



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103450175 B

(45) 授权公告日 2016. 03. 02

(21) 申请号 201310350441. X

(22) 申请日 2013. 08. 12

(73) 专利权人 湖北省生物农药工程研究中心
地址 430064 湖北省武汉市洪山区南湖大道
8号

专利权人 艾诺伐(武汉)生物科技有限公司

(72) 发明人 柯少勇 杨自文 石丽桥 刘曼莉
王开梅 梁英 江爱兵

(74) 专利代理机构 武汉开元知识产权代理有限公司 42104

代理人 杨柳林

(51) Int. Cl.

C07D 417/06(2006. 01)

C07D 413/14(2006. 01)

C07D 401/14(2006. 01)

C07D 401/06(2006. 01)

C07D 417/14(2006. 01)

C07D 417/12(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2004058714 A1, 2004. 07. 15,

CN 102690258 A, 2012. 09. 26,

WO 03040129 A1, 2003. 05. 15,

Zaplosky, V. A., 等. Synthesis of
dinitro-substituted dienediamines from
1, 3-dinitro-1, 4, 4-trichloro-1, 3-butadiene.
《CA》. 1995, 第 122:104963 卷

Viktor A. Zapol'skii, 等. Chemistry
of polyhalogenated nitrobutadienes, 8:
Nitropolychlorobutadienes - Precursors for
insecticidal neonicotinoids. 《Bioorganic
& Medicinal Chemistry》. 2009, 第 17 卷第
4206-4215 页.

审查员 王丽

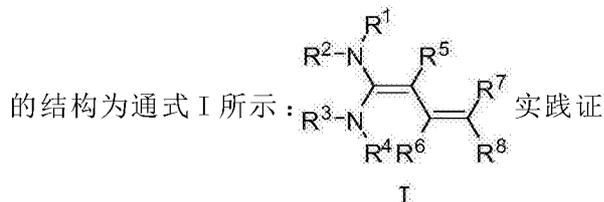
权利要求书1页 说明书16页

(54) 发明名称

共轭双烯衍生物及其制备方法和作为抗癌药
物的用途

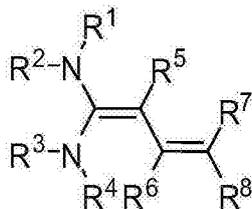
(57) 摘要

本发明公开了一种共轭双烯衍生物及其制备
方法与作为抗癌药物的用途。该共轭双烯衍生物



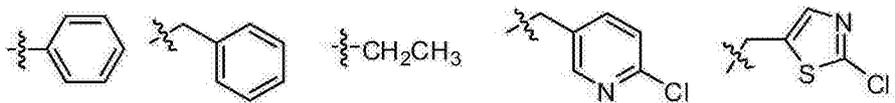
明, 化合物具有明显的抑制肿瘤细胞生长活性, 部
分优选化合物的抗肿瘤活性明显优于对照药物。
并且该类化合物的制备过程简单易行, 原料易得,
是一种具有广阔应用前景的抗肿瘤活性物质。

1. 一种共轭双烯衍生物,其特征在于:它的结构通式为:



式中:

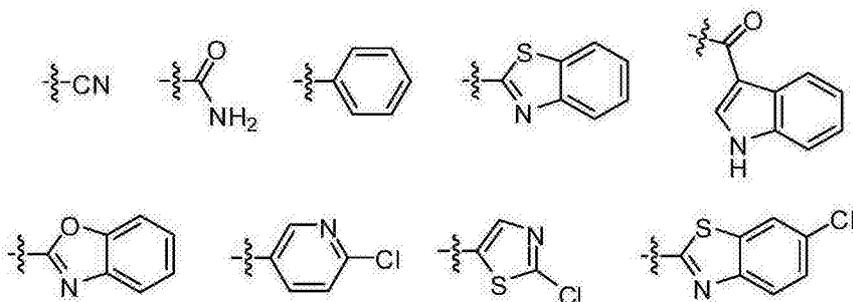
R¹选自下述基团之一:



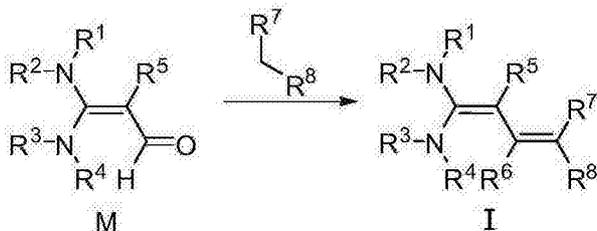
R²和 R³共同构成 -CH₂CH₂-;

R⁴为氢;R⁵为硝基;R⁶为氢;R⁷为氰基;

R⁸选自下述基团之一:



2. 一种权利要求 1 所述的共轭双烯衍生物的制备方法,其特征在于:它的反应合成路线如下:



所述反应是在有机溶剂和催化剂条件下进行的,其中 R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸的定义如权利要求 1 中所述,所述催化剂为氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、碳酸钾、碳酸钠、三乙胺、哌啶、吡啶、甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾、叔丁醇钠中的一种。

