



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111072655 B

(45) 授权公告日 2021.12.10

(21) 申请号 201911396547.7

A61K 31/437 (2006.01)

(22) 申请日 2019.12.30

A61P 35/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61P 29/00 (2006.01)

申请公布号 CN 111072655 A

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

(43) 申请公布日 2020.04.28

A61P 19/02 (2006.01)

(73) 专利权人 深圳市坤健创新药物研究院

A61P 37/06 (2006.01)

地址 518000 广东省深圳市龙华新区观澜

A61P 19/00 (2006.01)

大布社区观光路1301号银星科技大厦

1104-1106

(56) 对比文件

CN 102105471 A, 2011.06.22

CN 103641829 A, 2014.03.19

WO 2009047514 A1, 2009.04.16

CN 102482273 A, 2012.05.30

WO 2010149769 A1, 2010.12.29

CN 102459261 A, 2012.05.16

(72) 发明人 蒋宇扬 陆宽 张存龙 吴伟彬

陈大伟

(74) 专利代理机构 北京思创大成知识产权代理有限公司 11614

代理人 高爽

审查员 李迪

(51) Int. Cl.

C07D 471/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书13页

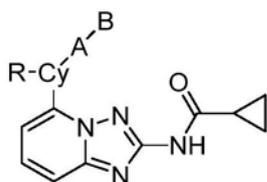
(54) 发明名称

一种三氮唑并吡啶类化合物及其制备方法和药用组合物与应用

(57) 摘要

本发明公开一种三氮唑并吡啶类化合物及其制备方法和药用组合物与应用。所述化合物选自通式I所示的化合物,或其互变异构体、对映异构体、非对映异构体、内消旋体、外消旋体或其混合物,或其前体药物,或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物。通过对JAK各亚型酶活性测试发现,本发明化合物或其药学上可接受的盐、水合物、前药对JAK1具有显著的抑制活性,对JAK2具有不同程度的选择性,而对JAK3的抑制活性较弱,说明该类化合物对JAK亚型具有选择性。

CN 111072655 B



I

1. 一种三氮唑并吡啶类化合物,所述化合物为N-(5-(4-(2-氰基-1-羟基烯丙基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺,或其药学上可接受的盐。

2. 一种药用组合物,包含权利要求1所述的化合物作为活性成分以及药学上可接受的赋形剂。

3. 权利要求1所述的化合物和/或权利要求2所述的药用组合物在制备治疗和/或预防自身免疫性疾病、炎症或肿瘤的药物中的应用。

4. 根据权利要求3所述的应用,所述自身免疫性疾病为类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病、多发性硬化;

所述炎症为特应性皮炎、炎症性肠炎、克罗恩病;

所述肿瘤为骨髓纤维化、白血病、淋巴瘤。

## 一种三氮唑并吡啶类化合物及其制备方法和药用组合物与应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于药物化学领域,更具体地,涉及新颖的[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶类衍生物及它们药学上可接受的盐、水合物、溶剂合物或前药,它们的制备方法以及含有所述化合物的药物组合物。本发明还涉及该类衍生物及其药学上可接受的盐、水合物或前药在治疗中作为JAK抑制剂的用途,特别是在治疗自身免疫性疾病如类风湿性关节炎、银血病、特应性皮炎和血液肿瘤如骨髓纤维化、白血病、淋巴瘤的药物中的用途。

### 背景技术

[0002] Janus激酶(Janus kinases, JAKs)是一类细胞内的非受体酪氨酸激酶,其通过与信号转导及转录激活蛋白(signal transducers and activators of transcription, STAT)之间的相互作用,在细胞因子受体信号通路中起到重要作用。JAKs参与的信号通路可由多种细胞因子、生长因子以及激素激活,在生物体中参与多种类型细胞的增殖、分化、凋亡,血管生成以及免疫调节等重要的生理过程。

[0003] JAKs家族在哺乳动物体内有4种亚型:JAK1、JAK2、JAK3和TYK2(tyrosine kinase 2),其中JAK1、JAK2和TYK2广泛存在于各组织和细胞中,而JAK3主要表达于骨髓中造血细胞和淋巴系统中。

[0004] JAKs介导的信号通路能够被多种细胞因子激活。然而,细胞因子与受体的结合具有专一性,进而激活并启动下游特定的JAKs亚型复合物。JAK1/3复合物只能被含有 $\gamma$ 链的细胞因子包括白细胞介素(interleukin, IL)-2、4、7、9、15和21激活,该复合物对淋巴细胞的增殖和体内稳态起到关键作用。含有 $\beta$ 亚基的I型细胞因子IL-3、IL-5和激素类细胞因子如促红细胞生成素(Erythropoietin, EPO)、促生长素(Growth Hormone, GH)等能够刺激JAK2同源二聚化, JAK2介导多种与造血相关的细胞因子的信号传导,与造血系统的发育及血液系统疾病的发生密切相关。干扰素(interferon, IFN)家族可激活JAK1/TYK2复合物。

[0005] 当细胞因子与细胞表面的受体结合后,使受体二聚化,进而激活JAKs激酶启动磷酸化,随后STATs被募集到受体并通过JAKs磷酸化。激活的STATs二聚体转移到细胞核内并激活其靶点基因转录,发挥相应的生物学功能。

[0006] 研究表明, JAK-STAT信号通路的激活与多种疾病的发生关系密切。针对该靶点研发的JAK抑制剂主要用于血液系统疾病、肿瘤、类风湿性关节炎及银屑病等疾病的治疗。

