

4-(3-磺酰基苯基)氨基-6-甲酰基吡咯并[2,3-d]嘧啶类化合物的设计、合成与生物活性

乔佳男, 王庭芳, 张 灿*

(中国药科大学新药研究中心, 江苏省代谢性疾病重点实验室, 南京 210009)

摘 要 以 JAK2 抑制剂 baricitinib 和 fedratinib 为先导化合物, 运用分子杂交药物设计原理, 设计并合成了 17 个以 4-(3-磺酰基苯基)氨基-6-甲酰基吡咯并[2,3-d]嘧啶(**3**)为母核、结构新颖的目标化合物, 并通过 JAK2 激酶和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)诱导的 TF-1 细胞对所合成的化合物进行了活性测试。结果显示, 多数化合物具有 JAK2 抑制活性, 其中化合物(**31**)表现出较好的 JAK2 激酶活性($IC_{50} = 0.009 \mu\text{mol/L}$)和 GM-CSF 诱导的 TF-1 细胞抑制活性($IC_{50} = 0.136 \mu\text{mol/L}$), 表明该化合物具有潜在的研发价值。

关键词 磺酰基; 吡咯并嘧啶; JAK2 抑制剂; 合成; 生物活性

中图分类号 R914.2 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)05-0554-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170508

引用本文 乔佳男, 王庭芳, 张灿. 4-(3-磺酰基苯基)氨基-6-甲酰基吡咯并[2,3-d]嘧啶类化合物的设计、合成与生物活性[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(5):554-562.

Cite this article as: QIAO Jianan, WANG Tingfang, ZHANG Can. Design, synthesis and bioactivities of 4-(3-sulfonylbenzene) amino-6-formylpyrrole[2,3-d] pyrimidine derivatives[J]. *J China Pharm Univ*, 2017, 48(5):554-562.

Design, synthesis and bioactivities of 4-(3-sulfonylbenzene) amino-6-formylpyrrole[2,3-d] pyrimidine derivatives

QIAO Jianan, WANG Tingfang, ZHANG Can*

Jiangsu Key Laboratory of Drug Discovery for Metabolic Diseases, Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Taking JAK2 inhibitor baricitinib and fedratinib as the lead compounds, to design the novel 4-(3-sulfonylbenzene) amino-6-formylpyrrole[2,3-d] pyrimidine JAK2 inhibitors nucleus using the molecular hybrid drug design principle. 17 target compounds were synthesized by derivatization of sulfonyl and formyl groups respectively. We used JAK2 kinase and GM-CSF-induced TF-1 cells to measure the activities of compounds. The results showed that most compounds had JAK2 inhibitory activities. Among them, compound **31** had excellent inhibitory activity on JAK2 kinase ($IC_{50} = 0.009 \mu\text{mol/L}$) and GM-CSF-induced TF-1 cells ($IC_{50} = 0.136 \mu\text{mol/L}$), which proved that the compound had potential research and development value.

Key words sulfonyl; pyrrolopyrimidine; JAK2 inhibitors; synthesis; bioactivity

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81503003)

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)是一种起源于骨髓造血干细胞的克隆性血液恶性疾病, 主要包括真性红细胞增多症(PV)、原

发性血小板增多症(ET)和原发性骨髓纤维化(PMF)^[1]。研究表明, 大约 80% MPNs 患者存在 JAK2 V617F 突变^[2]。JAK2 V617F 突变是指 JAK2

假激酶区 617 位缬氨酸(V)编码错误被替换为苯丙氨酸(F),使该区域蛋白无法维持正常折叠状态,引起 JAK2 的持续性激活和蛋白生长因子的超敏反应^[3]。

Janus kinase(JAK)是一种蛋白酪氨酸激酶,包括 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2。JAK2 在细胞因子信号传导的初始步骤中发挥关键作用,当细胞因子诱导受体二聚化时,JAK2 发生磷酸化而自身激活,催化受体上的酪氨酸残基发生磷酸化并形成信号传导及转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)结合区域。磷酸化的 STAT 转移至细胞核,与特定 DNA 序列结合而激活相应的基因转录和表达^{〔4-5〕}。研究人员发现了 JAK2 V617F 基因突变,并证实此突变可能与 MPNs 的发病密切相关,因此 JAK2 成为治疗 MPNs 疾病极具吸引力的药物靶点^[6]。

Fedratinib(**1**)是赛诺菲公司开发的一个高选择性 JAK2 抑制剂,其 JAK2 抑制活性($IC_{50}=0.003 \mu\text{mol/L}$)是 JAK1 活性的 35 倍、JAK3 活性的 334 倍,能够显著降低 JAK2 V617F 突变基因表达,从而改善 MPNs 临床症状,有效抑制 PV 患者造血祖细胞集落刺激因子和红细胞异常增生^[7]。但在临床试验中,fedratinib 存在一定安全性风险^[8],主要由其结构中 4-氨基嘧啶基团造成^[9]。

礼来公司研制的口服高选择性 JAK1/JAK2 抑制剂 baricitinib(**2**)的 III 期临床研究数据显示,baricitinib 对中度至重度活动性类风湿性关节炎的治疗效果显著^[10]。目前,已向美国 FDA 提交了新药申请^[11]。

本研究通过分子杂交药物设计原理,以高选

择性 JAK2 抑制剂 fedratinib 和选择性 JAK2 抑制剂 baricitinib 为先导,将 fedratinib 侧链结构与 baricitinib 中吡咯并嘧啶结构拼合,设计并合成了 17 个以 4-(3-磺酰基苯基)氨基-6-甲酰基吡咯并[2,3-d]嘧啶(**3**)为母核、结构新颖的目标化合物,期望具有良好的 JAK2 抑制活性,如图 1。

