}_3)=5-95\%$, UV:214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 8 (160 mg, 收率 18%)。

6. 化合物 9 的合成

25 摄氏度下将化合物 8 (180 mg) 溶于 30 mL 二氧六环和 10 mL 的 2M 的稀盐酸混合溶液中, 反应液 45 摄氏度下搅拌 16 小时。反应液用饱和碳酸氢钠调 $\text{PH}>7$, 再用乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相旋干得到化合物 9 (180 mg, 收率 97%)。

7. 化合物 016 即 2-((2-(反式-4-羟基环己基)-6-乙氧基-2H-咪唑-5-基)氮甲酰基)-6-甲基吡啶 1-

氧化物和化合物 220 即 2-((2-(顺式-4-羟基环己基)-6-乙氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成



0 摄氏度下将硼氢化钠 (50 mg) 加到化合物 9 (180 mg) 的 20 mL 甲醇溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 1 小时。反应液用 10 mL 氯化铵溶液淬灭, 乙酸乙酯萃取 (20 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱(CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=20-50%, UV:214nm, 流速:15ml/min)纯化得到保留时间 Rt = 11.25 min 的化合物 016 (123 mg, 收率 68%), 保留时间 Rt = 11.75 min 的化合物 220 (30 mg, 收率 17%)。

化合物 016

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.30 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.43-7.36 (m, 2H), 7.03 (s, 1H), 4.37-4.30 (m, 1H), 4.24 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.82-3.80 (m, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.28 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H), 2.18 (d, *J* = 14.8 Hz, 2H), 2.06 (q, *J* = 13.2 Hz, 2H), 1.65-1.56 (m, 3H), 1.55-1.50 (m, 2H).

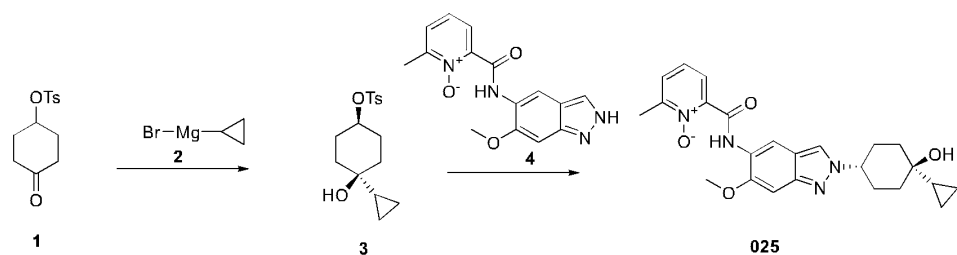
LCMS: Rt = 2.486 min, [M+H]⁺ = 411.2.

化合物 220

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.30 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.43-7.36 (m, 2H), 7.04 (s, 1H), 4.41-4.35 (m, 1H), 4.24 (q, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.14 (br s, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.35 (q, *J* = 8.8 Hz, 2H), 2.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 1.98 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 1.75 (t, *J* = 13.2 Hz, 2H), 1.64 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H). LCMS: Rt = 2.642 min, [M+H]⁺ = 411.2.

实施例 5 化合物 025 的合成

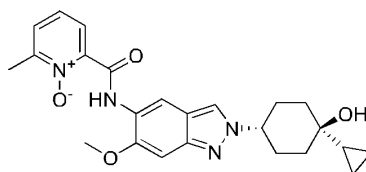
反应式:



1. 化合物 3 的合成

-40 摄氏度下向化合物 2 (45 mL) 的四氢呋喃溶液(100 mL)中滴加化合物 1 (3 g) 的四氢呋喃溶液(10 mL), 并在 0 摄氏度下搅拌反应 8 小时, 用饱和氯化铵溶液(200 mL)淬灭反应, 用乙酸乙酯(200 mL*3)萃取, 萃取液用饱和食盐水(400 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱纯化(石油醚:乙酸乙酯=5:1)得到化合物 3 (1.5 g, 收率 44%)。

2. 化合物 025 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-环丙基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成



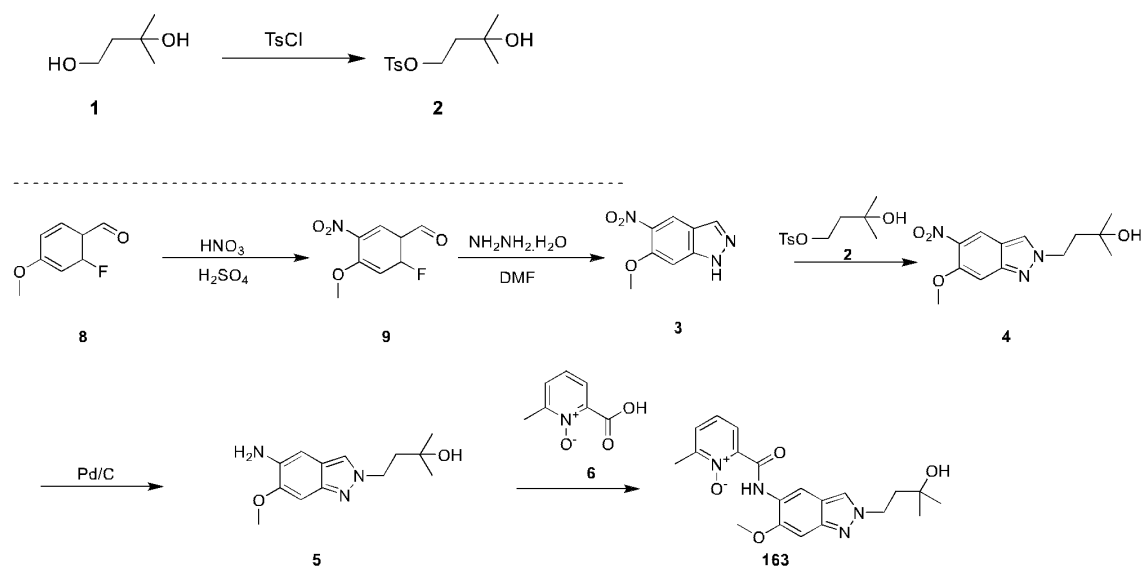
025

25 摄氏度下将碳酸铯 (820 mg) 加到化合物 **4** (300 mg) 和化合物 **3** (374 mg) 的 NMP (30 mL) 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 h。冷却加入水 (100 mL), 乙酸乙酯萃取(80 mL*4), 有机相减压浓缩, 残留物高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=5-95%, UV:214 nm, 流速: 15mL/min)得到化合物 025 (79 mg, 收率 18%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.13 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.42-7.37 (m, 2H), 7.07 (s, 1H), 4.49-4.41(m, 1H), 4.05 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 2.38-2.22 (m, 4H), 1.92-1.88 (m, 2H), 1.72-1.64 (m, 2H), 1.31-1.26 (m, 1H), 0.98 (s, 1H), 0.43-0.41 (m, 4H). LCMS: Rt=3.198, [M+H]⁺ = 437.2.

实施例 6 化合物 163 的合成

反应式:



1. 化合物 2 的合成

15 摄氏度下将对甲苯磺酰氯 (11.8 g) 加入到化合物 **1** (6.1 g), 三乙胺 (14.8 g)和 DMAP (7.2 g)的 DCM (120 mL)溶液中, 反应液 10 摄氏度搅拌 16 小时。反应液用 1N HCl 溶液洗涤 (100 mL*3), 有机相干燥浓缩, 得到化合物 **2** (13.1 g, 收率 84%)。

2. 化合物 9 的合成

零下 15 摄氏度下向化合物 **8** (2.0 g) 的浓硫酸 (12 mL, 98%) 溶液中滴加硝酸 (1.6 mL) 的浓硫酸 (1.6 mL, 98%) 混合溶液。加完后混合体系零下 15 摄氏度搅拌 2 小时, 将反应液缓慢倾倒入冰水中并搅拌 5 分钟, 抽滤, 用水洗涤, 收集固体减压干燥得到化合物 **9** (2.5 g, 收

率：97%)。

3. 化合物 3 的合成

室温下向化合物 8 (2.0 g) 的 DMF (20 mL) 溶液中加入水合肼 (2.4 mL, 98%), 加完后混合体系加热到 120 摄氏度搅拌 16 小时, 冷却到室温, 混合体系慢慢倒入冰水中并搅拌, 抽滤, 用水洗涤固体, 收集固体减压浓缩得到化合物 3 (1.3 g, 收率: 67%)。

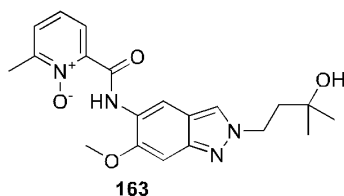
4. 化合物 4 的合成

15 摄氏度下将 DIPEA (13.4 g) 加入到化合物 3 (4.0 g) 和化合物 2 (10.7 g) 的 80 mL 的甲苯溶液中, 反应液 130 摄氏度搅拌 48 小时, 反应液加到 100 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (50 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=10-50%, UV:214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 4 (2.5 g, 收率 43%)。

5. 化合物 5 的合成

30 摄氏度下将 400 mg 的 Pd/C 加入到化合物 4 (1.3 g) 的乙酸乙酯 (30 mL) 溶液中, 反应在一个氢气球压力下搅拌 16h, 反应液合并过滤, 减压浓缩, 得到化合物 5 (1.9 g, 收率 95%)。

6. 化合物 163 即 2-((2-(3-羟基-3-甲基丁基)-6-甲氧基-2H-吲唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成

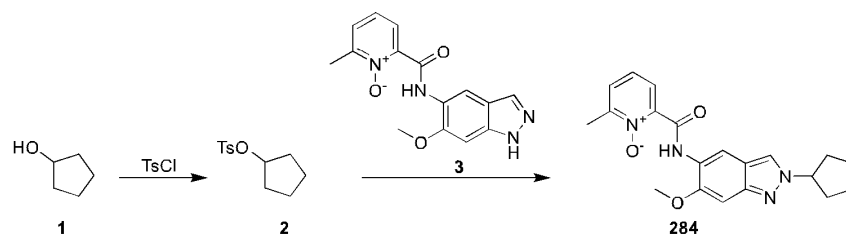


30 摄氏度下将 HATU (273 mg), Et₃N (145 mg) 加入到化合物 5 (120 mg) 和化合物 6 (81 mg) 的 DMF (2mL) 溶液中, 反应 30 摄氏度搅拌 18 小时, 反应液减压浓缩, 粗品用高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O (0.1% NH₄HCO₃) = 5-95%, UV: 214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 163 (110 mg, 60%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.13 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.31-8.28 (m, 2H), 7.77-7.75 (m, 1H), 7.60-7.55 (m, 1H), 7.09 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.44-4.40 (m, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.04-2.00 (m, 2H), 1.15 (s, 6H). LCMS: Rt = 2.784 min, [M+H]⁺ = 385.2.

实施例 7 化合物 284 的合成

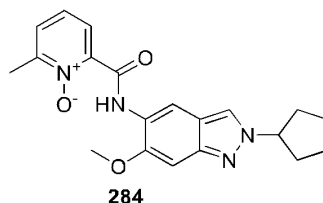
反应式:



1. 化合物 2 的合成

25 摄氏度下将对甲苯磺酰氯(2.3 g)加入到化合物 **1** (1 g), 三乙胺 (2.9 g)和 DMAP (1.4 g) 的 DCM (20 mL)溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液用 1N HCl 溶液洗涤 (200 mL*3), 有机相干燥浓缩, 得到化合物 **2** (2.1 g, 收率 75%)。

2. 化合物 **284** 即 2-((2-环戊基-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成

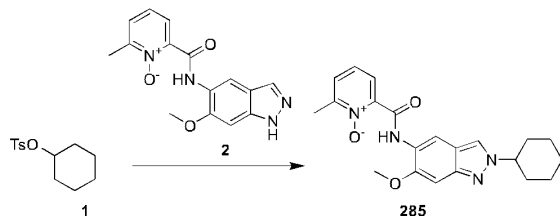


25 摄氏度下将碳酸铯 (1.6 g) 加入到化合物 **3** (500 mg) 和化合物 **2** (485 mg) 的 10 mL 的 DMF 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 50 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱(CH₃CN:H₂O(0.1% NH₄HCO₃)=25-60%, UV: 214nm, 流动速率:15ml/min)纯化得到化合物 **284** (123 mg, 收率 20%)。

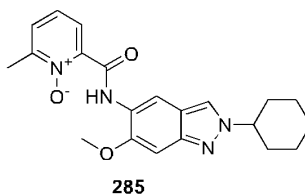
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.15 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.32-8.29 (m, 2H), 7.77-7.75 (m, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 4.97-4.90 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.22-2.13 (m, 2H), 2.10-2.01 (m, 2H), 1.92-1.82 (m, 2H), 1.74-1.65 (m, 2H). LCMS: Rt = 3.562 min, [M+H]⁺ = 367.2.

实施例 8 化合物 **285** 的合成

反应式:



1. 化合物 **285** 即 2-((2-环己基-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成

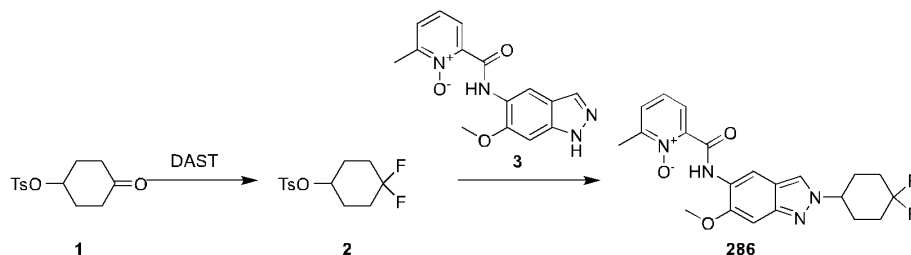


25 摄氏度下将碳酸铯 (1.3 g) 加入到化合物 **2** (400 mg) 和化合物 **1** (511 mg) 的 8 mL 的 NMP 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 30 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱(CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=25-75%, UV:214nm, 流速:15ml/min)纯化得到化合物 **285**(68 mg, 收率 13%)。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14.15 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.32-8.29 (m, 2H), 7.78-7.76 (m, 1H), 7.58 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.40-4.34 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.11-2.07 (m, 2H), 1.90-1.80 (m, 4H), 1.70 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 1.50-1.40 (m, 2H), 1.31-1.23 (m, 1H). LCMS: Rt = 3.971 min, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 381.2$.

实施例 9 化合物 286 的合成

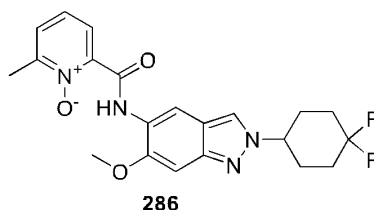
反应式:



1. 化合物 2 的合成

0 摄氏度下将 DAST (6 g) 加入到化合物 1 (2 g) 的 DCM (70 mL) 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 3 小时。反应液倒入 50 mL 冰水中, 二氯甲烷萃取 (30 mL*2), 有机相减压浓缩, 残留物通过硅胶柱 (PE:EA=10:1) 纯化得到化合物 2 (1.8 g, 收率 82%)。

2. 化合物 286 即 2-((2-(4,4-二氟环己基)-6-甲氧基-2H-咪唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成

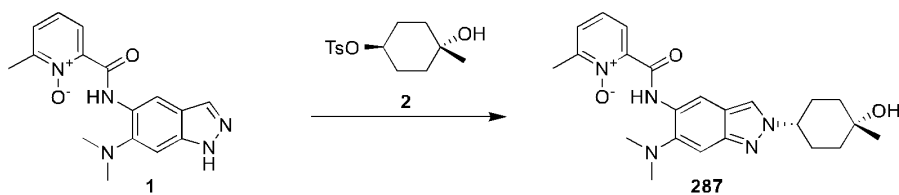


25 摄氏度下将碳酸铯 (1.6 g) 加入到化合物 3 (500 mg) 和化合物 2 (731 mg) 的 10 mL 的 NMP 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 30 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}(0.1\%\text{NH}_4\text{HCO}_3)=40-70\%$, UV:214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 286 (129 mg, 收率 18%)。

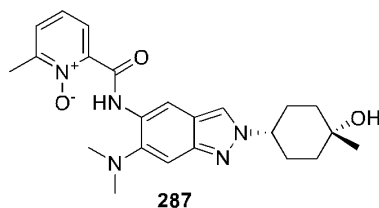
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 14.17 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.32-8.29 (m, 1H), 7.78-7.76 (m, 1H), 7.58 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 4.68-4.57 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 2.53 (s, 3H), 2.32-2.07 (m, 8H). LCMS: Rt = 3.692 min, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417.2$.

实施例 10 化合物 287 的合成

反应式:



1. 化合物 287 即 2-((2-(顺式-4-羟基-反式-4-甲基环己基)-6-二甲基氨基-2*H*-吡唑-5-基)氨基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成

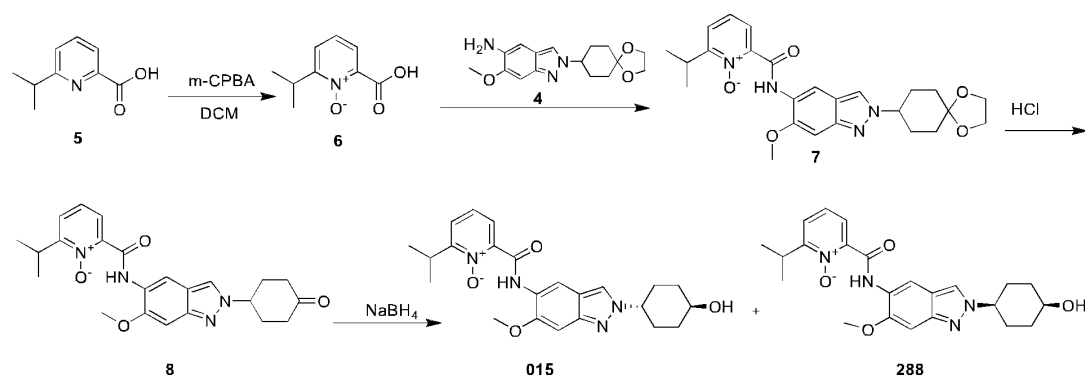
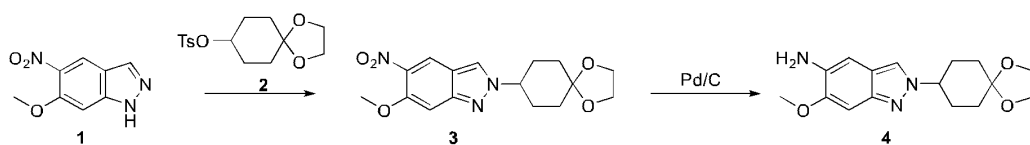


25 摄氏度下将碳酸铯 (800 mg) 加入到化合物 1 (255 mg) 和化合物 2 (350 mg) 的 5 mL 的 NMP 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 30 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=35-60%, UV:214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 287 (51 mg, 收率 15%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.03 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.41-7.35 (m, 3H), 4.37-4.31 (m, 1H), 2.84 (s, 6H), 2.63 (s, 3H), 2.37-2.27 (m, 2H), 2.11-2.05 (m, 2H), 1.93-1.85 (m, 2H), 1.61-1.58 (m, 2H), 1.33 (s, 3H). LCMS: Rt = 3.298 min, [M+H]⁺ = 424.3.

实施例 11 化合物 015 和化合物 288 的合成

反应式:



1. 化合物 3 的合成

20 摄氏度下依次将化合物 **1** (5 g), 化合物 **2** (26 g) 和碳酸铯 (29 g) 加入到 DMF (400

mL), 置换氮气, 90 摄氏度下搅拌 24 小时, 冷却至 20 摄氏度, 加水 (800 mL), 乙酸乙酯 (800 mL×3) 萃取, 有机相用饱和氯化钠溶液 (500 mL×3) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1: 1), MTBE (50 mL) 打浆, 得到化合物 3 (1.2 g, 收率 14%)。

2. 化合物 4 的合成

25 摄氏度下将 0.1 g Pd/C 加入到化合物 3 (1.1 g) 的乙酸乙酯 (200 mL) 溶液中, 氢气球下搅拌 16 h, 过滤, 减压浓缩, 得到化合物 4 (901 mg, 收率 90%)。

3. 化合物 6 的合成

将化合物 5 (900 mg) 溶于二氯甲烷 (20 mL) 溶液中, 慢慢加入 mCPBA (2.5 g), 反应液 25 摄氏度搅拌 16h。过滤, 残留物用亚硫酸钠水溶液淬灭后再用稀盐酸调节 PH<7, 用二氯甲烷萃取 (50 mL×3), 有机相浓缩并用 (石油醚: 乙酸乙酯=1: 1) 过柱纯化得到化合物 6 (0.68 g, 收率 69%)。

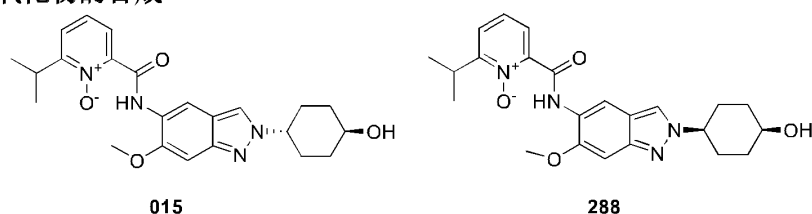
4. 化合物 7 的合成

在 25 摄氏度下向化合物 6 (164 mg) 和化合物 4 (250 mg) 的 DMF (10 mL) 溶液中加入 HATU (376 mg) 和 DIPEA (128 mg) 搅拌 16h。反应相加水 (100 mL), EA (20 mL×3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (200 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用 (二氯甲烷: 甲醇=40: 1) 过柱纯化打浆得到化合物 7 (480 mg, 收率 99%)。

5. 化合物 8 的合成

0 摄氏度下, 向化合物 7 (480 mg) 的二氧六环溶液 (10 mL) 中加入 4M 盐酸 (10 mL), 30 摄氏度下搅拌反应 16 小时, 冷却到 0 摄氏度, 用饱和 NaHCO₃ 溶液调到 pH = 8, EA (40 mL×5) 萃取, 饱和 NaCl (200 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得化合物 8 (435 mg, 收率 99%)。

7. 化合物 015 即 2-((2-(反式-4-羟基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基羰基)-6-异丙基吡啶 1-氧化物和化合物 288 即 2-((2-(顺式-4-羟基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基羰基)-6-异丙基吡啶 1-氧化物的合成



0 摄氏度下将硼氢化钠 (118 mg) 加到化合物 8 (435 mg) 的 20 mL 甲醇溶液中, 30 摄氏度搅拌 16 小时。反应液饱和氯化铵调到 pH = 7, DCM (40 mL×5) 萃取, 饱和 NaCl (200 mL) 洗, 减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O (0.1% NH₄HCO₃) = 30-70%, UV: 214nm, 流速: 15ml/min) 纯化得到保留时间 Rt=28.13 min 的化合物 015 (171 mg, 收率 39%); 保留时间 Rt=29.25 min 的化合物 288 (44 mg, 收率 10%)。

化合物 015

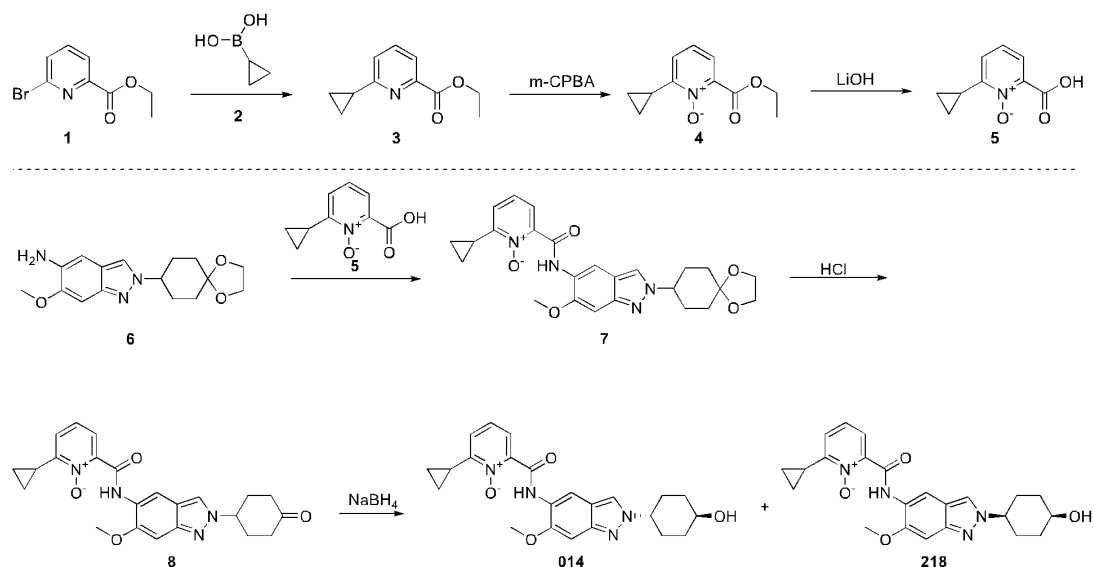
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.18 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.44 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.47-7.40 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 4.34-4.33 (m, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.99-3.95 (m, 1H), 3.82-3.80 (m, 1H), 2.30-2.26 (m, 2H), 2.19-2.16 (m, 2H), 2.05 (q, J = 9.2 Hz, 2H), 1.60-1.50 (m, 2H), 1.36 (s, 3H), 1.35 (s, 3H). LCMS: Rt = 3.531, [M+H]⁺ = 425.2.

