

JAK抑制剂Peficitinib的合成及工艺研究

刘 珊, 陈新渊, 张子昂

华北理工大学药学院, 河北 唐山

收稿日期: 2022年3月9日; 录用日期: 2022年3月21日; 发布日期: 2022年5月12日

摘 要

Peficitinib是由日本安斯泰来公司研发上市的一种新型JAK1 (Janus激酶)和JAK3抑制剂, 主要治疗对甲氨蝶呤反应不充分的中重度类风湿性关节炎(RA)。目前Peficitinib的合成路线报道较少, 本文首先设计出了完整的合成路线, 然后对各步反应进行了研究和优化。以7-氮杂吡啶为起始原料, 经过卤代, 取代(上保护), 酯化, 脱保护, 酯水解, 酰胺化, 再取代七步反应得到目标化合物。利用提供催化剂或改变其他反应条件如溶剂、温度、反应物摩尔比等, 成功得到一个路线合理、产率高、时间短、操作简单的Peficitinib合成工艺, 使Peficitinib的合成可以达到工业化生产。目标化合物及中间体的结构经核磁共振氢谱确证, 路线总产率为32.8%。

关键词

JAK抑制剂, Peficitinib, 类风湿性关节炎, 工业化生产

Study on Synthesis and Optimization of Synthesis Technology of JAK Inhibitor Peficitinib

Shan Liu, Xinyuan Chen, Zi'ang Zhang

School of Pharmacy, North China University of Science and Technology, Tangshan Hebei

Received: Mar. 9th, 2022; accepted: Mar. 21st, 2022; published: May 12th, 2022

Abstract

Peficitinib is a novel Janus kinase 1 and Janus kinase 3 inhibitor developed by Astellas, a Japanese company. Peficitinib mainly treats the moderate or severe rheumatoid arthritis with in-

adequate response to methotrexate. At present, there are very few papers on the synthesis route of Peficitinib. In this paper, a complete synthesis route is designed, and then each step of the reaction is studied and optimized. Starting from 7-azindole, the target compound was obtained through seven steps including halogenation, substitution (upper protection), esterification, deprotection, ester hydrolysis, amidation and then substitution. By providing catalyst or changing other reaction conditions such as solvent, temperature and molar ratio of reactants, a reasonable route, high yield, short time and simple operation of Peficitinib synthesis process was successfully obtained, and the synthesis of Peficitinib can reach industrial production. The structures of the target compounds and intermediates were confirmed by ^1H NMR, and the total yield of the route was 32.8%.