[0007] 2012年, FDA批准首个JAK激酶抑制剂托法替尼(tofacitinib)用于MTX反应不足或不耐受的中重度RA患者的治疗。类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节病变为主的慢性全身自身免疫性疾病,表现为免疫系统对关节等自身组织的持续损害,由多种免疫细胞及相关细胞因子参与介导的复杂疾病。类风湿关节炎可引发一系列症状,包括关节部位的疼痛和肿胀,尤其手、足和膝关节部位。统计显示,中国约有400万类风湿关节炎患者,患者的缓解率为8.6%,残疾率约为50.3%。托法替尼为非选择性JAK抑制剂对JAK1、JAK2、JAK3均具有抑制作用,通过干扰JAK磷酸化来阻止JAK活化,进而抑制其向STAT

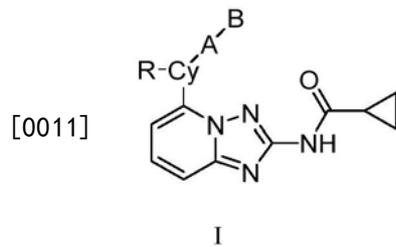
家族传递信号,非活化的STAT无法调控细胞核内基因表达,炎症反应无法进行,从而改善类风湿性关节炎患者临床症状。但是,由于缺乏对JAK亚型的选择性,使用托法替尼存在感染、肝损伤及胆固醇增加等副作用。

[0008] 非选择性JAK抑制剂由于不良反应多,限制了其应用。开发选择性JAK抑制剂是目前研究的重要方向。Filgotinib是由Galapagos公司研发的一种选择性JAK1抑制剂。综合已取得的临床数据来看,Filgotinib治疗RA和克罗恩病(Crohn's disease,CD)起效迅速、疗效高,同时具有良好的耐受性和安全性。其针对RA治疗的III期临床试验(FINCH 2)已达到主要终点,业界对Filgotinib的商业前景十分看好,2024年全球销售额预计将达到14亿美元。

## 发明内容

[0009] 本发明主要目的在于提供可作为JAK抑制剂的通式I结构的新型化合物。特别地,本发明还涉及该类化合物的制备方法和包含上述化合物的组合物,以及它们作为JAK抑制剂在制备治疗和预防疾病药物中的应用。

[0010] 为了实现上述目的,本发明的第一方面提供一种三氮唑并吡啶类化合物,所述化合物选自通式I所示的化合物,或其互变异构体、对映异构体、非对映异构体、内消旋体、外消旋体或其混合物,或其前体药物,或其药学上可接受的盐、溶剂合物或水合物,



[0012] 其中,

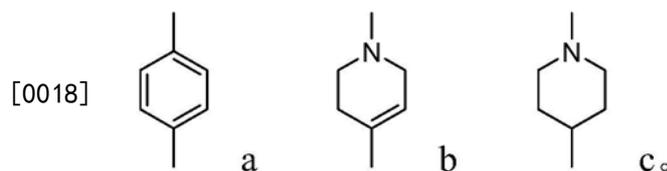
[0013] Cy为芳基、饱和的或单不饱和的4-元到8-元杂环,杂环上含有1或2个氮原子;

[0014] R选自H、卤素、氰基、烷基或烷氧基;

[0015] A为任选被一个或多个 $R_1$ 取代的直链或支链的亚烷基、羰基或磺酰基;每个 $R_1$ 各自独立地选自羟基、氨基;

[0016] B为任选被一个或多个 $R_2$ 取代的以下基团:直链或支链的烷基、环烷基、烯基、 $C_4-C_6$ 杂环基、烷胺基、芳基、杂芳基;每个 $R_2$ 各自独立地选自卤素、羟基、氨基、氰基、烷基、烷氧基、卤素取代的烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基。

[0017] 根据本发明,优选地,Cy选自式a、式b或式c所示的基团:



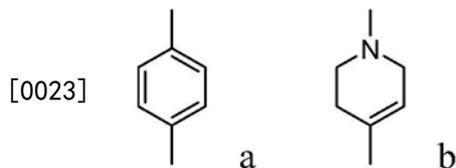
[0019] 根据本发明,优选地,R选自H、卤素、氰基、 $C_1-C_6$ 烷基或 $C_1-C_6$ 烷氧基。

[0020] 根据本发明,优选地,A为羟基取代的 $C_1-C_6$ 亚烷基、羰基或磺酰基;所述 $C_1-C_6$ 亚烷基优选为 $C_1-C_3$ 亚烷基。

[0021] 根据本发明,优选地,B选自氟取代的环烷基、氟取代的N杂环基、氟取代的烷基、氟

取代的烷基、氰基取代的烷基、氰基取代的环烷基、氰基取代的N杂环基、氰基取代的烷基、烯基、氰基取代的烯基；更优选地，B选自氟取代的C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、氟取代的C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> N杂环基、氟取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、氟取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、氰基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、氰基取代的C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>环烷基、氰基取代的C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> N杂环基、氰基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>单烯基、氰基取代的C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>单烯基。

[0022] 根据本发明一种优选实施方式，Cy为式a所示基团或式b所示的基团，优选为式a所示的基团；



[0024] R为H；

[0025] A为羟基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>亚烷基、羰基；

[0026] B为氟取代的C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> N杂环基、氰基取代的C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> N杂环基、氰基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、氰基取代的C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基或氰基取代的C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>单烯基；优选为氰基取代的C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> N杂环基、氰基取代的C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>单烯基。

