

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018 年 5 月 31 日 (31.05.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/095426 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 471/04 (2006.01) **A61P 31/12** (2006.01)
A61K 31/395 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/113007

(22) 国际申请日: 2017 年 11 月 27 日 (27.11.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201611066071.7 2016 年 11 月 28 日 (28.11.2016) CN

(71) 申请人: 江苏恒瑞医药股份有限公司 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。上海恒瑞医药有限公司 (SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。

(72) 发明人: 张国宝 (ZHANG, Guobao); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。舒春风 (SHU, Chunfeng); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。胡齐悦 (HU, Qiyue); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。贺峰 (HE, Feng); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。陶维康 (TAO, Weikang); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司 (GE CHENG & CO., LTD.); 中国北京市东城区东长安街 1 号东方广场东三办公楼 19 层, Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,

CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

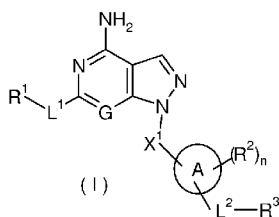
(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第 21 条 (3))。

(54) Title: PYRAZOLO-HETEROARYL DERIVATIVE, PREPARATION METHOD AND MEDICAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用



(57) Abstract: Disclosed are a pyrazolo-heteroaryl derivative, a preparation method and medical use thereof. In particular, the present invention relates to a new pyrazolo-heteroaryl derivative as shown in the general formula (I), a preparation method thereof and a pharmaceutical composition containing the derivative and the use thereof as a therapeutic agent, in particular as a TLR7 agonist, wherein each substituent in the general formula (I) is defined in the description.

(57) 摘要: 公开了吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用。具体而言, 涉及一种通式 (I) 所示的新的吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂, 特别是作为 TLR7 激动剂的用途, 其中通式 (I) 的各取代基与说明书中的定义相同

WO 2018/095426 A1

吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法及其在医药上的应用

5 技术领域

本发明涉及一种通式(I)所示的新的吡唑并杂芳基类衍生物、其制备方法以及含有该衍生物的药物组合物以及其作为治疗剂，特别是作为 TLR7 激动剂的用途。

背景技术

- 10 Toll 样受体(toll-like receptors; TLRs)是参与先天免疫的一类重要蛋白质分子。TLRs 是单体跨膜的非催化性受体，通常在岗哨细胞如巨噬细胞和树突状细胞中表达，可以识别由微生物产生的结构保守的分子。一旦这些微生物突破如皮肤或肠道粘膜的物理屏障，就会被 TLRs 识别，继而激活免疫细胞应答(Mahla, RS. 等人, Front Immunol. 4: 248 (2013))。免疫系统之所以具有广泛识别病原微生物的能力，
15 某种程度上是由于 Toll 样免疫受体的广泛存在。

- 在哺乳动物中至少有10种不同的TLRs。一些此类受体的配体和相应的信号级联放大已经被鉴定出。TLR7是TLRs(TLRs 3、7、8和9)亚组的成员，局限于专门检测非己核酸的细胞的内涵体隔室。TLR7在通过识别ssRNA抗病毒防御方面起关键作用(Diebold S.S. 等, Science, 2004 : 303, 1529-1531; 和Lund J.M. 等, PNAS, 2004 :
20 101, 5598-5603)。TLR7在人身上具有有限的表达分布，并主要通过B细胞和浆细胞样树突细胞(pDC)表达，而较低程度地通过单核细胞表达。浆细胞样DCs是淋巴衍生的树突细胞的唯一群体(0.2-0.8%的外周血单核细胞(PBMCs))，它是响应病毒感染而分泌高水平干扰素- α (IFN α)和干扰素- β (IFN β)的最初的I型干扰素生成细胞(Liu Y-J, Annu.Rev.Immunol. ,2005: 23, 275-306)。

- 25 很多疾病、障碍与 TLRs 的异常有关，比如黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌(basalcellcarcinoma)、肾细胞癌、骨髓瘤、变应性鼻炎、哮喘、慢性阻塞性肺炎(COPD)、溃疡性结肠炎、肝纤维化，HBV、黄病毒科(Flaviviridae)病毒、HCV、HPV、RSV、SARS、HIV 或流行性感冒的病毒感染等。因此运用 TLRs 的激动剂治疗相关疾病是很有前景的。

- 30 由于 TLR7 和 TLR8 高度同源，因此 TLR7 配体，在大多数情况下也是 TLR8 配体。TLR8 刺激主要诱导产生细胞因子如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和趋化因子。干扰素 α 是治疗慢性乙型肝炎或丙型肝炎的主要药物之一，而 TNF- α 是一种促炎细胞因子，过多分泌可能导致严重的副作用。所以对 TLR7 和 TLR8 的选择性对于开发 TLR7 激动剂用于治疗病毒感染性疾病至关重要。

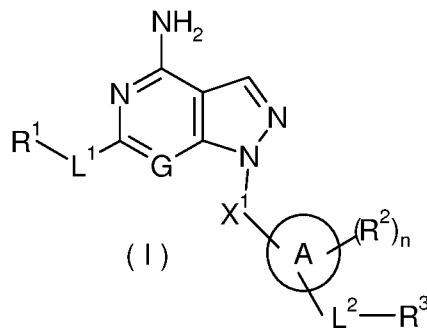
- 35 目前已有相关的 TLR7 激动剂专利申请，如 WO2005025583、WO2007093901、WO2008011406 、 WO2009091032 、 WO2010077613 、 WO2010133882 、

WO2011031965、WO2012080730。但是仍有必要继续研发安全的和治疗上更有效的 TLR7 激动剂。

5 本发明针对上述技术问题，提供一种起效浓度更低，选择性更好(对 TLR7 有选择性，对 TLR8 没有激活作用)，激活效果更明显的药物化合物，同时，其对 CYP 抑制作用弱，是更安全 and 更有效的 TLR7 激动剂。

发明内容

本发明的目的在于提供一种通式(I)所示的化合物：



10 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，

其中：

环 A 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

G 为 CH 或 N；

15 X^1 为亚烷基或 $S(O)_m$ ，其中所述的亚烷基任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基和杂环基中的一个或多个取代基所取代；

L^1 选自 $-NR^4-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)-OR^4$ 、 $-S(O)_m-$ 、 $-N(R^4)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^4)-$ 、 $-N(R^4)S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^4)-$ 和共价键；

20 R^1 选自烷基、烷氧基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，其中所述的烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代；

25 R^2 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代；

30

L^2 为亚烷基或共价键, 其中所述的亚烷基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代;

R^3 选自卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$, 其中所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^8$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-S(O)_mR^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 和 $-C(O)NR^9R^{10}$ 中的一个或多个取代基所取代;

R^4 选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

R^5 选自氢原子、烷基、卤代烷基、氨基、羟基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

R^6 和 R^7 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-C(O)R^8$ 、 $-S(O)_mR^8$ 和 $-C(O)NR^9R^{10}$; 其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代;

或者, R^6 和 R^7 与相连接的氮原子一起形成杂环基, 其中所述的杂环基除含有 1 个氮原子之外, 还任选含有 1~2 个相同或不同选自 N、O 和 S 的杂原子, 并且所述的杂环基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代;

R^8 选自氢原子、烷基、卤代烷基、氨基、羟基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

R^9 和 R^{10} 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、氨基、羟基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

n 为 0、1、2、3 或 4; 且

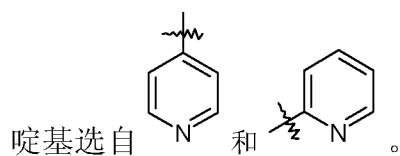
m 为 0、1 或 2。

在本发明一个优选的实施方案中, 所述的通式(I)所示的化合物, 其中 R^3 为杂环基, 所述的杂环基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

在本发明一个优选的实施方案中, 所述的通式(I)所示的化合物, 其中 R^3 为 $-NR^6R^7$, R^6 和 R^7 与相连接的氮原子一起形成杂环基, 其中所述的杂环基除含有 1 个氮原子之外, 还任选含有 1~2 个相同或不同选自 N、O 和 S 的杂原子, 并且所述的杂环基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

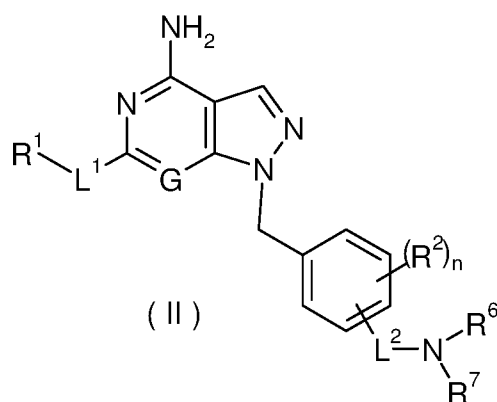
在本发明一个优选的实施方案中, 所述的通式(I)所示的化合物, 其中所述的环 A 选自苯基和吡啶基。

在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中所述吡



在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中所述的 X^1 为亚烷基。

- 5 在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物为通式(II)所示的化合物:



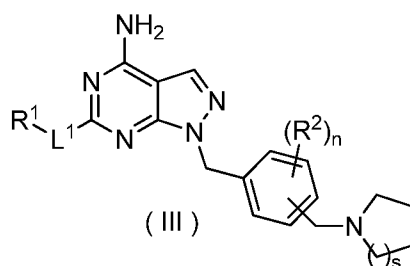
或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

- 10 其中 G 、 $L^1 \sim L^2$ 、 $R^1 \sim R^2$ 、 $R^6 \sim R^7$ 和 n 如通式(I)中所定义。

在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中所述的 G 为 N 。

在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中所述的 L^2 为亚烷基。

- 15 在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物为通式(III)所示的化合物:



或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

- 20 其中:

s 为 0、1 或 2;

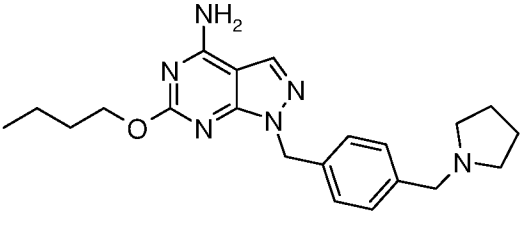
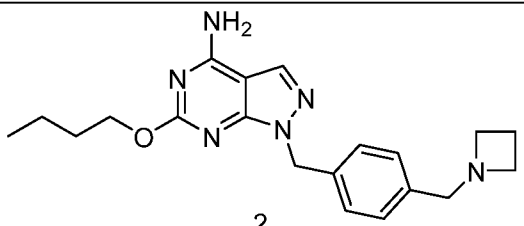
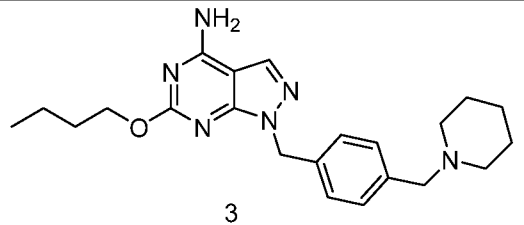
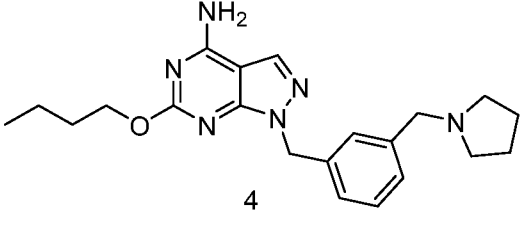
L^1 、 $R^1 \sim R^2$ 和 n 如通式(I)中所定义。

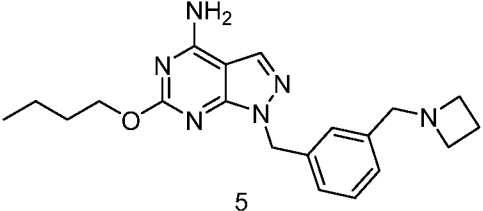
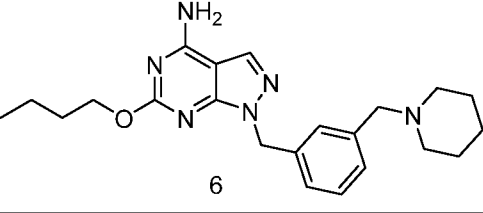
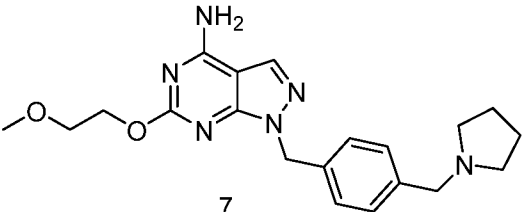
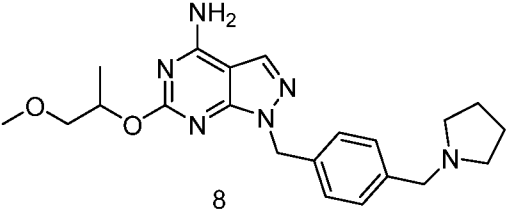
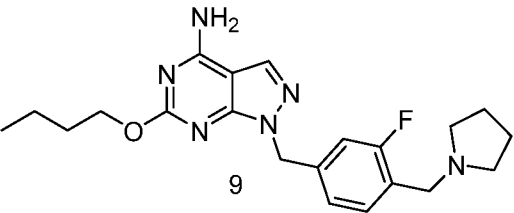
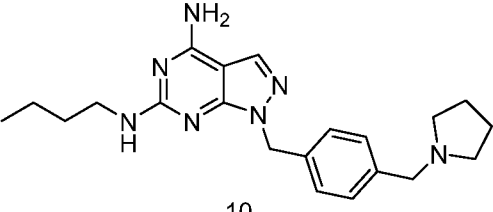
在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中所述的 L^1 选自-O-、-NR⁴-、-C(O)-和-C(O)N(R⁴)-, R⁴为氢原子或烷基。

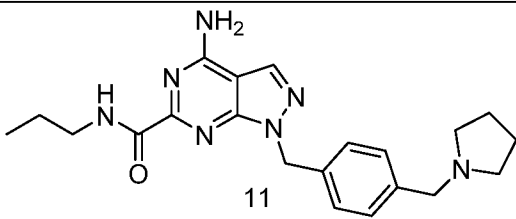
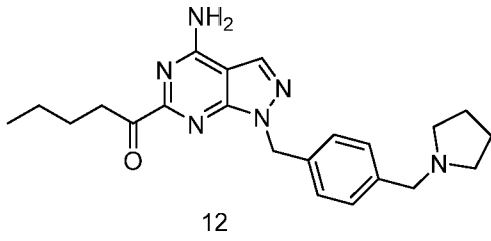
在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中 R¹为任选被一个或多个烷氧基取代的烷基。

- 5 在本发明一个优选的实施方案中,所述的通式(I)所示的化合物,其中 R²相同或不同,且各自独立地为氢原子或卤素。

本发明的典型化合物包括但不限于:

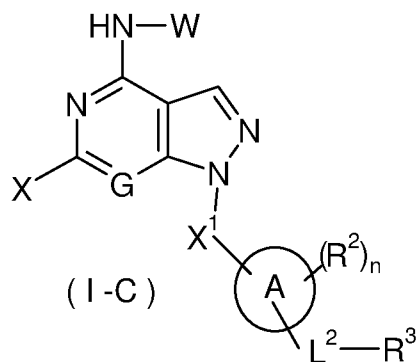
实施例 编号	化合物结构与命名
1	 1 6-丁氧基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺
2	 2 1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺
3	 3 6-丁氧基-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺
4	 4 6-丁氧基-1-(3-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺

5	 5 1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺
6	 6 6-丁氧基-1-(3-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺
7	 7 6-(2-甲氧基乙氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺
8	 8 6-((1-甲氧基丙-2-基)氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺
9	 9 6-丁氧基-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺
10	 10

	<i>N</i> ⁶ -丁基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4,6-二胺
11	 11
	4-氨基- <i>N</i> -丙基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-6-甲酰胺
12	 12
	1-(4-氨基-1-(4-吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-6-基)戊-1-酮

或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐。

本发明的另一方面涉及一种通式(I-C)所示的化合物：



或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，

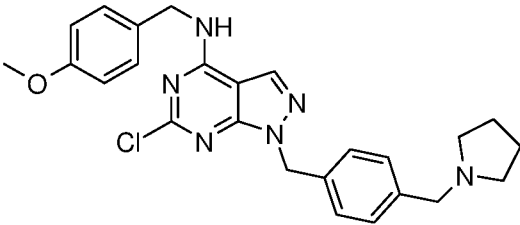
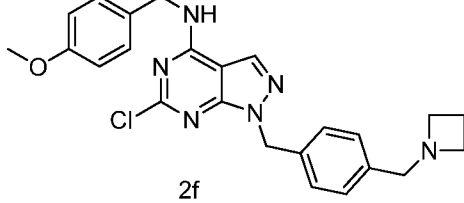
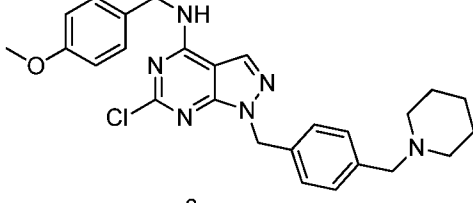
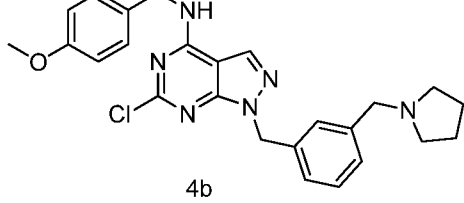
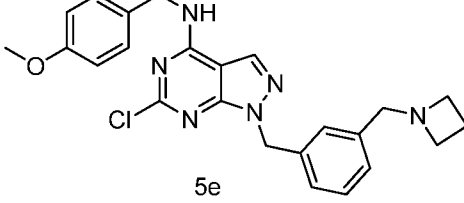
其中：

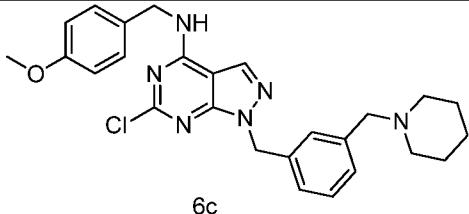
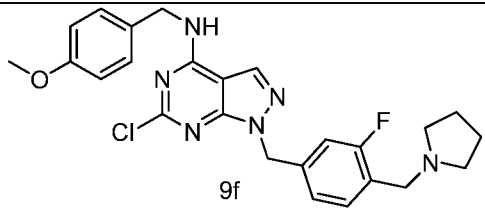
W 为氨基保护基，优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基；

X 为卤素，优选氯；

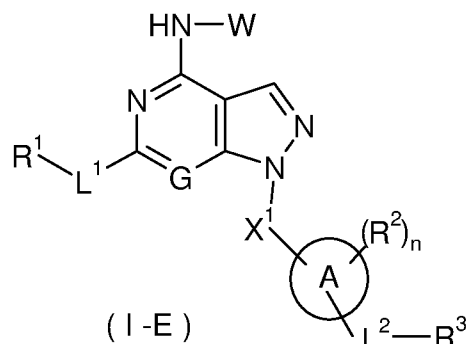
环 A、G、X¹、L²、R²~R³ 和 n 如通式(I)中所定义。

通式(I-C)所示的化合物包括，但不限于：

实施例 编号	化合物结构与命名
1e	 6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 1e
2f	 1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 2f
3c	 6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 3c
4b	 6-氯-N-(3-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 4b
5e	 1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 5e

6c	 6c
	6-氯-N-(3-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 6c
9f	 9f
	6-氯-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-N-(4-甲氧基苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 9f

本发明的另一方面涉及一种通式(I-E)所示的化合物:

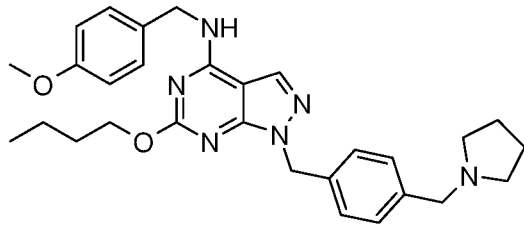


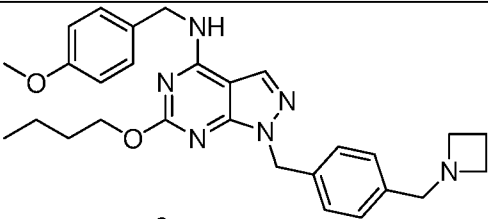
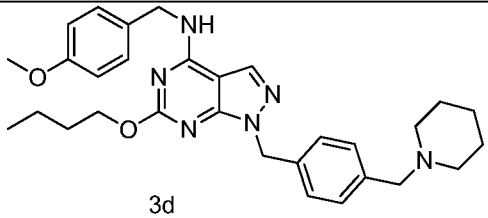
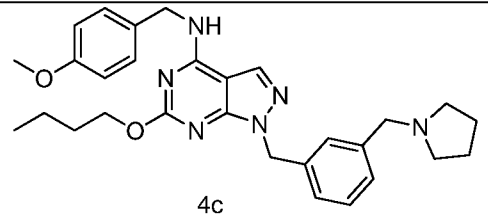
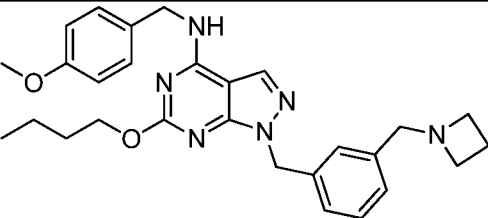
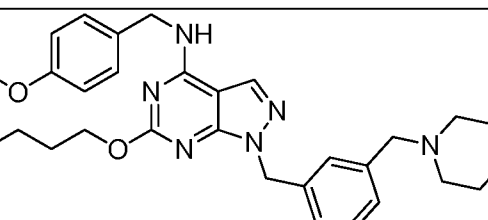
或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

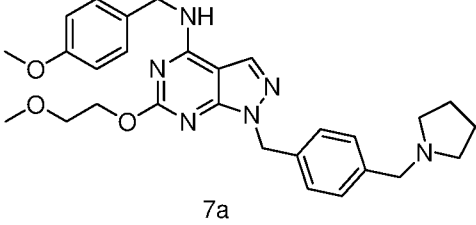
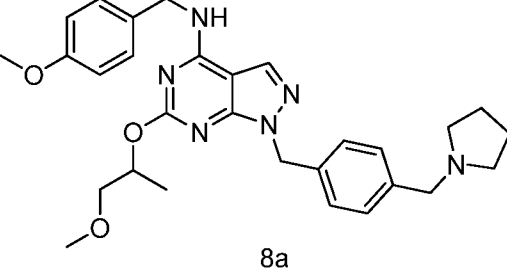
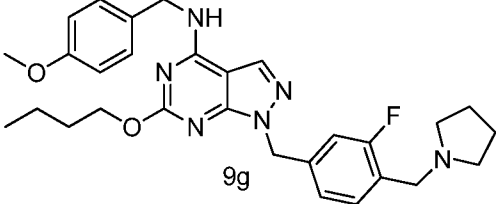
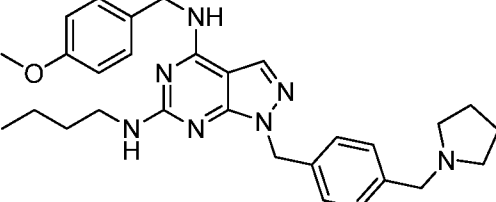
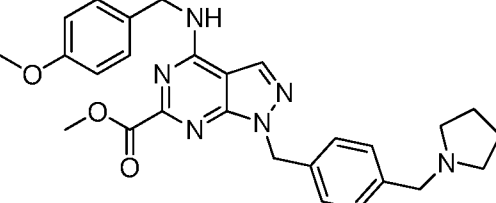
5 其中:

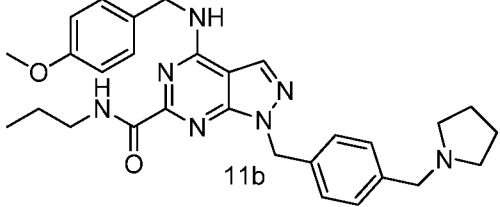
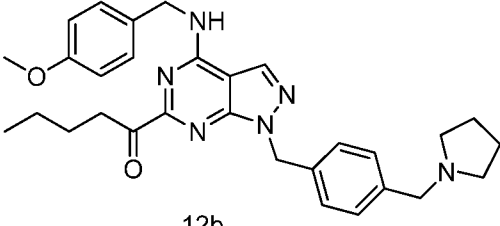
W 为氨基保护基, 优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基; 环 A、G、X¹、L¹~L²、R¹~R³ 和 n 如通式(I)中所定义。

通式(I-E)所示的化合物包括, 但不限于:

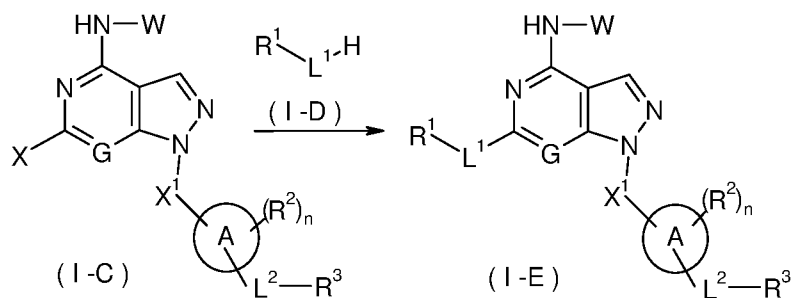
实施例 编号	化合物结构与命名
1f	 1f
	6-丁氧基-N-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑

	并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 1f
2g	 2g
	1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基- <i>N</i> -(4-甲氧基苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 2g
3d	 3d
	6-丁氧基- <i>N</i> -(4-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 3d
4c	 4c
	6-丁氧基- <i>N</i> -(3-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 4c
5f	 5f
	1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基- <i>N</i> -(4-甲氧基苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 5f
6d	 6d
	6-丁氧基- <i>N</i> -(3-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1 <i>H</i> -吡唑并[3,4- <i>d</i>]嘧啶-4-胺 6d

7a	 7a <i>N</i>-(4-甲氧基苄基)-6-(2-甲氧基乙氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 7a
8a	 8a <i>N</i>-(4-甲氧基苄基)-6-((1-甲氧基丙-2-基)氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 8a
9g	 9g 6-丁氧基-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-<i>N</i>-(4-甲氧基苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4-胺 9g
10a	 10a <i>N</i>⁶-丁基-<i>N</i>⁴-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-4,6-二胺 10a
11a	 11a 4-((4-甲氧基苄基)氨基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-6-羧酸甲酯 11a

11b	 4-((4-甲氧基苄基)氨基)-<i>N</i>-丙基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-6-甲酰胺 11b
12b	 1-(4-((4-甲氧基苄基)氨基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1<i>H</i>-吡唑并[3,4-<i>d</i>]嘧啶-6-基)戊-1-酮 12b

本发明的另一方面涉及一种制备通式(I-E)所示的化合物的方法, 该方法包括:



- 5 通式(I-C)的化合物和通式(I-D)的化合物在碱性条件下, 发生亲核取代反应得到通式(I-E)的化合物;

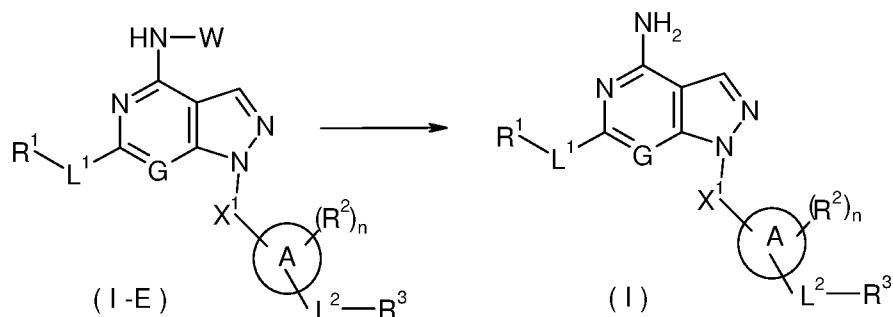
其中:

W 为氨基保护基, 优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;

X 为卤素, 优选氯;

- 10 环 A、G、L¹~L²、X¹、R¹~R³ 和 n 如通式(I-E)中所定义。

本发明的另一方面涉及一种制备通式(I)所示的化合物的方法, 该方法包括:

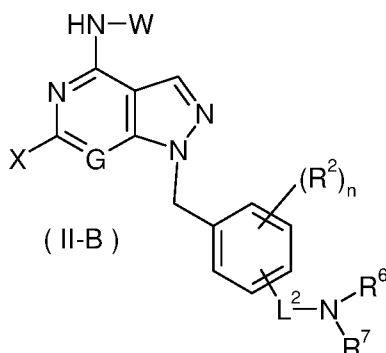


通式(I-E)的化合物在酸性条件下脱去保护基,得到通式(I)的化合物;

其中:

W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;
环 A、G、L¹~L²、X¹、R¹~R³ 和 n 如通式(I)中所定义。

5 本发明的另一方面涉及一种通式(II-B)所示的化合物:



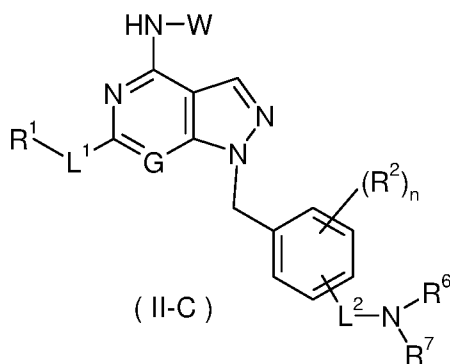
或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

其中:

10 W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;
X 为卤素,优选氯;

G、L²、R²、R⁶~R⁷ 和 n 如通式(II)中所定义。

本发明的另一方面涉及一种通式(II-C)所示的化合物:

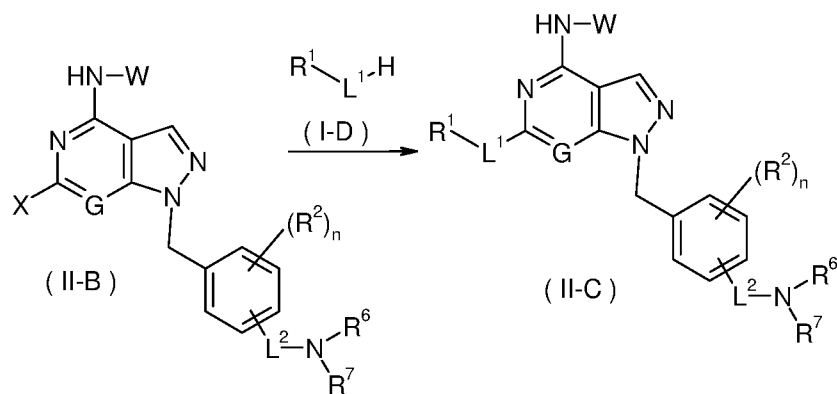


15 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

其中:

W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;
G、L¹~L²、R¹~R²、R⁶~R⁷ 和 n 如通式(II)中所定义。

20 本发明的另一方面涉及一种制备通式(II-C)所示的化合物的方法,该方法包括:



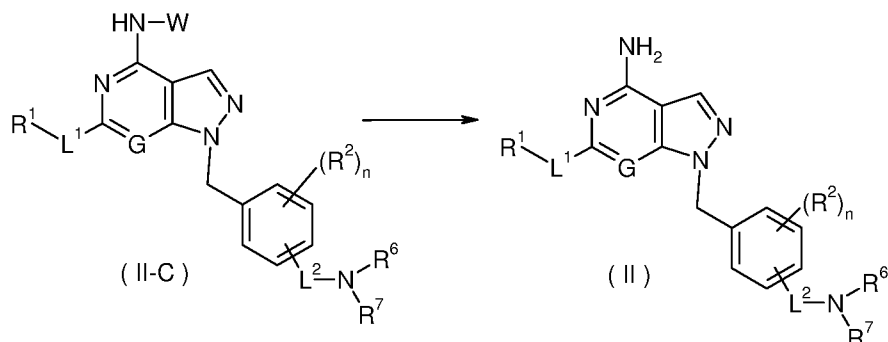
通式(II-B)的化合物和通式(I-D)的化合物在碱性条件下,发生亲核取代反应得到通式(II-C)的化合物;

其中:

- 5 W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;
X 为卤素,优选氯;

G、L¹~L²、R¹~R²、R⁶~R⁷和 n 如通式(II)中所定义。

本发明的另一方面涉及一种制备通式(II)所示的化合物的方法,该方法包括:

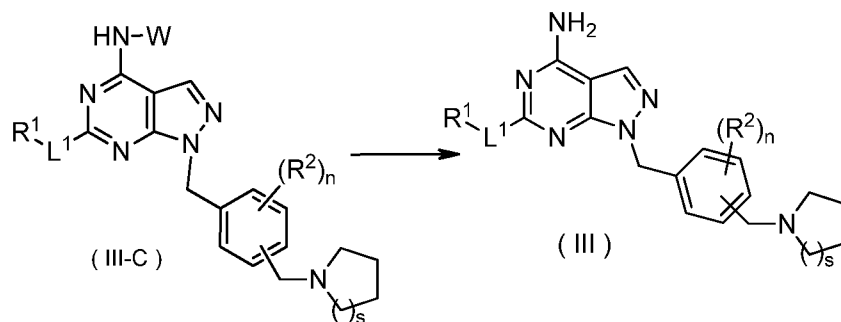


- 10 通式(II-C)的化合物在酸性条件下脱去保护基,得到通式(II)的化合物;

其中:

W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;
G、L¹~L²、R¹~R²、R⁶~R⁷和 n 如通式(II)中所定义。

本发明的另一方面涉及一种制备通式(III)所示的化合物的方法,该方法包括:



- 15 通式(III-C)的化合物在酸性条件下脱去保护基,得到通式(III)的化合物;

其中:

W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;

L^1 、 $R^1 \sim R^2$ 、s 和 n 如通式(III)中所定义。

本发明的另一方面涉及一种药物组合物，所述药物组合物含有治疗有效量的根据通式(I)所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本发明进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐，或包含其的药物组合物在制备用于激动 TLR7 的药物中用途。

本发明进一步涉及通式(I)所示化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用的盐或包含其的药物组合物，在制备用于治疗由病毒引起的感染的药物中的用途，所述病毒选自：登革热病毒、黄热病毒、西尼罗病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、昆津病毒、墨累山谷脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、鄂木斯克出血热病毒、牛病毒性腹泻病毒、济卡病毒、HIV、HBV、HCV、HPV、RSV、SARS和流感病毒。

本发明进一步涉及通式(I)所示化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用的盐或包含其的药物组合物，在制备用于治疗或预防黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌、肾细胞癌、骨髓瘤、变应性鼻炎、哮喘、COPD、溃疡性结肠炎和肝纤维化的药物中的用途。

本发明进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐，或包含其的药物组合物，其用作药物。

本发明进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐，或包含其的药物组合物，其用于激动 TLR7。

本发明进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐，或包含其的药物组合物，其用于治疗由病毒引起的感染，所述病毒选自：登革热病毒、黄热病毒、西尼罗病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、昆津病毒、墨累山谷脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、鄂木斯克出血热病毒、牛病毒性腹泻病毒、济卡病毒、HIV、HBV、HCV、HPV、RSV、SARS 和流感病毒。

本发明进一步涉及通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐，或包含其的药物组合物，其用于治疗或预防黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌、肾细胞癌、骨髓瘤、变应性鼻炎、哮喘、COPD、溃疡性结肠炎和肝纤维化。

本发明进一步涉及一种激动 TLR7 的方法,该方法包括向需要其的患者施用治疗有效剂量的本发明的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物。

5 本发明进一步涉及一种治疗由病毒引起的感染的方法,其包括给予所需患者治疗有效量的通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物,其中所述的病毒选自:登革热病毒、黄热病毒、西尼罗病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、昆津病毒、墨累山谷脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、鄂木斯克出血热
10 病毒、牛病毒性腹泻病毒、济卡病毒、HIV、HBV、HCV、HPV、RSV、SARS 和流感病毒。

本发明进一步涉及一种治疗或预防黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌、肾细胞癌、骨髓瘤、变应性鼻炎、哮喘、COPD、溃疡性结肠炎和肝纤维化的方法,其包括给予所需患者治疗有效量的通式(I)所示的化合物或其互变异
15 构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用盐或包含其的药物组合物。

含活性成分的药物组合物可以是适用于口服的形式,例如片剂、糖锭剂、锭剂、水或油混悬液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊,或糖浆剂或酏剂。可按照本领域任何已知制备药用组合物的方法制备口服组合物,此类组合物可含
20 有一种或多种选自以下的成分:甜味剂、矫味剂、着色剂和防腐剂,以提供悦目和可口的药用制剂。片剂含有活性成分和用于混合的适宜制备片剂的无毒的可药用的赋形剂。

水悬浮液含有活性物质和用于混合的适宜制备水悬浮液的赋形剂。水混悬液也可以含有一种或多种防腐剂例如尼泊金乙酯或尼泊金正丙酯、一种或多种着色
25 剂、一种或多种矫味剂和一种或多种甜味剂。

油混悬液可通过使活性成分悬浮于植物油中配制而成。油悬浮液可含有增稠剂。可加入上述的甜味剂和矫味剂,以提供可口的制剂。

通过加入水可使适用于制备水混悬液的可分散粉末和颗粒提供活性成分和用于混合的分散剂或湿润剂、悬浮剂或一种或多种防腐剂。适宜的分散剂或湿润剂
30 和悬浮剂可说明上述的例子。也可加入其他赋形剂例如甜味剂、矫味剂和着色剂。通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸保存这些组合物。

本发明的药物组合物也可以是水包油乳剂的形式。

药物组合物可以是无菌注射水溶液形式。可以使用的可接受的溶媒或溶剂有水、林格氏液和等渗氯化钠溶液。无菌注射制剂可以是其中活性成分溶于油相的
35 无菌注射水包油微乳。例如将活性成分溶于大豆油和卵磷脂的混合物中。然后将油溶液加入水和甘油的混合物中处理形成微乳。可通过局部大量注射,将注射液

或微乳注入患者的血流中。或者，最好按可保持本发明化合物恒定循环浓度的方式给予溶液和微乳。为保持这种恒定浓度，可使用连续静脉内递药装置。这种装置的实例是 Deltec CADD-PLUS. TM. 5400 型静脉注射泵。

5 药物组合物可以是用于肌内和皮下给药的无菌注射水或油混悬液的形式。可按已知技术，用上述那些适宜的分散剂或湿润剂和悬浮剂配制该混悬液。无菌注射制剂也可以是在肠胃外可接受的无毒稀释剂或溶剂中制备的无菌注射溶液或混悬液。此外，可方便地用无菌固定油作为溶剂或悬浮介质。

可按用于直肠给药的栓剂形式给予本发明化合物。可通过将药物与在普通温度下为固体但在直肠中为液体，因而在直肠中会溶化而释放药物的适宜的无刺激性赋形剂混合来制备这些药物组合物。此类物质包括可可脂、甘油明胶、氢化植物油、各种分子量的聚乙二醇和聚乙二醇的脂肪酸酯的混合物。

如本领域技术人员所熟知的，药物的给药剂量依赖于多种因素，包括但并非限定于以下因素：所用具体化合物的活性、患者的年龄、患者的体重、患者的健康状况、患者的行被、患者的饮食、给药时间、给药方式、排泄的速率、药物的组合等；另外，最佳的治疗方式如治疗的模式、通式化合物(I)的日用量或可药用的盐的种类可以根据传统的治疗方案来验证。

发明的详细说明

除非有相反陈述，在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，优选含有 1 至 12 个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的低级烷基，非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取

代基可以在任何可使用的连接点上被取代, 所述取代基优选独立地任选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代。

术语“亚烷基”指饱和的直链或支链脂肪族烃基, 其具有 2 个从母体烷的相同碳原子或两个不同的碳原子上除去两个氢原子所衍生的残基, 其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团, 优选含有 1 至 12 个碳原子, 更优选含有 1 至 6 个碳原子的亚烷基。亚烷基的非限制性实例包括但不限于亚甲基($-CH_2-$)、1,1-亚乙基($-CH(CH_3)-$)、1,2-亚乙基($-CH_2CH_2-$)、1,1-亚丙基($-CH(CH_2CH_3)-$)、1,2-亚丙基($-CH_2CH(CH_3)-$)、1,3-亚丙基($-CH_2CH_2CH_2-$)、1,4-亚丁基($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$)等。亚烷基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基可以在任何可使用的连接点上被取代, 所述取代基优选独立地任选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代。