Keywords

JAK Inhibitor, Peficitinib, Rheumatoid Arthritis, Industrial Production

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

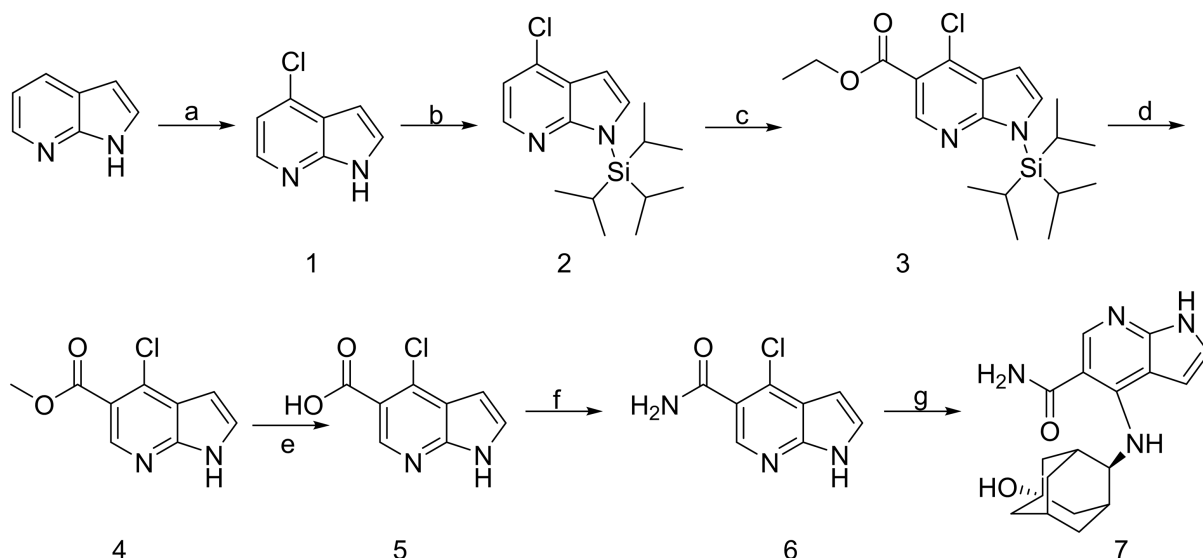
RA 是最常见的慢性炎症性自身免疫性疾病之一，它以滑膜组织为目标导致进行性关节残疾，而自身免疫疾病是由于机体的自身抗原发生免疫反应攻击自身组织而导致的疾病[1]。目前，治疗类风湿性关节炎的药物主要分为三大类，第一类非甾体抗炎药物(NSAIDs)，主要针对关节疼痛、肿胀等症状起到迅速缓解的作用，有水杨酸类如阿司匹林；吲哚类如消炎痛；丙酸类如布洛芬；灭酸类如氟灭酸；昔康类如吡罗昔康；吡唑酮类如保泰松；昔布类如塞来昔布七小类药物。第二类为甾体抗炎药(SAIDs，如地塞米松)，同样对关节疼痛、肿胀和发烧有迅速而显著的疗效。第三类为免疫抑制剂(DMARDs)药物，如甲氨蝶呤(MTX)，能够改善类风湿关节炎病情的药物是治疗类风湿性关节炎的基础。几种已获批准的免疫抑制剂包括肿瘤坏死因子拮抗剂、T 细胞共刺激阻断和白细胞介素(IL)-6 受体拮抗剂已被证明对常规药物治疗反应不佳的患者有效[2]。然而，很多人的消化道对甲氨蝶呤的耐受性低，胃肠道反应较大，制约了较高剂量 MTX 的使用[3]。因此，我们仍对具有改善疗效的口服小分子有显著未满足的需求。

Janus 激酶(JAKs)是一类非受体酪氨酸激酶家族[4]，被认为是治疗自身免疫性疾病(包括类风湿性关节炎)的有前途的靶点，因为它们在多种细胞因子受体信号通路中起重要作用[5]。前几年已经开发了几种 JAK 抑制剂用于治疗对甲氨蝶呤反应不充分的 RA 病人尤其是中重度患者，如托法替尼、巴瑞替尼[6] [7]。而在 2019 年日本安斯泰来公司研发上市了一种新型选择性 JAK1, JAK3 抑制剂 Peficitinib [8]。其主环是具有良好药理生理活性的氮杂吲哚[9]，由于 Peficitinib 是新型药物，其合成方法报道较少，参考已报道的相关文献[10] [11]，本文设计了一个完整的合成路线如图 1 所示。

2. 实验部分

2.1. 主要仪器与试剂

本实验所用实验设备和分析仪器如表 1 所示。



试剂和条件: (a) 间氯过氧苯甲酸(m-CPBA), 石油醚:乙酸乙酯 = 1:2, rt, 2 h; (b) POCl₃, DMF, 73 °C, 2 h; (c) NaH, TIPSCl, DMAP, DCM, 0 °C~5 °C, 1 h~1 h; (d) 氯甲酸乙酯, 仲丁基锂, THF, -78 °C, 1 h~0.5 h; (e) TBAF, THF, RT, 1 h; (f) 1 M 氢氧化钠, 乙醇, 60 °C, 1.5 h; (g) CDI, 28% 氢氧化铵, DMF, 1 h~1 h; (h) 反式 4-氨基-1-羟基金刚烷, 三乙胺, NMP, 200 °C, 2.5 h