[0027] 具体优选地，通式I所示的化合物选自：

[0028] N-(氰甲基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)苯甲酰胺；

[0029] N-(2,2,2-三氟甲基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)苯甲酰胺；

[0030] N-(5-(4-(3-氰基吡啶基-1-羰基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0031] N-(5-(4-(3,3-二氟吡啶基-1-羰基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0032] N-(5-(4-(4,4-二氟哌啶-1-羰基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0033] N-(5-(4-(2-氰基-1-羟基烯丙基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0034] N-(5-(1-(2-氰乙酰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0035] N-(5-(1-(2,2-二氟环丙基)-1-羰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0036] N-(5-(1-(2-(4,4-二氟哌啶-1-基)乙酰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺；

[0037] N-(氰甲基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)-3,6-二氢哌啶-1(2H)-甲酰胺；

[0038] N-(2,2,2-三氟乙基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)-3,6-二氢哌啶-1(2H)-甲酰胺；

[0039] N-(5-(1-丙烯基-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺;

[0040] N-(5-(1-(1-氰基环丙基-1-羰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺;

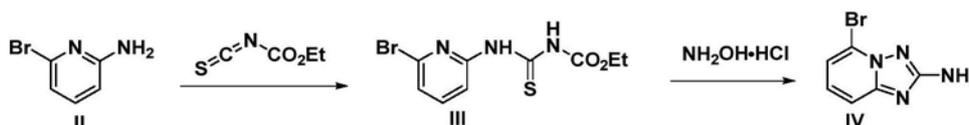
[0041] N-(5-(1-(1-三氟甲基环丙基-1-羰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺;

[0042] N-(5-(1-(2-氰乙基)哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺;

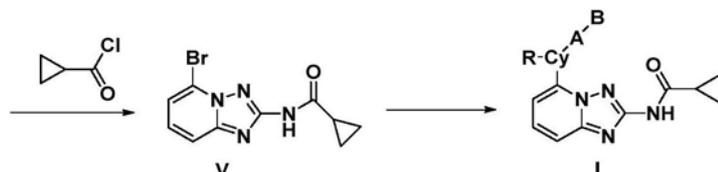
[0043] N-(5-(1-(2,2-二氟环丙烷基-1-羰基)哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺。

[0044] 本发明中,所述前药是通式I所示化合物的衍生物,它们自身可能具有较弱的活性甚至没有活性,但是在给药后,在生理条件下(例如通过代谢、溶剂分解或另外的方式)被转化成相应的生物活性形式。

[0045] 本发明的第二方面提供上述化合物的制备方法,以2-氨基-6-溴吡啶为起始原料,经缩合、环合、酰化得中间体V,V与相应的硼酸酯经Suzuki偶联、缩合等反应得到通式I所示的化合物。具体合成路线如下所示。



[0046]



[0047] 上述合成路线概括并描述了本发明的通式I所示化合物的制备,所有的原料都是通过这些流程中描述的方式、通过有机化学领域普通技术人员熟知的方法制备的或者商购的。本发明的全部最终衍生物都是通过这些流程中描述的方法或通过与类似的方法制备的,这些方法是有机化学领域普通技术人员熟知的。

[0048] 本发明的第三方面提供一种药用组合物,包含上述化合物作为活性成分以及药学上可接受的赋形剂。

[0049] 本发明可以含有通式I所示化合物的衍生物及其药学上可接受的盐、水合物作为活性成份,与药学上可接受的赋形剂混合制备成组合物,并制备成临床上可接受的剂型,上述赋形剂是指可用于药学领域的稀释剂、辅助剂或载体。上述剂型是指临床上常用的注射剂、片剂、胶囊剂等。

[0050] 本发明的第四方面提供上述化合物和/或药用组合物在制备治疗和/或预防自身免疫性疾病、炎症或肿瘤的药物中的应用。

[0051] 所述自身免疫性疾病包括但不限于类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病、多发性硬化;所述炎症包括但不限于特应性皮炎、炎症性肠炎、克罗恩病;所述肿瘤包括但不限于骨髓纤维化、白血病、淋巴瘤。

[0052] 本发明涉及的化合物或其药学上可接受的盐、水合物、前药可作为唯一的免疫抑制药物单独使用,或者可以与现已上市的抗增生性药物联合使用,用于治疗和/预防免疫紊乱类疾病。