3. 根据权利要求 2 所述的共轭双烯衍生物的制备方法,其特征在于:所述溶剂为乙醇、甲醇、乙腈、四氢呋喃、丙酮、丁醇中的一种。

4. 根据权利要求 2 或 3 所述的共轭双烯衍生物的制备方法,其特征在于:反应温度为 20 ~ 80℃,反应时间为 0.5 ~ 48h。

5. 如权利要求 1 所述共轭双烯衍生物在制备抗癌药物中的应用。

共轭双烯衍生物及其制备方法和作为抗癌药物的用途

技术领域

[0001] 本发明属于有机药物合成技术领域,具体涉及一种共轭双烯衍生物及其制备方法与作为抗癌药物的用途。

背景技术

[0002] 抗肿瘤药是指抗恶性肿瘤的药物,又称抗癌药。恶性肿瘤是一种严重威胁人类健康的常见病和多发病,人类因恶性肿瘤而引起的死亡率居所有疾病死亡率的第二位,成为仅次于心血管疾病的第二号“杀手”。2013年初,全国肿瘤登记中心发布的最新版《2012中国肿瘤登记年报》表明,中国每年新发癌症病例约312万,因癌症死亡人数超过200万,这意味着每1分钟有6个人被确诊为癌症。目前全国癌症发病趋势严峻,发病率与死亡率呈持续上升趋势。癌症已成为严重威胁人类生命安全和影响人类生活质量的重大问题之一,由此而引发的问题也越来越成为社会经济发展的负担。

[0003] 目前,肿瘤的治疗方法主要有手术治疗、放射治疗和药物治疗(化学治疗),但很大程度上仍是以药物治疗为主。多数常见实体瘤如肺癌、肝癌、结肠癌及胰腺癌等仍缺乏有效药物,不少抗肿瘤药物在临床应用过程中产生耐药性,因此,新型抗肿瘤药物的研发势在必行。随着社会的科技进步,人类对癌症的认知已逐渐清晰,对某些癌症的预防和早期诊断的方法、技术和理论也日趋成熟,但尚不能完全治愈癌症,只能非常有限地延长癌症病人的存活时间。癌症疾病的长期存在、癌症病人的存活期延长、癌症新发病例的大幅增加及癌症难于治愈的特点将决定人类社会对癌症药物的需求将不断增长。在这种大形势下,抗癌药物的研发将会是制药工业界的热门研究领域之一,不断开发高效低毒选择性的新型抗癌活性药物,成为当前一项具有重要意义的研究工作。

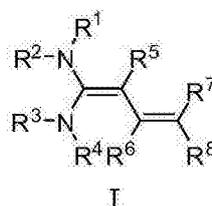
[0004] 1,3-丁二烯衍生物通常具有广泛的生物活性,例如Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004, 14, 1483; Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 2839中记载了化合物U0126(1,4-二氨基-2,3-二氰基-1,4-双(邻氨基苯硫基)丁二烯)是一种常用的MAPKK抑制剂,对恶性肿瘤细胞的增殖产生显著影响。申请人在科研过程中,发现了系列具有不对称结构的多取代共轭二烯衍生物,呈现显著的抗癌活性,具有明显的应用前景。

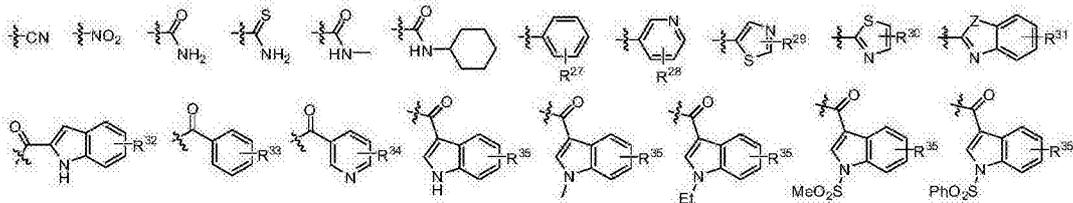
发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种不对称共轭双烯衍生物及其制备方法和作为抗癌药物的用途。

[0006] 为实现上述目的,本发明的共轭双烯衍生物的结构为通式I所示,通式I为:

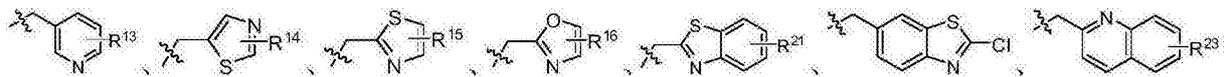
[0007]



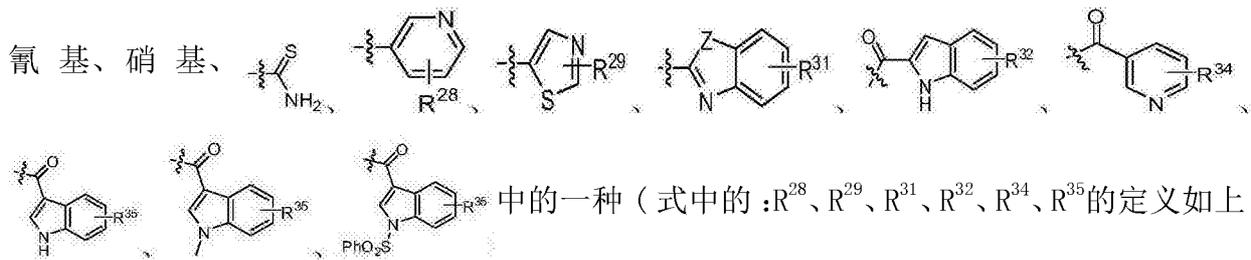


[0019] 上述 R^8 基团中： R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 、 R^{30} 、 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 分别为甲基、乙基、三氟甲基、三氟甲氧基、二氟甲氧基、甲氧基、羟基、氟、氯、溴、碘、硝基、氰基或氢； Z 为 O 或 S 或 NH。