化合物 288

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 14.17 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.44 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.47-7.40 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 4.39-4.37 (m, 1H), 4.14 (s, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.99-3.95 (m, 1H), 2.38-2.34 (m, 2H), 2.09-2.04 (m, 2H), 2.01-1.96 (m, 2H), 1.80-1.76 (m, 2H), 1.36 (s, 3H), 1.35 (s, 3H). LCMS: $R_t = 3.472$, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 425.2$.

实施例 12 化合物 014 和化合物 218 的合成

反应式:

**1. 化合物 3 的合成**

将 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (113 mg) 与 K_3PO_4 (13.4 g) 加到化合物 1 (7.3 g) 和化合物 2 (6.5 g) 的甲苯 (70 mL) 溶液中, 置换氮气, 反应液 100 摄氏度搅拌 16h。冷却, 减压浓缩, 残留物用薄层色谱 (石油醚: 乙酸乙酯=20: 1) 纯化得到化合物 3 (1.2 g, 收率 20%)。

2. 化合物 4 的合成

25 摄氏度下将 m-CPBA (5.7 g) 加到化合物 3 (1.1 g) 的 100 mL DCM 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 48 小时, 反应液用 2.4 g 亚硫酸钠配成的饱和溶液淬灭, 有机相用饱和碳酸氢钠 (100 mL×3) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到化合物 4 (1.1 g, 收率 92%)。

3. 化合物 5 的合成

依次将化合物 4 (1.2 g) 和 $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (730 mg) 加入到 THF/ H_2O (30 mL / 10 mL) 中, 置换氮气。加完后混合体系 30 °C 搅拌 4 小时。加水 (50 mL), 水相用 1 N HCl 缓慢调节 pH 至 7, 乙酸乙酯萃取 (100 mL×3), 用饱和食盐水洗涤 (200 mL), 无水硫酸钠干燥, 抽滤, 减压干燥得到化合物 5 (844 mg, 收率 84%)。

4. 化合物 7 的合成

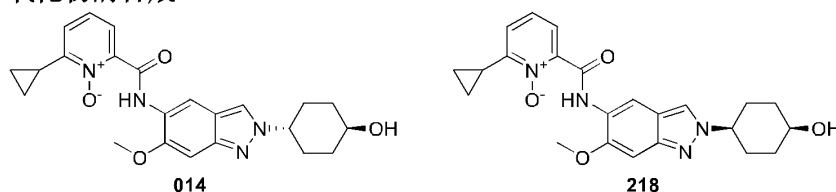
在 25°C 下向化合物 6 (450 mg) 和化合物 5 (319 mg) 的吡啶 (35 mL) 溶液中加入 DECI (427 mg), 搅拌 16h。减压浓缩至干, 加水 (100 mL), DCM (100 mL×3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (200 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用乙酸乙酯 (10 mL)

打浆得到化合物 7 (314 mg, 收率 45%)。

5. 化合物 8 的合成

0 摄氏度下,向化合物 7(289 mg) 的四氢呋喃溶液(25 mL)中加入 4M 盐酸(250 mL), 30 摄氏度下搅拌反应 16 小时, 冷却到 0 摄氏度, 用饱和 NaHCO_3 溶液调到 pH=8, DCM (40 mL×5) 萃取, 萃取液用饱和 NaCl (200 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得化合物 8 (249 mg, 收率 95%)。

6. 化合物 014 即 2-((2-(反式-4-羟基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-环丙基吡啶 1-氧化物和化合物 218 即 2-((2-(顺式-4-羟基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-环丙基吡啶 1-氧化物的合成



0 摄氏度下将硼氢化钠 (67 mg) 加到化合物 8 (249 mg) 的 20 mL 甲醇溶液中, 30 摄氏度搅拌 16 小时。反应液饱和氯化铵调到 pH=7, DCM (40 mL×5) 萃取, 萃取液用饱和 NaCl (200 mL) 洗, 减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}(0.1\%\text{NH}_4\text{HCO}_3)$) =30-70%, UV:214nm, 流动速率:15ml/min)纯化得到保留时间 $R_t=7.99\text{min}$ 的化合物 014 (108 mg, 收率 43%); 保留时间 $R_t=8.50\text{min}$ 的化合物 218 (14 mg, 收率 5%)。

化合物 014

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 14.26 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.39-7.35 (m, 1H), 7.04 (s, 2H), 4.37-4.29 (m, 1H), 4.04 (s, 3H), 3.83-3.75 (m, 1H), 2.88-2.80 (m, 1H), 2.28-2.25 (m, 2H), 2.18-2.15 (m, 2H), 2.09-2.00 (m, 2H), 1.58-1.48 (m, 2H), 1.29-1.26 (m, 2H), 0.84-0.82 (m, 2H).

LCMS: $R_t=3.312$, $[\text{M}+\text{H}]^+=423.2$.

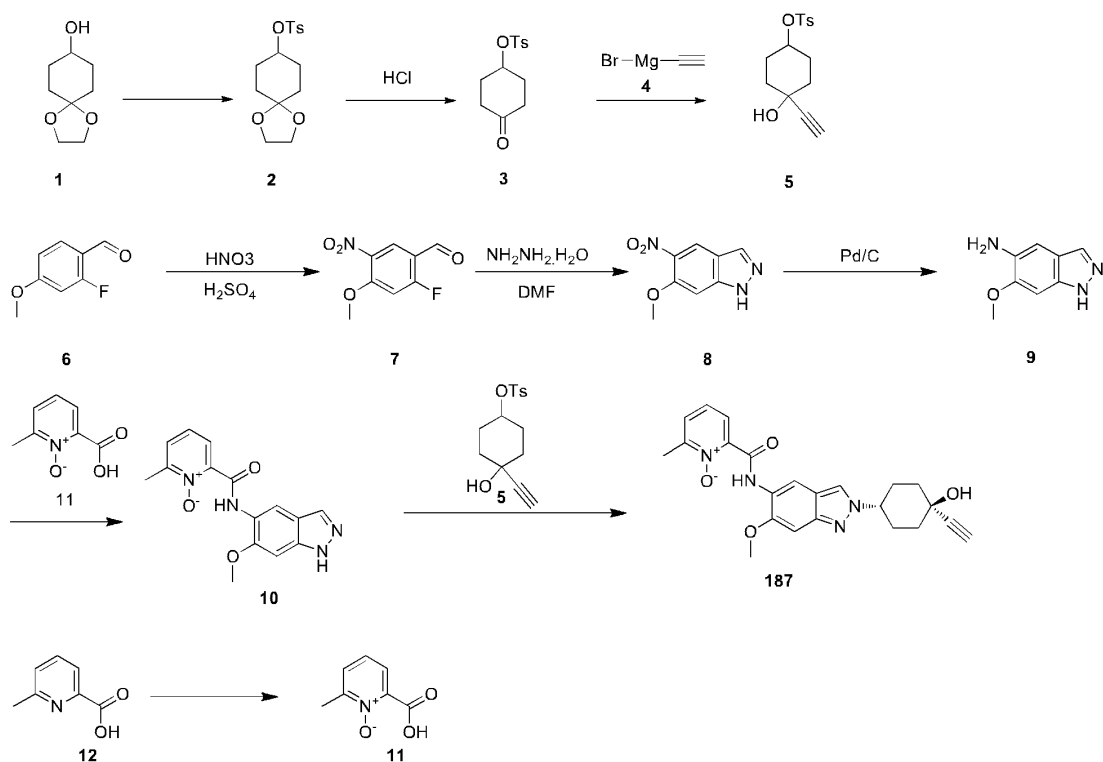
化合物 218

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 14.20 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.40(d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.38-7.26 (m, 1H), 7.06 (s, 2H), 4.69 (s, 1H), 4.41-4.35 (m, 1H), 4.14 (s, 1H), 4.05 (s, 3H), 2.89-2.80 (m, 1H), 2.41-2.31 (m, 2H), 2.08-2.04 (m, 2H), 2.00-1.96 (m, 2H), 1.80-1.72 (m, 2H), 1.28-1.26 (m, 2H), 0.84-0.83 (m, 2H).

LCMS: $R_t=2.807$, $[\text{M}+\text{H}]^+=423.2$.

实施例 13 化合物 187 的合成

反应式:



1. 化合物 2 的合成

15 摄氏度下依次向化合物 **1** (50 g) 的二氯甲烷溶液 (500 mL) 中加入 DMAP (42.5 g), TsCl (63.4 g), 和三乙胺 (63.9 g), 并在 25 摄氏度下搅拌反应 18 小时。向反应液中加入二氯甲烷 (200 mL) 用水洗涤 (300 mL $\times$ 2), 1M 的稀盐酸 (300 mL $\times$ 3) 洗涤, 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩得到化合物 **2** (98 g, 收率: 99%)。

2. 化合物 3 的合成

15 摄氏度下向化合物 **2** (50 g) 的四氢呋喃溶液 (300 mL) 中加入 1M 稀盐酸 (300 mL) 并在 25 摄氏度下搅拌反应 20 小时。冷却到 0 摄氏度, 用 1M 的氢氧化钠溶液调到 pH=9, 用乙酸乙酯 (200 mL $\times$ 3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (300 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用石油醚 (150 mL) 打浆得化合物 **3** (39 g, 收率 91%)。

3. 化合物 5 的合成

-40 摄氏度下向化合物 **4** (5.0 g) 的四氢呋喃 (100 mL) 中滴加化合物 **3** (74.6 mL) 并在 -40 摄氏度下搅拌反应 4 小时, TLC 显示反应完毕, 用饱和氯化铵溶液 (50 mL) 淬灭反应, 乙酸乙酯 (100 mL $\times$ 3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (50 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱 (石油醚: 乙酸乙酯=5:1) 纯化得化合物 **5** (900 mg, 收率: 16%)。

4. 化合物 7 的合成

将 80 mL 浓硫酸加到 1 L 的三口瓶中, 零下 12 摄氏度搅拌 5 分钟 (部分浓硫酸结冰状态), 然后在此温度下尽可能的慢慢加入化合物 **6** (10 g) 保持温度无大幅度波动, 此温度下搅拌五分钟, 然后在零下 12 摄氏度左右缓慢滴加硝酸 8 mL 和浓硫酸 8 mL 的混合液, 保持温度搅拌 1.5 小时。点板监测原料反应完全。将混合液慢慢倒入冰水中 (保持低温) 搅拌 20 分钟然后过滤, 经过水洗后减压蒸干得到化合物 **7** (13 g, 收率: 100%)。

5. 化合物 8 的合成

将化合物 7 (30 g) 溶解到 450 mL 的 DMF 中, 0 摄氏度下慢慢滴入水合肼 36.3 mL (98%), 然后混合液在 120 摄氏度搅拌 18 小时。反应完全后将冷却后的反应液慢慢倒入冰水中, 搅拌 10 分钟然后过滤, 经过水洗涤后减压蒸干得到化合物 8 (20 g, 收率: 69%)。

6. 化合物 9 的合成

将化合物 8 (10 g) 和 5 g 钨碳 (10%) 依次加入到 200 mL 乙酸乙酯中, 20 摄氏度下反应液在氢气保护下搅拌 16 小时。反应完全后加入硅藻土将钨碳滤掉, 滤液浓缩干燥得到化合物 9 (8 g, 收率: 94%)。

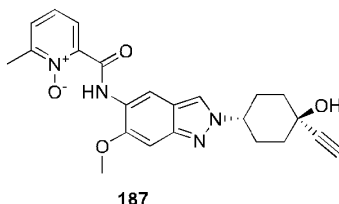
7. 化合物 11 的合成

25 摄氏度下将 m-CPBA (25 g) 加到化合物 12 (10 g) 的 200 mL DCM 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液过滤, 滤液用 15.6 g 亚硫酸钠配成的饱和溶液淬灭, 混合溶液搅拌 2 小时, 萃取, 水相用稀盐酸调至 pH<7, DCM 萃取 (50 mL*3), 有机相合并浓缩, 残余物用 300 mL EA 打浆得到化合物 11 (10.1 g, 收率 90%)。

8. 化合物 10 的合成

25 摄氏度下将 EDCl.HCl (2.6 g) 加到化合物 9 (1.5 g) 和化合物 11 (1.4 g) 的 Py (15 mL) 溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液浓缩蒸干, 残留物通过 MeOH/H₂O=20 mL/20 mL 打浆得到化合物 10 (1.3 g, 收率 48%)。

9. 化合物 187 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-乙炔基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成

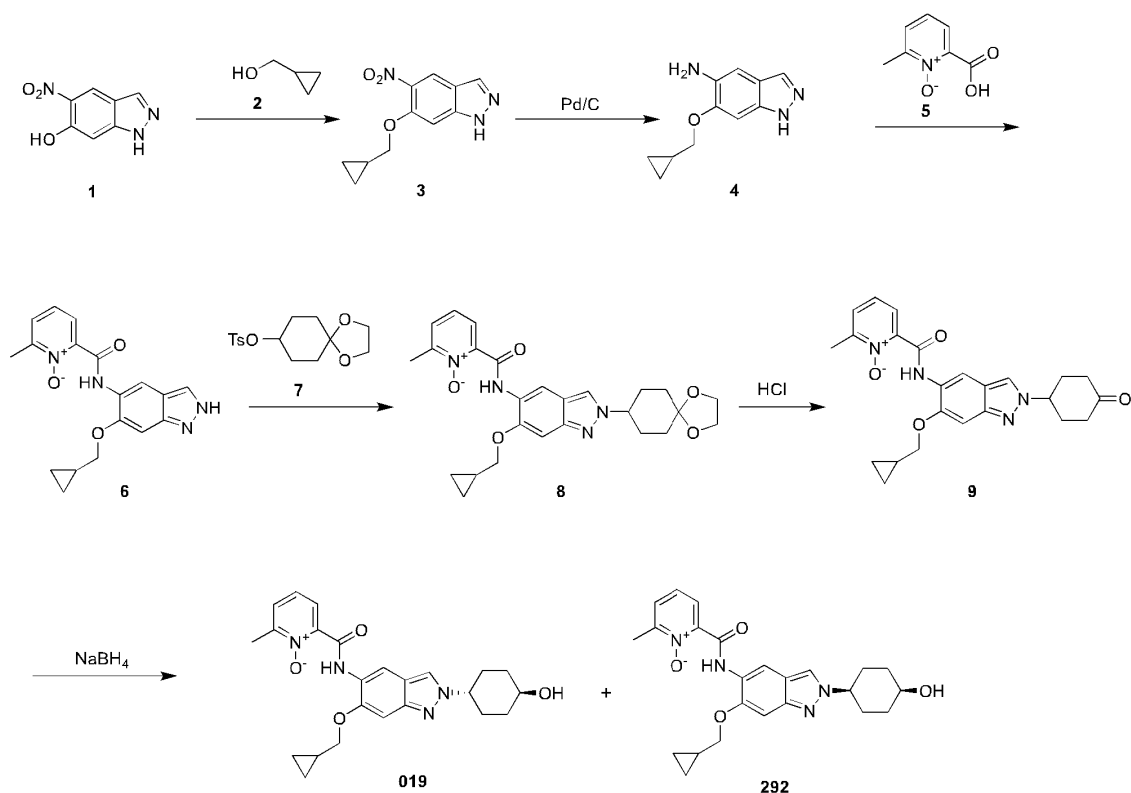


30 摄氏度下依次向 NMP (10 mL) 中加入化合物 10 (300 mg), 化合物 5 (444 mg) 和碳酸铯 (820 mg), 并在 90 摄氏度下搅拌反应 18 小时, LCMS 检测反应完毕, 降至 30 摄氏度加水 (15 mL) 淬灭反应, 用乙酸乙酯 (10 mL*3) 萃取, 萃取液用饱和氯化钠溶液 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用高效液相制备色谱柱 (CH₃CN:H₂O (0.1% NH₄HCO₃) = 5-90%, UV: 214 nm, 流速: 15 mL/min) 纯化得到化合物 187 (85 mg, 收率 20%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.14 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.46 (dd, *J*₁ = 7.6 Hz, *J*₂ = 2.8 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.45-7.37 (m, 2H), 7.07 (s, 1H), 4.44-4.33 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 2.69-2.60 (m, 4H), 2.33-2.27 (m, 4H), 2.25-2.17 (m, 2H), 1.90-1.79 (m, 2H). LCMS: Rt = 3.162 min, [M+H]⁺ = 421.2

实施例 14 化合物 019 和化合物 292 的合成

反应式:



1. 化合物 3 的合成

冰浴下将 PPh_3 (15 g) 加入到化合物 1 (7 g) 和化合物 2 (3.37 g) 的 THF (200 mL) 溶液中, 反应液搅拌 10 min 后, 将 DIAD (3.1 g) 慢慢滴加到反应液中, 反应在 30 摄氏度下搅拌 18 h, 向反应液加水 50 mL, 乙酸乙酯萃取 (40 mL*4), 有机相减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱纯化 (PE/EA=10/1 to PE/EA=2/1) 得到化合物 3 (6.0 g, 收率 66%)。

2. 化合物 4 的合成

15 摄氏度下将 Pd/C (1.0 g, 10%) 加入到化合物 3 (6.5 g) 的乙酸乙酯 (300 mL) 溶液中, 反应在 30 摄氏度、氢气球下 (760 Torr) 搅拌 18 小时, 反应液过滤, 减压浓缩, 得到化合物 4 (4.5 g, 收率 80%)。

3. 化合物 6 的合成

25 摄氏度下将 $\text{EDCl} \cdot \text{HCl}$ (2.1 g) 加到化合物 4 (1.5 g) 和化合物 5 (1.1 g) 的吡啶 (30 mL) 溶液中, 反应液在 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液浓缩蒸干, 残留物通过硅胶柱 (PE:EA=1:1) 纯化得到化合物 6 (810 mg, 收率 32%)。

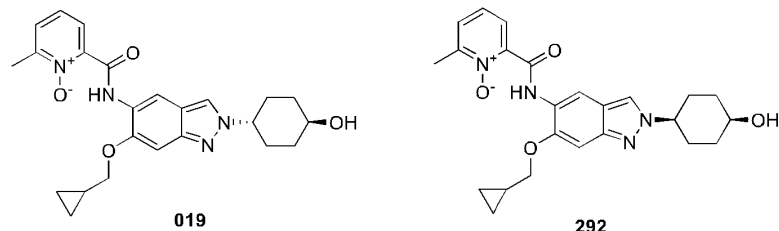
4. 化合物 8 的合成

25 摄氏度下将碳酸铯 (2.3 g) 加入到化合物 6 (810 mg) 和化合物 7 (1.1 g) 的 15 mL 的 DMF 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液加到 50 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱 ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}(0.1\%\text{NH}_4\text{HCO}_3)=30-55\%$, UV:214nm, 流速:15ml/min) 纯化得到化合物 8 (320 mg, 收率 28%)。

5. 化合物 9 的合成

25 摄氏度下向化合物 **8** (320 mg) 的 4 mL 二氧六环溶液中加入 4 mL 2 M 稀盐酸, 反应液 25 摄氏度搅拌 16 小时。反应液用碳酸氢钠溶液调至碱性, 乙酸乙酯萃取 (10 mL*2), 有机相减压浓缩得到化合物 **9** (250 mg, 收率 86%)。

6. 化合物 019 即 2-((2-(反式-4-羟基环己基)-6-环丙甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物和化合物 292 即 2-((2-(顺式-4-羟基环己基)-6-环丙甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-甲基吡啶 1-氧化物的合成



0 摄氏度下将硼氢化钠 (44 mg) 加到化合物 **7** (250 mg) 的 5 mL 甲醇溶液中, 反应液 25 摄氏度搅拌 2 小时。反应液用 10 mL 氯化铵溶液淬灭, 乙酸乙酯萃取 (5 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱(CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃)=35-60%, UV:214nm, 流速:15ml/min)纯化得到保留时间 Rt=10.7min 的化合物 **019** (77 mg, 收率 31%) 和保留时间 Rt=11.1min 的化合物 **292** (12 mg, 收率 5%)。

化合物 019:

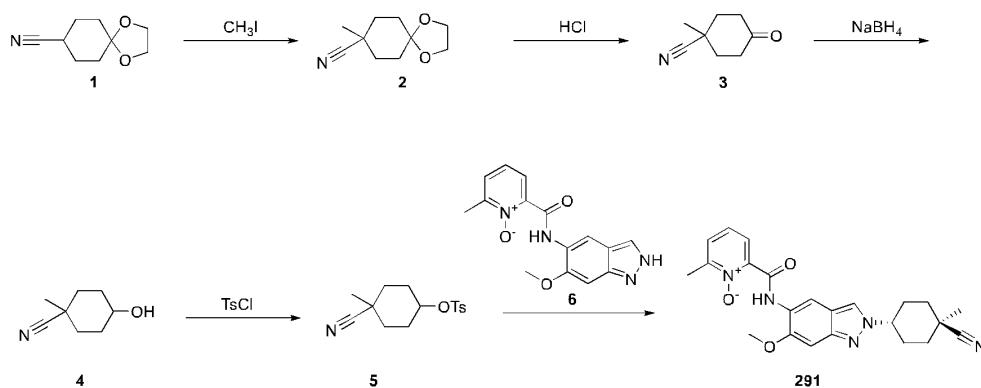
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.31 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.31-8.27 (m, 2H), 7.77-7.75 (m, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.69 (s, 1H), 4.40-4.32 (m, 1H), 4.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.56-3.51 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.09-2.05 (m, 2H), 1.97-1.87 (m, 4H), 1.44-1.34 (m, 3H), 0.66-0.61 (m, 2H), 0.48-0.45 (m, 2H). LCMS: Rt = 3.391 min, [M+H]⁺ = 437.2.

