

(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
2024 年 2 月 29 日 (29.02.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/040768 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 401/14 (2006.01)	A61P 29/00 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)	A61P 19/02 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)	A61P 19/08 (2006.01)
C07D 491/048 (2006.01)	A61P 21/00 (2006.01)
C07D 495/04 (2006.01)	A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)	C07D 213/16 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)	C07F 9/58 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)	C07H 19/048 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/133423

(22) 国际申请日: 2022 年 11 月 22 日 (22.11.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202211018173.7 2022年8月24日 (24.08.2022) CN

(71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(72) 发明人: 李志裕 (LI, Zhiyu); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 卞金磊 (BIAN, Jinlei); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 胡天星 (HU, Tianxing); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 刘迈 (LIU, Mai); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 宋佳星 (SONG, Jiaxing); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 邱志霞 (QIU, Zhixia); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 吴红茜 (WU, Hongqian); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 徐熙 (XU, Xi); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。 王举波 (WANG, Jubo); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道639号, Jiangsu 211198 (CN)。

(74) 代理人: 南京苏高专利商标事务所 (普通合伙) (NANJING SUGAO PATENT AND TRADEMARK FIRM (ORDINARY PARTNERSHIP)); 中国江

(54) Title: 5-PYRIDINE-1H-INDAZOLE COMPOUND, PHARMACEUTICAL COMPOSITION, AND USE

(54) 发明名称: 5-吡啶-1H-吲唑类化合物、药物组合物和应用

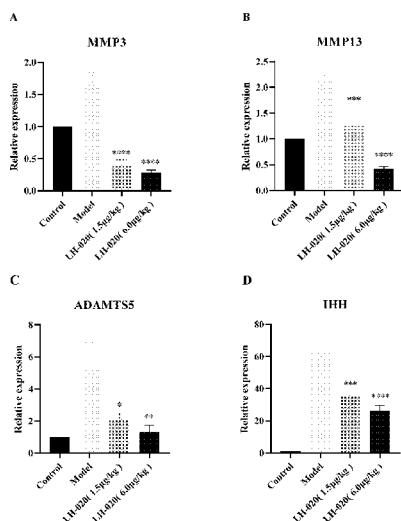
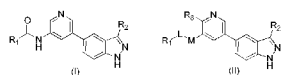


图 1



(57) Abstract: Disclosed in the present invention are a 5-pyridine-1H-indazole compound, a pharmaceutical composition, and a use. The structure of the compound is represented by formula I or II, and also comprised are an isomer or pharmaceutically acceptable salt thereof, or a mixture of said isomer and salt. The compound and the pharmaceutical composition thereof can effectively inhibit the activity of CLK2 and DYRK1A proteins, can be used for preparing drugs for treating osteoarthritis, can show the efficacy at a molecular level, has a more excellent therapeutic effect, and optimally, can reach a nano-molar concentration level. In addition, a preparation method for the compound is simple, convenient and easy to operate.

(57) 摘要: 本发明公开了一种5-吡啶-1H-吲唑类化合物、药物组合物和应用。该化合物结构如式I或II, 其还包含其异构体、药学上可接受的盐或它们的混合物。该类化合物及其药物组合物可有效抑制CLK2蛋白及DYRK1A蛋白活性, 可制备为治疗骨关节炎的药物, 在分子水平可以发挥药效, 并且治疗效果更优异, 最优可达到纳摩尔浓度水平。此外, 化合物制备方法简便、易操作。

苏省南京市白下区中山东路198号龙台国际大厦1912室, Jiangsu 210005 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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))。

5-吡啶-1H-吡唑类化合物、药物组合物和应用

技术领域

本发明涉及一种 5-吡啶-1H-吡唑类化合物、药物组合物和应用，尤其涉及一种可制备为能够有效抑制 CLK2 或 DYRK1A 蛋白活性的 5-吡啶-1H-吡唑类化合物、药物组合物和应用。

背景技术

骨关节炎（Osteoarthritis, OA）以滑膜炎、软骨损失、软骨下骨重塑为特征。OA 患者滑膜富含丰富的干细胞，关节软骨不能再生并不是由于干细胞供应不足，而是由于干细胞分化不当所致。Wnt 通路在器官发生、细胞分化和组织重塑中发挥着核心作用，Wnt 信号通路的异常激活或抑制都会导致该疾病的发生。因此，Wnt 信号通路是治疗骨关节炎的潜在靶点。

Wnt 信号传导途径是由配体蛋白质 Wnt 和膜蛋白受体结合激发的一组下游通道的信号传导途径。经此途径，细胞表面受体胞内的活化过程将细胞外信号传递到细胞内。在经典的 Wnt 通路中，当细胞膜表面无 Wnt 蛋白时，其下游的 β -Catenin 蛋白在细胞质中会被糖原合酶 3（GSK3）复合物分解，导致其不能进入细胞核启动相关 Wnt 基因的转录；而细胞膜表面存在 Wnt 蛋白时，其会抑制 GSK3 复合物，从而使 β -Catenin 蛋白在细胞核内积聚，最终启动 Wnt 通路相关基因的转录。骨关节的稳态与 Wnt 通路存在着微妙的平衡，这一平衡被打破有可能导致 OA 的发生。

蛋白激酶家族 CLK（CDK-like kinase）是一种双特异性蛋白激酶，可通过酪氨酸、丝氨酸或苏氨酸残基底物蛋白磷酸化调控细胞内信号转导；其可分为四个亚型（CLK1, CLK2, CLK3 和 CLK4），此四个亚型编码的蛋白质 C 段都有一个高度保守的基因序列，并且具有同样一个结构类似的氨基酸序列。其中 CLK2 亚型存在于大部分真核生物中，其参与对 SR（丝氨酸/精氨酸）蛋白结构域的磷酸化从而调节 RNA 的选择性剪切，在肝脏中糖异生和脂肪酸的氧化发挥着重要作用，同时也是肝癌、乳腺癌及阿尔茨海默病的治疗靶点，还是 Wnt 通路和骨关节炎的潜在治疗靶点。

双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶 1A（Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation Regulated Kinase 1A, DYRK1A）属于 DYRK 家族，其在进化上高度保守，在哺乳动物中，DYRK 家族有五种不同的亚型，只有 DYRK1A 位于人 21 号染色体的 DSCR 区域。DYRK1A 由 *dyrk1a* 基因表达，编码的成熟蛋白由 763 个氨基酸组成，包括一个蛋白激酶结构域以及其他特殊结构。许多重要蛋白可作为 DYRK1A 的底物，并受其调控而参与细胞中的多种生物学功能。例如神经发育、细胞增殖与分化、肿瘤发生以及神经退行性疾病等。

目前尚无用于治疗骨关节炎的 CLK2 抑制剂药物成功上市，仅有一个小分子药物 SM-04690 进入临床 III 期，因此不能满足临床需求。SM04690 虽然具有显著的 CLK2 抑制活性，但对 CLK 家族的选择性不足，这导致其有可能存在一定的副作用；此外其对 DYRK1A 靶点的抑制活性不足，水溶性不良，因此其成药性有待改善。

发明内容

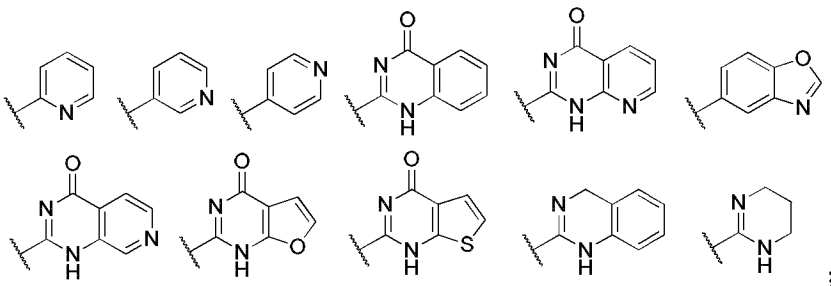
发明目的：针对现有化合物存在的 CLK 家族选择性不足以及对 DYRK1A 靶点的抑制活性不足等问题，本发明旨在提供一种具有特异性抑制 CLK2、DYRK1A 蛋白活性的 5-吡啶-1H-吡唑类化合物、药物组合物和应用。

技术方案：作为本发明涉及的第一方面，本发明的 5-吡啶-1H-咪唑类化合物具有式 I 或 II 的结构，还包含其异构体、药学上可接受的盐或它们的混合物：

其中, R_1 选自被一个或多个氢、卤素、甲氧基、三氟甲基、硝基、羟基、氨基、叠氮基、磺酸基、3-6 元环取代的如下基团: 氢、直链或支链 C_1 - C_{10} 烷基、苯基、4-6 元杂环或 4-6 元环;

L、M选自-CH₂-、-NH-、-O-或化学键；

R₂选自如下基团:



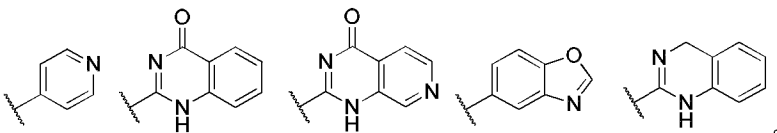
R₃选自氢或C₁-C₄烷基。

本发明通过合理的药物设计，合成了系列衍生物，生物活性评价显示，所设计化合物具有显著的 CLK2 抑制活性，对 CLK 家族成员具有较好的选择性，同时具有显著的 DYRK1A 抑制活性。

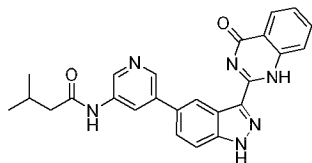
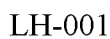
优选，上述化合物的结构中：

R₁选自异丁基、环丙基甲基、环戊基、 α -氨基异戊基、3,3-二氟四氢吡咯基、氢、吗啉基、甲基、叔丁基、乙磺酰基或羟基;

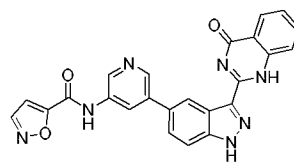
R₂选自如下基团:



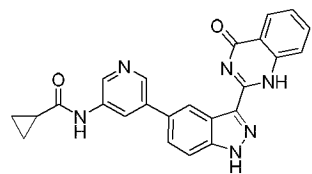
更优选，上述化合物选自以下任一化合物：



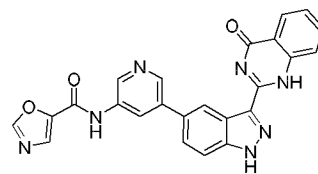
LH-03 1



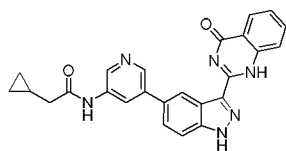
LH-002



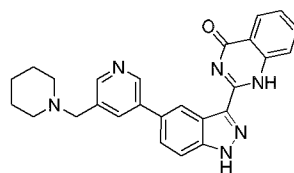
LH-032



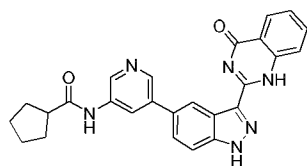
LH-003



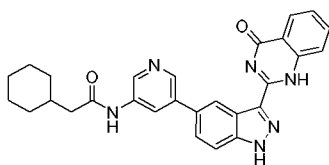
LH-033



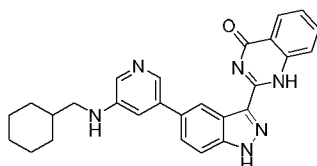
LH-004



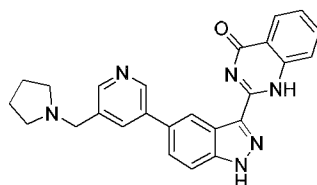
LH-005



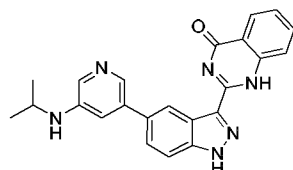
LH-006



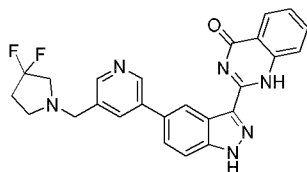
LH-007



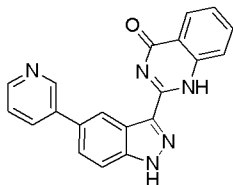
LH-008



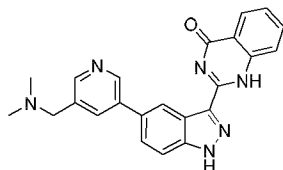
LH-009



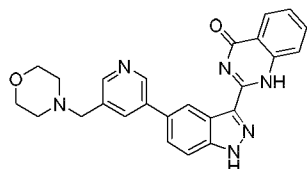
LH-010



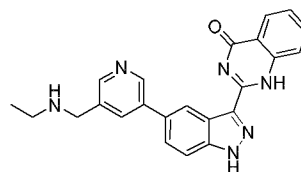
LH-011



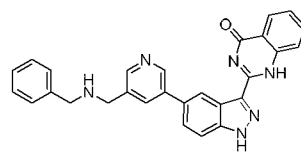
LH-012



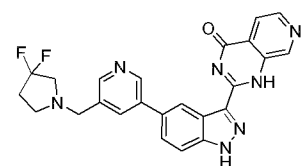
LH-034



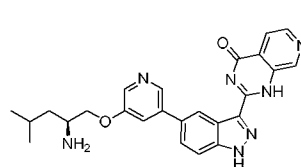
LH-035



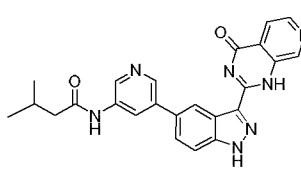
LH-036



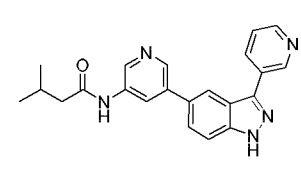
LH-037



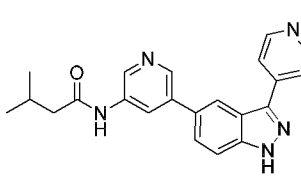
LH-038



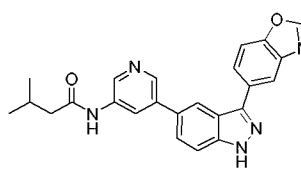
LH-039



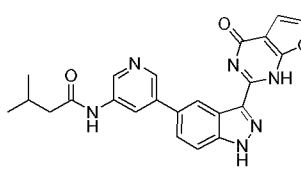
LH-040



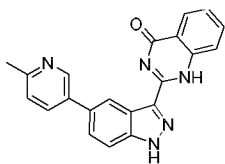
LH-041



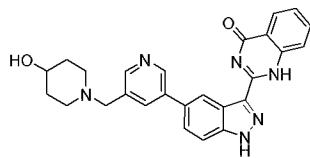
LH-042



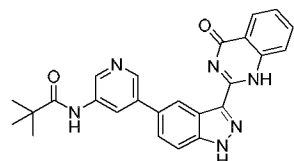
LH-013



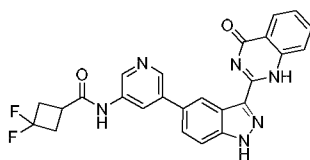
LH-014



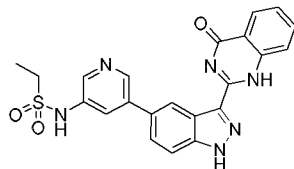
LH-015



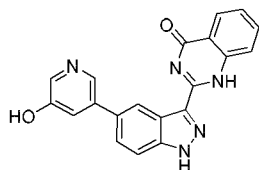
LH-016



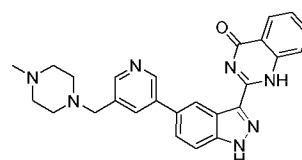
LH-017



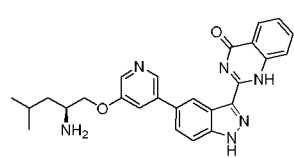
LH-018



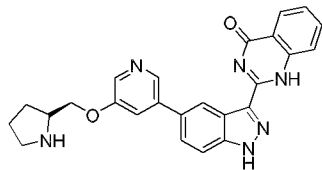
LH-019



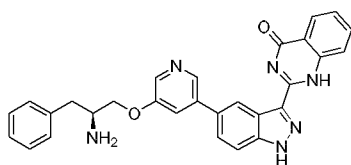
LH-020



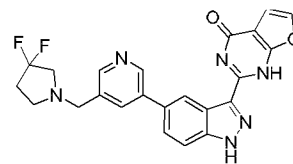
LH-021



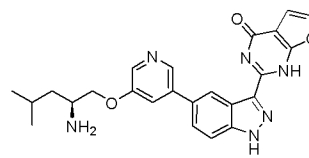
LH-022



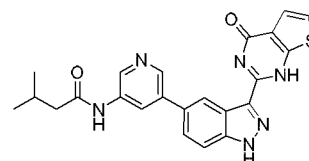
LH-043



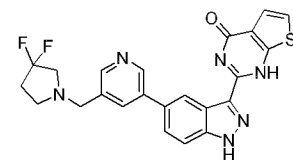
LH-044



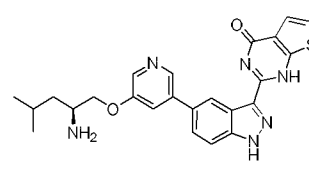
LH-045



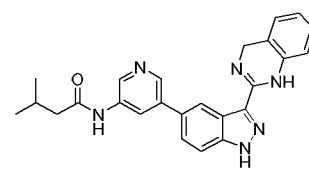
LH-046



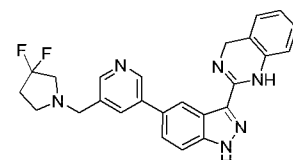
LH-047



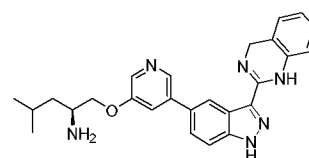
LH-048



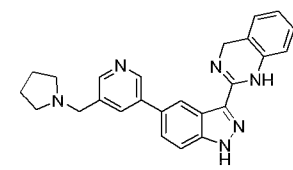
LH-049



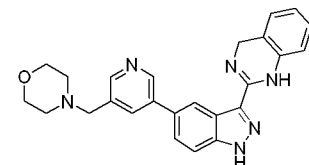
LH-050



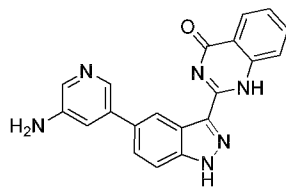
LH-051



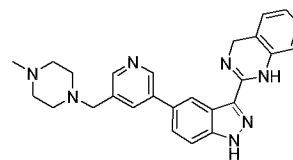
LH-052



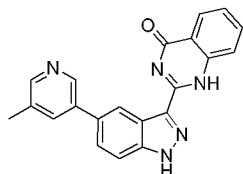
LH-023



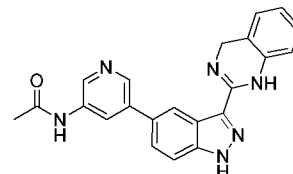
LH-053



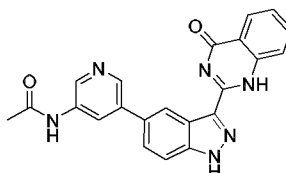
LH-024



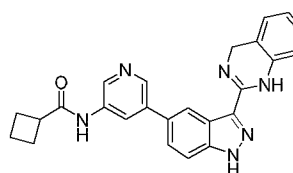
LH-054



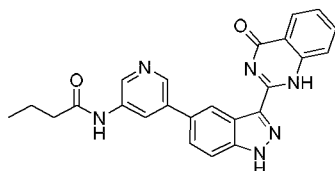
LH-025



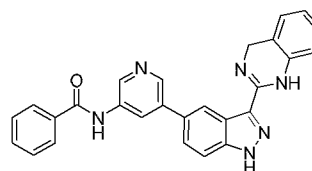
LH-055



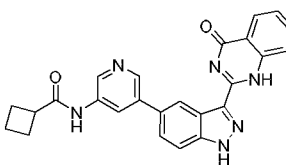
LH-026



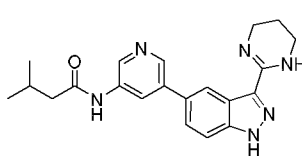
LH-056



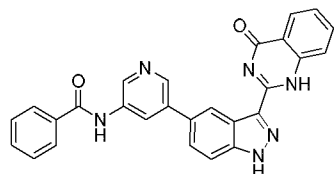
LH-027



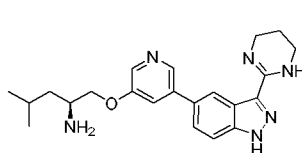
LH-057



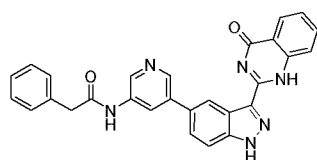
LH-028



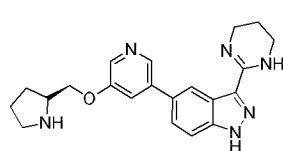
LH-058



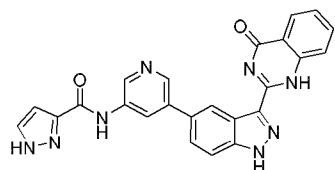
LH-029



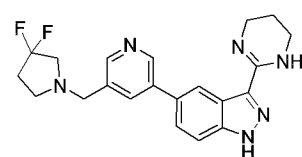
LH-059



LH-030



LH-060



上述化合物的药学上可接受的盐为上述化合物与以下酸形成的盐：盐酸、硫酸、磷酸、碳酸、硝酸、氢溴酸、氢碘酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、萘磺酸、琥珀酸、乙酸、扁桃酸、异丁酸或丙二酸。

作为本发明涉及的第二方面，上述化合物以及药学上可接受的载体形成药物组合物，制成常见的药用制剂，如片剂、胶囊、糖浆、悬浮剂或注射剂，制剂可

以加入香料、甜味剂、液体/固体填料、稀释剂等常用药用辅料。

作为本发明涉及的第三方面，上述化合物或者其药物组合物可在制备为 CLK2 蛋白抑制剂药物，还可以制备为 DYRK1A 蛋白抑制剂药物，具体用于治疗炎症，包括骨关节炎、肌腱病或类风湿性关节炎，具有软骨保护的作用。

有益效果：与现有技术相比，本发明具有如下显著优点：

(1) 该类化合物及其药物组合物可有效抑制 CLK2 蛋白及 DYRK1A 蛋白活性，酶水平抑制 IC_{50} 值均小于 100 nM，最优小于 10 nM；还可以显著下调炎症模型动物体内与软骨分解相关的蛋白酶的表达式，发挥软骨保护作用；

(2) 该类化合物及其药物组合物应用广泛，可制备为治疗骨关节炎的药物，在分子水平和动物水平可以发挥药效，并且治疗效果更优异，最优可达到纳摩尔浓度水平；

(3) 化合物制备方法简便、易操作。

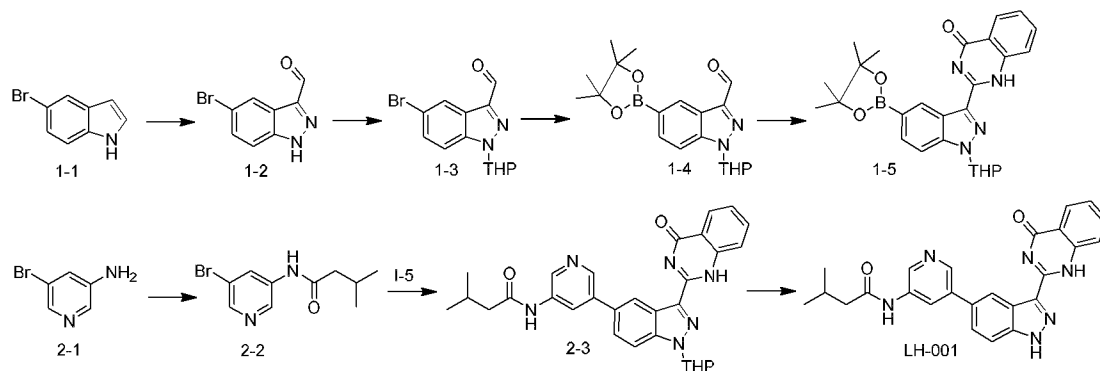
附图说明

图 1 为 ACLT 模型大鼠第 5 周软骨 RT-qPCR 结果 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$)。

具体实施方式

下面结合实施例对本发明的技术方案作进一步说明。

实施例 1：LH-001 的合成



中间体 1-2 的合成：

将原料 1-1 (5-溴吲哚, 0.1 mmol)、丙酮加入到三口瓶中，冰盐浴降温至 0 °C 下，滴加亚硝酸钠水溶液 (0.8 mmol)，保持温度不超过 0 °C。滴加完毕后，继续滴加稀盐酸 (2N HCl)。随后升温至室温下反应 4 h。旋干、抽滤得粗品。粗品经二氯甲烷打浆得棕红色固体 1-2。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.29 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.44 – 7.31 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_8\text{H}_6\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 224.9664, found 224.9657。收率 67%。

中间体 1-3 的合成：

中间体 1-2 (0.1 mmol) 加入三口瓶中，加入四氢呋喃 (80 mL)、对甲基苯磺酸 (0.02 mmol)，室温下滴加 3,4-二氢吡喃 (0.2 mmol)，随后升温至 65 °C 下反应 8 h。TLC 监测反应完全后，减压蒸除溶剂，经硅胶柱层析纯化得中间体 I-3 粗品，粗品经石油醚打浆后得白色固体 I-3。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.80 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 6.27 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.90 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.77 (dt, $J = 11.5, 7.0$ Hz, 1H), 2.52 – 2.32 (m, 1H), 2.12 – 1.91 (m, 2H), 1.83 – 1.64 (m, 1H), 1.58 – 1.53 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BrN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 309.0239, found 309.0239。收率 74%。

中间体 I-4 的合成：

将中间体 1-3 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 加入联硼酸频那醇酯 (0.12 mmol)、乙酸钾 (0.3 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (0.005 mmol)、二氧六环 (26 mL)。升温至回流反应 6 h, TLC 监测反应完全后, 降温抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化的白色固体 1-4。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.99 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.27 (dd, *J* = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 6.25 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.90 (dt, *J* = 11.4, 7.0 Hz, 1H), 3.77 (dt, *J* = 11.4, 7.0 Hz, 1H), 2.52 – 2.32 (m, 1H), 2.12 – 1.91 (m, 2H), 1.86 – 1.48 (m, 3H), 1.41 (d, *J* = 15.1 Hz, 12H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₁₉H₂₆BN₂O₄ [M+H]⁺: 357.1986, found 357.1983。收率 89%。

中间体 I-5 的合成:

将中间体 1-4 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 用乙醇: 二氯甲烷 (5: 1) 混合溶剂将其溶解, 然后加入邻氨基苯甲酰胺 (0.1 mmol), 碘单质 (0.1 mmol), 于 80 °C 回流反应 30 min-60 min, TLC 反应完全后, 加入 5% 硫代硫酸钠淬灭反应, 然后用二氯与饱和食盐水萃取, 合并有机相, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得粗品, 粗品经 (石油醚: 乙酸乙酯 = 1: 1) 打浆得纯品 I-5。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.35 (s, 1H), 8.13 (dd, *J* = 7.6, 1.9 Hz, 2H), 7.66 (dd, *J* = 7.5, 2.1 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.50 – 7.32 (m, 2H), 7.13 (td, *J* = 7.5, 2.0 Hz, 1H), 6.31 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.90 (dt, *J* = 11.4, 7.0 Hz, 1H), 3.77 (dt, *J* = 11.4, 7.0 Hz, 1H), 2.52 – 2.32 (m, 1H), 2.12 – 1.91 (m, 2H), 1.86 – 1.48 (m, 3H), 1.42 (d, *J* = 15.1 Hz, 12H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₂₆H₃₀BN₄O₄ [M+H]⁺: 473.2360, found 473.2357。收率 68%。

中间体 2-2 的合成:

将异戊酸 (0.1 mmol), HATU (0.3 mmol) 溶解在 40 ml 的四氢呋喃中, 然后加入 DIPEA (0.3 mmol), 室温搅约 15 分钟, 然后加入原料 2-1 (0.1 mmol), 室温搅拌反应 1-3 小时, 待 TLC 检测原料 2-1 反应完全, 停止反应, 柱层析分离纯化后可得中间体 2-2。

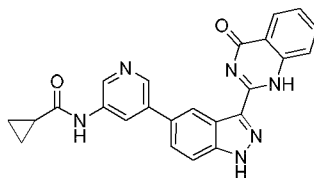
中间体 2-3 的合成:

将中间体 2-2 (0.1 mmol)、中间体 1-5 (0.1 mmol)、碳酸钠 (0.3 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (0.005 mmol)、二氧六环 (9 mL)、水 (1.5 mL) 加入到单口瓶中, 氮气置换空气 4 次, 升温至回流下反应 8 h。降温后抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化得到中间体 2-3。

LH-001 的合成:

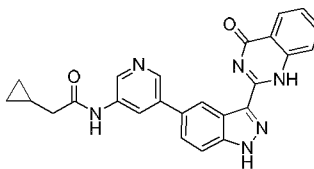
将中间体 2-3 (0.1 mmol) 溶解于 5 ml 二氯甲烷中, 于常温下加入三氟乙酸 (1 mmol), 三乙基硅烷 (0.1 mmol), 室温反应 16-24 小时, TLC 检测反应完全后, 减压浓缩, 并用二氯甲烷与饱和碳酸氢钠萃取, 合并有机相, 干燥浓缩得终产 LH-001。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.16 (s, 1H), 10.57 (s, 1H), 8.93 (t, *J* = 12.4 Hz, 3H), 8.67 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.26 – 8.17 (m, 1H), 7.98 – 7.82 (m, 4H), 7.61 – 7.51 (m, 1H), 6.30 (s, 1H), 2.34 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.17 (m, H), 1.03 (s, 3H), 1.01 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₂₅H₂₃N₆O₂ [M+H]⁺: 439.1882, found 439.1875。

采用与实施例 1 相似的操作, 制得下列化合物:



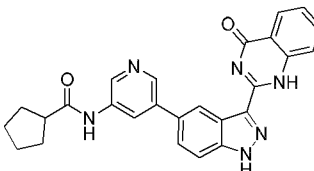
LH-002

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.25 (s, 1H), 12.27 (s, 1H), 10.69 (s, 1H), 8.91 – 8.82 (m, 2H), 8.66 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.4$ Hz, 3H), 7.62 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.39 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 1.90 (q, $J = 6.2$ Hz, 1H), 0.91 (q, $J = 7.9, 5.5$ Hz, 4H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 423.1569, found 423.1562.



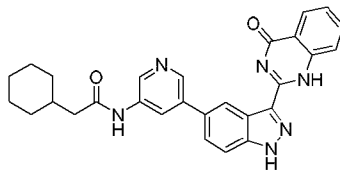
LH-003

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.28 (s, 1H), 12.29 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.61 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.83 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.70 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 8.03 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.71 – 7.55 (m, 3H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.15 (m, 1H), 0.62 – 0.44 (m, 2H), 0.32 – 0.27 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 437.1726, found 437.1722.



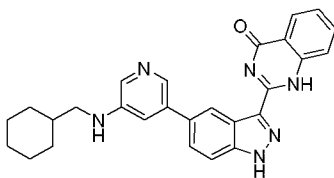
LH-004

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.16 (s, 1H), 10.56 (s, 1H), 8.93 (s, 2H), 8.67 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 10.6$ Hz, 3H), 7.56 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 5.78 (s, 2H), 2.91 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 1.99 – 1.57 (m, 8H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 451.1882, found 451.1879.



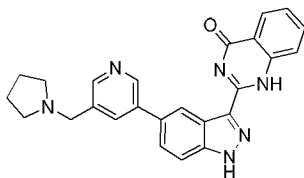
LH-005

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.43 (s, 1H), 11.66 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J = 7.7, 8.3$ Hz, 4H), 7.55 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 2.32 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.86 – 1.66 (m, 6H), 1.25 (q, $J = 11.6, 10.8$ Hz, 3H), 1.05 (q, $J = 11.3$ Hz, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 479.2195, found 479.2191.



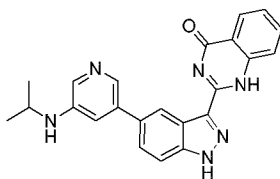
LH-006

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.08 (s, 1H), 12.21 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 8.04 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H), 7.82 (s, 2H), 7.57 (dt, $J = 8.2, 4.1$ Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 3.05 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 1.88 (d, $J = 12.6$ Hz, 2H), 1.77 – 1.60 (m, 5H), 1.26 (t, $J = 10.7$ Hz, 3H), 1.02 (dt, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 451.2246, found 451.2241.



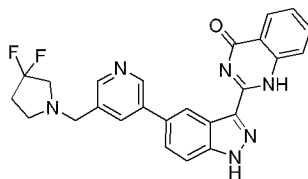
LH-007

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.11 (s, 1H), 12.22 (s, 1H), 8.90 (d, $J = 10.1$ Hz, 2H), 8.58 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.86 (dd, $J = 14.2, 7.9$ Hz, 4H), 7.57 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.86 (s, 2H), 2.64 (s, 4H), 1.80 (d, $J = 5.3$ Hz, 4H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 423.1933, found 423.1928.



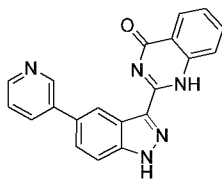
LH-008

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.15 (s, 1H), 12.63 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.01 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J = 2.6$ Hz, 2H), 7.55 (dq, $J = 8.0, 3.8, 3.2$ Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 5.88 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 3.75 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.25 (s, 3H), 1.23 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 397.1777, found 397.1769.



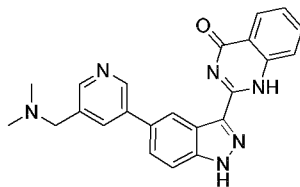
LH-009

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.14 (s, 1H), 12.21 (s, 1H), 8.96 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.24 – 8.13 (m, 2H), 7.88 – 7.69 (m, 4H), 7.59 – 7.52 (m, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.11 (t, $J = 13.2$ Hz, 2H), 2.94 – 2.88 (m, 2H), 2.43 – 2.36 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 459.1745, found 459.1739.



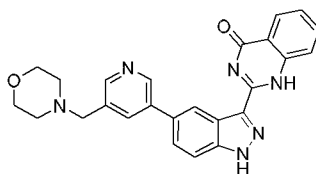
LH-010

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.27 (s, 1H), 12.28 (s, 1H), 9.00 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.65 – 8.58 (m, 1H), 8.23 – 8.12 (m, 2H), 7.83 (dd, $J = 9.9, 6.4$ Hz, 3H), 7.73 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J = 8.0, 4.8$ Hz, 1H), 7.49 – 7.42 (m, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 340.1198, found 340.1192.



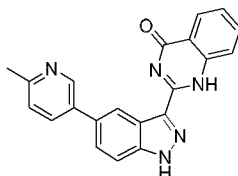
LH-011

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.28 (s, 1H), 12.14 (s, 1H), 8.89 (s, 2H), 8.52 (s, 1H), 8.17 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.84 – 7.69 (m, 4H), 7.45 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 3.58 (s, 2H), 2.25 (s, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 397.1777, found 397.1771.



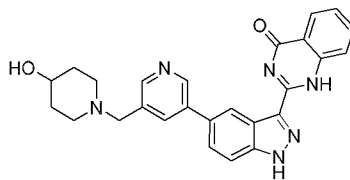
LH-012

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.09 (s, 1H), 12.25 (s, 1H), 8.91 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.57 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.93 – 7.81 (m, 6H), 7.57 – 7.51 (m, 1H), 3.72 (s, 2H), 3.64 (d, $J = 4.7$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 439.1882, found 439.1879.



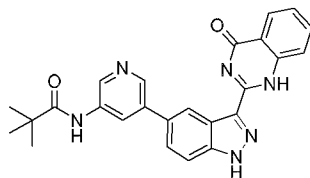
LH-013

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.11 (s, 1H), 12.22 (s, 1H), 8.61 – 8.47 (m, 3H), 8.19 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.91 – 7.78 (m, 3H), 7.55 (dt, $J = 11.2, 5.3$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 354.1355, found 354.1348.



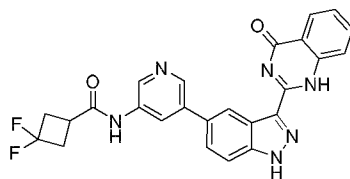
LH-014

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.11 (s, 1H), 12.29 (s, 1H), 8.92 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 8.59 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J = 7.4$ Hz, 4H), 7.57 (ddd, $J = 8.2, 6.0, 2.2$ Hz, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.65 (s, 2H), 1.81 (s, 2H), 1.53 (s, 3H), 1.25 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 453.2039, found 453.2041.



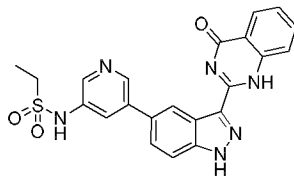
LH-015

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.14 (s, 1H), 12.20 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 8.98 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H), 8.77 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.29 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.04 – 7.89 (m, 4H), 7.63 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 1.44 – 1.36 (m, 9H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 439.1882, found 439.1878.



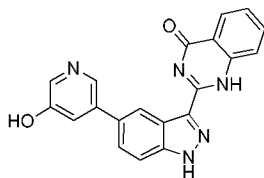
LH-016

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.21 (s, 1H), 12.29 (s, 1H), 10.85 (s, 1H), 8.89 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.73 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 7.2$ Hz, 4H), 7.63 – 7.50 (m, 1H), 2.93 – 2.85 (m, 3H), 1.23 (s, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 473.1538, found 473.1532.



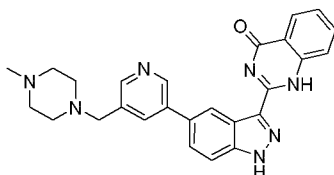
LH-017

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.14 (s, 1H), 12.31 (s, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 12.0$ Hz, 4H), 7.58 (s, 1H), 3.31 (s, 2H), 1.25 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 447.1239, found 447.1231.



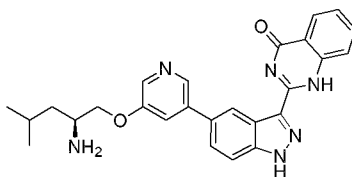
LH-018

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.73 (s, 1H), 12.25 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.14 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.74 (d, J = 4.3 Hz, 3H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 356.1147, found 356.1141.



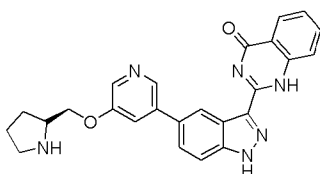
LH-019

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.22 (s, 1H), 12.32 (s, 1H), 9.03 – 8.92 (m, 2H), 8.65 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.18 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 8.02 – 7.90 (m, 4H), 7.65 – 7.59 (m, 1H), 3.81 (s, 2H), 2.95 (s, 4H), 2.72 (s, 4H), 2.61 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 452.2199, found 452.2203.



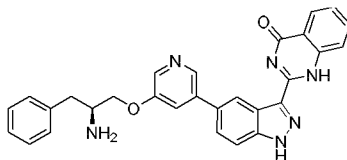
LH-020

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.16 (s, 1H), 12.30 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.67 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 8.43 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.23 – 8.18 (m, 2H), 7.93 – 7.84 (m, 4H), 7.61 – 7.53 (m, 1H), 4.46 (dd, J = 10.7, 3.2 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 10.6, 6.7 Hz, 1H), 3.66 (s, 1H), 2.91 (s, 1H), 2.75 (s, 1H), 1.83 – 1.60 (m, 3H), 0.98 (d, J = 1.9 Hz, 3H), 0.96 (d, J = 2.0 Hz, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 455.2195, found 455.2191.



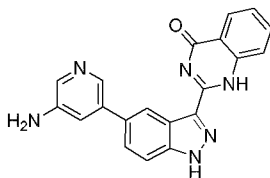
LH-021

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.36 (s, 1H), 12.18 (s, 1H), 8.57 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 8.22 – 8.08 (m, 2H), 7.72 – 7.52 (m, 4H), 7.45 (td, J = 7.5, 2.0 Hz, 1H), 7.14 (td, J = 7.5, 2.0 Hz, 1H), 4.33 (dd, J = 12.4, 7.0 Hz, 1H), 4.16 (dd, J = 12.4, 7.0 Hz, 1H), 3.25 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 2.97 (dt, J = 9.4, 6.9 Hz, 1H), 2.79 (dt, J = 9.3, 6.9 Hz, 1H), 1.77 – 1.65 (m, 3H), 1.41 (ddd, J = 12.3, 7.6, 6.3 Hz, 1H), 1.19 (s, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 439.1882, found 439.1878.



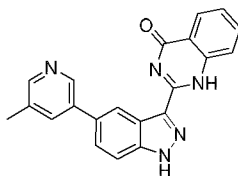
LH-022

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.05 (s, 1H), 12.53 (s, 1H), 8.78 – 8.71 (m, 1H), 8.59 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.18 – 8.05 (m, 2H), 7.71 – 7.51 (m, 4H), 7.44 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.35 – 7.22 (m, 2H), 7.22 – 7.07 (m, 4H), 4.26 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.07 (dd, $J = 12.4, 6.9$ Hz, 1H), 3.67 – 3.61 (m, 1H), 3.11 – 2.98 (m, 1H), 2.81 – 2.71 (m, 1H), 1.54 (s, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 4897.2039, found 489.2029.



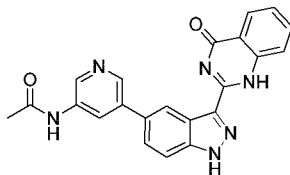
LH-023

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.16 (s, 1H), 12.38 (s, 1H), 8.79 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 8.52 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.71 – 7.53 (m, 3H), 7.51 – 7.39 (m, 2H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 3.50 (s, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 355.1307, found 355.1301.