术语“烯基”指烯烃分子中少一个或几个氢原子而成的烃基。烯基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代;

术语“炔基”指分子中含有碳碳三键的碳氢化合物。炔基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地选自氢原子、烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代。

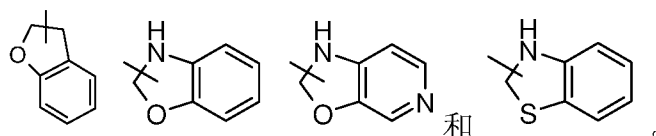
术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基, 环烷基环包含 3 至 20 个碳原子, 优选包含 3 至 12 个碳原子, 优选包含 3 至 10 个碳原子, 更优选包含 3 至 6 个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等; 多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。

术语“氨基保护基”是为了使分子其它部位进行反应时氨基保持不变, 用易于脱去的基团对氨基进行保护。非限制性实施例包括叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基和对甲氧苄基等。这些基团可任选地被选自卤素、烷氧基或硝基中的 1-3 个取代基所取代。所述氨基保护基优选为对甲氧苄基。

术语“杂环基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基, 其包含 3 至 20

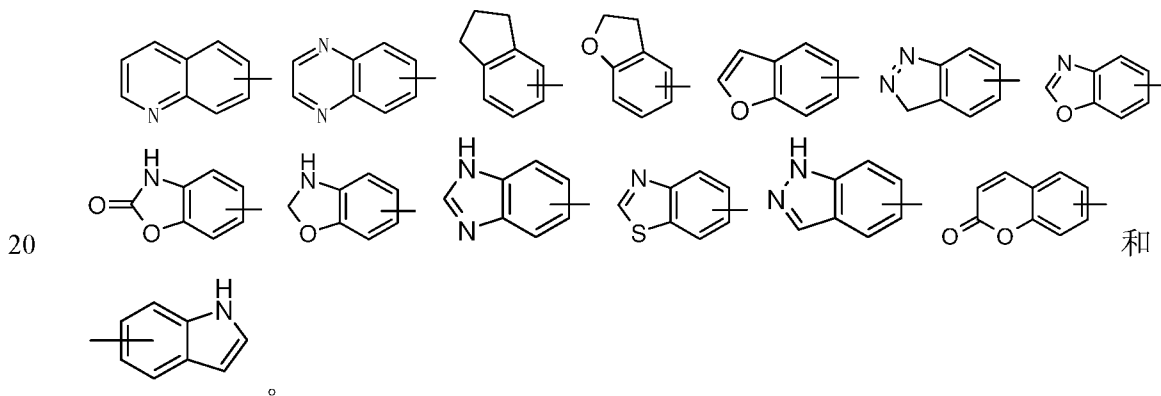
- 个环原子, 其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 $S(O)_m$ (其中 m 是整数 0 至 2) 的杂原子, 但不包括 -O-O-、-O-S-或-S-S-的环部分, 其余环原子为碳。优选包含 3 至 12 个环原子, 其中 1~4 个是杂原子; 更优选包含 3 至 10 个环原子, 其中 1-4 是杂原子; 更优选包含 5 至 6 个环原子; 其中 1-3 个是杂原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、四氢吡喃基、1,2,3,6-四氢吡啶基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。

所述杂环基环可以稠合于芳基、杂芳基或环烷基环上, 其中与母体结构连接在一起的环为杂环基, 其非限制性实例包括:



- 10 杂环基可以是任选取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地任选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代。

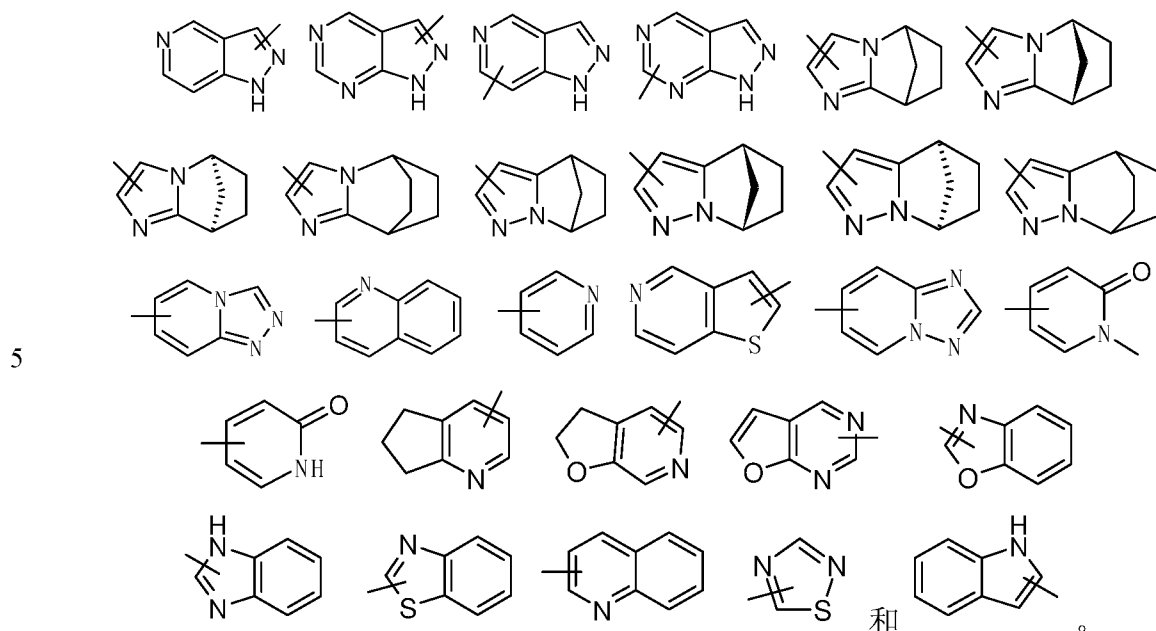
- 15 术语“芳基”指具有共轭的 π 电子体系的 6 至 14 元全碳单环或稠合多环(也就是共享毗邻碳原子对的环)基团, 优选为 6 至 10 元, 例如苯基和萘基。所述芳基环可以稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上, 其中与母体结构连接在一起的环为芳基环, 其非限制性实例包括:



- 芳基可以是取代的或非取代的, 当被取代时, 取代基优选为一个或多个以下基团, 其独立地任选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代。

术语“杂芳基”指包含 1 至 4 个杂原子、5 至 14 个环原子的杂芳族体系, 其中杂原子选自氧、硫和氮。杂芳基优选为 5 至 10 元, 更优选为 5 元或 6 元, 例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、咪唑

基、吡唑基、四唑基等。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环，其非限制性实例包括：



杂芳基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、硫醇、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代。

术语“烷氧基”指-O-(烷基)和-O-(非取代的环烷基)，其中烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

术语“卤代烷基”指烷基被一个或多个卤素取代，其中烷基如上所定义。术语“羟基”指-OH基团。

术语“羟烷基”指被羟基取代的烷基，其中烷基如上所定义。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氨基”指-NH₂。

术语“氰基”指-CN。

术语“硝基”指-NO₂。

术语“氧代基”指=O。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述的事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生地场合。例如，“任选被烷基取代的杂环基团”意味着烷基可以但不必须存在，该说明包括杂环基团被烷基取代的情形和杂环基团不被

烷基取代的情形。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

“可药用盐”是指本发明化合物的盐，这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性，且具有应有的生物活性。

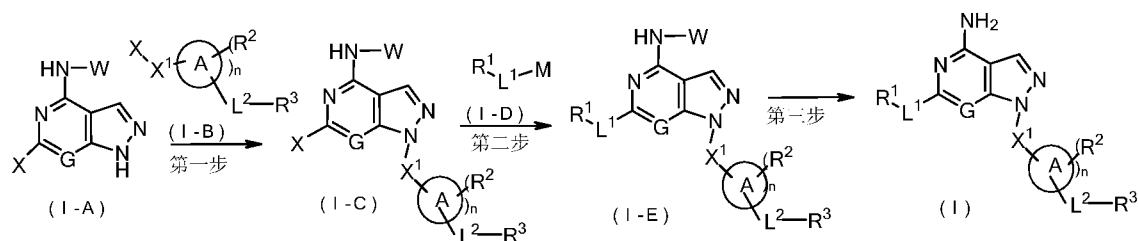
m 和 R⁵~R⁷ 如通式(I)化合物中所定义。

本发明化合物的合成方法

为了完成本发明的目的，本发明采用如下技术方案：

方案一

本发明通式(I)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐的制备方法，包括以下步骤：



第一步，通式(I-A)的化合物和通式(I-B)的化合物在碱性条件下，发生亲核取代反应得到通式(I-C)的化合物；

第二步，通式(I-C)的化合物和通式(I-D)的化合物在碱性条件下，发生亲核取代反应得到通式(I-E)的化合物；

第三步，通式(I-E)的化合物在酸性条件下脱去保护基，得到通式(I)的化合物；

其中：

M 为氢原子或金属离子，其中所述的金属离子优选为钠离子；

W 为氨基保护基，优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基；

X 为卤素，优选氯；

环 A、G、L¹~L²、X¹、R¹~R³ 和 n 如通式(I)中所定义。

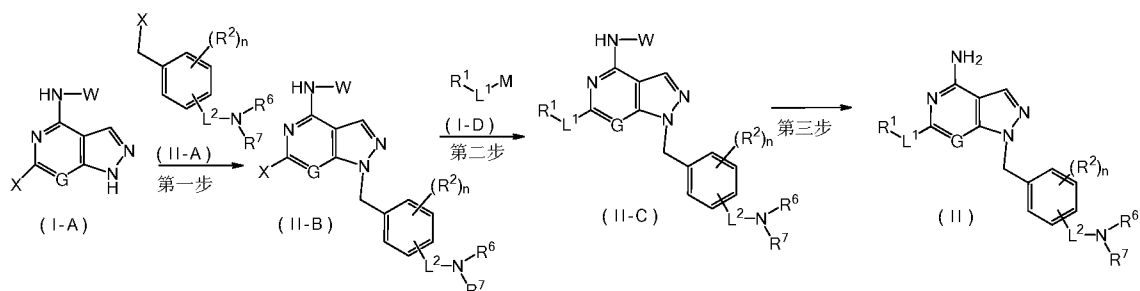
提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述的有机碱类包括但不限于三乙胺、*N,N*-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、醋酸钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾和正丁醇钠,所述的无机碱类包括但不限于氢化钠、磷酸钾、碳酸钠、碳酸钾、醋酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化锂。

5 提供酸性条件的试剂包括但不限于氯化氢、氯化氢的 1,4-二氧六环溶液、三氟乙酸、甲酸、乙酸、盐酸、硫酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、对苯甲磺酸、Me₃SiCl、TMSOTf。

上述反应优选在溶剂中进行,所用溶剂包括但不限于:醋酸、甲醇、乙醇、正丁醇、甲苯、四氢呋喃、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正己烷、二甲基亚砜、
10 1,4-二氧六环、水或 *N,N*-二甲基甲酰胺。

方案二

本发明通式(II)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式,或其可药用的盐的制备方法,包括以下步骤:



15

第一步,通式(I-A)的化合物和通式(II-A)的化合物在碱性条件下,发生亲核取代反应得到通式(II-B)的化合物;

第二步,通式(II-B)的化合物和通式(I-D)的化合物在碱性条件下,发生亲核取代反应得到通式(II-C)的化合物;

20 第三步,通式(II-C)的化合物在酸性条件下脱去保护基,得到通式(II)的化合物;

其中:

M 为氢原子或金属离子,其中所述的金属离子优选为钠离子;

W 为氨基保护基,优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基;

25 X 为卤素,优选氯;

G、L¹~L²、R¹~R²、R⁶~R⁷和 n 如通式(II)中所定义。

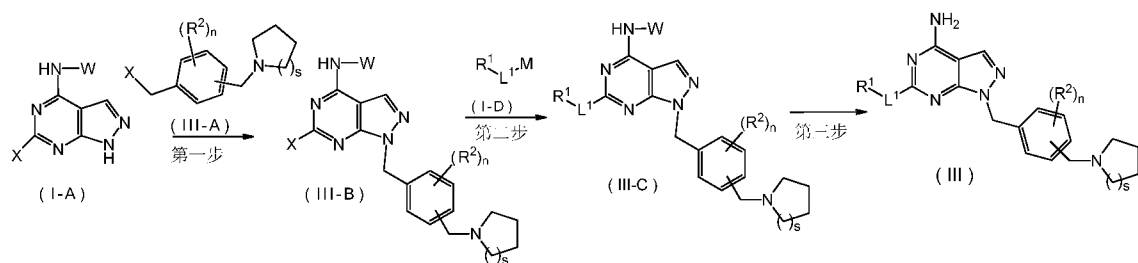
提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类,所述的有机碱类包括但不限于三乙胺、*N,N*-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、醋酸钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾和正丁醇钠,所述的无机碱类包括但不限于氢化钠、
30 磷酸钾、碳酸钠、碳酸钾、醋酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化锂。

提供酸性条件的试剂包括但不限于氯化氢、氯化氢的 1,4-二氧六环溶液、三氟乙酸、甲酸、乙酸、盐酸、硫酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、对苯甲磺酸、 Me_3SiCl 、TMSOTf。

上述反应优选在溶剂中进行，所用溶剂包括但不限于：醋酸、甲醇、乙醇、正丁醇、甲苯、四氢呋喃、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正己烷、二甲基亚砜、1,4-二氧六环、水或 N,N-二甲基甲酰胺。

方案三

本发明通式(III)所示的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式，或其可药用的盐的制备方法，包括以下步骤：



第一步，通式(I-A)的化合物和通式(III-A)的化合物在碱性条件下，发生亲核取代反应得到通式(III-B)的化合物；

第二步，通式(III-B)的化合物和通式(I-D)的化合物在碱性条件下，发生亲核取代反应得到通式(III-C)的化合物；

第三步，通式(III-C)的化合物在酸性条件下脱去保护基，得到通式(III)的化合物；

其中：

M 为氢原子或金属离子，其中所述的金属离子优选为钠离子；

W 为氨基保护基，优选为叔丁氧羰基、乙酰基、苄基、烯丙基或对甲氧苄基；

X 为卤素，优选氯；

L¹、R¹~R²、s 和 n 如通式(III)中所定义。

提供碱性条件的试剂包括有机碱和无机碱类，所述的有机碱类包括但不限于三乙胺、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、双三甲基硅基胺基锂、醋酸钾、叔丁醇钠、叔丁醇钾和正丁醇钠，所述的无机碱类包括但不限于氢氧化钠、磷酸钾、碳酸钠、碳酸钾、醋酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化锂。

提供酸性条件的试剂包括但不限于氯化氢、氯化氢的 1,4-二氧六环溶液、三氟乙酸、甲酸、乙酸、盐酸、硫酸、甲磺酸、硝酸、磷酸、对苯甲磺酸、 Me_3SiCl 、TMSOTf。

上述反应优选在溶剂中进行，所用溶剂包括但不限于：醋酸、甲醇、乙醇、正丁醇、甲苯、四氢呋喃、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正己烷、二甲基亚砜、1,4-二氧六环、水或 N,N-二甲基甲酰胺。

具体实施方式

以下结合实施例用于进一步描述本发明，但这些实施例并非限制着本发明的范围。

5

实施例

化合物的结构是通过核磁共振(NMR)或/和质谱(MS)来确定的。NMR 位移(δ)以 10^{-6} (ppm)的单位给出。NMR 的测定是用 Bruker AVANCE-400 核磁仪，测定溶剂为氘代二甲基亚砷(DMSO- d_6)，氘代氯仿($CDCl_3$)，氘代甲醇(CD_3OD)，内标为四甲基硅烷(TMS)。

10 MS 的测定用 FINNIGAN LCQAd (ESI)质谱仪(生产商: Thermo, 型号: Finnigan LCQ advantage MAX)。

高效液相色谱法 (HPLC) 分析使用 Agilent HPLC 1200DAD、Agilent HPLC 1200VWD 和 Waters HPLC e2695-2489 高压液相色谱仪。

手性 HPLC 分析测定使用 Agilent 1260 DAD 高效液相色谱仪。

15 高效液相制备使用 Waters 2767、Waters 2767-SQ Detecor2、Shimadzu LC-20AP 和 Gilson-281 制备型色谱仪。

手性制备使用 Shimadzu LC-20AP 制备型色谱仪。

CombiFlash 快速制备仪使用 Combiflash Rf200 (TELEDYNE ISCO)。

20 薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板，薄层色谱法 (TLC)使用的硅胶板采用的规格是 0.15 mm~0.2 mm，薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

硅胶柱色谱法一般使用烟台黄海硅胶 200~300 目硅胶为载体。

激酶平均抑制率及 IC_{50} 值的测定用 NovoStar 酶标仪(德国 BMG 公司)。

25 本发明的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成，或可购买自 ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技(Accela ChemBio Inc)、达瑞化学品等公司。

实施例中无特殊说明，反应能够均在氩气氛或氮气氛下进行。

氩气氛或氮气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气或氮气气球。

氢气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氢气气球。

30 加压氢化反应使用 Parr 3916EKX 型氢化仪和清蓝 QL-500 型氢气发生器或 HC2-SS 型氢化仪。

氢化反应通常抽真空，充入氢气，反复操作 3 次。

微波反应使用 CEM Discover-S 908860 型微波反应器。

实施例中无特殊说明，溶液是指水溶液。

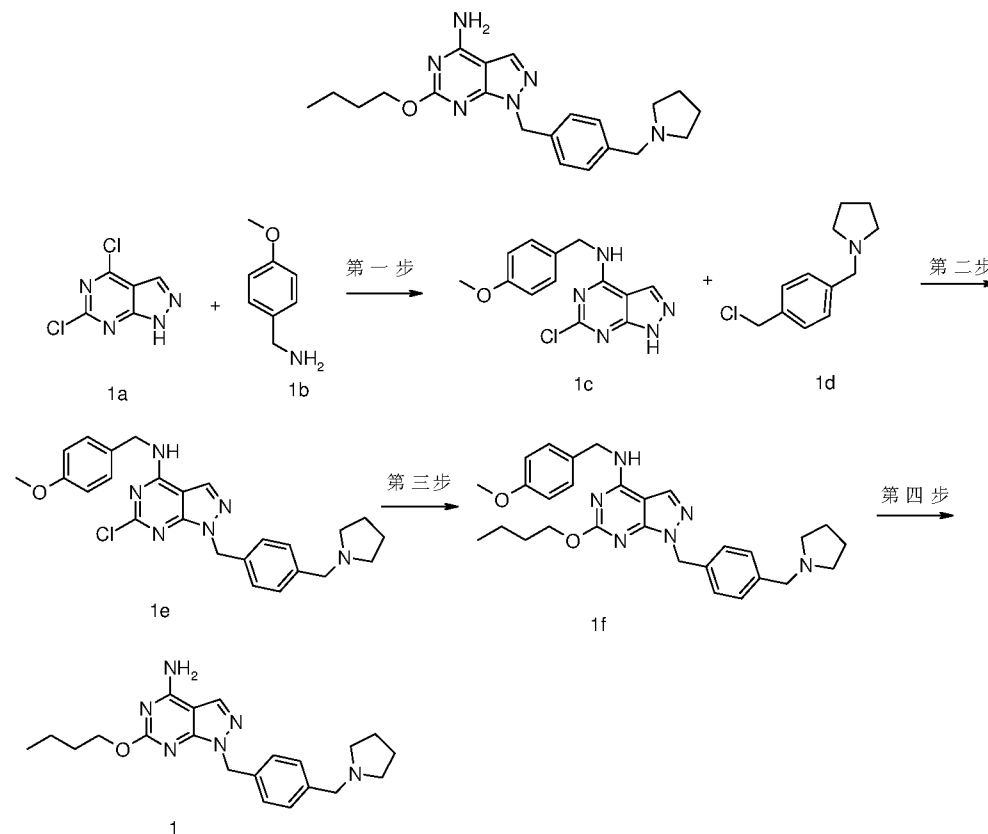
35 实施例中无特殊说明，反应的温度为室温，为 $20^{\circ}C \sim 30^{\circ}C$ 。