化合物 292:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.31 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.31-8.29 (m, 2H), 7.77-7.75 (m, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.49 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 4.40-4.34 (m, 1H), 4.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.87 (s, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.33-2.22 (m, 2H), 1.56-1.75 (m, 4H), 1.66-1.60 (m, 2H), 1.41-1.34 (m, 1H), 0.65-0.61 (m, 2H), 0.49-0.45 (m, 2H). LCMS: Rt = 3.101 min, [M+H]⁺ = 437.2.

实施例 15 化合物 291 的合成

反应式:



1. 化合物 2 的合成

0 摄氏度下将化合物 1 (800 mg) 溶解到 10 mL 四氢呋喃中, 在 0 摄氏度下慢慢将 LiHMDS (1M 的 THF 溶液, 5.50 mL) 慢慢滴加进去, 0 摄氏度下搅拌 60 分钟后向反应液中慢慢加碘甲烷 (680 mg), 此温度下反应 1.5 小时。反应完毕后向反应液中加入氯化铵饱和溶液 (10 mL) 淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (25 mL×2) 萃取, 减压浓缩, 残留物用硅胶柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=7: 1) 得到化合物 2 (420 mg, 收率: 55%)。

2. 化合物 3 的合成

0 摄氏度下依次将化合物 2 (700 mg) 和 3M HCl (18 mL) 加入到四氢呋喃 (18 mL) 溶液中, 50 摄氏度搅拌 5 小时。反应完毕后, 向反应液中加入 3M 氢氧化钠水溶液调节 pH=8, 然后用二氯甲烷 (20 mL×2) 萃取, 减压浓缩, 残留物用硅胶柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=4: 1) 得到化合物 3 (420 mg, 收率: 78%)。

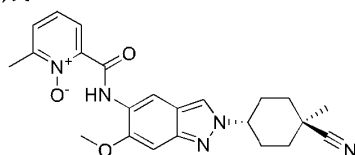
3. 化合物 4 的合成

25 摄氏度下将化合物 3 (390 mg) 溶解到 8 mL 乙醇中, 零下 70 摄氏度下将硼氢化钠 (112 mg) 的乙醇 (1 mL) 溶液滴入到反应液中, 零下 70 摄氏度搅拌 1 小时。反应完毕后向反应液中加入 8 mL 水淬灭反应, 然后用乙酸乙酯 (15 mL×2) 萃取, 有机相减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=1: 1) 得到化合物 4 (280 mg, 收率: 66%)。

4. 化合物 5 的合成

28 摄氏度下依次将化合物 4 (250 mg), TosCl (406 mg), DMAP (261 mg) 和三乙胺 (0.5 mL) 加入到二氯甲烷 (8 mL) 中, 在 28 摄氏度下搅拌反应 18 小时。反应完毕后将反应液浓缩蒸干, 残留物用硅胶色谱柱纯化 (石油醚: 乙酸乙酯=6: 1) 得到化合物 5 (370 mg, 收率: 64%)。

5. 化合物 291 即 2-((2-(反式-4-氰基-顺式-4-甲基环己基)-6-甲氧基-2H-吡啶-5-基)氨基)-6-甲氧基吡啶 1-氧化物的合成



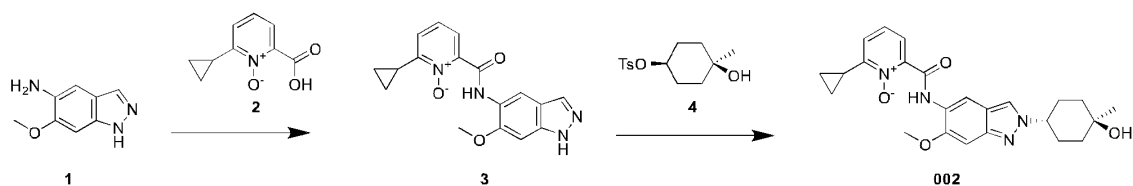
291

25 摄氏度下将化合物 5 (296 mg), 化合物 6 (350 mg) 和碳酸铯 (808 mg) 加入到 DMF (6 mL) 中, 加完后混合体系加热到 90 摄氏度并搅拌 18 小时。反应完毕后加 10 mL 水淬灭反应, 用 40 mL 乙酸乙酯萃取两次, 有机相减压浓缩, 残留物用高效液相制备色谱 (CH₃CN:H₂O(0.1% NH₄HCO₃)=5-95%, UV: 214 nm, 流速: 15 mL/min) 得到化合物 291 (80 mg, 收率 19%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.14 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.45 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.44-7.38 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 4.53-4.50 (m, 1H), 4.06 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.46-2.39 (m, 2H), 2.28-2.20 (m, 2H), 2.02-1.88 (m, 4H), 1.45 (s, 3H). LCMS: *R*_t = 3.310 min, [M+H]⁺ = 420.2

实施例 16 化合物 002 的合成

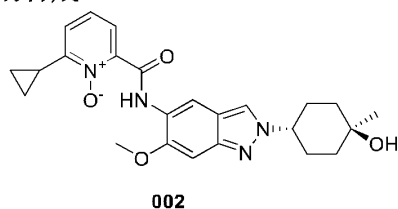
反应式:



1. 化合物 3 的合成

28 摄氏度下将化合物 2 (1.0 g), 化合物 1 (0.91 g), EDCI (1.6 g) 加入到吡啶 (15 mL) 中, 并在 28 摄氏度下搅拌 18 小时, 反应完成后, 减压浓缩, 残留物用甲醇和水打浆得化合物 3 (1.0 g, 收率: 56%)。

2. 化合物 002 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-甲基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基甲酰基)-6-环丙基吡啶 1-氧化物的合成

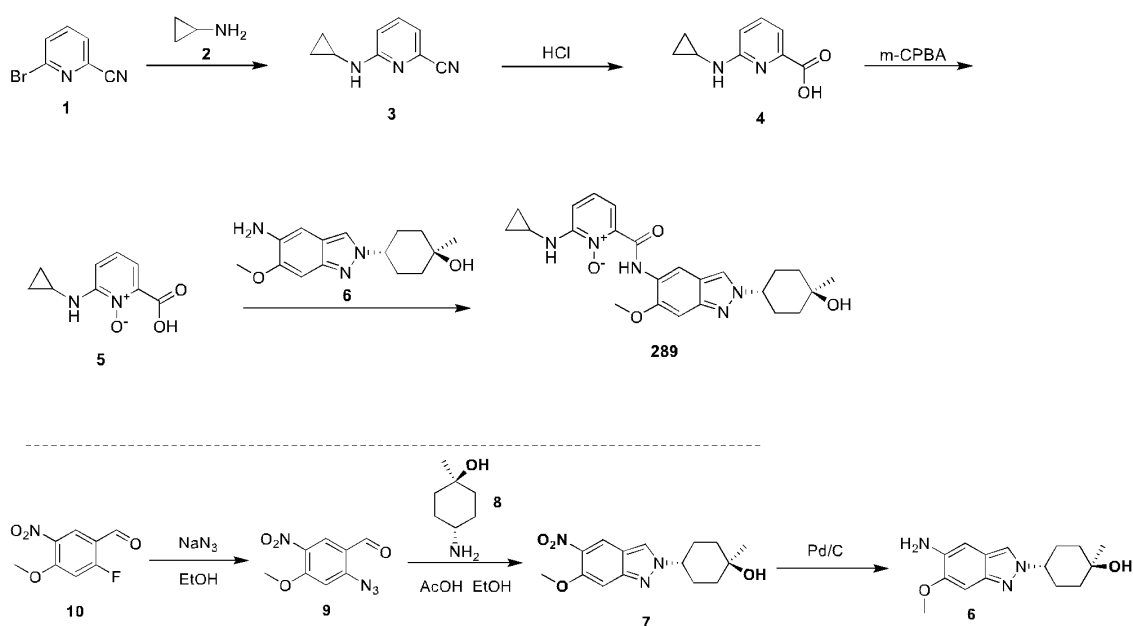


25 摄氏度下依次向 DMF (10 mL) 中加入化合物 3 (500 mg), 化合物 4 (675 mg), 碳酸铯 (1.26 g), 并在 90 摄氏度下搅拌反应 18 小时, 反应完成后, 冷却到 25 摄氏度, 加水 (5 mL) 淬灭反应, 用乙酸乙酯 (15 mL×3) 萃取, 萃取液用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用高效液相制备色谱 (CH₃CN:H₂O=20-45%, UV:214nm, 流速 15mL/min) 得到化合物 002 (130 mg, 收率 19%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.22 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.40 (dd, *J*₁ = 2.0 Hz, *J*₂ = 8.0 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.37 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.14-7.01 (m, 2H), 4.46-4.34 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 2.91-2.81 (m, 1H), 2.30-2.08 (m, 4H), 1.93-1.82 (m, 2H), 1.76-1.69 (m, 2H), 1.39 (s, 3H), 1.32-1.23 (m, 2H), 0.89-0.76 (m, 2H). LCMS: *R*_t = 2.859 min, [M+H]⁺ = 437.2

实施例 17 化合物 289 的合成

反应式:



1. 化合物 3 的合成

26 摄氏度下依次将化合物 1 (5.0 g), 化合物 2 (2.3 g), 碳酸铯 (13.4g) 和 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.25 g), BINAP (0.51 g) 加入到甲苯 (100 mL) 中, 并在氮气保护下 80 摄氏度搅拌反应 18 小时, 反应完毕, 降温到 26 摄氏度, 加水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (200 mL $\times$ 3) 萃取, 萃取液用饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩, 残留物用硅胶色谱柱 (石油醚: 乙酸乙酯=10:1) 纯化得到化合物 3 (1.3 g, 收率 30%)。

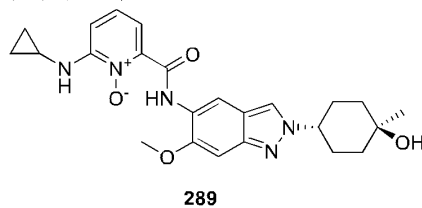
2. 化合物 4 的合成

向化合物 3 (1.3g) 的乙醇/水 (40 mL /10mL) 溶液中加入氢氧化钾 (4.58 g), 并在 90 摄氏度下搅拌反应 16 小时, 用 1M 稀盐酸调 PH=6, 用乙酸乙酯 (100 mL $\times$ 3) 萃取, 萃取液用水 (50 mL), 饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩得到化合物 4 (1.12 g, 收率 77%)。

3. 化合物 5 的合成

26 摄氏度下向化合物 4 (360 mg) 的二氯甲烷溶液 (50 mL) 中加入化合物 m-CPBA (1.86 g) 并在 26°C 下搅拌反应 3 天。反应完毕后, 过滤, 滤液中加入亚硫酸钠的饱和溶液, 用稀盐酸调节 pH<7, 在 26°C 下搅拌 2 小时, 用二氯甲烷 (200 mL $\times$ 3) 萃取, 萃取液经饱和食盐水 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物制备板纯化 (二氯甲烷: 甲醇 = 20:1) 纯化得到化合物 5 (60 mg, 收率 15%)。

4. 化合物 289 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-甲基环己基)-6-甲氧基-2H-吡啶-5-基)氨基甲酰基)-6-环丙基氨基吡啶 1-氧化物的合成



将化合物 5 (49 mg), 化合物 6 (69 mg), HATU (118 mg), DIPEA (66 mg), 依次加入到 DMF (5 mL) 中, 并在 25 摄氏度下搅拌反应 18 小时, 减压浓缩, 残留物用高效液相制备色谱 (CH₃CN:H₂O=30-95%, UV:214nm, 流速 15mL/min) 纯化后得到化合物 289 (95 mg, 收率 83%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.29 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.86 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.41 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.15 (s, 2H), 7.07 (s, 1H), 4.43-4.38 (m, 1H), 4.04 (s, 3H), 2.61 (br s, 1H), 2.25-2.13 (m, 4H), 1.89-1.85 (m, 1H), 1.75-1.64 (m, 4H), 1.39 (s, 3H), 0.93-0.90 (m, 2H), 0.74-0.72 (m, 2H). LCMS: Rt = 3.308 min, [M+H]⁺ = 452.2.

5. 化合物 9 的合成

0℃下向化合物 10 (34 g) 的乙醇溶液 (350 mL) 中加入 NaN₃ (13.2 g), 在 25℃下搅拌反应 16 小时, 反应完后直接投入下一步。

6. 化合物 7 的合成

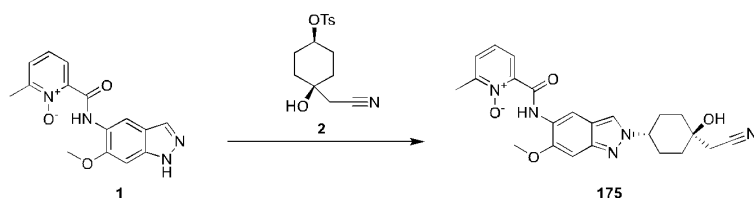
25℃下向化合物 9 (0.17 mol) 的乙醇溶液 (350 mL) 中加入醋酸 (30.6 g), 化合物 8 (22 g) 25℃搅拌 10 分钟, 80℃回流反应 16 h, 反应完全后, 反应液部分浓缩, 加入水 (70 mL) 进行打浆, 过滤得固体, 固体加入乙醇 (200 mL) 加热回流溶解, 冷却至室温, 加入正庚烷 (200 mL) 打浆 2 小时, 过滤两步得化合物 7 (35 g, 收率 67%)。

7. 化合物 6 的制备

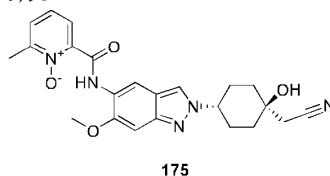
25℃下向化合物 7 (300 mg) 的乙酸乙酯溶液 (50 mL) 中加入 Pd/C (150 mg) 并在 25℃下搅拌反应 16 小时。反应完成后, 过滤, 减压浓缩得到化合物 6 (260 mg, 收率 96%)。

实施例 18 化合物 175 的合成

反应式:



1. 化合物 175 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-乙炔基环己基)-6-甲氧基-2H-吡啶-5-基)氨基)-6-甲氧基吡啶-1-氧化物的合成



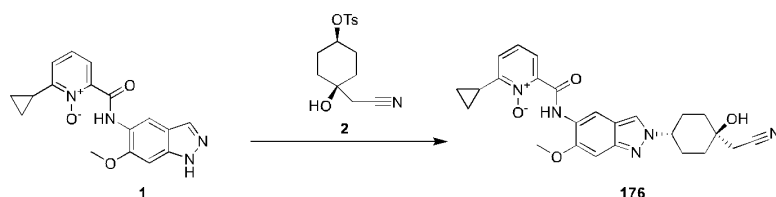
25 摄氏度下将碳酸铯 (1.4 g) 加入到化合物 1 (520 mg) 和化合物 2 (806 mg) 的 10 mL 的 DMF 溶液中, 反应液 90 摄氏度搅拌 16 小时。反应液倒入 50 mL 水中, 乙酸乙酯萃取 (30 mL*3), 有机相减压浓缩, 残余物通过高效液相制备色谱柱

(CH₃CN:H₂O(0.1%NH₄HCO₃))=20-40%, UV:214nm, 流速:15ml/min)纯化得到化合物 175(64 mg, 收率 8%)。

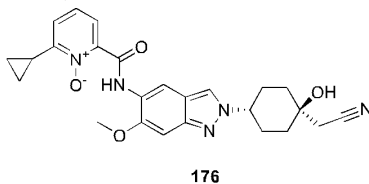
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.16 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.32-8.29 (m, 1H), 7.78-7.76 (m, 1H), 7.58 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.49-4.45 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 2.82 (s, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.14-2.01 (m, 4H), 1.84-1.80 (m, 2H), 1.71-1.64 (m, 2H). LCMS: Rt = 9.367 min, [M+H]⁺ = 436.2

实施例 19 化合物 176 的合成

反应式:



1. 化合物 176 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-乙氧基环己基)-6-甲氧基-2H-咪唑-5-基)氨基甲酰基)-6-环丙基吡啶 1-氧化物的合成

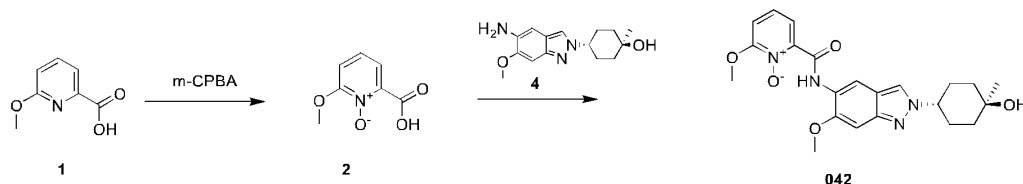


25 摄氏度下依次向 DMF (10 mL) 中加入化合物 8 (420 mg), 化合物 9 (601 mg), 碳酸铯 (1.06 g, 并在 90 摄氏度下搅拌反应 16 小时, 反应完毕, 冷却到 25 摄氏度, 加水 (5 mL) 淬灭反应, 用乙酸乙酯 (10 mL×3) 萃取, 萃取液用饱和食盐水 (10 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 减压浓缩, 残留物用高效液相制备色谱 (CH₃CN:H₂O=25-55%, UV:214nm, 流速 15mL/min) 纯化后再用制备板 (二氯甲烷: 甲醇=20:1) 纯化得到化合物 176 (25 mg, 收率 4%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.25 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.39 (dd, *J*₁ = 2.0 Hz, *J*₂ = 8.0 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.38 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.09-7.03 (m, 2H), 4.53-4.43 (m, 1H), 4.05 (s, 3H), 2.90-2.81 (m, 1H), 2.76 (s, 2H), 2.33-2.17 (m, 4H), 2.13-2.03 (m, 2H), 1.99-1.93 (m, 1H), 1.89-1.73 (m, 2H), 1.30-1.26 (m, 2H), 0.88-0.80 (m, 2H). LCMS: Rt = 3.553 min, [M+H]⁺ = 462.2

实施例 20 化合物 042 的合成

反应式:

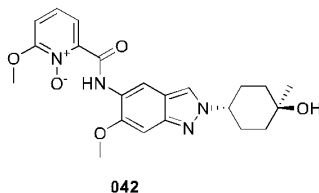


1. 化合物 2 的合成

25℃下向化合物 1 (5.0 g) 的二氯甲烷溶液 (50 mL) 中加入化合物 m-CPBA (13.3 g)

并在 25℃ 下搅拌反应 18 小时。过滤，滤液中加入亚硫酸钠（8.2 g）的饱和水溶液，在 25℃ 下搅拌 2 小时，用二氯甲烷（50 mL×3）萃取，萃取液用饱和食盐水（50 mL）洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，残留物用乙酸乙酯打浆纯化得到化合物 2（600 mg，收率 11 %）

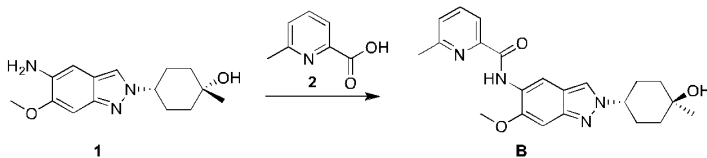
2. 化合物 042 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-甲基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基)-6-甲氧基吡啶 1-氧化物的合成



25℃ 下向 DMF(5 mL) 中加入化合物 2（92 mg），化合物 4（150 mg），HATU(311 mg)，三乙胺（165 mg）并在 25℃ 下搅拌反应 16 小时，反应完成后，加水（5 mL）淬灭反应，用乙酸乙酯（5 mL×3）萃取，萃取液用饱和食盐水（10 mL）洗涤，无水硫酸钠干燥，减压浓缩，残留物用高效液相制备色谱（CH₃CN:H₂O=10-40%，UV:214nm，流速 15mL/min）得到化合物 042（96 mg，收率 41 %）。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 14.15 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.22 (dd, *J*₁ = 2.0 Hz, *J*₂ = 8.0 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.49 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.11-7.02 (m, 2H), 4.44-4.34 (m, 1H), 4.16 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 2.29-2.08 (m, 4H), 1.91-1.82 (m, 2H), 1.73-1.69 (m, 2H), 1.39 (s, 3H). LCMS: *R*_t = 2.713 min, [M+H]⁺ = 427.2

实施例 21 化合物 B 即 2-((2-(反式-4-羟基-顺式-4-甲基环己基)-6-甲氧基-2H-吡唑-5-基)氨基)-6-甲氧基吡啶 1-氧化物的合成



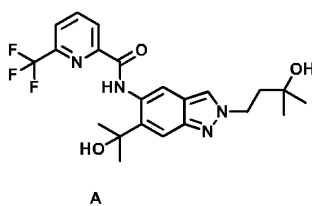
25 摄氏度下依次向 DMF（5 mL）中加入化合物 1（150 mg），化合物 2（75 mg），HATU（249 mg），DIPEA（141 mg），并在 25 摄氏度下搅拌反应 16 小时，加水（50 mL），用乙酸乙酯（10 mL×3）萃取，萃取液用饱和食盐水（10 mL）洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩，残留物用高效液相制备色谱（CH₃CN:H₂O=30-95%，UV:214nm，流速 15mL/min）纯化后得到白色固体 170 mg，收率 79%。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10.82 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.78 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 4.43-4.37 (m, 1H), 4.03 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 2.27-2.13 (m, 4H), 1.89 (br s, 1H), 1.76-1.68 (m, 4H), 1.40 (s, 3H). LCMS: *R*_t = 3.604 min, [M+H]⁺ = 395.2.