[0053] 本发明通式I所示化合物或其药学上可接受的盐、水合物、前药也可用作化疗方案的一部分单独或结合本领域熟知的传统抗癌化合物治疗癌症。

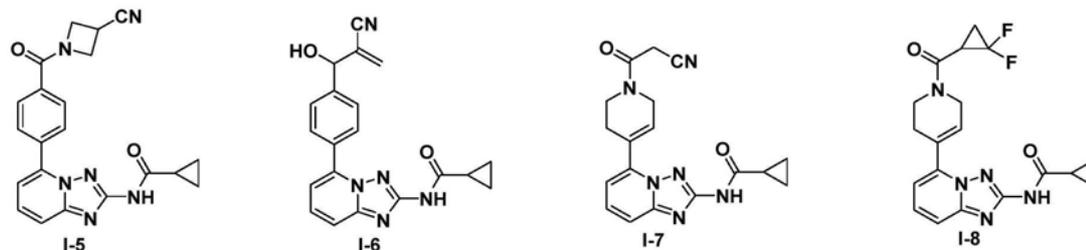
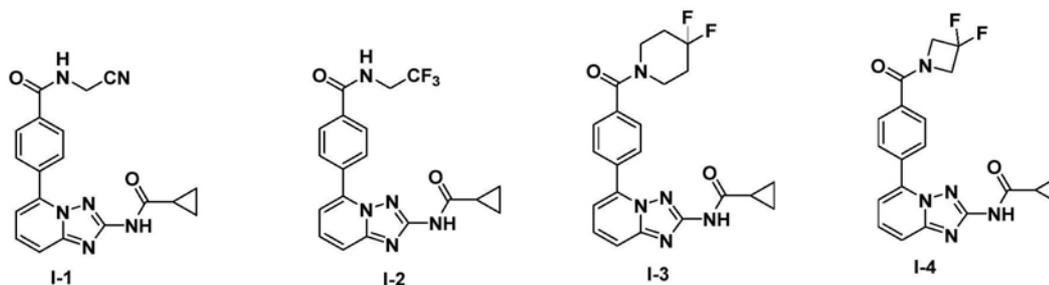
[0054] 通过对JAK各亚型酶活性测试发现,本发明化合物或其药学上可接受的盐、水合物、前药对JAK1具有显著的抑制活性,对JAK2具有不同程度的选择性,而对JAK3的抑制活性较弱,说明该类化合物对JAK亚型具有选择性。表明通式I化合物可用于与JAK活性相关的疾病如自身免疫性疾病、癌症、炎症等,特别用于制备治疗和/或预防类风湿性关节炎、骨髓纤维化、特应性皮炎、克罗恩病等。

[0055] 本发明的其它特征和优点将在随后具体实施方式部分予以详细说明。

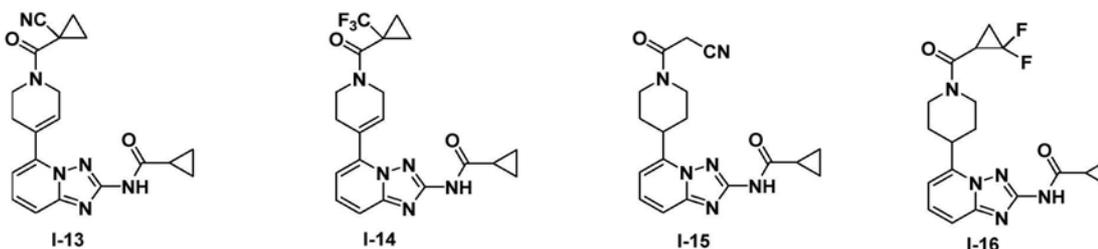
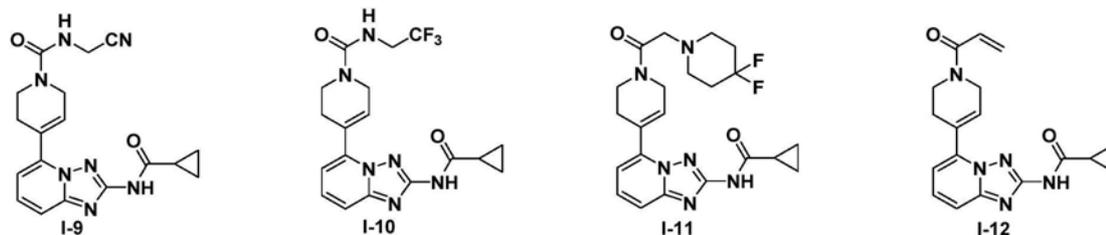
### 具体实施方式

[0056] 下面将更详细地描述本发明的优选实施方式。虽然以下描述了本发明的优选实施方式,然而应该理解,可以以各种形式实现本发明而不应被这里阐述的实施方式所限制。

[0057] 在以下的实施例中,描绘了制备部分所述化合物的方法。应了解,以下方法及所属领域的普通技术人员已知的其他方法均可以适用于本发明所述的所有化合物的制备。实施例旨在阐述而不是限制本发明的范围。



[0058]



[0059] 实施例1: N-(氰甲基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)苯甲酰胺 (I-1) 的制备

[0060] 步骤1 N-(6-溴-吡啶-2-基)-N'-乙氧基硫脲(III)的合成

[0061] 0℃以下,将26.5g (0.15mol) 2-氨基-6-溴吡啶加入到130mL二氯甲烷中,搅拌至全溶。控制温度为-20~0℃,向反应液中慢慢滴加24.3g (0.18mol) 异硫氰酰甲酸乙酯的二氯甲烷(25mL)溶液,滴毕,室温反应16-20h。反应完毕,将反应液减压蒸干,粗品加入到60mL石油醚中,搅拌1h,抽滤,干燥得红棕色粉末32.6g,收率为70%,MS (ESI), m/z (%): 303.7[M+H]<sup>+</sup>,

[0062] 步骤2 5-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(IV)的合成

[0063] 室温下,将41.4g (0.60mol) 盐酸羟胺、60.6g (0.60mol) 三乙胺加入到450mL乙醇中,搅拌1h,向反应液中加入90.9g (0.30mol) 中间体II,70-100℃反应3h,反应完毕,浓缩反应液,冷却,析出白色固体,抽滤,滤饼用水淋洗(100mL×2),冷乙醇淋洗(100mL),干燥得白色晶体59.1g,总收率为92.8%,MS (ESI), m/z (%): 213.0[M+H]<sup>+</sup>,

[0064] 步骤3 N-(5-溴-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙基乙酰胺(V)的合成