[0020] 优选地，所述 R^1 为：甲基、乙基、丙基、



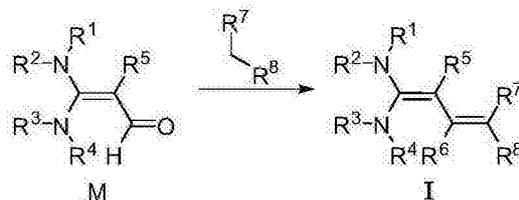
中的一种（式中的： R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{21} 、 R^{23} 的定义如上文所述）； R^2 为：甲基、乙基、苄基、取代苄基中的一种； R^3 为：甲基、乙基、苄基、取代苄基中的一种；或者 R^2 与 R^3 共同构成 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{SCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2-$ 中的一种； R^4 为：氢、乙酰基、苄氧羰基、甲氧羰基、苯甲酰基、取代苯甲酰基、丙烯酰基中的一种； R^5 为：氰基、硝基、三氟乙酰基中的一种； R^6 为：氢、氯、溴中的一种； R^7 为：氢、氰基、硝基、三氟甲基、三氟乙酰基中的一种； R^8 为：



文所述）。

[0021] 同时，本发明提供了上述共轭双烯衍生物的制备方法，具体地，该制备方法的合成路线如下：

[0022]



[0023] 所述反应是在有机溶剂和催化剂条件下进行的；

[0024] 反应式中的 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 的定义同上文所述。

[0025] 上述共轭双烯衍生物的制备方法中，优选的，所述溶剂为乙醇、甲醇、乙腈、四氢呋喃、丙酮、丁醇中的一种；所述催化剂为氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化锂、碳酸钾、碳酸钠、三乙胺、哌啶、吡啶、甲醇钠、乙醇钠、叔丁醇钾、叔丁醇钠中的一种。

[0026] 上述共轭双烯衍生物的制备方法中，进一步优选的，反应温度为 $20 \sim 80^\circ\text{C}$ ，反应时间为 $0.5 \sim 48\text{h}$ ，如此控制反应时间和温度，能有效提高反应速率并减少副反应的发生。

[0027] 本发明的制备方法采用多取代芳香及杂环醛 M 与含活泼亚甲基化合物（即

$R^7-CH_2-R^8$) 进行 Knoevenagel 缩合反应,即可得到共轭双烯衍生物 I。其中的多取代芳香及杂环醛 M 可采用专利 WO2004058714A1 所述方法或其他常规的有机合成方法制备而来。

[0028] 本发明还提供了具有上述结构通式 I 的共轭双烯衍生物在制备抗癌药物的应用。本发明所提供的共轭双烯衍生物及其药学上可接受的盐(例如:常规无机酸盐,如盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐及有机酸盐,如甲磺酸盐、三氟甲磺酸盐、醋酸盐、三氟乙酸盐、苯甲酸盐等),对人类肝癌细胞 HepG2、Huh-7、SMMC-7721、MHCC97、BEL-7402、PLC/PRF/5、Hep3B、HCC-9204、PG5;人类肺癌细胞 A549、H1299、PC-9、MST0-211H、H1975、NCIH446、NCIH460;人类乳腺癌细胞 MCF-7、T47D、1590、Bcap-37、MDA-MB-453、ZR-75-30;人类胃癌细胞 BCG-823、SGC-7901、HS-746T、MGC-803;人类鼻咽癌细胞 KB、CNE-2、SUNE-1;人类卵巢癌细胞 3A0、SKOV3、TYK;人类前列腺癌 PC-3、22RV1;人类宫颈癌细胞 HeLa、RhoC、VAV2;人类皮肤黑色素瘤细胞 A375;人表皮癌细胞 A431;人类神经胶质瘤细胞 C6 等具有显著的抑制活性;而对猴肾细胞 MARC145、犬肾细胞 MDCK 及人类正常肝细胞株 HL-7702 等具有较弱的抑制活性。实际应用中,本发明的共轭双烯衍生物及其药学上可接受的盐可通过常规方法制备成各种实用型药剂,如颗粒剂、片剂、丸剂、胶囊、注射剂、悬浮剂或乳剂的药物。

[0029] 本发明通过系统的设计合成及活性筛选研究,以共轭双烯结构母体为基础,构建了一类多取代不对称共轭双烯类化合物,所述化合物具有明显的抑制肿瘤细胞生长活性,部分优选化合物的抗肿瘤活性明显优于对照药物。并且该类化合物的制备过程简单易行,原料易得,是一种具有广阔应用前景的抗肿瘤活性物质。

具体实施方式

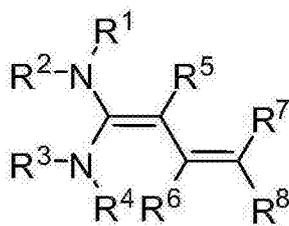
[0030] 下面结合具体实施例对本发明的共轭双烯衍生物及其制备方法和作为抗癌药物的用途作进一步详细说明。

[0031] 实施例 1

[0032] 本发明的部分共轭双烯衍生物的结构如表 1 中所列出的具体化合物中的一种:

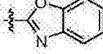
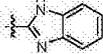
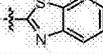
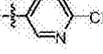
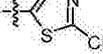
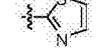
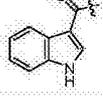
[0033] 表 1:通式 I 的代表性化合物结构列表

[0034]

