

(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
2016年11月3日 (03.11.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/173484 A1

(51) 国际专利分类号:

C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/428 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01) A61K 31/423 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01) A61K 31/4985 (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01) A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(21) 国际申请号:

PCT/CN2016/080208

(22) 国际申请日:

2016年4月26日 (26.04.2016)

(25) 申请语言:

中文

(26) 公布语言:

中文

(30) 优先权:

201510213187.8 2015年4月29日 (29.04.2015) CN

(71) 申请人: 南京明德新药研发股份有限公司 (MED-SHINE DISCOVERY INC.) [CN/CN]; 中国江苏省南京市高新开发区高新路9号商务办公楼218室, Jiangsu 210032 (CN)。

(72) 发明人: 吴颢 (WU, Hao); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。李鹏 (LI, Peng); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。毛魏魏 (MAO, Weiwei); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。陈曙辉 (CHEN, Shuhui); 中国上海市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。王非 (WANG, Fei); 中国山西省浦东新区富特中路288号, Shanxi 200131 (CN)。黎健 (LI, Jian); 中国上海

市浦东新区富特中路288号, Shanghai 200131 (CN)。

(74) 代理人: 上海弼兴律师事务所 (SHANGHAI BE-SHINING LAW OFFICE); 中国上海市小木桥路681号外经大厦21楼, Shanghai 200032 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

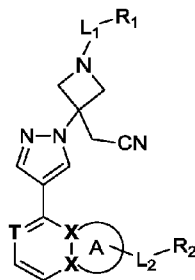
(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),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

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: JAK INHIBITORS

(54) 发明名称: JAK 抑制剂



(I)

(57) Abstract: Disclosed is a series of JAK inhibitors, which specifically relates to a compound shown in formula (I) or pharmaceutically acceptable salts thereof.

(57) 摘要: 本发明公开了一系列 JAK 抑制剂, 具体涉及式(I)化合物或其药学上可接受的盐。



WO 2016/173484 A1

JAK 抑制剂

发明领域

本发明涉及一系列 JAK 抑制剂，具体涉及式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐。

发明背景

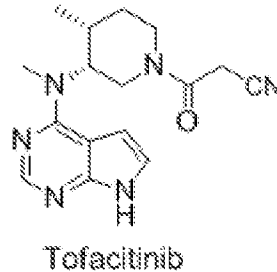
JAK 属于参与炎症、自身免疫疾病、增殖性疾病、移植排斥、涉及软骨更新(turnover)受损的疾病、先天软骨畸形和/或与 IL6 分泌过多相关的疾病的酪氨酸激酶家族。本发明还提供所述化合物、含有所述化合物的药物组合物的生产方法和通过施用本发明化合物预防和/或治疗炎症、自身免疫疾病、增殖性疾病、移植排斥、涉及软骨更新受损的疾病、先天软骨畸形和/或与 IL6 分泌过多相关的疾病的方法。

Janus 激酶(JAK)是转导细胞因子信号从膜受体到 STAT 转录因子的细胞质酪氨酸激酶。现有技术已经描述了四种 JAK 家族成员：JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2。当细胞因子与其受体结合时，JAK 家族成员自磷酸化和/或彼此转磷酸化，随后 STATs 磷酸化，然后迁移至细胞核内以调节转录。JAK-STAT 细胞内信号转导适用于干扰素、大多数白细胞介素以及多种细胞因子和内分泌因子，例如 EPO、TPO、GH、OSM、LIF、CNTF、GM-CSF 和 PRL(Vainchenker W.等人(2008))。

遗传学模型和小分子 JAK 抑制剂的组合研究揭示了几种 JAKs 的治疗潜能。JAK2 基因突变研究是近年来血液病研究的突破性进展之一。现有技术公开了骨髓增殖性疾病 (myeloproliferative diseases,MPD),包括真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)、原发性血小板增多症 (essential thrombocythemia, ET)和特发性骨髓纤维化 (idiopathicmyelofibrosis, IMF)是一组造血干细胞病变引发的恶性疾病,2005 年研究人员在本组疾病中发现存在 JAK2 点突变 (JAK2V617F),才使 MPD 的诊治进入了一个新纪元。JAK2V617 是在第 14 外显子 v617 位点发生的点突变,缬氨酸 (valine, V)被苯丙氨酸 (phenylalanine, F)取代。在 JAK2 的结构中, JH1 为激酶域;而 Val617 位于与 JH1 相邻的 JH2,后者为假激酶域,与 JH1 结合并抑制其激活。V617F 突变使 JH2 失去了对 JH1 激酶活性的抑制作用,导致了 JAK2 的持续活化,由此造成细胞的增殖活性增强[Kilpivaara O, Levine RL. JAK2and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms :discovery andscience. Leukemia. 2008 ; 22(10): 1813-7]。JAK2V617F 突变在真性红细胞增多症、原发性血小板增多症和特发性骨髓纤维化 患者中存在很高的发生率。通过等位基因特异性多聚酶链反应检测到 JAK2 V617F 突变在真性红细胞增多症患者中的发生率为 90% ; 原发性血小板增多症和特发性骨髓纤维化患者为 50%-60% [Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Lancet. 2005 ; 365 (9464): 1054-61]。在未发现 JAK2 突变缺乏 V617F 突变患者的这些疾病的分子基础尚不清楚。2007 年,有研究在 JAK2V617F 突变阴性的 MPD 患者中发现了外显子 12 的突变,该突变同样也可造成 JH2 丧失对 JH 激酶活性的抑制,这为 JAK2 V617F 阴性的骨髓增殖性疾病患者提供了分子标志物和遗传机制[Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. NEngl J Med 2007;356:459-68-]。[0004] 正常生理情况下, JAK2 介导促红细胞生成素 (EPO)、促血小板生成素 (TPO)、粒-巨噬细胞集落刺激因子、白细胞介素₃ 和生长因子在内的多种细胞因子的信号转导,并调节和促进细胞增殖。JAK2 基因在造血调节中发挥重要作用,其下游的 STAT 家族是一种能与 DNA 结合的蛋白家族,与 JAK 磷酸化信号通路偶联 (JAK-STAT 信号通路),发挥转录调控作用。JAK-STAT 能把细胞外信号与基因表达调控直接联系起来,启动响应

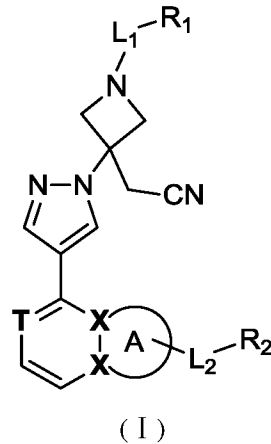
基因的转录和表达，完成细胞因子受体如促红细胞生成素受体（EPOR）和促血小板生成素受体（MPL/TPOR）介导的信号转导过程，产生细胞增殖效应。

Tofacitinib 是一种 pan jak 抑制剂，非高特异性 JAK2 抑制剂，其结构式如下所示：



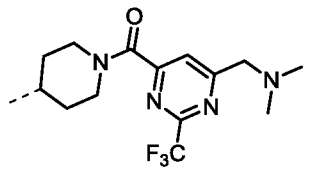
发明内容

本发明的目的在于提供式(I)化合物或其药学上可接受的盐，



其中，

R₁ 选自 H、或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的：C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 杂烷基、C₃₋₇ 环烷基、3~7 元杂环



烷基、5~6 元芳基、5~6 元杂芳基、

L₁、L₂ 分别独立地选自单键、-S(=O)₂-、-S(=O)-、-C(=O)-、-NHC(=O)-；

R₂ 选自：H、或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的：NH₂、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 杂烷基、C₃₋₇ 环烷基、3~7 元杂环烷基、5~6 元芳基、5~6 元杂芳基；

环 A 选自 5~6 元杂芳基；

X 分别独立地选自 N、C；

T 选自 N 或 C(R)；

R 选自 H、卤素、NH₂、CN、OH、或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R' 取代的：C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 杂烷基、C₃₋₆ 环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳基、5~6 元杂芳基；

R' 选自卤素、OH、CN、NH₂；

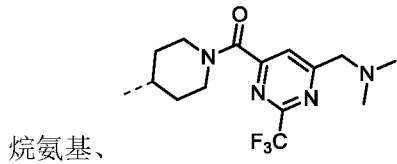
所述“杂”代表杂原子或杂原子团，分别独立地选自 O、S、N、C(=O)、S(=O) 或 S(=O)₂；

杂原子或杂原子团的数目分别独立地选自 0、1、2、3 或 4。

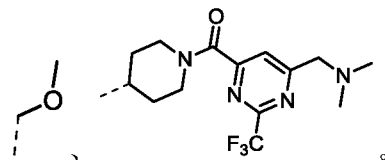
本发明的一个方案中，上述 R 分别独立地选自 H、卤素、OH、NH₂、CN，或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R' 取代的 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₁₋₃ 烷基胺基。

本发明的一个方案中，上述 R 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH₂、Me、Et、N(CH₃)₂、NH(CH₃)。

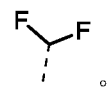
本发明的一个方案中，上述 R₁ 选自 H，或任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₃₋₆ 杂环烷基、C₁₋₃ 烷基-O-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₃ 烷基-S-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₃ 烷基-NH-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆



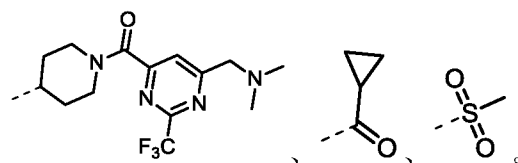
本发明的一个方案中，上述 R₁ 选自 H，或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的 Me、



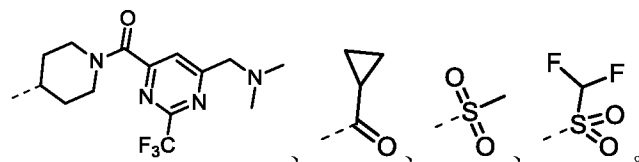
本发明的一个方案中，上述 R₁ 选自：H、Me、



本发明的一个方案中，上述 R_{1-L1} 选自 H，或选自任选被 R 取代的：

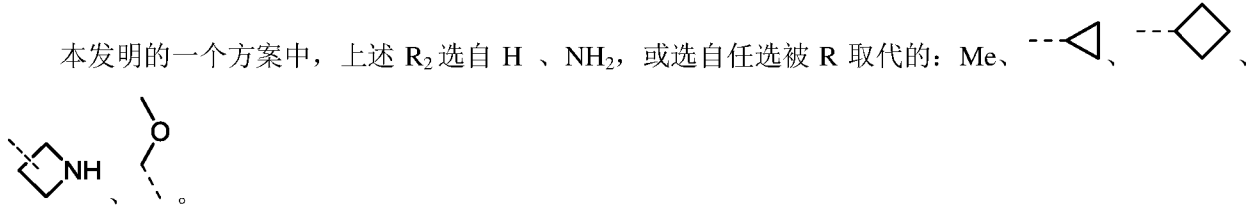


本发明的一个方案中，上述 R_{1-L1} 选自：H、

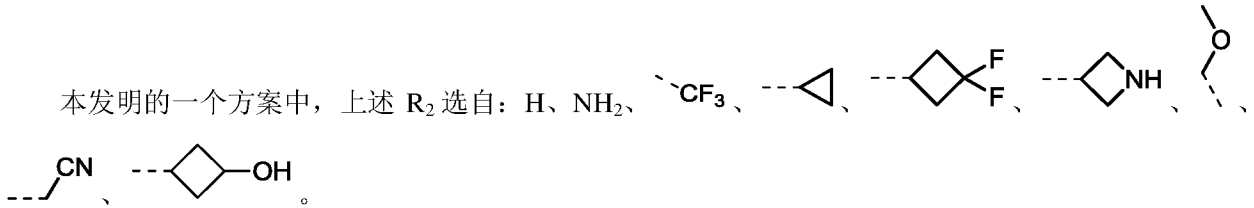


本发明的一个方案中，上述 R₂ 选自 H、NH₂，或任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、3~6 元杂环烷基、C₁₋₃ 烷基-O-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₃ 烷基-S-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₃ 烷基-NH-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 烷基胺基；

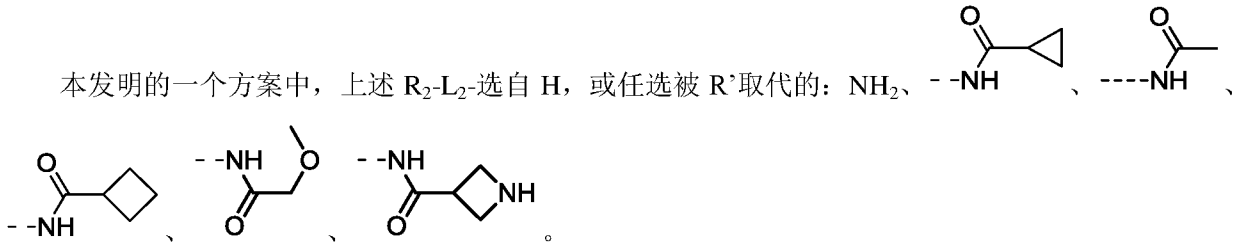
本发明的一个方案中，上述 R₂ 选自 H、NH₂，或选自任选被 R 取代的：Me、



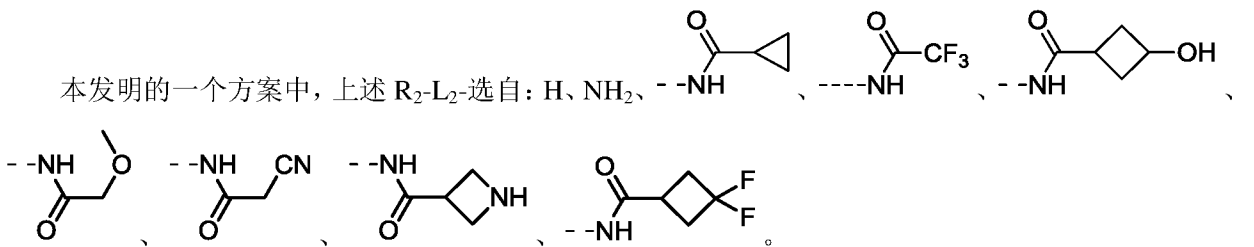
本发明的一个方案中，上述 R₂ 选自：H、NH₂、



本发明的一个方案中，上述 R₂-L₂-选自 H，或任选被 R' 取代的：NH₂、

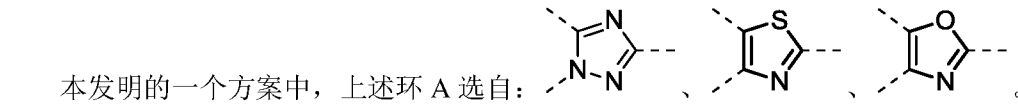


本发明的一个方案中，上述 R₂-L₂-选自：H、NH₂、

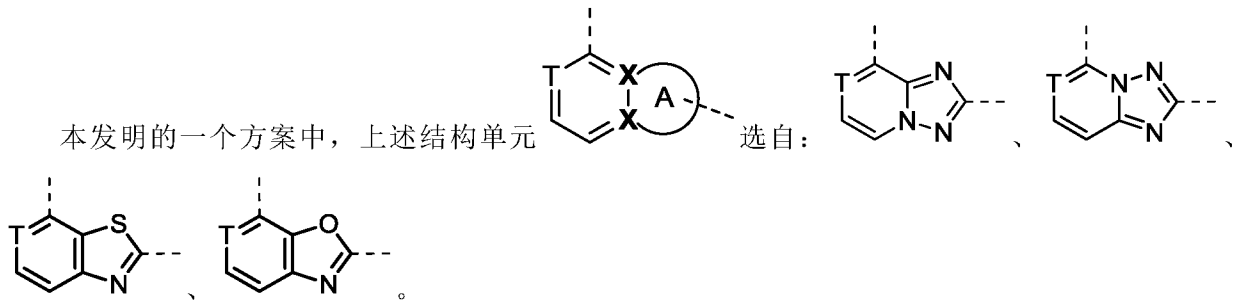


本发明的一个方案中，上述环 A 选自：1,3,4-三氮唑基、咪唑基、恶唑基、噻唑基。

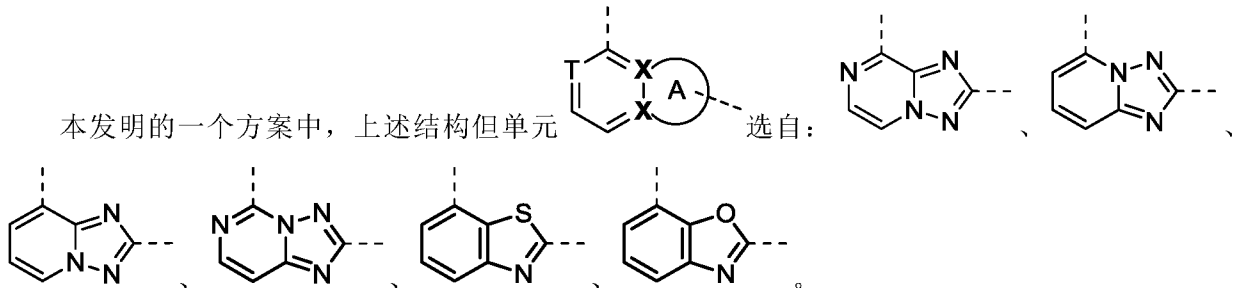
本发明的一个方案中，上述环 A 选自：



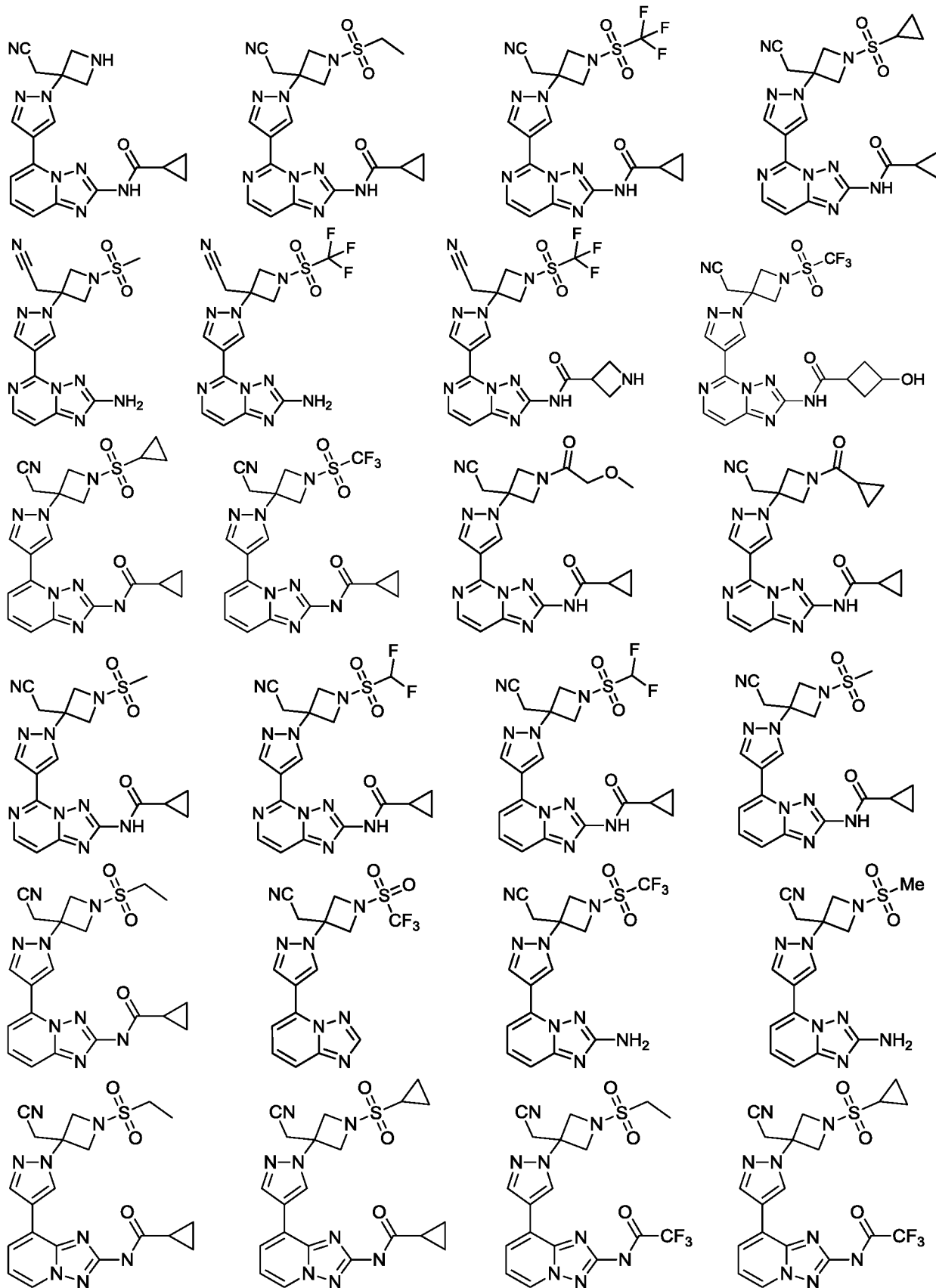
本发明的一个方案中，上述结构单元

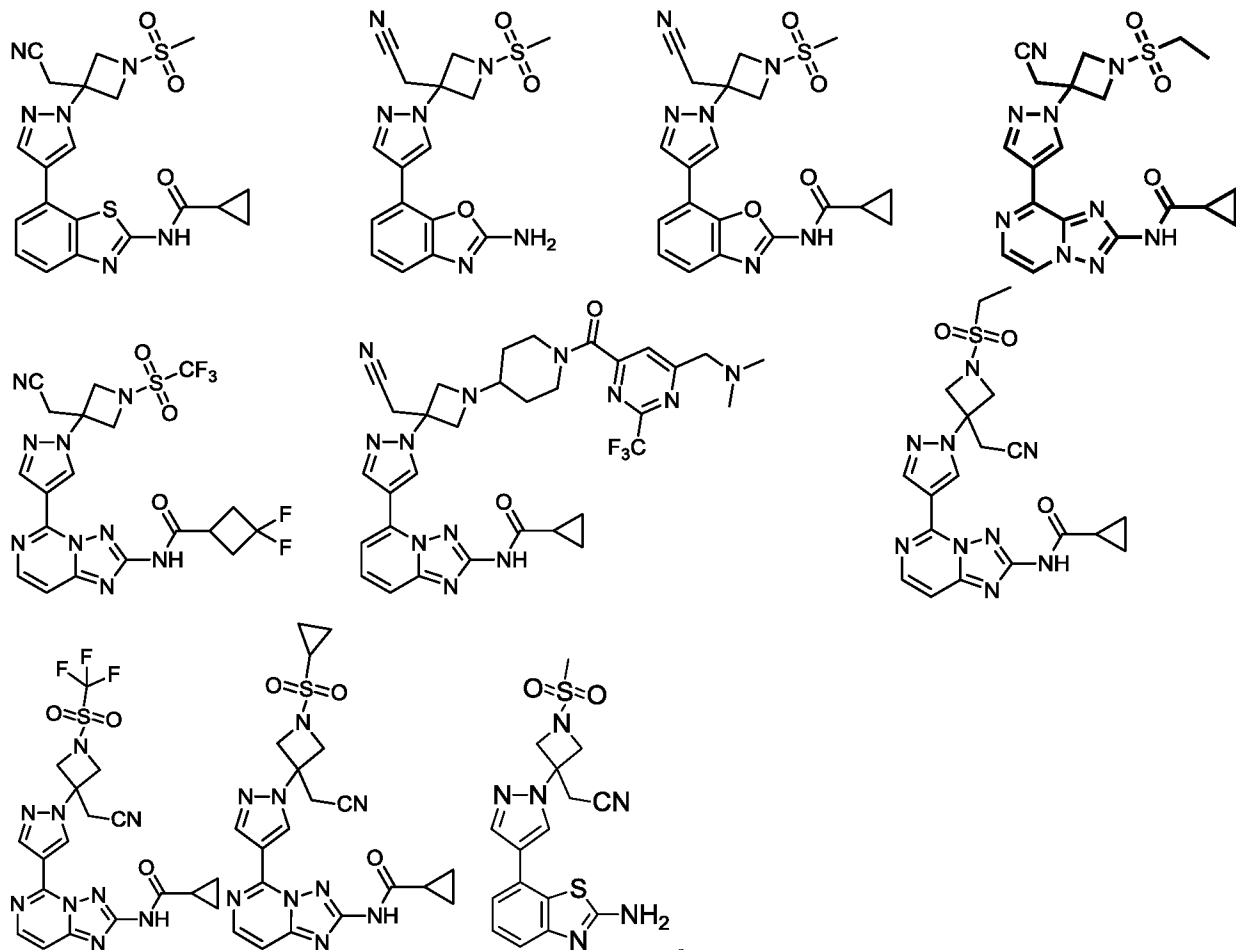


本发明的一个方案中，上述结构单元



本发明的化合物，其选自：





定义和说明

除非另有说明，本文所用的下列术语和短语旨在具有下列含义。一个特定的术语或短语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照普通的含义去理解。当本文中出現商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

C₁₋₆ 选自 C₁、C₂、C₃、C₄、C₅ 和 C₆；C₃₋₇ 选自 C₃、C₄、C₅、C₆ 和 C₇；3~7 元选自 3 元、4 元、5 元、6 元和 7 元。

这里所采用的术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

术语“药学上可接受的盐”是指本发明化合物的盐，由本发明发现的具有特定取代基的化合物与相对无毒的酸或碱制备。当本发明的化合物中含有相对酸性的功能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的碱与这类化合物的中性形式接触的方式获得碱加成盐。药学上可接受的碱加成盐包括钠、钾、钙、铵、有机铯或镁盐或类似的盐。当本发明的化合物中含有相对碱性的官能团时，可以通过在纯的溶液或合适的惰性溶剂中用足够量的酸与这类化合物的中性形式接触的方式获得酸加成盐。药学上可接受的酸加成盐的实例包括无机酸盐，所述无机酸包括例如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸，碳酸氢根，磷酸、磷酸一氢根、磷酸二氢根、硫酸、硫酸氢根、氢碘酸、亚磷酸等；以及有机酸盐，所述有机酸包括如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛酸、反丁烯二酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸和甲磺酸等类似的酸；还包括氨基酸（如精氨酸等）

的盐，以及如葡糖醛酸等有机酸的盐（参见 Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66: 1-19 (1977)）。本发明的某些特定的化合物含有碱性和酸性的官能团，从而可以被转换成任一碱或酸加成盐。

优选地，以常规方式使盐与碱或酸接触，再分离母体化合物，由此再生化合物的中性形式。化合物的母体形式与其各种盐的形式不同之处在于某些物理性质，例如在极性溶剂中的溶解度不同。