[0065] 0℃以下,将16.0g (0.075mol) 中间体IV加入到80mL二氯甲烷中,搅拌至全溶。控制温度为-20~0℃,缓慢加入26mL (0.18mol) 三乙胺后,继续搅拌0.5h,向反应液中滴加17mL (0.18mol) 环丙基甲酰氯的二氯甲烷 (20mL) 溶液,滴毕,室温反应2-5h。反应完毕,将反应液依次用水 (70mL×2) 和70mL饱和食盐水洗涤,有机层减压蒸干。将粗品加入到80mL甲醇中,加入34mL氨水,室温反应1h。反应完毕,反应液减压浓缩,向反应液中加入150mL水,水层用二氯甲烷 (200mL×2) 萃取两次,合并有机层,依次用水 (100mL×2)、饱和100mL食盐水洗涤,有机层用无水硫酸钠干燥,抽滤,将滤液减压蒸干,干燥得淡黄色固体48.1g,收率为85.8%;MS (ESI),  $m/z$  (%) : 281.0 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) :  $\delta$  (ppm) 11.21 (s, 1H), 7.72 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.56 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.50 (d, J=7.5Hz, 1H), 2.04 (s, 1H), 0.84 (d, J=5.9Hz, 4H),

[0066] 步骤4 4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-5-基)苯甲酸(VI)的合成

[0067] 室温氮气保护下,将1.0g (3.5mmol) 中间体V、1.2g (5.3mmol) 4-羧基苯硼酸频哪醇酯、1.0g (7mmol) 碳酸钾和0.14g (0.35mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>加入到10mL二氧六环/水(8:1)的混合溶剂中,搅拌下缓慢升温至70-100℃,反应5-14h。反应完毕,蒸除部分溶剂,向剩余物加15mL水,DCM洗水层,水层用4N HCl调pH 2-3,抽滤,柱层析纯化得白色固体0.86g,收率为75%;MS (ESI),  $m/z$  (%) : 323.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  11.09 (s, 1H), 8.12 (q, J=8.6Hz, 4H), 7.75 (d, J=4.2Hz, 2H), 7.55-7.23 (m, 1H), 2.01 (s, 1H), 0.82 (d, J=6.1Hz, 4H),

[0068] 步骤5 N-(氰甲基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)苯甲酰胺(I-1)的合成

[0069] 将0.1g (0.3mmol) 中间体VI、0.03g (0.4mmol) 氨基乙腈盐酸盐、0.16g (0.45mmol) HATU和0.2mL (7mmol) DIPEA加入2mL DMF中,室温反应4-5h。反应完毕,向反应液加入5mL DCM稀释,水洗DCM层3次。蒸除部分溶剂,柱层析纯化得目标化合物I-1白色固体0.08g,收率为72%;MS (ESI),  $m/z$  (%) : 361.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  11.10 (s, 1H), 9.40 (t, J=5.4Hz, 1H), 8.17 (d, J=8.5Hz, 2H), 8.04 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.75 (d, J=4.2Hz, 2H), 7.40 (t, J=4.3Hz, 1H), 4.38 (d, J=5.4Hz, 2H), 2.01 (m, 1H), 0.82 (d, J=6.2Hz, 4H)。

[0070] 实施例2:N-(2,2,2-三氟甲基)-4-(2-(环丙甲酰胺基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)苯甲酰胺(I-2)的制备

[0071] 以中间体VI和三氟乙胺盐酸盐为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-2白色固体0.06g,收率68%;MS (ESI),  $m/z$  (%) : 404.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  11.11 (s, 1H), 9.30 (t, J=5.9Hz, 1H), 8.16 (d, J=8.3Hz, 2H), 8.06 (d, J=8.3Hz, 2H), 7.75 (d, J=4.1Hz, 2H), 7.39 (t, J=4.1Hz, 1H), 4.23-4.05 (m, 2H), 2.01 (m, 1H), 0.82 (d, J=6.1Hz, 4H)。

[0072] 实施例3:N-(5-(4-(4,4-二氟哌啶-1-羰基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-3)的制备

[0073] 以中间体VI和4,4-二氟哌啶为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-3白色固体0.06g,收率70%;MS (ESI),  $m/z$  (%) : 404.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  11.10 (s, 1H), 8.10 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.85-7.73 (m, 2H), 7.64 (d, J=8.4Hz, 2H), 7.37 (m, 1H), 3.40-3.24 (m, 4H), 2.09 (m, 4H), 1.98 (m, 1H), 0.82 (d, J=5.9Hz, 4H)。

[0074] 实施例4:N-(5-(4-(3,3-二氟吡啶基-1-羰基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-4)的制备

[0075] 以中间体VI和3,3-二氟三甲叉亚胺盐酸盐为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-4白色固体0.07g,收率74%;MS(ESI), $m/z$ (%):398.1[M+H]<sup>+</sup>,<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 11.11(s,1H),8.12(d,J=8.4Hz,2H),7.88(d,J=8.4Hz,2H),7.75(d,J=4.3Hz,2H),7.42-7.34(m,1H),4.88(m,1H),4.53(m,1H),2.02(m,1H),0.82(d,J=7.1Hz,2H)。

[0076] 实施例5:N-(5-(4-(3-氰基吡啶基-1-羰基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-5)的制备

[0077] 以中间体VI和3-乙腈环丁胺盐酸盐为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-4白色固体0.05g,收率64%;MS(ESI), $m/z$ (%):387.1[M+H]<sup>+</sup>,<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 11.10(s,1H),8.11(d,J=8.4Hz,2H),7.81(d,J=8.4Hz,2H),7.74(d,J=4.1Hz,2H),7.37(t,J=4.3Hz,1H),4.66(m,1H),4.59(m,1H),4.39(m,1H),4.28-4.17(m,1H),3.89(m,1H),2.02(m,1H),0.82(d,J=6.0Hz,4H)。