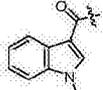
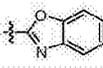
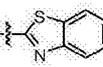
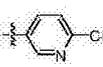
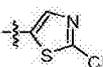
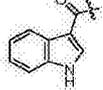
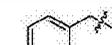
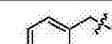
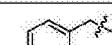
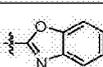
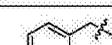
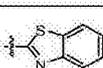
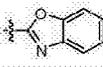
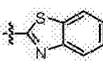
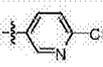
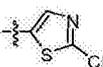
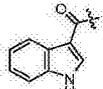


I

[0035]

编号	取代基							
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷	R ⁸
I-1		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	CN
I-2		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	-CONH ₂
I-3		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	-Ph
I-4		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	
I-5		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	
I-6		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	
I-7		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	
I-8		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	
I-9		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	
I-10		-CH ₂ CH ₂ -		H	NO ₂	H	CN	

[0036]

I-11		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-12		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	CN
I-13		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CONH ₂
I-14		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CSNH ₂
I-15		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-16		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-17		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-18		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-19		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-20		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	CN
I-21		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CONH ₂
I-22		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-23		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-24	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	CN
I-25	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CONH ₂
I-26	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-27	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-28	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-29	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-30	CH ₃ CH ₂ -	-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	

[0037]

I-31		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	CN
I-32		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CONH ₂
I-34		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CSNH ₂
I-35		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	Ph
I-36		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-37		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-38		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-39		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-40		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-41		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-42		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-43		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	H	NO ₂
I-44		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	Me	NO ₂
I-45		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	NO ₂	PhCO
I-46		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	PhCO
I-47		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-48		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	CN
I-49		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CONH ₂
I-50		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	-CSNH ₂
I-51		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	Ph
I-52		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	

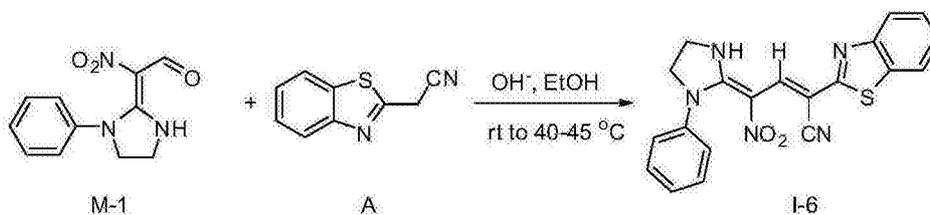
[0038]

I-53		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-54		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-55		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-56		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-57		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	
I-58		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	H	NO ₂
I-59		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	Me	NO ₂
I-60		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	NO ₂	PhCO
I-61		-CH ₂ CH ₂ -	H	NO ₂	H	CN	PhCO
I-62		Et	Me	H	NO ₂	H	CN
I-63		Et	Me	H	NO ₂	H	CN
I-64		Et	Me	H	NO ₂	H	CN
I-65		Et	Me	H	NO ₂	H	CN

[0039] 实施例 2

[0040] 实施例 1 中编号为 I-6 的化合物 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-4-(1-(苯基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈, 其制备方法为:

[0041]



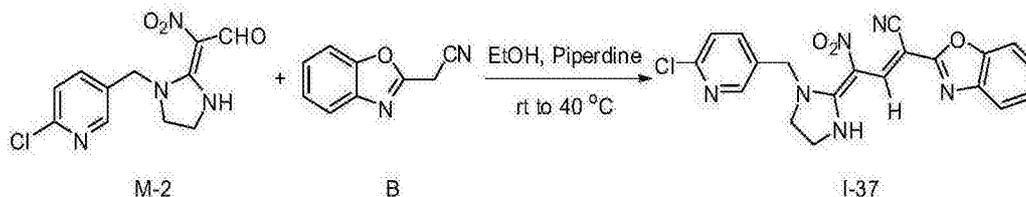
[0042] 以 N-苯基乙二胺为起始原料, 参照专利 W02004058714A1 所公开的方法, 依次经过与 1, 1-二硫甲基-2-硝基乙烯发生取代反应、然后与 N, N-二甲基甲酰胺二甲缩醛缩合反应、碱性水解反应制备得到中间体 2-(1-(苯基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 (M-1)。然后称取 M-1 即 2-(1-(苯基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.12g (0.5mmol) 溶于 10mL 无水乙醇中, 室温条件下, 依次加入 2-氰甲基苯并噻唑 (即化合物 A) 0.096g (0.55mmol) 以及

催化量的氢氧化钾,反应混合物先室温搅拌 30 分钟,然后缓慢加热至 40-45℃,保温反应, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-6,黄色粉末 0.14g,质量产率 72%。该化合物基本理化性质如下: $Mp > 250^{\circ}C$; $MS(ESI)m/z$ 389.9 $(M+H)^+$, calcd. for $C_{20}H_{15}N_5O_2S$ $m/z = 389.1$.