本文所用的“药学上可接受的盐”属于本发明化合物的衍生物，其中，通过与酸成盐或与碱成盐的方式修饰所述母体化合物。药学上可接受的盐的实例包括但不限于：碱基比如胺的无机酸或有机酸盐、酸根比如羧酸的碱金属或有机盐等等。药学上可接受的盐包括常规的无毒性的盐或母体化合物的季铵盐，例如无毒的无机酸或有机酸所形成的盐。常规的无毒性的盐包括但不限于那些衍生自无机酸和有机酸的盐，所述的无机酸或有机酸选自 2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟基乙磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、碳酸氢根、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙烷二磺酸、乙烷磺酸、富马酸、葡庚糖、葡糖酸、谷氨酸、乙醇酸、氢溴酸、盐酸、氢碘酸盐、羟基、羟萘、羟乙磺酸、乳酸、乳糖、十二烷基磺酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲烷磺酸、硝酸、草酸、双羟萘酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、多聚半乳糖醛、丙酸、水杨酸、硬脂酸、亚乙酸、琥珀酸、氨基磺酸、对氨基苯磺酸、硫酸、单宁、酒石酸和对甲苯磺酸。

本发明的药学上可接受的盐可由含有酸根或碱基的母体化合物通过常规化学方法合成。一般情况下，这样的盐的制备方法是：在水或有机溶剂或两者的混合物中，经由游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当的碱或酸反应来制备。一般地，优选醚、乙酸乙酯、乙醇、异丙醇或乙腈等非水介质。

除了盐的形式，本发明所提供的化合物还存在前药形式。本文所描述的化合物的前药容易地在生理条件下发生化学变化从而转化成本发明的化合物。此外，前体药物可以在体内环境中通过化学或生化方法被转换到本发明的化合物。

本发明的某些化合物可以以非溶剂化形式或者溶剂化形式存在，包括水合物形式。一般而言，溶剂化形式与非溶剂化的形式相当，都包含在本发明的范围之内。

本发明的某些化合物可以具有不对称碳原子（光学中心）或双键。外消旋体、非对映异构体、几何异构体和单个的异构体都包括在本发明的范围之内。

本文中消旋体、ambiscalemic and scalemic 或者对映体纯的化合物的图示法来自 Maehr, J. Chem. Ed. 1985, 62: 114-120。 1985 年，62: 114-120。除非另有说明，用楔形键和虚线键表示一个立体中心的绝对构型。当本文所述化合物含有烯属双键或其它几何不对称中心，除非另有规定，它们包括 *E*、*Z* 几何异构体。同样地，所有的互变异构形式均包括在本发明的范围之内。

本发明的化合物可以存在特定的几何或立体异构体形式。本发明设想所有的这类化合物，包括顺式和反式异构体、(-) 和 (+)-对映体、(*R*)- 和 (*S*)-对映体、非对映异构体、(*D*)-异构体、(*L*)-异构体，及其外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，所有这些混合物都属于本发明的范围之内。烷基等取代基中可存在另外的不对称碳原子。所有这些异构体以及它们的混合物，均包括在本发明的范围之内。

可以通过的手性合成或手性试剂或者其他常规技术制备光学活性的(*R*)-和(*S*)-异构体以及 *D* 和 *L* 异构体。如果想得到本发明某化合物的一种对映体，可以通过不对称合成或者具有手性助剂的衍生作用来

制备，其中将所得非对映体混合物分离，并且辅助基团裂开以提供纯的所需对映异构体。或者，当分子中含有碱性官能团（如氨基）或酸性官能团（如羧基）时，与适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体的盐，然后通过本领域所公知的拆分方法进行非对映异构体拆分，然后回收得到纯的对映体。此外，对映异构体和非对映异构体的分离通常是通过使用色谱法完成的，所述色谱法采用手性固定相，并任选地与化学衍生法相结合（例如由胺生成氨基甲酸盐）。

本发明的化合物可以在一个或多个构成该化合物的原子上包含非天然比例的原子同位素。例如，可用放射性同位素标记化合物，比如氚（ ^3H ），碘-125（ ^{125}I ）或 C-14（ ^{14}C ）。本发明的化合物的所有同位素组成的变换，无论放射性与否，都包括在本发明的范围之内。

术语“药学上可接受的载体”是指能够递送本发明有效量活性物质、不干扰活性物质的生物活性并且对宿主或者患者无毒副作用的任何制剂或载体介质代表性的载体包括水、油、蔬菜和矿物质、膏基、洗剂基质、软膏基质等。这些基质包括悬浮剂、增粘剂、透皮促进剂等。它们的制剂为化妆品领域或局部药物领域的技术人员所周知。关于载体的其他信息，可以参考 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005)，该文献的内容通过引用的方式并入本文。

术语“赋形剂”通常是指配制有效的药物组合物所需要载体、稀释剂和/或介质。

针对药物或药理学活性剂而言，术语“有效量”或“治疗有效量”是指无毒的但能达到预期效果的药物或药剂的足够用量。对于本发明中的口服剂型，组合物中一种活性物质的“有效量”是指与该组合物中另一种活性物质联用时为了达到预期效果所需要的用量。有效量的确定因人而异，取决于受体的年龄和一般情况，也取决于具体的活性物质，个案中合适的有效量可以由本领域技术人员根据常规试验确定。


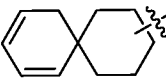
术语“活性成分”、“治疗剂”，“活性物质”或“活性剂”是指一种化学实体，它可以有效地治疗目标紊乱、疾病或病症。

术语“被取代的”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为酮基（即=O）时，意味着两个氢原子被取代。酮取代不会发生在芳香基上。术语“任选被取代的”是指可以被取代，也可以不被取代，除非另有规定，取代基的种类和数目在化学上可以实现的基础上可以是任意的。

当任何变量（例如 R）在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 0-2 个 R 所取代，则所述基团可以任选地至多被两个 R 所取代，并且每种情况下的 R 都有独立的选项。此外，取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生稳定的化合物的情况下才是被允许的。

当其中一个变量选自单键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如 A-L-Z 中 L 代表单键时表示该结构实际上是 A-Z。

当一个取代基的键可以交叉连接到一个环上的两个原子时，这种取代基可以与这个环上的任意原子相键合。当所列举的取代基中没有指明其通过哪一个原子连接到化学结构通式中包括但未具体提及的化合物时，这种取代基可以通过其任何原子相键合。取代基和/或其变体的组合只有在这样的组合会产生

稳定的化合物的情况下才是被允许的。例如，结构单元  或  表示其可在环己基或者环基二烯上的任意一个位置发生取代。

烷基和杂烷基原子团的取代基一般被称为“烷基取代基”，它们可以选自但不限于下列基团中的一个或多个： $-R'$ 、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、卤素、 $-SiR'R''R'''$ 、 $OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $NR' C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR''''-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $NR'''' C(NR'R'')=NR''''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $NR''SO_2R'$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 和氟代(C_1-C_4)烷基，取代基的数目为 $0 \sim (2m'+1)$ ，其中 m' 是这类原子团中碳原子的总数。 R' 、 R'' 、 R''' 、 R'''' 和 R''''' 各自独立地优选氢、被取代或未被取代的杂烷基、被取代或未被取代的芳基（例如被1~3个卤素取代芳基）、被取代或未被取代的烷基、烷氧基、硫代烷氧基基团或芳烷基。当本发明的化合物包括一个以上的R基团时，例如，每一个R基团是独立地加以选择的，如同当存在一个以上的 R' 、 R'' 、 R''' 、 R'''' 和 R''''' 基团时的每个这些基团。当 R' 和 R'' 附着于同一个氮原子时，它们可与该氮原子结合形成5-、6-或7-元环。例如， $-NR'R''$ 意在包括但不仅限于1-吡咯烷基和4-吗啉基。根据上述关于取代基的讨论中，本领域技术人员可以理解，术语“烷基”意在包括碳原子键合于非氢基团所构成的基团，如卤代烷基（例如 $-CF_3$ 、 $-CH_2CF_3$ ）和酰基（例如 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ 等）。

与烷基原子团所述取代基相似，芳基和杂芳基取代基一般统称为“芳基取代基”，选自例如 $-R'$ 、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、卤素、 $-SiR'R''R'''$ 、 $OC(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR''C(O)R'$ 、 $NR' C(O)NR''R'''$ 、 $-NR''C(O)_2R'$ 、 $-NR''''-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $NR'''' C(NR'R'')=NR''''$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $NR''SO_2R'$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、氟(C_1-C_4)烷氧基和氟(C_1-C_4)烷基等，取代基的数量为0到芳香环上开放化合价的总数之间；其中 R' 、 R'' 、 R''' 、 R'''' 和 R''''' 独立地优选自氢、被取代或未被取代的烷基、被取代或未被取代的杂烷基、被取代或未被取代的芳基和被取代或未被取代的杂芳基。当本发明的化合物包括一个以上的R基团时，例如，每个R基团是独立地加以选择的，如同当存在一个以上 R' 、 R'' 、 R''' 、 R'''' 和 R''''' 基团时的每个这些基团。

除非另有规定，芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被通式为 $-T-C(O)-(CRR')_q-U$ 的取代基所取代，其中T和U独立地选自 $-NR-$ 、 $-O-$ 、 CRR' 或单键，q是0到3的整数。作为替代选择，芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被通式为 $-A(CH_2)_r B$ 的取代基所取代，其中A和B独立的选自 $-CRR'-$ 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 或单键，r是1~4的整数。任选地，由此形成的新环上的一个单键可以替换为双键。作为替代选择，芳基或杂芳基环的相邻原子上的两个取代基可以任选地被通式为 $-A(CH_2)_r B$ 的取代基所取代，其中s和d分别独立的选自0~3的整数，X是 $-O-$ 、 $-NR'$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 或 $-S(O)_2NR'-$ 。取代基 R 、 R' 、 R'' 和 R''' 分别独立地优选自氢和被取代或未被取代的(C_1-C_6)烷基。

除非另有规定，术语“卤代素”或“卤素”本身或作为另一取代基的一部分表示氟、氯、溴或碘原子。此外，术语“卤代烷基”意在包括单卤代烷基和多卤代烷基。例如，术语“卤代(C_1-C_4)烷基”意在包括但不仅限于三氟甲基、2, 2, 2-三氟乙基、4-氯丁基和3-溴丙基等等。

卤代烷基的实例包括但不限于：三氟甲基、三氯甲基、五氟乙基，和五氯乙基。“烷氧基”代表通过氧桥连接的具有特定数目碳原子的上述烷基。 C_{1-6} 烷氧基包括 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 和 C_6 的烷氧基。烷氧基的例子包括但不限于：甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、

正戊氧基和 *S*-戊氧基。“环烷基”包括饱和环基，如环丙基、环丁基或环戊基。3-7 环烷基包括 C₃、C₄、C₅、C₆ 和 C₇ 环烷基。“链烯基”包括直链或支链构型的烃链，其中该链上任何的稳定位点上存在一个或多个碳-碳双键，例如乙烯基和丙烯基。

术语“卤”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

除非另有规定，术语“杂”表示杂原子或杂原子团(即含有杂原子的原子团)，包括碳 (C) 和氢 (H) 以外的原子以及含有这些杂原子的原子团，例如包括氧 (O)、氮 (N)、硫 (S)、硅 (Si)、锗 (Ge)、铝 (Al)、硼 (B)、-O-、-S-、=O、=S、-C(=O)O-、-C(=O)-、-C(=S)-、-S(=O)、-S(=O)₂-，以及任选被取代的-C(=O)N(H)-、-N(H)-、-C(=NH)-、-S(=O)₂N(H)-或-S(=O)N(H)-。

除非另有规定，“环”表示被取代或未被取代的环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基、芳基或杂芳基。所谓的环包括单环、联环、螺环、并环或桥环。环上原子的数目通常被定义为环的元数，例如，“5~7 元环”是指环绕排列 5~7 个原子。除非另有规定，该环任选地包含 1~3 个杂原子。因此，“5~7 元环”包括例如苯基、吡啶和哌啶基；另一方面，术语“5~7 元杂环烷基环”包括吡啶基和哌啶基，但不包括苯基。术语“环”还包括含有至少一个环的环系，其中的每一个“环”均独立地符合上述定义。

除非另有规定，术语“杂环”或“杂环基”意指稳定的含杂原子或杂原子团的单环、双环或三环，它们可以是饱和的、部分不饱和的或不饱和的(芳族的)，它们包含碳原子和 1、2、3 或 4 个独立地选自 N、O 和 S 的环杂原子，其中上述任意杂环可以稠合到一个苯环上形成双环。氮和硫杂原子可任选被氧化(即 NO 和 S(O)_p)。氮原子可以是被取代的或未取代的(即 N 或 NR，其中 R 是 H 或本文已经定义过的其他取代基)。该杂环可以附着到任何杂原子或碳原子的侧基上从而形成稳定的结构。如果产生的化合物是稳定的，本文所述的杂环可以发生碳位或氮位上的取代。杂环中的氮原子任选地被季铵化。一个优选方案是，当杂环中 S 及 O 原子的总数超过 1 时，这些杂原子彼此不相邻。另一个优选方案是，杂环中 S 及 O 原子的总数不超过 1。如本文所用，术语“芳族杂环基团”或“杂芳基”意指稳定的 5、6、7 元单环或双环或 7、8、9 或 10 元双环杂环基的芳香环，它包含碳原子和 1、2、3 或 4 个独立地选自 N、O 和 S 的环杂原子。氮原子可以是被取代的或未取代的(即 N 或 NR，其中 R 是 H 或本文已经定义过的其他取代基)。氮和硫杂原子可任选被氧化(即 NO 和 S(O)_p)。值得注意的是，芳香杂环上 S 和 O 原子的总数不超过 1。桥环也包含在杂环的定义中。当一个或多个原子(即 C、O、N 或 S)连接两个不相邻的碳原子或氮原子时形成桥环。优选的桥环包括但不限于：一个碳原子、两个碳原子、一个氮原子、两个氮原子和一个碳-氮基。值得注意的是，一个桥总是将单环转换成三环。桥环中，环上的取代基也可以出现在桥上。

杂环化合物的实例包括但不限于：吡啶基、吡辛因基、苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并噻吩基、苯并恶唑基、苯并恶唑啉基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、苯并异恶唑基、苯并异噻唑基、苯并咪唑啉基、咪唑基、4a*H*-咪唑基、咪唑基、苯并二氢吡喃基、色烯、噻吩基十氢噻吩基、2*H*, 6*H*-1, 5,2-二噻吩基、二氢呋喃并[2,3-*b*]四氢呋喃基、呋喃基、呋喃基、咪唑烷基、咪唑啉基、咪唑基、1*H*-咪唑基、咪唑烯基、二氢咪唑基、中氮茛基、咪唑基、3*H*-咪唑基、isatino 基、异苯并呋喃基、吡喃、异咪唑基、异二氢咪唑基、异咪唑基、咪唑基、异噻吩基、异恶唑基、亚甲二氧

基苯基、吗啉基、萘啶基，八氢异喹啉基、恶二唑基、1,2,3-恶二唑基、1,2,4-恶二唑基、1,2,5-恶二唑基、1,3,4-恶二唑基、恶唑烷基、恶唑基、异恶唑基、羟吡啶基、嘧啶基、菲啶基、菲咯啉基、吩嗪、吩噻嗪、苯并黄嘌呤基、酚恶嗪基、酞嗪基、哌嗪基、哌啶基、哌啶酮基、4-哌啶酮基、胡椒基、蝶啶基、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并恶唑、吡啶并咪唑、吡啶并噻唑、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯啉基、2*H*-吡咯基、吡咯基、吡唑基、喹啉基、喹啉基、4*H*-喹啉基、喹喔啉基、奎宁环基、四氢呋喃基、四氢异喹啉基、四氢喹啉基、四唑基、6*H*-1,2,5-噁二嗪基、1,2,3-噁二唑基、1,2,4-噁二唑基、1,2,5-噁二唑基、1,3,4-噁二唑基、噁蒎基、噁唑基、异噁唑基噁吩基、噁吩基、噁吩并恶唑基、噁吩并噻唑基、噁吩并咪唑基、噁吩基、三嗪基、1,2,3-三唑基、1,2,4-三唑基、1,2,5-三唑基、1,3,4-三唑基和咕吨基。还包括稠环和螺环化合物。

除非另有规定，术语“烃基”或者其下位概念（比如烷基、烯基、炔基、苯基等等）本身或者作为另一取代基的一部分表示直链的、支链的或环状的烃原子团或其组合，可以是完全饱和的、单元或多元不饱和的，可以是单取代、二取代或多取代的，可以是一价（如甲基）、二价（如亚甲基）或者多价（如次甲基），可以包括二价或多价原子团，具有指定数量的碳原子（如 C₁-C₁₀ 表示 1 至 10 个碳）。“烃基”包括但不限于脂肪烃基和芳香烃基，所述脂肪烃基包括链状和环状，具体包括但不限于烷基、烯基、炔基，所述芳香烃基包括但不限于 6-12 元的芳香烃基，例如苯、萘等。在一些实施例中，术语“烃基”表示直链的或支链的原子团或它们的组合，可以是完全饱和的、单元或多元不饱和的，可以包括二价和多价原子团。饱和烃原子团的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、叔丁基、异丁基、仲丁基、异丁基、环己基、（环己基）甲基、环丙基甲基，以及正戊基、正己基、正庚基、正辛基等原子团的同系物或异构体。不饱和烷基具有一个或多个双键或三键，其实例包括但不限于乙烯基、2-丙烯基、丁烯基、巴豆基、2-异戊烯基、2-（丁二烯基）、2,4-戊二烯基、3-（1,4-戊二烯基）、乙炔基、1-和 3-丙炔基，3-丁炔基，以及更高级的同系物和异构体。

除非另有规定，术语“杂烃基”或者其下位概念（比如杂烷基、杂烯基、杂炔基、杂芳基等等）本身或者与另一术语联合表示稳定的直链的、支链的或环状的烃原子团或其组合，有一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成。在一些实施例中，术语“杂烷基”本身或者与另一术语联合表示稳定的直链的、支链的烃原子团或其组合物，有一定数目的碳原子和至少一个杂原子组成。在一个典型实施例中，杂原子选自 B、O、N 和 S，其中氮和硫原子任选地被氧化，氮杂原子任选地被季铵化。杂原子或杂原子团可以位于杂烃基的任何内部位置（包括该烃基附着于分子其余部分的位置）。实例包括但不限于 -CH₂-CH₂-O-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-CH₃、-CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃、-CH₂-S-CH₂-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)-CH₃、-CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃、-CH=CH-O-CH₃、-CH₂-CH=N-OCH₃ 和 -CH=CH-N(CH₃)-CH₃。至多两个杂原子可以是连续的，例如 -CH₂-NH-OCH₃。

除非另有规定，术语“烷氧基”、“烷氨基”和“烷硫基”（或硫代烷氧基）属于惯用表达，是指分别通过一个氧原子、氨基或硫原子连接到分子的其余部分的那些烷基基团。

除非另有规定，术语“环烃基”、“杂环烃基”或者其下位概念（比如芳基、杂芳基、环烷基、杂环烷基、环烯基、杂环烯基、环炔基、杂环炔基等等）本身或与其他术语联合分别表示环化的“烃基”、“杂烃基”。此外，就杂烃基或杂环烃基（比如杂烷基、杂环烷基）而言，杂原子可以占据该杂环附着于分

子其余部分的位置。环烷基的实例包括但不限于环戊基、环己基、1-环己烯基、3-环己烯基、环庚基等。杂环基的非限制性实例包括 1- (1,2,5,6-四氢吡啶基)、1-哌啶基、2-哌啶基、3-哌啶基、4-吗啉基、3-吗啉基、四氢呋喃-2-基、四氢呋喃吡啶-3-基、四氢噻吩-2-基、四氢噻吩-3-基，1-哌嗪基和 2-哌嗪基。

除非另有规定，术语“芳基”表示多不饱和的芳族烃取代基，可以是单取代、二取代或多取代的，可以是一价、二价或者多价，它可以是单环或多环（比如 1 至 3 个环；其中至少一个环是芳族的），它们稠合在一起或共价连接。术语“杂芳基”是指含有一至四个杂原子的芳基（或环）。在一个示范性实例中，杂原子选自 B、N、O 和 S，其中氮和硫原子任选地被氧化，氮原子任选地被季铵化。杂芳基可通过杂原子连接到分子的其余部分。芳基或杂芳基的非限制性实施例包括苯基、1-萘基、2-萘基、4-联苯基、1-吡咯基、2-吡咯基、3-吡咯基、3-吡啶基、2-咪唑基、4-咪唑基、吡嗪基、2-恶唑基、4-恶唑基、2-苯基-4-恶唑基、5-恶唑基、3-异恶唑基、4-异恶唑基、5-异恶唑基、2-噻唑基、4-噻唑基、5-噻唑基、2-呋喃基、3-呋喃基、2-噻吩基、3-噻吩基、2-吡啶基、3-吡啶基、4-吡啶基、2-嘧啶基、4-嘧啶基、5-苯并噻唑基、嘌呤基、2-苯并咪唑基、5-吡啶基、1-异喹啉基、5-异喹啉基、2-喹啉基、5-喹啉基、3-喹啉基和 6-喹啉基。

除非另有规定，芳基在与其他术语联合使用时（例如芳氧基、芳硫基、芳烷基）包括如上定义的芳基和杂芳基环。因此，术语“芳烷基”意在包括芳基附着于烷基的那些原子团（例如苄基、苄乙基、吡啶基甲基等），包括其中碳原子（如亚甲基）已经被例如氧原子代替的那些烷基，例如苯氧基甲基、2-吡啶氧甲基 3- (1-萘氧基) 丙基等。

术语“离去基团”是指可以被另一种官能团或原子通过取代反应（例如亲和取代反应）所取代的官能团或原子。例如，代表性的离去基团包括三氟甲磺酸酯；氯、溴、碘；磺酸酯基，如甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、对溴苯磺酸酯、对甲苯磺酸酯等；酰氧基，如乙酰氧基、三氟乙酰氧基等等。

术语“保护基”包括但不限于“氨基保护基”、“羟基保护基”或“巯基保护基”。术语“氨基保护基”是指适合用于阻止氨基氮位上副反应的保护基团。代表性的氨基保护基包括但不限于：甲酰基；酰基，例如链烷酰基（如乙酰基、三氯乙酰基或三氟乙酰基）；烷氧基羰基，如叔丁氧基羰基(Boc)；芳基甲氧羰基，如苄氧羰基(Cbz)和 9-芴甲氧羰基(Fmoc)；芳基甲基，如

苄基 (Bn)、三苯甲基(Tr)、1,1-二- (4'-甲氧基苄基) 甲基；甲硅烷基，如三甲基甲硅烷基 (TMS) 和叔丁基二甲基甲硅烷基 (TBS) 等等。术语“羟基保护基”是指适合用于阻止羟基副反应的保护基。代表性羟基保护基包括但不限于：烷基，如甲基、乙基和叔丁基；酰基，例如链烷酰基（如乙酰基）；芳基甲基，如苄基 (Bn)，对甲氧基苄基 (PMB)、9-芴基甲基(Fm)和二苯基甲基 (二苯甲基, DPM)；甲硅烷基，如三甲基甲硅烷基 (TMS) 和叔丁基二甲基甲硅烷基 (TBS) 等等。

本发明的化合物可以通过本领域技术人员所熟知的多种合成方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他化学合成方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

本发明所使用的溶剂可经市售获得。本发明采用下述缩略词：aq 代表水；HATU 代表 O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐；EDC 代表 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐；eq 代表当量、等量；CDI 代表羰基二咪唑；DCM 代表二氯甲烷；PE 代表石油醚；DIAD 代

表偶氮二羧酸二异丙酯; DMF 代表 N, N-二甲基甲酰胺; DMSO 代表二甲亚砜; EtOAc 代表乙酸乙酯; EtOH 代表乙醇; MeOH 代表甲醇; CBz 代表苄氧羰基, 是一种胺保护基团; BOC 代表叔丁基羰基是一种胺保护基团; HOAc 代表乙酸; NaCNBH₃ 代表氰基硼氢化钠; r.t.代表室温; O/ N 代表过夜; THF 代表四氢呋喃; Boc₂O 代表二-叔丁基二碳酸酯; TFA 代表三氟乙酸; DIPEA 代表二异丙基乙胺; TsOH 代表对甲苯磺酸; NFSI 代表 N-氟-N-(苯磺酰基)苯磺酰胺; NCS 代表 1-氯吡咯烷-2,5-二酮; *n*-Bu₄NF 代表氟化四丁基铵; *i*PrOH 代表 2-丙醇; mp 代表熔点; LDA 代表二异丙基胺基锂; MsCl 代表甲基磺酰氯; THF 代表四氢呋喃; Pd(dppf)Cl₂ 代表[1,1'-双(二苯基磷)二茂铁]二氯化钯; DBU 代表 1,8-二氮杂二环十一烷-7-烯; TFA 代表三氟乙酸; EtOAc 或 EA 代表乙酸乙酯; EDCI 代表 N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐; DMAP 代表 4-二甲氨基吡啶; DIEA 代表二异丙基胺; MTBE 代表甲基叔丁基醚; BnBr 代表苄溴; DAST 代表二乙胺基三氟化硫。

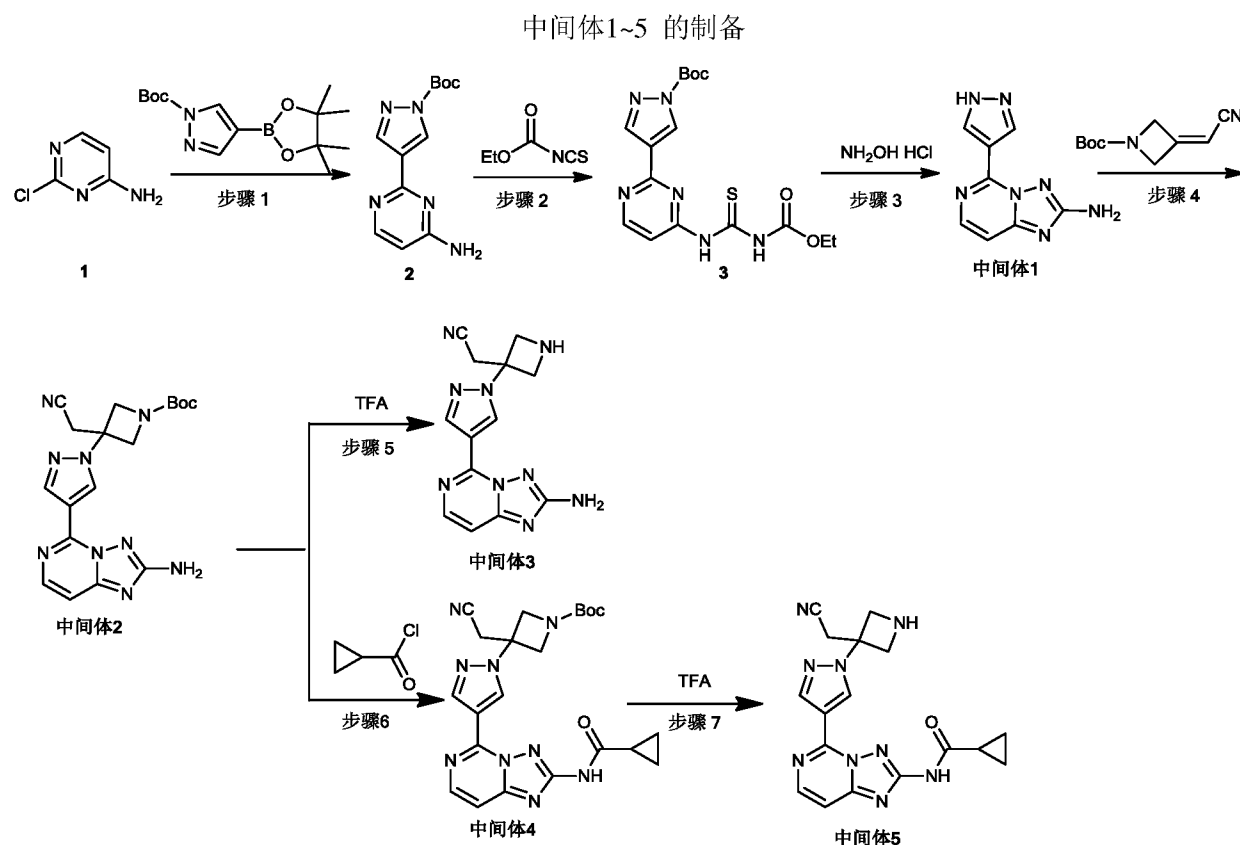
化合物经手工或者 ChemDraw®软件命名, 市售化合物采用供应商目录名称。

技术效果:

本发明化合物针对 JAK2 的选择性优于 Tofacitinib。

具体实施方式

中间体化合物的制备



步骤1: 制备4-(4-氨基嘧啶-2-基)吡唑-1-羧酸叔丁酯(2)

将2-氯-4-氨基嘧啶(3.0 g, 23.2 mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)吡唑-1-羧酸叔丁酯(8.2 g, 27.8 mmol)、碳酸钾(9.6 g, 69.5 mmol)溶于二氧六环(30 mL)和水(5 mL)的混合溶剂中。稍后加入 Pd(dppf)Cl₂ (1.7 g, 2.3 mmol), 抽真空并用氮气置换。氮气保护下, 将反应液置于80℃油浴中搅拌2小时,

TLC跟踪检测反应完全。反应液冷却后,硅藻土过滤,乙酸乙酯(100 mL)和四氢呋喃(100 mL)洗涤滤饼。滤液经无水硫酸钠干燥,过滤,减压浓缩。将残余物用硅胶色谱柱法纯化(石油醚/乙酸乙酯=2/1~1/1洗脱),得到浅黄色油状物4-(4-氨基嘧啶-2-基)吡唑-1-羧酸叔丁酯(4.50 g,产率为59.49%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.50 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.07 (d, *J*=5.8 Hz, 1H), 6.92 (br. s., 2H), 6.30 (d, *J*=5.8 Hz, 1H), 1.58 (s, 9H). MS (ESI) 计算值C₁₂H₁₅N₅O₂ [M + H]⁺ 262, 测定值262.