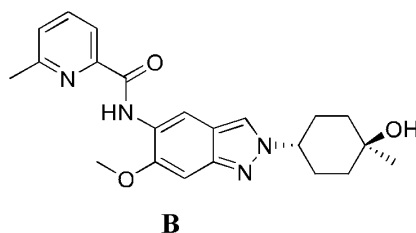
生物学评价

以下测试例用于进一步解释本发明，但这些测试例并非意味着限制本发明的范围。

生物测试例中的化合物 A 结构：



生物测试例中的化合物 B 为实施例 21 合成的结构



测试例 1、测定本发明化合物对人 IRAK4 激酶活性的抑制作用

主要试验材料

ATP (Sigma, 货号: A7699-1G)
 DMSO (Sigma, 货号 D2650)
 EDTA (Sigma, 货号: E5134)
 HEPES (Sigma, 货号: V900477-500G)
 DTT (Sigma, 货号: D0632-25g)
 Brij-35 (Sigma, 货号: B4184)
 96 孔板 (Corning, 货号: 3365)
 384 孔板 (Corning, 货号: 3573)

实验步骤

化合物在 ATP 的 K_m 浓度时对 IRAK4 抑制活性, 在下文描述的 IRAK4 MSA (Mobility-Shift Assay, 微流体芯片技术的迁移率检测技术) 中进行测量。

使用 N-末端 GST(谷胱甘肽-S-转移酶)和人 IRAK4 的重组融合蛋白作为酶(GST-IRAK4, 激酶 IRAK4 (Carna, 货号: 09-145)), 终浓度为 1nM; ATP (Sigma, 货号: A7699-1G) 终浓度为 37 μ M; 用于激酶反应的底物为 5-FAM (5-羧基荧光素) 标记的多肽 (5-FAM-IPTSPITTTYFFFKKK-COOH), 底物肽 FAM-P8 (GL Biochem, 货号: 112396), 终浓度为 5 μ M。

在该试验中, 用 100%DMSO 配制成 500 μ M 的化合物溶液, 并用 100%DMSO 4 倍稀释 10 个浓度梯度, 再用化合物缓冲液 (50 mM HEPES, pH 7.5, 0.00015% Brij-35) 进一步稀释 10 倍, 配成含 10%DMSO 的化合物中间稀释溶液, 化合物终浓度在 10 μ M-0.04nM 范围内, 转移 5 μ l 至黑色 384 孔板中。

将激酶 IRAK4 用激酶缓冲液 (50 mM HEPES, pH 7.5, 0.00015% Brij-35, 2 mM DTT)

稀释成 2.5nM 的 IRAK4 溶液，并转移 10 μ l 至 384 孔板中，与化合物共孵育 10-15 分钟。

将底物和 ATP 分别用反应缓冲液（50 mM HEPES, pH 7.5, 0.00015% Brij-35, 10mM MgCl₂）稀释成 12.5 μ M 和 92.5 μ M。转移 10 μ l 至 384 孔板，起始反应，并于 28 摄氏度反应 1 小时。转移 25 μ l 50mM EDTA 至 384 孔板，终止反应。

用 Caliper EZ Reader (PerkinElmer) 读取底物磷酸化的转化率，从而计算化合物对 IRAK4 的抑制率，用 XL-fit 软件计算 IC₅₀。

测试结果表明，本发明实施例化合物对 IRAK4 激酶活性均有较好的抑制作用，IC₅₀ 值小于 100 nM，优选为小于 30nM。具体的，一些示例性的化合物活性数值如下所示：

本发明化合物对人 IRAK4 激酶活性的抑制 IC₅₀ 值如表 1 所示，

表 1 对人 IRAK4 激酶活性的 IC₅₀

化合物 ID	IC ₅₀ (nM)
化合物 B	30.0
001	6.0
002	3.7
010	11.0
013	7.6
014	2.5
015	5.4
016	8.1
019	8.1
025	13.0
163	23.0
175	7.1
176	4.3
187	9.2
218	8.3
220	14.0
284	28.0
285	5.9
286	14.0
287	13.0
288	13.0
289	1.7
291	14.0

292	14
-----	----

测试例 2、测定本发明化合物对人 IRAK1 激酶活性的抑制作用

本试验用于评价化合物对人 IRAK1 激酶活性的抑制作用，主要试验材料同测试例 1。

化合物在 ATP 的 K_m 浓度时对 IRAK1 抑制活性，在下文描述的 IRAK1 MSA (Mobility-Shift Assay, 微流体芯片技术的迁移率检测技术) 中进行测量。使用 N-末端 GST (谷胱甘肽-S-转移酶) 和人 IRAK1 的重组融合蛋白作为酶 (GST-IRAK1, 激酶 IRAK1, Carna), 终浓度为 3nM; ATP (Sigma) 终浓度为 97 μ M; 用于激酶反应的底物为 5-FAM (5-羧基荧光素) 标记的多肽 (5-FAM-IPTSPITTTYFFFKKK-COOH), 底物肽 FAM-P8 (GL Biochem), 终浓度为 5 μ M。

在该试验中, 用 100%DMSO 配制成 500 μ M 的化合物溶液, 并用 100%DMSO 4 倍稀释 10 个浓度梯度, 再用化合物缓冲液 (50 mM HEPES, pH 7.5, 0.00015% Brij-35) 进一步稀释 10 倍, 配成含 10%DMSO 的化合物中间稀释溶液, 化合物终浓度在 10 μ M-0.04nM 范围内, 转移 5 μ l 至黑色 384 孔板中。

将激酶 IRAK1 用激酶缓冲液 (50 mM HEPES, pH 7.5, 0.00015% Brij-35, 2 mM DTT) 稀释成 7.5nM 的 IRAK1 溶液, 并转移 10 μ l 至 384 孔板中, 与化合物共孵育 10-15 分钟。

将底物和 ATP 分别用反应缓冲液 (50 mM HEPES, pH 7.5, 0.00015% Brij-35, 10mM MgCl₂) 稀释成 12.5 μ M 和 242.5 μ M。转移 10 μ l 至 384 孔板, 起始反应, 并于 28 摄氏度反应 1 小时。转移 25 μ l 50mM EDTA 至 384 孔板, 终止反应。

用 Caliper EZ Reader (PerkinElmer) 读取底物磷酸化的转化率, 从而计算化合物对 IRAK1 的抑制率, 用 XL-fit 软件计算 IC₅₀。

测试结果表明, 本发明实施例化合物对 IRAK4 具有显著的选择性抑制活性, IRAK1 与 IRAK4 的 IC₅₀ (nM) 比值大于 500, 优选为大于 200。具体的, 一些示例性的化合物活性数值如下所示: 本发明化合物对人 IRAK1 激酶活性的抑制 IC₅₀ 值如表 2 所示。

表 2 对人 IRAK1 激酶活性的 IC₅₀

化合物 ID	IRAK1 IC ₅₀ (nM)	IRAK1 IC ₅₀ (nM) / IRAK4 IC ₅₀ (nM)
163	2993	130.1
001	4039	673.2

从表 2 中数据可以看出, 对比人 IRAK1 活性, 本发明化合物对人 IRAK4 具有显著的选择性。

测试例 3、测定本发明化合物的 hERG 试验

本试验用于评价化合物的心脏安全性, 采用了 hERG 钾通道稳定表达的 HEK-293 细胞系进行实验检测。

仪器信息:

放大器: 购自 HEKA (Germany), 型号 EPC10

微操纵器: 购自 Sutter Instruments (USA), 型号 MP225

电极拉制仪: 购自 Sutter Instruments (USA), 型号 P97

显微镜: 购自 Nikon, 型号 TE300

毛细玻璃管：购自 Sutter Instruments （USA），型号 BF150-86-10
数据采集和分析软件：PatchMaster， Igor Pro 6.0 以及 GraphPad Prism 5.0

实验方法

用 DMSO 将测试化合物储液依次稀释为 0.3mM, 1 mM 以及 3 mM 的稀释液。用细胞外液（140 mM NaCl, 3.5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, 10 mM Glucose, 10 mM HEPES, 1.25 mM NaH₂PO₄, NaOH 调节 pH=7.4）稀释待测试化合物储液，得到浓度为 0.3μM, 1μM, 3μM, 10μM, 30μM 的待测试化合物工作液，所有待测试化合物工作液进行超声 20 min。

膜片钳检测:在倒置显微镜下，操纵玻璃电极微操纵器（微操）将记录电极接触到细胞，然后给予负压作用，促进细胞形成 GΩ 封接。形成 GΩ 封接后，进行快速电容补偿，然后持续给予负压作用，吸破细胞膜，形成全细胞记录模式。在全细胞记录模式下，进行慢速电容补偿并记录膜电容及串联电阻的数值。

细胞hERG钾电流的电压刺激方案如下：细胞膜钳制电压为-80mV，然后由-80 mV除极至+30 mV维持2.5秒，然后迅速保持在-50 mV维持4秒，激发出hERG通道的尾电流。每隔10秒重复采集数据。以-50mV为漏电流检测。

将种植细胞的盖玻片，放置于倒置显微镜的记录小室中，阴性对照以及测试化合物利用重力灌注的方法从低浓度到高浓度，依次流经记录小室从而快速作用于细胞。在记录中，利用真空泵进行外液的持续循环。以每个细胞阴性对照中，检测到的电流，作为细胞自己的对照组。每个药物浓度作用5分钟或者至电流稳定。所有实验在室温下进行。

数据分析:

首先标准化每一个药物浓度作用后的电流 ($\frac{Peak\ tail\ current\ compound}{Peak\ tail\ current\ vehicle}$)，然后计算对应的抑制率 $(1 - \frac{Peak\ tail\ current\ compound}{Peak\ tail\ current\ vehicle})$ 。对每一个浓度计算基本统计量，包括平均数 (Mean)，保准差 (SD)，标准误差 (SE) 以及重复例数 (n)。用以下的方程拟合剂量依赖曲线，并计算测试化合物的半抑制浓度 (IC₅₀):

其中 C 代表测试化合物浓度，IC₅₀ 代表半抑制浓度，h 代表希尔系数。曲线拟合以及 IC₅₀ 的计算利用 GraphPad Prism 5.0 软件完成。

测试结果表明，本发明实施例化合物对人 hERG 的抑制率很低，甚至可以显著优于对比化合物 A，对于 hERG 的抑制 (30μM) 小于 50%，优选地，小于 30%。具体的，一些示例性的化合物抑制率数值如下所示：

表 3 30M 浓度下对 hERG 的抑制

化合物 ID	hERG 抑制 (30 M)
A	27.10% ± 1.74%
163	8.73% ± 1.37%
001	5.09% ± 2.43%

从表 3 中数据可以看出，本发明化合物对人 hERG 的抑制率低，且对化合物 A 有一定优

势。

测试例 4、测定本发明化合物的 TDI（时间依赖性抑制）数据

本实验研究的目的是研究化合物对人 P450 代谢酶 CYP3A4 的时间依赖性抑制作用。本实验利用的人的混合肝微粒体来源于美国 Corning 公司。

受试化合物将与人肝微粒体以及探针底物咪达唑仑（CYP3A4）进行共孵育，受试化合物将设置为 30 μM 。反应将由辅酶 NADPH 的加入来启动。在孵育体系中加入乙腈来终止反应，乙腈中已事先溶有内标。蛋白沉淀后，离心取上清。上清液中的特征性代谢物 1-羟基-咪达唑仑（CYP3A4）由 LC-MS/MS 方法分析。最后根据所得数据来研究受试化合物对这些特征性代谢物生成的影响。选择性抑制剂（维拉帕米对 CYP3A4）将会作为阳性对照。

测试结果表明，本发明实施例化合物对人 CYP3A4 无明显的时间依赖性抑制，具体的，一些示例性的化合物的 TDI 数值如下所示：

表 4 30 μM 浓度下对人 CYP3A4 的时间依赖性抑制（TDI）

化合物 ID	TDI (3A4, 30 μM)
001	-3.68%
014	+3.85%

测试例 5、测定本发明化合物的血浆蛋白结合率（PPB）数据

本试验的目的是测定受试化合物的血浆蛋白结合率（PPB）数据。

在 PPB 试验中，最终给药基质中含受试化合物或参照化合物的浓度为 1 μM DMSO 含量 0.2%。

收集 0 小时样品：取 25 μL 含化合物的基质加入到空白的 96 孔收集板中，储存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

准备平衡透析装置。将 100 μL 缓冲液加入到平衡透析板的接受侧。再将 100 μL 含化合物或参照化合物的给药基质加入到平衡透析板的给药侧。将准备好的平衡透析板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床中以 60 转/分钟速度振摇 5 小时。

在培养结束时（5 小时），进行样品制备：

制备接受侧样品：由接受侧的样品取出 25 μL ，置于 96 孔样品收集板中，加入 25 μL 相应的基质（空白血浆）混合。加入 200 μL 含内标的 ACN，于 600 转/分钟振荡 10 分钟，然后在离心机上采用 5594 g 离心 15 分钟。

制备给药侧样品：受试化合物及参照化合物给药侧样品：取 25 μL 给药侧样品，加入 25 μL 空白缓冲溶液混合。加入 200 μL 含内标的 ACN，于 600 转/分钟振荡 10 分钟，然后在离心机上采用 5594 g 离心 15 分钟。

制备 0 小时样品：受试化合物及参照化合物 0 小时样品：37 $^{\circ}\text{C}$ 复融，与相同体积（25 μL ）相应的基质（空白缓冲溶液）混合。加入 200 μL 含内标的 ACN，于 600 转/分钟振荡 10 分钟，然后在离心机上采用 5594 g 离心 15 分钟。

所有样品离心后，取 50 μL 上清加入 50 μL 超纯水混合，样品送至液质联用分析。

测试结果表明，本发明实施例化合物对人、大鼠、小鼠的血浆蛋白结合率适中，种属间的差异很小，甚至可以显著小于对比化合物 A，具体的，一些示例性的化合物的 PPB 数据如下所示：

表 5 血浆蛋白结合率 (PPB) 数据

化合物 ID	种属	血浆蛋白结合率 (Bound%)		
		人	小鼠	大鼠
A		99.02	85.18	86.99
013		80.90	76.20	81.70
001		81.00	79.90	84.70
163		81.66	83.78	80.59
016		86.90	87.70	90.10

测试例 6、本发明化合物对 LPS 诱导的 Balb/c 雌性小鼠释放 TNF- α 的抑制作用

实验步骤

将雌性 Balb/c 小鼠随机分成若干组, 每组 4 只, 组别包括正常对照+溶媒组、模型+溶媒组、模型+阳性药组及其它模型+测试药组。正常对照组动物接受腹腔注射生理盐水(10ml/kg), 模型动物接收 LPS 刺激(Sigma 货号 L2630, 腹腔注射, 10mL/kg, 0.2mg/kg)。实验中测试药依次加入 DMSO, Solutol, 10mM PBS 制成所需给药浓度的溶液或浊液, 溶媒各成分 DMSO、Solutol、10mM PBS 的终体积比为 5:15:80。各实验组按设定剂量在 LPS(或 saline)刺激前 16h 进行相应的灌胃给药(10ml/kg), 各组动物在刺激后 1.5h 用 CO₂ 安乐死, 进行心脏采血。所得全血不抗凝, 于湿冰中静置 1.5h 后 2000 g, 4°C 离心 10min 分离血清。血清-80°C 冻存备 TNF α 测定。TNF α 的定量通过 TNF α ELISA 试剂盒, 按制造商的使用说明书完成测定。吸光度 A450 的读值用酶标仪 SpectraMax i3x (Molecular Device) 检测, 从而计算化合物对的抑制率, 用 GraphPad Prism 7.0 软件计算 IC₅₀。

测试结果表明, 本发明实施例化合物对 LPS 诱导的 Balb/c 雌性小鼠释放 TNF- α 具有明显的抑制作用, 抑制率大于 50%, 优选的, 大于 70%, 具体的, 一些示例性的化合物的抑制率如下所示:

表 6 LPS 诱导的 Balb/c 雌性小鼠释放 TNF- α 的抑制率

化合物 ID	TNF- α 的抑制率%
013	76.29
001	74.00
163	71.56
016	78.71

测试例 7、测定本发明化合物对人肝微粒体五种主要 CYP450 酶亚型的抑制

本实验研究的目的是研究受试化合物对 5 种主要人 P450 代谢酶,即 CYP1A2、2C9、2C19、2D6 和 3A4-M 的抑制作用进行研究。本实验利用的人的混合肝微粒体来源于美国 Corning 公司。受试化合物(化合物 14)将与人肝微粒体以及五种探针底物(非那西丁对 CYP1A2, 双氯芬酸对 CYP2C9, 美芬妥英对 CYP2C19, 右美沙芬对 CYP2D6, 咪达唑仑对 CYP3A4-M, 为混合底物)进行共孵育(见下表), 受试化合物将设置 7 个浓度点。反应将由辅酶 NADPH 的加入来启动。在孵育体系中加入含有内标的冰乙醇来终止反应。蛋白沉淀后, 离心取上清。上清液中的特征性代谢物(对乙酰氨基酚对 CYP1A2, 4-羟基双氯芬酸对 CYP2C9, 4-羟基美芬妥英对 CYP2C19, 右啡烷对 CYP2D6, 1-羟基-咪达唑仑对 CYP3A4-M)由 LC-MS/MS 方法分析。最后根据所得数据来研究受试化合物对这些特征性代谢物生成的影响。选择性抑制剂将(酮康唑对 CYP3A4-M)会作为阳性对照。所有的孵育均平行 1 份进行。

测试结果表明, 本发明实施例化合物对人的 5 种 CYP 亚型均无明显的抑制作用, 且在 1A2、2C9、2C19 这 3 个亚型上的抑制作用显著小于对比化合物 A, 具体的, 一些示例性的化合物的抑制率如下所示:

表 7 对人肝微粒体五种主要 CYP450 酶亚型 CYP1A2、2C9、2C19、2D6 和 3A4 的抑制(IC₅₀, nM)

化合物 ID \ 亚型	1A2	2C9	2C19	2D6	3A4
A	2.91	19.06	23.48	>30	>30
001	>30	>30	>30	>30	>30
163	>30	>30	>30	>30	>30

测试例 8、本发明化合物对大鼠的 PK 分析测试

本发明优选实施例的小鼠药物代谢动力学试验, 采用雄性 SPF 级的 SD 大鼠(上海西普尔-必凯实验动物有限公司)进行。

给药方式: 单次灌胃口服给药或单次静脉注射

取样点: 给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24 小时

样品处理: 静脉采血 0.2 mL, 血液样本采集后置于冰上, 离心分离血浆(离心条件: 8000 转/分钟, 6 分钟, 4°C)。收集的血浆分析前存放于 -80°C。

内标工作液: 吸取一定量的浓度为 645,000 ng/mL 的甲苯磺丁脲内标储备液至一定体积的容量瓶中, 用甲醇定容至刻度后混匀, 制得浓度为 50 ng/mL 的内标工作溶液。

样品前处理: 取 50 μL 血浆样品至 1.5 mL 离心管中, 加入 250 μL 内标溶液(空白不加内标补加相同体积的甲醇), 涡旋混匀, 14000 转/分钟离心 5 分钟, 取 200 μL 上清液加入到 96 孔进样板中, LC-MS/MS 进样分析。

液相条件:

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm (50 mm×2.10 mm)

移动相: A 液为 0.1%甲酸水溶液, B 液为 0.1%甲酸乙腈溶液

流速: 0.5 mL/min

数据处理系统为 Analyst 软件(美国应用生物系统公司, 软件版本号 1.5.5)。

测试结果表明，本发明实施例化合物在小鼠上均表现出良好的药代动力学特征，在动物体内显示出良好的暴露量和滞留时间，且具有适宜的半衰期和良好的药物吸收性，具体的，一些示例性的化合物的药代动力学数据如下所示：

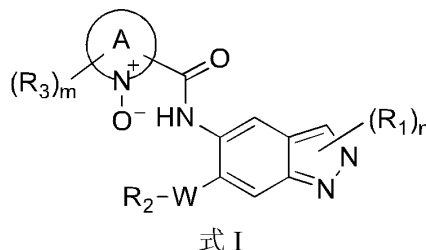
表 8 单次灌胃口服给予 ICR 小鼠不同化合物的药代动力学研究数据

化合物 编号	口服给药药代实验							
	剂量	配方	达峰 时间	最高浓 度	曲线面积	曲线面积	半衰 期	平均滞留 时间
	Dose (mpk)	Formulation	t _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng/mL*h)	AUC _{0-∞} (ng/mL*h)	t _{1/2} (h)	MRT (h)
163	40	15%solutol HS15+85%PBS	4	25875	206683	206702	3.62	6.75
001	40	15%solutol HS15+85%PBS	4	24153	293784	375482	11.47	15.31
013	40	15%solutol HS15+85%PBS	1	18924	160198	182133	7.23	10.41

以上，对本发明的实施方式进行了说明。但是，本发明不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原则之内，所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权利要求

1. 一种式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐：



其中，

环 A 为含有至少一个含 N 的 5-14 元杂芳基或 5-12 元杂环基；

每个 R_1 、 R_2 、 R_3 各自独立的选自氢、卤素、CN、OH 或任选被一个、两个或更多个 R 取代的如下基团：(C₁-C₁₂) 脂肪烃基，任选地包含一个、两个或更多个杂原子 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基，C₃₋₁₂ 环烷基、3-12 元杂环基、C₆₋₂₀ 芳基或 5-14 元杂芳基、-NR_aR_b；

W 选自 O, S, NH, 单键；

每个 R_a 、 R_b 独立的选自 H、(C₁-C₁₂) 脂肪烃基；

每个 R 独立的选自卤素、CN、OH、SH、NR_aR_b 或选自任选被一个、两个或更多个 R' 取代的如下基团：(C₁-C₁₂) 脂肪烃基，任选地包含一个、两个或更多个杂原子 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基，C₃₋₁₂ 环烷基、3-12 元杂环基、C₆₋₂₀ 芳基或 5-14 元杂芳基；

每个 R' 独立的选自卤素、CN、OH、SH、NR_aR_b；

n 选自 1、2、3；m 选自 1、2、3、4、5、6。

2. 一种根据权利要求 1 所述的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐，其特征在于：所述“任选地包含一个、两个或更多个杂原子 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基”可以选自 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基氧基、(C₁-C₁₂) 脂肪烃基硫基、(C₁-C₆) 脂肪烃基氧基(C₁-C₆) 脂肪烃基、(C₁-C₆) 脂肪烃基硫基(C₁-C₆) 脂肪烃基、N-(C₁-C₃) 脂肪烃基胺基(C₁-C₆) 脂肪烃基、N,N-二-(C₁-C₃) 脂肪烃基胺基(C₁-C₆) 脂肪烃基；

所述“含 N 的 5-14 元杂芳基或 5-12 元杂环基”选自吡啶，吡咯，哌啶，四氢吡咯。

所述 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基可以选自 (C₁-C₁₂) 烷基、(C₂-C₁₂) 烯基、(C₂-C₁₂) 炔基，优选的，所述 (C₁-C₁₂) 脂肪烃基可以选自 (C₁-C₆) 烷基、(C₂-C₆) 烯基、(C₂-C₆) 炔基；