Figure 1. The synthetic route of Peficitinib

图 1. Peficitinib 的合成路线

Table 1. Experimental equipment and analytical instruments

表 1. 实验设备和分析仪器

仪器名称	型号	生产厂家
核磁共振仪	ARX-400	Bruker 公司(德国)
质谱仪	Agilent1100LC/MSD	Agilent 公司(美国)
加热磁力搅拌器	RCT	IKA (德国)
低温冷却液循环泵	DLSB-5L/10	巩义市予华仪器有限责任公司(中国)
循环水真空泵	SHZ-DIII	巩义市予华仪器有限责任公司(中国)
旋转蒸发器	RV8	IKA (德国)
高效液相色谱仪	LC-2050	岛津企业管理有限公司(中国)

本实验所用实验试剂如表 2 所示。

Table 2. Laboratory reagents

表 2. 实验试剂

药品名称	含量	来源
7-氮杂吲哚	96%	安耐吉试剂有限公司
间氯过氧苯甲酸	75%	安耐吉试剂有限公司
三氯氧磷	86%	上海邦成化工有限公司
氢化钠	60%	西亚化学科技(山东)有限公司

Continued

三异丙基氯硅烷	95%	河南华文化工有限公司
氯甲酸乙酯	95%	西亚化学科技(山东)有限公司
四丁基氟化铵	1N	河南华文化工有限公司
羰基二咪唑	95%	嘉兴市艾森化工有限公司
仲丁基锂	1.3N	成都化夏化学试剂有限公司
4-羟基-1-金刚烷胺	95%	河南华文化工有限公司

2.2. 实验方法

2.2.1. 化合物 1 的合成

4-氯-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(1): 使用 500 ml 圆底烧瓶, 将 12.0 g (0.102 mol) 1H-吡咯[2,3-b]吡啶加入 1:2 (80 ml:160 ml)的石油醚和乙酸乙酯溶剂中, 再将 35.0 g (0.204 mol) m-CPBA 少量多次加入反应瓶中, 室温反应 2 h, 反应过程中白色固体析出, 40℃烘干, 将此固体放入 250 ml 圆底烧瓶, 加入除水 DMF (N,N-二甲基甲酰胺), 将温度升高到 50℃, 再加入 28.38 ml POCl₃ (三氯氧磷), 再将温度升高到 73℃, 在此温度下反应 2 h。将反应体系温度降到 40℃后, 加冰水稀释反应液, 用饱和氢氧化钠溶液将 PH 调至中性, 抽滤, 用水洗滤饼, 烘干得到化合物 1。黄棕色固体, 产率 79.4%。¹H NMR (CDCl₃-d, 500 MHz), δ : 6.65~6.60 (m, 1H), 7.14 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.23 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 11.27 (s, 1H), MS (ESI) m/z : 153 [M+H]⁺。

2.2.2. 化合物 2 的合成

4-氯-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(2): 使用 250 ml 圆底烧瓶, 将 11.6 g (0.076 mol) 化合物 1, 催化剂 1.8 g (0.014 mol) DMAP (4-二甲氨基吡啶)加入 186 ml DCM (二氯甲烷)中, 使反应体系温度降到 0℃, 再将 6.2 g (0.258 mol) 氯化钠加入反应液中, 在此温度下, 反应一小时, 然后将 19.4 ml (0.096 mol) TIPSCl (三异丙基氯硅烷)加到反应体系中反应一小时。随后用酸水洗, 盐水洗, 用无水硫酸镁干燥, 减压蒸馏除去溶剂, 在零下 20℃下白色晶体缓慢析出。白色晶体, 产率为 97.8%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃-d), δ : 1.11 (d, J = 7.5 Hz, 18H), 1.85 (hept, J = 7.5 Hz, 3H), 6.65 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 5.1 Hz, 1H), MS (ESI) m/z : 309 [M+H]⁺。