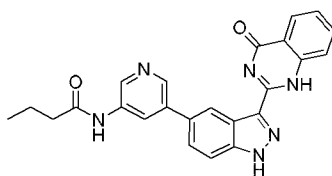
LH-024

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.42 (s, 1H), 12.27 (s, 1H), 8.83 – 8.73 (m, 2H), 8.48 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.89 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.63 – 7.50 (m, 2H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 2.48 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 354.1355, found 354.1350.



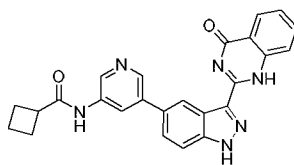
LH-025

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.52 (s, 1H), 12.22 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.58 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.87 – 8.79 (m, 1H), 8.70 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 8.04 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.71 – 7.55 (m, 3H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 2.20 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 397.1413, found 397.1410.



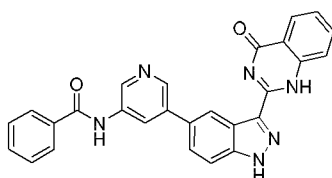
LH-026

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.62 (s, 1H), 12.12 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.60 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.76 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.68 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 7.91 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.65 – 7.49 (m, 2H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 2.37 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 1.69 – 1.55 (m, 2H), 0.98 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 425.1726, found 425.1720.



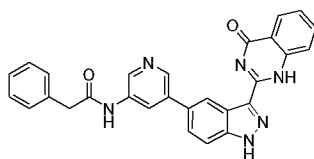
LH-027

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.55 (s, 1H), 12.14 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.62 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.76 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.68 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.91 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.71 – 7.55 (m, 2H), 7.54 (dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 3.22 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 2.55 – 2.37 (m, 2H), 2.17 – 1.82 (m, 4H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 437.1726, found 437.1719.



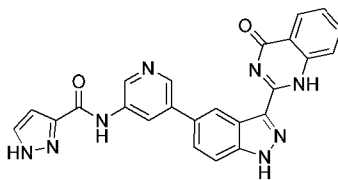
LH-028

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.25 (s, 1H), 12.25 (s, 1H), 9.50 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.86 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.71 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H), 8.06 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.02 – 7.90 (m, 2H), 7.71 – 7.40 (m, 6H), 7.31 (ddt, $J = 9.6, 7.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.15 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 459.1569, found 459.1560.



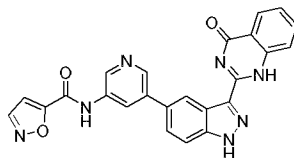
LH-029

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.56 (s, 1H), 12.17 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.61 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.71 (dd, $J = 14.1, 1.4$ Hz, 2H), 8.13 (dd, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.81 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.71 – 7.28 (m, 6H), 7.28 – 7.07 (m, 4H), 3.76 (s, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 473.1726, found 473.1719.



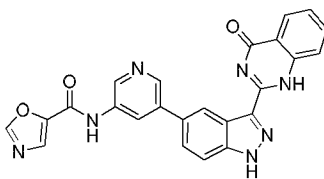
LH-030

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.16 (s, 1H), 12.12 (s, 1H), 12.35 (s, 1H), 9.53 – 9.42 (m, 2H), 8.83 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.70 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.19 – 8.02 (m, 2H), 7.71 – 7.55 (m, 3H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_8\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 449.1474, found 449.1470.



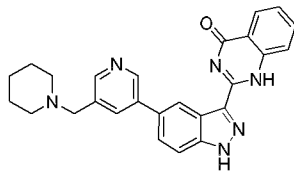
LH-031

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.11 (s, 1H), 12.27 (s, 1H), 9.48 (d, $J = 1.3$ Hz, 2H), 8.90 (s, 1H), 8.80 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H), 8.71 (d, $J = 1.3$ Hz, 2H), 8.13 (dd, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 2H), 7.96 (t, $J = 1.3$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.45 (s, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_7\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 450.1315, found 450.1310.



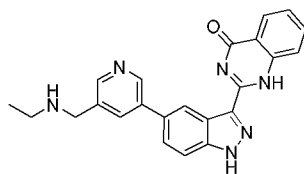
LH-032

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.11 (s, 1H), 12.27 (s, 1H), 9.49 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.79 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.70 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.95 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.71 – 7.50 (m, 3H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_7\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 450.1315, found 450.1309.



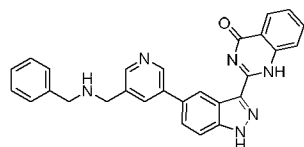
LH-033

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.14 (s, 1H), 12.25 (s, 1H), 8.88 – 8.74 (m, 2H), 8.71 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.23 – 8.13 (m, 2H), 7.71 – 7.51 (m, 3H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 2.43 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 1.62 – 1.36 (m, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 437.2090, found 437.2088.



LH-034

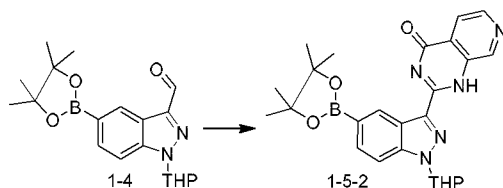
^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.63 (s, 1H), 12.32 (s, 1H), 8.86 – 8.70 (m, 3H), 8.18 – 8.04 (m, 2H), 7.71 – 7.51 (m, 3H), 7.45 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 3.65 (s, 2H), 2.59 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.37 (s, 1H), 1.11 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 397.1777, found 397.1770.



LH-035

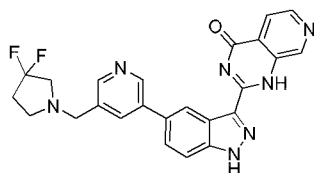
^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.51 (s, 1H), 12.31 (s, 1H), 8.84 – 8.74 (m, 2H), 8.65 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.20 – 8.09 (m, 2H), 7.71 – 7.56 (m, 3H), 7.51 – 7.20 (m, 6H), 7.14 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 3.65 (s, 4H), 1.69 (s, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 459.1933, found 459.1926.

实施例 2: LH-036 的合成



将中间体 1-4 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 用 5 mL 二甲基乙酰胺将其溶解, 然后加入 3-氨基吡啶-4-甲酰胺 (0.15 mmol), 对甲苯磺酸水合物 (0.15 mmol), 亚硫酸氢钠 (0.15 mmol) 于 120 °C 反应 6-8 小时, TLC 反应完全后, 用乙酸乙酯与饱和食盐水萃取三次, 合并有机相, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得中间体 1-5-2。
 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.31 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.41 – 8.27 (m, 2H), 8.13 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 7.5, 1.6$ Hz, 1H), 6.31 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.90 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.77 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 2.52 – 2.32 (m, 1H), 2.12 – 1.91 (m, 2H), 1.86 – 1.48 (m, 3H), 1.42 (d, $J = 14.9$ Hz, 12H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{BN}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 474.2313, found 474.2310. 收率 75%。

其余步骤与实施例 1 相同, 得到化合物 LH-036。

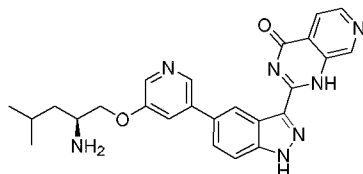


LH-036

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.19 (s, 1H), 12.66 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.97

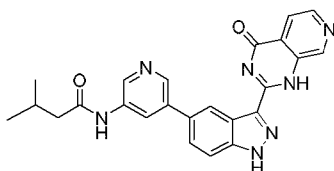
(s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.69 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 8.61 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.88 (q, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.95 (s, 2H), 3.17 – 3.08 (m, 2H), 2.93 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.38 (dq, $J = 15.3, 7.9, 7.4$ Hz, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{24}H_{20}F_2N_7O$ $[M+H]^+$: 460.1697, found 460.1690.

采用与实施例 2 相似的操作, 制得下列化合物:



LH-037

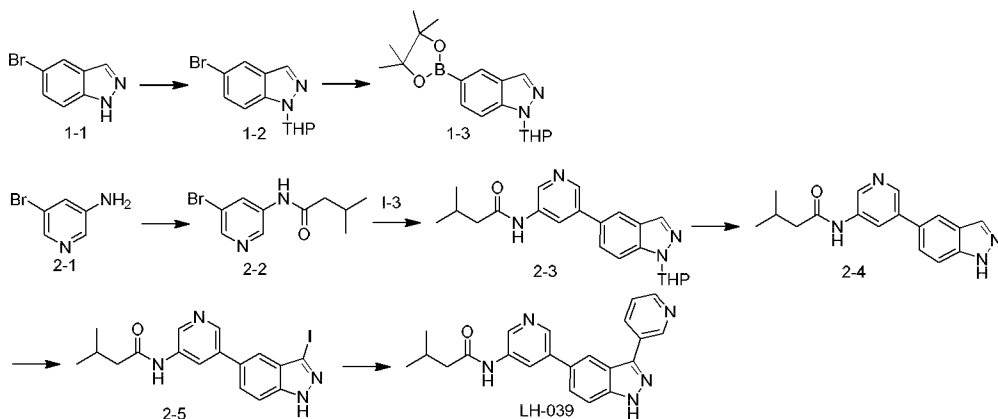
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.55 (s, 1H), 12.33 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.76 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.65 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J = 16.8, 1.2$ Hz, 3H), 4.33 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.08 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.23 – 3.13 (m, 1H), 1.73 – 1.58 (m, 2H), 1.58 – 1.40 (m, 1H), 1.34 (s, 2H), 0.99 – 0.82 (m, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{25}H_{26}N_7O_2$ $[M+H]^+$: 456.2148, found 456.2140.



LH-038

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.34 (s, 1H), 12.21 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.64 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.82 – 8.70 (m, 2H), 8.40 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 2.22 – 2.05 (m, 3H), 1.08 – 0.93 (m, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{24}H_{22}N_7O_2$ $[M+H]^+$: 440.1835, found 440.1835.

实施例 3: LH-039 的合成



中间体 1-2 的合成:

中间体 1-1 (0.1 mmol) 加入三口瓶中, 加入四氢呋喃 (50 mL)、对甲基苯磺酸 (0.02 mmol), 室温下滴加 3,4-二氢吡喃 (0.2 mmol), 并在 65 °C 下反应 8 h。TLC 反应完全后, 减压蒸除溶剂, 经硅胶柱层析纯化得白色固体 I-2。 ^1H NMR (300

MHz, DMSO- d_6) δ 7.97 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.40 – 7.27 (m, 2H), 6.27 – 6.16 (m, 1H), 3.90 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.77 (dt, $J = 11.5, 7.0$ Hz, 1H), 2.38 – 2.16 (m, 1H), 2.04 – 2.01 (m, 2H), 1.84 – 1.65 (m, 1H), 1.58 – 1.32 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{12}H_{14}BrN_2O$ $[M+H]^+$: 281.0290, found 281.0292。收率 85%。

中间体 1-3 的合成:

将中间体 1-2 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 加入联硼酸频那醇酯 (0.12 mmol)、乙酸钾 (0.3 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (0.005 mmol)、二氧六环 (26 mL)。升温至回流反应 6 h, TLC 反应完全后, 降温抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化得白色固体 1-3。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7.97 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.82 – 7.74 (m, 1H), 7.39 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.25 (dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H), 6.21 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.90 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.77 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 2.40 – 2.21 (m, 1H), 2.16 – 1.91 (m, 2H), 1.85 – 1.48 (m, 3H), 1.40 (d, $J = 15.1$ Hz, 12H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{18}H_{26}BN_2O_3$ $[M+H]^+$: 329.2036, found 329.2033。收率 89%。

中间体 2-2 的合成:

将原料 2-1 (0.1 mmol) 溶解于四氢呋喃中, 加入三乙胺 (0.15 mmol), 异戊酸酐 (0.15 mmol), 升温至回流反应 6-8 小时, TLC 检测反应完全后, 减压浓缩除去溶剂, 将反应液倒入冰饱和氢氧化钠溶液中除去过量的酸酐, 用乙酸乙酯及饱和食盐水萃取三次, 合并有机相, 干燥, 浓缩得黄色粉末状固体 2-2。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.80 (s, 1H), 9.58 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.49 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.87 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.10 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 0.95 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{10}H_{14}BrN_2O$ $[M+H]^+$: 257.0290, found 257.0286。收率 85%。

中间体 2-3 的合成:

将中间体 2-2 (0.1 mmol)、中间体 1-3 (0.1 mmol)、碳酸钠 (0.3 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (0.005 mmol)、二氧六环 (9 mL)、水 (1.5 mL) 加入到单口瓶中, 氮气置换空气 4 次, 升温至回流下反应 8 h。降温后抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化得到中间体 2-3。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9.80 (s, 1H), 9.63 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.69 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.19 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.90 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H), 6.25 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.90 (dt, $J = 11.5, 7.0$ Hz, 1H), 3.77 (dt, $J = 11.5, 7.0$ Hz, 1H), 2.64 – 2.57 (qd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 2H), 2.39 – 2.13 (m, 2H), 2.13 – 1.91 (m, 2H), 1.85 – 1.48 (m, 3H), 0.95 (dd, $J = 15.0, 6.8$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{22}H_{27}N_4O_2$ $[M+H]^+$: 379.2134, found 379.2132。收率 78%。

中间体 2-4 的合成:

将中间体 2-3 (0.1 mmol) 溶解于 10 mL 四氢呋喃中, 于常温下加入对甲苯磺酸水合物 (1 mmol), 升温至回流反应 16-24 小时, TLC 检测反应完全后, 减压浓缩, 并用二氯甲烷与饱和碳酸氢钠萃取, 合并有机相, 干燥浓缩得中间体 2-4。¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.75 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.63 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.50 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.96 (t, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.43 – 7.24 (m, 2H), 2.24 – 2.05 (m, 3H), 0.95 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{17}H_{19}N_4O$ $[M+H]^+$: 295.1559, found 295.1554。收率 74%。

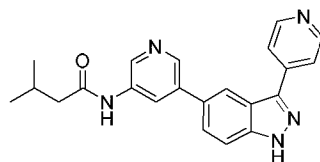
中间体 2-5 的合成:

将中间体 2-3 (0.1 mmol) 溶解于 5 mL 二甲基甲酰胺中, 加入氢氧化钾 (0.15 mmol), 碘单质 (0.15 mmol), 常温搅拌 16-24 小时, TLC 检测反应完全后, 用乙酸乙酯和饱和食盐水萃取三次, 合并有机相后干燥, 浓缩得中间体 2-5。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.35 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 9.25 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 8.57 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.23 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.4 (t, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.40 – 7.22 (m, 2H), 2.24 – 2.05 (m, 3H), 0.82 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₁₇H₁₈IN₄O [M+H]⁺: 421.0525, found 421.0525。收率 65%。

LH-039 的合成:

将中间体 2-5 (0.1 mmol)、3-吡啶硼酸 (0.1 mmol)、碳酸钠 (0.3 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (0.005 mmol)、二氧六环 (9 mL)、水 (1.5 mL) 加入到单口瓶中, 氮气置换空气 4 次, 升温至回流下反应 8 h。降温后抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化得到 LH-039。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.62 (s, 1H), 10.23 (s, 1H), 9.30 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.82 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.74 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.67 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.49 (dt, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H), 8.40 – 8.32 (m, 2H), 7.83 – 7.73 (m, 2H), 7.60 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 2.29 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.14 (dq, *J* = 13.5, 6.6 Hz, 1H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₂₂H₂₂N₅O [M+H]⁺: 372.1824, found 372.1818。

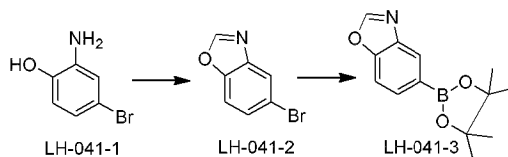
采用与实施例 3 相似的操作, 制得下列化合物:



LH-040

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.74 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 8.79 (t, *J* = 3.3 Hz, 1H), 8.70 (dd, *J* = 4.9, 1.8 Hz, 3H), 8.40 – 8.30 (m, 2H), 8.11 – 8.01 (m, 2H), 7.81 – 7.66 (m, 2H), 2.25 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.11 (dt, *J* = 13.7, 6.8 Hz, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.93 (d, *J* = 4.7 Hz, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₂₂H₂₂N₅O [M+H]⁺: 372.1824, found 372.1819。

实施例 4: LH-041 的合成

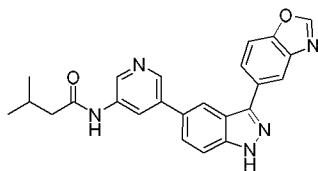


将原料 LH-041-1 (2-氨基-4-溴苯酚, 0.1 mmol) 溶解在原甲酸三乙酯中回流过夜, 减压浓缩并用柱层析纯化得中间体 LH-041-2。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.25 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₇H₅BrNO [M+H]⁺: 197.9555, found 197.9523。收率 57%。

将中间体 LH-041-2 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 加入联硼酸频那醇酯 (0.12 mmol)、乙酸钾 (0.3 mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (0.005 mmol)、二氧六环 (25 mL)。升温至回流反应 6 h, TLC 反应完全后, 降温抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化得中间体 LH-041-3。¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.25 (s, 1H), 7.75 (dd, *J* = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 1.40 (s, 12H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for C₁₃H₁₇BNO₃ [M+H]⁺: 246.1301, found 246.1281。

收率 88%。

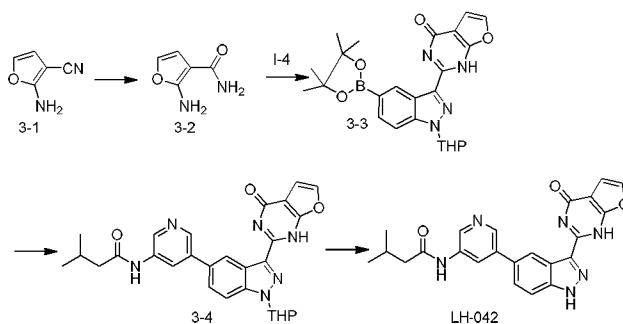
其余步骤与实施例 3 相同，得到化合物 LH-041。



LH-041

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.44 (s, 1H), 10.19 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 8.78 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.70 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.41 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.34 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.14 (dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 1H), 7.92 (dd, $J = 8.5, 0.6$ Hz, 1H), 7.78 – 7.67 (m, 1H), 6.54 (s, 1H), 2.25 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.18 – 2.04 (m, 1H), 0.96 (s, 3H), 0.94 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 412.1773, found 412.1769.

实施例 5: LH-042 的合成



中间体 3-2 的合成:

将 3-1 (0.1 mmol) 加入到单颈瓶中，然后加入过量的浓硫酸常温搅拌 2 h，反应完毕后将反应体系降温至 0 °C，将混合物用 10% 氢氧化钠溶液碱化，然后用乙酸乙酯萃取。合并的萃取液用硫酸镁干燥，真空除去溶剂，然后从乙醇中重结晶得 3-2。

中间体 3-3 的合成:

将中间体 3-2 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中，用乙醇将其溶解，然后加入实施例 1 中间体 1-4 (0.1 mmol)，碘单质 (0.1 mmol)，于 80 °C 回流反应 8 h，TLC 反应完全后，加入 5% 硫代硫酸钠淬灭反应，然后用二氯与饱和食盐水萃取，合并有机相，干燥，浓缩，柱层析纯化得中间体 3-3。

中间体 3-4 的合成:

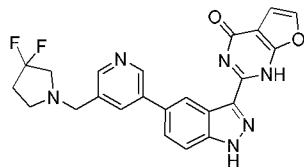
将实施例 1 的中间体 2-2 (0.1 mmol)、中间体 3-3 (0.1 mmol)、碳酸钠 (0.3 mmol)、 $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (0.005 mmol)、二氧六环 (9 mL)、水 (1.5 mL) 加入到单口瓶中，氮气置换空气 4 次，升温至回流下反应 8 h。降温后抽滤、旋干、经硅胶柱层析纯化得到中间体 3-4。

LH-042 的合成:

将中间体 3-4 (0.1 mmol) 加入 50 mL 单口瓶中，用 10 mL 二氯甲烷溶解后，加入过量三氟乙酸 (1 mmol)，常温搅拌过夜，TLC 监控反应完全后，真空浓缩除去溶剂和过量的三氟乙酸，制砂后，柱层析纯化得 LH-042。 ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.26 (s, 1H), 12.20 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.59 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.75 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.68 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.91 (t, $J =$

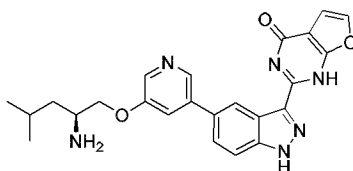
1.2 Hz, 1H), 7.64 – 7.49 (m, 2H), 6.88 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.53 – 2.32 (m, 1H), 2.10 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 0.96 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{23}H_{21}N_6O_3$ $[M+H]^+$: 429.1675, found 429.1670。

采用与实施例 5 相似的操作，制得下列化合物：



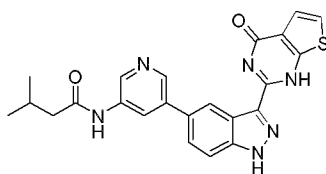
LH-043

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.64(s, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.83 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.74 (dd, $J = 6.1, 1.5$ Hz, 2H), 8.08 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.63 – 7.50 (m, 2H), 7.31 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 2.70 – 2.55 (m, 4H), 1.91 – 1.87 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{23}H_{19}F_2N_6O_2$ $[M+H]^+$: 449.1538, found 449.1528。



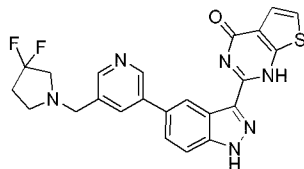
LH-044

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.12(s, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.79 – 8.71 (m, 1H), 8.60 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.60 (dt, $J = 16.7, 1.4$ Hz, 3H), 7.31 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.32 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.22 – 3.05 (m, 1H), 1.73 – 1.41 (m, 3H), 1.54 (s, 2H), 0.99 – 0.81 (m, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{24}H_{25}N_6O_3$ $[M+H]^+$: 445.1988, found 445.1976。



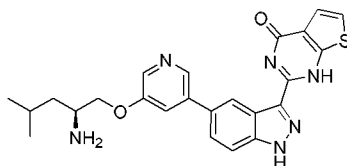
LH-045

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.24 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.60 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.76 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.68 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.91 (t, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.65 – 7.49 (m, 2H), 7.36 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 2.32 (dt, $J = 13.6, 6.8$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 0.96 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{23}H_{21}N_6O_2S$ $[M+H]^+$: 445.1447, found 445.1438。



LH-046

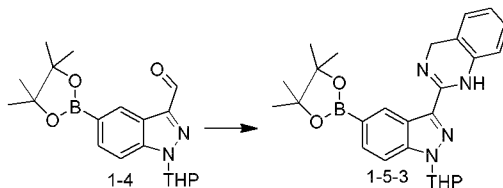
^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.26 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 8.84 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.81 – 8.68 (m, 2H), 8.10 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.64 – 7.50 (m, 2H), 7.36 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 2.70 – 2.55 (m, 4H), 1.91 – 1.75 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{N}_6\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 465.1309, found 465.1298.



LH-047

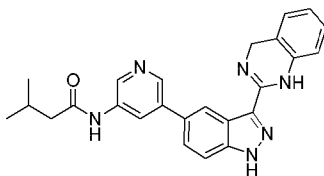
^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.24 (s, 1H), 10.12 (s, 1H), 8.77 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.60 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.60 (dt, $J = 15.1, 1.4$ Hz, 3H), 7.36 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.31 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.13 – 2.92 (m, 1H), 1.75 – 1.41 (m, 3H), 1.52 (s, 2H), 0.90 (dd, $J = 15.0, 6.5$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 461.1760, found 461.1756.

实施例 6: LH-048 的合成



将路线 1 中间体 1-4 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 用 10 mL 二甲基乙酰胺将其溶解, 然后加入邻氨基卞氨 (0.15 mmol), 对甲苯磺酸水合物 (0.15 mmol), 亚硫酸氢钠 (0.15 mmol) 于 120 °C 反应 6-8 小时, TLC 反应完全后, 用乙酸乙酯与饱和食盐水萃取三次, 合并有机相, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得中间体 1-5-3. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.24 (s, 1H), 7.99 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.15 – 7.10 (m, 1H), 7.04 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.89 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1H), 6.26 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H), 4.94 (d, $J = 1.1$ Hz, 2H), 3.90 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.77 (dt, $J = 11.5, 7.0$ Hz, 1H), 2.52 – 2.32 (m, 1H), 2.12 – 1.91 (m, 2H), 1.86 – 1.48 (m, 3H), 1.41 (d, $J = 14.9$ Hz, 12H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{BN}_4\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 459.2567, found 459.2558. 收率 78%。

其余步骤与实施例 1 相同, 得到化合物 LH-048。

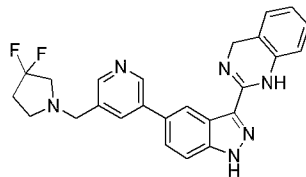


LH-048

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.36 (s, 1H), 10.28 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.51 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.67 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.47 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.99 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.62 – 7.47 (m, 2H), 7.15 – 7.11 (m, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90

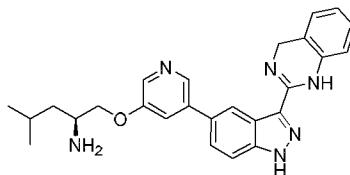
(td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 2.60 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 2.29 (dd, $J = 13.5, 6.8$ Hz, 1H), 2.10 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 0.96 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{25}H_{25}N_6O$ $[M+H]^+$: 425.2090, found 425.2088。

采用与实施例 6 相似的操作，制得下列化合物：



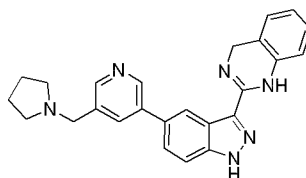
LH-049

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.11 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 8.82 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.71 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.48 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.08 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.60 – 7.48 (m, 2H), 7.15 – 7.05 (m, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 2.70 – 2.55 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.91 – 1.75 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{25}H_{23}F_2N_6$ $[M+H]^+$: 445.1952, found 445.1949。



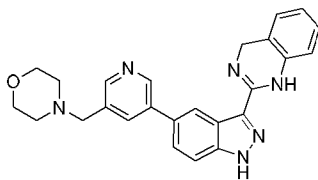
LH-050

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 14.21 (s, 1H), 12.31 (s, 1H), 8.56 – 8.42 (m, 2H), 8.15 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 13.9, 1.2$ Hz, 3H), 7.15 (ddt, $J = 7.4, 2.1, 1.1$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 4.95 (d, $J = 1.2$ Hz, 2H), 4.33 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.08 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.13 – 3.07 (m, 1H), 1.74 – 1.39 (m, 3H), 1.56 (s, 2H), 0.90 (dd, $J = 15.0, 6.4$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{26}H_{29}N_6O$ $[M+H]^+$: 441.2403, found 441.2395。



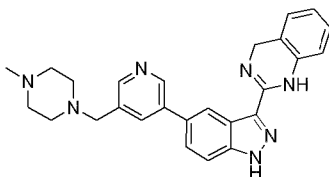
LH-051

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.32 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 8.82 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.69 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.49 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.10 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.15 (ddt, $J = 7.4, 2.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 2.68 – 2.51 (m, 3H), 2.60 (s, 4H), 1.91 – 1.74 (m, 4H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{25}H_{25}N_6$ $[M+H]^+$: 409.2141, found 409.2098。



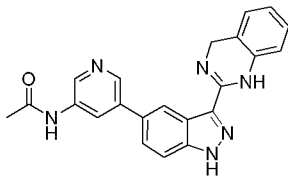
LH-052

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.30 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 8.82 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.70 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.49 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.09 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.60 – 7.48 (m, 2H), 7.15 (ddt, $J = 7.5, 2.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 3.58 (t, $J = 4.7$ Hz, 4H), 2.60 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 2.39 (t, $J = 4.7$ Hz, 4H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 425.2090, found 425.2081.