步骤2: 制备4-(4-(3-(乙氧羰基)硫脲)嘧啶-2-基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(3)

向溶有4-(4-氨基嘧啶-2-基)吡唑-1-羧酸叔丁酯(4.0 g, 15.3 mmol)的四氢呋喃(40 mL)和二氯甲烷(40 mL)的溶液中加入乙氧羰基异硫氰酸酯(4 g, 30.6 mmol)。将反应液加热到70℃搅拌16小时。TLC显示反应完全后。反应液减压浓缩,经硅胶色谱柱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=10:1~2:1洗脱),得到浅黄色油状物4-(4-(3-(乙氧羰基)硫脲)嘧啶-2-基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(4.00 g,产率为63.25%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 12.49 (br. s., 1H), 12.16 (br. s., 1H), 8.78 (d, *J*=5.8 Hz, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.22 (br. s., 1H), 4.27 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.62 (s, 9H), 1.30 (t, *J*=7.2 Hz, 3H). MS (ESI) 计算值C₁₆H₂₀N₆O₄S [M + H]⁺ 393, 测定值393.

步骤3: 制备5-(1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-胺(中间体1)

向溶有盐酸羟胺(3.5 g, 50.9 mmol)的甲醇(50 mL)和乙醇(50 mL)溶液中加入DIEA (4.0 g, 30.6 mmol)。生成的浑浊液在26℃下搅拌1小时后,加入4-(4-(3-(乙氧羰基)硫脲)嘧啶-2-基)-1H-吡唑-1-甲酸叔丁酯(4.0 g, 10.2 mmol),然后将反应液加热到90℃回流3小时,TLC显示反应完全。反应液减压浓缩,加入水(20 mL),过滤收集生成的沉淀,真空干燥得到白色固体5-(1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-胺(1.7 g,产率为82.9%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 13.53 (br. s., 1H), 8.87 (br. s., 1H), 8.47 (br. s., 1H), 8.10 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 7.23 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 6.50 (s, 2H). MS (ESI) 计算值C₈H₇N₇ [M + H]⁺ 202, 测定值202.

步骤4: 制备3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(中间体2)

向微溶有中间体1 (500 mg, 2.5 mmol)的乙腈(10 mL)的悬浊液中加入3-(氰基甲基烯基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(600 mg, 3.1 mmol)和DBU (756 mg, 4.97 mmol)。反应液在26℃下搅拌16小时。TLC显示反应完全。反应液减压浓缩,经硅胶色谱柱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1~1:3洗脱),得到白色固体3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(800 mg,产率为81.3%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 9.03 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.17 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 7.24 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.57 (d, *J*=9.8 Hz, 2H), 4.33 (d, *J*=9.8 Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 1.49 (s, 9H). MS (ESI) 计算值C₁₈H₂₁N₉O₂ [M + H]⁺ 396, 测定值396.

步骤5: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]环丁胺-3-基]乙腈(中间体3)

往中间体2 (500 mg, 1.3 mmol)的DCM (10 mL)溶液中加入TFA (4 mL)并在此温度下搅拌反应3小时。反应完成后,减压浓缩干反应液得棕色固体2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]环丁胺-3-基]乙腈 (515 mg,产率为99.9%,TFA盐)。MS (ESI) 计算值C₁₃H₁₃N₉ [M+H]⁺ 296, 测定值296.

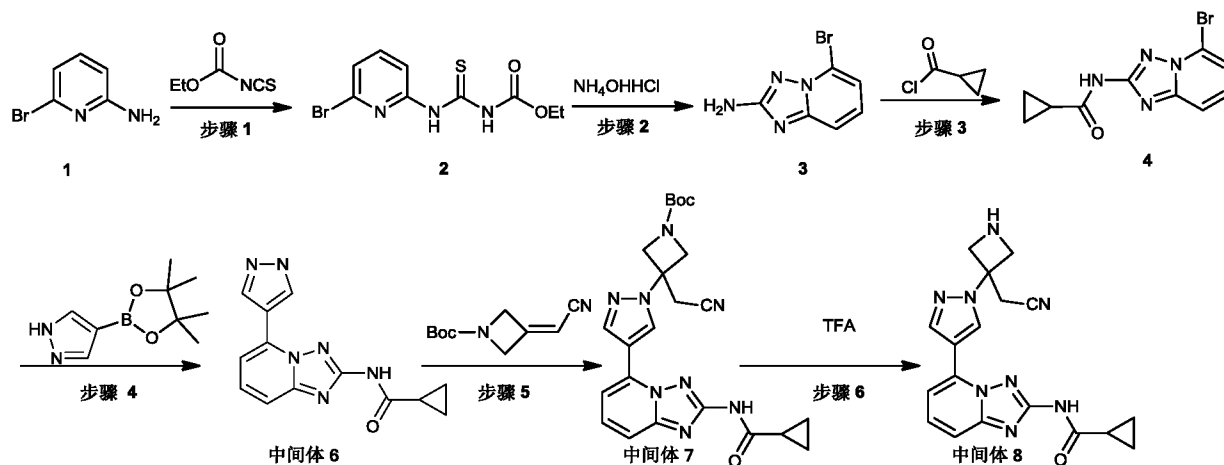
步骤6: 制备3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(中间体4)

向微溶有3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(400 mg, 1.0 mmol)的乙腈(8 mL)的浑浊液中加入环丙基甲酰氯(317 mg, 3.0 mmol)和三乙胺(307 mg, 3.0 mmol)。反应液在26°C下搅拌16小时。TLC显示反应完全, LC-MS显示全部生成二取代产物。反应液减压浓缩后, 加入甲胺的乙醇溶液(27%~32%, 3 mL), 26°C搅拌0.5小时。LC-MS显示全部生成一取代目标产物。反应液减压浓缩, 经硅胶色谱柱法纯化(石油醚:乙酸乙酯=1:1~1:3洗脱), 得到白色固体3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(420 mg, 产率为89.7%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 9.31 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.28 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.42 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.58 (d, J=9.5 Hz, 2H), 4.34 (d, J=9.5 Hz, 2H), 3.37 (s, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.31 - 1.22 (m, 3H), 1.03 (qd, J=3.7, 7.4 Hz, 2H)。MS (ESI) 计算值C₂₂H₂₅N₉O₃ [M + H]⁺ 464, 测定值464。

步骤7: 制备N-[5-[1-[3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丙烷甲酰胺(中间体5)

向溶解有3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(220 mg, 474.7 μmol)的二氯甲烷(8 mL)溶液中加入三氟乙酸(2 mL)。反应液在26°C下搅拌2小时。TLC显示反应完全。反应液减压浓缩, 得到浅黄色固体N-[5-[1-[3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丙烷甲酰胺(280 mg, 粗品直接用于下一步反应)。MS (ESI) 计算值C₁₇H₁₇N₉O [M + H]⁺ 364, 测定值364。

中间体6~8的制备



步骤1: 制备乙基-N-[(6-溴-2-吡啶基) 硫代氨基甲酰基] 氨基甲酸(2)

往溶有6-溴吡啶-2-胺(30 g, 173.4 mmol)的二氯甲烷(400 mL)中慢慢滴加异硫氰酸乙酯(25.0 g, 190.7 mmol), 加完后25°C反应16个小时。TLC监测显示反应完全后, 反应液减压蒸馏, 得到的残余物用200 mL石油醚搅拌洗涤30分钟, 过滤, 收集滤饼干燥得到淡红色固体乙基-N-[(6-溴-2-吡啶基) 硫代氨基甲酰基] 氨基甲酸(51 g, 产率为96.7%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 12.17 (s, 1 H), 11.66 (br s, 1 H), 8.65 (d, J=7.54 Hz, 1 H), 7.82 (t, J=7.92 Hz, 1 H), 7.49 (d, J=7.78 Hz, 1 H), 4.22 (q, J=7.18 Hz, 2 H), 1.25 (t, J=7.16 Hz, 3 H)。MS (ESI) 计算值C₉H₁₀BrN₃O₂S [M + H]⁺ 304, 测定值304。

步骤2: 制备5-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(3)

将盐酸羟胺(35.2 g, 503.1 mmol)、二异丙基乙胺(54.1 g, 419.3 mmol)溶于乙醇(500 mL)和

甲醇 (500 mL) 的混合溶剂中 25 °C 搅拌 1 小时后, 加入乙基-N-[(6-溴-2-吡啶基) 硫代氨基甲酰基] 氨基甲酸 (51.0 g, 167.7 mmol) 经氮气换气 3 次, 加热到 80 °C 反应 3 小时, 冷却。TLC 监测显示反应完全后, 反应液减压蒸馏, 得到的残留物用 (500 mL) 水搅拌洗涤 10 分钟, 过滤, 收集滤饼干燥得到白色固体 5-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺 (32 g, 产率为 85.1%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 7.30 - 7.39 (m, 1 H), 7.20 (dd, *J*=6.78, 1.76 Hz, 1 H), 6.27 (s, 2 H)。MS (ESI) 计算值 C₆H₅ Br N₄ [M + H]⁺ 215, 测定值 215。

步骤3: 制备 N-(5-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基) 环丙甲酰胺 (4)

在 0 °C 下, 往溶有 5-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺 (15.00 g, 70.41 mmol) 和三乙胺 (21.4 g, 211.2 mmol) 的乙腈 (150 mL) 中慢慢滴加环丙基甲酰氯 (8.8 g, 84.5 mmol), 加完后混合液升到室温反应 16 个小时。TLC 监测显示原料反应完全后, 反应液减压蒸馏, 得到的残留物溶解于甲胺醇 (150 mL) 溶液中, 加热到 80 °C 反应 1 小时, 冷却, 减压蒸馏再次得到残留物溶于水 (100 mL) 和乙酸乙酯 (200 mL) 的混合液中, 分层萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压蒸馏得到的粗产品用硅胶色谱柱法纯化 (乙酸乙酯/石油醚=0~70%洗脱), 得到淡黄色固体 N-(5-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基) 环丙甲酰胺 (7.2 g, 产率为 56.6%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 11.20 (br. s., 1 H), 7.68 - 7.73 (m, 1 H), 7.52 - 7.58 (m, 1 H), 7.46 - 7.51 (m, 1 H), 1.96 - 2.09 (m, 1 H), 0.82 (d, *J*=6.28 Hz, 4 H)。MS (ESI) 计算值 C₁₀H₉ Br N₄O [M + H]⁺ 282 测定值 282。

步骤4: 制备 N-[5-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺 (中间体 6)

在氮气的氛围下, 向溶有 N-(5-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基) 环丙烷甲酰胺 (3.0 g, 10.67 mmol)、4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡啶 (2.4 g, 12.9 mmol) 和碳酸钾 (3.7 g, 26.7 mmol) 的二氧六环 (30 mL) 和 (5 mL) 水的混合液中加入 Pd(dppf)Cl₂ (260 mg), 得到的混合液加热到 110 °C 反应 3 小时。冷却至室温, TLC 监测显示原料反应完全后, 反应液过滤, 滤液用水 (150 mL) 洗涤, 乙酸乙酯 (150 mL×3) 萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压蒸馏得到的粗产品用硅胶色谱柱法纯化 (乙酸乙酯/石油醚=50~100%洗脱), 得到灰色固体 N-[5-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺 (2.1 g, 产率为 62.4%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 13.37 (br. s., 1H), 11.15 (br. s., 1H), 8.96 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.57-7.72 (m, 2H), 7.51 (d, *J*=8.28 Hz, 1H), 2.06 (br. s., 1H), 0.78-0.91 (m, 4H)。MS (ESI) 计算值 C₁₃H₁₂N₆O [M + H]⁺ 269, 测定值 269。

步骤5: 制备 3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基]吡啶-1-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (中间体 7)

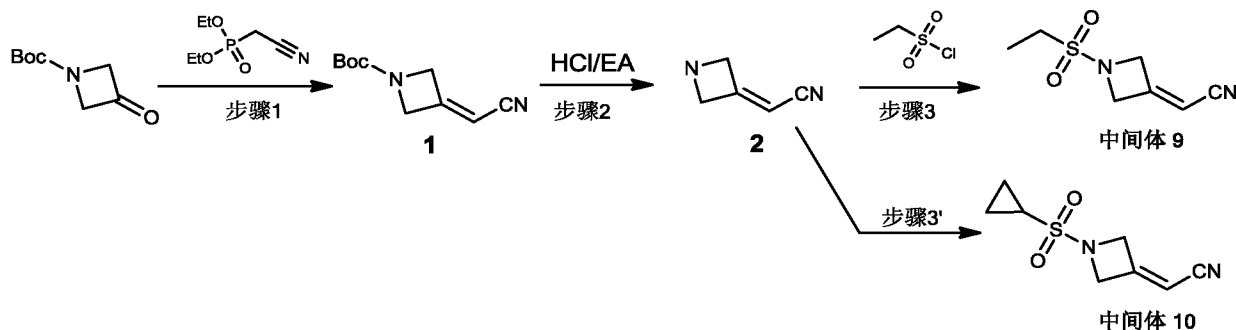
向溶有 N-[5-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺 (200 mg, 745.5 μmol)、3-(氰基亚甲基) 氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (144.8 mg, 745.5 μmol) 的乙腈 (5 mL) 液中加入 DBU (340.49 mg, 2.3 mmol), 室温反应 16 小时, LCMS 监测显示原料反应完全后, 反应液减压蒸馏, 得到的残留物溶于水 (20 mL) 和乙酸乙酯 (20 mL) 的混合液中, 分层萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压蒸馏得到的粗产品用制备型 TLC 法 (纯乙酸乙酯) 纯化, 得到淡黄色固体 3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基]吡啶-1-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (170 mg, 产率为 44.4%)。MS (ESI) 计算值 C₂₃H₂₆N₈O₃ [M + H]⁺ 463, 测定值 463。

步骤6: 制备 N-[5-[1-[3-(氰基甲基) 氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环

丙烷甲酰胺(中间体8) (WX00)

向溶有3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-5-基]吡啶-1-基]氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(150 mg, 324.3 μmol)的5mL二氯甲烷(5 mL)溶液中加入三氟乙酸(1 mL)室温反应2小时。LCMS监测显示反应完全后,反应液减压蒸馏得到黄色油状N-[5-[1-[3-(氰基甲基)氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺(100 mg)的粗产品直接用于下一步。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$) $\delta = 11.16$ (br. s., 1H), 9.18 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.75 - 7.63 (m, 2H), 7.61 - 7.50 (m, 1H), 4.00 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.71 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 2.13 (br. s., 1H), 0.95 - 0.81 (m, 4H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 363, 测定值363.

中间体9的制备



步骤1: 制备 3-(氰甲基)氮杂环丁烯-1-碳酸叔丁酯(1)

冰浴冷却下,向钠氢(1.2 g, 30.7 mmol)的四氢呋喃(50 mL)溶液中滴加氰甲基亚磷酸二乙酯(5.7 g, 32.1 mmol)的四氢呋喃(50 mL)溶液。滴加完成后,混合物于 25°C 搅拌1 hr后再冷却至 0°C 。然后于一小时内滴加3-氮杂环丁酮-1-碳酸叔丁酯(5.0 g, 29.2 mmol)的四氢呋喃(50 mL)溶液。混合物于 25°C 搅拌反应16小时。反应完成后,反应液用水(80 mL)淬灭后用乙酸乙酯(80 mL \times 3)萃取,合并有机相用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥后,旋干得到黄色固体粗产物3-(氰甲基)氮杂环丁烯-1-碳酸叔丁酯(5.2 g, 产率为78.0%),粗产物可直接用于下一步反应,无须进行进一步纯化。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) $\delta = 5.38$ (t, $J=2.5$ Hz, 1H), 4.73 - 4.68 (m, 2H), 4.61 (td, $J=2.4, 4.3$ Hz, 2H), 1.45 (s, 9H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 195, 测定值195.

步骤2: 制备2-(氮杂环丁-3-基烯)甲基氰(2)

将3-(氰甲基)氮杂环丁烯-1-碳酸叔丁酯(5.2 g, 26.8 mmol)用少量乙酸乙酯(5 mL)浸润,搅拌均匀后于 0°C 加入盐酸乙酸乙酯(150 mL), 0°C 下搅拌一小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1)检测反应完成。反应所得黄色悬浊液过滤,固体用少量冷的乙酸乙酯(5 mL \times 2)洗涤,真空下干燥得到白色固体2-(氮杂环丁-3-基烯)甲基氰(2.8 g, 产率为80.0%)。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, D_2O) $\delta = 5.69 - 5.65$ (m, 1H), 4.95 (d, $J=2.5$ Hz, 2H), 4.88 (br. s., 2H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 95 测定值95.

步骤3: 制备2-(1-(乙基磺酰基)氮杂环丁-3-基烯)甲基氰(中间体9)

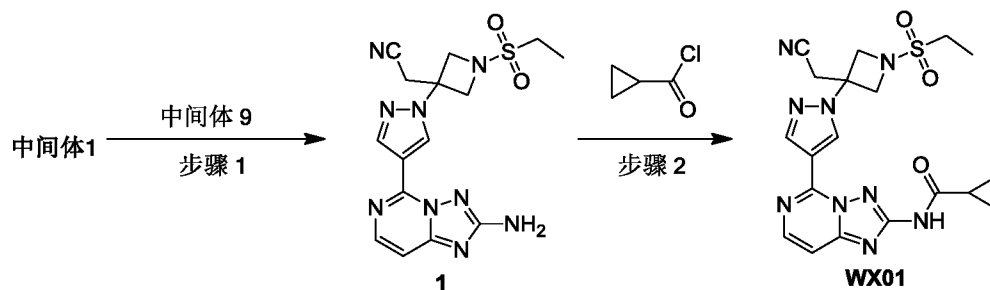
氮气保护下,于 0°C 下向2-(氮杂环丁-3-基烯)甲基氰(2.8 g, 21.4 mmol)和DIPEA(8.3 g, 64.3 mmol)的二氯甲烷(30 mL)溶液中滴加乙基磺酰氯(4.1 g, 32.1 mmol),滴加时保持温度在 2°C 以下。反应混合物于 25°C 搅拌反应16小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)检测反应完成。反应液用水淬灭后,用二氯甲烷(30 mL \times 2)萃取。合并有机相用饱和食盐水(20 mL \times 2)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤旋干。残留物用柱层析

法(二氯甲烷:乙酸乙酯=3/1)纯化得到浅黄色固体2-(1-(乙基磺酰基)氮杂环丁-3-基烯)甲基氧(1.4 g, 产率为33.0%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 5.50 - 5.41 (m, 1H), 4.79 (d, *J*=3.0 Hz, 2H), 4.71 (d, *J*=2.5 Hz, 2H), 3.06 (q, *J*=7.4 Hz, 2H), 1.40 (t, *J*=7.4 Hz, 3H). MS (ESI) 计算值C₇H₁₀N₂O₂S [M + H]⁺ 187 测定值187.

步骤3': 制备2-(1-环丙基磺酰基氮杂环丁烷-3-烯基)乙腈(中间体 10)

运用制备中间体9的同样方法制备中间体10. 2-(1-环丙基磺酰基氮杂环丁烷-3-烯基)乙腈 (1.5 g), 浅黄色固体, MS (ESI) 计算值C₇H₁₀N₂O₂S [M + H]⁺ 199, 测定值199.

实施例1



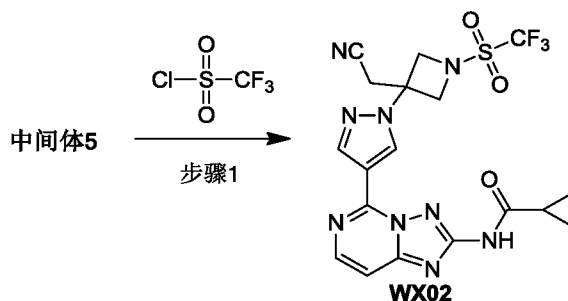
步骤1: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-乙基磺酰基氮杂环丁烷-3-基]乙腈(1)

向微溶有中间体1(150 mg, 745.6 umol)乙腈(4 mL)和DMF(2 mL)的悬浊液中加入中间体9 (208 mg, 1.1 mmol)和DBU (227 mg, 1.5 mmol)。该反应液在26°C下搅拌16小时。LC-MS显示反应完全。过滤收集析出的固体,并用冷乙腈(5 mL)洗涤,减压干燥得到白色固体2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-乙基磺酰基氮杂环丁烷-3-基]乙腈(200 mg, 产率为69.2%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.16 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.16 (d, *J*=6.3 Hz, 1H), 7.31 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 6.56 (s, 2H), 4.53 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 4.28 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.25 (q, *J*=7.4 Hz, 2H), 1.25 (t, *J*=7.4 Hz, 3H). MS (ESI) 计算值C₁₅H₁₇N₉O₂S [M + H]⁺ 388, 测定值388.

步骤2: 制备N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙磺酰基氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丙烷甲酰胺(WX01)

向微溶有2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-乙基磺酰基氮杂环丁烷-3-基]乙腈(100 mg, 258.1 umol)的乙腈(2 mL)和四氢呋喃(1 mL)的悬浊液中加入环丙基甲酰氯(80.9 mg, 774.4 umol)和三乙胺(78 mg, 774.4 umol)。反应液在26°C下搅拌16小时, TLC显示反应完全, LC-MS显示全部生成二取代产物。反应液减压浓缩后,加入甲胺的乙醇溶液(27%~32%, 3 mL),并在26°C下搅拌反应0.5小时后。LC-MS显示全部生成一取代产物。反应液减压浓缩,并通过制备型HPLC(碱性条件)进行纯化,得到N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙磺酰基氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丙烷甲酰胺(25 mg, 产率为21.1%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 11.43 (br. s., 1H), 9.25 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.32 (d, *J*=6.0 Hz, 1H), 7.60 (d, *J*=6.3 Hz, 1H), 4.50 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 4.28 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.24 (q, *J*=7.3 Hz, 2H), 2.18 - 2.02 (m, 1H), 1.23 (t, *J*=7.3 Hz, 3H), 0.95 - 0.80 (m, 4H). MS (ESI) 计算值C₁₉H₂₁N₉O₃S [M + H]⁺ 456, 测定值456.