[0043] 实施例 3

[0044] 实施例 1 中编号为 I-37 的化合物 2-(苯并[d]噁唑-2-基)-4-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0045]

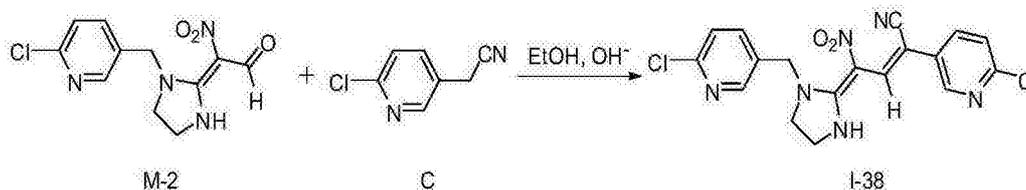


[0046] 以 2-氯-5-氯甲基吡啶为起始原料,依次经过与乙二胺的取代反应、与 1,1-二硫甲基-2-硝基乙烯的取代反应、然后与 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛缩合反应、碱性水解反应制备得到中间体 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 (M-2)。然后称量 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g (0.5mmol) 溶于 10mL 无水乙醇中,室温条件下,依次加入 2-氰甲基苯并噁唑 (化合物 B) 0.087g (0.55mmol), 以及催化量的哌啶,反应混合物先室温搅拌 30 分钟,然后缓慢加热至 40℃,保温反应, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-37,黄色粉末 0.14g,质量产率 66%。该化合物具体理化性质如下: $Mp > 250^{\circ}C$; 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6 , TMS), δ (ppm): 9.50 (s, 1H), 8.57 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.95 (d, $J = 8Hz$, 1H), 7.78 (d, $J = 8Hz$, 2H), 7.56 (d, $J = 8Hz$, 1H), 7.41 (t, $J = 7.2Hz$, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.16 (t, $J = 8Hz$, 2H), 3.97 (t, $J = 8Hz$, 2H); $MS(ESI)m/z$ 422.9 $(M+H)^+$, calcd. for $C_{20}H_{15}ClN_6O_3$ $m/z = 422.1$.

[0047] 实施例 4

[0048] 实施例 1 中编号为 I-38 的化合物 2-(6-氯吡啶-3-基)-4-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0049]

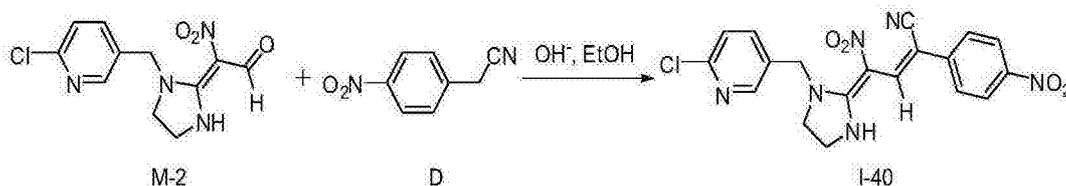


[0050] 称量 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g (0.5mmol) 溶于 10mL 无水乙醇中,室温条件下,依次加入 2-(6-氯吡啶-3-基)乙腈 (化合物 C) 0.084g (0.55mmol), 以及催化量的氢氧化钠,反应混合物先室温搅拌 20 分钟,然后缓慢加热至 35-40℃,保温反应, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-38,亮黄色粉末 0.15g,质量产率 72%。该化合物基本理化性质如下: $Mp > 250^{\circ}C$; $MS(ESI)m/z$ 417.0 $(M+H)^+$, calcd. for $C_{18}H_{14}Cl_2N_6O_2$ $m/z = 416.1$.

[0051] 实施例 5

[0052] 实施例 1 中编号为 I-40 的化合物 2-(4-硝基苯基)-4-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0053]

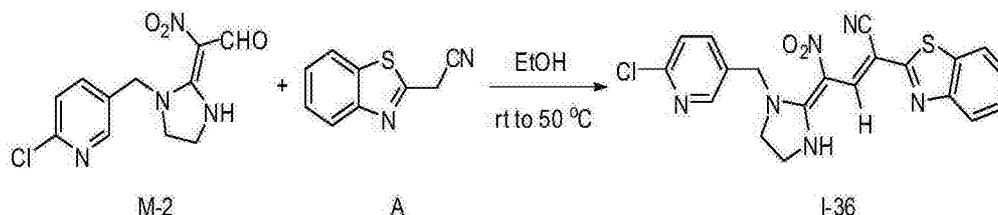


[0054] 称量 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g(0.5mmol) 溶于 15mL 无水乙醇中,然后室温条件下,依次加入 4-硝基苯乙腈(化合物 D)0.089g(0.55mmol),以及催化量的氢氧化钾,反应混合物先室温搅拌 30 分钟,然后缓慢加热至 45℃,保温反应,TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-40,土黄色粉末 0.14g,质量产率 66%。该化合物基本理化性质如下:Mp 141-142℃; MS(ESI)m/z426.9(M+H)⁺, calcd. for C₁₉H₁₅ClN₆O₄m/z = 426.1。

[0055] 实施例 6

[0056] 实施例 1 中编号为 I-36 的化合物 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-4-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0057]



[0058] 称取 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g(0.5mmol) 溶于 10mL 无水乙醇中,然后室温条件下,加入 2-氰甲基苯并噻唑(化合物 A)0.096g(0.55mmol),再加入碱性催化剂,反应混合物先室温搅拌 40 分钟,然后缓慢加热至 50℃,保温反应,TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-36,黄色粉末 0.15g,质量产率 68%。该化合物具体理化性质如下:Mp 207-209℃; ¹H NMR(400MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm):10.26(s, 1H), 8.41(s, 1H), 8.37(s, 1H), 8.01(d, J = 8Hz, 1H), 7.88(d, J = 8Hz, 1H), 7.83(d, J = 8Hz, 1H), 7.49(t, J = 8Hz, 1H), 7.41(d, J = 8Hz, 2H), 4.85(s, 2H), 4.32(t, J = 8Hz, 2H), 3.90(t, J = 8Hz, 2H); MS(ESI)m/z 439.6(M+H)⁺, calcd. for C₂₀H₁₅ClN₆O₂S m/z = 438.1。