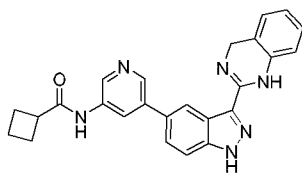
LH-053

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.33 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 8.82 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.69 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.49 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.10 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.55 (s, 2H), 7.15 (ddt, $J = 7.5, 2.2, 1.0$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.0$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 2.60 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 2.48 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 2.34 (t, $J = 5.2$ Hz, 4H), 2.24 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 438.2406, found 438.2395.



LH-054

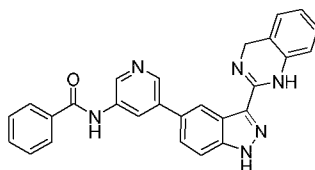
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.26 (s, 1H), 12.22 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.58 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.67 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.47 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.91 (t, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.61 – 7.47 (m, 2H), 7.15 (ddt, $J = 7.4, 2.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 2.60 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 2.20 (s, 3H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 383.1620, found 383.1598.



LH-055

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.26 (s, 1H), 12.22 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.61 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.67 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.47 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.90 (t, $J = 1.3$

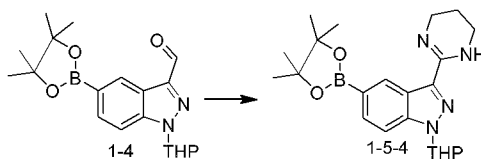
Hz, 1H), 7.61 – 7.47 (m, 2H), 7.15 (ddt, $J = 7.4, 2.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.4, 2.0$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 3.21 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.60 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 2.48 (dt, $J = 12.4, 6.8$ Hz, 2H), 2.17 – 1.82 (m, 4H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{25}H_{23}N_6O$ $[M+H]^+$: 423.1933, found 423.1912.



LH-056

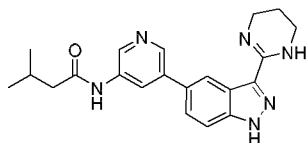
^1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 14.26 (s, 1H), 12.22 (s, 1H), 9.50 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.68 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.49 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.04 (s, 1H), 8.00 – 7.88 (m, 3H), 7.62 – 7.47 (m, 4H), 7.31 (ddt, $J = 9.6, 7.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.15 (ddt, $J = 7.4, 2.2, 1.0$ Hz, 1H), 7.04 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.90 (td, $J = 7.5, 2.1$ Hz, 1H), 6.41 (dd, $J = 7.4, 2.1$ Hz, 1H), 2.60 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{27}H_{21}N_6O$ $[M+H]^+$: 445.1777, found 445.1765.

实施例 7: LH-057 的合成



将路线 1 中间体 1-4 (0.1 mmol) 加入到单口瓶中, 用 5 mL 二甲基乙酰胺将其溶解, 然后加入丙二胺 (0.15 mmol), 对甲苯磺酸水合物 (0.15 mmol), 亚硫酸氢钠 (0.15 mmol) 于 120 °C 反应 6-8 小时, TLC 反应完全后, 用乙酸乙酯与饱和食盐水萃取三次, 合并有机相, 干燥, 浓缩, 柱层析纯化得中间体 1-5-4。
 ^1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 12.22 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.47 – 7.33 (m, 2H), 7.25 (dd, $J = 7.5, 1.6$ Hz, 1H), 6.22 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H), 3.98 – 3.83 (m, 3H), 3.77 (dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.62 (ddd, $J = 11.9, 4.4, 1.7$ Hz, 2H), 2.52 – 2.32 (m, 1H), 2.12 – 1.91 (m, 2H), 1.86 – 1.52 (m, 3H), 1.40 (d, $J = 15.1$ Hz, 13H), 1.23 – 1.08 (m, 1H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{22}H_{32}BN_4O_3$ $[M+H]^+$: 411.2567, found 411.2566. 收率 78%。

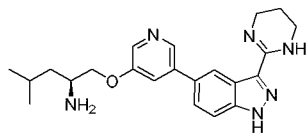
其余步骤与实施例 1 相同, 得到化合物 LH-057。



LH-057

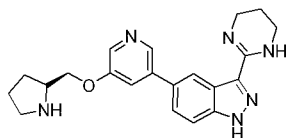
^1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 14.32 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.58 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.65 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.92 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.60 – 7.43 (m, 3H), 3.52 (dt, $J = 9.2, 5.5$ Hz, 4H), 2.30 – 2.10 (m, 2H), 2.09 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 1.60 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 0.97 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $C_{21}H_{25}N_6O$ $[M+H]^+$: 377.2090, found 377.1998.

采用与实施例 7 相似的操作, 制得下列化合物:



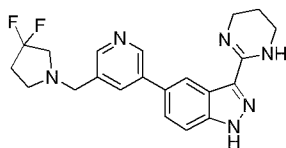
LH-058

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.35 (s, 1H), 8.56 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 1.1$ Hz, 2H), 7.44 (s, 1H), 4.32 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 4.08 (dd, $J = 12.4, 7.0$ Hz, 1H), 3.92 (td, $J = 12.2, 3.1$ Hz, 2H), 3.66 (ddd, $J = 11.9, 4.4, 1.7$ Hz, 2H), 3.20 – 3.04 (m, 1H), 1.74 – 1.33 (m, 6H), 1.25 – 1.12 (m, 1H), 0.90 (dd, $J = 15.0, 6.4$ Hz, 6H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 393.2403, found 393.2403.



LH-059

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 14.35 (s, 1H), 8.56 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 8.38 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 15.2, 1.2$ Hz, 3H), 7.45 (s, 1H), 3.93 (td, $J = 12.2, 3.1$ Hz, 2H), 3.63 (ddd, $J = 11.9, 4.4, 1.7$ Hz, 2H), 3.21 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.03 – 2.87 (m, 1H), 2.78 (dt, $J = 9.6, 7.0$ Hz, 1H), 1.89 – 1.18 (m, 7H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 389.1964, found 389.1971.



LH-060

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 14.36 (s, 1H), 8.79 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.71 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 8.37 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.07 (t, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.59 – 7.42 (m, 3H), 3.69 (s, 2H), 3.52 (dt, $J = 9.2, 5.5$ Hz, 4H), 2.70 – 2.55 (m, 4H), 1.91 (tt, $J = 15.9, 6.3$ Hz, 2H), 1.60 – 1.55 (m, 2H) ppm. HR-MS(ESI): Calculated for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 397.1952, found 397.1946.

实施例 8: 本发明部分化合物对 CLK 家族及 DYK1A 蛋白的体外抑制活性

一、实验方法

1、制备 1X 激酶反应缓冲液

名称	储液浓度	体积	终浓度
Tris	1 M (25X)	240 μL	40 mM
MgCl_2	1 M (50X)	120 μL	20 mM
BSA	7.5% (75X)	80 μL	0.1%
DTT	1 M (500X)	3 μL	0.5 mM
ddH_2O		5557 μL	

2、酶活实验

(1) 2X 激酶配制:

名称	储液浓度	终浓度
----	------	-----

DYRK1A	200 ng/μL	0.2 ng/μL
CLK1	100 ng/μL	0.5 ng/μL
CLK2	100 ng/μL	0.5 ng/μL
CLK3	100 ng/μL	1 ng/μL
CLK4	100 ng/μL	0.5 ng/μL

(2) 4X 底物混合物配制:

名称	ATP	Substrate	
	终浓度	储液浓度	终浓度
DYRK1A	30 μM	5 mg/mL	0.1 mg/mL
CLK1	50 μM	10 mg/mL	0.1 mg/mL
CLK2	50 μM	10 mg/mL	0.1 mg/mL
CLK3	30 μM	5 mg/mL	0.1 mg/mL
CLK4	50 μM	10 mg/mL	0.1 mg/mL

- ①在稀释板中用 DMSO 对阳性药进行 4 倍梯度稀释，化合物最终起始浓度为 1 & 0.02 & 0.1 μM。
- ②将化合物 50 倍稀释到 1X 激酶反应缓冲液中，在振荡器上震荡 20 分钟。
- ③用 1X 的酶反应缓冲液配制准备 2X 激酶。
- ④向反应板中每孔加入 2 μL 激酶。
- ⑤向每孔加入 1 μL 在缓冲液中稀释好的化合物，用封板膜封住板子 1000rpm 离心 60 秒，25 °C 孵育 10 分钟。
- ⑥用 1X 的酶反应缓冲液配制 4X ATP & sub 混合液，向反应板中加入 1 μL 4X ATP & sub 混合液。
- ⑦用封板膜封住板子 1000 rpm 离心 60 秒，25 °C 孵育 60 分钟。
- ⑧转移 4 μL ADP-Glo 到 384 反应板中 1000 rpm，离心 1 min，25 °C 孵育 40 min。
- ⑨转移 8 μL Detection 溶液到 384 反应板中 1000 rpm，离心 1 min，25 °C 孵育 40 min。
- ⑩使用 BMG 多功能读板机读取 RLU (Relative luminescence unit) 信号，信号强度用于表征激酶的活性程度。

3、数据分析

- (1) 计算每孔的比率；
- (2) 抑制率计算如下：
- 化合物抑制率 (% inh) = 100% - (化合物-阳性对照)/(阴性对照-阳性对照) × 100%
- (3) 计算 IC₅₀ 并绘制化合物的抑制曲线：
- 利用以下非线性拟合公式来得到化合物的 IC₅₀ (半数抑制浓度)：用 Graphpad7.0 软件进行数据分析。

$$Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{Log IC}_{50} - X) \times \text{Hill Slope}))};$$

X: 化合物浓度 log 值，Y: 抑制率 (% inhibition)。

二、实验结果

表 1. 本发明中部分化合物的酶活性 (IC₅₀)

ID	CLK1	CLK3	CLK4	CLK2	DYRK1A
LH-001	A	A	C	A	B
LH-003	A	A	D	A	C
LH-004	A	B	C	B	B

LH-005	C	C	B	B	B
LH-006	B	C	B	B	B
LH-009	A	A	B	A	A
LH-010	B	B	D	A	B
LH-011	C	C	D	A	C
LH-015	B	B	A	A	A
LH-016	A	B	B	A	B
LH-017	A	D	C	A	A
LH-018	C	B	A	A	A
LH-019	A	D	C	A	B
LH-020	A	C	B	A	A
LH-037	A	A	B	B	A
LH-039	C	A	C	B	B
LH-040	C	B	A	A	A
LH-041	B	A	B	A	B
LH-048	A	A	B	A	A
LH-049	C	B	D	A	A

注：A：<10 nM，B：10-50 nM，C：50-100 nM，D：>100 nM。

由表 1 可见，本发明所述的化合物对 CLK2、DYRK1A 显示出有效的抑制活性。同时，本发明所述化合物如 LH-020 显示较优的 CLK2 抑制活性和 CLK3 选择性（对于 CLK2、CLK3、DYRK1A 的 IC₅₀ 分别为 2 nM、81 nM、3 nM，对于 CLK3 的选择性指数为 41.5），这为 LH-020 发挥其药理活性和避免可能的副作用提供了依据。

实施例 9：本发明代表化合物 LH-020 在骨关节炎大鼠体内药效（PD）结果一、实验方法

1、将 40 只大鼠平均分为 4 组，分别为 Control（正常大鼠关节腔内注射生理盐水）、Model（ACLT 模型大鼠关节腔内注射生理盐水）、低剂量给药组（ACLT 模型大鼠关节腔内注射 LH020（1.5 μg/kg））、高剂量给药组（ACLT 模型大鼠关节腔内注射 LH020（6 μg/kg））。

2、通过切除大鼠前交叉韧带致膝骨关节炎（ACLT 模型）。

3、术后第一周关节腔注射生理盐水或 LH-020（1.5 μg/kg，6 μg/kg）。

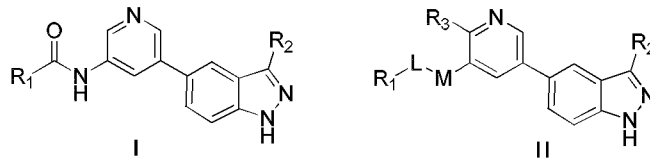
4、给药后第 5 周取软骨并通过 RT-qPCR 检测软骨相关蛋白酶的表达式（MMP3、MMP13、ADAMTS5、IHH 等）。

二、实验结果

如图 1 可见，与 Control 组（关节腔注射生理盐水）相比，关节炎模型中 MMP3、MMP13、ADAMTS5、IHH 这些分解软骨的蛋白酶表达明显升高。此外，与模型组相比，LH-020 的低、高剂量组均能显著下调 MMP3、MMP13、ADAMTS5、IHH 的表达，且高剂量组效果优于低剂量组，表示 LH-020 具有显著的软骨保护作用，这为其发挥治疗骨关节炎的药理作用提供了依据。

权利要求书

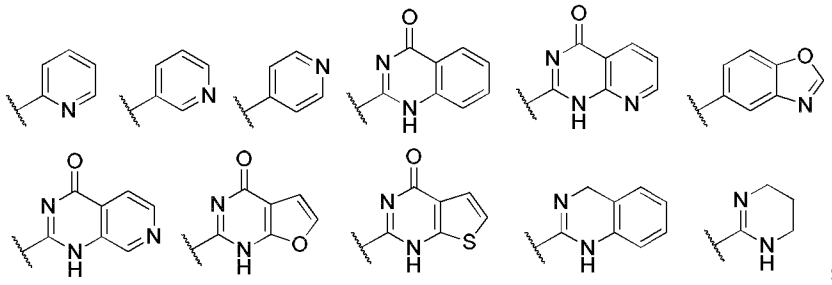
1、一种 5-吡啶-1H-咪唑类化合物，其特征在于，具有式 I 或 II 的结构，所述化合物还包含其异构体、药学上可接受的盐或它们的混合物：



其中， R_1 选自被一个或多个氢、卤素、甲氧基、三氟甲基、硝基、羟基、氨基、叠氮基、磺酸基、3-6 元环取代的如下基团：氢、直链或支链 C_1 - C_{10} 烷基、苯基、4-6 元杂环或 4-6 元环；