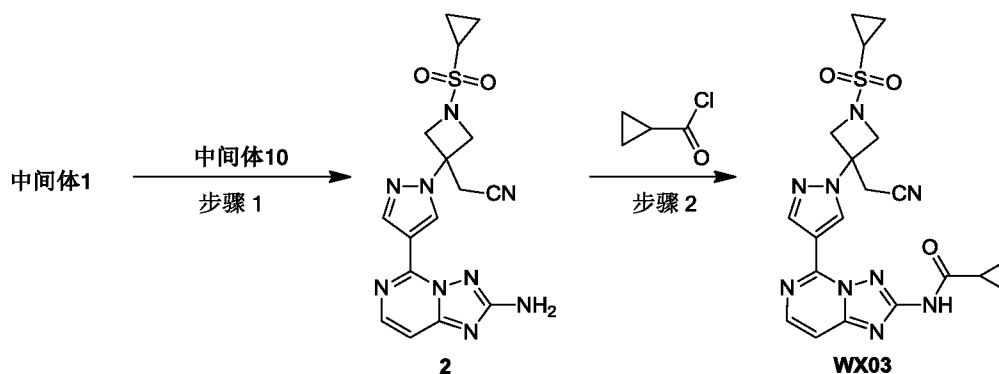
实施例2



步骤1: 制备N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-(三氟甲基磺酰基)氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]噻啶-2-基]环丙烷甲酰胺(WX02)

向微溶有中间体5 (100 mg, 209.5 μmol)的二氯甲烷(3 mL)浑浊液中加入三氟甲磺酰氯(53 mg, 314.2 μmol)和三乙胺(106 mg, 1.1 mmol)。反应液在26°C下搅拌16小时, LC-MS显示反应完全。反应液减压浓缩, 并通过制备型HPLC (碱性条件) 进行纯化, 得到N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-(三氟甲基磺酰基)氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]噻啶-2-基]环丙烷甲酰胺(25 mg, 产率为24.1%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 11.45 (br. s., 1H), 9.27 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.35 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 4.90 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.72 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 1.30 - 1.23 (m, 1H), 0.97 - 0.87 (m, 4H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 496, 测定值496。

实施例3



步骤1: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]噻啶-5-基)吡啶-1-基]-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(2)

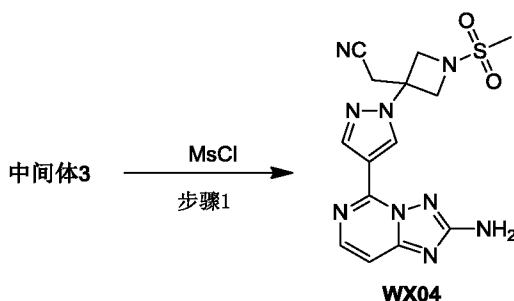
向溶解有中间体1(150 mg, 745.6 μmol)的乙腈(4 mL)悬浊液中加入中间体10 (192 mg, 969.2 μmol)和DBU (227 mg, 1.5 mmol)。反应液在26°C下搅拌16小时, TLC显示反应完全。过滤收集析出的固体, 并用冷乙腈(5 mL)洗涤, 减压干燥得到白色固体2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]噻啶-5-基)吡啶-1-基]-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(200 mg, 产率为67.2%)。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 9.18 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.15 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 6.56 (s, 2H), 4.59 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 4.33 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 2.90 - 2.82 (m, 1H), 1.09 - 1.03 (m, 2H), 1.03 - 0.96 (m, 2H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_9\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 400, 测定值400。

步骤2: 制备N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]噻啶-2-基]环丙烷甲酰胺(WX03)

向微溶有2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]噻啶-5-基)吡啶-1-基]-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(80 mg, 200.3 μmol)的乙腈(2 mL)悬浊液中加入环丙基甲酰氯(63 mg, 600.9 μmol)和三乙胺

(61 mg, 600.9 μmol)。反应液在26°C下搅拌16小时, 80°C下再搅拌3小时, LC-MS显示为一取代产物和二取代产物的混合物。反应液减压浓缩后, 加入甲胺的乙醇溶液(27%~32%, 3 mL), 26°C搅拌0.5小时, LC-MS显示全部生成为一取代产物。反应液减压浓缩, 并通过制备型HPLC(碱性条件)进行纯化, 得到N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丙烷甲酰胺(60 mg, 产率为64.1%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 11.43 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.32 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 4.32 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 2.92 - 2.79 (m, 1H), 2.07 (d, $J=13.6$ Hz, 1H), 1.07 - 0.96 (m, 4H), 0.91 - 0.83 (m, 4H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 468, 测定值468。

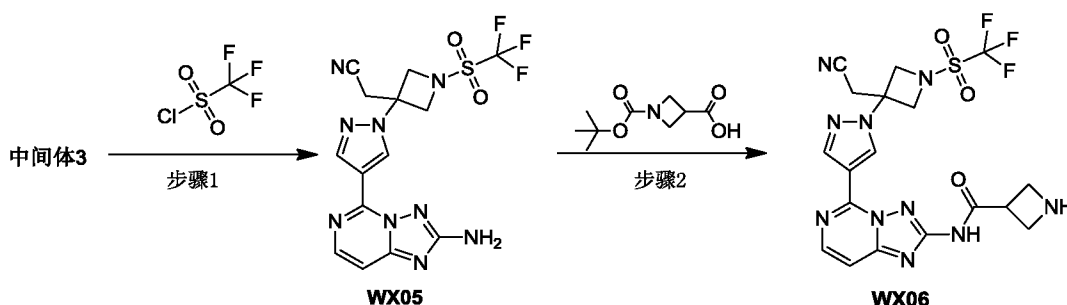
实施例4



步骤1: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-甲磺酰基-环丁胺-3-基]乙腈(WX04)

往溶有中间体3(1.0 g, 2.4 mmol, TFA盐)和三乙胺(617 mg, 6.1 mmol)的DCM(50 mL)溶液中在15°C下滴加MsCl(307 mg, 2.7 mmol), 滴加完成后, 反应混合物在15°C下搅拌2小时。反应完成后, 将反应物浓缩干, 所得固体经制备HPLC(碱性方法)分离纯化得2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-三氟甲磺酰基-环丁胺-3-基]乙腈(800 mg, 产率为87.8%)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 9.17 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.56 (brs, 2H), 4.55 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 4.31 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.14 (s, 3H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 428, 测定值428。

实施例5



步骤1: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-(三氟甲磺酰基)环丁胺-3-基]乙腈(WX05)

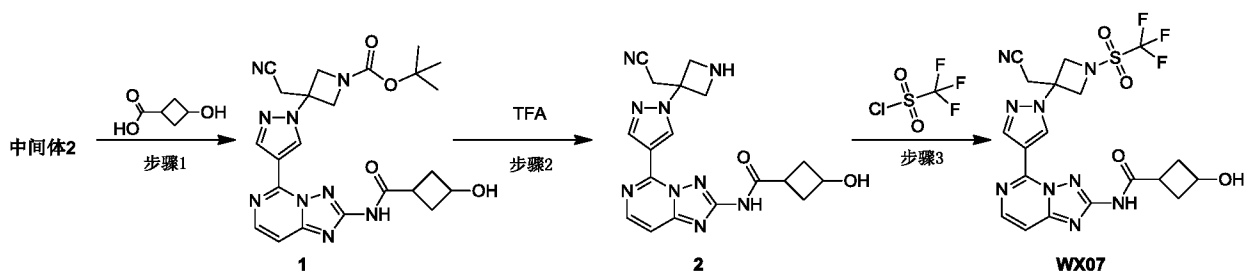
往溶有中间体3(515 mg, 1.7 mmol)和TEA(264 mg, 2.6 mmol)的DCM(10 mL)溶液中, 于15°C、氮气保护下滴加三氟甲磺酰氯(323 mg, 1.9 mmol), 滴加完成后将反应混合物在15°C下搅拌3小时。反应完全后, 浓缩干燥, 所得固体用水(20 mL)打浆、过滤, 滤饼干燥后得白色固体2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三

氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-(三氟甲磺酰基)环丁胺-3-基]乙腈(700 mg, 产率为94.1%)。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.18 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 6.55 (brs, 2H), 4.91 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 4.70 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.82 (s, 2H). MS (ESI) 计算值C₁₄H₁₂F₃N₉O₂S [M+H]⁺428, 测定值428.

步骤2: 制备N-[5-[1-[3-(腈甲基)-1-(三氟甲磺酰基)环丁胺-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丁胺-3-甲酰胺 (WX06)

往 N-叔丁基甲酸环丁胺-3-甲酸 (198 mg, 982.8 μmol)和DMF (100 μL) 的DCM (10 mL)溶液中在氮气保护下,于0°C滴加草酰氯(156 mg, 1.23 mmol)的DCM (1 mL)溶液滴加完成后,将反应混合物在0°C下搅拌2小时。然后将反应混合物在15°C减压浓缩干,所得液体溶解在DCM (2 mL)中,将其在氮气保护0°C下通过注射器滴加到2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-1-三氟甲磺酰基-环丁胺-3-基]乙腈(350 mg, 818.9 μmol)的 DCM (10 mL)溶液中。滴加完成后,反应混合物在 0°C下搅拌2小时。将反应液直接用制备薄层色谱 (DCM/MeOH = 10/1)纯化得Boc保护的产物 (10 mg)。将该产物溶解在DCM (2 mL)中,在15 °C下,往该溶液中加入 TFA (2 mL),所得混合物在 15 °C 搅拌1小时。反应完成后,浓缩干燥,所得固体经制备HPLC (碱性方法)分离纯化得N-[5-[1-[3-(腈甲基)-1-(三氟甲磺酰基)环丁胺-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-2-基]环丁胺-3-甲酰胺 (2 mg, 产率为0.42%)。MS (ESI) 计算值C₁₈H₁₇F₃N₁₀O₃S [M+H]⁺511, 测定值511.

实施例6



步骤1: 制备叔丁基-3-(腈基甲基)-3-[4-[2-[(3-羟基环丁烷甲酰基)氨基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基]环丁烷-1-甲酸酯(1)

将中间体2 (300 mg, 758.7 μmol), 3-羟基环丁烷甲酸(106 mg, 910.4 μmol) 和EDCI (218 mg, 1.1 mmol)的混合物加入到吡啶(10 mL)中,然后将所得混合物在氮气保护下加热回流16小时。浓缩干后。剩余固体经制备薄层色谱(DCM/MeOH = 10/1)纯化得白色固体叔丁基-3-(腈基甲基)-3-[4-[2-[(3-羟基环丁烷甲酰基)氨基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基]环丁烷-1-甲酸酯(36 mg, 产率为9.61%)。MS (ESI) 计算值C₂₃H₂₇N₉O₄[M+H]⁺ 494, 测定值494.

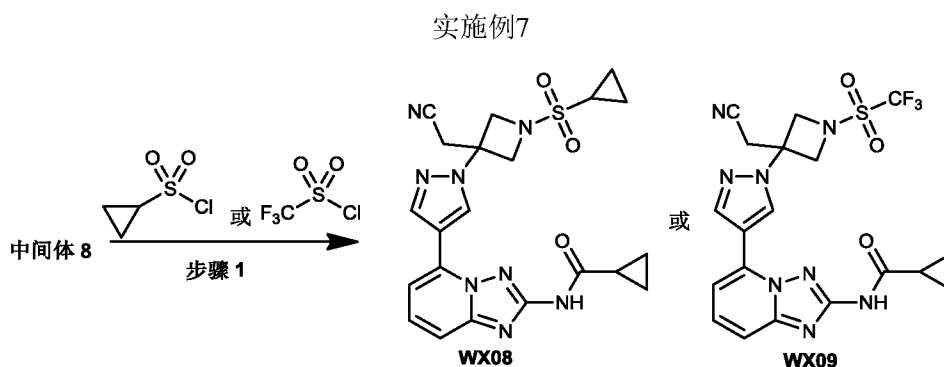
步骤2: 制备N-[5-[1-[3-(腈基甲基)环丁胺-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3-羟基-环丁烷甲酰胺(2)

往叔丁基-3-(腈基甲基)-3-[4-[2-[(3-羟基环丁烷甲酰基)氨基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基]环丁烷-1-甲酸酯(36 mg, 72.9 μmol)的二氯甲烷(2.00 mL) 溶液中、于15 °C下滴加TFA (1 mL), 所得混合物在15 °C下搅拌30 min。LCMS显示反应完全。反应混合物在30 °C下浓缩干得黄色固体N-[5-[1-[3-(腈基甲基)环丁胺-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3-羟基-环丁烷甲酰胺(37

mg, 产率为99.9%, TFA盐)。MS (ESI) 计算值 $C_{18}H_{19}N_9O_2$ [M+H]⁺394, 测定值394。

步骤3: 制备N-[5-[1-[3-(脞基甲基)-1-(三氟甲磺酰基)环丁胺-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3-羟基-环丁烷甲酰胺(WX07)

往N-[5-[1-[3-(脞基甲基)环丁胺-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3-羟基-环丁烷甲酰胺(15 mg, 29.6 μ mol)和三乙胺 (9 mg, 88.7 μ mol)的DCM (5.00 mL)溶液中, 并于20 °C、N₂保护下滴加三氟甲磺酰氯(7 mg, 44.34 μ mol)的DCM (1 mL)溶液。加完后, 将该混合物在20 °C下搅拌1小时。反应完成后, 浓缩反应液至干。所得固体用制备HPLC (0.1% NH₄OH为添加物)分离纯化得N-[5-[1-[3-(脞基甲基)-1-(三氟甲磺酰基)环丁胺-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3-羟基-环丁烷甲酰胺 (8 mg, 产率为51.50%)。¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄) δ = 9.29 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.32 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.00 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 4.70 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 4.05-4.13 (m, 1H), 3.70 (s, 2H), 2.90 (brs, 1H), 2.50-2.66 (m, 2H), 2.20-2.35 (m, 2H)。MS (ESI) 计算值 $C_{19}H_{18}F_3N_9O_4S$ [M+H]⁺526, 测定值526。

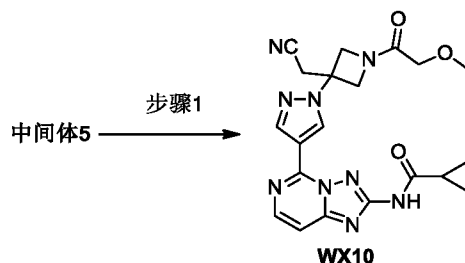


步骤1: 制备N-(5-(1-(3-(氰基甲基)-1-(三氟甲基磺酰基)氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺

在0°C下, 往溶有中间体8 (100 mg, 275.9 μ mol)和三乙胺 (84 mg, 827.9 μ mol)的二氯甲烷(5 mL)中慢慢滴加三氟甲基磺酰氯 (56 mg, 331.4 μ mol), 加完后混合液升到室温反应16个小时。LCMS监测显示反应完全后, 反应液用水(20 mL)稀释, 二氯甲烷 (20 mL \times 3)萃取, 合并有机相并用无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压蒸馏得到的残留物用制备薄层色谱法(乙酸乙酯)纯化, 得到白色固体N-(5-(1-(3-(氰基甲基)-1-(三氟甲基磺酰基)氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺(WX09, 45 mg, 产率为31.33%)。¹H NMR (400 MHz, METHANOL-*d*₄) δ = 9.21 (s, 1 H), 8.59 (s, 1 H), 7.71 - 7.77 (m, 1 H), 7.60 (dd, *J*=14.44, 8.16 Hz, 2 H), 5.00 (d, *J*=9.04 Hz, 2 H), 4.70 (d, *J*=9.04 Hz, 2 H), 3.68 (s, 2 H), 1.28 - 1.39 (m, 1 H), 1.11 (quin, *J*=3.84 Hz, 2 H) 0.97 - 1.04 (m, 2 H)。MS (ESI) 计算值 $C_{19}H_{17}N_8O_3F_3S$ [M + H]⁺ 495, 测定值495。

WX08的制备: 用类似于WX09(步骤1)的制备方法制备。得到N-(5-(1-(3-(氰基甲基)-1-(环丙基磺酰基)氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺(WX08)。¹H NMR (400 MHz, METHANOL-*d*₄) δ = 9.23 (s, 1 H), 8.58 (s, 1 H), 7.71 - 7.76 (m, 1 H), 7.58 - 7.65 (m, 2 H), 4.70 (d, *J*=9.28 Hz, 2 H), 4.39 (d, *J*=9.04 Hz, 2 H), 3.64 (s, 2 H), 2.72 (dt, *J*=12.74, 6.31 Hz, 1 H), 1.78 (d, *J*=7.04 Hz, 1 H), 1.08 - 1.14 (m, 6 H), 1.00 (dd, *J*=7.28, 3.26 Hz, 2 H)。MS (ESI) 计算值 $C_{21}H_{22}N_8O_3S$ [M + H]⁺ 467 测定值467。

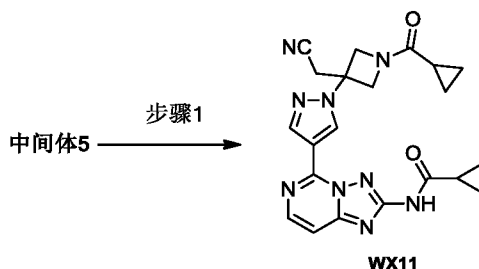
实施例8



步骤 1: 制备N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(2-甲氧基乙酰基)氮杂环丁烷-3]吡啶-4]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺

将2-甲氧基乙酸 (11 mg, 128.4 μmol) 溶于混合溶剂DCM/DMF (6 mL, 5: 1), 依次加入HOBt (35 mg, 256.9 μmol) 和EDCI (49 mg, 256.9 μmol)。得到的混合物搅拌反应1小时。加入中间体5 (70 mg, 192.6 μmol) 和DIEA (50 mg, 385.3 μmol), 15°C搅拌反应12小时。LC-MS显示原料消耗完全, 目标产物生成。反应液减压浓缩除去DCM和DMF。制备HPLC (碱性) 分离得到N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(2-甲氧基乙酰基)氮杂环丁烷-3]吡啶-4]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺 (30 mg, 产率为53.7%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ = 9.26 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.34 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 4.81 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 4.61 (d, $J=10.0$ Hz, 1H), 4.46 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J=10.3$ Hz, 1H), 4.01 (s, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.12 (br. s., 1H), 0.98 - 0.84 (m, 4H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_9\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 436, 测定值436。

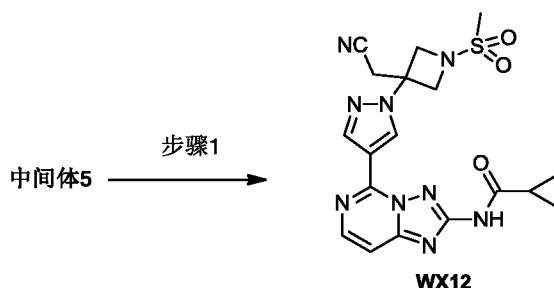
实施例9



步骤 1: 制备N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(环丙基甲酰基)氮杂环丁烷-3]吡啶-4]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺

将中间体 5 (79 mg, 216.3 μmol) 溶解于二氯甲烷 (3 mL), 加入DIEA (84 mg, 648.9 μmol)。然后5分钟内用针筒将环丙酰氯 (27 mg, 259.6 μmol) 加入, 15°C反应液搅拌反应3小时。LC-MS显示原料消耗完全, 目标产物生成。反应液减压浓缩除去DCM和DMF, 制备型HPLC (碱性) 分离得到N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(环丙基甲酰基)氮杂环丁烷-3]吡啶-4]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺 (50 mg, 53.6%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ = 9.25 (s, 1H), 8.83 - 8.78 (m, 1H), 8.32 (dd, $J=3.8, 6.0$ Hz, 1H), 7.60 - 7.52 (m, 1H), 4.88 (d, $J=9.3$ Hz, 1H), 4.68 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 4.44 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J=10.3$ Hz, 1H), 3.72 (d, $J=5.5$ Hz, 2H), 3.13 (br. s., 1H), 1.69 - 1.55 (m, 1H), 0.98 - 0.85 (m, 4H), 0.77 (br. s., 4H)。MS (ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_9\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 432, 测定值432。

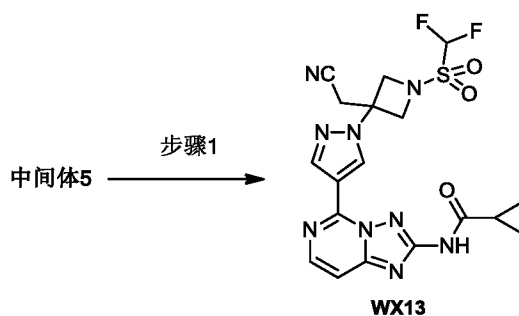
实施例10



步骤 1: 制备N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-甲磺酰基-氮杂环丁烷-3-]吡啶-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺(WX12)

将中间物 5 (100 mg, 275.2 μmol) 混悬于二氯甲烷 (8 mL) 中, 依次加入DIEA (107 mg, 825.6 μmol) 和MsCl (140 mg, 1.2 mmol)。反应液在15°C下搅拌反应2小时。LC-MS显示原料消耗完全, 并监测到目标产物。反应液减压浓缩除去DCM, 制备HPLC (碱性) 分离得到N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-甲磺酰基-氮杂环丁烷-3-]吡啶-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺 (39 mg, 产率为31.1%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.28 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.35 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 6.08 (br. s., 1H), 4.55 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 4.33 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.10 (d, $J=14.8$ Hz, 1H), 1.01 - 0.79 (m, 4H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ [M + H] $^+$ 442, 测定值442.

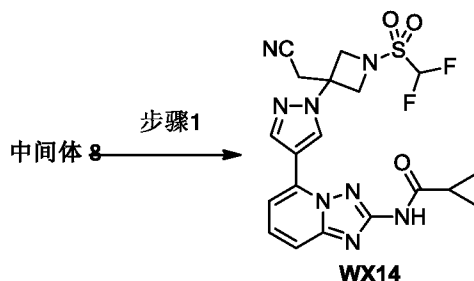
实施例11



步骤 1: 制备N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(二氟甲磺酰基)-氮杂环丁烷-3-]吡啶-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺(WX13)

将中间物 5 (100 mg, 275.2 μmol) 混悬于二氯甲烷 (8 mL) 中, 依次加入DIEA (178 mg, 1.4 mmol) 和二氟甲磺酰氯 (62 mg, 412.8 μmol)。反应液在15°C搅拌反应12小时。LC-MS显示原料消耗完全, 并监测到目标产物。反应液减压浓缩除去DCM, 残余物用DMF和MeOH稀释成溶液 (5 ml), 制备HPLC (碱性) 分离得到N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(二氟甲磺酰基)-氮杂环丁烷-3-]吡啶-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶2-]环丙基甲酰胺 (8 mg, 6.1%)。 ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 11.46 (br. s., 1H), 9.27 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.34 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.42 - 7.06 (m, 1H), 4.79 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.67 - 4.49 (m, 2H), 3.78 (s, 2H), 2.26 - 1.96 (m, 1H), 0.97 - 0.84 (m, 4H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_9\text{O}_3\text{S}$ [M + H] $^+$ 478, 测定值478.

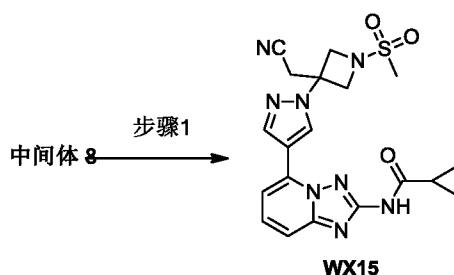
实施例12



步骤 1: 制备 N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(二氟甲磺酰基)氮杂环丁烷-3-]吡唑-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]吡啶-2-]环丙基甲酰胺(WX14)

将中间体 8 (300 mg, 629.7 μmol , 三氟乙酸盐) 混悬于 DCM (4 mL) 中, 依次加入 DMAP (8 mg, 63 μmol), DIEA (407 mg, 3.2 mmol) 和二氟甲磺酰氯 (142 mg, 944.6 μmol)。混合物在 15°C 搅拌反应 12 小时。LC-MS 显示原料消耗完全, 并监测到目标产物。反应液减压浓缩除去 DCM, 用 DMF 和 MeOH 稀释成溶液 (5 ml), 用制备型 HPLC (碱性) 分离, 得到 N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(二氟甲磺酰基)氮杂环丁烷-3-]吡唑-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]吡啶-2-]环丙基甲酰胺 (8 mg, 产率为 2.7%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, METHANOL- d_4) δ = 9.99 (s, 1H), 9.57 - 9.44 (m, 1H), 8.52 - 8.44 (m, 1H), 8.39 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 8.33 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.01 - 7.68 (m, 1H), 5.57 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 5.36 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.47 (s, 2H), 1.81 - 1.61 (m, 4H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_8\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 477, 测定值 477.

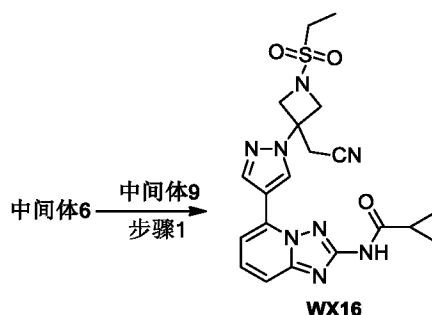
实施例 13



步骤 1: 制备 N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-甲磺酰基-氮杂环丁烷-3-]吡唑-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]嘧啶-2-]环丙基甲酰胺

将中间体 8 (150 mg, 314.9 μmol , 三氟乙酸盐) 混悬于二氯甲烷 (2 mL), 依次加入 DIEA (203 mg, 1.6 mmol), DMAP (11 mg, 94.5 μmol) 和 MsCl (180 mg, 1.6 mmol)。反应液在 15°C 搅拌反应 12 小时。LC-MS 显示原料消耗完全, 并监测到目标产物。反应液减压浓缩除去 DCM, 用 MeOH 稀释成溶液 (5 ml)。制备 HPLC (碱性) 分离得到 N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-甲磺酰基-氮杂环丁烷-3-]吡唑-4-]-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]嘧啶-2-]环丙基甲酰胺 (10 mg, 7.15%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 11.17 (br. s., 1H), 9.27 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.83 - 7.68 (m, 1H), 7.62 (dd, $J=7.8, 17.6$ Hz, 2H), 4.51 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.34 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.25 - 2.00 (m, 1H), 0.95 - 0.80 (m, 4H). MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 441, 测定值 441.