2.2.3. 化合物 3 的合成

4-氯-5-甲酸乙酯-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(3): 参考文献[7]的合成方法, 使用 500 ml 三口瓶, 23 g (0.075 mol) 化合物 2, 14.25 ml (0.15 mol) 氯甲酸乙酯, 114.75 ml (0.15 mol) 1.3 M 仲丁基锂, 230 ml 无水 THF, 文献中后处理先用乙酸乙酯稀释 THF, 再用饱和氯化铵溶液, 步骤繁琐, 浪费溶剂, 可以先低温减压蒸馏除去 THF(四氢呋喃), 再使用乙酸乙酯萃取, 且对产物无影响。淡黄色固体, 产率为 80.8%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃-d) δ : 1.11 (d, J = 7.4 Hz, 18H), 1.43 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.43 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.91 - 1.81 (m, 3H), 1.91 - 1.81 (m, 3H), 4.43 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 6.77 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 8.81 (s, 1H), MS (ESI) m/z : 381 (M+H)⁺。

2.2.4. 化合物 4 的合成

4-氯-5-甲酸乙酯-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(4): 参考文献[7]的合成方法, 后处理的优化如化合物 3 的后处理。粉色固体, 产率为 98.9%。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃-d) δ : 1.46 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 4.47 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 6.75 (dd, J = 3.5, 1.7 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.47 (dd, J = 3.5, 2.0 Hz, 1H), 8.90 (s, 1H), 11.71 (s, 1H), MS (ESI) m/z : 223 (M-H)⁺。

2.2.5. 化合物 5 的合成

4-氯-5-甲酸-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(5): 参考文献[7]的合成方法, 使用 250 ml 圆底烧瓶, 5.3 g (0.024 mol) 化合物 4, 70.7 ml (0.071 mol) 1 M 氢氧化钠溶液, 42.4 ml 乙醇。粉色固体, 产率为 98.9%。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ : 6.65 (dd, J = 3.5, 1.9 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 3.0 Hz, 1H), 8.73 (s, 1H), 12.34 (s, 1H), 13.24 (s, 1H), MS(ESI) m/z : 195 (M-H)⁺。

2.2.6. 化合物 6 的合成

4-氯-5-甲酰胺-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(6): 参考文献[8]的合成方法, 4.95 g (0.025 mol) 化合物 5, 4.52 g (0.028 mol) CDI (羰基二咪唑), 5.5 ml (0.09 mol) 28% 氨水, 39.6 ml DMF, 后处理为在冰浴搅拌条件下加入乙酸乙酯, 化合物 6 析出, 抽滤干燥。产率为 97.6%, 白色固体。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ : 6.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 11.79 (s, 1H), MS(ESI) m/z : 218 (M+Na)⁺。

2.2.7. 化合物 7 的合成

4-[(反-5-羟基-2-金刚烷)氨基]-5-甲酰胺-1H-吡咯[2,3-b]吡啶(7): 参考文献[6]的合成方法, 将剧毒的三正丁胺换成三乙胺, 7.8 g (0.040 mol) 化合物 6, 10 g (0.060 mol) 反式-4-氨基-1-金刚烷醇, 22 ml (0.160 mol) 三乙胺, 37.5 ml NMP (N-甲基吡咯烷酮), 后处理为在冰浴搅拌条件下, 逐滴加水使固体析出, 抽滤得到粗产物, 用甲醇重结晶得到淡黄色晶体。产率为 78.6%, 淡黄色晶体。¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ : 1.42 (d, J = 12.7 Hz, 2H), 1.73 – 1.63 (m, 4H), 1.85 (d, J = 12.2 Hz, 4H), 2.05 (t, J = 3.4 Hz, 1H), 2.15 (d, J = 4.0 Hz, 2H), 4.14 (dt, J = 6.8, 2.9 Hz, 1H), 4.51 (s, 1H), 6.41 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.99 (br, 1H), 7.14 (dd, J = 3.6, 1.6 Hz, 1H), 7.79 (br, 1H), 8.38 (s, 1H), 10.10 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 11.46 (s, 1H), MS(ESI) m/z : 327 (M+H)⁺。