[0059] 实施例 7

[0060] 实施例 1 中编号为 I-16 的化合物 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-4-(1-(苄基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

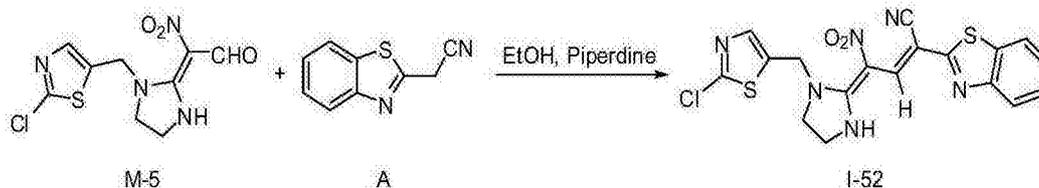
[0061]

[0070] 以 2-氯-5-氯甲基噻唑为起始原料,依次经过与乙二胺的取代反应、与 1,1-二硫甲基-2-硝基乙烯的取代反应、然后与 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛缩合反应、碱性水解反应制备得到中间体 2-(1-((2-氯噻唑-5-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 (M-5)。然后称取 M-5 即 2-(1-((2-氯噻唑-5-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.15g(0.5mmol) 溶于 10mL 无水乙醇中,室温条件下,依次加入丙二腈 0.036g(0.55mmol) 以及催化量的氢氧化钠,反应混合物先室温搅拌 30 分钟后,然后缓慢加热至 40℃,保温反应, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-48,淡黄色粉末 0.12g,质量产率 71%。该化合物具体理化性质如下: Mp 170-172℃; ¹H NMR(400MHz, CDCl₃, TMS), δ (ppm): 8.21 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.21 (t, J = 10Hz, 2H), 3.97 (t, J = 10Hz, 2H); MS(ESI)m/z 337.8 (M+H)⁺, calcd. for C₁₂H₉ClN₆O₂S m/z = 336.0。

[0071] 实施例 10

[0072] 实施例 1 中编号为 I-52 的化合物 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-4-(1-((2-氯噻唑-5-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0073]

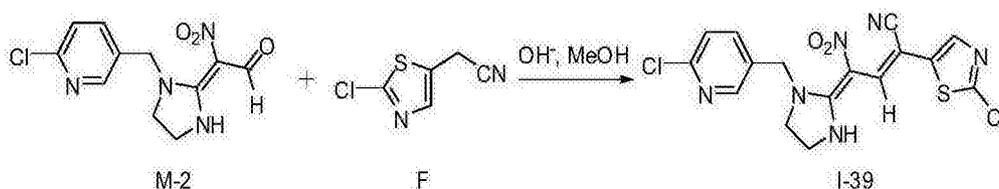


[0074] 称量 M-5 即 2-(1-((2-氯噻唑-5-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.15g(0.5mmol) 溶于 15mL 无水乙醇中,然后依次加入 2-氰甲基苯并噻唑(化合物 A) 0.096g(0.55mmol) 及催化量的哌啶,室温条件下搅拌, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-52,淡黄色粉末 0.16g,质量产率 72%。该化合物基本理化性质如下: Mp > 250℃; ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆, TMS), δ (ppm): 9.94 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.11-8.01 (m, 2H), 7.80 (s, 1H), 7.58-7.43 (m, 2H), 4.92 (s, 2H), 4.11 (t, J = 8Hz, 2H), 3.96 (t, J = 8Hz, 2H); MS(ESI)m/z 445.0 (M+H)⁺, calcd. for C₁₈H₁₃ClN₆O₂S₂m/z = 444.0。

[0075] 实施例 11

[0076] 实施例 1 中编号为 I-39 的化合物 2-(2-氯噻唑-5-基)-4-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0077]



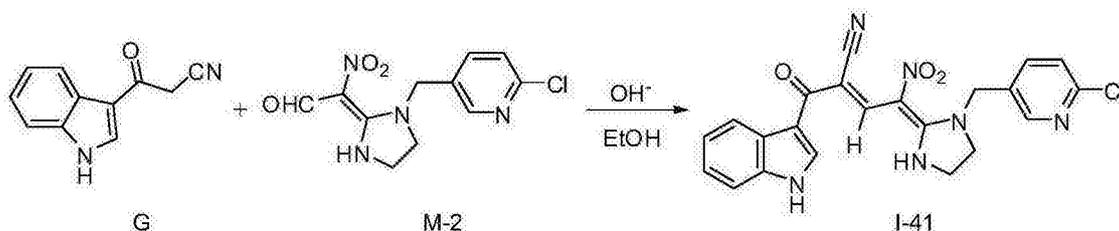
[0078] 称取 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g(0.5mmol) 溶于 10mL 无水甲醇中,依次加入 2-(2-氯噻唑-5-基)乙腈(化合物 F) 0.087g(0.55mmol) 及催化量的氢氧化钠,室温搅拌, TLC 监测至反应完全。减压除去溶剂,粗品经柱层析分离纯化得到目标物 I-39,黄色粉末 0.13g,质量产率 61%。该化合物基

本理化性质如下: $Mp > 250^{\circ}C$; $MS(ESI)m/z$ 422.8 $(M+H)^+$, calcd. for $C_{16}H_{12}Cl_2N_6O_2S$ $m/z = 422.0$ 。