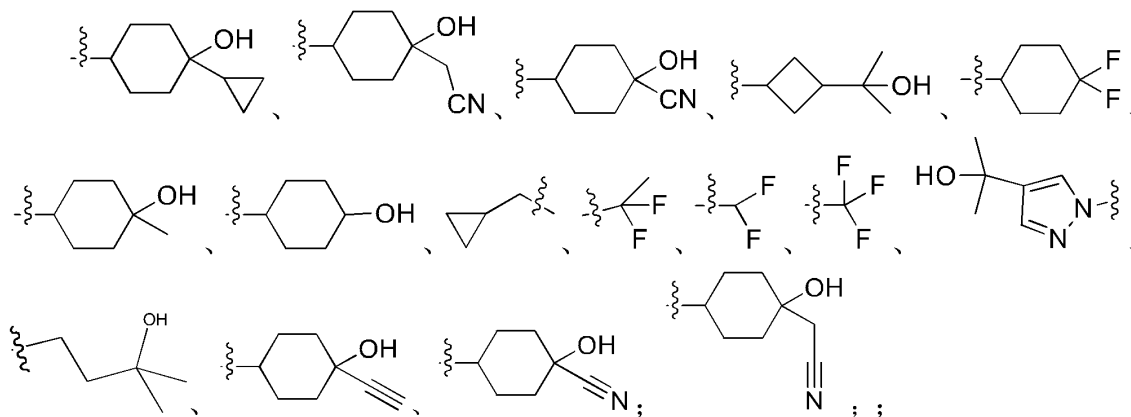
所述“卤素”选自 F、Cl、Br、I；

所述“C₃₋₁₂ 环烷基”可以选自环丙基、环丁基、环戊基、环己基。

3. 一种根据权利要求 1 或 2 所述的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐，其特征在于：

所述 R_1 、 R_2 、 R_3 可以各自独立的选自任选被一个、两个或更多个 R 取代的如下基团：甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、

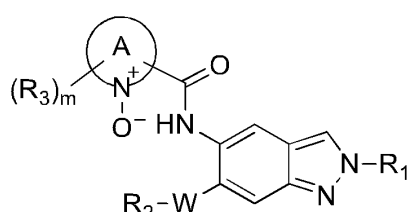
乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-甲基乙烯基、1-丁烯基、1-乙基乙烯基、1-甲基-2-丙烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、2-甲基-1-丙烯基、2-甲基-2-丙烯基、1-戊烯基、1-己烯基、乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、1-甲基-2-丙炔基、3-丁炔基、1-戊炔基、1-己炔基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、戊氧基、甲氧基甲基、乙氧基甲基、丙氧基甲基、甲氧基乙基、乙氧基乙基、丙氧基乙基、甲氧基丙基、乙氧基丙基、丙氧基丙基、N-甲基胺甲基、N-甲基胺乙基、N-乙基胺乙基、N,N-二甲基胺甲基、N,N-二甲基胺乙基、N,N-二乙基胺乙基、氨基、N,N-二甲基氨基、N,N-二乙基氨基、四氢吡咯基、哌啶基、吡啶基、吡嗪基、咪唑基、吡唑基、恶唑基、异恶唑基、



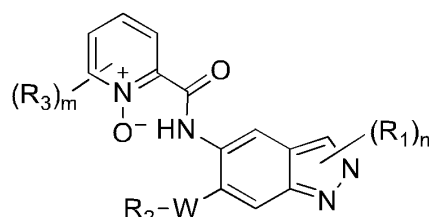
所述  示意所述基团的连接位点。

4. 一种根据权利要求 1-3 任一项所述的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐，其特征在于：

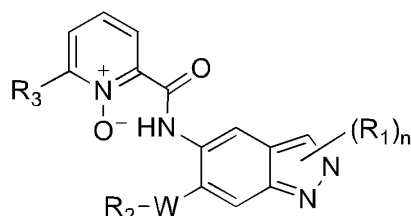
所述式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐中，式 I 所示的化合物可以选自如下式 Ia、式 Ib、式 Ic、式 Id、式 Ie 结构：



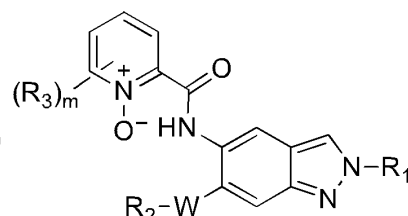
式 Ia



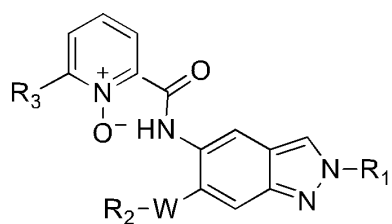
式 Ib



式 Ic



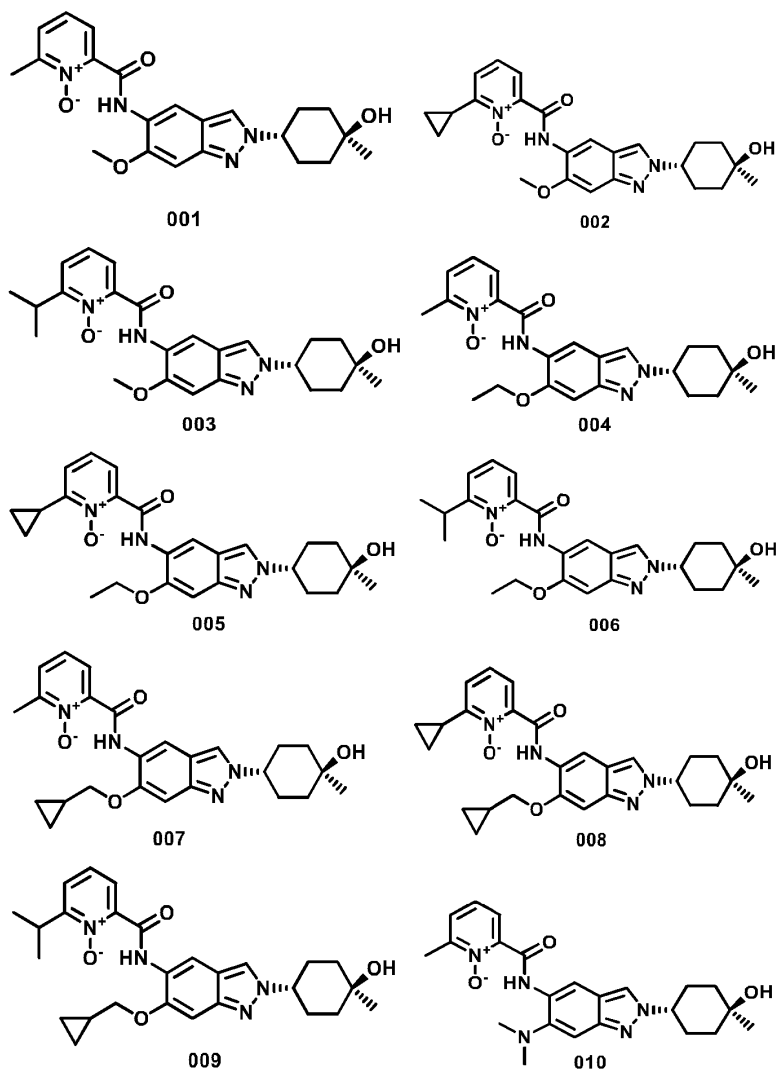
式 Id

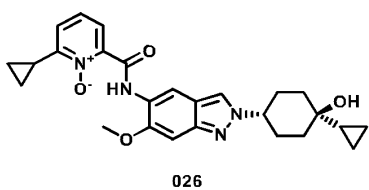
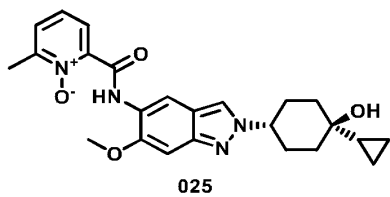
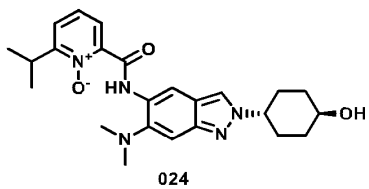
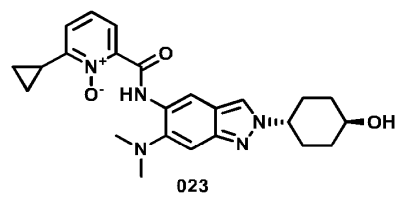
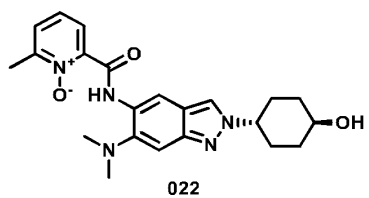
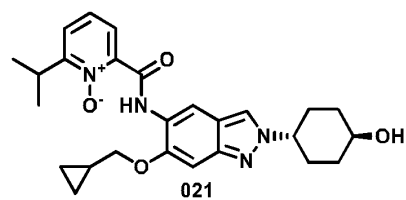
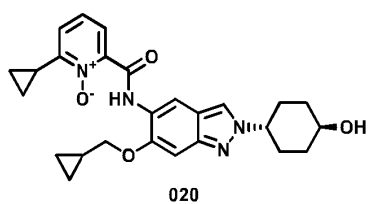
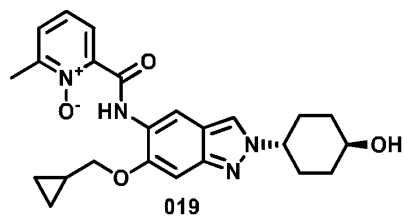
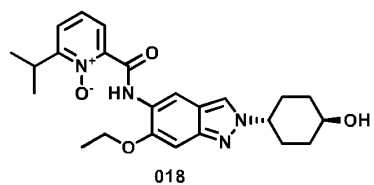
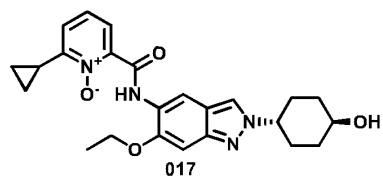
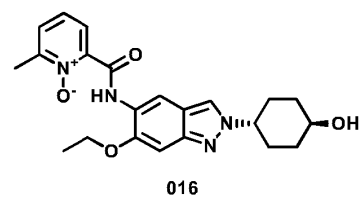
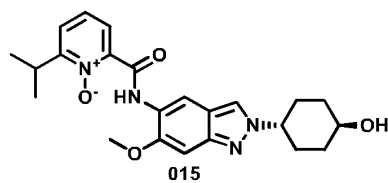
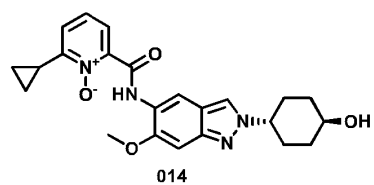
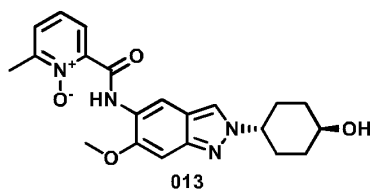
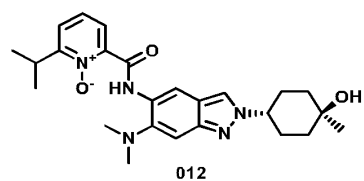
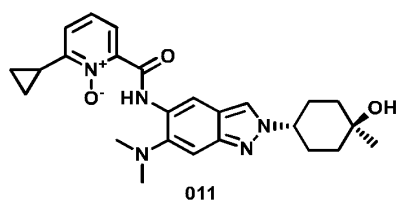


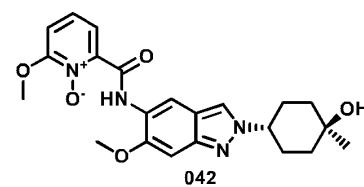
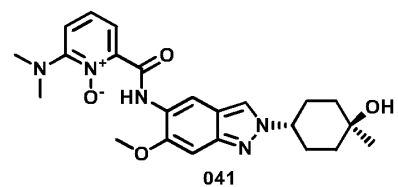
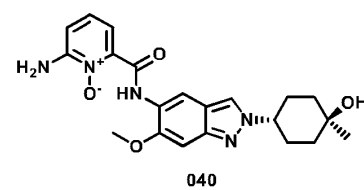
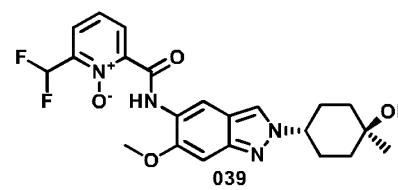
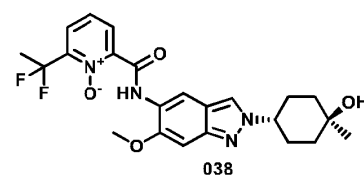
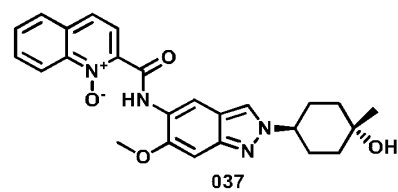
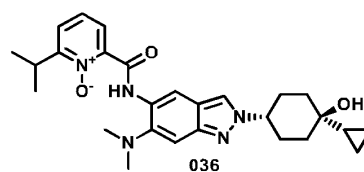
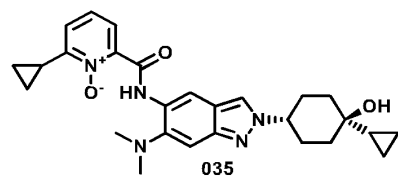
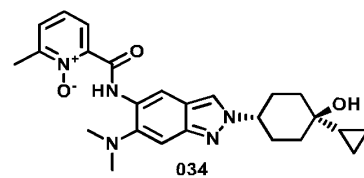
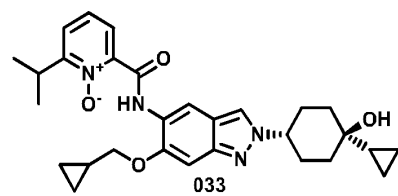
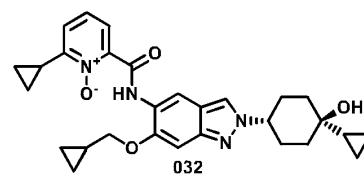
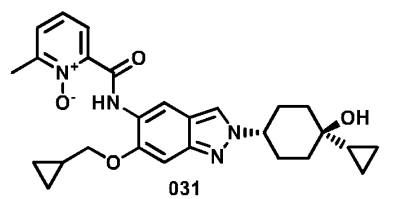
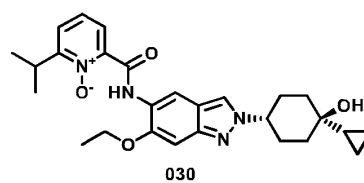
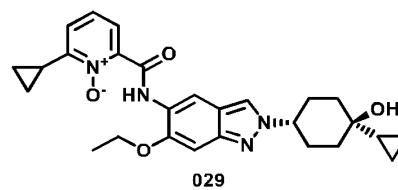
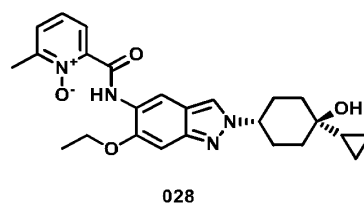
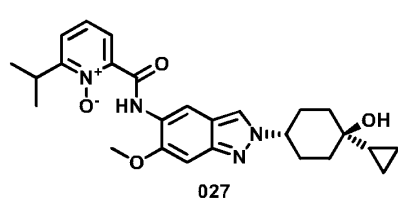
式 Ie

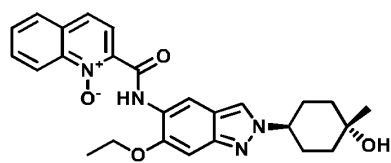
所述式 Ia、式 Ib、式 Ic、式 Id、式 Ie 中， R_1 ， R_2 ， R_3 ， m ， n ， W 如式 I 所定义。

5. 一种根据权利要求 1-4 任一项所述的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述式 I 所示的化合物可以选自如下结构：

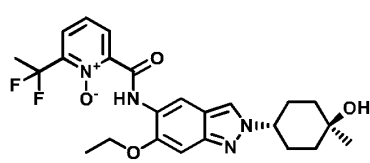




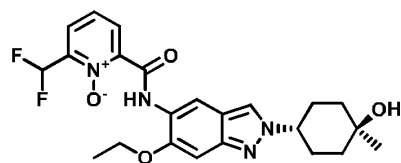




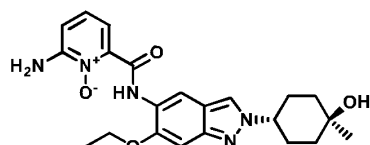
043



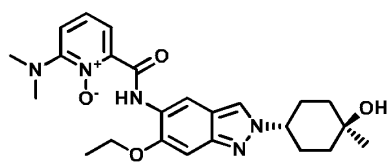
044



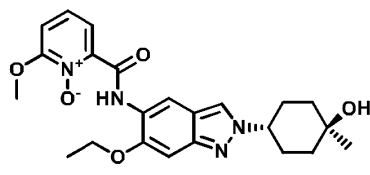
045



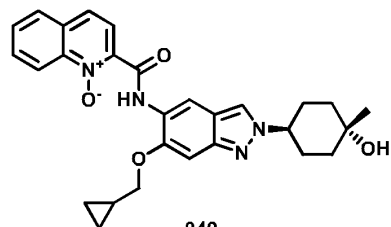
046



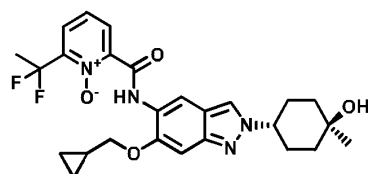
047



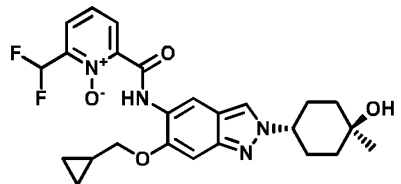
048



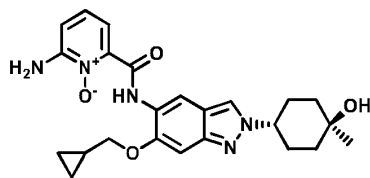
049



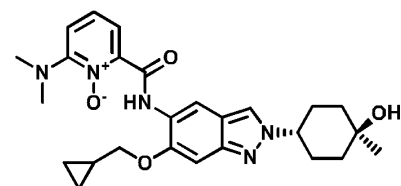
050



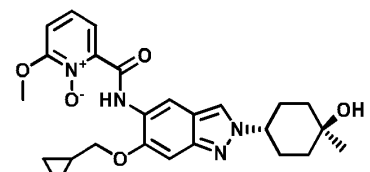
051



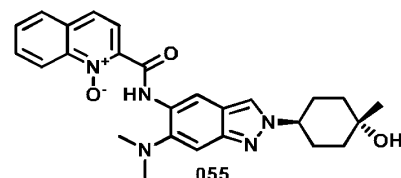
052



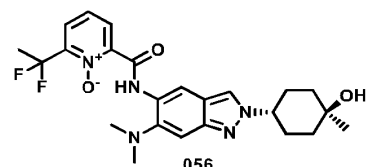
053



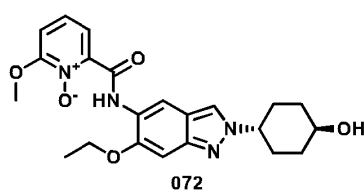
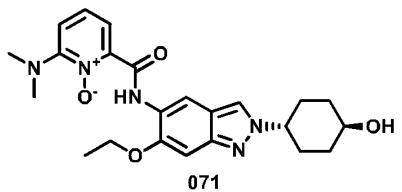
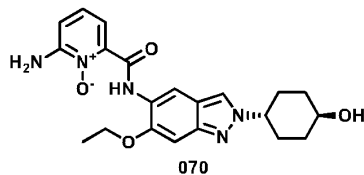
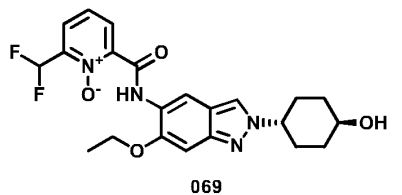
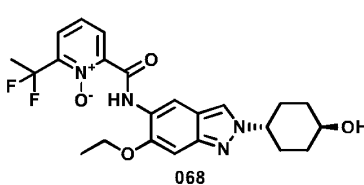
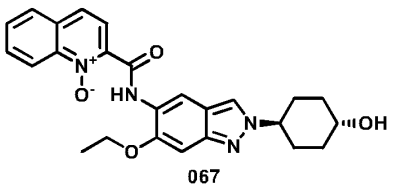
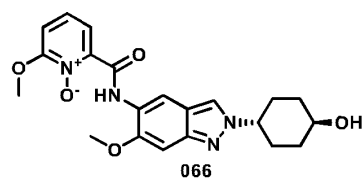
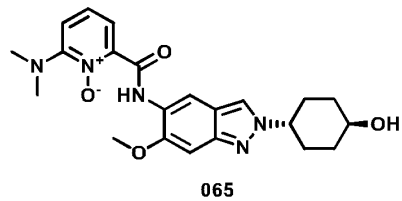
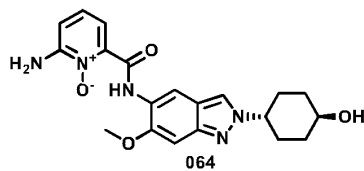
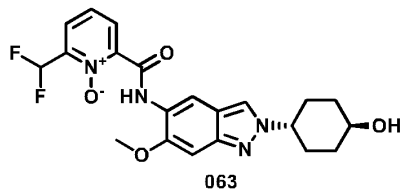
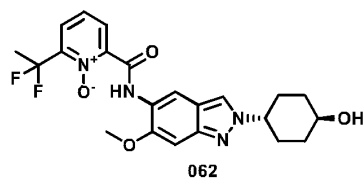
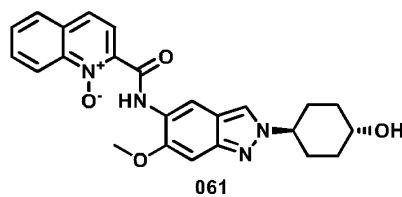
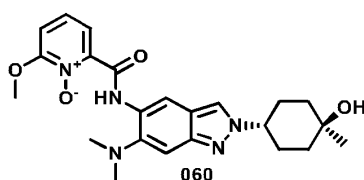
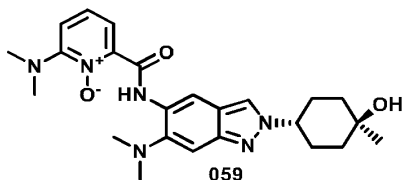
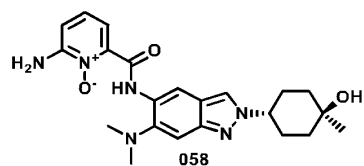
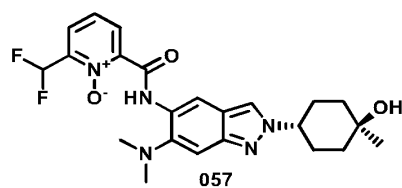
054