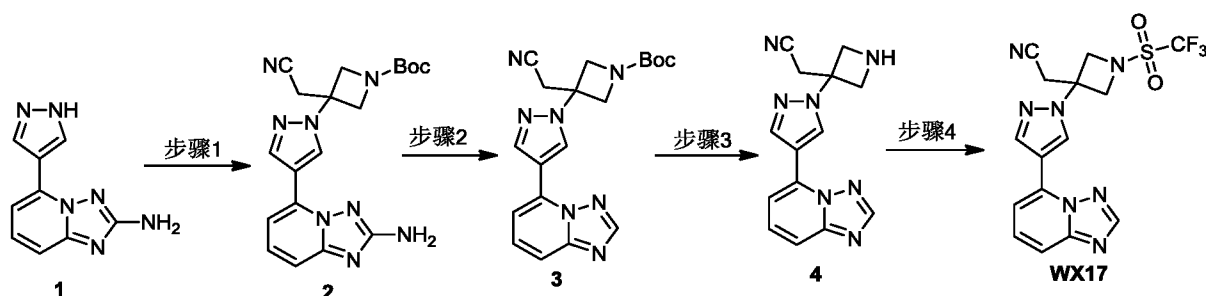
实施例 14



步骤1: 制备N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-(乙基磺酰基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺 (WX16)

氮气保护下,向中间体6 (1.5 g, 5.6 mmol)和中间体9 (1.5 g, 7.8 mmol)的乙腈(15 mL)溶液中滴加DBU (1.7 g, 11.2 mmol)。反应混合物于25°C搅拌反应16小时。TLC (石油醚 : 乙酸乙酯 = 0:1)检测反应完成。于0 °C下将反应液倒入甲醇 (200 mL)中,立即析出大量固体,搅拌10 min后过滤,所得固体用少量甲醇 (5 mL)洗涤后,真空下干燥得到产物N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-(乙基磺酰基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-2-基)环丙甲酰胺(1.60 g, 产率为60%)。¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.25 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.76 - 7.70 (m, 1H), 7.64 (d, *J*=7.0 Hz, 1H), 7.60 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.49 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 4.32 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 3.68 (s, 2H), 1.26 (t, *J*=7.3 Hz, 3H), 0.91 - 0.85 (m, 4H)。MS (ESI) 计算值 C₂₀H₂₂N₈O₃S [M + H]⁺ 455, 测定值455。

实施例15



步骤 1: 制备3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-1-)]-3-(氰基乙基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 5-(1H-吡唑-4-)-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-2-胺 (700 mg, 3.5 mmol)和3-(氰甲基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (747 mg, 3.9 mmol)溶于乙腈 (20.00 mL),加入DBU (1.6 g, 10.5 mmol),混合物在40°C反应3小时。LC-MS显示原料反应完全,并检测到目标产物。混合物倒入水中 (30 mL),搅拌30分钟。水相用乙酸乙酯 (20 mL×3)萃取。合并有机层,饱和食盐水 (20 mL×2)洗涤,无水Na₂SO₄干燥,过滤,减压浓缩得到棕色固体3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-1-)]-3-(氰基乙基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (1.33 g, 粗品)。MS (ESI) 计算值C₁₉H₂₂N₈O₂ [M + H]⁺ 395, 测定值395。

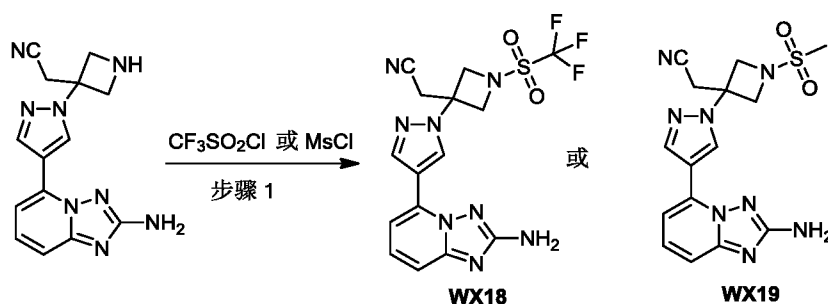
步骤 2: 制备3-(氰甲基-3-[4-(1,2,4)三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡唑-1-氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-1-)]-3-(氰基乙基)氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (150 mg, 380.3 umol)溶于四氢呋喃 (2 mL),加入t-BuONO (59 mg, 570.5 umol),15°C搅拌反应3小时。LC-MS显示原料反应完全,并检测到目标产物。反应液减压浓缩,用DCM (4 ml)稀释,制备TLC分离 (DCM: MeOH = 10:1),得到3-(氰甲基-3-[4-(1,2,4)三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡唑-1-氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯 (80 mg, 产率为55.4%)。MS (ESI) 计算值C₁₉H₂₁N₇O₂ [M+H]⁺ 380, 测定值380。

步骤 3: 制备2-[3-[4-([1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡啶-1-]氮杂环丁烷-3-]乙腈

3-(氰甲基-3-[4-([1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡啶-1-]氮杂环丁烷-1-甲酸叔丁酯(80 mg, 210.9 μmol)混悬于DCM (1.5 mL), 加入三氟乙酸(857 mg, 7.5 mmol), 15°C搅拌反应3小时。LC-MS显示反应完全并检测到目标产物MS。反应液减压浓缩溶剂和剩余的三氟乙酸, 得到的棕色粘稠物2-[3-[4-([1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡啶-1-]氮杂环丁烷-3-]乙腈(129 mg, 粗品)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 280, 测定值280。

步骤 4: 制备2-[3-[4-([1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡啶-1-]-1-(三氟甲磺酰基)氮杂环丁烷-3-]乙腈2-[3-[4-([1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡啶-1-]氮杂环丁烷-3-]乙腈(60 mg, 214.8 μmol)溶于DCM (2 mL), 加入DMAP (13 mg, 107.4 μmol)和 Et_3N (109 mg, 1.1 mmol), 然后在15°C滴加三氟甲磺酰氯(47 mg, 279.3 μmol)。反应物搅拌反应在15°C反应4小时。LC-MS显示原料反应完全并检测到目标产物MS。反应液减压浓缩溶剂。制备型HPLC分离(碱性)得到2-[3-[4-([1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-5-)]吡啶-1-]-1-(三氟甲磺酰基)氮杂环丁烷-3-]乙腈(25 mg, 产率为28.3%)。 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) $\delta = 9.28$ (br. s., 1H), 8.73 (d, $J=17.8$ Hz, 2H), 7.82 (br. s., 3H), 5.22 - 4.50 (m, 4H), 3.86 (br. s., 2H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 412, 测定值412。

实施例16

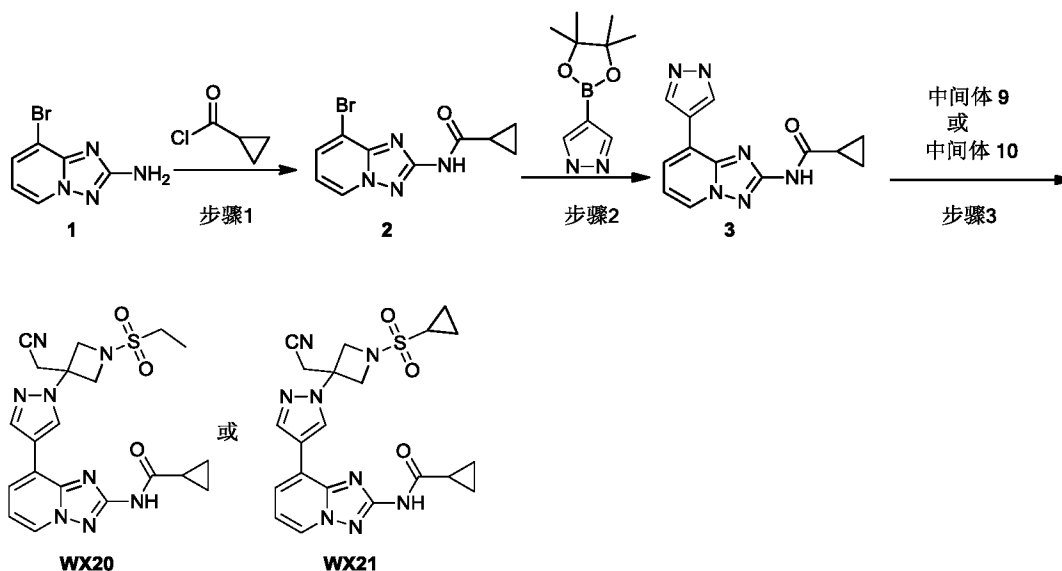


步骤1: 制备2-(3-(4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶)-1H-吡啶)-1-(三氟甲磺酰基)环丁烷)乙腈(WX18)

将2-(3-(4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶)-1H-吡啶)环丁烷-3)乙腈(200 mg, 489.8 μmol)溶解在DCM(10 mL)中, 然后加入TEA (198 mg, 2 mmol)。所得到的混合物冷却到0°C, 将三氟甲磺酰氯(107 mg, 636 μmol)缓慢的滴加到该溶液中, 滴加完毕将该反应回到室温, 在室温下反应12小时。LC-MS显示反应完全后。溶剂减压旋干, 将残余物用DMF溶解, 进一步通过制备型HPLC (HCl) 纯化、冻干。得到制备2-(3-(4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶)-1H-吡啶)-1-(三氟甲磺酰基)环丁烷)乙腈。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) $\delta = 9.14$ (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.58 (t, $J = 7.8$, 1H), 7.41 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 4.98 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 4.68 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.67 (s, 2H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_8\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 427, 测定值427。

制备WX19: 运用同WX18 (步骤1)的制备方法制备WX19。制备型HPLC (HCl) 纯化、冻干。得到2-(3-(4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶)-1H-吡啶)-1-(甲磺酰基)环丁烷)乙腈。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{MeOD}-d_4$) $\delta = 9.13$ (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.57 (m, 1H), 7.41 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.64 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 4.35 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.08 (s, 3H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_8\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 373, 测定值373。

实施例17



步骤1: 制备N-(8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺

向溶有8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(1.0 g, 4.7 mmol), 三乙胺(1.4 g, 14.1 mmol)的乙腈(15.0 mL)中, 滴加环丙基甲酰氯(1.5 g, 14.1 mmol)。然后将该混合物在26°C下搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全, 减压蒸馏除去乙腈, 残余物加入 H₂O (5 mL), 水层用DCM (15 mL x 3)萃取两次。合并有机相并用饱和食盐水 (15 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (DCM/ MeOH= 20/1) 得到黄色固体(700 mg, 产率为47.8%)。MS (ESI) 计算值C₁₀H₉N₄OBr [M + H]⁺ 282, 测定值282。

步骤2: 制备 N-[8-(1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺

向溶有N-(8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺(700 mg, 2.5 mmol), 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡唑(579 mg, 3.0 mmol)的二氧六环(25 mL)和水(6 mL)混合溶剂中, 分别加入碳酸钾(1.0 g, 7.5 mmol)和Pd(dppf)Cl₂ (182 mg, 249 μmol)。体系抽真空并充入氮气保护。然后将该混合物加热回流1小时。LC-MS显示反应完全后, 减压蒸馏除去溶剂, 将残余物溶解于DCM(50 mL)和水 (10 mL) 中。分出有机层, 水层用DCM (2 x 50 mL)萃取两次。合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 并用无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (EA/ PE= 3/1 至1/1) 得到黄色固体(300 mg, 产率为40.4%)。MS (ESI) 计算值C₁₃H₁₂N₆O [M+H]⁺ 269, 测定值269。

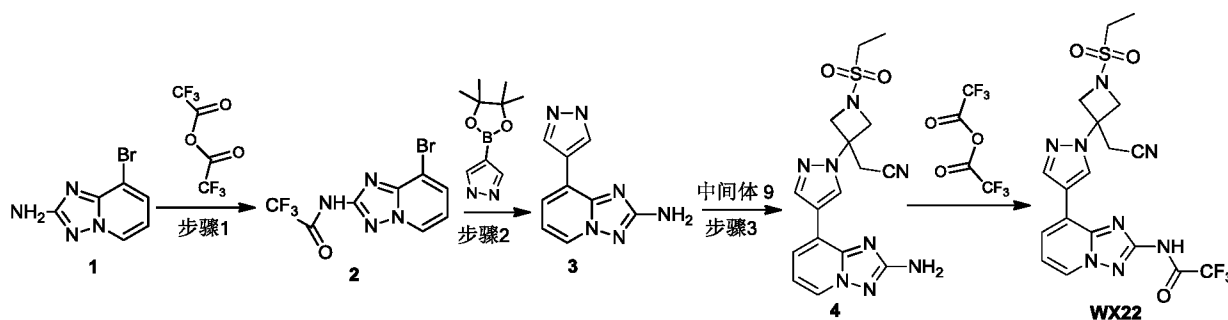
步骤3: 制备化合物N-(8-(1-(3-(氰甲基)-1-(乙磺酰基)氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺 (WX20)

向溶有N-[8-(1H-吡唑-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺(100 mg, 372.8 μmol), 2-(1-乙基磺酰基氮杂环丁烷-3-基)乙腈(83 mg, 447.3 μmol)的乙腈(15 mL)中, 滴加DBU (68 mg, 447.3 μmol)。形成的混合物在26°C下搅拌反应12小时。TLC显示反应完全后, 减压蒸馏除去溶剂, 将残余物溶解于DCM(15 mL)和水 (10 mL) 中。分出有机层, 水层用DCM (15 mL x 2)萃取两次。合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 并用无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过制备型HPLC纯化(碱性方法)得到(WX20) (65 mg, 产率为37.98%): ¹H NMR (400MHz, METHANOL-d₄) δ = 8.72 (s, 1H), 8.37 (d, J=6.8 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.71 (d, J=7.3 Hz, 1H), 6.98 (t, J=7.0 Hz, 1H), 4.63 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.28 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.58 (s, 2H), 3.20 (q, J=7.3 Hz, 2H), 1.44 - 1.31 (m, 3H), 1.07 (quin, J=3.8 Hz,

2H), 0.96 (qd, $J=3.7, 7.3$ Hz, 2H). MS (ESI) 计算值 $C_{20}H_{22}N_8O_3S$ $[M+H]^+$ 455, 测定值455.

制备WX21: 运用同WX21 (步骤3) 的制备方法制备WX21. 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) $\delta = 8.93 - 8.82$ (m, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.42 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.63 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 6.96 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.62 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 4.25 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 3.42 (s, 2H), 2.54 - 2.42 (m, 1H), 1.87 (br. s., 1H), 1.25 - 1.17 (m, 4H), 1.13 - 1.06 (m, 2H), 0.94 (dd, $J=3.0, 7.5$ Hz, 2H). MS (ESI) 计算值 $C_{21}H_{22}N_8O_3S$ $[M+H]^+$ 467, 测定值467.

实施例18



步骤1: 制备N-(8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺

向溶有8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(1.0 g, 4.7 mmol), 三乙胺(1.4 g, 14.1 mmol)的二氯甲烷(25.00 mL)溶液中滴加三氟乙酸(3.0 g, 14.1 mmol)。形成的反应液在26°C下搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全后,减压蒸馏除去溶剂,将残余物溶解于DCM(50 mL)和饱和水(10 mL)中。分出有机层,水层用DCM(50 mL \times 2)萃取两次。合并有机相,饱和食盐水(10 mL)洗涤,并用无水硫酸钠干燥,过滤、滤液减压蒸馏除去,得到白色粗产品N-(8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺(1.1 g),未经纯化,直接使用。MS (ESI) 计算值 $C_8H_4N_4OBrF_3$ $[M+H]^+$ 310, 测定值310.

步骤2: 制备8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺

向溶有N-(8-溴-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基)-2,2,2-三氟-乙酰胺(1.1 g, 3.6 mmol), 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼戊环-2-基)-1H-吡啶(1.0 g, 5.3 mmol)的二氧六环(25 mL)和水(6 mL)中,分别加入碳酸钾(492 mg, 3.6 mmol)和Pd(dppf)Cl₂(260 mg, 356 μ mol)。体系抽真空并充入氮气保护。然后将该混合物加热回流1小时。LC-MS显示反应完全后,过滤、滤液用水(10 mL)洗涤,然后再用EA(30 mL \times 3)萃取,合并有机相,饱和食盐水(10 mL)洗涤,并用无水硫酸钠干燥,过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(DCM/MeOH=DCM至20/1)得到黄色固体8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(430 mg, 产率为57.3%)。MS (ESI) 计算值 $C_9H_8N_6$ $[M+H]^+$ 201, 测定值201.

步骤3: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-8-基)吡啶-1-基]-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈

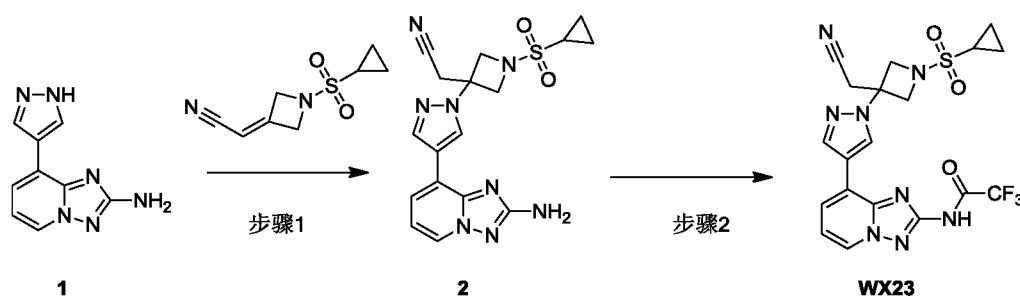
向溶有8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(50 mg, 249.7 μ mol), 2-(1-乙基磺酰基氮杂环丁烷-3-亚基)乙腈(56 mg, 299.7 μ mol)的乙腈(8 mL)中,滴加DBU(46 mg, 299.7 μ mol)。该反应液在26°C下搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全后,减压蒸馏除去乙腈,残余物加水(10 mL),然后再用EA(10 mL \times 3)萃取,合并有机相,饱和食盐水(10 mL)洗涤,并用无水硫酸钠干燥,过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(DCM/MeOH=20/1)得到白色固体2-[3-[4-(2-氨基-

[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-8-基)吡啶-1-基]-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(50 mg, 产率为49.22%)。MS (ESI) 计算值 $C_{16}H_{18}N_8SO_2[M + H]^+$ 387, 测定值387。

步骤4: 制备N-(8-(1-(3-(氰甲基)-1-(乙磺酰基)氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑[1,5-a]吡啶-2-基)-2,2,2-三氟乙酰胺(WX22)

向溶有2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-8-基)吡啶-1-基]-1-乙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(50 mg, 129.4 μmol), 三乙胺(39.28 mg, 388.2 μmol)的二氯甲烷(5 mL)溶液中, 滴加三氟乙酸酐(81.5 mg, 388.2 μmol)。该反应液在26°C下搅拌反应12小时。TLC显示反应完全后, 用加入 H_2O (5 mL), 分出有机层, 水层用DCM (15 mL x 3)萃取两次。合并有机相, 饱和食盐水(10 mL)洗涤, 并用饱和食盐水 (15 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过制备薄层色谱(DMC:MeOH=20:1)纯化得到 (WX22)(29 mg, 46.5%)。 1H NMR (400MHz, METHANOL- d_4) δ = 8.93 - 8.89 (m, 1H), 8.63 - 8.59 (m, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.02 (dd, $J=1.0, 7.3$ Hz, 1H), 7.28 - 7.21 (m, 1H), 4.68 - 4.58 (m, 4H), 4.32 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.19 (q, $J=7.4$ Hz, 2H), 1.38 (t, $J=7.3$ Hz, 3H)。MS (ESI) 计算值 $C_{18}H_{17}N_8SO_3F_3[M + H]^+$ 483, 测定值483。

实施例19



步骤1: 制备2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-8-基)吡啶-1-基]-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈

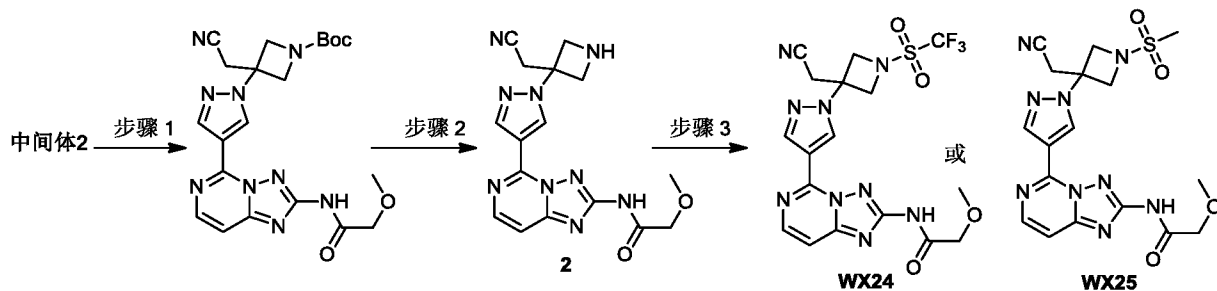
向溶有8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(250 mg, 1.3 mmol), 2-(1-环丙基磺酰基氮杂环丁烷-3-亚基)乙腈(297 mg, 1.5 mmol)的乙腈(25.00 mL)中, 滴加DBU (228 mg, 1.5 mmol)。该反应液在26°C下搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全后, 加入 H_2O (5 mL), 分出有机层, 水层用DCM (2 x 15 mL)萃取两次。合并有机相, 并用饱和食盐水 (15 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过硅胶柱色谱法纯化(DCM/ MeOH= 20/1)得到黄色固体2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-8-基)吡啶-1-基]-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(250 mg, 产率为45.2%)。MS (ESI) 计算值 $C_{17}H_{18}N_8SO_2[M + H]^+$ 399, 测定值399。

步骤2: 制备化合物WX23

向溶有2-[3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-8-基)吡啶-1-基]-1-环丙基磺酰基-氮杂环丁烷-3-基]乙腈(50 mg, 125.5 μmol), 三乙胺(38 mg, 376.5 μmol)的DCM (5 mL)溶液中, 滴加三氟乙酸酐(79 mg, 376.5 μmol)。该反应液在26°C下搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全后, 加入 H_2O (5 mL), 分出有机层, 水层用DCM (2 x 15 mL)萃取两次。合并有机相, 并用饱和食盐水 (15 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过制备型HPLC(碱性, 0-60)纯化得到 (WX23)(17 mg, 产率为27.4%)。 1H NMR 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ = 9.09 - 9.04 (m, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.55 - 8.52 (m, 1H),

8.19 (s, 1H), 7.79 - 7.74 (m, 1H), 7.12 (t, $J=7.0$ Hz, 1H), 4.64 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 4.27 (d, $J=9.3$ Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 2.50 - 2.43 (m, 1H), 1.25 - 1.21 (m, 2H), 1.15 - 1.08 (m, 2H). MS (ESI) 计算值 $C_{19}H_{17}N_8SO_3$ [M + H]⁺ 495, 测定值495.

实施例20



步骤1: 制备3-(氰甲基)-3-(4-(2-(2-甲氧基乙酰胺)-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]吡啶-5-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (1)

向溶解有中间体2 (0.1g, 0.25 mmol)和三乙胺(0.15 mL, 1.2 mmol)的DMF (10.00 mL) 中加入2-甲氧基乙酰氯(65 mg, 0.5 mmol)。将所得混合物在60°C下搅拌反应16小时, 直至LC-MS显示反应完全。将混合物倒入10ml水中, 乙酸乙酯(10ml×3)萃取, 合并有机相, 并用饱和食盐水 (20 mL) 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到粗品(120 mg), 直接用于下一反应。MS (ESI) 计算值 $C_{21}H_{25}N_9O_4$ [M+H]⁺ 468, 测定值468.

步骤2: 制备N-(5-(1-(3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)-2-甲氧基乙酰胺(2)

将3-(氰甲基)-3-(4-(2-(2-甲氧基乙酰胺)-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]吡啶-5-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (100 mg, 0.2 mmol)溶于二氯甲烷(5 mL)中, 然后加入TFA (5ml)。所得混合物在10°C下搅拌反应1小时后, LC-MS显示反应完全, 将溶剂浓缩后直接得到100 mg 粗品, 直接用于下一反应。MS (ESI) 计算值 $C_{16}H_{17}N_9O_2$ [M+H]⁺ 482, 测定值482.

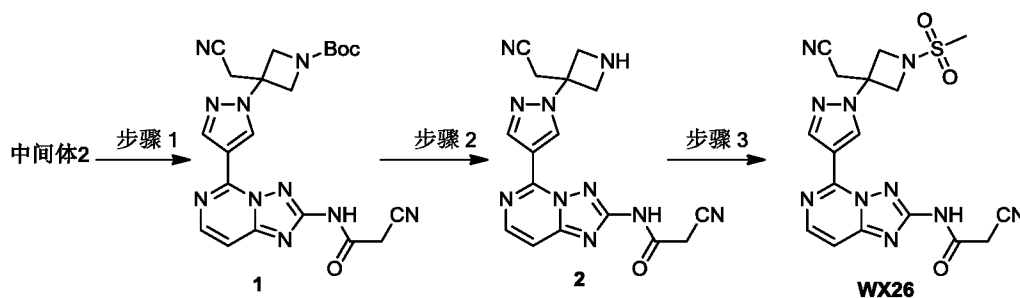
步骤3: 制备N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-((三氟甲基)磺酰) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)-2-甲氧基乙酰胺 (WX24)

将N-(5-(1-(3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)-2-甲氧基乙酰胺 (50 mg, 0.14 mmol) 溶于二氯甲烷(5 mL)中, 先后加入三乙胺(42 mg, 0.4 mmol)和三氟甲磺酰氯 (47 mg, 0.28 mmol), 所得混合物在10°C下搅拌反应1小时后, LC-MS显示反应完全, 将溶剂浓缩后直接得到粗品(50mg), 粗品通过制备HPLC(碱性)分离, 得到白色固体N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-((三氟甲基)磺酰) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)-2-甲氧基乙酰胺(WX24, 10 mg)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 9.30 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 8.36 (d, $J=6.27$ Hz, 1 H), 7.66 (d, $J=6.02$ Hz, 1 H), 4.74 (s, 2 H), 3.86 (s, 2 H), 3.40 (s, 4 H)。MS (ESI) 计算值 $C_{17}H_{16}F_3N_9O_4S$ [M+H]⁺495, 测定值495.

制备WX25: 运用同WX24 (步骤3)的制备方法制备N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-((甲基)磺酰) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡唑-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)-2-甲氧基乙酰胺 (WX25)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 9.29 - 9.32 (m, 1 H), 8.67 - 8.71 (m, 1 H), 8.28 - 8.33 (m, 1 H), 7.44 - 7.48 (m, 1 H), 4.60 - 4.68 (m, 1 H), 4.30 - 4.36 (m, 2 H), 4.13 - 4.19 (m, 1 H), 3.58 (s, 2 H), 3.41 - 3.48 (m, 1 H), 3.04 (s, 3 H), 1.45 (s, 3 H).

MS (ESI) 计算值 $C_{17}H_{19}N_9O_4S$ $[M+H]^+$ 446, 测定值446.

实施例21



步骤1: 制备3-(4-(2-(2-氰基乙酰胺)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-5-基)-1H-吡啶-1-基)-3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (1)

向溶解有中间体2(0.1g, 0.3 mmol)和三乙胺(0.17ml, 1.3 mmol)的DMF (10 mL) 中加入2-氰基乙酰胺(131 mg, 1.3 mmol)。将所得混合物在60℃下搅拌反应2小时, 直至LC-MS显示反应完全。将混合物倒入水(10 mL)中, 乙酸乙酯(10 mL×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后得到3-(4-(2-(2-氰基乙酰胺)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-5-基)-1H-吡啶-1-基)-3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯(100 mg, 粗品), 直接用于下一反应。MS (ESI) 计算值 $C_{21}H_{22}N_{10}O_3$ $[M+H]^+$ 463,测定值463.