实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法(TLC)，反应所使用的展开剂，纯

化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂体系包括：**A**：二氯甲烷/甲醇体系，**B**：正己烷/乙酸乙酯体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节，也可以加入少量的三乙胺和醋酸等碱性或酸性试剂进行调节。

实施例 1

5 6-丁氧基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺



第一步

6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **1c**

10 将 4,6-二氯-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶 **1a** (120 mg, 0.63 mmol)、4-甲氧基苄胺 **1b** (87.1 mg, 0.63 mmol)和三乙胺(64.13 mg, 0.63 mmol)溶解于 2 mL 四氢呋喃溶液中，室温搅拌 1 小时。停止反应，减压蒸馏，残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化，得到标题化合物 **1c** (140 mg)，产率：76.1 %。

MS m/z (ESI): 290.2 [M+1]

15 第二步

6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **1e**

将化合物 **1c** (140 mg, 0.48 mmol)、1-(4-(氯甲基)苄基)吡咯烷 **1d** (101.34 mg, 0.48 mmol，采用专利申请“WO2002012224”公开的方法制备而得)和碳酸钾(66.79 mg, 0.48 mmol)溶解于 2 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中，室温搅拌 16 小时，停止反应。
20 减压浓缩，残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化，得到标题化合物 **1e** (70 mg)，产率：31.3 %。

MS m/z (ESI): 463.2 [M+1]

第三步

6-丁氧基-*N*-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **1f**

依次将化合物 **1e** (70 mg, 0.15 mmol) 和正丁醇钠 (0.3 mL, 0.60 mmol) 和 1 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160°C, 反应 1.5 小时。停止反应, 减压蒸馏, 残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化, 得到标题化合物 **1f** (40 mg), 产率: 52.8 %。

MS *m/z* (ESI): 501.2 [M+1]

第四步

6-丁氧基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **1**

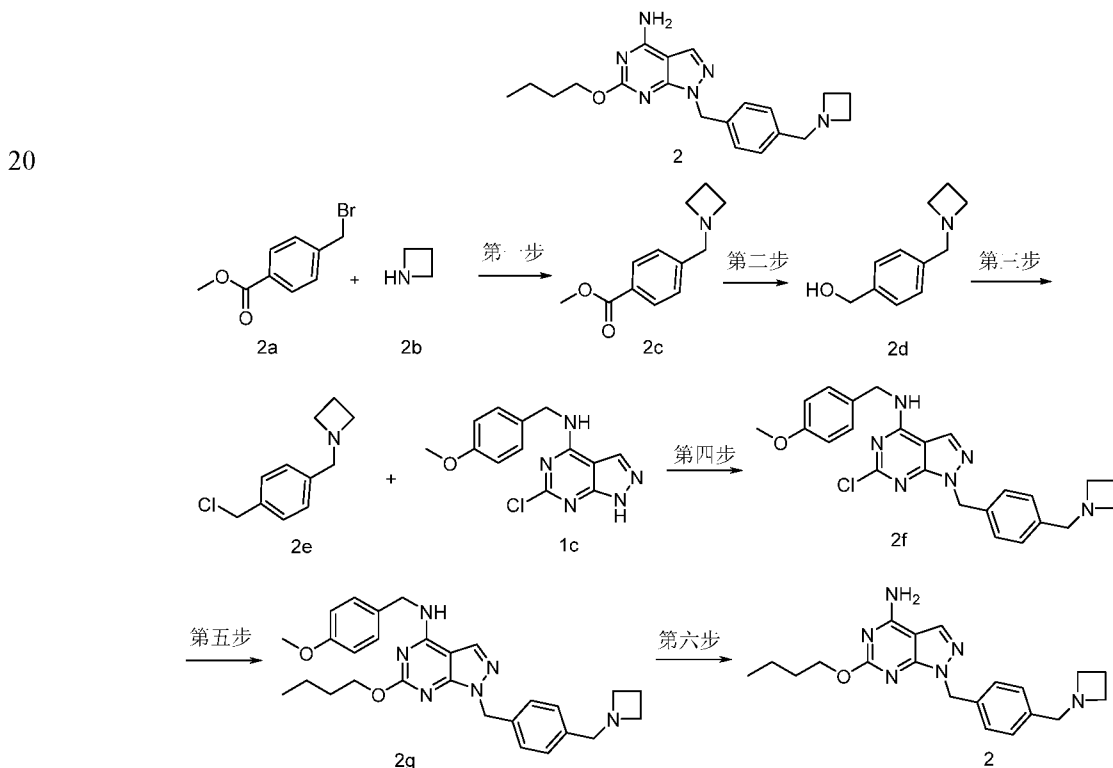
将化合物 **1f** (40 mg, 0.08 mmol) 和 2 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至回流, 反应 24 小时。停止反应, 减压浓缩, 加入 1 mL 氨的甲醇溶液, 残余物用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化, 得到标题化合物 **1** (15 mg), 产率: 46.0 %。

MS *m/z* (ESI): 381.2 [M+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.98 (s, 1H), 7.41 (d, 2H), 7.36 (d, 2H), 5.48 (s, 2H), 4.39 (t, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.12-3.08 (m, 4H), 2.02-1.98 (m, 4H), 1.80-1.76 (m, 2H), 1.55-1.49 (m, 2H), 1.01 (t, 3H)。

实施例 2

1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **2**



第一步

4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苯甲酸甲酯 **2c**

将 4-溴甲基苯甲酸甲酯 **2a** (1.0 g, 4.37mmol)、氮杂环丁烷 **2b** (299 mg, 5.24

mmol)和三乙胺(529 mg, 5.24 mmol)溶解于 10 mL 四氢呋喃中, 室温搅拌 16 小时。反应液中加入水(100 mL), 用乙酸乙酯(100 mL)萃取, 有机相用饱和氯化钠溶液(100 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **2c** (880 mg), 产物不经纯化直接下一步反应。

5 MS m/z (ESI): 206.1 [M+1]

第二步

4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苯甲醇 **2d**

将粗品化合物 **2c** (880 mg, 0.33 mmol)溶于 10 mL 乙醚, 0℃下加入氢化铝锂(326 mg, 8.57 mmol), 0℃反应 2 小时。依次加入 0.3 mL 水、0.3 mL 15% 氢氧化钠溶液和 0.9 mL 水淬灭反应, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **2d** (700 mg), 产物不经纯化直接投下一步反应。

MS m/z (ESI): 178.3 [M+1]

第三步

1-(4-(氯甲基)苄基)氮杂环丁烷 **2e**

15 将粗品化合物 **2d** (700 mg, 3.95 mmol)溶于 10 mL 二氯甲烷, 0℃下加入氯化亚砷(0.58 mL, 7.90 mmol), 室温反应 3 小时。反应液减压浓缩, 所得残余物中加入饱和碳酸钠溶液(50 mL), 用二氯甲烷(100 mL×2)萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **2e** (720 mg), 产物不经纯化直接下一步反应。

20 MS m/z (ESI): 197.2 [M+1]

第四步

1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-氯-*N*-(4-甲氧基苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **2f**

25 将化合物 **1c** (600 mg, 2.07 mmol)、粗品化合物 **2e** (405 mg, 2.07 mmol)和碳酸钾(286 mg, 2.07 mmol)溶解于 10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 室温搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化, 得到标题化合物 **2f** (300 mg), 产率: 32.3 %。

MS m/z (ESI): 449.2 [M+1]

第五步

30 1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-*N*-(4-甲氧基苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **2g**

依次将化合物 **2f** (150 mg, 0.33 mmol)、正丁醇钠(0.7 mL, 1.40 mmol)和 2 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160℃, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化, 得到标题化合物 **2g** (60 mg), 产率: 36.9 %。

MS m/z (ESI): 487.3 [M+1]

第六步

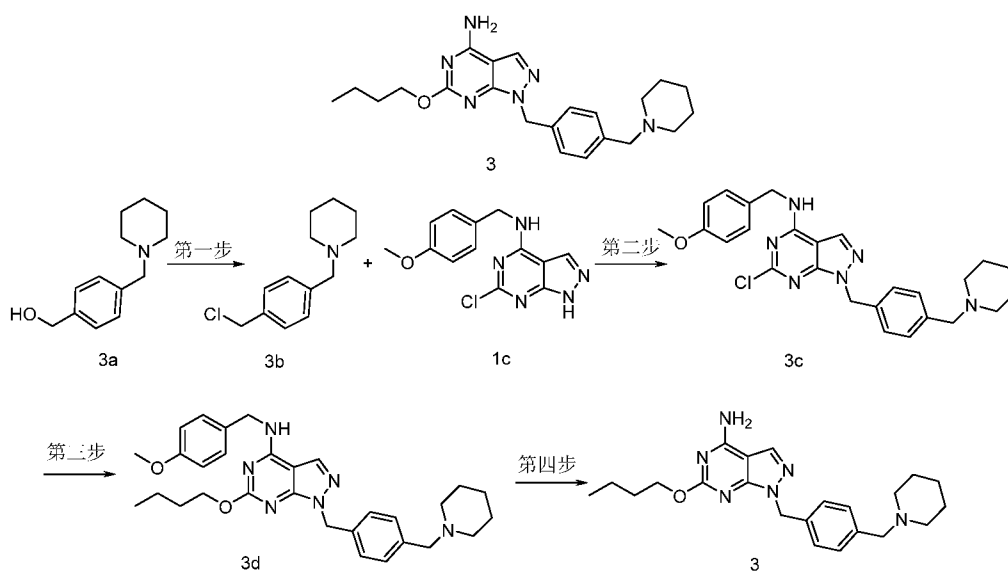
1-(4-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **2**

将化合物 **2g** (60 mg, 0.12 mmol) 和 2 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至回流, 反应 24 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 加入 7 *N* 氨甲醇溶液(1 mL), 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 制得标题化合物 **2** (15 mg), 产率: 33.2 %。

MS *m/z* (ESI): 367.2 [*M*+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.97 (s, 1H), 7.34-7.26 (m, 4H), 5.44 (s, 2H), 4.39 (t, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.47 (t, 4H), 2.22-2.18 (m, 2H), 1.80-1.76 (m, 2H), 1.55-1.49 (m, 2H), 1.01 (t, 3H)。

实施例 3

6-丁氧基-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **3**

第一步

1-(4-(氯甲基)苄基)哌啶 **3b**

将 4-(哌啶-1-基甲基)苯甲醇 **3a** (1.17 g, 5.70 mmol, 采用公知的方法 “*Journal of Medicinal Chemistry*, 2003, 46(8), 1523-1530” 制备而得) 溶于 20 mL 二氯甲烷, 0 °C 下加入氯化亚砷 (0.83 mL, 11.4 mmol), 室温反应 3 小时。反应液升至室温, 减压浓缩, 加入饱和碳酸钠溶液 (50 mL), 用二氯甲烷 (100 mL × 2) 萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **3b** (1.2 g), 产物不经纯化直接投下一步反应。

MS *m/z* (ESI): 224.2 [*M*+1]

第二步

6-氯-*N*-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **3c**

将化合物 **1c** (1.5 g, 5.18 mmol)、粗品化合物 **3b** (1.16 g, 5.18 mmol) 和碳酸钾 (716 mg, 5.18 mmol) 溶解于 20 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 室温搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化, 得到标题化合物

3c (400 mg), 产率: 16.2 %。

MS m/z (ESI): 477.3 [M+1]

第三步

6-丁氧基-*N*-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺

3d

依次将化合物 **3c** (100 mg, 0.21 mmol) 和正丁醇钠 (0.2 mL, 0.80 mmol) 和 1 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160°C, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化, 得到标题化合物 **3d** (50 mg), 产率: 46.3 %。

MS m/z (ESI): 515.3 [M+1]

第四步

6-丁氧基-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **3**

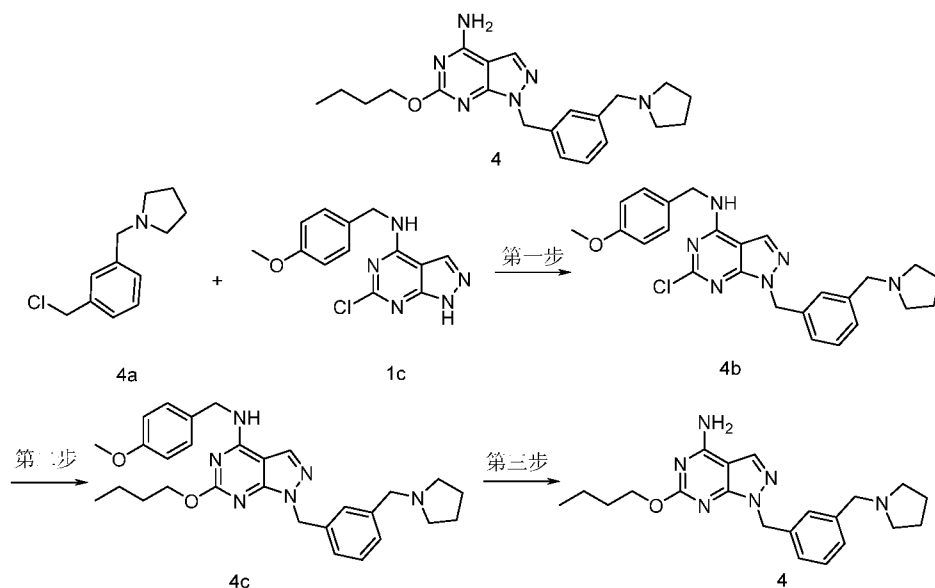
将化合物 **3d** (60 mg, 0.12 mmol) 和 2 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 反应液加热至回流, 搅拌反应 24 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 加入 7*N* 氨甲醇溶液 (1 mL), 减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **3** (20 mg), 产率: 49.5 %。

MS m/z (ESI): 395.3 [M+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.99 (s, 1H), 7.47-7.38 (m, 4H), 5.49 (s, 2H), 4.39 (t, 2H), 4.18 (s, 2H), 3.09-3.00 (m, 4H), 1.81-1.76 (m, 6H), 1.68-1.62 (m, 2H), 1.55-1.49 (m, 2H), 1.00 (t, 3H)。

实施例 4

6-丁氧基-1-(3-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **4**



第一步

6-氯-*N*-(3-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺

4b

将化合物 **1c** (1.0g, 3.45 mmol)、1-(3-(氯甲基)苄基)吡咯烷 **4a** (724 mg, 3.45 mmol, 采用专利申请“WO2016040419”公开的方法制备而得)和碳酸钾(377 mg, 3.45 mmol)溶解于 10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 室温搅拌 16 小时, 停止反应。反应液减压浓缩, 所得残余物用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化, 得到标题化合物 **4b** (300 mg), 产率: 18.7 %。

MS *m/z* (ESI): 463.2 [M+1]

第二步

6-丁氧基-*N*-(3-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **4c**

依次将化合物 **4b** (300 mg, 0.65 mmol)、正丁醇钠(1.3 mL, 2.60 mmol)和 2 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160°C, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **4c** (140 mg), 产率: 43.1 %。

MS *m/z* (ESI): 501.2 [M+1]

第三步

6-丁氧基-1-(3-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **4**

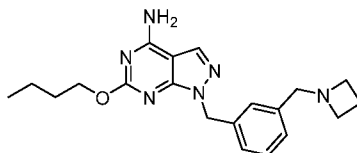
将化合物 **4c** (140 mg, 0.08 mmol)和 2 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至回流, 反应 24 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 加入 7 *N* 氨甲醇溶液(1 mL), 溶液减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **4** (60 mg), 产率: 56.3 %。

MS *m/z* (ESI): 381.2 [M+1]

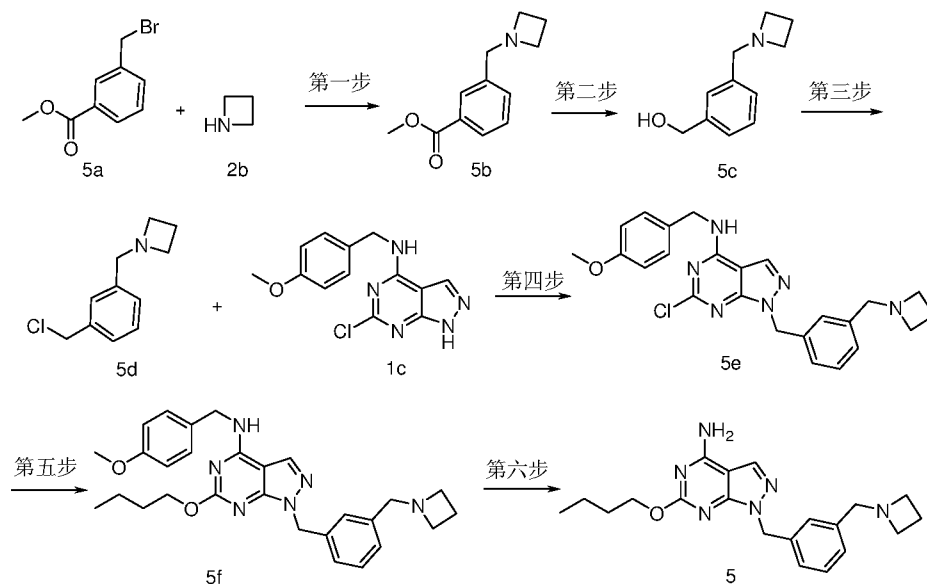
¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.98 (s, 1H), 7.35-7.25 (m, 4H), 5.47 (s, 2H), 4.39 (t, 2H), 3.81 (s, 2H), 2.76-2.70 (m, 4H), 1.98-1.93 (m, 4H), 1.79-1.76 (m, 2H), 1.55-1.50 (m, 2H), 1.01 (t, 3H)。

实施例 5

1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **5**



5



第一步

3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苯甲酸甲酯 **5b**

将 3-溴甲基苯甲酸甲酯 **5a** (1.0 g, 4.37 mmol)、氮杂环丁烷 **2b** (299 mg, 5.24 mmol) 和三乙胺 (529 mg, 5.24 mmol) 溶解于 10 mL 四氢呋喃中, 室温搅拌 16 小时。反应液中加入水 (100 mL), 用乙酸乙酯 (100 mL) 萃取, 有机相用饱和氯化钠溶液 (100 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **5b** (840 mg), 产物不经纯化直接下一步反应。

MS m/z (ESI): 206.1 [M+1]

10

第二步

3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苯甲醇 **5c**

将粗品化合物 **5b** (840 mg, 4.09 mmol) 溶于 10 mL 乙醚, 0°C 下加入氢化铝锂 (310 mg, 8.19 mmol), 0°C 反应 2 小时。依次加入 0.3 mL 水、0.3 mL 15% 氢氧化钠溶液和 0.9 mL 水淬灭反应, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **5c** (700 mg), 产物不经纯化直接下一步反应。

MS m/z (ESI): 178.3 [M+1]

15

第三步

1-(3-(氯甲基)苄基)氮杂环丁烷 **5d**

将粗品化合物 **5c** (700 mg, 3.95 mmol) 溶于 10 mL 二氯甲烷, 0°C 下加入氯化亚砷 (0.58 mL, 7.90 mmol), 室温反应 3 小时。反应液减压浓缩, 加入饱和碳酸钠溶液 (50 mL), 用二氯甲烷 (100 mL × 2) 萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **5d** (700 mg), 产物不经纯化直接下一步反应。

MS m/z (ESI): 197.2 [M+1]

20

第四步

1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-氯-N-(4-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **5e**

25

将化合物 **1c** (300 mg, 1.04 mmol)、粗品化合物 **5d** (203 mg, 1.04 mmol) 和碳酸钾 (144 mg, 1.04 mmol) 溶解于 5 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 室温搅拌 16 小时。反应液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **5e** (30 mg), 产率: 6.5 %。

5 MS *m/z* (ESI): 449.2 [M+1]

第五步

1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-*N*-(4-甲氧基苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **5f**

依次将化合物 **5e** (50 mg, 0.11 mmol) 和正丁醇钠 (0.2 mL, 0.40 mmol) 和 1 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160°C, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **5f** (35 mg), 产率: 64.8 %。

MS *m/z* (ESI): 487.3 [M+1]

第六步

15 1-(3-(氮杂环丁烷-1-基甲基)苄基)-6-丁氧基-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **5**