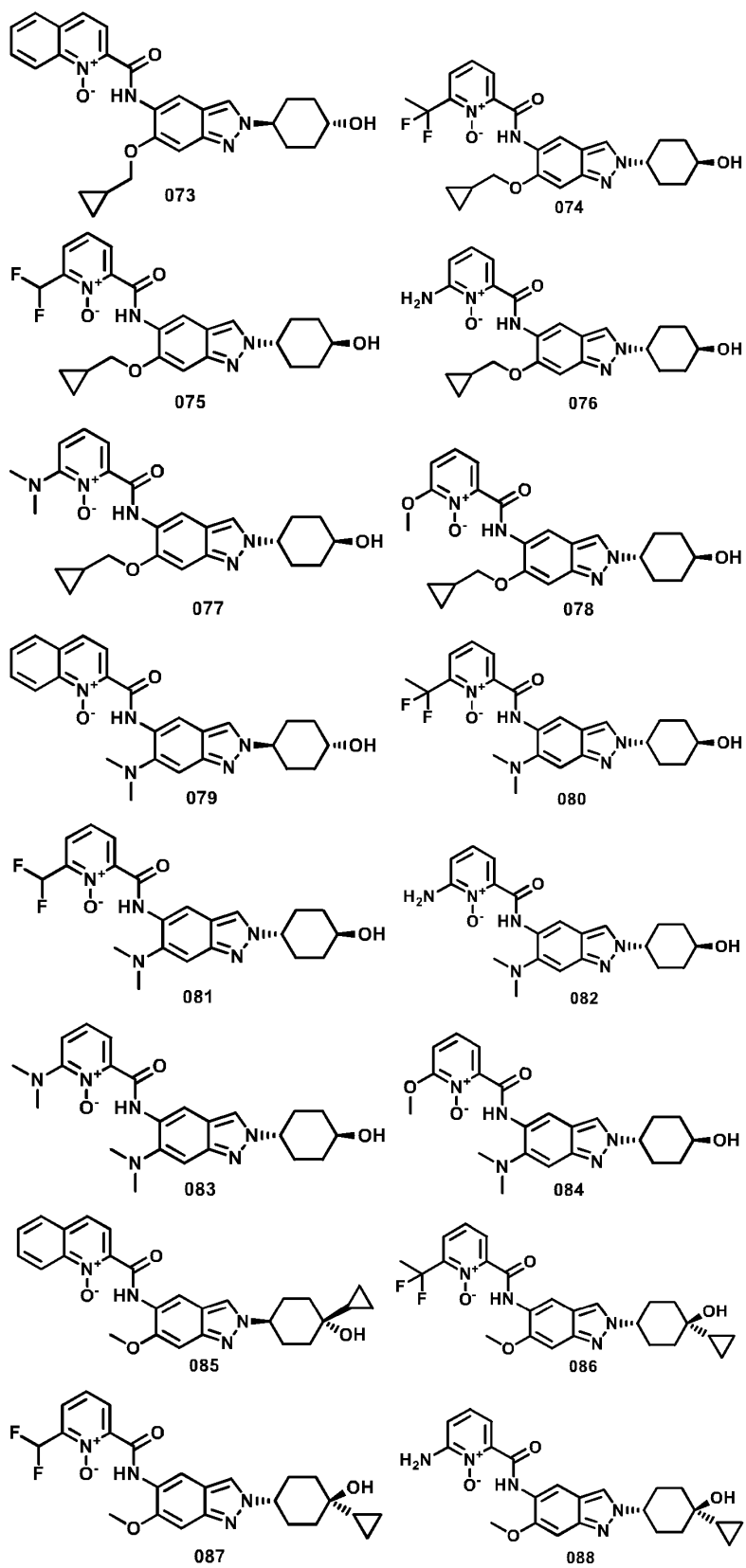


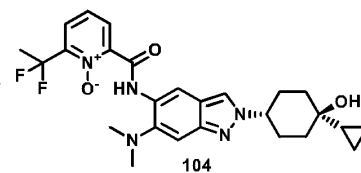
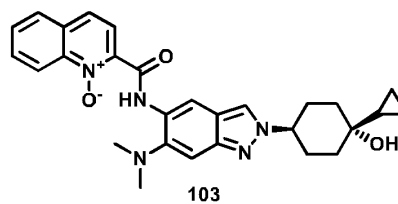
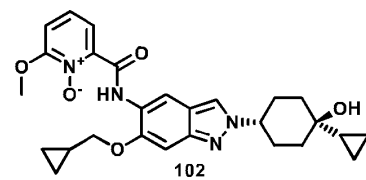
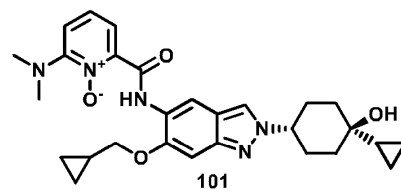
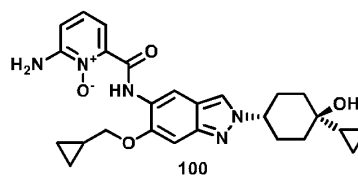
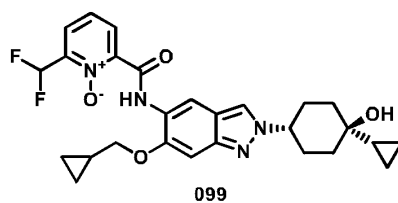
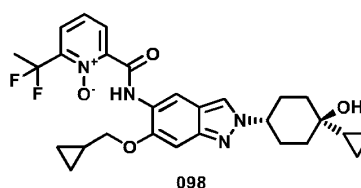
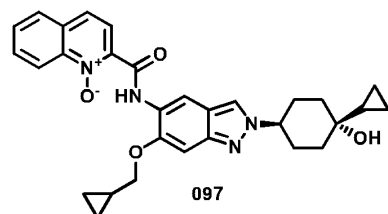
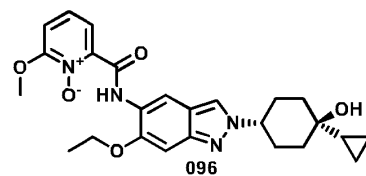
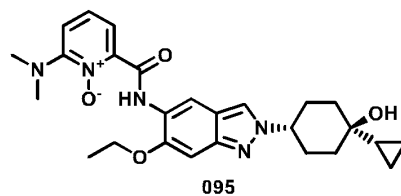
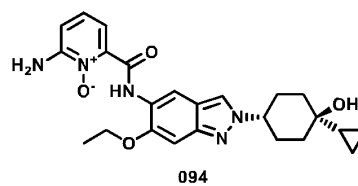
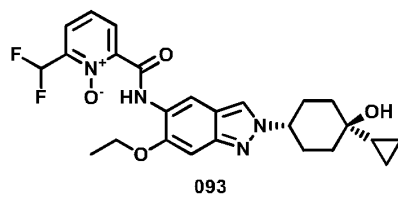
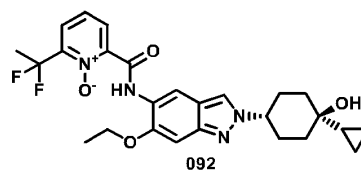
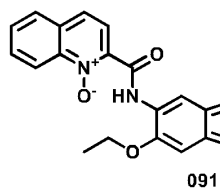
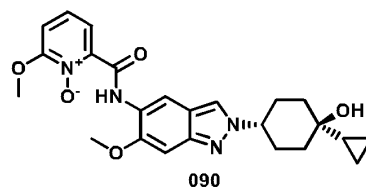
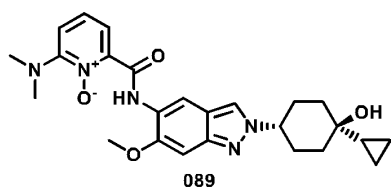
055

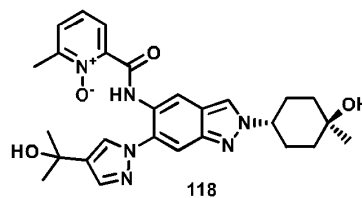
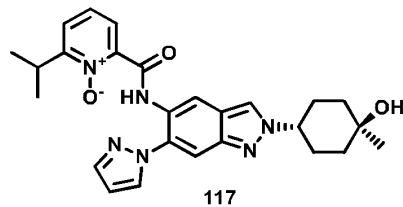
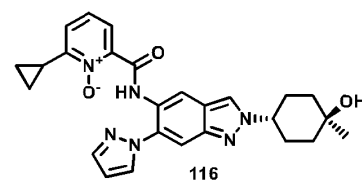
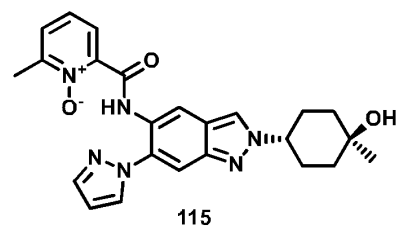
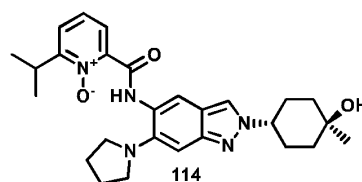
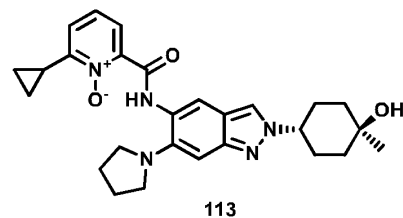
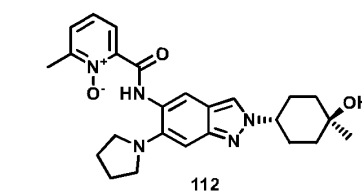
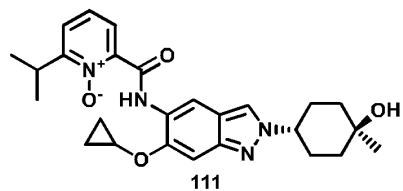
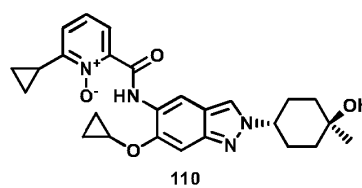
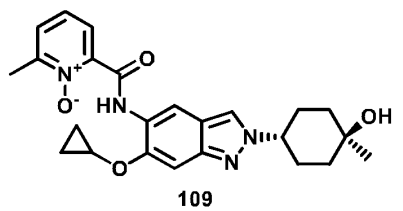
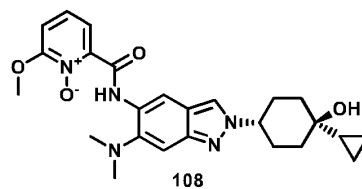
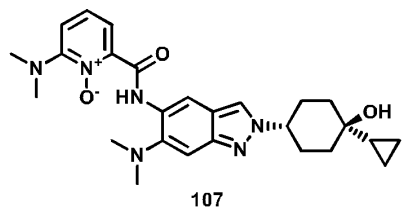
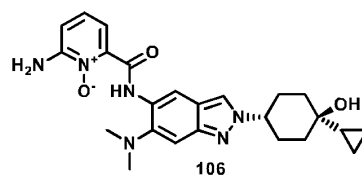
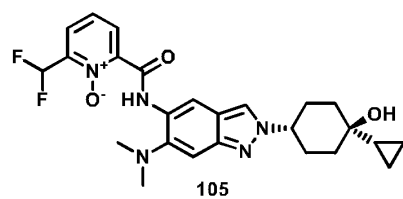


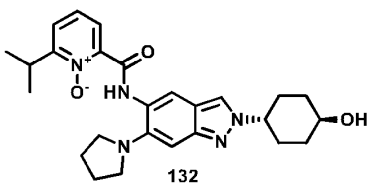
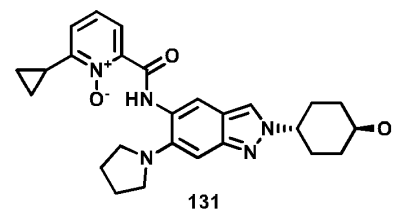
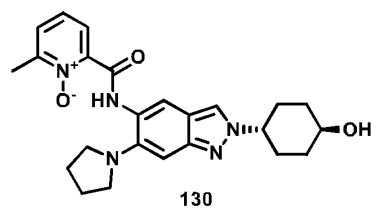
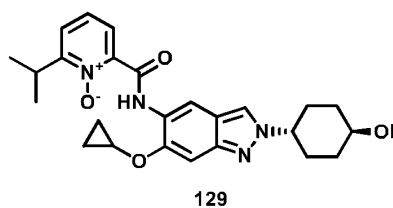
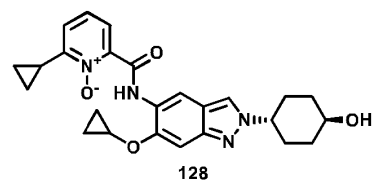
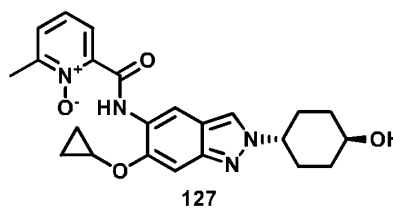
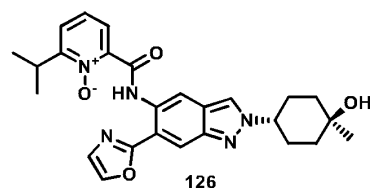
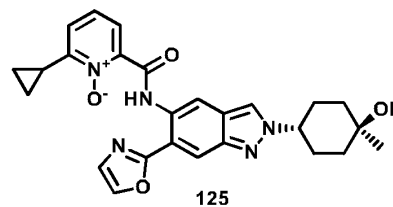
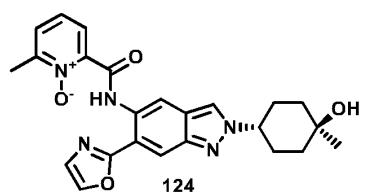
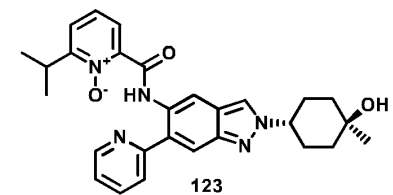
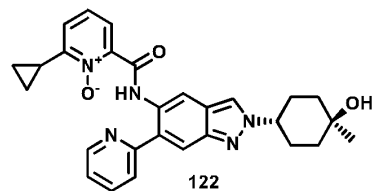
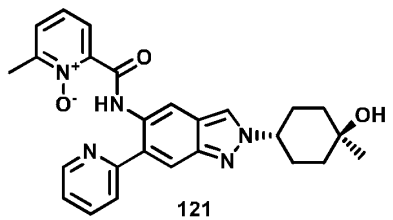
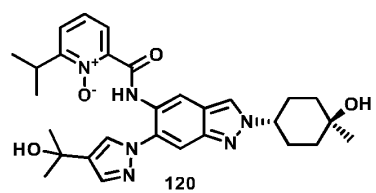
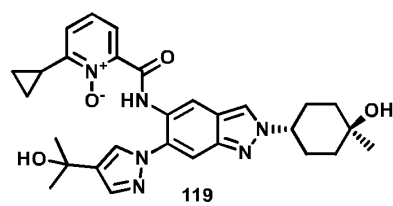
056











Cc1ccn([O-])c(=O)Nc2c3c(c4c2nnc4[C@H]5CCCC[C@@H]5O)c5ccnnc35O[C@H]1CCCC[C@@H]1Nc2nc3cc(NC(=O)c4ccc([n+]5ccccc5)[n-]4)cc3n2CC(C)c1ccc([n+]1[O-])C(=O)Nc2cc3c(cc2n3)nc4c(c3)nc5c4cnc5N[C@H]6CCCC[C@@H]6OCc1ccc[n+]1C(=O)NC2=CC=C3C=C2C=C4N5C(C6CCCCC6O)N=C(C7C(C)(C)C7)N=N5C34

136

CC(C)(C)c1cn[nH]1-c2ccc3c(c2)c4c(c3)nc5c4cnc5N6C(=O)C(=O)N6C7C=CC(=CC=C7)C8C9C(C9)C8O

137

CC(C)c1ccc[n+](c1)[O-]C(=O)Nc2ccc3c(c2)c4cc[n+](c4)[O-]C(=O)Nc5ccc6c(c5)c7cc[n+](c7)[O-]C(=O)Nc8ccc9c(c8)c10cc[n+](c10)[O-]C(=O)Nc11ccc12c(c11)c13cc[n+](c13)[O-]C(=O)Nc14ccc15c(c14)c16cc[n+](c16)[O-]C(=O)Nc17ccc18c(c17)c19cc[n+](c19)[O-]C(=O)Nc20ccc21c(c20)c22cc[n+](c22)[O-]C(=O)Nc23ccc24c(c23)c25cc[n+](c25)[O-]C(=O)Nc26ccc27c(c26)c28cc[n+](c28)[O-]C(=O)Nc29ccc30c(c29)c31cc[n+](c31)[O-]C(=O)Nc32ccc33c(c32)c34cc[n+](c34)[O-]C(=O)Nc35ccc36c(c35)c37cc[n+](c37)[O-]C(=O)Nc38ccc39c(c38)c40cc[n+](c40)[O-]C(=O)Nc41ccc42c(c41)c43cc[n+](c43)[O-]C(=O)Nc44ccc45c(c44)c46cc[n+](c46)[O-]C(=O)Nc47ccc48c(c47)c49cc[n+](c49)[O-]C(=O)Nc50ccc51c(c50)c52cc[n+](c52)[O-]C(=O)Nc53ccc54c(c53)c55cc[n+](c55)[O-]C(=O)Nc56ccc57c(c56)c58cc[n+](c58)[O-]C(=O)Nc59ccc60c(c59)c61cc[n+](c61)[O-]C(=O)Nc62ccc63c(c62)c64cc[n+](c64)[O-]C(=O)Nc65ccc66c(c65)c67cc[n+](c67)[O-]C(=O)Nc68ccc69c(c68)c70cc[n+](c70)[O-]C(=O)Nc71ccc72c(c71)c73cc[n+](c73)[O-]C(=O)Nc74ccc75c(c74)c76cc[n+](c76)[O-]C(=O)Nc77ccc78c(c77)c79cc[n+](c79)[O-]C(=O)Nc80ccc81c(c80)c82cc[n+](c82)[O-]C(=O)Nc83ccc84c(c83)c85cc[n+](c85)[O-]C(=O)Nc86ccc87c(c86)c88cc[n+](c88)[O-]C(=O)Nc89ccc90c(c89)c91cc[n+](c91)[O-]C(=O)Nc92ccc93c(c92)c94cc[n+](c94)[O-]C(=O)Nc95ccc96c(c95)c97cc[n+](c97)[O-]C(=O)Nc98ccc99c(c98)c100cc[n+](c100)[O-]C(=O)Nc101ccc102c(c101)c103cc[n+](c103)[O-]C(=O)Nc104ccc105c(c104)c106cc[n+](c106)[O-]C(=O)Nc107ccc108c(c107)c109cc[n+](c109)[O-]C(=O)Nc110ccc111c(c110)c112cc[n+](c112)[O-]C(=O)Nc113ccc114c(c113)c115cc[n+](c115)[O-]C(=O)Nc116ccc117c(c116)c118cc[n+](c118)[O-]C(=O)Nc119ccc120c(c119)c121cc[n+](c121)[O-]C(=O)Nc122ccc123c(c122)c124cc[n+](c124)[O-]C(=O)Nc125ccc126c(c125)c127cc[n+](c127)[O-]C(=O)Nc128ccc129c(c128)c130cc[n+](c130)[O-]C(=O)Nc131ccc132c(c131)c133cc[n+](c133)[O-]C(=O)Nc134ccc135c(c134)c136cc[n+](c136)[O-]C(=O)Nc137ccc138c(c137)c139cc[n+](c139)[O-]C(=O)Nc140ccc141c(c140)c142cc[n+](c142)[O-]C(=O)Nc143ccc144c(c143)c145cc[n+](c145)[O-]C(=O)Nc146ccc147c(c146)c148cc[n+](c148)[O-]C(=O)Nc149ccc150c(c149)c151cc[n+](c151)[O-]C(=O)Nc152ccc153c(c152)c154cc[n+](c154)[O-]C(=O)Nc155ccc156c(c155)c157cc[n+](c157)[O-]C(=O)Nc158ccc159c(c158)c160cc[n+](c160)[O-]C(=O)Nc161ccc162c(c161)c163cc[n+](c163)[O-]C(=O)Nc164ccc165c(c164)c166cc[n+](c166)[O-]C(=O)Nc167ccc168c(c167)c169cc[n+](c169)[O-]C(=O)Nc170ccc171c(c170)c172cc[n+](c172)[O-]C(=O)Nc173ccc174c(c173)c175cc[n+](c175)[O-]C(=O)Nc176ccc177c(c176)c178cc[n+](c178)[O-]C(=O)Nc179ccc180c(c179)c181cc[n+](c181)[O-]C(=O)Nc182ccc183c(c182)c184cc[n+](c184)[O-]C(=O)Nc185ccc186c(c185)c187cc[n+](c187)[O-]C(=O)Nc188ccc189c(c188)c190cc[n+](c190)[O-]C(=O)Nc191ccc192c(c191)c193cc[n+](c193)[O-]C(=O)Nc194ccc195c(c194)c196cc[n+](c196)[O-]C(=O)Nc197ccc198c(c197)c199cc[n+](c199)[O-]C(=O)Nc200ccc201c(c200)c202cc[n+](c202)[O-]C(=O)Nc203ccc204c(c203)c205cc[n+](c205)[O-]C(=O)Nc206ccc207c(c206)c208cc[n+](c208)[O-]C(=O)Nc209ccc210c(c209)c211cc[n+](c211)[O-]C(=O)Nc212ccc213c(c212)c214cc[n+](c214)[O-]C(=O)Nc215ccc216c(c215)c217cc[n+](c217)[O-]C(=O)Nc218ccc219c(c218)c220cc[n+](c220)[O-]C(=O)Nc221ccc222c(c221)c223cc[n+](c223)[O-]C(=O)Nc224ccc225c(c224)c226cc[n+](c226)[O-]C(=O)Nc227ccc228c(c227)c229cc[n+](c229)[O-]C(=O)Nc230ccc231c(c230)c232cc[n+](c232)[O-]C(=O)Nc233ccc234c(c233)c235cc[n+](c235)[O-]C(=O)Nc236ccc237c(c236)c238cc[n+](c238)[O-]C(=O)Nc239ccc240c(c239)c241cc[n+](c241)[O-]C(=O)Nc242ccc243c(c242)c244cc[n+](c244)[O-]C(=O)Nc245ccc246c(c245)c247cc[n+](c247)[O-]C(=O)Nc248ccc249c(c248)c250cc[n+](c250)[O-]C(=O)Nc251ccc252c(c251)c253cc[n+](c253)[O-]C(=O)Nc254ccc255c(c254)c256cc[n+](c256)[O-]C(=O)Nc257ccc258c(c257)c259cc[n+](c259)[O-]C(=O)Nc260ccc261c(c260)c262cc[n+](c262)[O-]C(=O)Nc263ccc264c(c263)c265cc[n+](c265)[O-]C(=O)Nc266ccc267c(c266)c268cc[n+](c268)[O-]C(=O)Nc269ccc270c(c269)c271cc[n+](c271)[O-]C(=O)Nc272ccc273c(c272)c274cc[n+](c274)[O-]C(=O)Nc275ccc276c(c275)c277cc[n+](c277)[O-]C(=O)Nc278ccc279c(c278)c280cc[n+](c280)[O-]C(=O)Nc281ccc282c(c281)c283cc[n+](c283)[O-]C(=O)Nc284ccc285c(c284)c286cc[n+](c286)[O-]C(=O)Nc287ccc288c(c287)c289cc[n+](c289)[O-]C(=O)Nc290ccc291c(c290)c292cc[n+](c292)[O-]C(=O)Nc293ccc294c(c293)c295cc[n+](c295)[O-]C(=O)Nc296ccc297c(c296)c298cc[n+](c298)[O-]C(=O)Nc299ccc300c(c299)c301cc[n+](c301)[O-]C(=O)Nc302ccc303c(c302)c304cc[n+](c304)[O-]C(=O)Nc305ccc306c(c305)c307cc[n+](c307)[O-]C(=O)Nc308ccc309c(c308)c310cc[n+](c310)[O-]C(=O)Nc311ccc312c(c311)c313cc[n+](c313)[O-]C(=O)Nc314ccc315c(c314)c316cc[n+](c316)[O-]C(=O)Nc317ccc318c(c317)c319cc[n+](c319)[O-]C(=O)Nc320ccc321c(c320)c322cc[n+](c322)[O-]C(=O)Nc323ccc324c(c323)c325cc[n+](c325)[O-]C(=O)Nc326ccc327c(c326)c328cc[n+](c328)[O-]C(=O)Nc329ccc330c(c329)c331cc[n+](c331)[O-]C(=O)Nc332ccc333c(c332)c334cc[n+](c334)[O-]C(=O)Nc335ccc336c(c335)c337cc[n+](c337)[O-]C(=O)Nc338ccc339c(c338)c340cc[n+](c340)[O-]C(=O)Nc341ccc342c(c341)c343cc[n+](c343)[O-]C(=O)Nc344ccc345c(c344)c346cc[n+](c346)[O-]C(=O)Nc347ccc348c(c347)c349cc[n+](c349)[O-]C(=O)Nc350ccc351c(c350)c352cc[n+](c352)[O-]C(=O)Nc353ccc354c(c353)c355cc[n+](c355)[O-]C(=O)Nc356ccc357c(c356)c358cc[n+](c358)[O-]C(=O)Nc359ccc360c(c359)c361cc[n+](c361)[O-]C(=O)Nc362ccc363c(c362)c364cc[n+](c364)[O-]C(=O)Nc365ccc366c(c365)cCc1ccn([O-])c(=O)Nc2c3ccn([N+]2)c(C4CCCCC4O)c3cc5cccnc51

Chemical structure of compound 140, a complex molecule featuring a central benzene ring fused to a pyridine ring and a pyrrole ring. The pyridine ring is substituted with a cyclopropyl group and a carboxylate group. The pyrrole ring is substituted with a cyclohexyl group. The central benzene ring is substituted with a carboxylate group and a cyclohexyl group. The molecule is labeled 140.