L、M 选自 $-CH_2-$ 、 $-NH-$ 、 $-O-$ 或化学键；

R_2 选自如下基团：

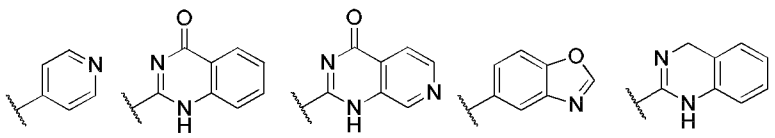


R_3 选自氢或 C_1 - C_4 烷基。

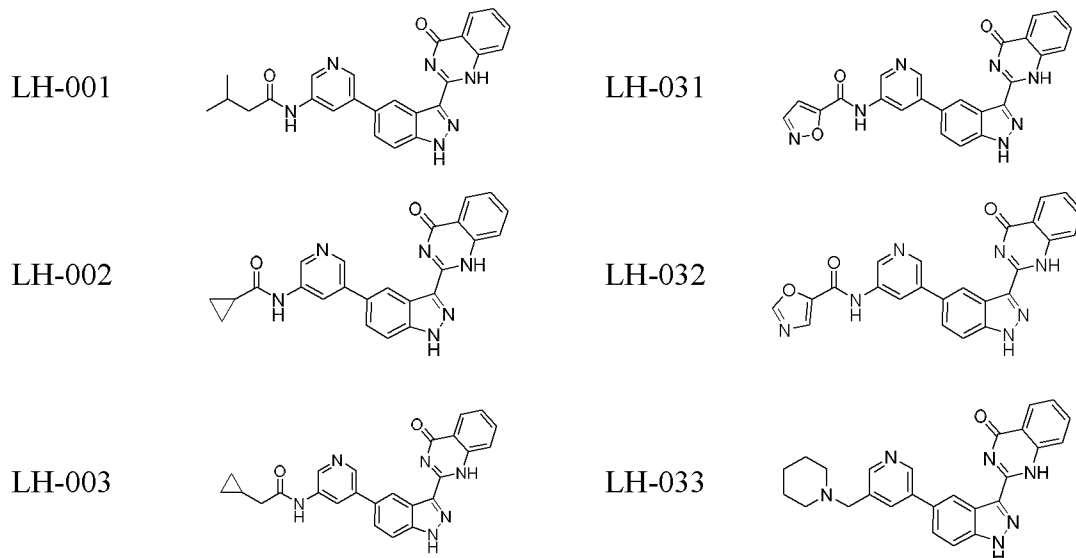
2、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，所述结构中：

R_1 选自异丁基、环丙基甲基、环戊基、 α -氨基异戊基、3,3-二氟四氢吡咯基、氢、吗啉基、甲基、叔丁基、乙磺酰基或羟基；

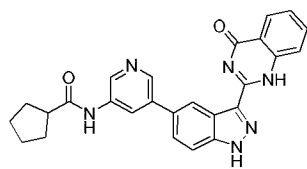
R_2 选自如下基团：



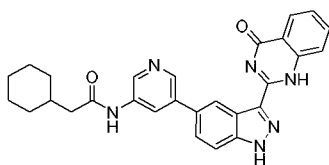
3、根据权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，选自以下任一化合物：



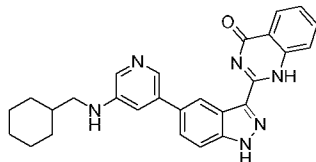
LH-004



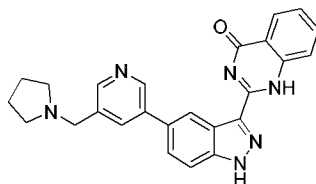
LH-005



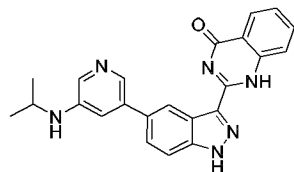
LH-006



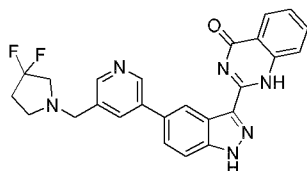
LH-007



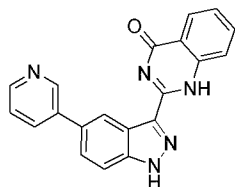
LH-008



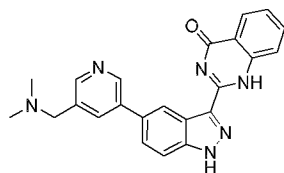
LH-009



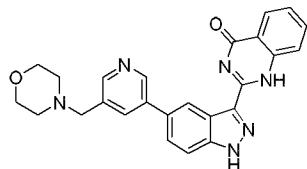
LH-010



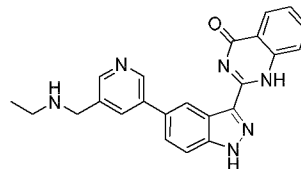
LH-011



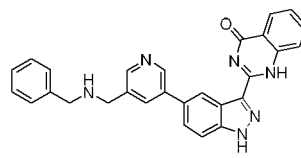
LH-012



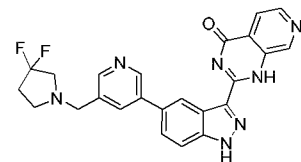
LH-034



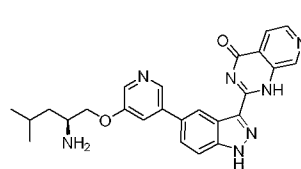
LH-035



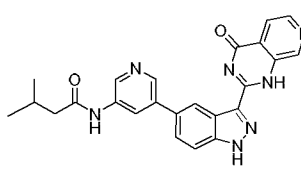
LH-036



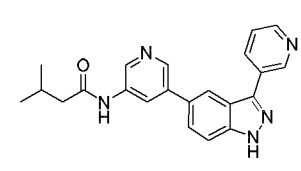
LH-037



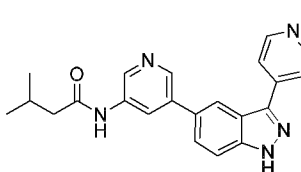
LH-038



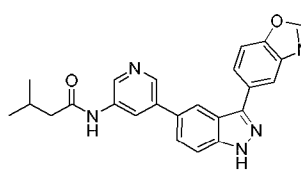
LH-039



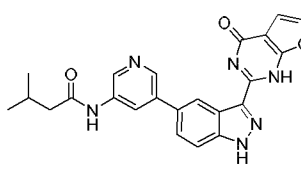
LH-040



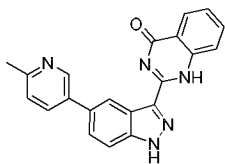
LH-041



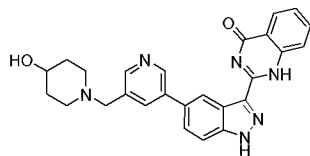
LH-042



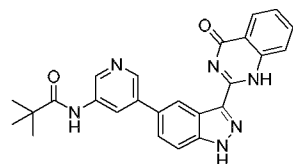
LH-013



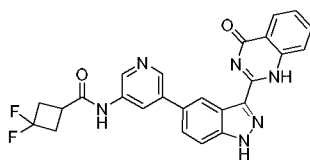
LH-014



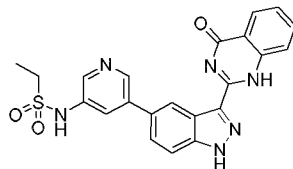
LH-015



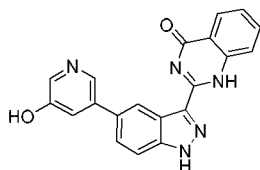
LH-016



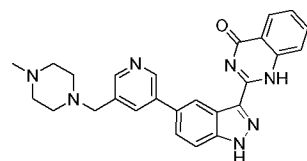
LH-017



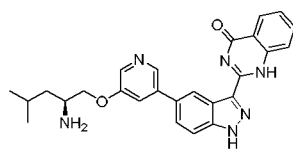
LH-018



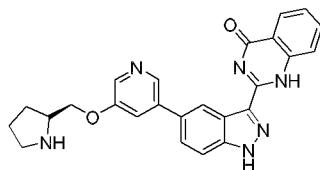
LH-019



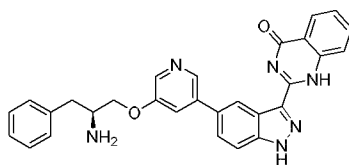
LH-020



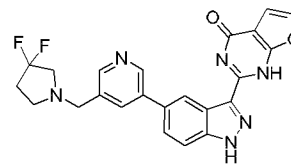
LH-021



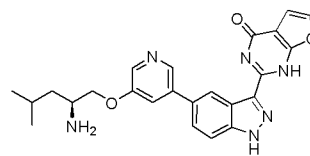
LH-022



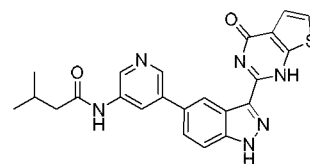
LH-043



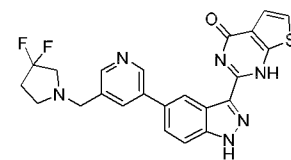
LH-044



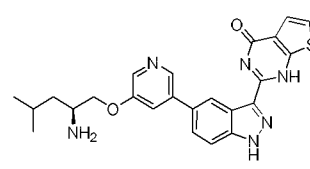
LH-045



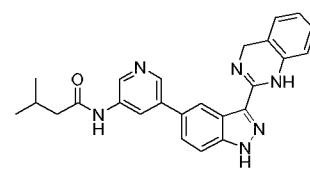
LH-046



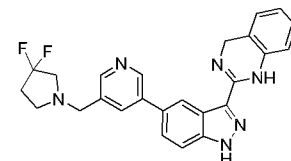
LH-047



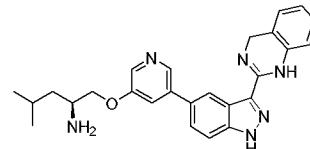
LH-048



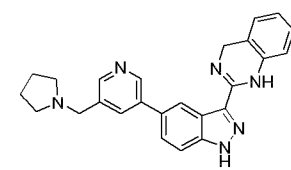
LH-049



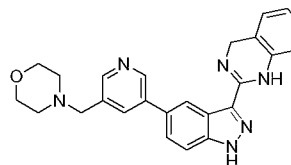
LH-050



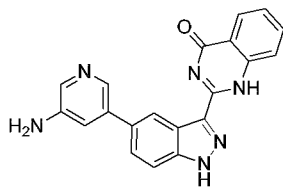
LH-051



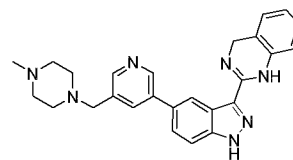
LH-052



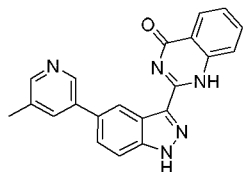
LH-023



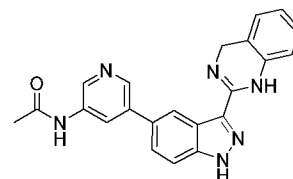
LH-053



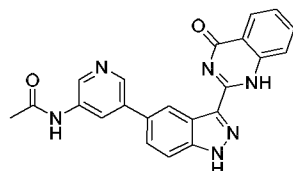
LH-024



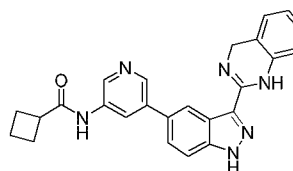
LH-054



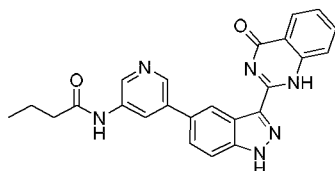
LH-025



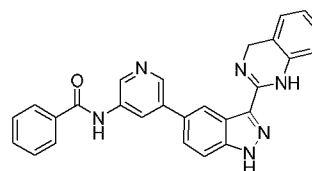
LH-055



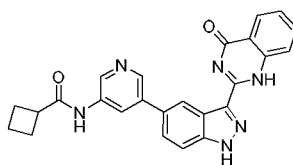
LH-026



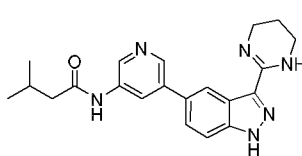
LH-056



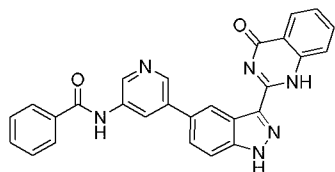
LH-027



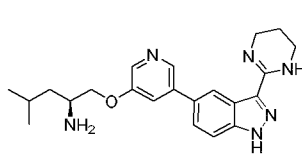
LH-057



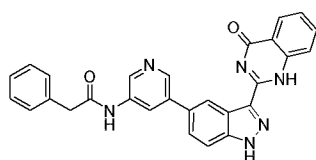
LH-028



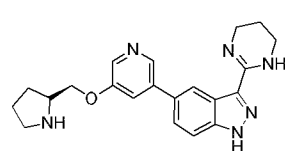
LH-058



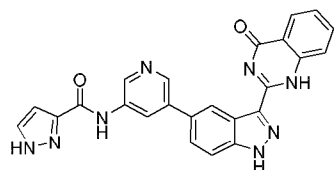
LH-029



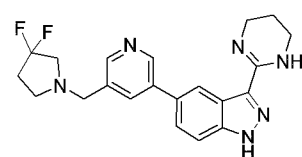
LH-059



LH-030



LH-060



4、根据权利要求1所述的化合物，其特征在于，所述药学上可接受的盐为所述化合物与以下酸形成的盐：盐酸、硫酸、磷酸、碳酸、硝酸、氢溴酸、氢碘酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苹果酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、萘磺酸、琥珀酸、乙酸、扁桃酸、异丁酸或丙二酸。