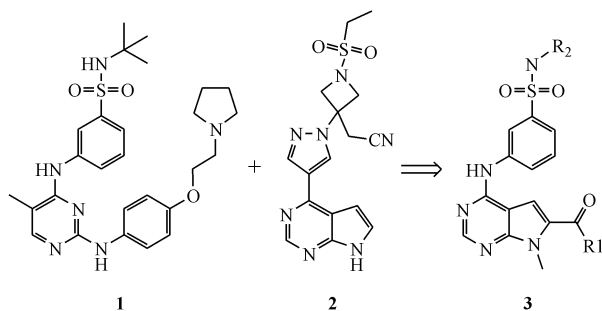
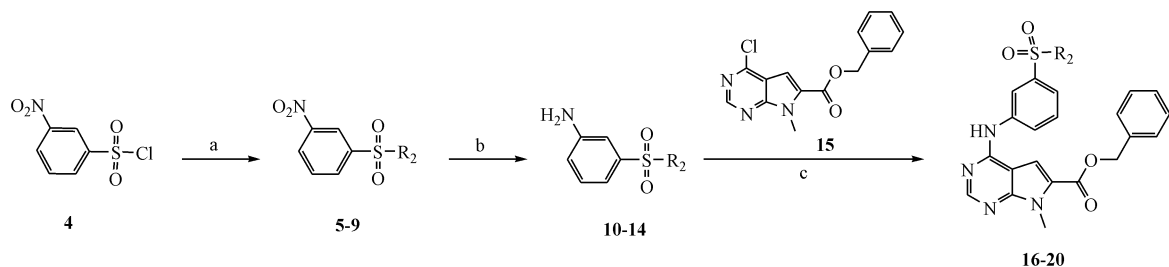


Figure 1 Design strategy for 4-(3-sulfonylbenzene) amino-6-formylpyrrole[2,3-d] pyrimidine

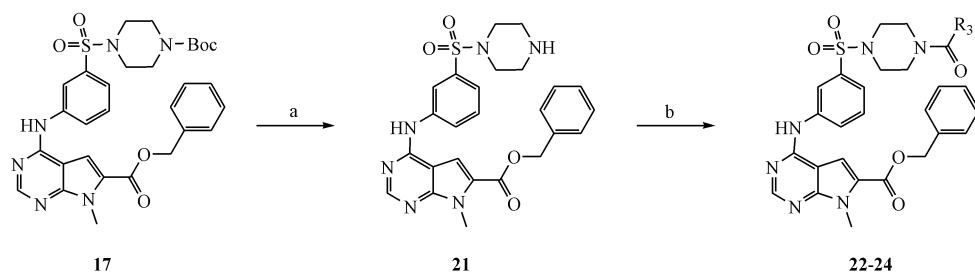
1 合成路线

目标化合物 **16~20** 的合成见路线 1。首先以间硝基苯磺酰氯(**4**)为起始原料酰胺化制得化合物(**5~9**),经还原制得(**10~14**),通过 S_NAr 反应制得化合物(**16~20**)。化合物 **15** 参考课题组前期报道方法^[12]合成。目标化合物 **21~24** 的合成见路线 2,化合物 **17** 脱去 Boc 基团得化合物 **21**,酰胺化制得到化合物 **22~24**。化合物 **25~33** 的合成见路线 3,化合物 **16~20** 分别脱苄基得 **16a~20a**,通过缩合反应合成 **25~33**。化合物结构见表 1。

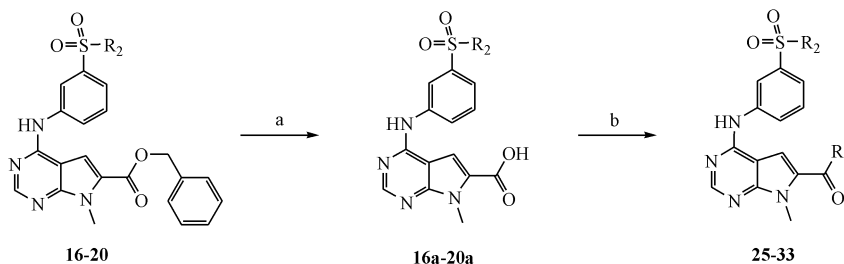


Scheme 1 Synthetic route of the target compounds **16-20**

Reagents and conditions: (a) $H-R_2$, CH_2Cl_2 , 2 h, 74% -95%; (b) H_2 , Pd/C, Ethyl acetate, 2 h, 98% -99%; (c) **15**, Isopropanol, reflux, 5 h, 95% -99%

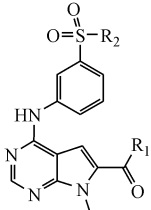
**Scheme 2** Synthetic route of the target compounds **21-24**

Reagents and conditions: (a) CF_3COOH , CH_2Cl_2 , 2 h, 94%; (b) R_3COCl , THF, 2 h, 88%–93%

**Scheme 3** Synthetic route of the target compounds **25-33**

Reagents and conditions: (a) H_2 , Pd/C, Methanol, overnight, 81%–96%; (b) $\text{R}_1\text{-H}$, EDCI, HOBT, DIPEA, CH_2Cl_2 , overnight, 46%–79%

Table 1 Chemical structures of compounds **16, 18-33**

					
Compd.	R_1	R_2	Compd.	R_1	R_2
16			26		
18			27		
19			28		
20			29		
21			30		
22			31		
23			32		
24			33		
25					

2 实验部分

2.1 材料

核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司,TMS 为内标);1260-6230 TOF LC-MS 高分辨质谱仪(美国 Agilent 公司);Infinite M1000 PRO 多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司)。

TF-1 细胞株(中国科学院上海细胞库);四甲基偶氮唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司);Tofacitinib(自制,纯度大于99%);所用化学试剂均为市售分析纯产品。

2.2 化学合成

4-(3-硝基苯基)磺酰基吗啉(**5**) 将化合物**4**(1.0 g, 4.51 mmol)溶于无水二氯甲烷 20 mL,将体系置于 0 °C 下,缓慢滴加吗啉(1.97 mL,22.56 mmol),滴加完毕升至室温反应 2 h。反应完全后,加水 20 mL,二氯甲烷萃取(20 mL × 2),饱和食盐水 20 mL 洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩得粗品,经柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,4:1)纯化,得到白色固体(1.16 g,94%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:8.60(1H,s,Ar-H),8.53~8.45(1H,d,J=8.2 Hz,Ar-H),8.12~8.05(1H,d,J=7.8 Hz,Ar-H),7.80(1H,t,J=8.0 Hz,Ar-H),3.77(4H,t,J=4.7 Hz,CH₂),3.07(4H,t,J=4.7 Hz,CH₂)。

N-Boc-*N'*-(3-硝基苯基)磺酰基哌嗪(**6**) 制备方法同化合物**5**,将吗啉换成 *N*-Boc-哌嗪,得到白色固体(2.48 g,74%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:8.60(1H,s,Ar-H),8.53~8.45(1H,d,J=8.2 Hz,Ar-H),8.12~8.05(1H,d,J=7.8 Hz,Ar-H),7.80(1H,t,J=8.0 Hz,Ar-H),3.54(4H,t,J=5.1 Hz,CH₂),3.04(4H,t,J=5.0 Hz,CH₂),1.41(9H,s,CH₃)。