CC(C)c1ccc[n+]([O-])c1C(=O)Nc2cc3c(cc2c4cccnc4[C@H]5CCCC[C@@H]5O)cc6cccnc63

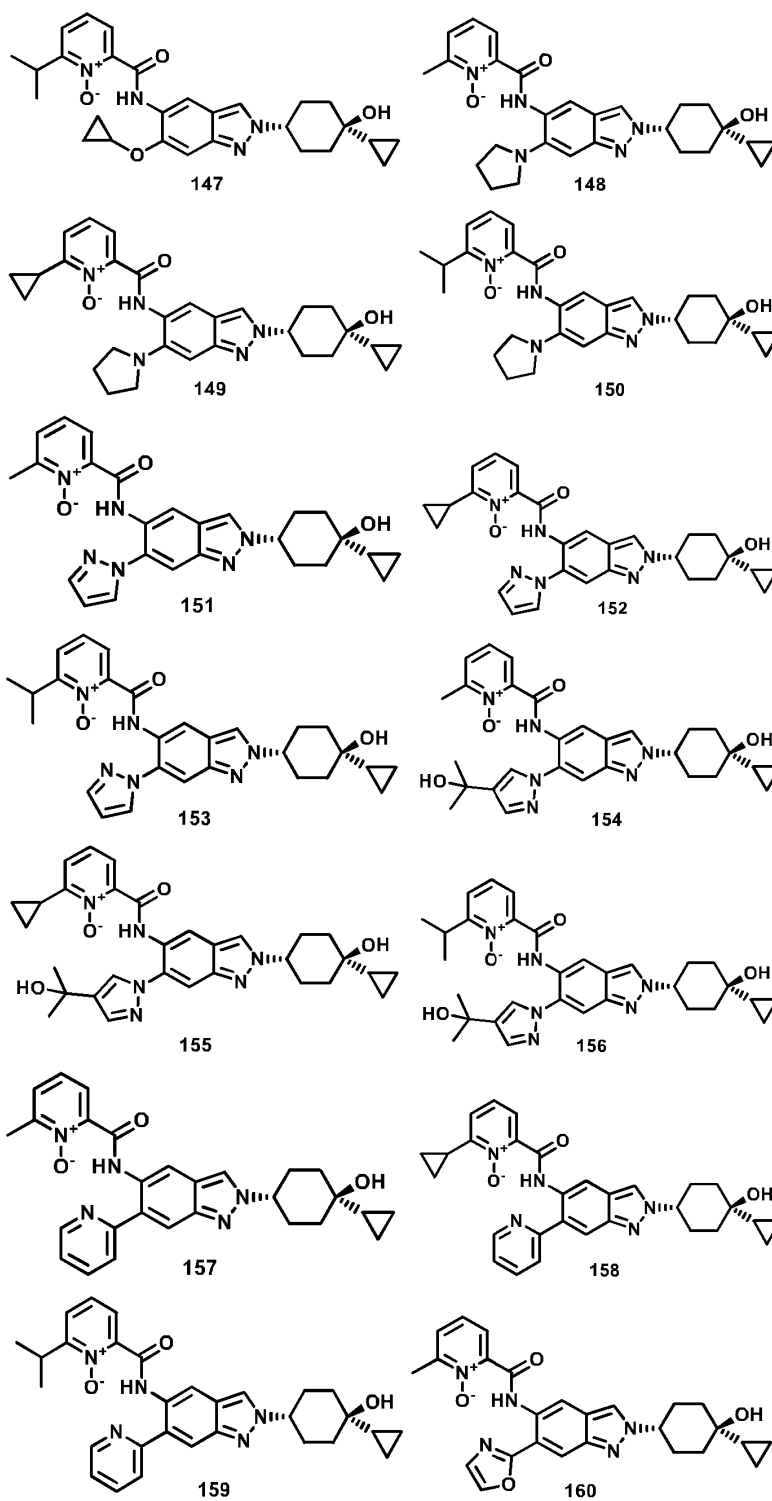
141

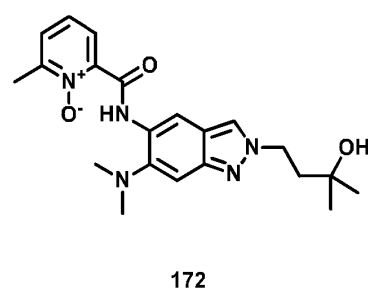
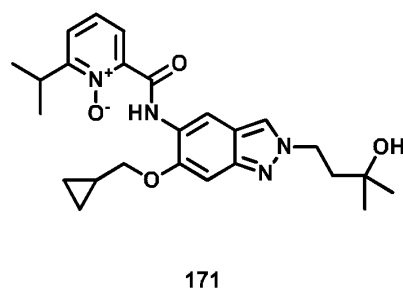
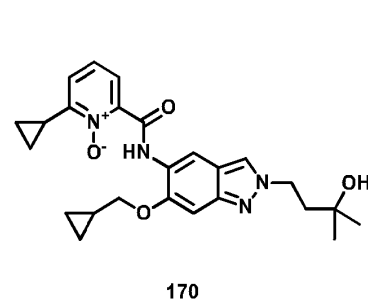
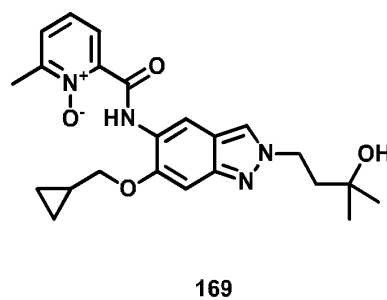
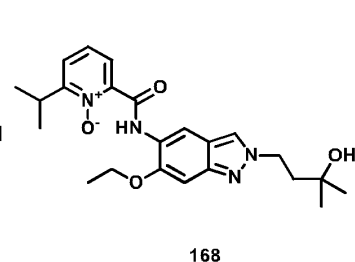
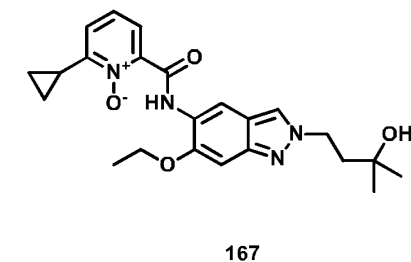
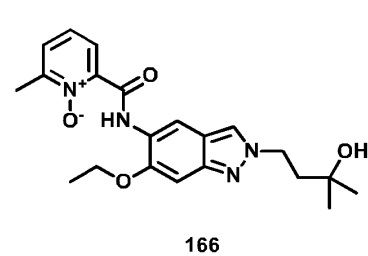
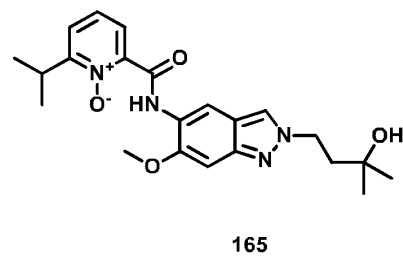
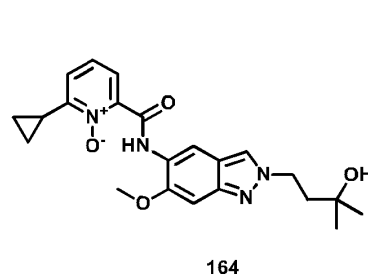
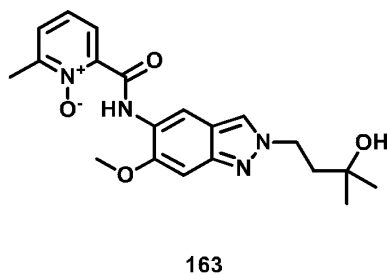
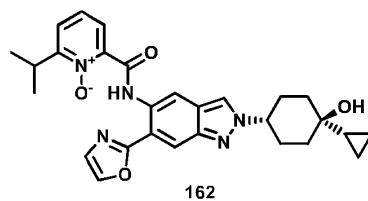
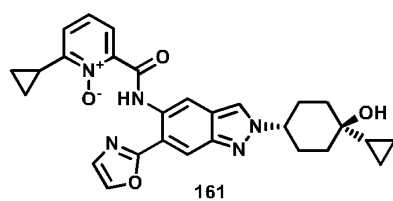
Cc1ccc[n+](c1)[O-]C(=O)Nc2ccc3c(c2)c4c(n3)C[C@H](C4)C5=CC=CC=C5O[C@H]1CCCC[C@H]1Nc2c3cc4c(c2)nc(oc4)C(=O)Nc5ccccc5[n+]([O-])C6CC6CC(C)c1ccc[n+]([O-])c1C(=O)Nc2ccc3c(c2)c4c[n+]([O-])c4c5c3cnc5[C@H]6CCCC[C@@H]6OCc1ccc([n+]1[O-])C(=O)Nc2c3c(c4c2[nH]c5c4OCC5)ccc6c5c[nH]6N[C@H]7C[C@H](C8CC8)[C@@H](C9CC9)C7

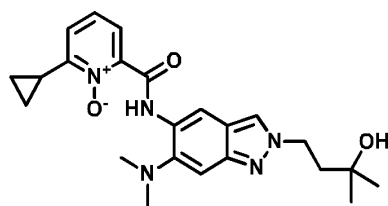
145

O=C1C(=C(C=C1)C2=CC(=CC=C2)N2C3CC[C@H](C3)C[C@H](C2)C4C(C(C4)O)C5C(C(C5)C)C)C6C(=CC(=CC=C6)N(C7C=CC(=CC=C7)C8C(C(C8)C)C)C9C(C(C9)C)C)C(=O)N1

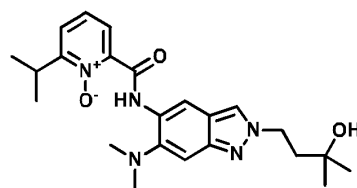
146



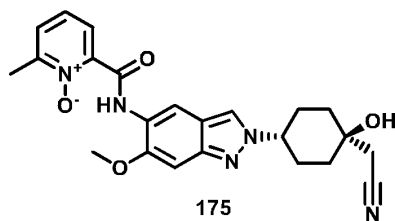




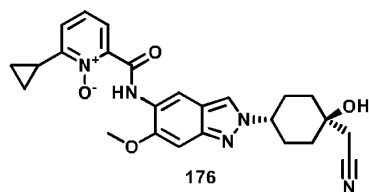
173



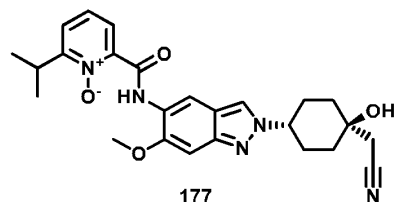
174



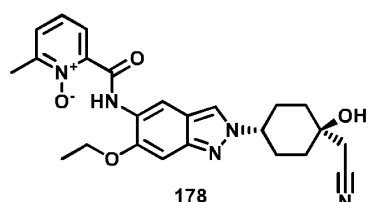
175



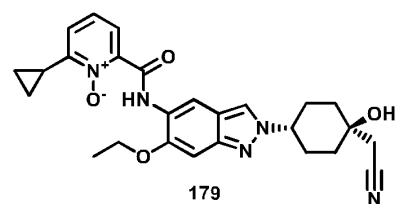
176



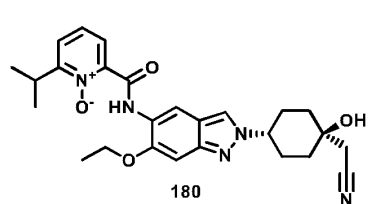
177



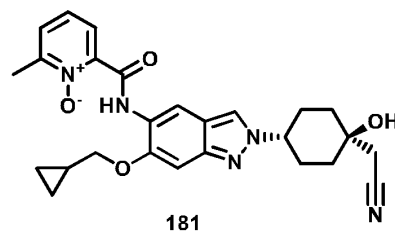
178



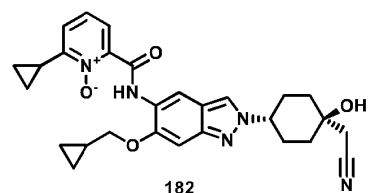
179



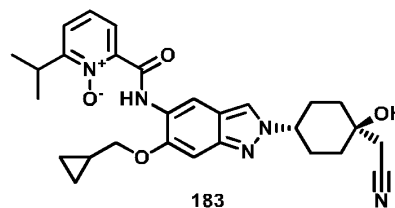
180



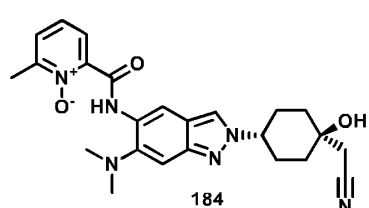
181



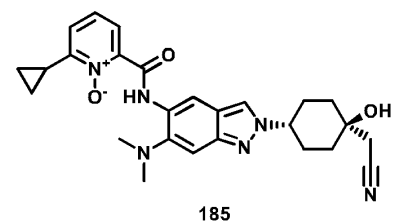
182



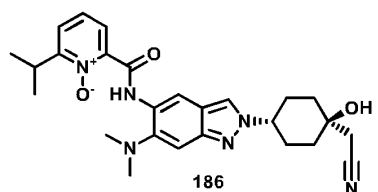
183



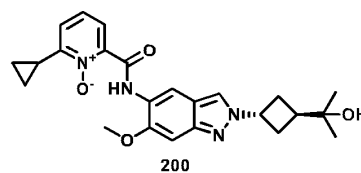
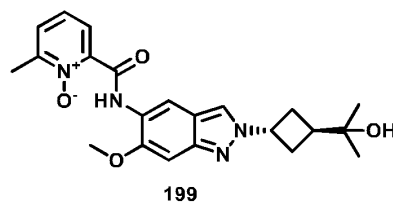
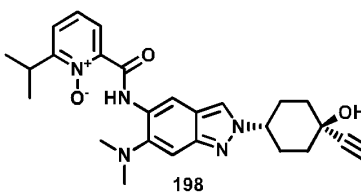
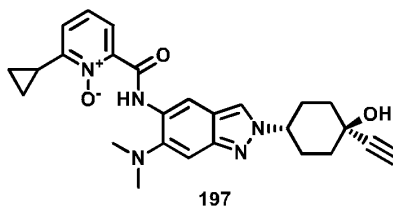
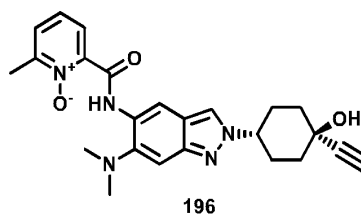
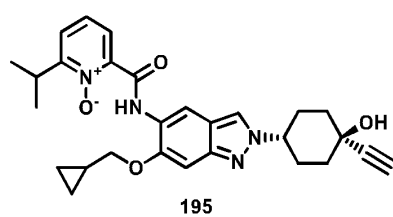
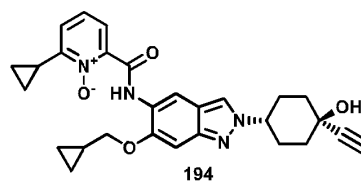
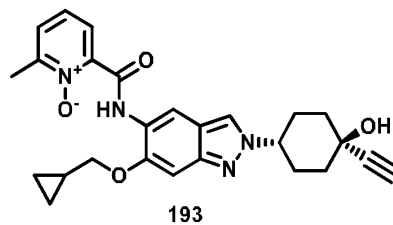
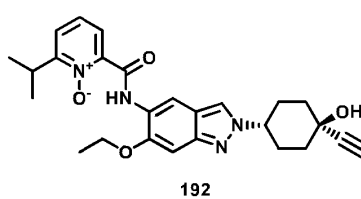
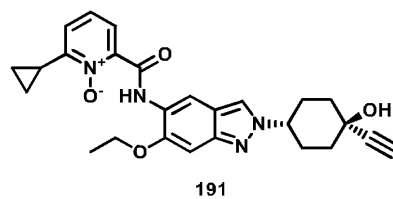
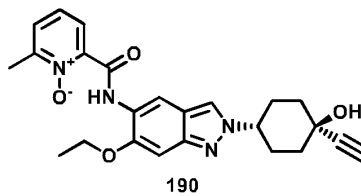
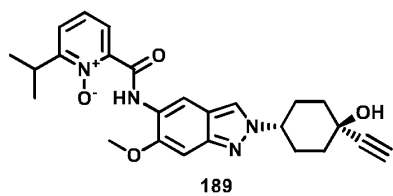
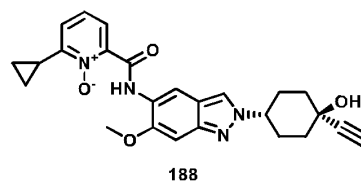
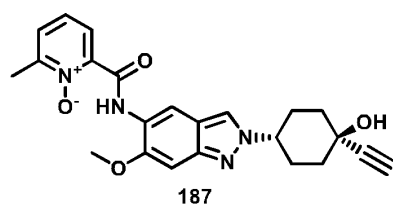
184