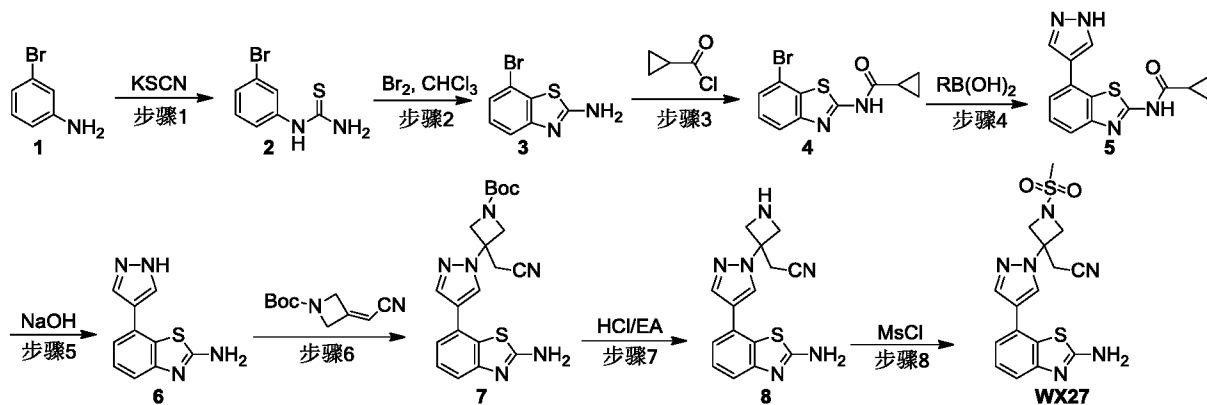
步骤2: 制备2-氰基-N-(5-(1-(3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)乙酰胺(2)

将3-(4-(2-(2-氰基乙酰胺)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-5-基)-1H-吡啶-1-基)-3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-1-羧酸叔丁酯 (1) (100 mg, 0.2 mmol)溶于二氯甲烷 (5 mL)中, 然后加入TFA (5 mL)。所得混合物在10℃下搅拌反应1小时后, LC-MS显示反应完全, 将溶剂浓缩后直接得到2-氰基-N-(5-(1-(3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)乙酰胺(2) (100 mg, 粗品), 直接用于下一反应。MS (ESI) 计算值 $C_{16}H_{14}N_{10}O$ $[M+H]^+$ 463, 测定值463.

步骤3: 制备2-氰基-N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-(甲基磺酰胺) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)乙酰胺(WX26)

将2-氰基-N-(5-(1-(3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)乙酰胺(50 mg, 0.14 mmol) 溶于二氯甲烷 (5 mL), 先后加入三乙胺(42 mg, 0.4 mmol), 甲磺酰氯(47 mg, 0.28 mmol), 所得混合物在10℃下搅拌反应1小时后, LC-MS显示反应完全, 将溶剂浓缩后直接得到50mg粗品, 粗品通过制备HPLC(碱性)分离, 得到2-氰基-N-(5-(1-(3-(氰甲基)-1-(甲基磺酰胺) 氮杂环丁烷-3-基)-1H-吡啶-4-基)-[1,2,4] 三氮唑[1,5-c] 吡啶-2-基)乙酰胺 (WX26 10 mg)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 9.27 (s, 1 H), 8.83 (s, 1 H), 8.25 - 8.52 (m, 1 H), 7.67 (d, J=6.27 Hz, 1 H), 4.56 (d, J=9.29 Hz, 4 H), 4.34 (d, J=9.29 Hz, 4 H), 3.73 (s, 3 H)。MS (ESI) 计算值 $C_{17}H_{16}N_{10}O_3S$ $[M+H]^+$ 441, 测定值441.

实施例 22



步骤1:制备1-(3-溴苯基)硫脲 (2)

室温下, 向3-溴苯胺 (30.0 g, 174 mmol)的稀盐酸溶液(1M, 50 mL) 中加入硫氰酸钾(20.0 g, 205.8 mmol)。混合物于100 °C搅拌反应12 小时。TLC (PE:EA=1:1)检测3-溴苯胺还有部分剩余 (约20%)。反应液冷却至0 °C后用氨水碱化至pH=10。所得紫色乳浊液继续搅拌半小时, 然后用乙酸乙酯萃取(200 mL×4)。合并有机相用饱和食盐水(30 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤旋干得到浓稠的紫色悬浊液。稍冷却加入二氯甲烷(50 mL), 冰浴下冷却至0 °C。不溶的淡紫色固体抽滤后, 用少量二氯甲烷(10 mL×2)洗涤, 真空干燥得到产物1-(3-溴苯基)硫脲(25 g, 收率为55.8%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.46 (s, 1H), 7.39-7.44 (m, 1H), 7.28 -7.32 (m, 1H), 7.25 (s, 1H)。MS (ESI) 计算值C₇H₇BrN₂S [M+H]⁺ 230, 测定值230。

步骤2:制备7-溴苯并[d]噻唑-2-胺 (3)

0 °C下, 向(3-溴苯基)硫脲(5.0 g, 21.6 mmol)的乙酸(50 mL)溶液中滴加液溴(4.7 g, 29.2 mmol)的氯仿溶液(5 mL)。混合物于85 °C搅拌反应3小时。TLC (PE:EA=1:1)检测显示 原料完全消耗并且拿到两个新点。反应液趁热过滤, 不溶的固体用少量二氯甲烷(10 mL×2)洗涤并干燥得到黄色固体产物 (4.2 g, 收率50%)。滤液旋干得黄色悬浊液, 残余物用二氯甲烷(20 mL)打浆, 不溶物抽滤,用少量DCM(5 mL×2)洗涤后, 真空干燥即得到黄色固体产物 (1.2 g, 收率13%)。分别取一小份产物 (P1和P2) 溶于水(1 mL)中, 用氨水碱化至pH=10, 再用乙酸乙酯(0.2 mL)萃取。两份萃取液分别用氮气吹干后即可直接用于NMR检测。核磁显示P1中主要是5-溴代异构体副产物, 而P2中主要是所需的7-溴代产物。所得粗产物可直接用于下一步反应, 无须进一步纯化。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 7.13 - 7.16 (m, 1 H), 7.16 - 7.22 (m, 2 H), 7.32 (dd, *J*=7.28, 1.51 Hz, 1 H), 7.48 (d, *J*=1.76 Hz, 1 H), 7.62 (d, *J*=8.53 Hz, 1 H), 7.71 (br. s., 1 H), 7.73 (s, 2 H)。MS (ESI) 计算值C₇H₅BrN₂S[M+H]⁺228, 测定值228。

步骤3:制备N-(7-溴苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(4)

氮气保护下, 于0 °C下向 7-溴苯并[d]噻唑-2-胺(1.2 g, 3.9 mmol, HBr盐)和三乙胺(1.6 g, 15.5 mmol)的乙腈(50 mL)溶液中滴加环丙甲酰氯(1.2 g, 11.6 mmol)。混合物于30 °C搅拌反应12小时。TLC (PE:EA=1:1)检测显示主点为单取代所需产物。反应液用水(60 mL)淬灭, 乙酸乙酯(30 mL×3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤旋干。残余物用柱层析法 (PE:EA=5:1) 纯化得到黄色固体N-(7-溴苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(580 mg, 收率40%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 12.85 (s, 1 H), 7.75 (d, *J*=8.03 Hz, 1 H), 7.52 (d, *J*=7.78 Hz, 1 H), 7.38 - 7.43 (m, 1 H), 1.98 - 2.05 (m, 1 H), 0.95 - 1.02 (m, 4 H),. MS (ESI) 计算值C₁₁H₉BrN₂OS [M+H]⁺296,测定值296。

步骤4:制备N-(7-(1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(5)

氮气保护下,向N-(7-溴苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(480 mg, 1.6 mmol)和4-哌啶醇硼酸酯-1H-吡唑(317 mg, 1.6 mmol)的二氧六环(15 mL)溶液中加入Pd(dppf)Cl₂ (119 mg, 162 μmol), K₂CO₃ (672 mg, 4.9 mmol) 和H₂O (2.5 mL)。混合物于90 °C搅拌反应12 小时。TLC (PE:EA=1:1)检测显示到新点。LC-MS检测到目标产物。反应液用水(100 mL)稀释后,乙酸乙酯(30 mL×3)萃取。合并有机相用饱和食盐水(5 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤旋干。残余物用柱层析法(PE:EA=1:1)纯化得到黄色固体产物N-(7-(1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(80 mg, 收率15.63%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 13.22 (br. s., 1 H), 12.70 (s, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 7.99 (s, 1 H), 7.64 (d, *J*=8.03 Hz, 1 H), 7.52 - 7.55 (m, 1 H), 7.45 - 7.50 (m, 1 H), 2.03 (t, *J*=4.52 Hz, 1 H), 0.95 - 1.00 (m, 4 H)。MS (ESI) 计算值C₁₄H₁₂N₄OS [M+H]⁺285,测定值285。

步骤5:制备7-(1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-胺 (6)

向N-(7-(1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(120 mg, 422.1 μmol)的甲醇(3 mL)溶液中逐滴加入NaOH (240 mg, 6 mmol)水溶液(1 mL)。混合物于80 °C搅拌反应12小时。LCMS检测显示反应完成。反应液用水稀释(50 mL),用1M HCl中和至pH=7,乙酸乙酯萃取(15 mL×4)。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤后旋干。残余物当作粗产品7-(1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-胺(100 mg, 收率87.7%),直接用于下一步反应,无须进一步纯化。MS (ESI) 计算值C₁₀H₈N₄S [M+H]⁺216,测定值216.8。

步骤6: 制备3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(氰甲基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(7)

氮气保护下,向7-(1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-胺(100 mg, 462.4 μmol)和3-(氰甲基烯)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(90 mg, 463.4 μmol)的乙腈(3 mL)溶液中滴加DBU (140.8 mg, 924.8 μmol)。混合物于30 °C 搅拌反应12小时。LC-MS检测显示反应完成。反应液用水(50 mL)稀释,乙酸乙酯(20 mL×3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(30 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤旋干。残余物作为产物3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(氰甲基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(190 mg, 收率80%)的粗产物直接用于下一步反应,无须进一步纯化。MS (ESI) 计算值C₂₀H₂₂N₆O₂S[M+H]⁺ 410,测定值411。

步骤7: 制备2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(8)

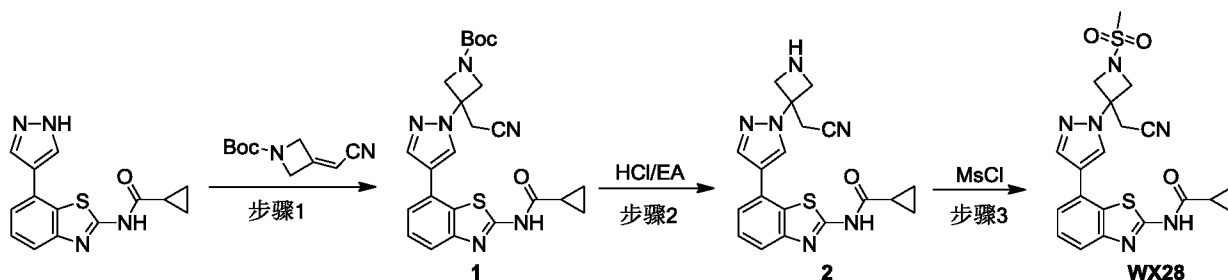
3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-3-(氰甲基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(180 mg, 438.5 μmol) 和 盐酸乙酸乙酯溶液 (30 mL)的混合物于25 °C下搅拌反应1小时。LCMS检测反应完成。反应液直接旋干。所得黄色固体作为产物2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(150 mg, 收率78.9%, HCl盐)的粗品,直接用于下一步反应,无须进一步纯化处理。MS (ESI) 计算值C₁₅H₁₄N₆S [M+H]⁺310, 测定值310。

步骤8: 制备2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(WX27)

氮气保护下,于0 °C 向2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(150 mg, 345.9 μmol, HCl盐)以及Et₃N (140 mg, 1.4 mmol)的二氯甲烷(3 mL)溶液中逐滴加入MsCl (80 mg, 698.9 μmol)。混合物于0 °C搅拌反应1小时。LC-MS检测显示反应完成。反应液用水(50 mL)淬灭,二氯甲烷萃取(15 mL×3)。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤后旋干。残余物用制备级薄层色谱(DCM:MeOH=10:1)纯化得到黄色固体产物2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(30 mg, 收率20.1%)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.55

(s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 7.56 (s, 2 H), 7.28 - 7.31 (m, 2 H), 7.25 - 7.28 (m, 1 H), 4.54 (d, $J=9.29$ Hz, 2 H), 4.27 (d, $J=9.29$ Hz, 2 H), 3.66 (s, 2 H), 3.14 (s, 3 H). MS (ESI) 计算值 $C_{16}H_{16}N_6O_2S_2$ [M+H]⁺389, 测定值389.

实施例 23



步骤1:制备3-(氰甲基)-3-(4-(2-(环丙甲酰胺)苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯

氮气保护下, 向 N-[7-(1H-吡唑-4-基)-1,3-苯并噻唑-2-基]环丙甲酰胺 (100 mg, 351.7 μmol)和3-(氰甲基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(100 mg, 513.5 μmol)的乙腈(3 mL)溶液中滴加DBU (107 mg, 703.4 μmol)。混合物于25 °C下搅拌反应12小时。TLC (PE:EA=1:1)检测显示反应完全。反应液经水(50 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL \times 3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤后旋干。残余物用制备级TLC (PE:EA=1:1)分离纯化得到黄色固体产物3-(氰甲基)-3-(4-(2-(环丙甲酰胺)苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(80 mg, 收率47.5%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 11.30 (br. s., 1 H), 8.05 (d, $J=12.05$ Hz, 2 H), 7.75 (d, $J=7.78$ Hz, 1 H), 7.48 - 7.53 (m, 1 H), 7.43 - 7.47 (m, 1 H), 4.58 (d, $J=9.79$ Hz, 2 H), 4.32 (d, $J=9.54$ Hz, 2 H), 3.31 (s, 2 H), 1.74 (dq, $J=7.97, 3.95$ Hz, 1 H), 1.51 (s, 9 H), 1.27 - 1.31 (m, 2 H), 1.01 - 1.09 (m, 2 H). MS (ESI) 计算值 $C_{24}H_{26}N_6O_3S$ [M+H]⁺479, 测定值479.

步骤2:制备N-(7-(1-(3-(氰甲基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺

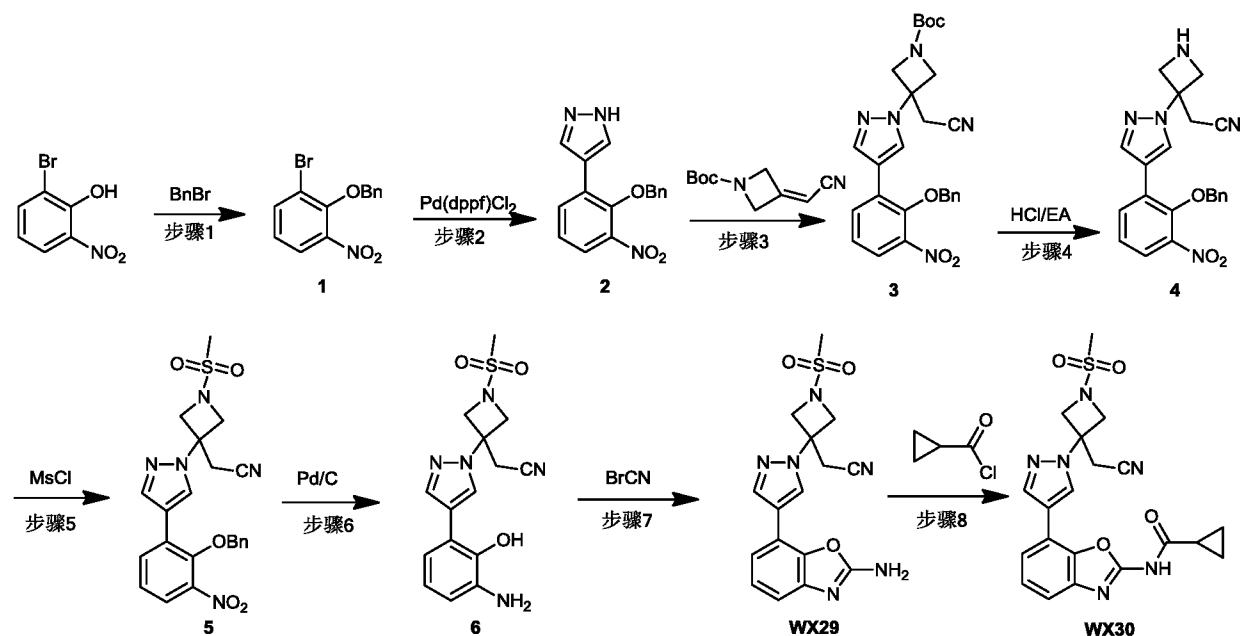
3-(氰甲基)-3-(4-(2-(环丙甲酰胺)苯并[d]噻唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁基-1-碳酸叔丁酯(80 mg, 167.2 μmol)和盐酸乙酸乙酯(30 mL)的混合物于25 °C搅拌反应1小时。LCMS检测反应完成。反应液直接旋干。残余物溶于水(50 mL)中, 用饱和 NaHCO_3 水溶液调至弱碱性($\text{pH}>7$)后乙酸乙酯(15 mL \times 3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤后旋干。所得黄色固体作为产物N-(7-(1-(3-(氰甲基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(60 mg, 收率85.4%, 纯度90%)的粗品, 可直接用于下一步反应, 无须进一步纯化处理。MS (ESI) 计算值 $C_{19}H_{18}N_6OS$ [M+H]⁺ 378, 测定值378.

步骤3:制备N-(7-(1-(3-(氰甲基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺

氮气保护下, 于向N-(7-(1-(3-(氰甲基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺 (60 mg, 158.54 μmol)和三乙胺(50 mg, 494.6 μmol)的二氯甲烷溶液(5 mL)中滴加甲磺酰氯(50 mg, 436.5 μmol)。混合物于0 °C下搅拌0.5小时并且在25 °C下继续搅拌1小时。LC-MS及TLC检测都显示反应完成。反应液用水(50 mL)淬灭, 乙酸乙酯(15 mL \times 3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤后旋干。残余物用制备级TLC (PE:EA=1:1)分离纯化得到白色固体产物N-(7-(1-(3-(氰甲基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]噻唑-2-基)环丙甲酰胺(45 mg, 收率62%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 12.26 (br. s., 1 H), 8.07 (s, 2 H), 7.74 (d, $J=7.78$ Hz, 1 H), 7.46 - 7.52 (m, 1 H), 7.39 - 7.45 (m, 1 H), 4.63 (d, $J=9.03$ Hz, 2 H), 4.30 (d, $J=9.03$ Hz, 2 H), 3.41 (s, 2 H), 3.04 (s, 3 H), 1.72 - 1.80 (m, 1 H), 1.26 (d, $J=3.26$ Hz, 2 H), 1.01 (dd, $J=7.40, 2.89$ Hz, 2 H). MS (ESI) 计算值 $C_{20}H_{20}N_6O_3S_2$ [M+H]⁺ 457, 测

定值457.

实施例 24



步骤1:制备2-(苄氧基)-1-溴-3-硝基苯

向2-溴-6-硝基苯酚(5.2 g, 23.9 mmol)以及 K_2CO_3 (3.6 g, 26.3 mmol)的乙腈(100 mL)溶液中加入苄溴(4.3 g, 25.3 mmol)。混合物于100 °C搅拌反应3小时。TLC (PE:EA=10:1)检测显示反应完成。反应液抽滤, 固体用乙酸乙酯(10 mL×3)淋洗。滤液旋干后, 残余物溶解于乙酸乙酯(100 mL)中, 经水(20 mL)和饱和食盐水(20 mL)洗涤。有机相用无水硫酸钠干燥, 抽滤后旋干。所得黄色固体作为产物2-(苄氧基)-1-溴-3-硝基苯 (7.50 g, 收率91.51%)的粗品, 可直接用于下一步反应, 无须进一步纯化处理。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 7.84 (d, $J=8.03$ Hz, 1 H), 7.79 (d, $J=8.03$ Hz, 1 H), 7.56 (d, $J=6.53$ Hz, 2 H), 7.37 - 7.45 (m, 3 H), 7.16 (t, $J=8.28$ Hz, 1 H), 5.21 (s, 2 H)。MS (ESI) 计算值 $C_{13}H_{10}BrNO_3$ $[M+H]^+$ 308, 测定值308。

步骤2:制备4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑

氮气保护下, 向2-(苄氧基)-1-溴-3-硝基苯(1.0 g, 3.3 mmol)和4-频哪醇硼酸酯吡唑-1-碳酸叔丁酯(1.0 g, 3.4 mmol)的二氧六环(30 mL)溶液中加入Pd(dppf) Cl_2 (250 mg, 341.7 μ mol), 碳酸钾(1.4 g, 9.8 mmol)以及水(5 mL)。混合物于100 °C搅拌反应12小时。TLC (PE:EA=1:1)以及LC-MS检测都显示反应完成。反应液用水(20 mL)稀释, 乙酸乙酯(20 mL×3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤后旋干。残余物用柱层析法 (PE:EA=1:1) 分离纯化得到黄色油状产物4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑(900 mg, 收率89.1%)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.03 (s, 2 H), 7.70 - 7.78 (m, 2 H), 7.33 - 7.39 (m, 5 H), 7.28 - 7.32 (m, 1 H), 4.87 (s, 2 H)。MS (ESI) 计算值 $C_{16}H_{13}N_3O^3$ $[M+H]^+$ 296, 测定值296。

步骤3:制备3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)-3-(氰甲基)氮杂环丁-1-碳酸叔丁酯

氮气保护, 于0 °C下向4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑(900 mg, 3.1 mmol)以及3-(氰甲基)氮杂环丁-1-碳酸叔丁酯(900 mg, 4.6 mmol)的乙腈(20 mL)溶液中滴加DBU (928 mg, 6.1 mmol)。混合物于25 °C搅拌反应3小时。TLC (PE:EA=1:1)检测显示反应完成。反应液经水(60 mL)淬灭, 乙酸乙酯(20 mL×3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 抽滤后旋干。残余物用柱层析法 (PE:EA=1:1) 分离纯化得到黄色油状产物 3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)-3-(氰甲基)氮杂

环丁-1-碳酸叔丁酯(1.00 g, 收率60.3%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.96 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H), 7.71 - 7.76 (m, 2 H), 7.32 - 7.40 (m, 5 H), 7.27 - 7.31 (m, 1 H), 4.90 (s, 2 H), 4.24 (d, *J*=9.54 Hz, 2 H), 4.12 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H), 3.16 (s, 2 H), 1.48 (s, 9 H). MS (ESI) 计算值C₂₆H₂₇N₅O₅ [M+H]⁺ 490, 测定值490.

*步骤4:*制备2-(3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁-3-基)甲基氰

3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)-3-(氰甲基)氮杂环丁-1-碳酸叔丁酯(1.0 g, 2.04 mmol)和盐酸乙酸乙酯(50 mL)的混合物于25 °C搅拌反应1小时。LC-MS检测显示反应完成。反应液直接旋干后,残余物溶于水中(50 mL),用饱和NaHCO₃溶液调至中性pH=7后,乙酸乙酯萃取(15 mL×3)。合并有机相经饱和食盐水(2 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤后旋干。所得橙色油状物作为产物2-(3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(900 mg, 收率90.6%)的粗品,可直接用于下一步反应,无须进一步纯化处理。MS (ESI) 计算值C₂₁H₁₉N₅O₃ [M+H]⁺390, 测定值390.

*步骤5:*制备2-(3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰

氮气保护,于0 °C下向2-(3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(900 mg, 2.3 mmol)和三乙胺(730 mg, 7.2 mmol)的二氯甲烷(10 mL)溶液中滴加甲烷磺酰氯(529 mg, 4.6 mmol)。混合物于0 °C搅拌反应1小时。LC-MS检测显示反应完成。反应液用水(50 mL)淬灭后,乙酸乙酯(20 mL×3)萃取。合并有机相经饱和食盐水(5 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,抽滤后旋干。残余物用柱层析法(PE:EA=1:1 (0.5% Et₃N))分离纯化得到黄色油状产物2-(3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(450 mg, 收率37.50%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.98 (d, *J*=12.55 Hz, 2 H), 7.71 - 7.78 (m, 2 H), 7.34 - 7.41 (m, 5 H), 7.30 (t, *J*=8.03 Hz, 1 H), 4.88 - 4.93 (m, 2 H), 4.33 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H), 4.09 (d, *J*=9.54 Hz, 2 H), 3.21 (s, 2 H), 2.95 (s, 3 H). MS (ESI) 计算值C₂₂H₂₁N₅O₅S [M+H]⁺ 468, 测定值468.

*步骤6:*制备2-(3-(4-(3-氨基-2-羟基苯)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰

氢气氛围下,向2-(3-(4-(2-(苄氧基)-3-硝基苯)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(400 mg, 855.6 μmol)的乙酸乙酯(10 mL)溶液中加入Pd/C (200 mg, 1.9 mmol)。混合物于25 °C搅拌反应1.5小时。LC-MS检测显示反应完成。反应液抽滤去除Pd/C后低温旋蒸稍浓缩。所得的淡黄色产物2-(3-(4-(3-氨基-2-羟基苯)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(300 mg, 收率80.75%),可直接用于下一步反应,无须进一步纯化处理。MS (ESI) 计算值C₁₅H₁₇N₅O₃S [M+H]⁺ 348,测定值348.

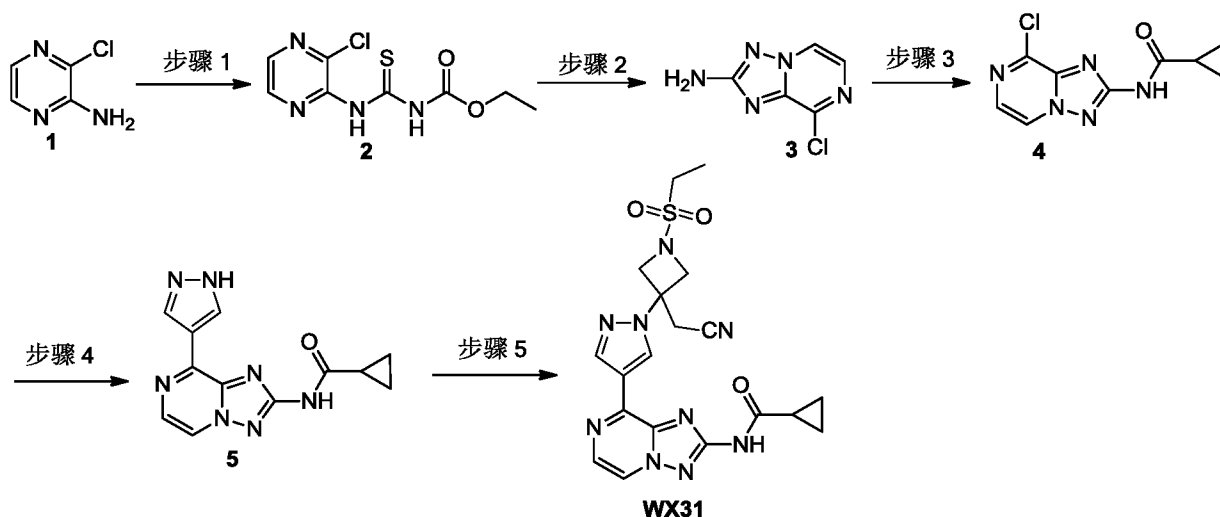
*步骤7:*制备2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]恶唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(WX29)

氮气保护下,向2-(3-(4-(3-氨基-2-羟基苯)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(300 mg, 863.58 μmol)的乙酸乙酯(5 mL)溶液中加入溴氰(100 mg, 944.1 μmol)。混合物于50 °C搅拌反应12小时。LC-MS及TLC(DCM:MeOH=10:1)检测显示反应完成。反应液直接旋干后,溶解于DCM:MeOH=10:1(3 mL),经制备级TLC(DCM:MeOH=10:1)分离纯化得到黄色固体产物2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]恶唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(200 mg, 收率56.0%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8.26 (br. s., 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.26 - 7.28 (m, 2 H), 7.24 (d, *J*=7.28 Hz, 1 H), 4.65 (d, *J*=9.03 Hz, 2 H), 4.28 (d, *J*=9.29 Hz, 2 H), 3.45 (s, 2 H), 3.04 (s, 3 H). MS (ESI) 计算值C₁₆H₁₆N₆O₃S [M+H]⁺ 373,测定值373.