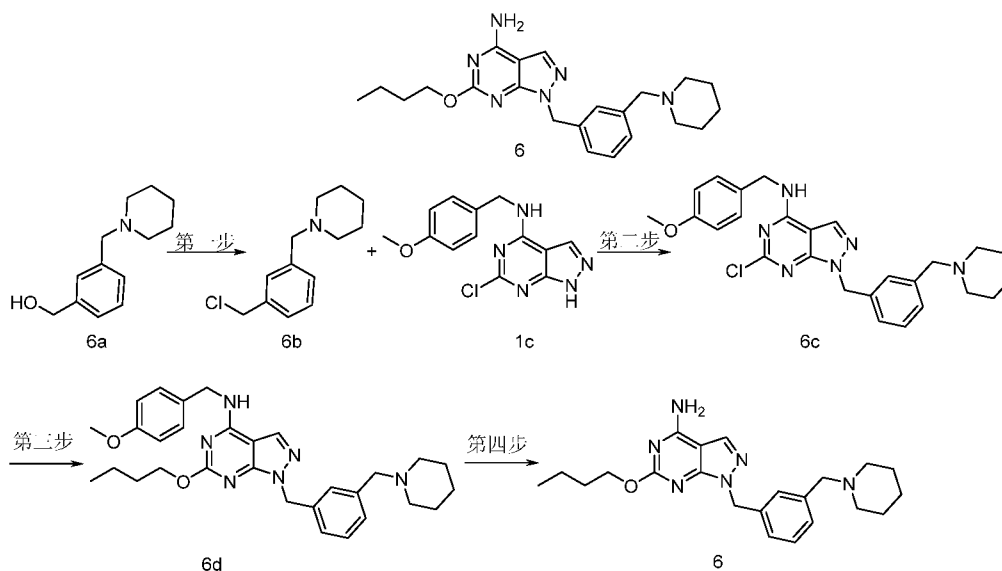
将化合物 **5f** (35 mg, 0.07 mmol) 和 1 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 反应液加热至回流, 搅拌反应 24 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 加入 7 *N* 氨甲醇溶液 (1 mL), 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 制得标题化合物 **5** (2.0 mg), 产率: 7.9 %。

20 MS *m/z* (ESI): 367.2 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.98 (s, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 7.22-7.19 (m, 3H), 5.45 (s, 2H), 4.39 (t, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.28 (t, 4H), 2.12-2.09 (m, 2H), 1.80-1.76 (m, 2H), 1.55-1.49 (m, 2H), 1.00 (t, 3H)。

实施例 6

25 6-丁氧基-1-(3-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **6**



第一步

1-(3-(氯甲基)苄基)哌啶 **6b**

将 3-(哌啶-1-基甲基)苯甲醇 **6a** (1.7 g, 8.28 mmol, 采用公知的方法“*Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2004, 12(10), 2727-2736”制备而得)溶于 20 mL 二氯甲烷, 0℃下加入氯化亚砷(1.2 mL, 16.56 mmol), 室温反应 3 小时。反应液减压浓缩, 加入饱和碳酸钠溶液(50 mL), 用二氯甲烷(100 mL×2)萃取, 合并有机相, 用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **6b** (1.7 g), 产物不经纯化直接下一步反应。

MS m/z (ESI): 224.2 [M+1]

第二步

6-氯-N-(3-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **6c**

将化合物 **1c** (300 mg, 1.04 mmol)、粗品化合物 **6b** (232 mg, 1.04 mmol)和碳酸钾(144 mg, 1.04 mmol)溶解于 5 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 室温搅拌 16 小时, 停止反应。反应液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **6c** (50 mg), 产率: 10.1 %。

MS m/z (ESI): 477.3 [M+1]

第三步

6-丁氧基-N-(3-甲氧基苄基)-1-(4-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **6d**

依次将化合物 **6c** (50 mg, 0.10 mmol)、正丁醇钠(0.2 mL, 0.40 mmol)和 1 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160℃, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压蒸馏, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **6d** (30 mg), 产率: 55.5 %。

MS m/z (ESI): 515.3 [M+1]

第四步

6-丁氧基-1-(3-(哌啶-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **6**

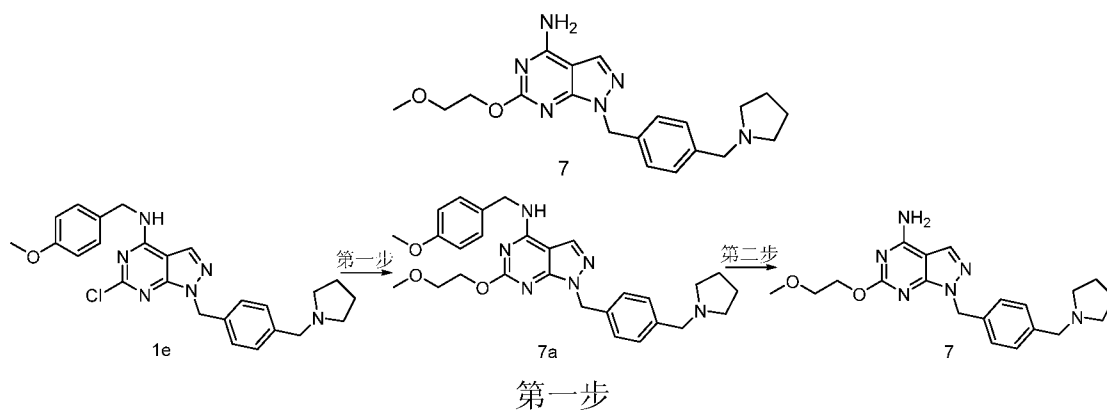
将化合物 **6d** (30 mg, 0.06 mmol)和 2 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至回流, 反应 24 小时。停止反应, 反应液减压浓缩, 加入 7 *N* 氨甲醇溶液(1 mL), 反应液减压浓缩, 残余物用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化, 制得标题化合物 **6** (7.0 mg), 产率: 29.2 %。

MS m/z (ESI): 395.3 [M+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.99 (s, 1H), 7.38-7.31 (m, 4H), 5.48 (s, 2H), 4.38 (t, 2H), 3.86 (s, 2H), 2.87-2.80 (m, 4H), 1.79-1.75 (m, 2H), 1.71-1.68 (m, 4H), 1.54-1.40 (m, 4H), 1.00 (t, 3H)。

实施例 7

6-(2-甲氧基乙氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **7**



N-(4-甲氧基苄基)-6-(2-甲氧基乙氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并
[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **7a**

依次将化合物 **1e** (90 mg, 0.19 mmol) 和 2-甲氧基乙醇钠 (0.3 mL, 0.60 mmol) 和 1 mL 2-甲氧基乙醇加入微波管中, 加热至 160°C, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **7a** (30 mg), 产率: 30.7%。

MS *m/z* (ESI): 503.3 [M+1]

第二步

6-(2-甲氧基乙氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **7**

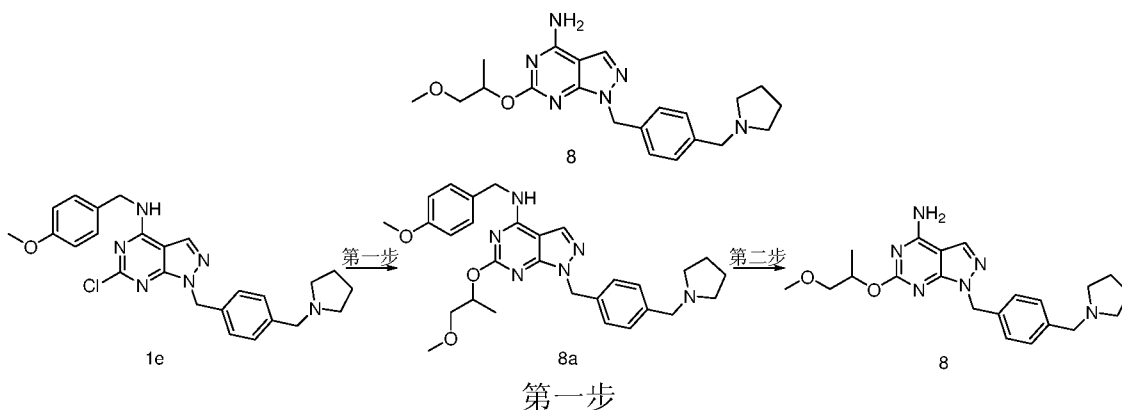
将化合物 **7a** (30 mg, 0.06 mmol) 和 5 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至 100°C, 反应 2 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **7** (5 mg), 产率: 19.7%。

MS *m/z* (ESI): 383.2 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.96 (s, 1H), 7.30-7.28 (d, 2H), 7.25-7.23 (d, 2H), 5.42 (s, 2H), 4.51-4.48 (t, 2H), 3.74-3.72 (t, 2H), 3.65 (s, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.57 (s, 4H), 1.81-1.78 (m, 4H)。

实施例 8

6-((1-甲氧基丙-2-基)氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **8**



N-(4-甲氧基苄基)-6-((1-甲氧基丙-2-基)氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **8a**

依次将化合物 **1e** (200 mg, 0.43 mmol) 和 2-甲氧基-1-甲基-乙氧基钠 (96.9 mg, 0.86 mmol) 和 5 mL 丙二醇甲醚加入微波管中, 加热至 160℃, 反应 1.5 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **8a** (150 mg), 产率: 67.2 %。

MS *m/z* (ESI): 517.3 [M+1]

第二步

6-((1-甲氧基丙-2-基)氧基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **8**

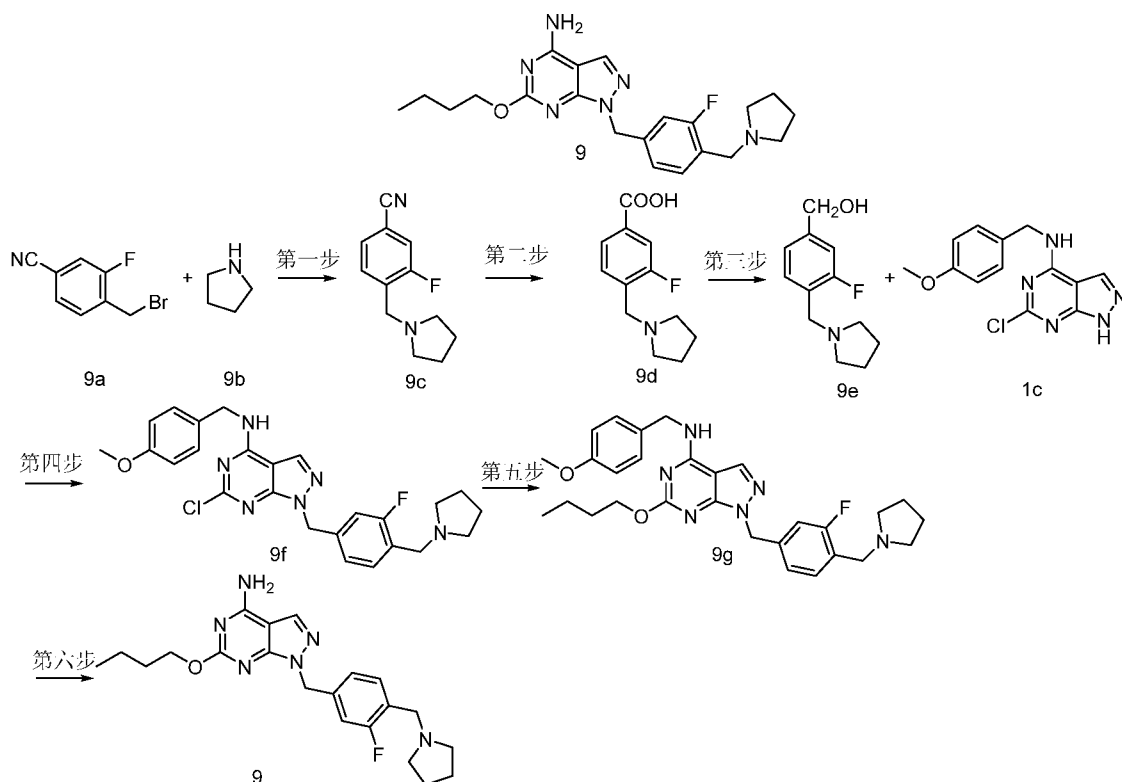
将化合物 **8a** (80 mg, 0.15 mmol) 和 5 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至 80℃, 反应 1 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题产物 **8** (20 mg), 产率: 32.6 %。

MS *m/z* (ESI): 397.2 [M+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.95 (s, 1H), 7.35-7.33 (d, 2H), 7.29-7.27 (d, 2H), 5.43 (m, 3H), 3.83 (s, 2H), 3.60-3.52 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 2.76(s, 4H), 1.87 (s, 4H), 1.34-1.32 (t, 3H)。

实施例 9

6-丁氧基-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **9**



第一步

3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苯甲腈 **9c**

将 4-(溴甲基)-3-氟苯腈 **9a** (1 g, 4.67 mmol)、吡咯烷 **9b** (332 mg, 4.67 mmol) 和 N,N-二异丙基乙胺(1.21 g, 9.34 mmol)溶解于 10 mL 乙腈溶液中, 搅拌 2 小时。反应液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **9c** (1 g), 产物不经纯化直接进行下一步反应。

MS m/z (ESI): 205.4 [M+1]

第二步

3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苯甲酸 **9d**

将粗品化合物 **9c** (1 g, 4.9 mmol)溶解于 5 mL 硫酸、5 mL 水和 10 mL 乙酸的混合溶剂中, 90℃搅拌 16 小时, 停止反应。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 残余物中加入甲醇, 过滤除去不溶物, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **9d** (1 g), 产物不经纯化直接进行下一步反应。

MS m/z (ESI): 224.4 [M+1]

第三步

(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)甲醇 **9e**

将粗品化合物 **9d** (1 g, 4.48 mmol)溶于 20 mL 四氢呋喃中, 反应液冷却至 0℃, 加入氢化铝锂(607 mg, 17.9mmol), 反应 3 小时。反应液中依次加入 1 mL 水、1 mL 2N 氢氧化钠溶液、3 mL 水淬灭反应, 过滤, 收集滤液, 减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **9e** (820 mg), 产物不经纯化直接进行下一步反应。

MS m/z (ESI): 210.4 [M+1]

第四步

6-氯-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-N-(4-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **9f**

将粗品化合物 **9e** (100 mg, 0.48 mmol)、化合物 **1c** (141.34 mg, 0.48 mmol) 和三苯基磷(192 mg, 0.73 mmol)溶解于 10 mL 1,4-二氧六环中, 滴加偶氮二甲酸二异丙酯(148 mg, 0.73 mmol), 反应液升温至 85℃, 搅拌反应 4 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **9f** (90 mg), 产率: 38.3 %。

MS m/z (ESI): 481.4 [M+1]

第五步

6-丁氧基-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-N-(4-甲氧基苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-4-胺 **9g**

依次将化合物 **9f** (90 mg, 0.19 mmol)、正丁醇钠(18 mg, 0.18 mmol)和 5 mL 正丁醇加入微波管中, 加热至 160℃, 反应 1.5 小时。停止反应, 反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **9g** (35 mg), 产率: 36.1 %。

MS m/z (ESI): 519.5 [M+1]

第六步

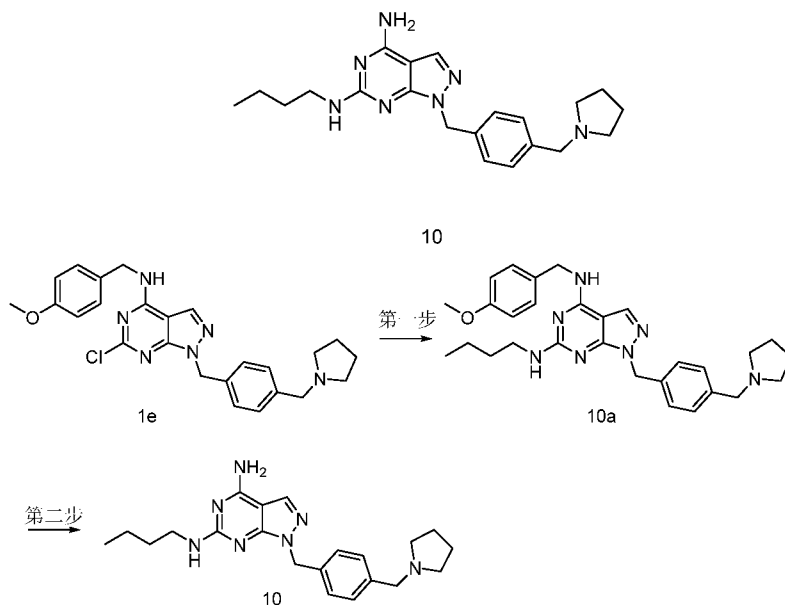
6-丁氧基-1-(3-氟-4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4-胺 **9**

将化合物 **9g** (35 mg, 0.07 mmol) 和 10 mL 三氟乙酸加入封管反应瓶中, 加热至 100°C, 反应 1 小时。停止反应, 反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **9** (20 mg), 产率: 74.3 %。

MS *m/z* (ESI): 399.5 [M+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7.97 (s, 1H), 7.37-7.33 (m, 1H), 7.07-6.99 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 4.38-4.35 (t, 2H), 3.68 (s, 2H), 2.56 (s, 4H), 1.79-1.73 (m, 6H), 1.52-1.46 (m, 2H), 0.99-0.96 (t, 3H)。

实施例 10

*N*⁶-丁基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4,6-二胺 **10**

第一步

*N*⁶-丁基-*N*⁴-(4-甲氧基苄基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4,6-二胺 **10a**

依次将化合物 **1e** (50 mg, 0.11 mmol)、正丁胺 (23.7 mg, 0.32 mmol) 和 *N,N*-二异丙基乙胺 (41.9 mg, 0.32 mmol) 加到 5 mL 正丁醇中, 微波加热至 120°C, 反应 1 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **10a** (20 mg), 产物不经纯化直接下一步反应。

第二步

*N*⁶-丁基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-4,6-二胺 **10**

将粗品化合物 **10a** (20 mg, 0.04 mmol) 和 5 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至 100°C, 反应过夜。停止反应, 反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **10** (15.2 mg, 黄色固体), 产率: 62.5 %。

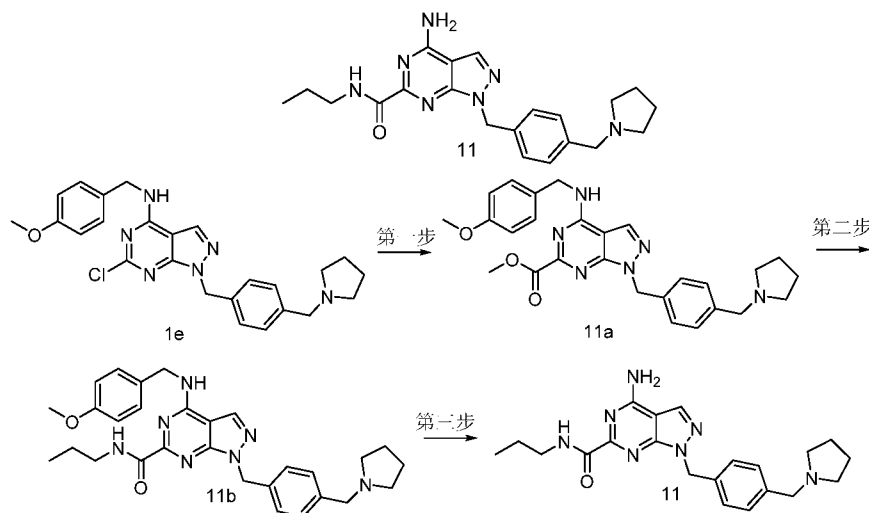
MS m/z (ESI): 380.3 [M+1]

^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 8.04 (s, 1H), 7.49-7.47 (d, 2H), 7.42-7.40 (d, 2H), 5.44 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 3.49-3.45 (m, 4H), 3.15 (s, 2H), 2.13 (s, 2H), 1.93 (s, 2H), 1.65-1.60 (m, 2H), 1.45-1.39 (m, 2H), 0.98-0.94 (t, 3H)。

5

实施例 11

4-氨基-*N*-丙基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 **11**



第一步

10 4-((4-甲氧基苄基)氨基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-6-羧酸甲酯 **11a**