5、一种药物组合物，其特征在于，包含权利要求1-4任一所述的化合物以及药学上可接受的载体。

6、一种权利要求 1-4 任一所述的化合物或者权利要求 5 所述的药物组合物在制备 CLK2 蛋白抑制剂药物中的应用。

7、一种权利要求 1-4 任一所述的化合物或者权利要求 5 所述的药物组合物在制备 DYRK1A 蛋白抑制剂药物中的应用。

8、根据权利要求 6 或 7 所述的应用，其特征在于，所述药物为治疗炎症的药物。

9、根据权利要求 8 所述的应用，其特征在于，所述炎症为骨关节炎、肌腱病或类风湿性关节炎。

10、根据权利要求 9 所述的应用，其特征在于，所述化合物具有软骨保护的作用。

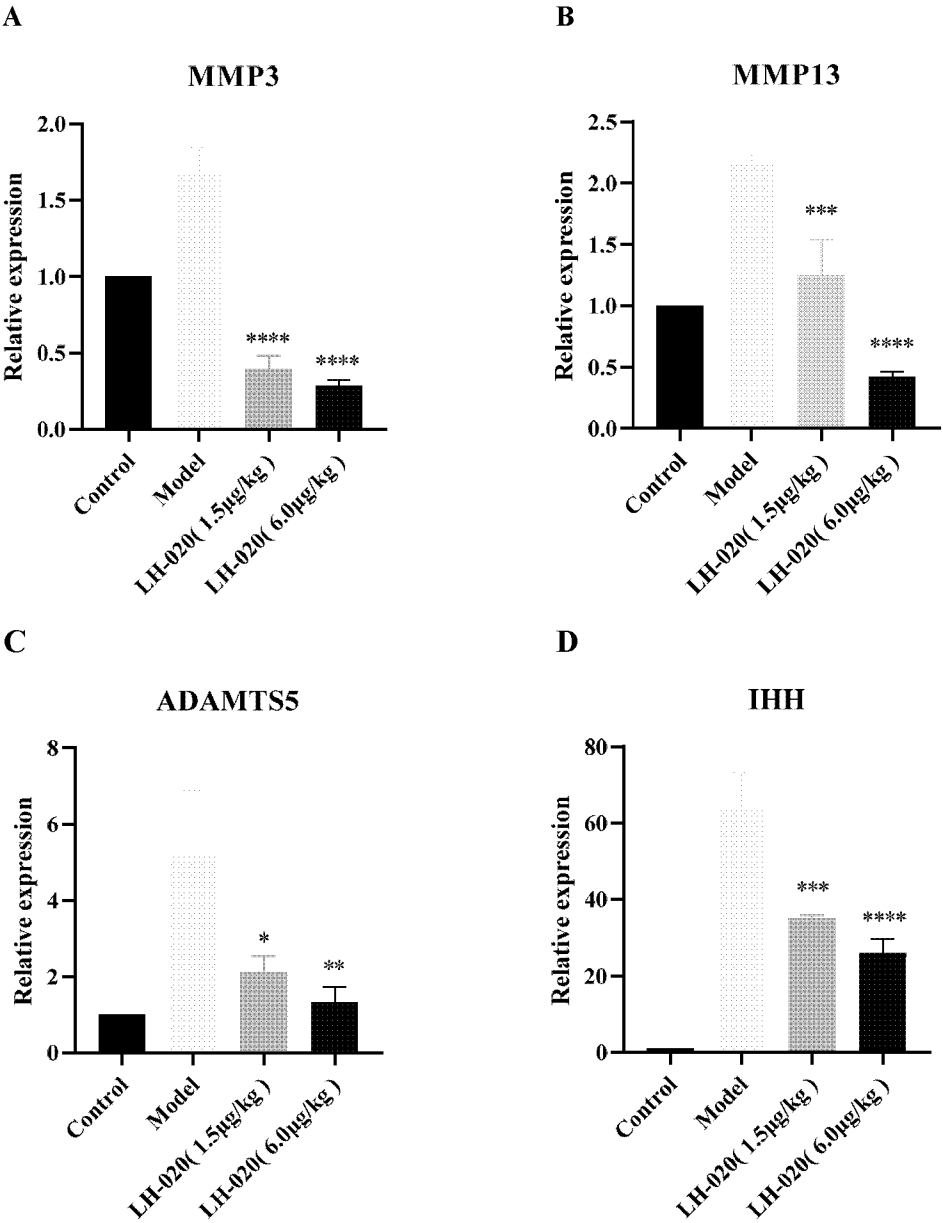


图 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/133423

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D401/14(2006.01)i;C07D413/14(2006.01)i;C07D471/04(2006.01)i;C07D491/048(2006.01)i;C07D495/04(2006.01)i;A61K31/506(2006.01)i;A61K31/517(2006.01)i;A61K31/519(2006.01)i;A61P29/00(2006.01)i;A61P19/02(2006.01)i;A61P19/08(2006.01)i;A61P21/00(2006.01)i;A61K31/416(2006.01)i;C07D213/16(2006.01)i;C07F9/58(2006.01)i;C07H19/048(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)

IPC: C07D A61K A61P C07F C07H

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)

CNTEXT; VEN; CNABS; DWPI; WPABS; ENTXT; USTXT; EPTXT; WOTXT; STN; CNKI; Elsevier Science; 超星读秀, DUXIU; 万方, WANFANG; 吡啶, 吡唑, 蛋白激酶, 抑制剂, 骨关节炎, 滑膜炎, 软骨, 双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶, WNT, osteoarthritis, os, likekinase, pyridine, Indazole, Protein kinase, Inhibitor, Synovitis, Cartilage, CLK2, DYRK1A, 通式I, general formula I, 通式II, general formula II

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 115353508 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 18 November 2022 (2022-11-18) claims 1-10	1-10
A	CN 102595899 A (EPITHERIX, LLC.) 18 July 2012 (2012-07-18) description, pp. 1-48, and compounds 1-133	1-10
A	CN 106032359 A (FUDAN UNIVERSITY et al.) 19 October 2016 (2016-10-19) entire document	1-10
A	CN 113164476 A (ARIZONA BOARD OF REGENTS ON BEHALF OF THE UNIVERSITY OF ARIZONA) 23 July 2021 (2021-07-23) entire document	1-10
A	US 2003199511 A1 (ABBOTT LABORATORIES) 23 October 2003 (2003-10-23) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “D” document cited by the applicant in the international application
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “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)
 “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

“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

“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

“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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

05 May 2023

Date of mailing of the international search report

29 May 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/133423**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2016009682 A1 (MERCK SHARP & DOHME CORP.) 14 January 2016 (2016-01-14) entire document	1-10
A	US 2016009696 A1 (MILLER MICHAEL et al.) 14 January 2016 (2016-01-14) entire document	1-10
A	WO 2012078777 A1 (AMGEN INC.) 14 June 2012 (2012-06-14) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/133423

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	115353508	A	18 November 2022	None			
CN	102595899	A	18 July 2012	BR	112012002942	A2	13 October 2015
				EP	2464231	A1	20 June 2012
				EP	2464231	A4	06 February 2013
				US	2011034441	A1	10 February 2011
				CA	2770320	A1	17 February 2011
				WO	2011019648	A1	17 February 2011
				JP	2013501792	A	17 January 2013
				CA	2770116	A	17 February 2011
				EP	2464232	A1	20 June 2012
				EP	2464232	A4	06 February 2013
				IN	201202053	P4	26 April 2013
				IN	201202086	P4	26 April 2013
				IN	201306481	P4	08 August 2014
				CN	105037355	A	11 November 2015
				CA	2770116	C	13 March 2018
CN	106032359	A	19 October 2016	CN	106032359	B	20 July 2018
CN	113164476	A	23 July 2021	WO	2020069418	A1	02 April 2020
				EP	3856186	A1	04 August 2021
				EP	3856186	A4	06 July 2022
				CA	3118093	A1	02 April 2020
				US	2022041590	A1	10 February 2022
				US	2020039989	A1	06 February 2020
US	2003199511	A1	23 October 2003	US	2003187026	A1	02 October 2003
				US	6831175	B2	14 December 2004
				WO	03051366	A2	26 June 2003
				WO	03051366	A3	25 March 2004
				AU	2002353147	A1	30 June 2003
				TW	200301122	A	01 July 2003
				EP	1463505	A2	06 October 2004
				MX	2004005810	A1	01 December 2004
				JP	2005516927	A	09 June 2005
				AU	2002353147	A8	27 October 2005
US	2016009682	A1	14 January 2016	US	9440952	B2	13 September 2016
				WO	2014137728	A1	12 September 2014
				EP	2964221	A1	13 January 2016
				EP	2964221	A4	31 August 2016
				EP	2964221	B1	06 December 2017
US	2016009696	A1	14 January 2016	WO	2014134772	A1	12 September 2014
				EP	2964222	A1	13 January 2016
				EP	2964222	A4	10 August 2016
				EP	2964222	B1	30 August 2017
				US	9416126	B2	16 August 2016
				WO	2014137719	A1	12 September 2014
WO	2012078777	A1	14 June 2012	MX	2013006467	A	01 October 2013
				EP	2796456	A1	29 October 2014
				CA	2819373	A1	14 June 2012
				AU	2011338389	A1	13 June 2013
				AU	2011338389	A8	18 July 2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/133423

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
	US	2014031360 A1	30 January 2014
	US	9090593 B2	28 July 2015
	JP	2014500277 A	09 January 2014
	EP	2649065 A1	16 October 2013
	MX	330866 B	18 June 2015

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/133423

A. 主题的分类

C07D401/14(2006.01)i;C07D413/14(2006.01)i;C07D471/04(2006.01)i;C07D491/048(2006.01)i;C07D495/04(2006.01)i;A61K31/506(2006.01)i;A61K31/517(2006.01)i;A61K31/519(2006.01)i;A61P29/00(2006.01)i;A61P19/02(2006.01)i;A61P19/08(2006.01)i;A61P21/00(2006.01)i;A61K31/416(2006.01)i;C07D213/16(2006.01)i;C07F9/58(2006.01)i;C07H19/048(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)

IPC: C07D A61K A61P C07F C07H

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))

CNXTX;VEN;CNABS;DWPI;WPABS;ENTXT;USTXT;EPTXT;WOTXT;STN;CNKI;Elsevier Science;超星读秀;万方: 吡啶, 唑, 蛋白激酶, 抑制剂, 骨关节炎, 滑膜炎, 软骨, 双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶, WNT, osteoarthritis, os, likekinase, pyridine, Indazole, Protein kinase, Inhibitor, Synovitis, Cartilage, CLK2, DYRK1A, 通式I, 通式II

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 115353508 A (中国药科大学) 2022年11月18日 (2022 - 11 - 18) 权利要求1-10	1-10
A	CN 102595899 A (埃皮瑟瑞克斯有限公司) 2012年7月18日 (2012 - 07 - 18) 说明书第1-48页、化合物1-133	1-10
A	CN 106032359 A (复旦大学 等) 2016年10月19日 (2016 - 10 - 19) 全文	1-10
A	CN 113164476 A (代表亚利桑那大学的亚利桑那校董会) 2021年7月23日 (2021 - 07 - 23) 全文	1-10
A	US 2003199511 A1 (ABBOTT LAB) 2003年10月23日 (2003 - 10 - 23) 全文	1-10

☒ 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

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“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

2023年5月5日

国际检索报告邮寄日期

2023年5月29日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

胡建朝

电话号码 (+86) 0512-88996897

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	US 2016009682 A1 (MERCK SHARP & DOHME) 2016年1月14日 (2016 - 01 - 14) 全文	1-10
A	US 2016009696 A1 (MILLER MICHAEL 等) 2016年1月14日 (2016 - 01 - 14) 全文	1-10
A	WO 2012078777 A1 (AMGEN INC) 2012年6月14日 (2012 - 06 - 14) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/133423

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	115353508	A	2022年11月18日	无			
CN	102595899	A	2012年7月18日	BR	112012002942	A2	2015年10月13日
				EP	2464231	A1	2012年6月20日
				EP	2464231	A4	2013年2月6日
				US	2011034441	A1	2011年2月10日
				CA	2770320	A1	2011年2月17日
				WO	2011019648	A1	2011年2月17日
				JP	2013501792	A	2013年1月17日
				CA	2770116	A	2011年2月17日
				EP	2464232	A1	2012年6月20日
				EP	2464232	A4	2013年2月6日
				IN	201202053	P4	2013年4月26日
				IN	201202086	P4	2013年4月26日
				IN	201306481	P4	2014年8月8日
				CN	105037355	A	2015年11月11日
				CA	2770116	C	2018年3月13日
CN	106032359	A	2016年10月19日	CN	106032359	B	2018年7月20日
CN	113164476	A	2021年7月23日	WO	2020069418	A1	2020年4月2日
				EP	3856186	A1	2021年8月4日
				EP	3856186	A4	2022年7月6日
				CA	3118093	A1	2020年4月2日
				US	2022041590	A1	2022年2月10日
				US	2020039989	A1	2020年2月6日
US	2003199511	A1	2003年10月23日	US	2003187026	A1	2003年10月2日
				US	6831175	B2	2004年12月14日
				WO	03051366	A2	2003年6月26日
				WO	03051366	A3	2004年3月25日
				AU	2002353147	A1	2003年6月30日
				TW	200301122	A	2003年7月1日
				EP	1463505	A2	2004年10月6日
				MX	2004005810	A1	2004年12月1日
				JP	2005516927	A	2005年6月9日
				AU	2002353147	A8	2005年10月27日
US	2016009682	A1	2016年1月14日	US	9440952	B2	2016年9月13日
				WO	2014137728	A1	2014年9月12日
				EP	2964221	A1	2016年1月13日
				EP	2964221	A4	2016年8月31日
				EP	2964221	B1	2017年12月6日
US	2016009696	A1	2016年1月14日	WO	2014134772	A1	2014年9月12日
				EP	2964222	A1	2016年1月13日
				EP	2964222	A4	2016年8月10日
				EP	2964222	B1	2017年8月30日
				US	9416126	B2	2016年8月16日
				WO	2014137719	A1	2014年9月12日
WO	2012078777	A1	2012年6月14日	MX	2013006467	A	2013年10月1日
				EP	2796456	A1	2014年10月29日
				CA	2819373	A1	2012年6月14日
				AU	2011338389	A1	2013年6月13日
				AU	2011338389	A8	2013年7月18日

国际申请号
PCT/CN2022/133423

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 2014031360 A1	2014年1月30日
		US 9090593 B2	2015年7月28日
		JP 2014500277 A	2014年1月9日
		EP 2649065 A1	2013年10月16日
		MX 330866 B	2015年6月18日