[0078] 实施例6:N-(5-(4-(2-氰基-1-羟基烯丙基)苯基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-6)的制备

[0079] 步骤1以中间体V和4-醛基苯硼酸频哪醇酯为原料,采用实施例1的方法,得到中间体VII棕色固体,MS(ESI), $m/z$ (%):307.1[M+H]<sup>+</sup>,<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 11.13(s,1H),10.12(s,1H),8.25(d,J=8.4Hz,2H),8.09(d,J=8.4Hz,2H),7.85-7.68(m,2H),7.42(m,1H),2.01(m,1H),0.82(d,J=6.2Hz,4H),

[0080] 步骤2室温下,将0.1g(0.3mmol)中间体VII、0.11mL(1.5mmol)丙烯腈、0.04g(0.3mmol)DABCO加入2mL乙腈/水的混合溶剂中,室温反应24-48h。反应完毕,蒸除部分溶剂,向剩余物加入4mL DCM,水洗DCM层,蒸除部分溶剂,柱层析纯化得目标化合物I-6白色固体0.05g,收率62%;MS(ESI), $m/z$ (%):387.1[M+H]<sup>+</sup>,<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 11.08(s,1H),8.03(d,J=8.4Hz,2H),7.91-7.65(m,2H),7.57(d,J=8.4Hz,2H),7.32(m,1H),6.48(d,J=4.0Hz,1H),6.32(s,1H),6.19(s,1H),5.45(d,J=4.0Hz,1H),1.99(m,2H),0.82(d,J=5.9Hz,4H)。

[0081] 实施例7:N-(5-(1-(2-氰乙酰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-7)的制备

[0082] 步骤1以中间体V和N-Boc-1,2,5,6-四氢吡啶-4-硼酸频哪醇酯为原料,采用实施例1的方法,得到中间体VIII黄色固体,MS(ESI), $m/z$ (%):384.1[M+H]<sup>+</sup>,

[0083] 步骤2室温下,将1g中间体VIII加入饱和氯化氢二氧六环溶液中,室温反应3-5h,反应完毕,抽滤,干燥得中间体IX淡黄色固体0.7g,收率73%;MS(ESI), $m/z$ (%):284.1[M+H]<sup>+</sup>,

[0084] 步骤3以中间体IX和氰基乙酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-7白色固体0.07g,收率81%,MS(ESI), $m/z$ (%):351.1[M+H]<sup>+</sup>,<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ 11.09(s,1H),7.68-7.62(m,2H),7.15-7.00(m,2H),4.22(s,2H),4.15(m,2H),3.71(t,J=5.5Hz,1H),3.60(t,J=5.5Hz,1H),2.78(m,1H),2.70(m,1H),2.01(m,1H),0.83(d,J=6.3Hz,4H)。

[0085] 实施例8:N-(5-(1-(2,2-二氟环丙基-1-羰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,

4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-8)的制备

[0086] 以中间体IX和2,2-二氟环丙基甲酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-8灰白色固体0.05g,收率67%,MS (ESI),  $m/z$  (%) : 388.1  $[M+H]^+$ ,  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.07 (s, 1H), 7.81-7.47 (m, 2H), 7.23-6.82 (m, 2H), 4.67-4.16 (m, 2H), 4.03-3.63 (m, 2H), 3.18 (m, 1H), 2.93-2.63 (m, 2H), 1.99 (m, 2H), 1.88 (m, 2H), 0.81 (d,  $J=7.5$ Hz, 4H).

[0087] 实施例9:N-(氰甲基)-4-(2-(环丙甲酰氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)-3,6-二氢哌啶-1(2H)-甲酰胺(I-9)的制备

[0088] 以中间体IX和N-(氰甲基)-1H-咪唑-1-甲酰胺为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-9白色固体0.06g,收率73%,MS (ESI),  $m/z$  (%) : 366.1  $[M+H]^+$ ,  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.07 (s, 1H), 7.63-7.59 (m, 2H), 7.34 (t,  $J=5.5$ Hz, 1H), 7.08 (m, 1H), 7.01 (m, 1H), 4.10 (d,  $J=2.6$ Hz, 2H), 4.06 (d,  $J=5.5$ Hz, 2H), 3.57 (t,  $J=5.5$ Hz, 2H), 2.66 (m, 2H), 2.01 (m, 1H), 0.81 (d,  $J=8.0$ Hz, 2H)。

[0089] 实施例10:N-(2,2,2-三氟乙基)-4-(2-(环丙甲酰氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基)-3,6-二氢哌啶-1(2H)-甲酰胺(I-10)的制备

[0090] 以中间体IX和N-(2,2,2-三氟乙基)-1H-咪唑-1-甲酰胺为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-10白色固体0.05g,收率68%,MS (ESI),  $m/z$  (%) : 409.1  $[M+H]^+$ ,  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.08 (s, 1H), 7.76-7.45 (m, 2H), 7.06 (m, 2H), 4.37 (s, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.71 (m, 2H), 2.77 (m, 2H), 2.63 (m, 5H), 2.06-1.87 (m, 6H), 0.84 (s, 4H)。

[0091] 实施例11:N-(5-(1-(2-(4,4-二氟哌啶-1-基)乙酰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-11)的制备