*步骤8:*制备N-(7-(1-(3-(氰甲基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]恶唑-2-基)环丙甲酰胺(WX30)

氮气保护下,向2-(3-(4-(2-氨基苯并[d]恶唑-7-基)-1H-吡唑-1-基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)甲基氰(100 mg, 268.5 μmol)及三乙胺(54 mg, 537.1 μmol)的乙腈(3 mL)溶液中滴加环丙甲酰氯(30 mg, 287.3 μmol)。混合物于30 °C 下搅拌反应12小时。LCMS 检测显示反应收率较低。反应液直接旋干,残余物经制备级TLC (DCM:MeOH=10:1)分离纯化得到黄色固体产物N-(7-(1-(3-(氰甲基)-1-(甲磺酰基)氮杂环丁-3-基)-1H-吡唑-4-基)苯并[d]恶唑-2-基)环丙甲酰胺(10 mg, 收率8.45%)。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 12.05 (br. s., 1 H), 8.77 (s, 1 H), 8.34 (s, 1 H), 7.60 (d, $J=7.53$ Hz, 1 H), 7.44 (d, $J=7.53$ Hz, 1 H), 7.31 - 7.38 (m, 1 H), 4.52 (d, $J=9.29$ Hz, 2 H), 4.30 (d, $J=9.03$ Hz, 2 H), 3.66 (s, 2 H), 3.15 (s, 3 H), 2.14 (br. s., 1 H), 0.96 (d, $J=5.52$ Hz, 4 H)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 441, 测定值441。

实施例 25



步骤1: 制备N - [(3-氯吡啶-2-基) 硫代氨基甲酰基]氨基甲酸乙酯

向溶解有3-氯吡啶-2-胺(8.7 g, 67.2 mmol)的THF(100 mL)中。加入异硫氰酸乙酯(9.7 g, 73.9 mmol)。将所得混合物在27°C下搅拌反应48小时,直至LC-MS显示反应完全。将混合物溶剂THF减压旋干,得粗产物N-[(3-氯吡啶-2-基) 硫代氨基甲酰基]氨基甲酸乙酯用甲基叔丁基醚,洗涤、干燥。无需进一步纯化(纯度足够)直接用于下一步反应。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_8\text{H}_9\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 261,测定值261。

步骤2: 制备8-氯 - [1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺

将盐酸羟胺(20.0 g, 287.7 mmol)悬浮于100 mL的乙醇和甲醇(1:1)的混合物中,然后加入DIEA(22.3 g, 172.6 mmol)。所得混合物在27°C下搅拌反应1小时后,将N-[(3-氯吡啶-2-基) 硫代氨基甲酰基]氨基甲酸乙酯(15.0 g, 57.54 mmol)加入到该反应体系中并缓慢回流(70°C) 3小时。LC-MS显示反应完全后,将反应物冷却至室温,过滤,用水和MTBE洗涤,然后经真空干燥(60°C),得到黄色固体8-氯 - [1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(6.50 g, 产率为64.62%)。MS (ESI) 计算值 $\text{C}_5\text{H}_4\text{ClN}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 170,测定值170。

步骤3: 制备N- (8-氯 - [1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-基) 环丙烷甲酰胺

5°C下,向溶解有8-氯 - [1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡啶-2-胺(2.0 g, 11.8 mmol)的无水 CH_3CN (30 mL)中,加入 Et_3N (3 g, 29.5 mmol),接着加入环丙烷甲酰氯(3.1 g, 29.5 mmol)。加完后,将反应混合物升至 28°C 中并搅拌直至LC-MS显示所有的原料被消耗。如果需要的话,进一步加入 Et_3N (7.1 mmol) 和环丙烷甲酰氯 (7.1 mmol),以保证反应完全。溶剂减压旋干得到残余物,残余物用 Et_2O (50 mL) 打浆,固体通过过滤收集,用 H_2O (2×50 mL), 丙酮 (50 mL) 和 Et_2O (50 mL) 洗涤,然后真空干燥,得到所需的

黄色固体N-(8-氯-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)环丙烷甲酰胺(1.2 g)。MS (ESI) 计算值 $C_9H_8ClN_5O[M+H]^+$ 237, 测定值237。

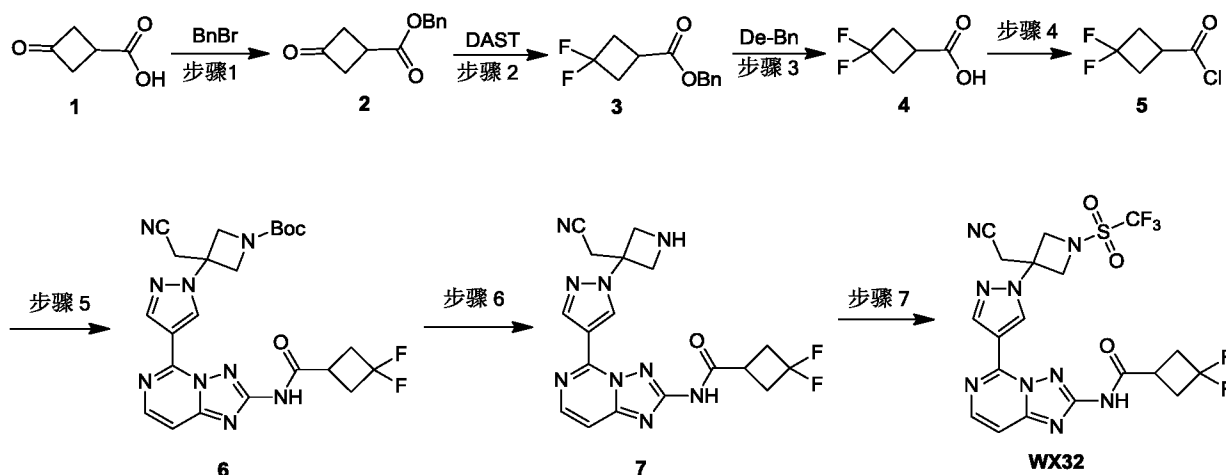
步骤4: 制备N-[8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基]环丙烷甲酰胺

向溶解有N-(8-氯-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基)环丙烷甲酰胺(100 mg, 420.8 μmol), 4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧硼杂环戊烷-2-基)-1H-吡啶(122.5 mg, 631.2 μmol)和 K_2CO_3 (175 mg, 1.3 mmol)的混合溶剂 H_2O (1 mL)/二恶烷(4 mL)中加入 $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (34 mg, 42.08 μmol)。抽真空充入氮气后, 将混合物在 100°C 下搅拌反应3小时。LC-MS显示反应完全后, 冷却至室温, 将混合物通过硅藻土床过滤, 硅藻土用DCM(30mL)洗涤。分离有机层, 水层用DCM(3 \times 50 mL)萃取。合并有机相, 饱和盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥。溶剂减压旋干, 将粗产物通过制备薄层色谱纯化(DCM/MeOH = 10: 1), 得到浅黄色固体N-[8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基]环丙烷甲酰胺(70 mg, 产率为8.1%)。MS (ESI) 计算值 $C_{12}H_{11}N_7O[M+H]^+$ 270, 测定值270。

步骤5: 制备N-[8-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙磺酰基氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基]环丙烷甲酰胺(WX31)

向溶解有N-[8-(1H-吡啶-4-基)-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基]环丙烷甲酰胺(120 mg, 445.7 μmol), 2-(1-乙磺酰基氮杂环丁烷-3-亚基)乙腈(125 mg, 668.5 μmol)的DMF(10 mL)溶液中, 加入DBU(136 mg, 891 μmol)。所得该混合物在 40°C 搅拌反应16小时。LC-MS显示反应完全后。溶剂减压旋干, 将残余物溶解于EtOAc(50 mL)中。此溶液依次用1N HCl(10 mL)和盐水(20 mL)洗涤, 有机相用无水 Na_2SO_4 干燥。溶剂减压旋干, 将残余物用制备薄层色谱纯化(PE/EA=1:4), 得到粗化合物, 将其进一步通过制备型HPLC(HCl)纯化、冻干。得到白色固体N-[8-[1-[3-(氰基甲基)-1-乙磺酰基氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三氮唑并[1,5-a]吡嗪-2-基]环丙烷甲酰胺(40 mg)。 1H -NMR(400 MHz, MeOD- d_4) δ = 8.07 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.86 (dd, J = 7.2, 13.2 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.44-7.42 (m, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.44 (d, J = 4.8 Hz, 4H), 3.26 (d, J = 4.8 Hz, 4H), 2.95 (m, 1H), 0.87 (m, 2H), 0.74 (m, 2H)。MS (ESI) 计算值 $C_{19}H_{21}N_9O_3S[M+H]^+$ 456, 测定值456。

实施例 26



步骤1: 制备3-氧代环丁烷羧基甲酸苄酯

将溶有3-氧代环丁烷羧酸(3.0 g, 26.3 mmol), 溴化苄(6.7 g, 39.4 mmol)和碳酸钾(7.3 g, 52.6 mmol)的丙酮(30 mL)溶液, 加热回流10小时。TLC显示反应完全后, 反应液减压浓缩除去溶剂, 加入水

(20 mL), 乙酸乙酯(150 mL × 2)萃取。合并的有机相用饱和食盐水(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。将残余物用硅胶色谱柱(石油醚: 乙酸乙酯 = 10:1)纯化, 得到3-氧代环丁烷基甲酸苄酯(2.5 g, 产率为41.9%)为无色液体。MS (ESI) 计算值 $C_{12}H_{12}O_3$ [M + H]⁺ 205 测定值205。

步骤2: 制备3,3-二氟环丁烷基甲酸苄酯

在-60°C下, 向溶有3-氧代环丁烷基甲酸苄酯(1.0 g, 4.9 mmol)的二氯甲烷(35 mL)溶液中, 逐滴加入DAST (1.6 g, 9.8 mmol), 滴加完后, 反应液慢慢升温至15°C并搅拌10小时。TLC显示反应完全后, 将反应液冷却至0°C, 加入饱和碳酸氢钠溶液(10 mL)淬灭反应, 水相用二氯甲烷(30 mL × 2)萃取。合并的有机相用饱和食盐水(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤并真空浓缩。将残余物用硅胶色谱柱(石油醚: 乙酸乙酯 = 20:1~10:1)纯化, 得到3,3-二氟环丁烷基甲酸苄酯(450 mg, 产率为36.54%)为无色油状。MS (ESI) 计算值 $C_{12}H_{12}F_2O_2$ [M + H]⁺ 227 测定值227。

步骤3: 制备3,3-二氟环丁烷基羧酸

向溶有3, 3-二氟环丁烷基甲酸苄酯(450 mg, 2.0 mmol)的乙醇(10 mL)溶液中, 加入 Pd/C (10%, 40 mg), 反应液在氢气(15 Psi)氛围中, 常温搅拌反应10小时。TLC显示反应完全后, 将固体滤去, 滤液真空浓缩得到3,3-二氟环丁烷基羧酸 (250 mg, 产率为83.1%)为白色固体。MS (ESI) 计算值 $C_3H_6F_2O_2$ [M + H]⁺ 137 测定值137。

步骤4: 制备3,3-二氟环丁烷基甲酰氯

在0°C下, 向溶有3,3-二氟环丁烷基羧酸(230 mg, 1.69 mmol)和DMF (13 mg, 169.0 μmol)的二氯甲烷(5 mL)溶液中, 逐滴加入草酰氯(322 mg, 2.5 mmol), 滴加完后, 反应液常温搅拌3小时。TLC显示反应完全后, 反应液真空浓缩得到 3,3-二氟环丁烷基甲酰氯(300 mg, 粗品) 为黄色固体, 该产物无需纯化, 直接用于下一步骤。MS (ESI) 计算值 $C_3H_5ClF_2O$ [M + H]⁺ 155, 测定值155。

步骤5: 制备叔丁基 3-(氰甲基)-3-[4-[2-[(3,3-二氟环丁烷基羧酸)氨基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基] 氮杂环丁烷-1-羧酸

在0°C下, 向溶有叔丁基 3-[4-(2-氨基-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基)吡唑-1-基]-3-(氰甲基)氮杂环丁烷-1-羧酸 (395mg, 1.0 mmol), DMAP (13 mg, 110 μmol) and 吡啶 (396 mg, 5 mmol) 的二氯甲烷(8 mL)溶液, 加入3,3-二氟环丁烷基甲酰氯(294 mg, 1.9 mmol), 将混合物加热至40°C并搅拌10小时。LCMS显示反应完成。将反应液倾入水(5 mL)中, 水相用二氯甲烷萃取(15 mL × 2)。将合并的有机相用饱和食盐水(10 mL)洗涤, 用无水硫酸钠干燥, 过滤和真空浓缩。残余物通过制备型TLC纯化(乙酸乙酯:石油醚 = 1:0)得到叔丁基 3-(氰甲基)-3-[4-[2-[(3,3-二氟环丁烷基羧酸)氨基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基] 氮杂环丁烷-1-羧酸(80 mg, 产率为12.00%)为白色固体。MS (ESI) calcd. $C_{23}H_{25}F_2N_9O_3$ [M + H]⁺ 514 测定值514。

步骤6: 制备N-[5-[1-[3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3,3-二氟-环丁烷基甲酰胺

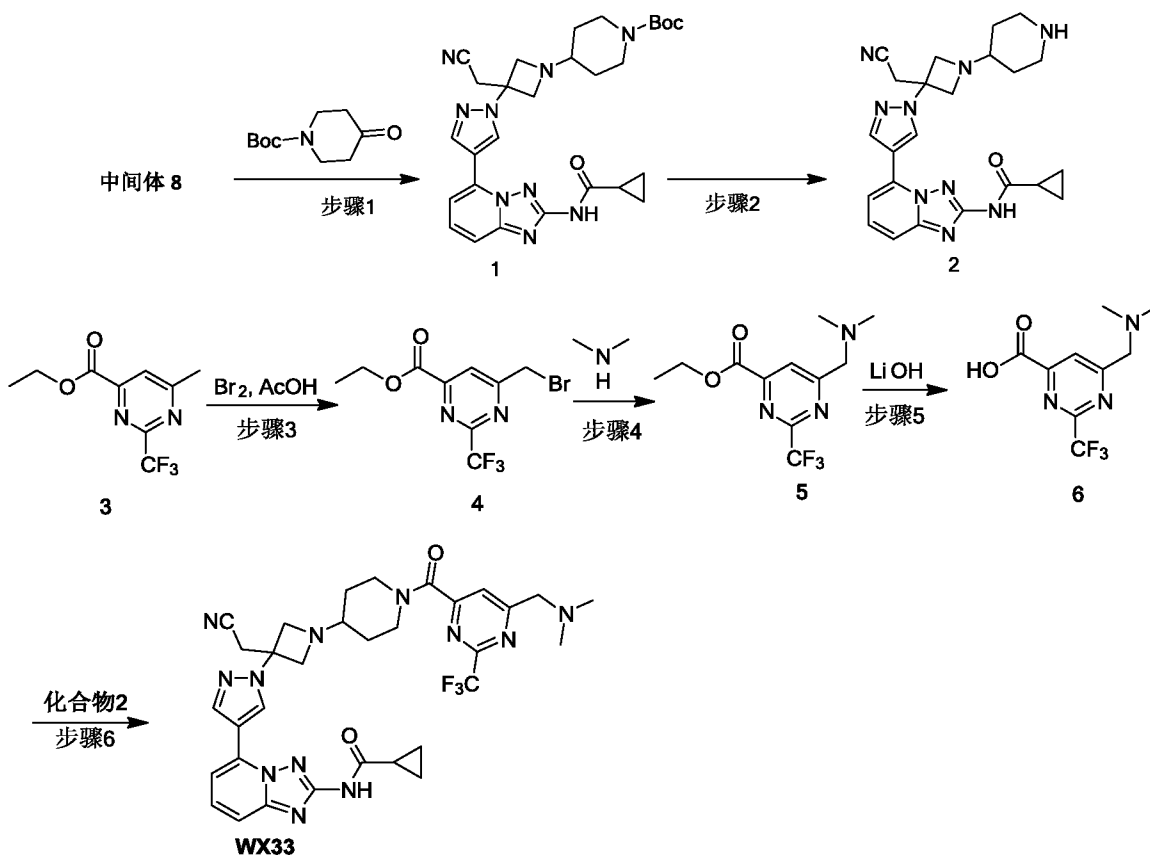
向溶有叔丁基 3-(氰甲基)-3-[4-[2-[(3,3-二氟环丁烷基羧酸)氨基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-5-基]吡唑-1-基] 氮杂环丁烷-1-羧酸 (80 mg, 155.8 μmol) 的二氯甲烷(5 mL) 溶液中, 滴加入三氟乙酸 (765 mg, 6.7 mmol), 反应液常温搅拌2小时。LCMS显示反应完成。反应液真空浓缩得到N-[5-[1-[3-(氰甲基) 氮杂

环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3,3-二氟-环丁基甲酰胺 (100 mg, 粗品, TFA 盐)为褐色固体, 该产物无需纯化, 直接用于下一步骤。MS (ESI) 计算值 $C_{18}H_{17}F_2N_9O$ $[M + H]^+$ 414 测定值414。

步骤7: 制备N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(三氟甲磺酰基) 氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3,3-二氟-环丁基甲酰胺(WX32)

向溶有N-[5-[1-[3-(氰甲基) 氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3,3-二氟-环丁基甲酰胺 (100 mg, 189.61 μmol , TFA 盐) 的二氯甲烷(8 mL) 溶液中, 加入三氟甲基磺酰氯 (38 mg, 227.5 μmol), 后再加入三乙胺(96 mg, 948.1 μmol), 反应液常温搅拌10小时。LCMS显示反应完成。反应液真空浓缩, 残余物通过制备型HPLC纯化得到N-[5-[1-[3-(氰甲基)-1-(三氟甲磺酰基) 氮杂环丁烷-3-基]吡唑-4-基]-[1,2,4]三氮唑[1,5-c]嘧啶-2-基]-3,3-二氟-环丁基甲酰胺(WX32) (3 mg, 产率为2.9%) 为白色固体。MS (ESI) 计算值 $C_{19}H_{16}F_5N_9O_3S$ $[M + H]^+$ 546 测定值546。

实施例 27



步骤1: 制备叔丁基- [3-(氰基甲基) -3- [4- [2-(环丙烷羰基氨基) - [1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-5-基]吡啶-1-基]氮杂环丁烷-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(1)

向溶有中间体8(250 mg, 689.9 μmol) ,4-氧代哌啶羧酸叔丁酯(137 mg, 689.9 μmol) 和 $NaBH(OAc)_3$ (292 mg, 1.4 mmol) 的THF (3 mL)中加入DIEA (446 mg, 3.5 mmol)。体系抽真空并充入氮气保护。然后将该混合物在26°C先搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全后, 过滤、滤液用水 (3ml) 洗, 然后再用EA (5ml \times 3) 萃取, 合并有机相并, 再用饱和食盐水 (3 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (DCM/ MeOH= 20/1) 得到黄色固体(143.00 mg, 产率为37.99%)。

MS ESI 计算值 $C_{28}H_{35}N_9O_3$ [M + H]⁺ 546, 测定值546。

步骤2: 制备N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-(4-哌啶基)氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三唑并[1,5-]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺 (2)

向溶有叔丁基4-[3-(氰基甲基)-3-[4-[2-(环丙烷羰基氨基)-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-5-基]吡丁烷-1-基]氮杂环丁烷-1-基]哌啶-1-甲酸叔丁酯(143 mg, 262.1 μ mol)的二氯甲烷(5 mL)中滴加三氟乙酸(2 mL)。然后将该反应在26°C下搅拌反应3小时。LC-MS显示反应完全后,减压蒸馏除去溶剂,得到黄色固体(56 mg, 粗产品),未经纯化,直接用于下一步反应。MS ESI 计算值 $C_{23}H_{27}N_9O$ [M + H]⁺ 446, 测定值446。

步骤3: 制备乙基6-(溴甲基)-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羧酸乙酯(3)

向溶有6-甲基-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羧酸乙酯(2.0 g, 8.5 mmol)的乙酸(12 mL)中滴加Br₂(1.4 g, 8.5 mmol)。该反应液在80°C下搅拌反应30分钟。LC-MS显示反应结束后,减压蒸馏除去溶剂。残余物通过制备分离(PE/EA=3/1)得到黄色油状液体(610 mg, 产率为12.3%)。MS ESI 计算值 $C_9H_8BrF_3N_2O_2$ [M + H]⁺ 313, 测定值313。

步骤4: 制备乙基6-[(二甲基氨基)甲基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羧酸乙酯(4)

向溶有乙基6-(溴甲基)-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羧酸乙酯(610 mg, 2.0 mmol)和N-二甲基甲胺(318 mg, 3.9 mmol)的二氯甲烷(20 mL)中滴加三乙胺(592 mg, 5.9 mmol)。该反应液在26°C下搅拌0.5小时。LC-MS显示反应完全后,滤液用水(20 mL)洗,然后再用EA(20 mL×3)萃取,合并有机相,用饱和食盐水(20 mL)洗涤,无水硫酸钠干燥,过滤、滤液减压蒸馏除去。残余物通过制备分离纯化(PE/EA=3/1)得到黄色液体(310 mg, 产率为51.6%)。MS ESI 计算值 $C_{11}H_{14}F_3N_3O_2$ [M + H]⁺ 278, 测定值278。

步骤5: 制备6-[(二甲基氨基)甲基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羧酸 (5)

向溶有乙基6-[(二甲基氨基)甲基]-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羧酸乙酯(310 mg, 1.1 mmol)的四氢呋喃(8 mL)和水(2 mL)加入氢氧化锂(54 mg, 2.3 mmol)。该反应液在26°C下搅拌反应0.5小时。LC-MS显示反应完全后,减压蒸馏除去溶剂得到黄色油状(314 mg)液体,未经纯化直接使用。MS ESI 计算值 $C_9H_{10}F_3N_3O_2$ [M + H]⁺ 250, 测定值250。

步骤6: 制备N-(5-[1-[3-(氰基甲基)-1-(1-(6-((二甲基氨基)甲基)-2-(三氟甲基)嘧啶-4-羰基)哌啶-4-基)氮杂环丁烷-3-基]-1H-吡啶-4-基]-[1,2,4]三唑并[1,5-a]吡啶-2-基)环丙烷甲酰胺 (WX33)

向溶有N-[5-[1-[3-(氰基甲基)-1-(4-哌啶基)氮杂环丁烷-3-基]吡啶-4-基]-[1,2,4]三唑并[1,5-]吡啶-2-基]环丙烷甲酰胺(480 mg, 107.7 μ mol), 化合物2(27 mg, 107.7 μ mol), EDCI(52 mg, 269.4 μ mol)和HOBT(36 mg, 269.4 μ mol)的DMF(3 mL)溶液中加入TEA(55 mg, 538.7 μ mol)。该反应液在26°C下搅拌反应12小时。LC-MS显示反应完全后,将反应液溶于EA(10 mL)和水(10 mL)中。分出有机层,水层用EA(2×15 mL)萃取两次。合并有机相,经饱和食盐水(5 mL)洗并用无水硫酸钠干燥,过滤、滤液减压蒸馏除去。经制备分离得到白色固体(WX33)(5 mg, 产率为6.9%)。¹H NMR (400 MHz, METHANOL-d₄) δ = 9.18 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.75 - 7.69 (m, 1H), 7.57 (ddd, J=1.1, 8.1, 18.9 Hz, 2H), 3.87 - 3.73 (m, 6H), 3.53 (s, 2H), 3.43 - 3.35 (m, 1H), 3.30 - 3.21 (m, 1H), 2.74 - 2.66 (m, 1H), 2.37 (s, 6H), 2.06 - 1.93 (m, 2H), 1.50 (d, J=10.3 Hz, 1H), 1.38 - 1.28 (m, 4H), 1.11 - 1.05 (m, 2H), 1.01 - 0.95

(m, 2H)。MS ESI 计算值 $C_{33}H_{35}F_3N_{12}O_2$ [M + H]⁺ 677, 测定值677。

Jak1,2,Jak3 激酶体外活性测试

实验材料

重组人源JAK1、JAK2、JAK3蛋白酶均购自Life technology。LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptide 和 LANCE Eu-W1024 Anti-phosphotyrosine (PT66) 均购自PerkinElmer。使用多联酶标仪 Envision (PerkinElmer)读板。

实验方法

将测试化合物进行3倍浓度梯度稀释, 终浓度为10 uM到0.17 nM 11个浓度, 每个浓度两个复孔; DMSO 在检测反应中的含量为1%。

JAK1酶反应:

2 nM JAK1 蛋白激酶, 50 nM LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptide, 38 uM ATP, 50 mM HEPES (pH 7.5), 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 2 mM DTT, 0.01% BRIJ-35。检测板为White Proxiplate 384-Plus plate (PerkinElmer), 室温反应90分钟, 反应体系为10 ul。

JAK2酶反应:

0.02 nM JAK2 蛋白激酶, 50 nM LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptide, 12 uM ATP, 50 mM HEPES (pH 7.5), 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 2 mM DTT, 0.01% BRIJ-35。检测板为White Proxiplate 384-Plus plate (PerkinElmer), 室温反应60分钟, 反应体系为10 ul。

JAK3酶反应:

0.05 nM JAK2 蛋白激酶, 50 nM LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptide, 4 uM ATP, 50 mM HEPES (pH 7.5), 10 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 2 mM DTT, 0.01% BRIJ-35。检测板为White Proxiplate 384-Plus plate (PerkinElmer), 室温反应90分钟, 反应体系为10 ul。

反应检测:

加10 ul检测试剂至反应板中, 其中LANCE Eu-W1024 Anti-phosphotyrosine (PT66)终浓度为2 nM, EDTA 终浓度为10 mM, 室温孵育60分钟, Envision仪器读板。