依次将化合物 **1e** (200 mg, 0.43 mmol)、醋酸钯(2.9 mg, 0.013 mmol)、4,5-双二苯基膦-9,9-二甲基氧杂蒽(15 mg, 0.026 mmol)和三乙胺(44 mg, 0.4 mmol)溶于 3 mL 正丁醇和 3 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 用一氧化碳置换三次, 反应液升温至 70℃, 搅拌反应 16 小时。反应液降至室温, 减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **11a** (150 mg), 产率: 71.4%。

MS m/z (ESI): 487.5 [M+1]

第二步

20 4-((4-甲氧基苄基)氨基)-*N*-丙基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 **11b**

依次将化合物 **11a** (50 mg, 0.1 mmol)和正丙胺(12 mg, 0.2 mmol)溶于 5 mL 乙醇中, 加入到封管反应瓶中, 反应液升温至 60℃, 搅拌反应 16 小时。停止反应, 反应液冷却至室温, 减压浓缩, 得到粗品标题化合物 **11b** (20 mg), 产物不经纯化直接进行下一步反应。

25

第三步

4-氨基-*N*-丙基-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 **11**

将粗品化合物 **11b** (20 mg, 0.04 mmol)和 5 mL 三氟乙酸加入反应瓶中, 加热至 100℃, 反应 12 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用高效液相色谱法

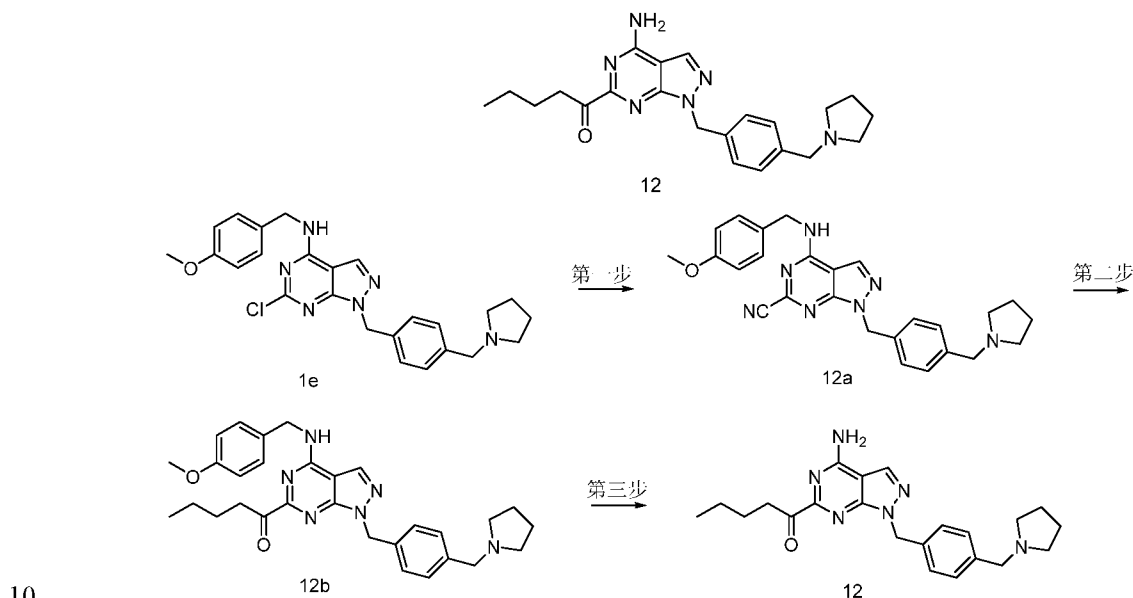
(Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **11** (10 mg), 产率: 60.3 %。

MS m/z (ESI): 394.5 [M+1]

¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 8.12 (s, 1H), 7.28 (m, 4H), 5.64 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.41-3.37 (t, 2H), 2.55-2.52 (m, 4H), 1.80-1.77 (m, 4H), 1.70-1.64 (m, 2H), 0.98-1.02 (t, 3H)。

实施例 12

1-(4-氨基-1-(4-吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)戊-1-酮 **12**



第一步

4-((4-甲氧基苄基)氨基)-1-(4-(吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)甲腈 **12a**

将化合物 **1e** (260 mg, 0.56 mmol)、三(二亚苄基丙酮)二钯(52 mg, 0.056 mmol)、1,1'-双(二苯基膦)二茂铁(31 mg, 0.056 mmol)、氰化锌(99 mg, 0.84 mmol)和锌粉(37 mg, 0.56 mmol)混合悬浮于 5 mL 的 *N,N*-二甲基乙酰胺中, 氩气保护下, 升温至 140℃ 搅拌反应 16 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **12a** (160 mg), 产率: 63%。

MS m/z (ESI): 454.5 [M+1]

第二步

1-(4-((4-甲氧基苄基)氨基)-1-(4-吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基)戊-1-酮 **12b**

将化合物 **12a** (160 mg, 0.35 mmol) 溶于 5 mL 四氢呋喃中, 0℃ 下, 加入 2 M 正丁基氯化镁四氢呋喃溶液(0.9 mL, 1.77 mmol)。氩气保护下, 反应液升温至 60℃, 搅拌反应 2 小时。反应液冷却至室温, 加入氯化铵水溶液, 乙酸乙酯萃取, 合并有机相, 减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 A 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **12b** (150 mg), 产率: 83%。

MS m/z (ESI): 513.6 [M+1]

第三步

1-(4-氨基-1-(4-吡咯烷-1-基甲基)苄基)-1*H*-吡唑并[3,4-*d*]嘧啶-6-基)戊-1-酮 **12**

将化合物 **12b** (150 mg, 0.29 mmol)溶于 10 mL 三氟乙酸中, 加入到封管反应瓶中, 封管加热至 110°C, 搅拌反应 16 小时。反应液冷却至室温, 减压浓缩, 用高效液相色谱法 (Waters-2767, 洗脱体系: 10 mmol/L 碳酸氢铵, 水, 乙腈) 纯化所得残余物, 得到标题化合物 **12** (19 mg), 产率: 17%。

MS m/z (ESI): 393.5 [M+1]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.01 (s, 1H), 7.35-7.29 (q, 4H), 5.62 (s, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.26 (t, 2H), 2.53 (s, 4H), 1.78 (s, 4H), 1.76-1.70 (m, 2H), 1.48-1.42 (m, 2H), 0.98 (t, 3H)。

测试例:

生物学评价

测试例 1、本发明化合物对人源 TLR7 激动活性的测定

本发明化合物对 HEK-BlueTM hTLR7 稳转株细胞表达的 hTLR7 蛋白激活作用采用如下实验方法测定:

一、实验材料及仪器

1. DMEM(Gibco, 10564-029),
2. 胎牛血清(GIBCO,10099),
3. 青链霉素(Gibco, 15140-122),
4. 台盼蓝溶液(Sigma, T8154-100ML),
5. Flexstation 3 多功能酶标仪(Molecular Devices),
6. HEK-BlueTM hTLR7 细胞系(InvivoGen, hkb-hTLR7),
7. HEK-Blue 检测试剂(InvivoGen, hb-det3)。

二、实验步骤

配置 HEK-Blue 检测培养基, 取 HEK-Blue 检测干粉一袋, 加入 50ml 去内毒素水溶解, 再放入 37°C 培养箱, 10 分钟后无菌过滤。化合物先配制成 20mM 的原液; 再用纯 DMSO 稀释至最高浓度为 6x10⁶nM, 经 3 倍梯度稀释, 共 10 个点。

用培养基先把上述配制好的化合物稀释 20 倍, 然后每孔加入 20μl 稀释后的化合物。取 HEK-BlueTM hTLR7 细胞, 先去掉上清, 再加入 2-5ml 预热的 PBS, 放入培养箱 1-2 分钟, 轻轻吹打细胞, 台盼蓝染色计数。用 HEK-Blue 检测培养基重悬细胞调整浓度为 2.2 × 10⁵ 个细胞/ml, 加 180μl 细胞至上述已加入 20μl 药物的 96 孔细胞培养板中, 37°C, 培养 6-16h。

酶标仪读数, 波长为 620nm。可获得相应的 OD 值, 经 Graphpad Prism 计算得到药物的 EC₅₀ 值。

本发明化合物对人源 TLR7 激活作用可通过以上的试验进行测定, 测得的 EC₅₀

值见表 1。

表 1 本发明化合物对人源 TLR7 的 EC₅₀。

实施例编号	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)
1	28	100
2	64	91
3	77	91
4	166	88
6	233	91
7	180	95
8	217	104
9	128	96
10	349	79
11	335	85
12	388	78

结论：本发明化合物对人源 TLR7 具有明显的激活作用。

5 测试例 2、本发明化合物对人源 TLR8 激动剂活性的测定

本发明化合物对 HEK-BlueTM hTLR8 稳转株细胞表达的 hTLR8 蛋白激活作用采用如下实验方法测定：

一、实验材料及仪器

1. DMEM(Gibco, 10564-029),
- 10 2. 胎牛血清(GIBCO,10099),
3. 青链霉素(Gibco, 15140-122),
4. 台盼蓝溶液(Sigma, T8154-100ML),
5. Flexstation 3 多功能酶标仪(Molecular Devices),
6. HEK-BlueTM HTLR8 细胞系(InvivoGen, hkb-hTLR8),
- 15 7. HEK-Blue 检测试剂(InvivoGen, hb-det3)。

二、实验步骤

配置 HEK-Blue 检测培养基，取 HEK-Blue 检测干粉一袋，加入 50ml 去内毒素水溶解，再放入 37℃培养箱，10 分钟后无菌过滤。化合物先配制成 20mM 的原液；再用纯 DMSO 稀释至最高浓度为 6x10⁶ nM，然后 3 倍梯度稀释，共 10 个点；
20 用培养基先把化合物稀释 20 倍，然后每孔加入 20 μl 稀释后的化合物。

取 HEK-BlueTM hTLR8 细胞，先去掉上清，加入预热的 PBS 2-5ml，放入培养箱 1-2 分钟，轻轻吹打细胞，台盼蓝染色计数。用 HEK-Blue 检测培养基重悬细胞调整浓度为 2.2 x 10⁵ 个细胞/ml，加 180μl 细胞至上述已加入 20μl 药物的 96 孔细胞培养板中，37℃，培养 6-16h。

25 酶标仪读数，波长为 620nm。可获得相应的 OD 值，经 Graphpad Prism 计算得到药物的 EC₅₀ 值。

本发明化合物对人源 TLR8 激活作用可通过以上的试验进行测定，测得的 EC₅₀ 值见表 2。

表 2 本发明化合物对人源 TLR8 的 EC₅₀。

实施例编号	EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%)
1	>30	8
2	>29	52
3	>24	2
4	>30	28
6	>6	35
7	>30	0
8	>30	2
10	>30	0
11	>30	0
12	>30	5

结论：本发明化合物对人源 TLR8 没有激活作用，说明本发明化合物对 TLR7 具有高选择性。

测试例 3、本发明中化合物刺激外周血单个核细胞(PBMC)分泌 IFN-α 能力的测定

本发明中化合物刺激 PBMC 分泌 IFN-α 能力采用如下实验方法测定：

一、实验材料及仪器

1. RPMI 1640(Invitrogen,11875),
2. FBS(Gibco,10099-141),
3. 青链霉素(Gibco, 15140-122),
4. Ficoll-Paque PREMIUM(GE, 17-5442-02),
5. 台盼蓝溶液(Sigma, T8154-100ML),
6. SepMate™-50(Stemcell, 15460),
7. Bright-Line™血细胞计数仪(Sigma, Z359629-1EA),
8. 人源 IFN-α 试剂盒(cisbio, 6FHIFPEB),
9. PHERAStar 多功能酶标仪(BMG, PHERAStar)。

二、实验步骤

化合物用纯 DMSO 稀释，最高浓度为 5mM，4 倍梯度稀释，共 9 个点。然后取 4μl 化合物，加入到 196μl 含 10%FBS 的 RMPI 1640 培养基中，混匀。每孔取 50μl 至新的 96 孔细胞培养板。

所有试剂平衡到室温，取 250ml 培养瓶，将 60ml 血液和 PBS+2% FBS 加入其中，轻轻吹打混匀稀释。取 50ml PBMC 分离管 SepMate™-50，加入 15ml 淋巴细胞分离液 Ficoll-Paque PREMIUM，然后加入 30ml 稀释后血液。1200g 离心 10 分钟，室温。取上清，然后 300g，离心 8 分钟。用含 10%FBS 的 RMPI 1640 培养基

重悬并计数，调整 PBMC 数量至 3.33×10^6 个细胞/ml，取 150μl 至已加入化合物的细胞培养板中，37°C，5.0% CO₂ 的培养箱中培养 24h。

将细胞培养板放入离心机中，1200rpm，室温离心 10 分钟。每孔取出 150μl 上清。先平衡人源 IFN-α 试剂盒中的试剂至常温，在避光条件下根据试剂盒说明书配制抗-IFN-α-Eu³⁺-穴状结合物（Anti-IFN-α-Eu³⁺-Cryptate conjugate）和抗-IFN-α-d2-结合物（Anti-IFN-α-d2-conjugate），两者均以 1：40 的比例与结合缓冲液（conjugate Buffer）混匀。然后每孔加入 16μl 的离心取得的上清液。再每孔加入 2μl 刚配好的抗-IFN-α-Eu³⁺-穴状结合物和抗-IFN-α-d2-结合物，震荡混匀，室温避光孵育 3h。

在 PHERASStar 上用 HTRF 模式读数。我们将刺激产生最低检测限至少 3 倍以上细胞因子水平的最低药物浓度，定义为该化合物在该细胞因子刺激实验上的 MEC（Minimal Effective Concentration）值。

本发明化合物刺激 PBMC 分泌 IFN-α 的能力通过以上的试验进行测定，测得的 MEC 值见表 3。

表 3 本发明化合物刺激 PBMC 分泌 IFN-α 的 MEC

实施例编号	MEC(nM)
1	6
2	23
3	20
4	100
5	41
7	89

结论：从刺激 PBMC 分泌 IFN-α 的活性的数据上看，本发明化合物具有起效浓度较低的优势。

测试例 4、本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 咪达唑仑代谢位点的酶活性的抑制作用

本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 咪达唑仑代谢位点的酶活性采用如下实验方法测定：

一、实验材料及仪器

1. 磷酸缓冲液(PBS),
2. NADPH(Sigma N-1630),
3. 人肝微粒体(Corning Gentest),
4. ABI QTrap 4000 液质两用仪(AB Sciex),
5. Inertsil C8-3 柱, 4.6×50mm, 5μm(美国迪马公司),
6. CYP 探针底物(咪达唑仑/10μM)和阳性对照抑制剂(酮康唑)。

二、实验步骤

配置 100mM 的 PBS 缓冲液，用该缓冲液配制 2.5mg/ml 的微粒体溶液和 5mM

的 NADPH 溶液, 用 PBS 梯度稀释 5X 浓度的化合物工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M)。用 PBS 梯度稀释 5X 浓度的酮康唑工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M)。用 PBS 稀释至 50 μ M 浓度的右美沙芬工作液。

分别取 2.5mg/ml 的微粒体溶液、50 μ M 的睾酮工作液、MgCl₂ 溶液和化合物工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M, 每个浓度设置不同的反应体系)各 20 μ l, 混合均匀。阳性对照组用相同浓度的酮康唑代替化合物。同时将 5mM 的 NADPH 溶液一起在 37 $^{\circ}$ C 预孵育 5 分钟。5 分钟之后取 20 μ l NADPH 加入到个孔中, 启动反应, 孵育 30 分钟。所有孵育样品设双样本。30 分钟后向所有样本中加入 250 μ l 含内标的乙腈, 混匀, 800rpm 摇 10 分钟, 然后 3700 rpm 离心 10 分钟。取 80 μ l 的上清液, 转移至 LC-MS/MS 分析。

数值经 Graphpad Prism 计算得到药物对 CYP3A4 咪达唑仑代谢位点的 IC₅₀ 值。本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 的咪达唑仑代谢位点的 IC₅₀ 值。

实施例编号	IC ₅₀ (μ M)
1	14
2	10
3	7
4	11
6	10
7	>30
12	16

结论: 本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 的咪达唑仑代谢位点抑制作用弱, 表现出更好的安全性, 提示不会发生基于 CYP3A4 代谢咪达唑仑代谢位点的代谢性药物相互作用。

测试例 5、本发明化合物对人肝微粒体 CYP2D6 酶活性的抑制作用

本发明化合物对人肝微粒体 CYP2D6 酶活性采用如下实验方法测定:

一、实验材料及仪器

1. 磷酸缓冲液(PBS),
2. NADPH(Sigma N-1630),
3. 人肝微粒体(Corning Gentest),
4. ABI QTrap 4000 液质两用仪(AB Sciex),
5. Inertsil C8-3 柱, 4.6 $\times$ 50mm, 5 μ m(美国迪马公司),
6. CYP 探针底物(右美沙芬/10 μ M), 和阳性对照抑制剂(奎尼丁)。

二、实验步骤

配置 100mM 的 PBS 缓冲液, 用该缓冲液配制 2.5mg/ml 的微粒体溶液和 5mM 的 NADPH 溶液, 用 PBS 梯度稀释 5X 浓度的化合物工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M)。用 PBS 梯度稀释 5X 浓度的奎尼丁工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M)。用 PBS 稀释至 50 μ M 浓度的右美沙芬工作液。

分别取 2.5mg/ml 的微粒体溶液、50 μ M 的睾酮工作液、MgCl₂ 溶液和化合物工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M, 每个浓度设置不同的反应体系) 各 20 μ l, 混合均匀。阳性对照组用相同浓度的奎尼丁代替化合物。同时将 5mM 的 NADPH 溶液一起在 37 $^{\circ}$ C 预孵育 5 分钟, 5 分钟之后取 20 μ l NADPH 加入到孔中, 启动反应, 孵育 30 分钟。所有孵育样品设双样本。30 分钟后向所有样本中加入 250 μ l 含内标的乙腈, 混匀, 800rpm 摇 10 分钟。3700rpm 离心 10 分钟。取 80 μ l 的上清液, 转移至 LC-MS/MS 分析。

数值经 Graphpad Prism 计算得到药物对 CYP2D6 代谢位点的 IC₅₀ 值。

本发明化合物对人肝微粒体 CYP2D6 没有抑制作用的 IC₅₀ 值。

实施例编号	IC ₅₀ (μ M)
1	>30
2	>30
3	4
4	16
6	10
7	>30
12	16

结论: 本发明化合物对人肝微粒体 CYP2D6 的酶活性抑制作用弱, 表现出更好的安全性, 提示不会发生基于 CYP2D6 发生代谢性药物相互作用。

测试例 6、本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 睾酮代谢位点的酶活性的抑制作用

本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 睾酮代谢位点的酶活性采用如下实验方法测定:

一、实验材料及仪器

1. 磷酸缓冲液(PBS),
2. NADPH(Sigma N-1630),
3. 人肝微粒体(Corning Gentest),
4. ABI QTrap 4000 液质两用仪(AB Sciex),
5. Inertsil C8-3 柱, 4.6 $\times$ 50mm, 5 μ m(美国迪马公司),
6. CYP 探针底物(睾酮/100 μ M)和阳性对照抑制剂(酮康唑)。

二、实验步骤

配置 100mM 的 PBS 缓冲液, 用该缓冲液配制 2.5mg/ml 的微粒体溶液和 5mM 的 NADPH 溶液, 用 PBS 梯度稀释 5X 浓度的化合物工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M)。用 PBS 梯度稀释 5X 浓度的酮康唑工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M)。用 PBS 稀释至 50 μ M 浓度的右美沙芬工作液。

分别取 2.5mg/ml 的微粒体溶液、50 μ M 的睾酮工作液、MgCl₂ 溶液和化合物工作液(150、50、15、5、1.5、0.15、0.015、0 μ M, 每个浓度设置不同的反应体系) 各

20 μ l，混合均匀。阳性对照组用相同浓度的酮康唑代替化合物。同时将 5mM 的 NADPH 溶液一起在 37℃ 预孵育 5 分钟。5 分钟之后取 20 μ l NADPH 加入到孔中，启动反应，孵育 30 分钟。所有孵育样品设双样本。30 分钟后向所有样本中加入 250 μ l 含内标的乙腈，混匀，800rpm 摇 10 分钟。3700rpm 离心 10 分钟。取 80 μ l 的上清液，转移至 LC-MS/MS 分析。