(3-硝基苯基)磺酰基-哌啶(**7**) 制备方法同化合物**5**,将吗啉换成哌啶,得到白色固体(1.02 g,84%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:8.59(1H,s,Ar-H),8.48~8.41(1H,d,J=8.3 Hz,Ar-H),8.12~8.05(1H,d,J=7.7 Hz,Ar-H),7.75(1H,t,J=8.0 Hz,Ar-H),3.07(4H,t,J=5.4 Hz,CH₂),1.67(4H,m,CH₂),1.47(2H,m,CH₂)。

N-苯基-3-硝基-苯磺酰胺(**8**) 制备方法同化合物**5**,将吗啉换成苯胺,得到白色固体(1.12g,88%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:8.63(1H,s,Ar-H),8.44~8.37(1H,d,J=8.7 Hz,Ar-H),8.08~8.01(1H,d,J=7.9 Hz,Ar-H),7.66(1H,t,J=8.0 Hz,Ar-H),7.33~7.27(2H,m,Ar-H),7.22~7.15(1H,m,Ar-H),7.12~7.06(2H,m,Ar-H)。

N,N-二乙基-3-硝基-苯磺酰胺(**9**) 制备方法同化合物**5**,将吗啉换成二乙胺,得到白色固体(1.11g,95%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:8.65(1H,s,Ar-H),8.44~8.37(1H,d,J=8.6 Hz,Ar-H),8.18~8.11(1H,d,J=7.9

Hz,Ar-H),7.73(1H,t,J=8.0 Hz,Ar-H),3.36~3.25(4H,q,J=7.1 Hz,CH₂),1.17(6H,t,J=7.2 Hz,CH₃)。

3-(4-吗啉基磺酰基)-苯胺(**10**) 将化合物**5**(1.0 g, 4.04 mmol)溶解于乙酸乙酯,加入钯碳催化剂(10%,0.1 g),反应体系通入足量氢气,室温反应 2 h。反应结束后过滤除去钯碳,将滤液减压浓缩,得到白色固体(0.88 g,99%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:7.31(1H,t,J=7.9 Hz,Ar-H),7.12~7.07(1H,d,J=7.7 Hz,Ar-H),7.04(1H,s,Ar-H),6.93~6.87(1H,d,J=8.4 Hz,Ar-H),3.74(4H,t,J=4.6 Hz,CH₂),3.00(4H,t,J=4.7 Hz,CH₂)。

3-(*N*-Boc-*N'*-哌嗪基磺酰基)-苯胺(**11**) 制备方法同化合物**10**,原料替换为化合物**6**,得到白色固体(0.90 g,98%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:7.31(1H,t,J=7.9 Hz,Ar-H),7.13~7.08(1H,d,J=7.8 Hz,Ar-H),7.05(1H,s,Ar-H),6.94~6.88(1H,d,J=8.1 Hz,Ar-H),3.51(4H,t,J=4.8 Hz,CH₂),2.98(4H,t,J=4.7 Hz,CH₂),1.41(9H,s,CH₃)。

3-哌啶基磺酰基-苯胺(**12**) 制备方法同化合物**10**,原料替换为化合物**7**,得到白色固体(0.87 g,98%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:7.29(1H,t,J=7.8 Hz,Ar-H),7.14~7.08(1H,d,J=7.7 Hz,Ar-H),7.06(1H,s,Ar-H),6.91~6.85(1H,d,J=8.0 Hz,Ar-H),2.98(4H,t,J=5.5 Hz,CH₂),1.69~1.58(4H,m,CH₂),1.47~1.36(2H,m,CH₂)。

N-苯基-3-氨基-苯磺酰胺(**13**) 制备方法同化合物**10**,原料替换为化合物**8**,得到白色固体(0.88 g,99%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:7.25~7.19(2H,d,J=7.8 Hz,Ar-H),7.19~7.13(1H,m,Ar-H),7.12(1H,s,Ar-H),7.10~7.06(2H,m,Ar-H),7.05(1H,s,Ar-H),6.82~6.76(1H,d,J=7.4 Hz,Ar-H),6.52(1H,s,Ar-H)。

N,N-二乙基-3-氨基-苯磺酰胺(**14**) 制备方法同化合物**10**,原料替换为化合物**9**,得到白色固体(0.86 g,98%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:7.26(1H,m,Ar-H),7.20~7.15(1H,d,J=8.3 Hz,Ar-H),7.14(1H,s,Ar-H),6.89~6.82(1H,d,J=8.0 Hz,Ar-H),3.28~3.18(4H,q,J=7.2 Hz,CH₂),1.13(6H,t,J=7.2 Hz,CH₃)。

4-(3-(4-吗啉基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**16**) 将化合物**15**(200 mg, 0.66 mmol)、化合物**10**(159 mg,0.66 mmol)溶解于异丙醇 10 mL,氮气保护,90 °C 下回流反应 5 h。待反应结束,减压浓缩除去溶剂,经柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,4:1)纯化,得白色固体(330 mg,99%):¹H NMR(300 MHz,CDCl₃) δ:8.54(1H,s,Ar-H),8.20~8.14(1H,d,J=8.0 Hz,Ar-H),8.11(1H,s,Ar-H),7.57(1H,t,J=7.9 Hz,Ar-H),7.51~7.35(5H,m,Ar-H),7.41(1H,s,Ar-H),7.28(1H,s,Ar-H),5.37(2H,s,CH₂),4.12(3H,s,CH₃),3.71(4H,t,J=4.7 Hz,CH₂),3.04(4H,t,J=4.6 Hz,CH₂)。¹³C NMR(125 MHz,

CDCl_3) δ : 160.86, 154.60, 153.83, 152.48, 139.84, 135.98, 135.62, 130.86, 129.83, 128.82, 128.69, 128.47, 128.26, 126.33, 125.10, 122.42, 119.69, 106.03, 103.44, 66.68, 66.06, 65.54, 46.06, 30.57。HRMS for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}[\text{M} - \text{H}]^-$; Calcd. 506.1504; Found 506.1475。