3. 结果与讨论

本文主要针对化合物 1, 化合物 2 以及化合物 7 的合成方法及反应条件改进且优化。

3.1. 化合物 1 的合成方法及反应条件

原文献中化合物 1 的中间体合成所用溶剂为正庚烷和乙二醇二甲醚, 由于乙二醇二甲醚易燃, 遇明火、高热容易引起爆炸, 在光照或空气条件下生成易爆炸的过氧化物, 且具有环境危害性, 所以对溶剂的选用进行了讨论, 本文选用了正庚烷和乙二醇二甲醚, 正庚烷和四氢呋喃, 正庚烷和 DMF 以及石油醚和乙酸乙酯, 如表 3。

Table 3. The effect of different solvent on the reaction 1

表 3. 溶剂对反应 1 的影响

序号	溶剂	反应时间/h	产率/%
1	正庚烷和乙二醇二甲醚	2	95
2	正庚烷和四氢呋喃	6	88
3	正庚烷和 DMF	6	20
4	石油醚和乙酸乙酯	2	98

由表中可知, 石油醚和乙酸乙酯作溶剂与原文献中正庚烷和乙二醇二甲醚作溶剂效果相当, 虽然正庚烷和四氢呋喃也可行, 但反应时间过长, 况且石油醚和乙酸乙酯价低易得, 所以选用石油醚和乙酸乙酯作溶剂。

原文献中化合物 1 的合成是由三氯氧磷既作反应物又作为反应溶剂反应的, 然而三氯氧磷极易挥发, 有强烈的刺激气味。暴露在空气中, 冒出白烟, 为磷酸和氯化氢, 具有强腐蚀性。所以选用 DMF 为溶剂, 减少三氯氧磷的用量。且原反应时间为 18 h, 时间过长, 此反应中途不好监测, 则本文考察了反应物的摩尔比和反应时间。如表 4。

Table 4. The effect of different ratio and time on the reaction 1

表 4. 摩尔比和反应时间对反应 1 的影响

序号	摩尔比	反应时间/h	产率/%
1	1:3	2	88
2	1:3	4	88
3	1:3	6	87
4	1:3	10	80
5	1:4	2	88
6	1:5	2	88
7	1:6	2	87

由表中可知, 4-氯-1H-吡咯[2,3-b]吡啶 1 的合成, 最佳摩尔比为 1:3, 最佳反应时间为 2~4 h。

3.2. 化合物 2 的合成方法及反应条件

参考原文献方法难以用于量大的合成, 所以从反应物的摩尔比, 反应溶剂和催化剂的使用四个方面来考察。如表 5。

Table 5. The effect of reaction conditions on the reaction 2

表 5. 反应条件对反应 2 的影响

序号	NaH 的摩尔比	TIPSCI 的摩尔比	溶剂	催化剂	产率/%
1	1:1.2	1:1	DCM	DMAP	60
2	1:1.5	1:1	DCM	DMAP	63
3	1:2	1:1	DCM	DMAP	70
4	1:3	1:1	DCM	DMAP	78
5	1:3.5	1:1	DCM	DMAP	77.5
6	1:3	1:1	DCM	-	40
7	1:3	1:1	DMF	-	69
8	1:3	1:1.2	DCM	DMAP	88
9	1:3	1:1.3	DCM	DMAP	97.8
10	1:3	1:1.4	DCM	DMAP	89

由表中可知, 4-氯-1-三异丙基硅烷基-1H-吡咯[2,3-b]吡啶 2 的合成, 最佳摩尔比为 1:3 (NaH):1.3 (TIPSCI), 最佳反应溶剂为 DCM(二氯甲烷), 添加催化剂 DMAP。