数值经 Graphpad Prism 计算得到药物对 CYP3A4 睾酮代谢位点的 IC₅₀ 值。

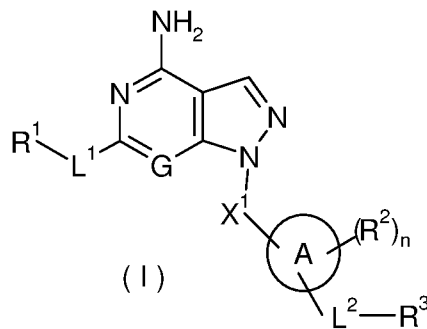
本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 的睾酮代谢位点的 IC₅₀ 值。

实施例编号	IC ₅₀ (μ M)
1	4
2	19
3	3
4	6
6	3
7	>30
12	>30

结论：本发明化合物对人肝微粒体 CYP3A4 的睾酮代谢位点的抑制较弱，表现出更好的安全性。

权利要求书:

1. 一种通式(I)所示的化合物:



5 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

其中:

环 A 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

G 为 CH 或 N;

10 X^1 为亚烷基或 $S(O)_m$, 其中所述的亚烷基任选被选自卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基和杂环基中的一个或多个取代基所取代;

L^1 选自 $-NR^4-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)-OR^4$ 、 $-S(O)_m-$ 、 $-N(R^4)C(O)-$ 、 $-C(O)N(R^4)-$ 、 $-N(R^4)S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R^4)-$ 和共价键;

15 R^1 选自烷基、烷氧基、卤代烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 其中所述的烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代;

20 R^2 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代;

25 L^2 为亚烷基或共价键, 其中所述的亚烷基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$ 中的一个或多个取代基所取代;

30 R^3 选自卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^5$ 、 $-C(O)R^5$ 、 $-S(O)_mR^5$ 、 $-NR^6R^7$ 和 $-C(O)NR^6R^7$, 其中所述的环烷

基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、卤代烷基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-OR^8$ 、 $-C(O)R^8$ 、 $-S(O)_mR^8$ 、 $-NR^9R^{10}$ 和 $-C(O)NR^9R^{10}$ 中的一个或多个取代基所取代；

R^4 选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

5 R^5 选自氢原子、烷基、卤代烷基、氨基、羟基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^6 和 R^7 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、 $-C(O)R^8$ 、 $-S(O)_mR^8$ 和 $-C(O)NR^9R^{10}$ ；其中所述的烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

或者，所述 R^6 和 R^7 与相连接的氮原子一起形成杂环基，其中所述的杂环基除含有1个氮原子之外，还任选含有1~2个相同或不同的选自N、O和S的杂原子，并且所述的杂环基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代；

15 R^8 选自氢原子、烷基、卤代烷基、氨基、羟基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

R^9 和 R^{10} 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、氨基、羟基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

20 n为0、1、2、3或4；且

m为0、1或2。

2. 根据权利要求1所述的通式(I)所示的化合物，其中 R^3 为杂环基，所述的杂环基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

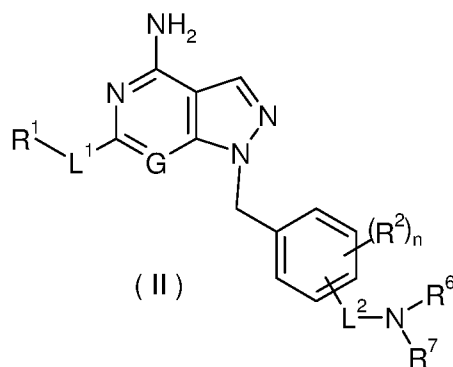
3. 根据权利要求1或2所述的通式(I)所示的化合物，其中 R^3 为 $-NR^6R^7$ ， R^6 和 R^7 与相连接的氮原子一起形成杂环基，其中所述的杂环基除含有1个氮原子之外，还任选含有1~2个相同或不同的选自N、O和S的杂原子，并且所述的杂环基任选被选自烷基、烷氧基、卤素、氨基、氰基、硝基、羟基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个取代基所取代。

4. 根据权利要求1或2所述的通式(I)所示的化合物，其中所述的环A为苯基。

35

5. 根据权利要求1~4中任一项所述的通式(I)所示的化合物，其中所述的 X^1 为亚烷基。

6. 根据权利要求 1~5 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其为通式(II)所示的化合物:



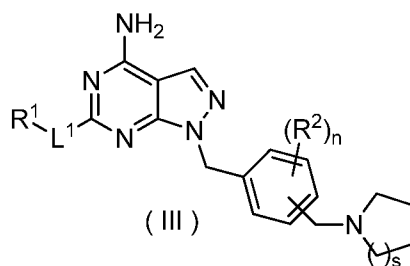
5 或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

其中 G、 $L^1 \sim L^2$ 、 $R^1 \sim R^2$ 、 $R^6 \sim R^7$ 和 n 如权利要求 1 中所定义。

7. 根据权利要求 1~6 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其中所述的 G
10 为 N。

8. 根据权利要求 1~7 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其中所述的 L^2 为亚烷基。

9. 根据权利要求 1~8 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其为通式(III)
15 所示的化合物:



或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

20 其中:

s 为 0、1 或 2;

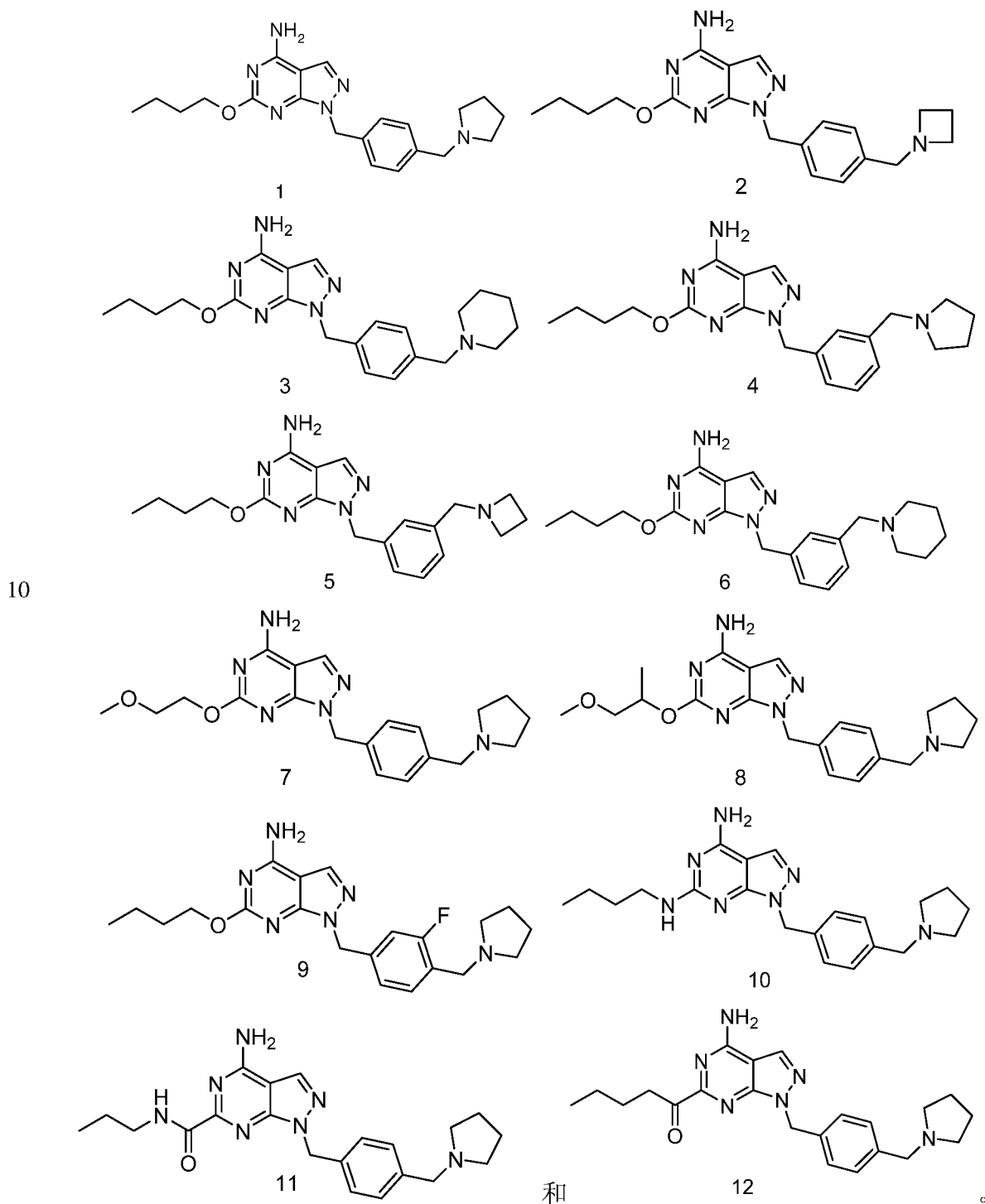
L^1 、 $R^1 \sim R^2$ 和 n 如权利要求 1 中所定义。

10. 根据权利要求 1~9 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其中 L^1 选自
25 -O-、-NR⁴-、-C(O)- 和 -C(O)N(R⁴)-, R⁴ 为氢原子或烷基。

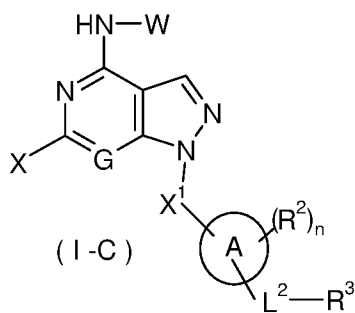
11. 根据权利要求 1~10 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其中 R^1 为任选被一个或多个烷氧基取代的烷基。

12. 根据权利要求 1~11 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其中 R^2 相同或不同, 且各自独立地为氢原子或卤素。

13. 根据权利要求 1~12 中任一项所述的通式(I)所示的化合物, 其选自:



14. 一种通式(I-C)所示的化合物:



或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐,

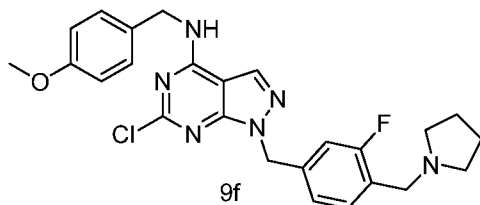
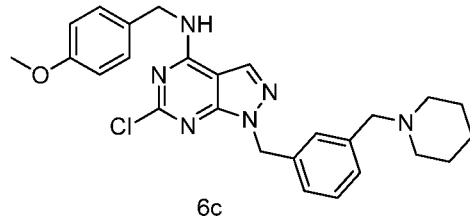
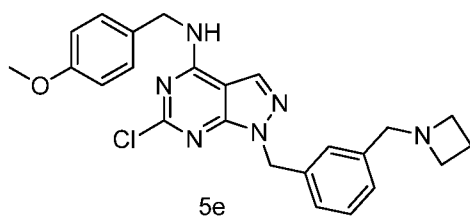
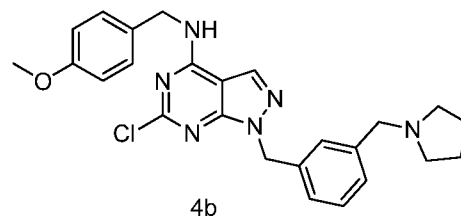
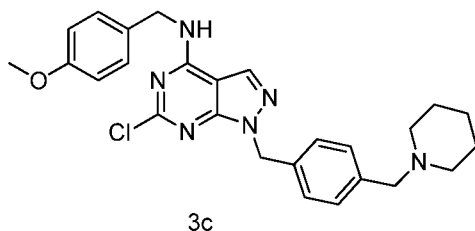
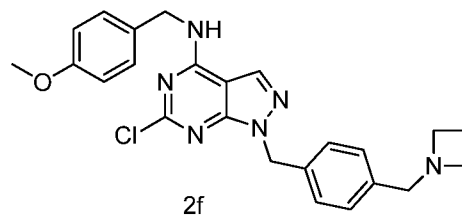
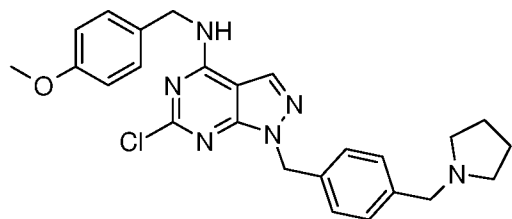
5 其中:

W 为氨基保护基;

X 为卤素;

环 A、G、X¹、L²、R²~R³ 和 n 如权利要求 1 中所定义。

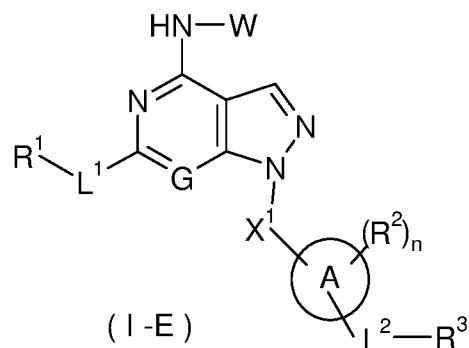
10 15. 根据权利要求 14 中所述的通式(I-C)所示的化合物, 其选自:



和

15

16. 一种通式(I-E)所示的化合物:

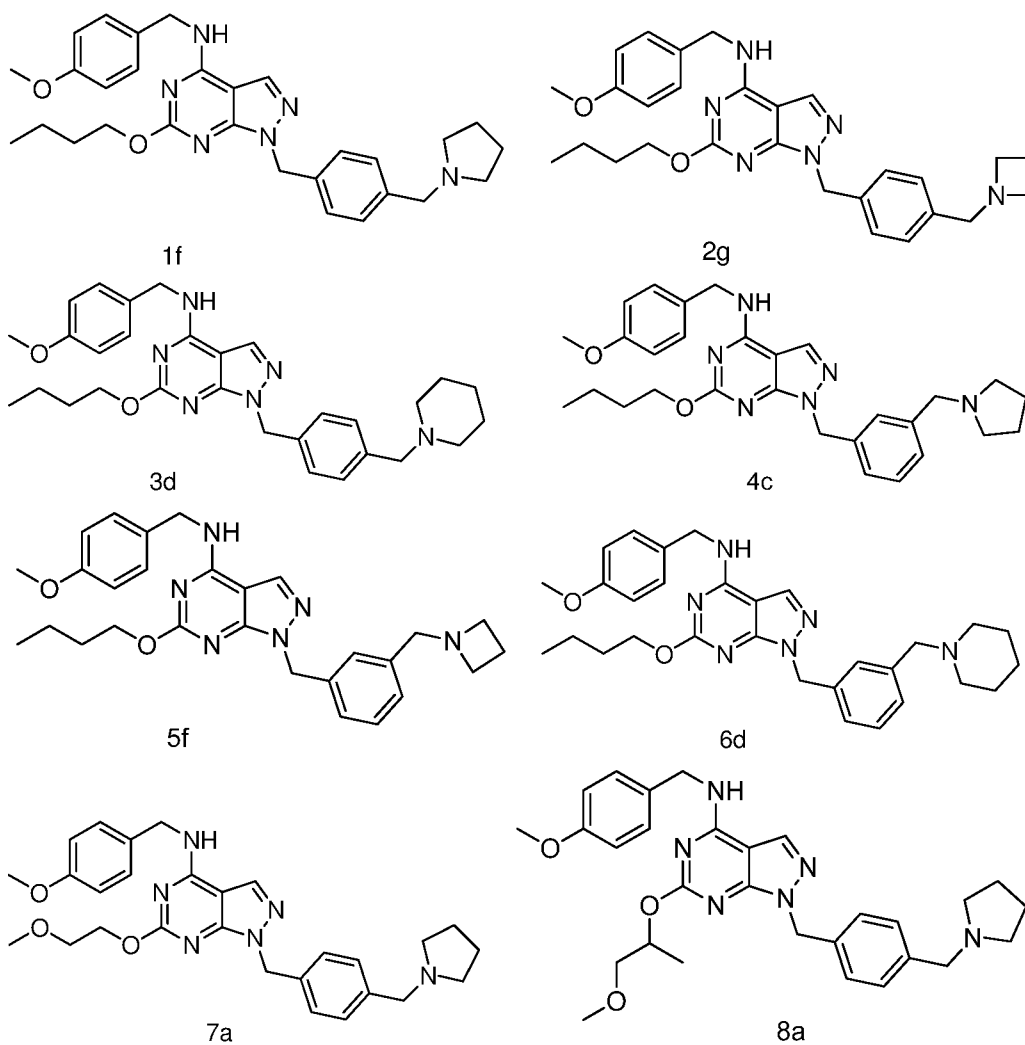


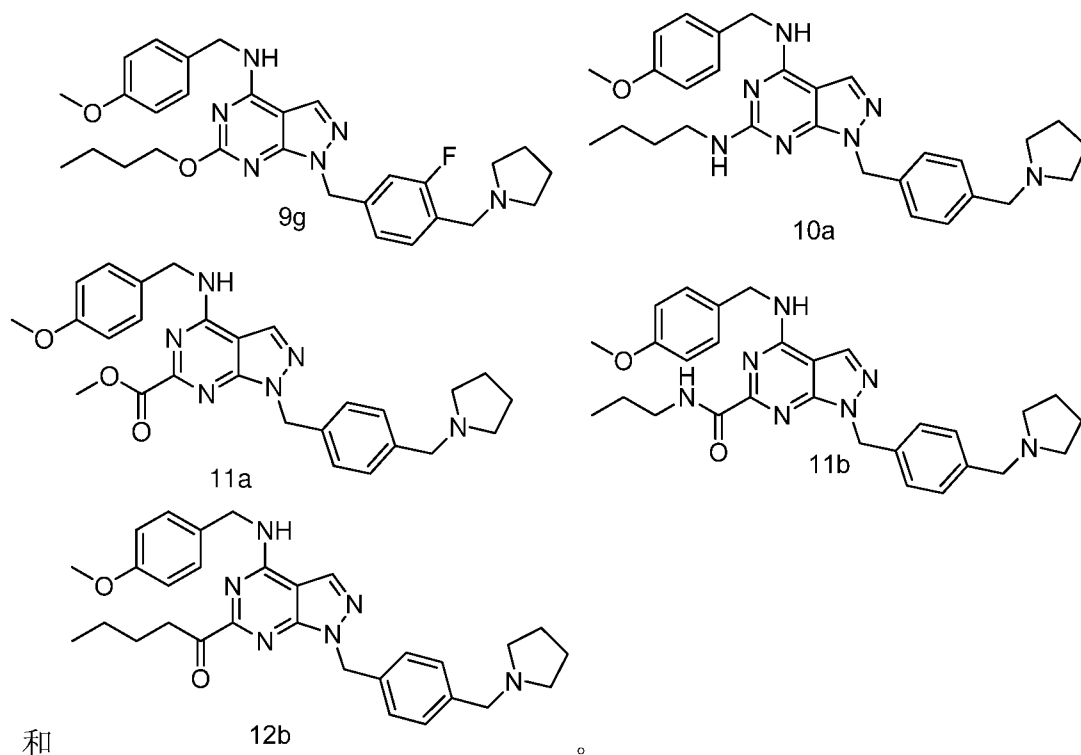
或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐，

其中：

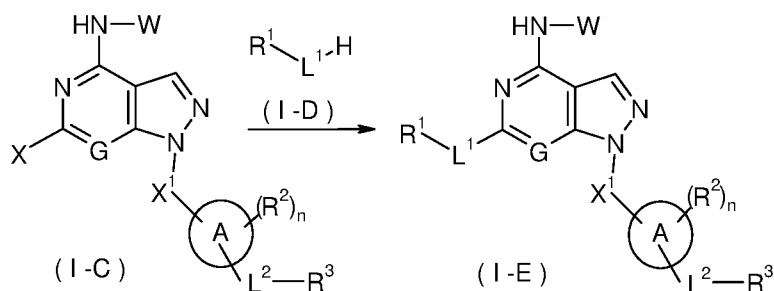
- 5 W 为氨基保护基；
 环 A、G、X¹、L¹~L²、R¹~R³ 和 n 如权利要求 1 中所定义。