[0092] 步骤1室温下将0.1g (0.35mmol) 中间体IX加入2mL DCM中,0℃以下滴入0.04mL (0.52mmol) 氯乙酰氯,反应20min后室温反应4-5h,向反应液加入2mL水搅拌20min,3mL水洗DCM层,蒸除部分溶剂,柱层析纯化得棕色固体0.07g,收率54%,MS (ESI),  $m/z$  (%) : 360.1  $[M+H]^+$ ,

[0093] 步骤2室温下,将步骤1的产物0.07g (0.2mmol) 溶于2mL乙腈,加入0.05mL (0.4mmol) 三乙胺,0.06mL (0.4mmol) 4,4-二氟哌啶,50-70℃反应3-5h,反应完毕,整除部分溶剂,加入5mL DCM稀释剩余物,5mL水洗DCM层2次,柱层析纯化得目标化合物I-11棕色固体0.03g,收率45%,MS (ESI),  $m/z$  (%) : 445.1  $[M+H]^+$ ,  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.08 (s, 1H), 7.80-7.44 (m, 2H), 7.06 (m, 2H), 4.37 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 3.71 (m, 2H), 2.77 (m, 2H), 2.63 (m, 4H), 2.14-1.89 (m, 6H), 0.84 (s, 4H)。

[0094] 实施例12:N-(5-(1-丙烯基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-12)的制备

[0095] 以中间体IX和丙烯酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-12白色固体0.04g,收率56%,MS (ESI),  $m/z$  (%) : 338.1  $[M+H]^+$ ,  $^1H$  NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.09 (s, 1H), 7.68-7.61 (m, 2H), 7.14-6.98 (m, 2H), 6.95-6.80 (m, 1H), 6.18 (d,  $J=16.7$ Hz, 1H), 5.74 (dd,  $J=10.4, 2.2$ Hz, 1H), 4.35 (m, 2H), 3.80 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 0.83 (d,  $J=7.2$ Hz, 4H)。

[0096] 实施例13:N-(5-(1-(1-氰基环丙基)-1-羰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(I-13)的制备

[0097] 以中间体IX和1-氰基环丙烷羧酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-13白色固体0.08g,收率76%,MS (ESI),  $m/z$  (%): 377.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.10 (s, 1H), 7.67-7.64 (m, 2H), 7.15 (m, 2H), 4.41 (m, 2H), 3.86 (m, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.02 (m, 1H), 1.66 (dd, J=7.8, 4.7Hz, 2H), 1.55 (dd, J=7.8, 4.7Hz, 2H), 0.84 (d, J=7.0Hz, 4H).

[0098] 实施例14: N-(5-(1-(1-三氟甲基环丙基)-1-羰基)-1,2,3,6-四氢哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺 (I-14) 的制备

[0099] 以中间体IX和1-三氟甲基环丙烷羧酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-14白色固体0.08g,收率76%,MS (ESI),  $m/z$  (%): 420.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.10 (s, 1H), 7.67-7.63 (m, 2H), 7.13 (m, 2H), 4.30 (m, 2H), 3.85 (m, 2H), 2.77 (m, 2H), 2.02 (m, 1H), 1.36 (m, 2H), 1.26 (m, 2H), 0.84 (d, J=7.6Hz, 4H).

[0100] 实施例15 N-(5-(1-(2-氰乙基)哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺 (I-15) 的制备

[0101] 步骤1室温下,将1g (3.5mmol) 中间体IX溶于10mL甲醇,向反应液加入5-10%的二氧化铂,1-3MPa氢气氛围中,30-60°C反应4-7h。反应完毕,抽滤,滤液蒸干,向剩余物加入10mL饱和氯化氢的二氧六环溶液,室温搅拌4-5h,抽滤,干燥得中间体X黄褐色固体0.53g, MS (ESI),  $m/z$  (%): 284.1 [M+H]<sup>+</sup>,

[0102] 步骤2以中间体X和氰基乙酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-15白色固体0.05g,收率58%,MS (ESI),  $m/z$  (%): 353.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.08 (s, 1H), 7.72-7.28 (m, 2H), 6.98 (m, 1H), 4.52 (d, J=13.1Hz, 1H), 4.11 (d, J=3.9Hz, 2H), 3.83 (d, J=13.1Hz, 1H), 3.61 (t, J=12.8Hz, 1H), 3.22 (t, J=12.8Hz, 1H), 2.79 (t, J=12.0Hz, 1H), 2.11 (d, J=12.0Hz, 2H), 2.01 (s, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.60 (m, 1H), 0.83 (d, J=6.6Hz, 4H).

[0103] 实施例16 N-(5-(1-(2,2-二氟环丙烷基)-1-羰基)哌啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺 (I-16) 的制备

[0104] 以中间体X和2,2-二氟环丙烷甲酸为原料,采用实施例1的方法,得到目标化合物I-16白色固体0.04g,收率53%,MS (ESI),  $m/z$  (%): 390.1 [M+H]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.09 (s, 1H), 7.72-7.28 (m, 2H), 7.00 (m, 1H), 4.56 (d, J=11.1Hz, 1H), 4.24 (t, J=15.7Hz, 1H), 3.64 (t, J=10.3Hz, 2H), 3.22 (m, 2H), 2.91-2.75 (m, 1H), 2.22 (m, 1H), 2.09 (s, 1H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.69-1.39 (m, 2H), 0.83 (d, J=5.3Hz, 4H).