[0079] 实施例 12

[0080] 实施例 1 中编号为 I-41 的化合物 4-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-(1H-吡咯-3-甲酰基)-4-硝基丁-2-烯腈, 其制备方法为:

[0081]

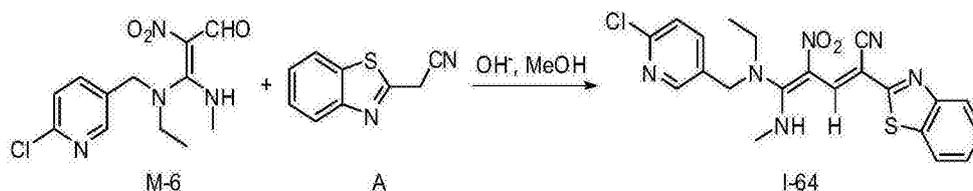


[0082] 称取 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g (0.5mmol) 溶于 15mL 无水乙醇中, 依次加入 3-氰乙酰基吡咯 (化合物 G) 0.092g (0.55mmol) 及催化量的氢氧化钾, 室温搅拌, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂, 冷却后, 抽滤得到目标物 I-41, 亮黄色粉末 0.17g, 质量产率 76%。该化合物具体理化性质如下: Mp 246-248 $^{\circ}C$; 1H NMR (400MHz, $DMSO-d_6$, TMS), δ (ppm): 12.07 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 8Hz$, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.95 (d, $J = 8Hz$, 1H), 7.55 (dd, $J = 8Hz$, 2H), 7.28-7.19 (m, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.10 (t, $J = 8Hz$, 2H), 3.94 (t, $J = 8Hz$, 2H); $MS(ESI)m/z$ 448.9 $(M+H)^+$, calcd. for $C_{22}H_{17}ClN_6O_3$ $m/z = 448.1$ 。

[0083] 实施例 13

[0084] 实施例 1 中编号为 I-64 的化合物 2-(苯并[d]噻唑-2-基)-5-(((6-氯吡啶-3-基)甲基)(乙基)氨基)-5-(甲氨基)-4-硝基-2,4-戊二烯腈, 其制备方法为:

[0085]



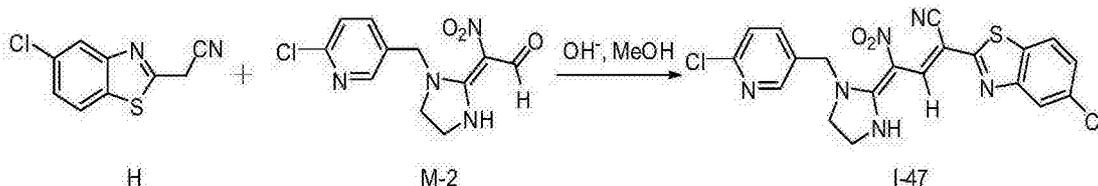
[0086] 以 2-氯-5-氯甲基吡啶为起始原料, 依次经过与乙胺的取代反应、与 1,1-二硫甲基-2-硝基乙烯的取代反应、与甲胺的取代反应、与 N,N-二甲基甲酰胺二甲缩醛缩合反应、碱性水解反应制备得到中间体 3-(((6-氯吡啶-3-基)甲基)(乙基)氨基)-3-(甲氨基)-2-硝基丙烯醛 (M-6)。然后称量 M-6 即 3-(((6-氯吡啶-3-基)甲基)(乙基)氨基)-3-(甲氨基)-2-硝基丙烯醛 0.15g (0.5mmol) 溶于 10mL 甲醇中, 依次加入 2-氰甲基苯并噻唑 (化合物 A) 0.096g (0.55mmol) 及催化量的氢氧化钾, 室温搅拌, TLC 监测至反应完全。减压除去溶剂, 粗品经柱层析分离纯化得到目标物 I-64, 土黄色粉末 0.13g, 质量产率 57%。该化合物基本理化性质如下: Mp 102-103 $^{\circ}C$; $MS(ESI)m/z$ 454.9 $(M+H)^+$, calcd. for $C_{21}H_{19}ClN_6O_2S$ $m/z = 454.1$ 。

[0087] 实施例 14

[0088] 实施例 1 中编号为 I-47 的化合物 2-(5-氯苯并[d]噻唑-2-基)-4-(1-((6-氯

吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-4-硝基丁-2-烯腈,其制备方法为:

[0089]



[0090] 称取 M-2 即 2-(1-((6-氯吡啶-3-基)甲基)咪唑啉-2-亚基)-2-硝基乙醛 0.14g(0.5mmol) 溶于 15mL 甲醇中,依次加入 2-(5-氯苯并噻唑-2-基)乙腈(化合物 H)0.12g(0.55mmol) 及催化量的氢氧化钾,室温搅拌, TLC 监测至反应完全。减压除去部分溶剂,冷却后,抽滤得到目标物 I-47,黄色粉末 0.17g,质量产率 72%。该化合物具体理化性质如下: $M_p > 250^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6 , TMS), δ (ppm): 9.84(s, 1H), 8.96(s, 1H), 8.47(s, 1H), 8.25(s, 1H), 8.14-8.04(m, 2H), 7.94(s, 1H), 7.56-7.38(m, 2H), 4.83(d, $J = 4\text{Hz}$, 2H), 4.14(t, $J = 8\text{Hz}$, 2H), 4.01(t, $J = 8\text{Hz}$, 2H); MS(ESI) m/z 472.9(M+H)⁺, calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$ $m/z = 472.0$ 。