4-(3-(*N*-Boc-*N'*-喉啶基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**17**) 制备方法同化合物**16**,将化合物**10**替换为化合物**11**,得到白色固体(398 mg, 99%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (1H, s, Ar-H), 8.17 ~ 8.10 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 8.08 (1H, s, Ar-H), 7.56 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 7.52 ~ 7.36 (5H, m, Ar-H), 7.41 (1H, s, Ar-H), 7.23 (1H, s, Ar-H), 5.36 (2H, s, CH_2), 4.12 (3H, s, CH_3), 3.49 (4H, t, $J = 4.4$ Hz, CH_2), 3.01 (4H, t, $J = 4.2$ Hz, CH_2), 1.40 (9H, s, CH_3)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 160.90, 154.65, 154.11, 153.85, 152.42, 140.04, 136.09, 135.60, 129.78, 128.63, 128.41, 128.22, 126.19, 125.06, 122.03, 119.35, 106.27, 103.54, 80.44, 66.61, 45.88, 30.81, 28.38, 28.26。HRMS for $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_6\text{SNa}[\text{M} + \text{Na}]^+$; Calcd. 629.2153; Found 629.2153。

4-(3-喉啶磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**18**) 制备方法同化合物**16**,将化合物**10**替换为化合物**12**,得到白色固体(331 mg, 99%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.55 (1H, s, Ar-H), 8.28 ~ 8.21 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 8.02 (1H, s, Ar-H), 7.56 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 7.51 ~ 7.34 (5H, m, Ar-H), 7.41 (1H, s, Ar-H), 7.32 (1H, s, Ar-H), 5.37 (2H, s, CH_2), 4.12 (3H, s, CH_3), 3.02 (4H, t, $J = 5.4$ Hz, CH_2), 1.66 ~ 1.55 (4H, m, CH_2), 1.45 ~ 1.35 (2H, m, CH_2)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 160.97, 154.79, 153.82, 152.41, 139.87, 136.79, 135.69, 129.59, 128.59, 128.47, 128.32, 128.18, 126.11, 124.85, 122.08, 119.44, 106.59, 103.56, 66.55, 46.97, 30.77, 25.08, 23.37。HRMS for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4\text{SNa}[\text{M} + \text{Na}]^+$; Calcd. 528.1687; Found 528.1688。

4-(3-苯胺基磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**19**) 制备方法同化合物**16**,将化合物**10**替换为化合物**13**,得到白色固体(335 mg, 99%)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ : 10.29 (1H, s, NH), 10.05 (1H, s, NH), 8.48 (1H, s, Ar-H), 8.46 (1H, s, Ar-H), 8.18 ~ 8.10 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, Ar-H), 7.77 (1H, s, Ar-H), 7.56 ~ 7.50 (2H, m, Ar-H), 7.50 ~ 7.34 (5H, m, Ar-H), 7.23 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, Ar-H), 7.17 ~ 7.08 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, Ar-H), 7.01 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, Ar-H), 5.37 (2H, s, CH_2), 4.01 (3H, s, CH_3)。 ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1) δ : 159.98, 151.60, 150.26, 147.26, 140.78, 136.67, 135.00, 129.90, 128.87, 128.42, 128.26, 127.82, 127.35, 124.94, 122.10, 121.76, 109.35, 101.73, 66.73, 31.17。HRMS for

$\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_4\text{SNa}[\text{M} + \text{Na}]^+$; Calcd. 536.1363; Found 536.1372。

4-(3-(*N,N*-二乙胺基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**20**) 制备方法同化合物**16**,将化合物**10**替换为化合物**14**,得到白色固体(308 mg, 95%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.39 (1H, s, Ar-H), 7.92 (1H, s, Ar-H), 7.89 ~ 7.82 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, Ar-H), 7.73 ~ 7.56 (2H, m, Ar-H), 7.45 ~ 7.29 (5H, m, Ar-H), 6.43 (1H, s, Ar-H), 5.29 (2H, s, CH_2), 4.11 (3H, s, CH_3), 3.30 ~ 3.17 (4H, q, $J = 7.1$ Hz, CH_2), 1.14 (6H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_3)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 160.97, 154.79, 153.82, 152.41, 139.87, 136.79, 135.69, 129.59, 128.59, 128.47, 128.32, 128.18, 126.11, 124.85, 122.08, 119.44, 106.59, 103.56, 66.55, 46.97, 30.77, 25.08, 23.37。HRMS for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4\text{SNa}[\text{M} + \text{Na}]^+$; Calcd. 516.1676; Found 516.1695。

4-(3-(*N*-喉啶基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**21**) 将化合物**17**(125 mg, 0.21 mmol)溶解于二氯甲烷中,加入三氟乙酸(0.5 mL, 6.73 mmol),室温搅拌2 h,反应结束后加水20 mL,二氯甲烷萃取(20 mL \times 2),饱和食盐水20 mL洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩得粗品,经柱色谱(二氯甲烷-甲醇,40:1)纯化,得白色固体(98 mg, 94%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.55 (1H, s, Ar-H), 8.26 ~ 8.18 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Ar-H), 8.08 (1H, s, Ar-H), 7.53 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 7.47 (1H, s, Ar-H), 7.45 ~ 7.31 (5H, m, Ar-H), 7.40 (1H, s, Ar-H), 5.37 (2H, s, CH_2), 4.11 (3H, s, CH_3), 3.02 (4H, t, $J = 4.7$ Hz, CH_2), 2.88 (4H, t, $J = 4.6$ Hz, CH_2)。 ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1) δ : 161.02, 154.92, 153.82, 152.08, 140.16, 135.80, 135.51, 129.50, 128.54, 128.33, 128.03, 125.80, 125.01, 121.86, 119.38, 107.14, 103.64, 66.55, 46.26, 44.70, 30.65。HRMS for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4\text{SNa}[\text{M} + \text{Na}]^+$; Calcd. 529.1628; Found 529.1634。

4-(3-(*N*-(3-氯-丙酰基)-*N'*-喉啶基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯(**22**) 将化合物**21**(50 mg, 0.09 mmol)溶解于无水四氢呋喃5 mL,将体系置于0 $^{\circ}\text{C}$ 下,加入3-氯丙酰氯(12 mg, 0.09 mmol),升至室温反应2 h。反应结束后减压浓缩除去溶剂得粗品。经柱色谱(二氯甲烷-甲醇,100:1)纯化,得到白色固体(52 mg, 92%)。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.48 (1H, s, Ar-H), 8.11 ~ 8.06 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 8.04 (1H, s, Ar-H), 7.54 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 7.50 ~ 7.45 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Ar-H), 7.43 ~ 7.32 (5H, m, Ar-H), 7.16 (1H, s, Ar-H), 5.33 (2H, s, CH_2), 4.09 (3H, s, CH_3), 3.73 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2), 3.66 (2H, s, CH_2), 3.50 (2H, s, CH_2), 3.06 (2H, s, CH_2), 3.01 (2H, s, CH_2), 2.70 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2)。