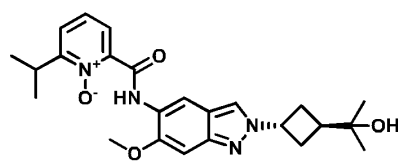


185

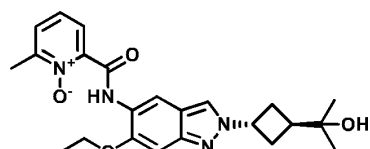


186

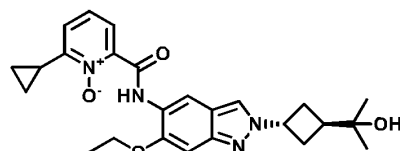




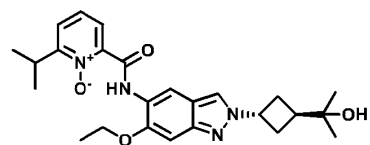
201



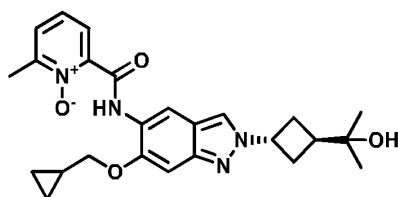
202



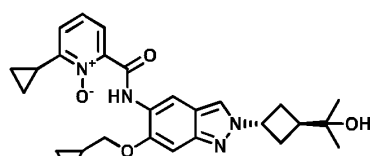
203



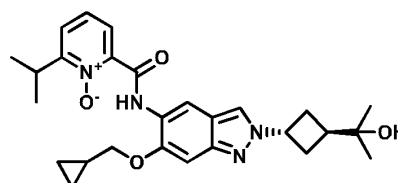
204



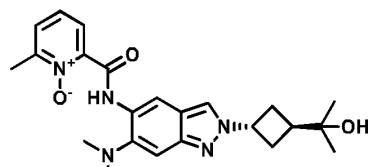
205



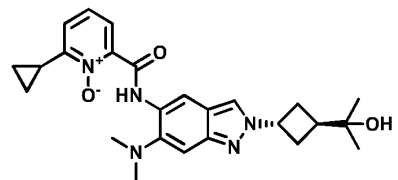
206



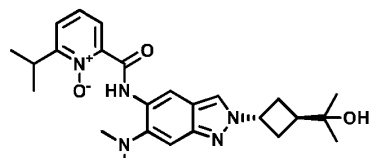
207



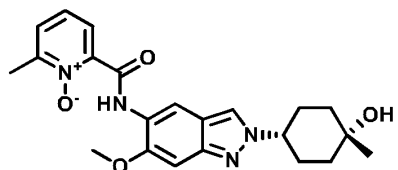
208



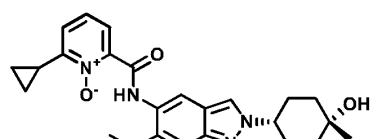
209



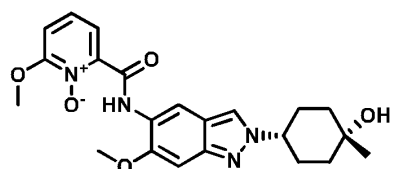
210



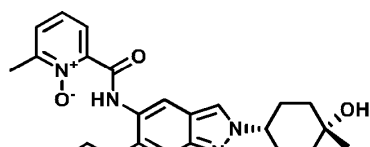
211



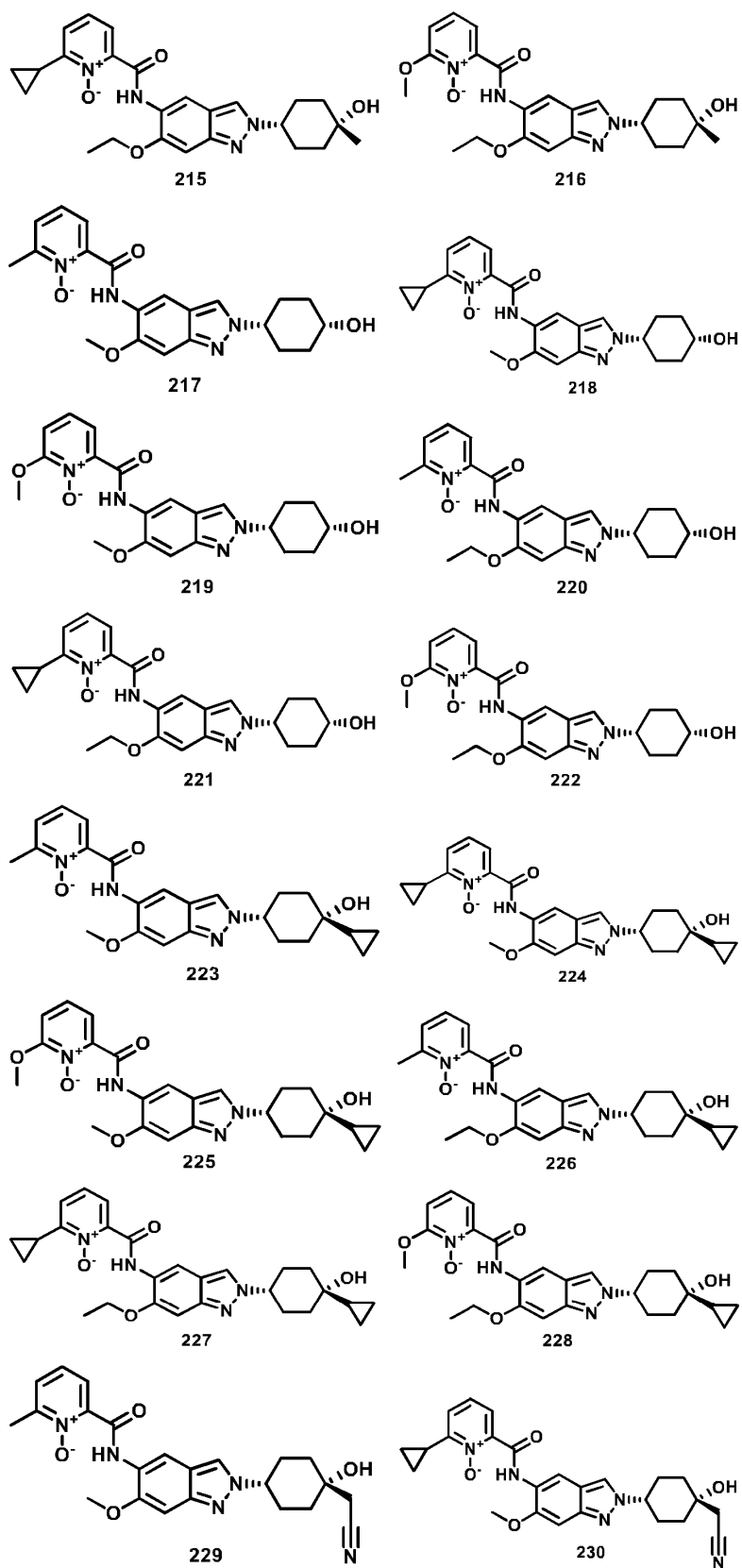
212

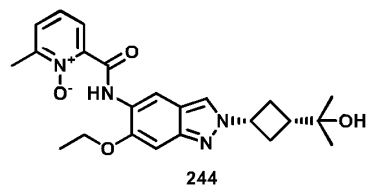
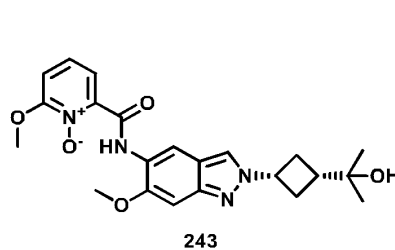
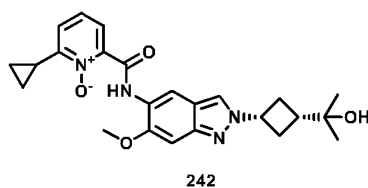
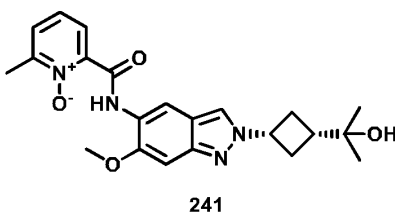
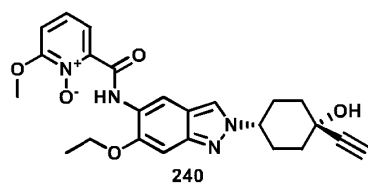
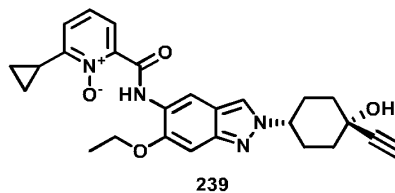
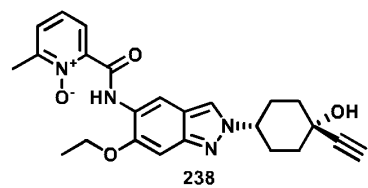
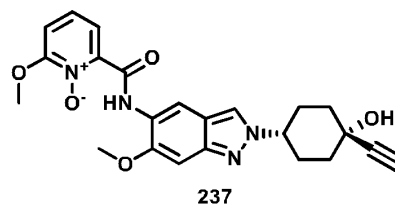
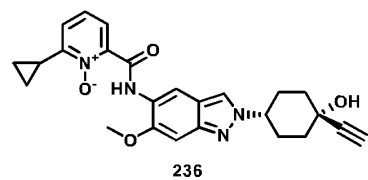
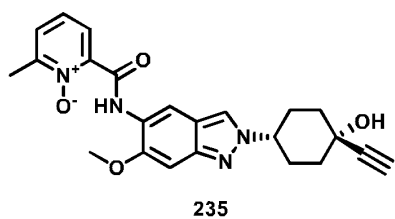
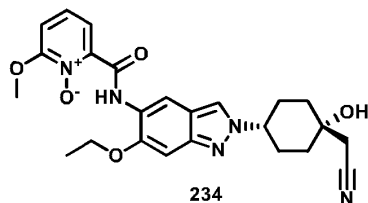
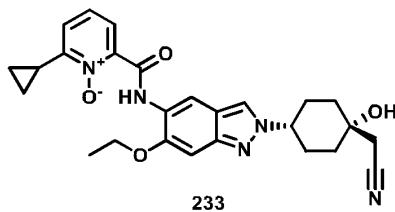
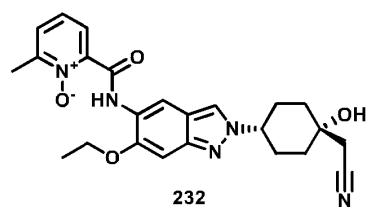
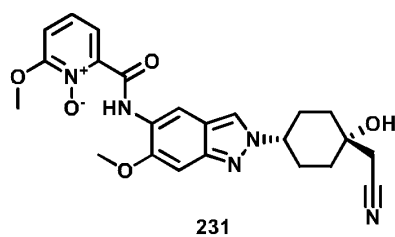


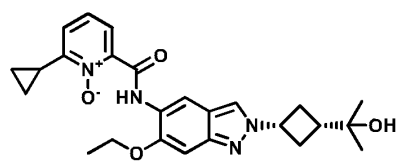
213



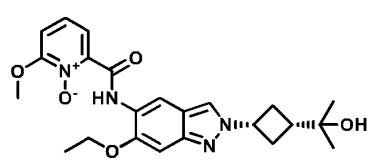
214



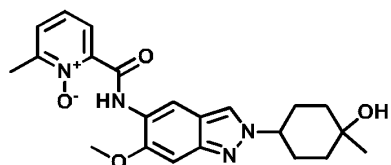




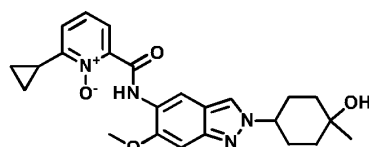
245



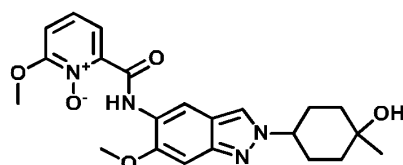
246



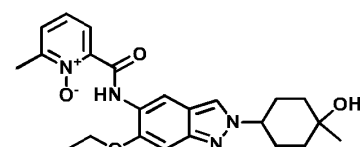
247



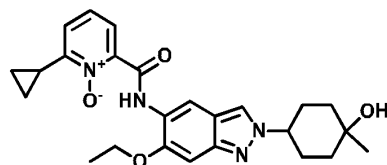
248



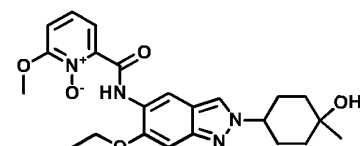
249



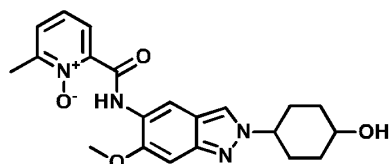
250



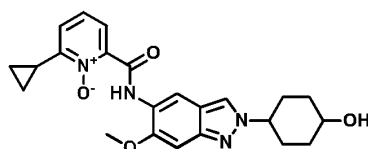
251



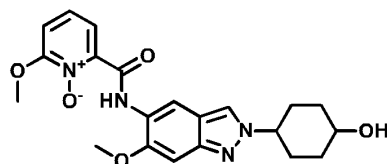
252



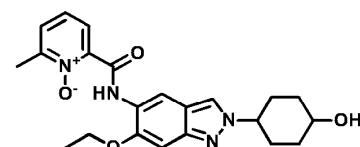
253



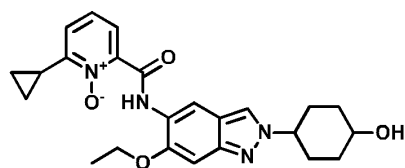
254



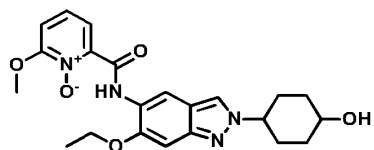
255



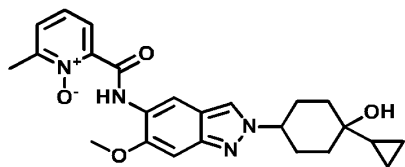
256



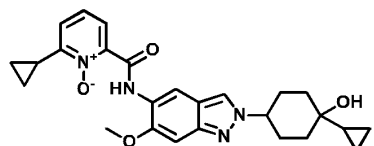
257



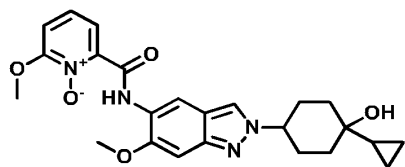
258



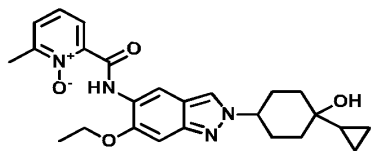
259



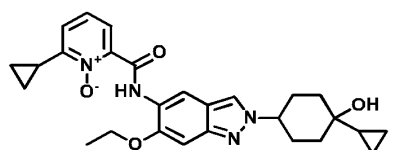
260



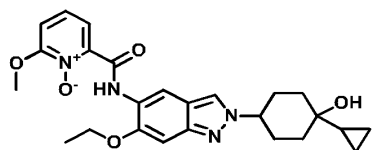
261



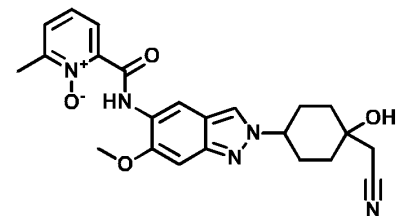
262



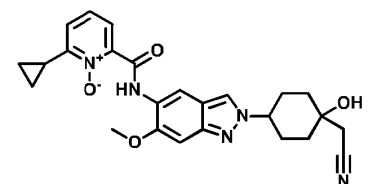
263



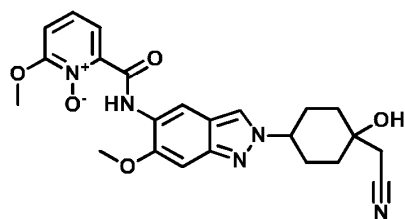
264



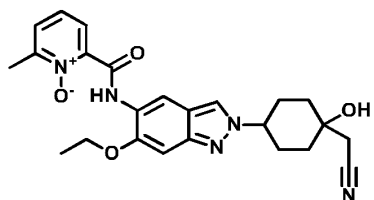
265



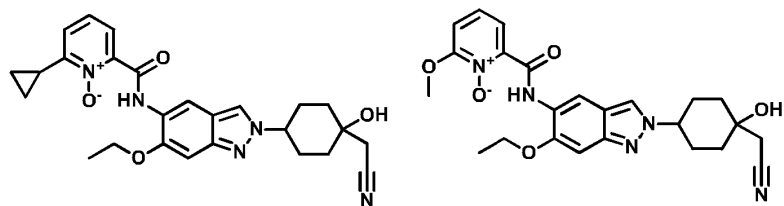
266



267

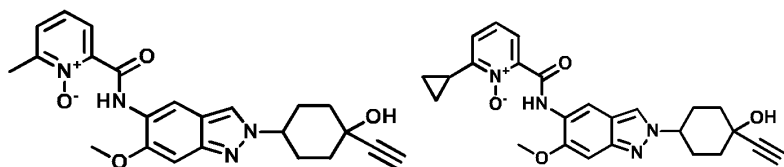


268



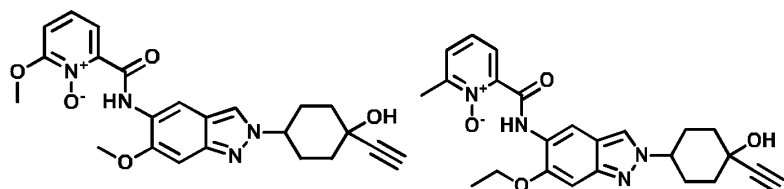
269

270



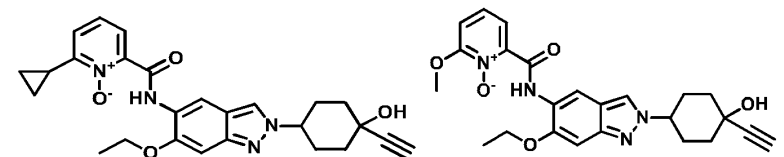
271

272



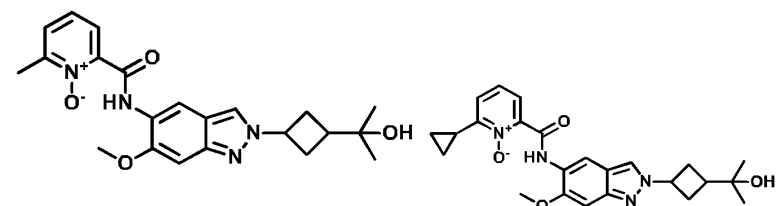
273

274



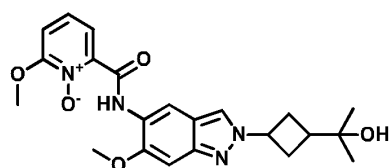
275

276

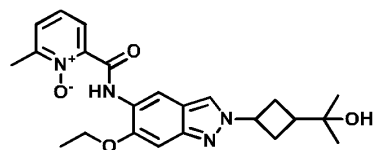


277

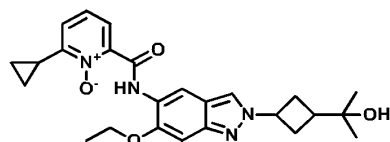
278



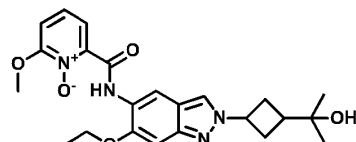
279



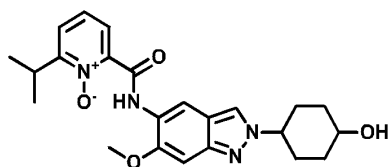
280



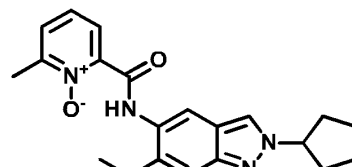
281



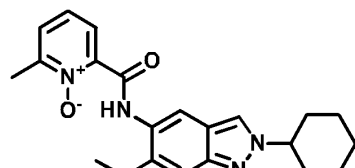
282



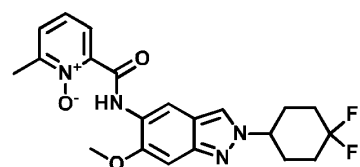
283



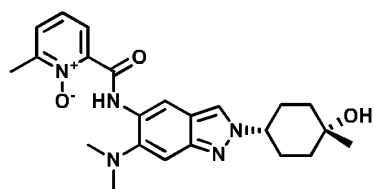
284



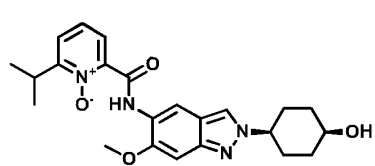
285



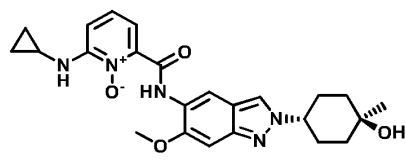
286



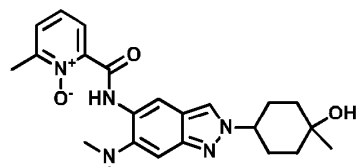
287



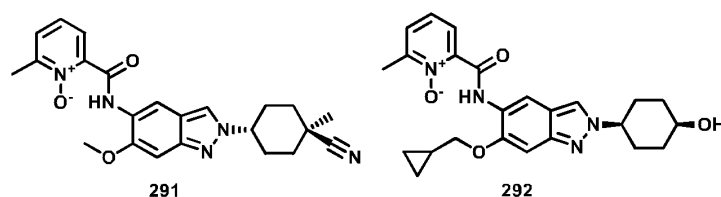
288



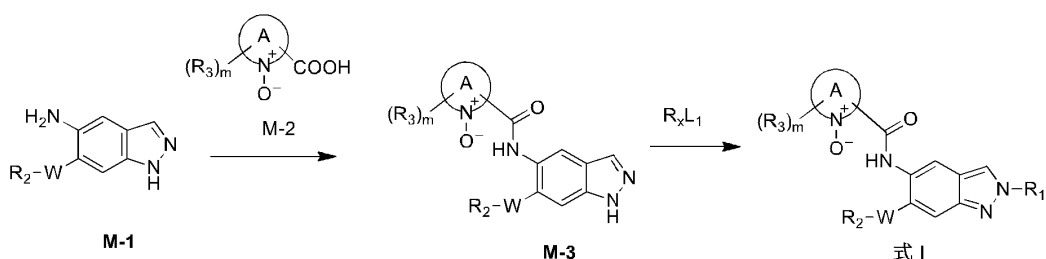
289



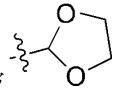
290

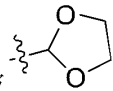


6. 一种根据权利要求 1-5 任一项所述的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐的制备方法，其特征在于，所述制备方法包括如下步骤：



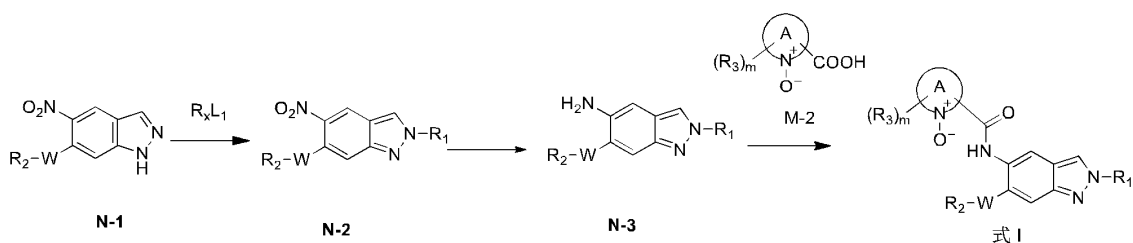
(a1) 采用 M-1 与 M-2 生成 M-3；所述反应可以在 EDCI.HCl、吡啶存在条件下进行；

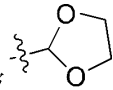
(a2) M-3 与 R_xL_1 反应，其中 R_x 选自 R_1 或带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团；

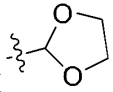
且当 R_x 选自带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团时，反应需进一步包括经酸性、还原条件得到式 I 产品，所述酸性条件可以选自 HCl，还原条件可以选自硼氢化钠；

所述步骤中， R_1 ， R_2 ， R_3 ， m ， W 如式 I 所定义；所述 L_1 为离去基团，可以选自卤素或 OTs。

7. 一种根据权利要求 1-5 任一项所述的式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐的制备方法，其特征在于，所述制备方法包括如下步骤：



(b1) N-1 与 R_xL_1 反应, 其中 R_x 选自 R_1 或带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团;

且当 R_x 选自带有羟基的 R_1 中羟基被  取代的基团时, 反应需进一步包括经酸性、还原条件得到 N-2 产品; 该步骤中, 所述酸性条件可以选自 HCl, 还原条件可以选自硼氢化钠;

(b2) 将上步反应得到的 N-2 还原得到 N-3; 所述还原剂可以选自 Pd/C;

(b3) 将 N-3 和 M-2 反应得到式 I。

所述步骤中, R_1 , R_2 , R_3 , m , W 如式 I 所定义; 所述 L_1 为离去基团, 可以选自卤素或 OTs。

8. 一种药物组合物, 包含权利要求 1-5 任一项所述的一种式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐。

9. 根据权利要求 1-5 任一项所述的一种式 I 所示的化合物、其立体异构体、消旋体、互变异构体、同位素标记物、前药或其药学上可接受的盐或权利要求 8 所述的药物组合物在制备预防和/或治疗 IRAK 介导的疾病或病症的药物中的用途。

10. 根据权利要求 9 所述的用途, 其特征在于, 所述疾病或病症选自肿瘤、痛风、系统性红斑狼疮、多发性硬化症、代谢综合症、动脉粥样硬化、心肌梗死、脓血症、炎症性肠病、哮喘、类风湿性关节炎和过敏等疾病。