[0105] 本发明产物的生物学活性研究

[0106] 一、本发明提供化合物抑制JAK活性研究:

[0107] 采用Mobility shift assay法,测试目标化合物对JAK1/2/3的抑制活性 (IC<sub>50</sub>)。

[0108] 所用试剂: JAK1 (Carna), JAK2 (Carna), JAK3 (Carna), Kinase substrate JAK1 (GL), Kinase substrate 22 (GL), DMSO (Sigma)。

[0109] 操作步骤:

[0110] (1) 配制1×Kinase buffer。

[0111] (2) 化合物浓度梯度的配制: 受试化合物测试浓度为10μM或100μM起始,3倍稀释,10个浓度,复孔测试,在384source板中稀释成100倍终浓度的100%DMSO溶液,用Precision 4倍稀释化合物。使用分液器Echo 550向目的板OptiPlate-384F转移250nL 100倍终浓度的

化合物。

[0112] (3) 用1×Kinase buffer配制2.5倍终浓度的激酶溶液。

[0113] (4) 在化合物孔和阳性对照孔分别加10 $\mu$ L的2.5倍终浓度的激酶溶液；在阴性对照孔中加10 $\mu$ L的1×Kinase buffer。

[0114] (5) 1000rpm离心30秒，反应板振荡混匀后室温孵育10分钟。

[0115] (6) 用1×Kinase buffer配制25/15倍终浓度的ATP和Kinase substrate的混合溶液。

[0116] (7) 加入15 $\mu$ L的25/15倍终浓度的ATP和底物的混合溶液，起始反应。

[0117] (8) 将384孔板1000rpm离心30秒，振荡混匀后室温孵育相应的时间。 $IC_{50}$ 测定：将所述化合物以1mM之储备浓度溶于DMSO，且在10 $\mu$ M到0.04 $\mu$ M范围内的不同浓度测试以计算 $IC_{50}$ ，所有反应均重复2次，且使用GraphPad Prism software作图以确定各化合物 $IC_{50}$ 。

[0118] (9) 加入30 $\mu$ L终止检测液停止激酶反应，1000rpm离心30秒，振荡混匀。

[0119] (10) 用Caliper EZ Reader读取转化率。

[0120] 化合物对JAK1/2/3的抑制活性结果见表1。

[0121] 表1

实施例	JAK-1 $IC_{50}$ (nM)	JAK-2 $IC_{50}$ (nM)	JAK-3 $IC_{50}$ (nM)
实施例 1	286	299	1120
实施例 2	230	214	1015
实施例 3	393	401	923
[0122] 实施例 4	124	139	941
实施例 5	61	79	659
实施例 6	95	55	285
实施例 7	193	157	1640
实施例 8	283	192	2409
实施例 9	170	175	983

[0123]	实施例 10	234	347	1740
	实施例 11	558	302	3307
	实施例 12	877	424	2767
	实施例 13	1123	441	1547
	实施例 14	861	317	5649
	实施例 15	289	543	3258
	实施例 16	1446	1826	12225
	Fligotinib	115	74	623

[0124] 从上述结果可以清楚的看出,与阳性对照药物Filgotinib相比,本发明所要保护的式I的化合物可以显著抑制JAK1,同时对JAK2和JAK3具有不同程度的选择性,部分活化合物活性与Filgotinib相当或更优,证明所述化合物为强效选择性JAK1抑制剂。

[0125] 二、抑制JAKs高表达细胞增殖实验

[0126] BaF3-JAKs细胞在含5%胎牛血清及青/链霉素的RPMI培养基培养。然后,将细胞接种在96孔板,与不同浓度待测化合物培育72小时。采用CTG检测法检测细胞增值情况并计算IC<sub>50</sub>值。化合物对JAKs高表达细胞抗增殖活性结果如下表2所示:

[0127] 表2

实施例	BaF3-JAK1 IC <sub>50</sub> (μM)	BaF3-JAK2 IC <sub>50</sub> (μM)	BaF3-JAK3 IC <sub>50</sub> (μM)
实施例 5	2.59	7.43	>30
[0128] 实施例 6	1.18	1.03	7.05
实施例 7	11.30	11.67	>30
Filgotinib	1.43	4.45	13.26

[0129] 使用此检定方法测试部分化合物对BaF3-JAK1细胞的IC<sub>50</sub>在1.18到11.30μmol之间,其中实施例5化合物对JAK1的活性与阳性药物Filgotinib相近,同时对JAK1的选择性更优。

[0130] 以上结果证明,本发明化合物在酶和细胞水平上可选择性抑制JAK1的活性,为有效的JAK1抑制剂。

[0131] 实施例17

[0132] 本实施例用于说明利用本发明的化合物制备片剂。

[0133] 用实施例1化合物10g,按照药剂学一般压片法加辅料20g混匀后,压制成100片,每片重300mg。

[0134] 实施例18

[0135] 本实施例用于说明利用本发明的化合物制备胶囊剂。

[0136] 用实施例7化合物10g,按照药剂学胶囊剂的要求将辅料20g混匀后,装入空心胶

囊,每个胶囊重300mg。

[0137] 实施例19

[0138] 本实施例用于说明利用本发明的化合物制备注射剂。

[0139] 用实施例1化合物10g,按照药剂学常规方法,进行活性炭吸附,经0.65 $\mu$ m微孔滤膜过滤后,填入氮气罐制成水针制剂,每只装2mL,共灌装100瓶。

[0140] 以上已经描述了本发明的各实施例,上述说明是示例性的,并非穷尽性的,并且也不限于所披露的各实施例。在不偏离所说明的各实施例的范围和精神的情况下,对于本技术领域的普通技术人员来说许多修改和变更都是显而易见的。