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 168.23, 160.61, 154.20, 152.18, 139.50, 136.35, 135.47, 130.13, 128.71, 128.51, 128.17, 126.59, 126.34, 123.08, 120.53, 107.13, 102.93, 66.78, 46.10, 45.82, 39.56, 35.85, 31.03。HRMS for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{ClN}_6\text{O}_5\text{S} [\text{M} - \text{H}]^-$: Calcd. 619.150 1; Found 5 619.152 1。

4-(3-(*N*-丙烯酰基-*N'*-呋喃基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯 (**23**) 制备方法同化合物 **22**, 将 3-氯丙酰氯换成丙烯酰氯, 得白色固体 (49 mg, 93%)。 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (1H, s, Ar-H), 8.28 ~ 8.20 (1H, d, J = 8.2 Hz, Ar-H), 8.07 (1H, s, Ar-H), 7.52 (1H, t, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.45 (1H, s, Ar-H), 7.44 ~ 7.30 (5H, m, Ar-H), 7.40 (1H, s, Ar-H), 5.35 (2H, s, CH_2), 4.10 (3H, s, CH_3), 3.72 (2H, t, J = 6.0 Hz, CH_2), 3.66 (2H, s, CH_2), 3.48 (2H, s, CH_2), 3.09 ~ 2.93 (4H, m, CH_2), 2.68 (1H, t, J = 6.2 Hz, CH)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 168.18, 160.80, 154.47, 153.45, 152.40, 139.93, 136.07, 135.57, 129.97, 128.71, 128.51, 128.26, 126.38, 125.44, 122.31, 119.61, 106.34, 103.39, 66.73, 46.11, 45.85, 30.91。HRMS for $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_5\text{S} [\text{M} - \text{H}]^-$: Calcd. 559.176 9; Found 559.173 5。

4-(3-(*N*-(3-甲基-2-丁烯酰基)-*N'*-呋喃基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-羧酸苄酯 (**24**) 制备方法同化合物 **22**, 将 3-氯丙酰氯换成 3-甲基-2-丁烯酰氯, 得到白色固体 (49 mg, 88%)。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.52 (1H, s, Ar-H), 8.08 (1H, s, Ar-H), 8.06 ~ 8.01 (1H, d, J = 7.7 Hz, Ar-H), 7.56 (1H, t, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.54 ~ 7.50 (1H, d, J = 7.6 Hz, Ar-H), 7.45 ~ 7.34 (5H, m, Ar-H), 7.11 (1H, s, Ar-H), 5.67 (1H, s, CH), 5.35 (2H, s, CH_2), 4.12 (3H, s, CH_3), 3.71 (2H, s, CH_2), 3.57 (2H, s, CH_2), 3.05 (4H, s, CH_2), 1.82 (3H, s, CH_3), 1.79 (3H, s, CH_3)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 167.02, 160.58, 154.02, 152.17, 147.86, 139.18, 136.76, 135.48, 130.16, 128.75, 128.57, 128.27, 126.83, 126.14, 123.35, 120.63, 116.99, 106.62, 102.84, 66.84, 46.34, 45.64, 31.04, 26.17, 20.26。HRMS for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_5\text{SNa} [\text{M} + \text{Na}]^+$: Calcd. 611.204 7; Found 611.202 4。

N-(*N*,*N*-二甲基胺乙基)-4-(3-呋喃基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**25**) 将化合物 **18** (150 mg, 0.30 mmol) 溶解于无水甲醇, 加入钯碳催化剂 (10%, 15 mg), 反应体系通入足量氢气, 室温反应过夜。反应结束后抽滤除去钯碳, 滤液减压浓缩, 得化合物 **18a** 白色固体 (109 mg, 87%)。直接投入下一步反应。将化合物 **18a** (100 mg, 0.24 mmol) 溶解于无水二氯甲烷 10 mL, 将体系置于 0 $^\circ\text{C}$ 下, 加入 EDCI (92 mg, 0.48 mmol)、HOBT (65 mg, 0.48 mmol)、DIPEA (62 mg, 0.48 mmol), 0 $^\circ\text{C}$

下搅拌 30 min, 加入 *N*,*N*-二甲基乙二胺 (42 mg, 0.48 mmol), 升至室温搅拌过夜。反应结束后, 减压浓缩除去溶剂得粗品。经柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 20:1) 纯化, 得到白色固体 (74 mg, 63%)。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.43 (1H, s, Ar-H), 8.24 ~ 8.18 (1H, d, J = 7.6 Hz, Ar-H), 8.03 (1H, s, Ar-H), 7.84 (1H, s, Ar-H), 7.38 (1H, t, J = 7.9 Hz, Ar-H), 7.30 ~ 7.27 (1H, d, J = 8.0 Hz, Ar-H), 3.90 (3H, s, CH_3), 3.77 ~ 3.71 (2H, m, CH_2), 3.29 (2H, t, J = 5.0 Hz, CH_2), 2.91 (4H, t, J = 5.1 Hz, CH_2), 2.86 (6H, s, CH_3), 1.58 ~ 1.52 (4H, m, CH_2), 1.36-1.30 (2H, m, CH_2)。 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3 - CD_3OD , 5:1) δ : 162.47, 154.58, 152.97, 151.66, 140.33, 135.98, 129.15, 128.43, 124.35, 121.15, 119.15, 103.57, 102.71, 58.21, 46.92, 43.80, 34.79, 34.68, 30.47, 29.51, 25.05, 23.29。HRMS for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{O}_3\text{S} [\text{M} + \text{H}]^+$: Calcd. 486.228 2; Found 486.229 8。