3.3. 化合物 7 的合成方法及反应条件

由于原文献使用的三正丁胺为剧毒所以考察缚酸剂的选择与用量如表 6。

Table 6. The effect of reaction conditions on the reaction 7

表 6. 反应条件对反应 7 的影响

序号	缚酸剂	摩尔比	产率/%
1	三乙胺	1:2	40
2	N,N-二异丙基乙胺	1:2	36
3	三乙胺	1:3	56
4	N,N-二异丙基乙胺	1:3	45
5	三乙胺	1:4	78.6
6	N,N-二异丙基乙胺	1:4	62
7	三乙胺	1:5	78.5
8	N,N-二异丙基乙胺	1:5	60

由表中可知,4-[(反-5-羟基-2-金刚烷)氨基]-5-甲酰胺-1H-吡咯[2,3-b]吡啶 7 的合成,最佳摩尔比为 1:3,最佳反应时间为 2~4 h。

4. 结论

本文对 Peficitinib 的合成及工艺研究进行了详细的考察,使总产率为 47%,大大提高了产率,更是解决了第二步量大就不反应的问题。此合成工艺路线合理,产率高,时间短,操作简单,使 JAK 靶点药物 Peficitinib 的合成可以达到工业化生产,为根治自身免疫性疾病如类风湿性关节炎提供了基础,也顺应了近几年热点靶点 JAK 家族的风向。

参考文献

- [1] Smolen, J.S., Aletaha, D. and McInnes, I.B. (2016) Safety and Efficacy of Biosimilars in Oncology. *Lancet*, **388**, 2023-2038. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30173-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8)
- [2] 纪前前, 张倩倩, 郭尚敬. JAK 抑制剂在类风湿性关节炎治疗中的研究进展[J]. 中国药房. 2016, 27(5): 711-713.
- [3] Mok, C.C. (2016) Immunogenicity of Anti-TNF Biologic Agents in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Expert Opinion on Biological Therapy*, **16**, 201. <https://doi.org/10.1517/14712598.2016.1118457>
- [4] Andrew, F. and Wilks, A.B. (2008) The JAK Kinases: Not Just Another Kinase Drug Discovery Target. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, **19**, 319-328. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2008.07.020>
- [5] 黄红, 谢文慧, 张卓莉. Janus 酪氨酸激酶抑制剂治疗类风湿性关节炎安全性研究进展[J]. 中华风湿病学杂志. 2021, 25(6): 407-411.
- [6] Soumya, D.C. and Poulikos, I.P. (2013) Kinase Inhibitors: A New Tool for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Clinical Immunology*, **148**, 66-78. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2013.04.007>
- [7] McDonnell, M.E., Bian, H., Wrobel, J., et al. (2014) 4-Amino-Pyrrolopyridine-5-Carboxamide: A Novel Scaffold for JAK1-Selective Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **24**, 1116-1121. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.01.001>
- [8] Yasushi, A., Ayako, M., Shohei, S., et al. (2018) Discovery and Structural Characterization of Peficitinib (ASP015K) as a Novel and Potent JAK Inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **26**, 4971-4983. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.08.005>
- [9] 许阳, 廖礼豪, 赵晓丹. 硒 π 酸催化合成含氮杂环化合物的研究进展[J]. 化学通报. 2020, 83(11): 970-976.

-
- [10] Yutaka, N., Takashi, T., *et al.* (2015) Synthesis and Evaluation of 1H-Pyrrolo[2,3-b]pyridine Derivatives as Novel Immunomodulators Targeting Janus Kinase 3. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **63**, 341-353.
<https://doi.org/10.1248/cpb.c15-00036>
- [11] Park, E., Lee, S.J., Moon, H., *et al.* (2021) Discovery and Biological Evaluation of N-Methyl-Pyrrolo[2,3-b] Pyridine-5-Carboxamide Derivatives as JAK1-Selective Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **64**, 958-979.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01026>