数据分析

通过下列公式将读数转化成抑制率 (%) = (Min-Ratio)/(Max-Min)×100%。4参数曲线拟合 (Model 205 in XLFIT5, iDBS) 测得IC₅₀数据, 具体见表1。

表1

化合物	JAK2 (nM)	JAK1/JAK2(倍数)	JAK3/JAK2(倍数)
Tofacitinib	4	0.5	0.075
WX00	B	F1	F4
WX01	B	F2	F3
WX02	A	F1	F3
WX03	B	F2	F3
WX04	B	F1	F3
WX05	B	F1	F3
WX06	B	F1	F3

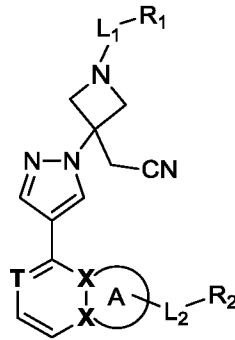
WX07	B	F2	F4
WX08	A	F1	F4
WX09	A	F1	F4
WX10	C	F1	F1
WX11	C	F2	F3
WX12	B	F2	F3
WX13	A	F3	F4
WX14	A	F2	F4
WX15	A	F1	F4
WX16	A	F1	F3
WX17	B	F1	F3
WX18	A	F1	F3
WX19	B	F1	F3
WX20	A	F1	F4
WX21	A	F1	F4
WX22	C	F1	F3
WX23	C	F1	F3
WX24	B	F3	F4
WX25	C	F3	F2
WX26	C	F3	F3
WX27	A	F3	F2
WX28	A	F3	F4
WX29	A	F3	F4
WX30	A	F2	F4
WX31	C	F2	F3
WX32	C	F2	F3
WX33	B	F1	F3

$A \leq 10 \text{ nM}$; $10 < B \leq 100 \text{ nM}$; $100 < C \leq 1000 \text{ nM}$; $1 \leq F1 \leq 5$; $5 < F2 \leq 10$; $10 < F3 \leq 25$; $25 < F4 \leq 100$

结论：本发明化合物针对 JAK2 的选择性优于 Tofacitinib。

权利要求

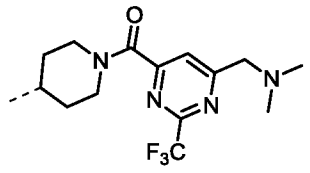
1. 式(I)化合物或其药学上可接受的盐,



(I)

其中,

R₁ 选自 H、或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的: C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 杂烷基、C₃₋₇ 环烷基、3~7 元杂环



烷基、5~6 元芳基、5~6 元杂芳基、

L₁、L₂ 分别独立地选自单键、-S(=O)₂-、-S(=O)-、-C(=O)-、-NHC(=O)-;

R₂ 选自: H、或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的: NH₂、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 杂烷基、C₃₋₇ 环烷基、3~7 元杂环烷基、5~6 元芳基、5~6 元杂芳基;

环 A 选自 5~6 元杂芳基;

X 分别独立地选自 N、C;

T 选自 N 或 C(R);

R 选自 H、卤素、NH₂、CN、OH、或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R' 取代的: C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 杂烷基、C₃₋₆ 环烷基、3~6 元杂环烷基、5~6 元芳基、5~6 元杂芳基;

R' 选自卤素、OH、CN、NH₂;

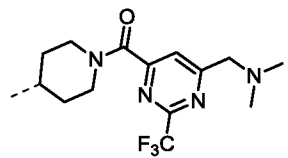
所述“杂”代表杂原子或杂原子团, 分别独立地选自 O、S、N、C(=O)、S(=O) 或 S(=O)₂;

杂原子或杂原子团的数目分别独立地选自 0、1、2、3 或 4。

2. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R 分别独立地选自 H、卤素、OH、NH₂、CN, 或选自任选被 1、2、3 或 4 个 R' 取代的 C₁₋₃ 烷基、C₁₋₃ 烷氧基、C₁₋₃ 烷胺基;

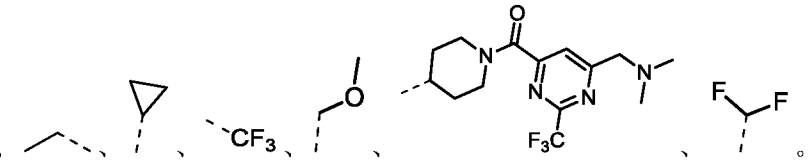
具体地, R 选自 H、F、Cl、Br、I、OH、CN、NH₂、Me、Et、N(CH₃)₂、NH(CH₃)。

3. 根据权利要求 1 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R₁ 选自 H, 或任选被 1、2、3 或 4 个 R 取代的 C₁₋₃ 烷基、C₃₋₆ 环烷基、C₃₋₆ 杂环烷基、C₁₋₃ 烷基-O-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₃ 烷基-S-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₃ 烷基

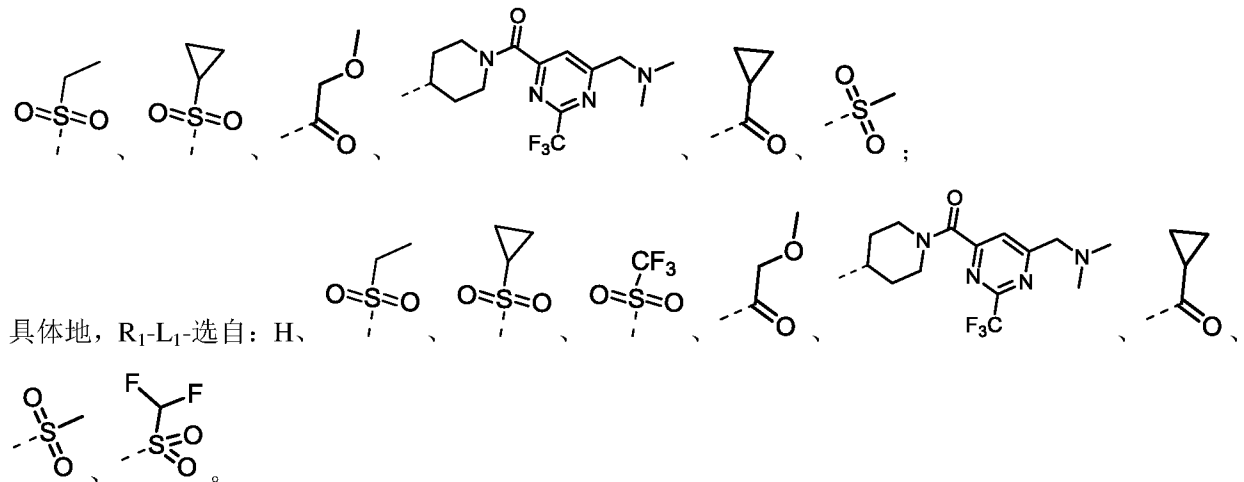


-NH-C₁₋₃ 烷基-、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 烷氨基、

具体地, R₁选自H, 或选自任选被1、2、3或4个R取代的Me、;

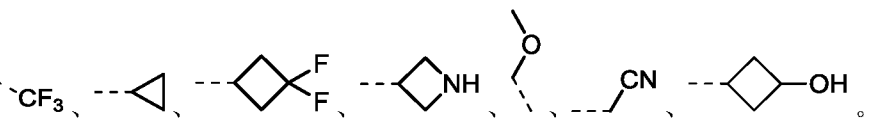
更具体地, R₁选自: H、Me、.

4. 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R₁-L₁-选自H, 或选自任选被R取代的:

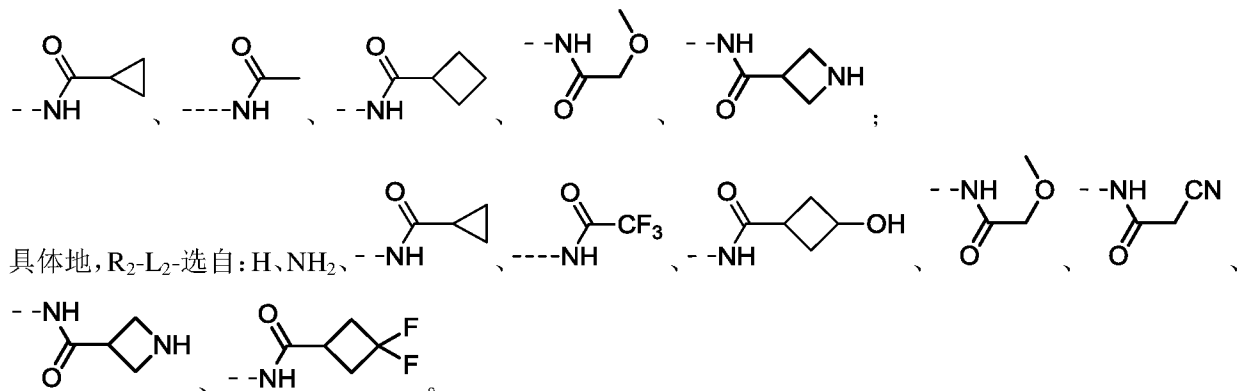
具体地, R₁-L₁-选自: H、.

5. 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R₂选自H、NH₂, 或任选被1、2、3或4个R取代的C₁₋₃烷基、C₃₋₆环烷基、3~6元杂环烷基、C₁₋₃烷基-O-C₁₋₃烷基-、C₁₋₃烷基-S-C₁₋₃烷基-、C₁₋₃烷基-NH-C₁₋₃烷基-、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆烷氨基;

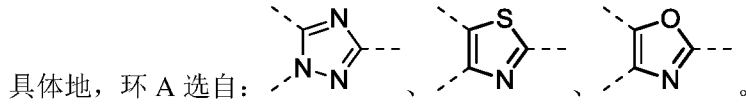
具体地, R₂选自H、NH₂, 或选自任选被R取代的: Me、.

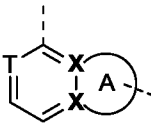
更具体地, R₂选自: H、NH₂、.

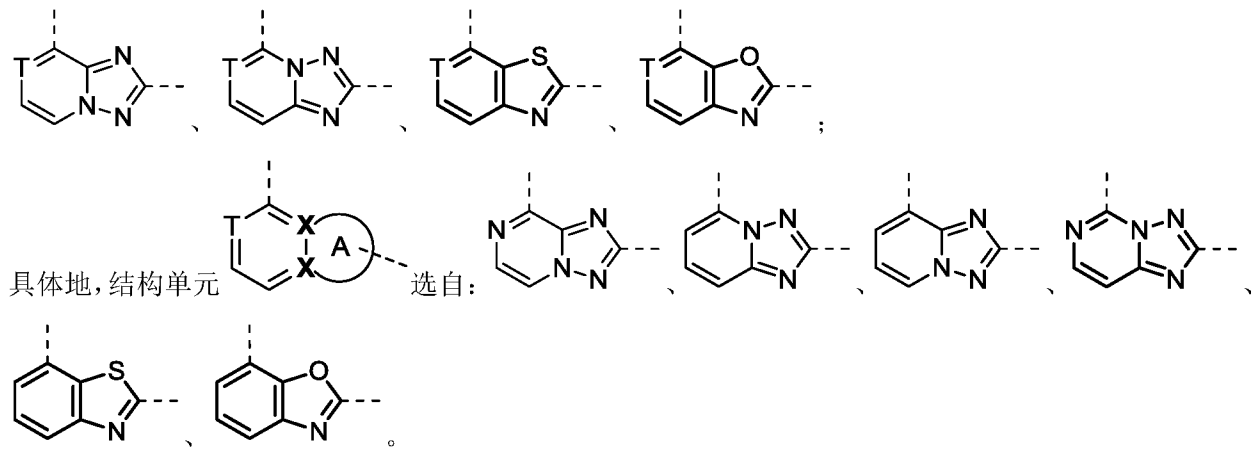
6. 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, R₂-L₂-选自H, 或任选被R'取代的: NH₂、

具体地, R₂-L₂-选自: H、NH₂、.

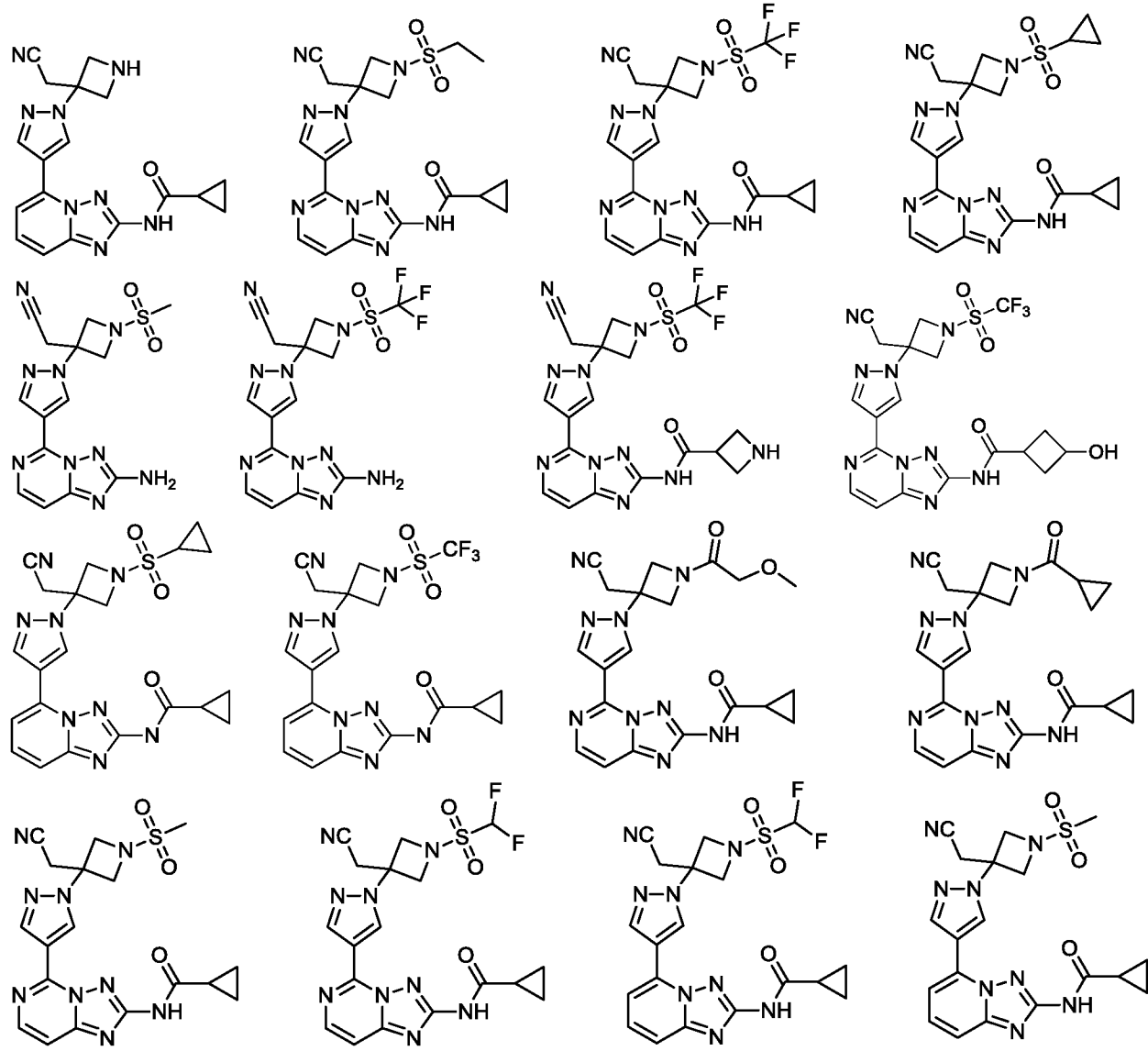
7. 根据权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 环A选自: 1,3,4-三氮唑基、咪唑基、恶唑基、噻唑基;

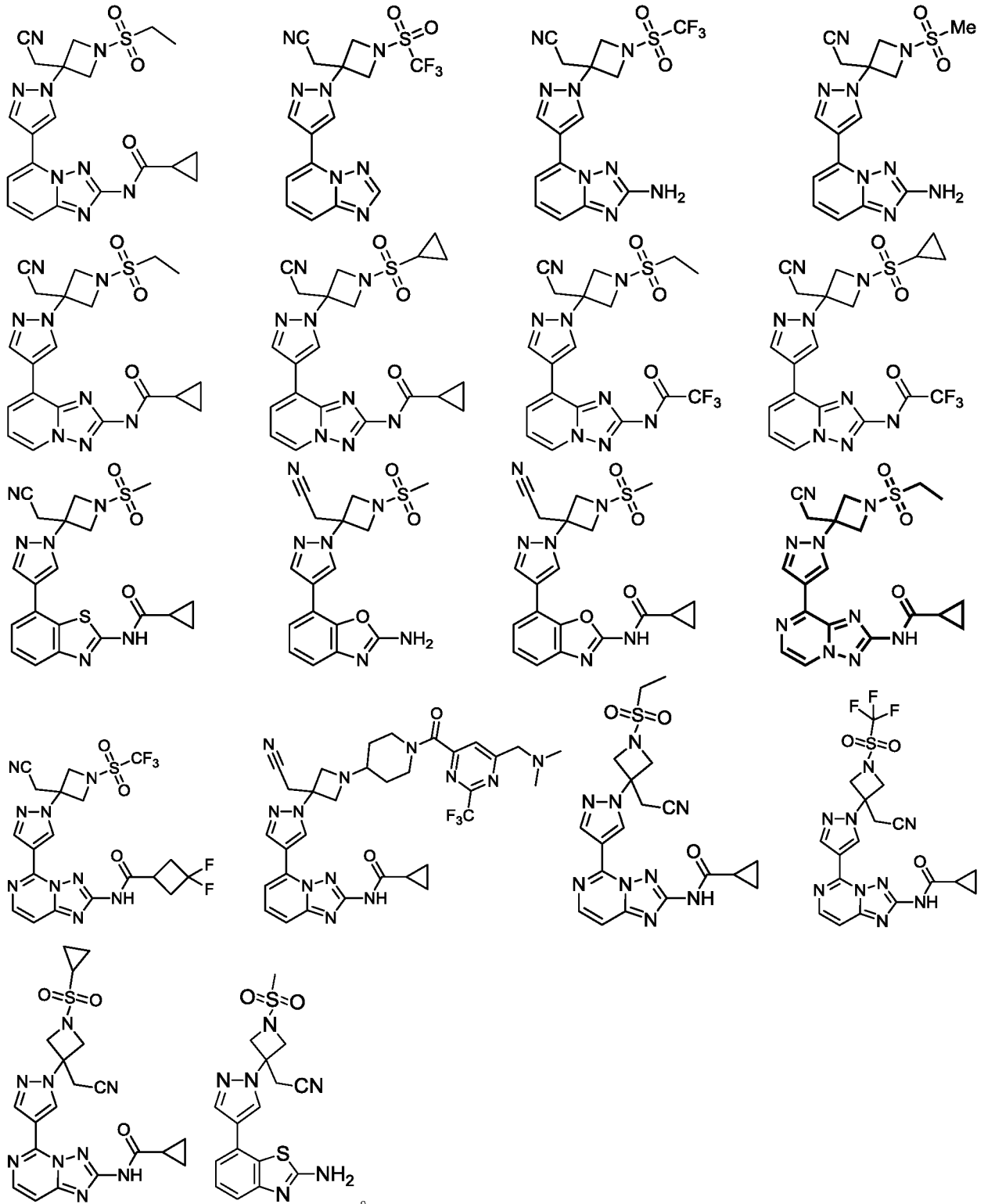


8. 根据权利要求 1 或 7 所述化合物或其药学上可接受的盐, 其中, 结构但单元  选自:



9. 根据权利要求 1 所述化合物, 其选自:





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/080208

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 471/04 (2006.01) i; C07D 487/04 (2006.01) i; C07D 417/14 (2006.01) i; C07D 413/14 (2006.01) i; A61K 31/437 (2006.01) n; A61K 31/519 (2006.01) n; A61K 31/428 (2006.01) n; A61K 31/423 (2006.01) n; A61K 31/4985 (2006.01) n; A61K 31/506 (2006.01) n; A61P 37/00 (2006.01) n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 471, C07D 487, C07D 417, C07D 413, A61K 31, A61P 37, A61P 35, A61P 19

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)

DWPI, CPRS, CNKI, REGISTRY, CAPLUS, pyrazol, azetidineacetonitrile, carrying out a structure search based on formula (I)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 102985424 A (ARRAY BIOPHARMA INC.), 20 March 2013 (20.03.2013), the whole document	1-9
A	CN 103987713 A (ARRAY BIOPHARMA INC.), 13 August 2014 (13.08.2014), the whole document	1-9

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search
26 May 2016 (26.05.2016)

Date of mailing of the international search report
30 June 2016 (30.06.2016)

Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer
LUO, Ling
Telephone No.: (86-10) **62086354**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2016/080208

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102985424 A	20 March 2013	US 2013131039 A1	23 May 2013
		AU 2011240808 B2	22 January 2015
		CL 2012002882 A1	08 February 2013
		SG 184870 A1	29 November 2012
		TW 201134827 A	16 October 2011
		AR 081075 A1	06 June 2012
		JP 2015205905 A	19 November 2015
		CO 6630187 A2	01 March 2013
		AU 2011240808 A1	29 November 2012
		RU 2012148246 A	20 May 2014
		EP 2558468 B1	01 April 2015
		WO 2011130146 A1	20 October 2011
		US 8962596 B2	24 February 2015
		CN 102985424 B	11 March 2015
		CR 20120572 A	20 February 2013
		CA 2796388 A1	20 October 2011
		JP 2013523884 A	17 June 2013
		UY 33328 A	31 October 2012
		NZ 603446 A	30 May 2014
		UA 109131 C2	27 July 2015
		KR 20130094710 A	26 August 2013
		EP 2558468 A1	20 February 2013
		MX 2012011941 A	27 August 2013
TW I494314 B	01 August 2015		
CN 103987713 A	13 August 2014	CA 2851623 A1	18 April 2013
		EP 2766368 A1	20 August 2014
		KR 20140076619 A	20 June 2014
		CO 6950483 A2	20 May 2014
		WO 2013055645 A1	18 April 2013
		US 2014228349 A1	14 August 2014
		IL 231903 D0	28 May 2014
		CR 20140216 A	21 August 2014
		MX 2014004473 A	14 April 2015
		AR 088304 A1	21 May 2014
		AU 2012323399 A1	29 May 2014
		SG 11201401342V A	26 September 2014
		TW 201326173 A	01 July 2013
		UY 34388 A	30 April 2014
		CL 2014000931 A1	29 August 2014
		RU 2014118954 A	20 November 2015
		JP 2014528475 A	27 October 2014

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07D 471/04(2006.01)i; C07D 487/04(2006.01)i; C07D 417/14(2006.01)i; C07D 413/14(2006.01)i; A61K 31/437(2006.01)n; A61K 31/519(2006.01)n; A61K 31/428(2006.01)n; A61K 31/423(2006.01)n; A61K 31/4985(2006.01)n; A61K 31/506(2006.01)n; A61P 37/00(2006.01)n</p> <p>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</p>											
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07D471, C07D487, C07D417, C07D413, A61K31, A61P37, A61P35, A61P19</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>DWPI, CPRS, CNKI, REGISTRY, CAPLUS, 吡唑, 氮杂环丁烷乙腈, pyrazol, azetidineacetonitrile, 基于式(I)进行结构检索</p>											
<p>C. 相关文件</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">类 型*</th> <th style="width: 70%;">引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th style="width: 20%;">相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>CN 102985424 A (阵列生物制药公司) 2013年 3月 20日 (2013 - 03 - 20) 全文</td> <td style="text-align: center;">1-9</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>CN 103987713 A (阵列生物制药公司) 2014年 8月 13日 (2014 - 08 - 13) 全文</td> <td style="text-align: center;">1-9</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 102985424 A (阵列生物制药公司) 2013年 3月 20日 (2013 - 03 - 20) 全文	1-9	A	CN 103987713 A (阵列生物制药公司) 2014年 8月 13日 (2014 - 08 - 13) 全文	1-9
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求									
A	CN 102985424 A (阵列生物制药公司) 2013年 3月 20日 (2013 - 03 - 20) 全文	1-9									
A	CN 103987713 A (阵列生物制药公司) 2014年 8月 13日 (2014 - 08 - 13) 全文	1-9									
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>											
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p> </td> </tr> </table>			<p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>							
<p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>										
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p style="text-align: center;">2016年 5月 26日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p style="text-align: center;">2016年 6月 30日</p>									
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p style="text-align: center;">中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p style="text-align: center;">罗玲</p> <p>电话号码 (86-10)62086354</p>									

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/080208

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	102985424	A	2013年 3月 20日	US	2013131039	A1	2013年 5月 23日
				AU	2011240808	B2	2015年 1月 22日
				CL	2012002882	A1	2013年 2月 8日
				SG	184870	A1	2012年 11月 29日
				TW	201134827	A	2011年 10月 16日
				AR	081075	A1	2012年 6月 6日
				JP	2015205905	A	2015年 11月 19日
				CO	6630187	A2	2013年 3月 1日
				AU	2011240808	A1	2012年 11月 29日
				RU	2012148246	A	2014年 5月 20日
				EP	2558468	B1	2015年 4月 1日
				WO	2011130146	A1	2011年 10月 20日
				US	8962596	B2	2015年 2月 24日
				CN	102985424	B	2015年 3月 11日
				CR	20120572	A	2013年 2月 20日
				CA	2796388	A1	2011年 10月 20日
				JP	2013523884	A	2013年 6月 17日
				UY	33328	A	2012年 10月 31日
				NZ	603446	A	2014年 5月 30日
				UA	109131	C2	2015年 7月 27日
				KR	20130094710	A	2013年 8月 26日
EP	2558468	A1	2013年 2月 20日				
MX	2012011941	A	2013年 8月 27日				
TW	1494314	B	2015年 8月 1日				
CN	103987713	A	2014年 8月 13日	CA	2851623	A1	2013年 4月 18日
				EP	2766368	A1	2014年 8月 20日
				KR	20140076619	A	2014年 6月 20日
				CO	6950483	A2	2014年 5月 20日
				WO	2013055645	A1	2013年 4月 18日
				US	2014228349	A1	2014年 8月 14日
				IL	231903	D0	2014年 5月 28日
				CR	20140216	A	2014年 8月 21日
				MX	2014004473	A	2015年 4月 14日
				AR	088304	A1	2014年 5月 21日
				AU	2012323399	A1	2014年 5月 29日
				SG	11201401342V	A	2014年 9月 26日
				TW	201326173	A	2013年 7月 1日
				UY	34388	A	2014年 4月 30日
				CL	2014000931	A1	2014年 8月 29日
				RU	2014118954	A	2015年 11月 20日
				JP	2014528475	A	2014年 10月 27日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)