N-(*N*,*N*-二乙基胺乙基)-4-(3-呋喃基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**26**) 制备方法同化合物 **25**, 将 *N*,*N*-二甲基乙二胺换成 *N*,*N*-二乙基乙二胺, 得白色固体 (75 mg, 61%)。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 ~ 8.51 (1H, d, J = 8.0 Hz,), 8.51 (1H, s, Ar-H), 8.06 (1H, s, Ar-H), 7.57 (1H, s, Ar-H), 7.49 (1H, t, J = 8.0 Hz, Ar-H), 7.41 ~ 7.36 (1H, d, J = 7.7 Hz, Ar-H), 4.04 (3H, s, CH_3), 3.70 ~ 3.64 (2H, m, CH_2), 3.05-2.97 (6H, m, CH_2), 2.97 ~ 2.89 (4H, q, J = 7.2 Hz, CH_2), 1.61 ~ 1.54 (4H, m, CH_2), 1.41 ~ 1.34 (2H, m, CH_2), 1.23 (6H, t, J = 7.2 Hz, CH_3)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 162.28, 154.38, 152.89, 151.87, 140.76, 135.51, 129.50, 129.40, 124.25, 120.72, 118.46, 103.72, 102.09, 52.17, 47.21, 47.04, 36.07, 30.52, 25.02, 23.24, 10.10。HRMS for $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_7\text{O}_3\text{S} [\text{M} + \text{H}]^+$: Calcd. 514.259 5; Found 514.261 6。

N-(3-(4-吗啉基)-丙基)-4-(3-呋喃基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**27**) 制备方法同化合物 **25**, 将 *N*,*N*-二甲基乙二胺换成 *N*-胺丙基吗啉, 得白色固体 (84 mg, 65%)。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 9.02 ~ 8.95 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ar-H), 8.58 (1H, s, Ar-H), 7.93 (1H, s, Ar-H), 7.61 (1H, t, J = 8.0 Hz, Ar-H), 7.44 ~ 7.41 (1H, d, J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.32 (1H, s, Ar-H), 4.14 (3H, s, CH_3), 3.74 (4H, t, J = 4.6 Hz, CH_2), 3.58-3.52 (2H, q, J = 6.4 Hz, CH_2), 3.03 (4H, t, J = 5.3 Hz, CH_2), 2.60 ~ 2.51 (6H, m, CH_2), 1.96 ~ 1.89 (2H, m, CH_2), 1.57 ~ 1.51 (4H, m, CH_2), 1.41 ~ 1.35 (2H, m, CH_2)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 161.71, 154.31, 152.89, 152.04, 141.47, 135.13, 130.20, 130.13, 124.42, 120.39, 117.67, 103.77, 100.63, 66.92, 56.78, 53.70, 47.16, 38.30, 30.73, 26.23, 24.94, 23.12。HRMS for $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_7\text{O}_4\text{S} [\text{M} + \text{H}]^+$: Calcd. 542.254 4; Found 542.255 7。

N-(哌嗪基乙基)-4-(3-哌啶基磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**28**) 制备方法同化合物 **25**, 将 *N,N*-二甲基乙二胺换成 *N*-胺乙基哌嗪, 得白色固体 (67 mg, 46%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.88 ~ 8.81 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 8.53 (1H, s, Ar-H), 7.99 (1H, s, Ar-H), 7.56 ~ 7.50 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Ar-H), 7.42 ~ 7.37 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 7.31 (1H, s, Ar-H), 4.11 (3H, s, CH₃), 3.79 (4H, s, CH₂), 3.66 ~ 3.56 (2H, m, CH₂), 2.98 (4H, s, CH₂), 2.71 (2H, m, CH₂), 2.60 (4H, m, CH₂), 1.52 (4H, m, CH₂), 1.40 ~ 1.30 (2H, m, CH₂)。¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 161.95, 154.28, 152.95, 151.99, 140.94, 136.15, 130.01, 129.81, 124.87, 121.44, 119.03, 103.58, 100.94, 56.77, 52.98, 46.99, 36.54, 30.67, 25.00, 24.91。HRMS for C₂₅H₃₅N₈O₃S [M + H]⁺: Calcd. 527.256 4; Found 527.257 7。

N-(*N,N*-二乙基胺乙基)-4-(3-哌啶基磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**29**) 制备方法同化合物 **25**, 将 *N,N*-二甲基乙二胺换成 *N,N*-二乙基丙二胺, 得到白色固体 (77 mg, 61%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.48 (1H, s, Ar-H), 8.47 ~ 8.41 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 8.25 (1H, s, Ar-H), 7.70 (1H, s, Ar-H), 7.45 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, Ar-H), 7.40 ~ 7.34 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 4.01 (3H, s, CH₃), 3.55 ~ 3.43 (2H, m, CH₂), 3.16 ~ 3.04 (6H, m, CH₂), 3.01 (4H, s, CH₂), 2.15 ~ 2.02 (2H, m, CH₂), 1.64 ~ 1.54 (4H, m, CH₂), 1.44 ~ 1.35 (2H, m, CH₂), 1.28 (6H, t, *J* = 6.4 Hz, CH₃)。¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 162.58, 154.53, 152.98, 151.93, 140.76, 136.05, 129.30, 129.05, 124.44, 121.05, 119.02, 103.71, 102.53, 49.69, 47.02, 46.33, 36.20, 30.51, 29.60, 25.09, 24.00, 23.35。HRMS for C₂₆H₃₈N₇O₃S [M + H]⁺: Calcd. 528.275 1; Found 528.276 7。

N-(*N,N*-二甲基胺乙基)-4-(3-二乙胺基磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**30**) 将化合物 **20** (150 mg, 0.30 mmol) 溶解于无水甲醇, 加入钯碳催化剂 (10%, 15 mg), 反应体系通入足量氢气, 室温反应过夜。反应结束后抽滤除去钯碳, 滤液减压浓缩, 得化合物 **20a** 白色固体 (105 mg, 87%)。直接投入下一步反应。制备方法同化合物 **25**, 将化合物 **19a** 换成化合物 **20a**, 得白色固体 (92 mg, 79%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.74 ~ 8.70 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, Ar-H), 8.55 (1H, s, Ar-H), 8.08 (1H, s, Ar-H), 7.55 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, Ar-H), 7.51 ~ 7.47 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H), 7.29 (1H, s, Ar-H), 4.16 (3H, s, CH₃), 3.63 ~ 3.57 (2H, q, *J* = 6.0 Hz, CH₂), 3.30 ~ 3.27 (4H, q, *J* = 7.2 Hz, CH₂), 2.67 (2H, t, *J* = 6.3 Hz, CH₂), 2.38 (6H, s, CH₃), 1.10 (6H, t, *J* = 7.1 Hz, CH₃)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 161.82, 154.35, 152.88, 152.00,