17. 根据权利要求 16 中所述的通式 (I-E) 所示的化合物，其选自：





- 5 18. 一种制备根据权利要求 16 所述的通式(I-E)所示的化合物的方法, 该方法包括:



通式(I-C)的化合物和通式(I-D)的化合物在碱性条件下, 发生亲核取代反应得到通式(I-E)的化合物;

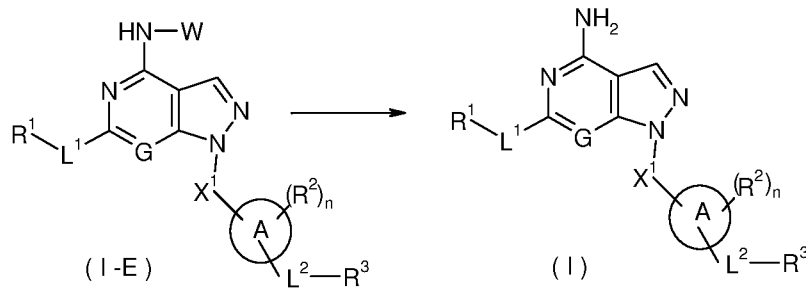
- 10 其中:

W 为氨基保护基;

X 为卤素;

环 A、G、L¹~L²、X¹、R¹~R³ 和 n 如权利要求 16 中所定义。

- 15 19. 一种制备根据权利要求 1 所述的通式(I)所示的化合物的方法, 该方法包括:



通式(I-E)的化合物在酸性条件下脱去保护基, 得到通式(I)的化合物;

其中:

W 为氨基保护基;

5 环 A、G、L¹~L²、X¹、R¹~R³ 和 n 如权利要求 1 中所定义。

20. 一种药物组合物, 所述药物组合物含有治疗有效量的根据权利要求 1~13 中任一项所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式或其可药用的盐, 以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

21. 根据权利要求1~13中任一项所述的的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用的盐或根据权利要求20所述的药物组合物在制备用于激动TLR7的药物中的用途。

15

22. 根据权利要求1~13中任一项所述的的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用的盐或根据权利要求20所述的药物组合物在制备用于治疗由病毒引起的感染的药物中的用途, 所述病毒选自: 登革热病毒、黄热病毒、西尼罗病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、昆津病毒、墨累山谷脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、鄂木斯克出血热病毒、牛病毒性腹泻病毒、济卡病毒、HIV、HBV、HCV、HPV、RSV、SARS和流感病毒。

20

23. 根据权利要求 1~13 中任一项所述的的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体、或其混合物形式、或其可药用的盐或根据权利要求 20 所述的药物组合物在制备用于治疗或预防黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、基底细胞癌、肾细胞癌、骨髓瘤、变应性鼻炎、哮喘、COPD、溃疡性结肠炎和肝纤维化的药物中的用途。

25

24. 根据权利要求 1~13 中任一项所述的化合物或其互变异构体、内消旋体、外消旋体、对映异构体、非对映异构体或其混合物形式、或其可药用盐, 或包含其的药物组合物, 其用作药物。

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/113007

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 471/04 (2006.01) i; A61K 31/395 (2006.01) i; A61P 31/12 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 471/-, A61K 31/-, A61P 31/-, A61P 35/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNKI, WPI, EPODOC, REGISTRY (STN), CAPLUS (STN): 嘧啶并吡唑, 吡啶并吡唑, TOLL, TLR, pyridine, pyrimidine, pyrazole

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 102272134 A (GILEAD SCIENCES, INC.) 07 December 2011 (07.12.2011), claims 1 and 21	1-24
A	CN 102666541 A (GILEAD SCIENCES, INC.) 12 September 2012 (12.09.2012), claim 1, and description, paragraphs [0229]-[0872]	1-24
A	CN 101917999 A (FOLDRIX PHARMACEUTICALS INC.) 15 December 2010 (15.12.2010), entire document	1-24
A	WO 2008114008 A1 (ASTRAZENECA AB et al.) 25 September 2008 (25.09.2008), entire document	1-24
A	WO 2015162075 A1 (HOFFMANN LA ROCHE et al.) 29 October 2015 (29.10.2015), entire document	1-24
A	WO 2015137887 A1 (AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 17 September 2015 (17.09.2015), entire document	1-24

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 01 February 2018	Date of mailing of the international search report 26 February 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer ZHANG, Yingshu Telephone No. (86-10) 53962163

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/113007

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102272134 A	07 December 2011	TW I557117 B	11 November 2016
		TW 201031667 A	01 September 2010
		US 8629142 B2	14 January 2014
		TW 201639852 A	16 November 2016
		IL 213101 A	31 December 2014
		TW 201441204 A	01 November 2014
		NZ 593110 A	28 June 2013
		KR 20160142898 A	13 December 2016
		JP 2016172762 A	29 September 2016
		EA 021377 B9	30 September 2015
		IL 213101 D0	31 July 2011
		IL 236272 D0	29 January 2015
		AU 2009333559 B2	12 March 2015
		HR P20140539 T1	18 July 2014
		PE 01062012 A1	20 February 2012
		NZ 612380 A	30 January 2015
		CO 6362010 A2	20 January 2012
		JP 6104432 B2	29 March 2017
		PT 2818469 T	05 May 2017
		EA 201190021 A1	30 April 2012
		SM T201400083 B	08 September 2014
		KR 101687841 B1	19 December 2016
		HK 1161880 A1	25 July 2014
		US 2013071354 A1	21 March 2013
		TW 201623255 A	01 July 2016
		TW I534136 B	21 May 2016
		US 2016015713 A1	21 January 2016

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/113007

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102666541 A	12 September 2012	CN 103497192 B	23 September 2015
		KR 101787309 B1	18 October 2017
		EA 201491607 A1	30 July 2015
		KR 20110098809 A	01 September 2011
		MX 2011006152 A	28 July 2011
		CN 103497192 A	08 January 2014
		EP 2364314 A1	14 September 2011
		TW 201529559 A	01 August 2015
		EC SP11011189 A	31 August 2011
		US 2014316132 A1	23 October 2014
		EP 2818469 A1	31 December 2014
		JP 2014208692 A	06 November 2014
		RS 53347 B	31 October 2014
		AU 2009333559 A1	14 July 2011
		ES 2467108 T3	11 June 2014
		US 2017065592 A1	09 March 2017
		SI 2364314 T1	31 July 2014
		AP 201105745 D0	30 June 2011
		ES 2623794 T3	12 July 2017
		HK 1205737 A1	24 December 2015
		PT 2364314 E	09 June 2014
		US 8809527 B2	19 August 2014
		CN 102272134 B	16 October 2013
		EP 2491035 B1	30 August 2017
		WO 2011049825 A1	28 April 2011
		NZ 598933 A	26 April 2013
		AP 201206227 D0	30 April 2012
		US 2011098248 A1	28 April 2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/113007

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		CR 20120255 A	02 July 2012
		CN 102666541 B	25 November 2015
		JP 5694345 B2	01 April 2015
		US 8507507 B2	13 August 2013
		SI 2491035 T1	30 October 2017
		IL 218747 A	29 February 2016
		BR 112012009329 A2	07 June 2016
		US 2015126509 A1	07 May 2015
		IN 2984DEN2012 A	31 July 2015
		CO 6531469 A2	28 September 2012
		CA 2777824 A1	28 April 2011
		PT 2491035 T	30 October 2017
		KR 101793300 B1	02 November 2017
		IL 218747 D0	28 June 2012
		ES 2644286 T3	28 November 2017
		US 9161934 B2	20 October 2015
		PE 10912012 A1	17 August 2012
		MX 2012004706 A	08 June 2012
		KR 20120105448 A	25 September 2012
		EP 2491035 A1	29 August 2012
		EA 020488 B1	28 November 2014
		AP 3103 A	31 January 2015
		AU 2010310813 A1	03 May 2012
		JP 2013508373 A	07 March 2013
		CA 2777824 C	29 November 2016
		US 8962652 B2	24 February 2015
		EC SP12011915 A	31 July 2012
		US 2014128389 A1	08 May 2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/113007

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101917999 A	15 December 2010	ZA 201202858 B	27 December 2012
		SG 10201406813R A	27 November 2014
		AP 201206227 A0	30 April 2012
		EA 201290131 A1	30 August 2012
		AU 2010310813 B2	18 June 2015
		EA 201070572 A1	30 December 2010
		BR PI0820342 A2	26 May 2015
		WO 2009062118 A3	30 December 2009
		WO 2009062118 A2	14 May 2009
		JP 2011503103 A	27 January 2011
		EP 2217239 A2	18 August 2010
		AU 2008323694 A1	14 May 2009
		CA 2705303 A1	14 May 2009
		US 2010331297 A1	30 December 2010
WO 2008114008 A1	25 September 2008	SI 2132209 T1	30 May 2014
		EP 2132209 B1	12 February 2014
		PT 2132209 E	15 April 2014
		US 2010130491 A1	27 May 2010
		JP 2010522151 A	01 July 2010
		EP 2132209 A1	16 December 2009
		SI EP2132209 T1	30 May 2014
		EP 2132209 B8	16 April 2014
		JP 5480637 B2	23 April 2014
		CY 1115175 T1	14 December 2016
		US 8067413 B2	29 November 2011
		ES 2457316 T3	25 April 2014
		DK 2132209 T3	14 April 2014
		EP 3134402 A1	01 March 2017
WO 2015162075 A1	29 October 2015		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/113007

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2015137887 A1	17 September 2015	AR 100137 A1	14 September 2016
		KR 20160138317 A	02 December 2016
		TW 201544505 A	01 December 2015
		CA 2938280 A1	29 October 2015
		MX 2016013689 A	20 January 2017
		US 2015299194 A1	22 October 2015
		JP 2017513883 A	01 June 2017
		CN 106232599 A	14 December 2016
		US 9334268 B2	10 May 2016
		US 2016222010 A1	04 August 2016
		US 9447097 B2	20 September 2016
		EP 3116876 A1	18 January 2017
		SG 11201607586U A	28 October 2016
		CN 106414446 A	15 February 2017
		EP 3116876 A4	25 October 2017
		US 2017044162 A1	16 February 2017
		JP 2017510628 A	13 April 2017

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/113007

A. 主题的分类 C07D 471/04(2006.01)i; A61K 31/395(2006.01)i; A61P 31/12(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																							
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07D 471/-, A61K 31/-, A61P 31/-, A61P 35/- 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, CNKI, WPI, EPODOC, REGISTRY(STN), CAPLUS(STN): 嘧啶并吡唑, 吡啶并吡唑, TOLL, TLR, pyridine, pyrimidine, pyrazole																							
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 102272134 A (吉里德科学公司) 2011年 12月 7日 (2011 - 12 - 07) 权利要求1、21</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 102666541 A (吉里德科学公司) 2012年 9月 12日 (2012 - 09 - 12) 权利要求1、说明书第[0229]-[0872]段</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 101917999 A (弗尔德里克斯制药股份有限公司) 2010年 12月 15日 (2010 - 12 - 15) 全文</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2008114008 A1 (ASTRAZENECA AB等) 2008年 9月 25日 (2008 - 09 - 25) 全文</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2015162075 A1 (HOFFMANN LA ROCHE等) 2015年 10月 29日 (2015 - 10 - 29) 全文</td> <td>1-24</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2015137887 A1 (AGENCY FOR SCIENC, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 2015年 9月 17日 (2015 - 09 - 17) 全文</td> <td>1-24</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 102272134 A (吉里德科学公司) 2011年 12月 7日 (2011 - 12 - 07) 权利要求1、21	1-24	A	CN 102666541 A (吉里德科学公司) 2012年 9月 12日 (2012 - 09 - 12) 权利要求1、说明书第[0229]-[0872]段	1-24	A	CN 101917999 A (弗尔德里克斯制药股份有限公司) 2010年 12月 15日 (2010 - 12 - 15) 全文	1-24	A	WO 2008114008 A1 (ASTRAZENECA AB等) 2008年 9月 25日 (2008 - 09 - 25) 全文	1-24	A	WO 2015162075 A1 (HOFFMANN LA ROCHE等) 2015年 10月 29日 (2015 - 10 - 29) 全文	1-24	A	WO 2015137887 A1 (AGENCY FOR SCIENC, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 2015年 9月 17日 (2015 - 09 - 17) 全文	1-24
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
A	CN 102272134 A (吉里德科学公司) 2011年 12月 7日 (2011 - 12 - 07) 权利要求1、21	1-24																					
A	CN 102666541 A (吉里德科学公司) 2012年 9月 12日 (2012 - 09 - 12) 权利要求1、说明书第[0229]-[0872]段	1-24																					
A	CN 101917999 A (弗尔德里克斯制药股份有限公司) 2010年 12月 15日 (2010 - 12 - 15) 全文	1-24																					
A	WO 2008114008 A1 (ASTRAZENECA AB等) 2008年 9月 25日 (2008 - 09 - 25) 全文	1-24																					
A	WO 2015162075 A1 (HOFFMANN LA ROCHE等) 2015年 10月 29日 (2015 - 10 - 29) 全文	1-24																					
A	WO 2015137887 A1 (AGENCY FOR SCIENC, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 2015年 9月 17日 (2015 - 09 - 17) 全文	1-24																					
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																							
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																							
国际检索实际完成的日期 2018年 2月 1日		国际检索报告邮寄日期 2018年 2月 26日																					
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 张英姝 电话号码 (86-10)010-53962163																					

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/113007

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102272134	A	2011年 12月 7日	TW	1557117	B	2016年 11月 11日
				TW	201031667	A	2010年 9月 1日
				US	8629142	B2	2014年 1月 14日
				TW	201639852	A	2016年 11月 16日
				IL	213101	A	2014年 12月 31日
				TW	201441204	A	2014年 11月 1日
				NZ	593110	A	2013年 6月 28日
				KR	20160142898	A	2016年 12月 13日
				JP	2016172762	A	2016年 9月 29日
				EA	021377	B9	2015年 9月 30日
				IL	213101	D0	2011年 7月 31日
				IL	236272	D0	2015年 1月 29日
				AU	2009333559	B2	2015年 3月 12日
				HR	P20140539	T1	2014年 7月 18日
				PE	01062012	A1	2012年 2月 20日
				NZ	612380	A	2015年 1月 30日
				CO	6362010	A2	2012年 1月 20日
				JP	6104432	B2	2017年 3月 29日
				PT	2818469	T	2017年 5月 5日
				EA	201190021	A1	2012年 4月 30日
				SM	T201400083	B	2014年 9月 8日
				KR	101687841	B1	2016年 12月 19日
				HK	1161880	A1	2014年 7月 25日
				US	2013071354	A1	2013年 3月 21日
				TW	201623255	A	2016年 7月 1日
				TW	1534136	B	2016年 5月 21日
				US	2016015713	A1	2016年 1月 21日
				CN	103497192	B	2015年 9月 23日
				KR	101787309	B1	2017年 10月 18日
				EA	201491607	A1	2015年 7月 30日
				KR	20110098809	A	2011年 9月 1日
				MX	2011006152	A	2011年 7月 28日
				CN	103497192	A	2014年 1月 8日
				EP	2364314	A1	2011年 9月 14日
				TW	201529559	A	2015年 8月 1日
				EC	SP11011189	A	2011年 8月 31日
				US	2014316132	A1	2014年 10月 23日
				EP	2818469	A1	2014年 12月 31日
				JP	2014208692	A	2014年 11月 6日
				RS	53347	B	2014年 10月 31日
				AU	2009333559	A1	2011年 7月 14日
				ES	2467108	T3	2014年 6月 11日
				US	2017065592	A1	2017年 3月 9日
				SI	2364314	T1	2014年 7月 31日
				AP	201105745	D0	2011年 6月 30日
				ES	2623794	T3	2017年 7月 12日
				HK	1205737	A1	2015年 12月 24日
				PT	2364314	E	2014年 6月 9日
				US	8809527	B2	2014年 8月 19日
				CN	102272134	B	2013年 10月 16日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/113007

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102666541	A	2012年 9月 12日	EP	2491035	B1	2017年 8月 30日
				WO	2011049825	A1	2011年 4月 28日
				NZ	598933	A	2013年 4月 26日
				AP	201206227	D0	2012年 4月 30日
				US	2011098248	A1	2011年 4月 28日
				CR	20120255	A	2012年 7月 2日
				CN	102666541	B	2015年 11月 25日
				JP	5694345	B2	2015年 4月 1日
				US	8507507	B2	2013年 8月 13日
				SI	2491035	T1	2017年 10月 30日
				IL	218747	A	2016年 2月 29日
				BR	112012009329	A2	2016年 6月 7日
				US	2015126509	A1	2015年 5月 7日
				IN	2984DEN2012	A	2015年 7月 31日
				CO	6531469	A2	2012年 9月 28日
				CA	2777824	A1	2011年 4月 28日
				PT	2491035	T	2017年 10月 30日
				KR	101793300	B1	2017年 11月 2日
				IL	218747	D0	2012年 6月 28日
				ES	2644286	T3	2017年 11月 28日
				US	9161934	B2	2015年 10月 20日
				PE	10912012	A1	2012年 8月 17日
				MX	2012004706	A	2012年 6月 8日
				KR	20120105448	A	2012年 9月 25日
				EP	2491035	A1	2012年 8月 29日
				EA	020488	B1	2014年 11月 28日
				AP	3103	A	2015年 1月 31日
				AU	2010310813	A1	2012年 5月 3日
				JP	2013508373	A	2013年 3月 7日
				CA	2777824	C	2016年 11月 29日
				US	8962652	B2	2015年 2月 24日
				EC	SP12011915	A	2012年 7月 31日
				US	2014128389	A1	2014年 5月 8日
				ZA	201202858	B	2012年 12月 27日
				SG	10201406813R	A	2014年 11月 27日
				AP	201206227	A0	2012年 4月 30日
				EA	201290131	A1	2012年 8月 30日
				AU	2010310813	B2	2015年 6月 18日
CN	101917999	A	2010年 12月 15日	EA	201070572	A1	2010年 12月 30日
				BR	PI0820342	A2	2015年 5月 26日
				WO	2009062118	A3	2009年 12月 30日
				WO	2009062118	A2	2009年 5月 14日
				JP	2011503103	A	2011年 1月 27日
				EP	2217239	A2	2010年 8月 18日
				AU	2008323694	A1	2009年 5月 14日
				CA	2705303	A1	2009年 5月 14日
				US	2010331297	A1	2010年 12月 30日
WO	2008114008	A1	2008年 9月 25日	SI	2132209	T1	2014年 5月 30日
				EP	2132209	B1	2014年 2月 12日
				PT	2132209	E	2014年 4月 15日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2017/113007

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				US	2010130491	A1	2010年 5月 27日
				JP	2010522151	A	2010年 7月 1日
				EP	2132209	A1	2009年 12月 16日
				SI	EP2132209	T1	2014年 5月 30日
				EP	2132209	B8	2014年 4月 16日
				JP	5480637	B2	2014年 4月 23日
				CY	1115175	T1	2016年 12月 14日
				US	8067413	B2	2011年 11月 29日
				ES	2457316	T3	2014年 4月 25日
				DK	2132209	T3	2014年 4月 14日
WO	2015162075	A1	2015年 10月 29日	EP	3134402	A1	2017年 3月 1日
				AR	100137	A1	2016年 9月 14日
				KR	20160138317	A	2016年 12月 2日
				TW	201544505	A	2015年 12月 1日
				CA	2938280	A1	2015年 10月 29日
				MX	2016013689	A	2017年 1月 20日
				US	2015299194	A1	2015年 10月 22日
				JP	2017513883	A	2017年 6月 1日
				CN	106232599	A	2016年 12月 14日
				US	9334268	B2	2016年 5月 10日
				US	2016222010	A1	2016年 8月 4日
				US	9447097	B2	2016年 9月 20日
				EP	3116876	A1	2017年 1月 18日
WO	2015137887	A1	2015年 9月 17日	SG	11201607586U	A	2016年 10月 28日
				CN	106414446	A	2017年 2月 15日
				EP	3116876	A4	2017年 10月 25日
				US	2017044162	A1	2017年 2月 16日
				JP	2017510628	A	2017年 4月 13日