141.16, 139.46, 130.06, 129.95, 124.06, 120.07, 117.65, 103.68, 100.85, 58.23, 45.28, 42.38, 37.25, 30.68, 14.06。HRMS for C₂₂H₃₂N₇O₃S [M + H]⁺: Calcd. 474.228 2; Found 474.230 2。

N-(3-(4-吗啉基)-丙基)-4-(3-二乙胺基磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**31**) 制备方法同化合物 **30**, 将 *N,N*-二甲基乙二胺换成 *N*-胺丙基吗啉, 得白色固体 (100 mg, 76%)。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.84 ~ 8.79 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, Ar-H), 8.57 (1H, s, Ar-H), 8.03 (1H, s, Ar-H), 7.58 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 7.51 ~ 7.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 7.24 (1H, s, Ar-H), 4.14 (3H, s, CH₃), 3.73 (4H, t, *J* = 4.6 Hz, CH₂), 3.58 ~ 3.52 (2H, q, *J* = 6.4 Hz, CH₂), 3.29 ~ 3.22 (4H, q, *J* = 7.2 Hz, CH₂), 2.58 ~ 2.50 (6H, m, CH₂), 1.94 ~ 1.87 (2H, m, CH₂), 1.09 (6H, t, *J* = 7.2 Hz, CH₃)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 161.70, 154.31, 152.90, 152.06, 141.42, 139.13, 130.28, 130.16, 124.11, 119.87, 117.31, 103.72, 100.52, 66.96, 56.83, 53.71, 42.49, 38.38, 30.74, 26.19, 14.07。HRMS for C₂₅H₃₆N₇O₄S [M + H]⁺: Calcd. 530.254 4; Found 530.256 8。

N-(3-(4-吗啉基)-丙基)-4-(3-苯胺基磺酰基-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**32**) 将化合物 **19** (154 mg, 0.30 mmol) 溶解于无水甲醇, 加入钯碳催化剂 (10%, 15 mg), 反应体系通入足量氢气, 室温反应过夜。反应结束后抽滤除去钯碳, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **19a** 白色固体 (121 mg, 96%)。直接投入下一步反应。制备方法同化合物 **27**, 将化合物 **18a** 换成化合物 **19a**, 得到白色固体 (100 mg, 76%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃-CD₃OD, 4:1) δ: 8.39 (1H, s, Ar-H), 8.28 (1H, s, Ar-H), 8.04 ~ 7.95 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, Ar-H), 7.50 ~ 7.38 (2H, m, Ar-H), 7.25 ~ 7.18 (2H, m, Ar-H), 7.17 ~ 7.11 (2H, m, Ar-H), 7.11 ~ 7.01 (2H, m, Ar-H), 4.02 (3H, s, CH₃), 3.74 (4H, t, *J* = 4.3 Hz, CH₂), 3.46 (2H, t, *J* = 6.7 Hz, CH₂), 2.58 ~ 2.47 (6H, m, CH₂), 1.93 ~ 1.79 (2H, m, CH₂)。¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃-CD₃OD, 2:1) δ: 163.10, 155.36, 153.26, 152.20, 140.80, 140.71, 137.89, 130.99, 129.92, 129.62, 125.46, 125.40, 122.10, 121.96, 119.78, 104.16, 101.82, 67.16, 57.09, 54.09, 38.53, 30.85, 26.35。HRMS for C₂₇H₃₁N₇O₄SNa [M + Na]⁺: Calcd. 572.205 0; Found 572.204 2。

N-(2-哌嗪基乙基)-4-(3-(4-吗啉基磺酰基)-苯胺基)-7-甲基-7*H*-吡咯并[2,3-*d*]嘧啶-6-甲酰胺 (**33**) 将化合物 **16** (150 mg, 0.20 mmol) 溶解于无水甲醇, 加入钯碳催化剂 (10%, 15 mg), 反应体系通入足量氢气, 室温反应过夜。反应结束后抽滤除去钯碳, 滤液减压浓缩, 得到化合物 **16a** 白色固体 (91 mg, 90%)。直接投入下一步反应。

制备方法同化合物 **28**,将化合物 **18a** 换成化合物 **16a**,得到白色固体(72 mg,57%)。¹H NMR(300 MHz,CDCl₃)δ: 8.63~8.56(1H,d,J=8.0 Hz,Ar-H),8.53(1H,s,Ar-H),8.06(1H,s,Ar-H),7.57~7.52(1H,m,Ar-H),7.42~7.38(1H,d,J=8.0 Hz,Ar-H),7.16(1H,s,Ar-H),4.10(3H,s,CH₃),3.73(4H,s,CH₂),3.68~3.64(2H,m,CH₂),3.63~3.54(6H,m,CH₂),3.00(4H,s,CH₂),2.66(2H,m,CH₂),2.55(4H,m,CH₂)。 ¹³C NMR(75 MHz,CDCl₃)δ:161.96,154.24,153.08,152.21,140.77,135.39,130.14,129.92,125.27,121.82,119.40,103.42,100.68,65.95,56.54,52.89,46.08,36.34,30.72,30.01。HRMS for C₂₄H₃₃N₈O₄S [M+H]⁺;Calcd.529.235 4;Found 529.236 7。

2.3 生物活性测试

参照 Z'-Lyte kit 说明书及相关文献^[13],利用 Z'-LYTETM激酶试剂盒测试化合物体外 JAK2 激酶抑制活性。基于文献报道,采用 JAK2 依赖的人红系白血病细胞 TF-1 测试所合成的化合物对 JAK2 的抑制活性^[14]。具体方法为通过 GM-CSF 诱导激活 TF-1 细胞的 JAK2-STAT5 通路,然后采用 Anti Human Mouse phospho STAT5 PE 抗体来测定磷酸化 STAT5 水平,从而间接反映出化合物的 JAK2 抑制活性。试验中均以 FDA 批准的 JAK 抑制剂托法替尼(tofacitinib,JAK2 IC₅₀=4.1 nmol/L)^[15]作为阳性对照,测试结果见表 2。

Table 2 Biological activities of compounds 16,18-33

Compd.	IC ₅₀ /(μmol/L) ^a	
	JAK2	TF1-GMCSF
16	0.697	5.72
18	0.715	7.59
19	>1 000	>50
20	0.465	3.57
21	0.724	1.92
22	>1 000	>50
23	>1 000	41.5
24	0.916	25.4
25	0.103	1.91
26	0.091	1.47
27	0.064	0.973
28	0.075	1.19
29	0.113	2.04
30	0.016	0.253
31	0.009	0.136
32	>1 000	>50
33	0.031	0.821
Tofacitinib	0.005	0.097

^aAssays done in replicates (n≥3). Mean values are shown and the standard deviations are <30% of the mean

3 结果与讨论

生物活性结果显示,tofacitinib 的 JAK2 激酶抑制活性(IC₅₀=0.005 μmol/L)、CM-CSF 诱导的 TF-1 细胞的 JAK2 抑制活性(IC₅₀=0.097 μmol/L)与文献报道结果相当;大部分化合物在激酶和细胞水平中均表现出一定的活性,其中化合物 **31** 表现出较好的 JAK2 抑制活性,激酶与细胞水平的 IC₅₀分别为 0.009 和 0.136 μmol/L。初步构效关系总结如下:R₁ 为酰胺取代的化合物的活性优于酯类取代,推断酰胺键 NH 可能与 JAK2 蛋白中 Leu-855 残基形成氢键;并且 R₁ 末端为六元环的吗啉和哌嗪取代的化合物活性优于二甲氨基、二乙氨基等非环取代的化合物,推测吗啉、哌嗪 4 位的氧、氮与 JAK2 蛋白中 Asn-859 形成氢键的能力较强;R₂ 通过疏水作用与甘氨酸富集区 P-loop 相互作用,当 R₂ 取代基为二乙氨基时化合物的活性较好,而引入苯胺以及位阻较大的取代哌嗪会导致化合物活性下降甚至丧失。

4 结 论

本研究设计并合成了 17 个结构新颖的 4-(3-磺酰基苯)氨基-6-甲酰基吡咯并[2,3-d]嘧啶类化合物,并进行了 JAK2 激酶和细胞水平的生物活性测试,化合物 **31** 具有较好的 JAK2 抑制活性。在此基础上初步总结了构效关系,为后续该类 JAK2 抑制剂的研究提供基础。

参 考 文 献

[1] Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms[J]. *Blood*,2014,**123**(14):2220-2228.

[2] Lundberg P,Takizawa H,Kubovcakova L,et al. Myeloproliferative neoplasms can be initiated from a single hematopoietic stem cell expressing JAK2-V617F[J]. *J Exp Med*,2014,**211**(11):2213-2230.

[3] Levine RL. Another piece of the myeloproliferative neoplasms puzzle[J]. *N Engl J Med*,2013,**369**(25):2451-2452.

[4] Stark GR,Darnell JE Jr. The JAK-STAT pathway at twenty[J]. *Immunity*,2012,**36**(4):503-514.

[5] Aaronson DS,Horvath CM. A road map for those who don't know JAK-STAT[J]. *Science*,2002,**296**(5573):1653-1655.

[6] Levine RL. Another piece of the myeloproliferative neoplasms puzzle[J]. *N Engl J Med*,2013,**369**(25):2451-2452.

- [7] Wernig G, Kharas MG, Okabe R, *et al.* Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera[J]. *Cancer Cell*, 2008, **13**(4): 311–320.
- [8] Williams R. Discontinued in 2013: oncology drugs[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2015, **24**(1): 95–110.
- [9] Zhang Q, Zhang Y, Diamond S, *et al.* The Janus kinase 2 inhibitor fedratinib inhibits thiamine uptake; a putative mechanism for the onset of Wernicke's encephalopathy[J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, **42**(10): 1656–1662.
- [10] Genovese MC, Kremer J, Zamani O, *et al.* Baricitinib in patients with refractory rheumatoid arthritis[J]. *N Engl J Med*, 2016, **374**(13): 1243–1252.
- [11] Schumock GT, Li EC, Suda KJ, *et al.* National trends in prescription drug expenditures and projections for 2014[J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2014, **71**(6): 482–499.
- [12] Wang T, Liu X, Hao M, *et al.* Design, synthesis and evaluation of pyrrolo[2,3-d] pyrimidine-phenylamide hybrids as potent Janus kinase 2 inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, **26**(12): 2936–2941.
- [13] Ning CQ, Lu C, Hu L, *et al.* Macrocyclic compounds as anti-cancer agents: design and synthesis of multi-acting inhibitors against HDAC, FLT3 and JAK2[J]. *Eur J Med Chem*, 2015, **95**: 104–115.
- [14] Hanan EJ, van Abbema A, Barrett K, *et al.* Discovery of potent and selective pyrazolopyrimidine Janus kinase 2 inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(22): 10090–10107.
- [15] Changelian PS, Flanagan ME, Ball DJ, *et al.* Prevention of organ allograft rejection by a specific Janus kinase 3 inhibitor[J]. *Science*, 2003, **302**(5646): 875–878.

· 校园信息 ·

中国药科大学 2017 年国家自然科学基金项目实现新突破

近日,国家自然科学基金委公布了 2017 年度国家自然科学基金项目评审结果。中国药科大学申报的 311 项各类项目中共有 106 个项目获得立项资助,立项数比 2016 年增加 30 项,增长 39.47%;立项直接经费达 6 180.42 万,比 2016 年增加 3 253.27 万,增长 111.14%;中标率达 34.08%,远高于全国 21.5% 的平均水平,位居江苏省各主要高校首位。立项总数、大项目立项数、资助金额等均创我校历史新高,其中立项数首次突破 100 项,资助金额首次突破 6 000 万,大项目共立项 7 项,国家重大科研仪器研制项目首次获得立项,立项经费超过 800 万。

为做好 2017 年国家自然科学基金项目申报工作,学校科技处与各个院部通力配合,以调动科研人员申报积极性和提高基金命中率为着眼点,以强化项目申报指导为抓手,充分发挥广大教师主体作用,多措并举做好项目申报工作。早筹划广动员,针对不同院部、不同学科存在的问题提出具体解决方案;加强项目预评审,开展了多场次项目预评审会,邀请校内外知名专家对相关项目评审指导;推进基金培育和引导工作常态化、精细化、规范化,充分发挥中央高校基本科研业务费对国家自然科学基金项目的培育和引导作用,今年立项的国家自然科学基金项目中,有 66 项曾得到中央高校基本科研业务费的资助,占比达 62.26%。

(科学技术处)