[0091] 实施例 15 表 1 中其它化合物的制备

[0092] 实施例 1 中其它化合物的制备,参照实施例 2~14 所述的基本合成方法,并结合表 1 中所述化合物的结构特征选用不同的常规化工原料,便可制备表中所列的其它化合物。

[0093] 实施例 16 化合物的体外抗癌活性评价

[0094] 供试癌细胞:人类肝癌细胞株 HepG2、Huh-7;人类乳腺癌细胞株 MCF-7;人类肺癌细胞株 A549、H1975;人类胃癌细胞株 BCG-823;人类宫颈癌细胞株 HeLa;人类皮肤黑色素瘤细胞株 A375;人表皮癌细胞株 A431;胶质瘤细胞株 C6;猴肾细胞株 MARC145;犬肾细胞株 MDCK;人类正常肝细胞株 HL-7702 等。

[0095] 细胞培养:RPMI Medium 1640 细胞培养基,10%小牛血清和 0.01% L-谷氨酰胺配制成培养液。培养的细胞株置于 37°C 、5% CO_2 饱和湿度下常规培养传代,实验均用处于对数生长期的细胞。

[0096] 体外抗癌活性评价(MTT法):用 0.25%胰蛋白酶将细胞消化并制成单细胞悬浮液,按每孔 6000-7000 个细胞接种于 96 孔板, 37°C 、5% CO_2 过夜,加入不同浓度的样品,分别以单细胞的培养液和未经药物作用的细胞作为空白对照和阴性对照,以抗癌药物 5-氟尿嘧啶及 U0126 为阳性对照,每组设 8 个复孔,继续培养 48h 获 72h。每孔加 MTT(5mg/mL) $20\ \mu\text{l}$ 继续培养 4h,弃上清液,每孔加 $150\ \mu\text{l}$ DMSO, 37°C 孵育 10min,酶标仪检测 570nm 波长处的吸光值(A_{570})。按以下公式计算平均抑制率:

[0097] 抑制率 = $(A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{实验样品}}) / (A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{空白对照}}) \times 100\%$

[0098] 部分测试结果如下表 2 所示,结果表明,制备的多取代不对称共轭双烯衍生物对供试癌细胞表现出明显的抑制作用,与对照药剂 5-氟尿嘧啶及 U0126 相比,活性优异。因此,本发明化合物可广泛用于抗癌药物领域,有显著的研究价值及应用前景。

[0099] 表 2 部分化合物的抗癌活性

[0100]

Comp d. No.	In vitro cytotoxicity ^a								
	HepG- 2 ^b	BCG-82 3 ^b	MCF-7 b	Hela b	C6 ^b	A549 b	MARC14 5 ^b	HL-770 2 ^b	MDC K ^b
I-6	+++	- ^c	+++	-	-	-	-	-	-
I-16	+++	+++	+++	+++	++ +	+++	-	+++	+++
I-27	+++	-	+++	+++	-	+++	-	-	-
I-30	+	-	-	+	+	-	+	-	-
I-31	+	-	-	+	+	-	+	-	-
I-32	+	-	-	+	+	-	+	-	-
I-35	+	-	+	-	-	-	-	-	-
I-36	+++	+++	+++	+++	++ +	+++	+++	+++	+++
I-37	++	-	++	-	-	-	-	-	-
I-38	++	-	++	-	-	-	-	-	-
I-39	++	-	++	-	-	-	-	-	-
I-41	+++	-	+++	+++	++ +	-	-	-	-
I-47	+	-	+	-	-	-	-	-	-
I-48	+	-	-	+	+	-	+	-	-
I-52	+++	+++	+++	+++	++ +	+++	-	+++	+++
U0126 ^d	++	-	++	-	-	-	-	-	-
5-FU ^e	++	++	+	++	++	++	+++	++	++

[0101] 表 2 中：^a IC₅₀<40 μM 记为 +++，IC₅₀40 ~ 100 μM 记为 ++，IC₅₀>100 μM 记为 +。^b缩写：HepG-2 - 人肝癌细胞；BCG-823 - 人胃癌细胞；MCF-7 - 人乳腺癌细胞；Hela - 人宫颈癌细胞；C6 - 人胶质瘤细胞；A549 - 人肺癌细胞；MARC145 - 猴肾细胞；HL-7702 - 人正常肝细胞；MDCK - 犬肾细胞。^c - 没有检测。^d U0126，阳性对照。^e 5-Fluorouracil，阳性对照。

[0102] 实施例 17 化合物的体内抗癌活性评价

[0103] 供试动物：BALB/C 型雄性裸鼠，体重约 18-22g。

[0104] 肿瘤细胞株：人肝癌细胞（HepG-2）。

[0105] 试验方法：将培养至对数生长期的 HepG-2 细胞消化、计数后稀释成 5×10^6 /mL。在无菌条件下，按 0.2mL/只接种于裸鼠侧腹皮下，每天观察并测量肿瘤大小。注射后 14d，裸鼠皮下形成肉眼可见的肿瘤，当肿瘤直径 ≥ 6 mm 按以下公式计算体积： $Volume = Length \times Width^2 / 2$ ，肿瘤体积达到 100mm³时开始分组给药。将裸鼠随机分组，并同时设置空白对照组（10% DMAC+10% Cremophor EL in PBS）和 5-Fu 对照组（20mg/kg），每天腹腔注射给药 1 次，连续 7 天，计算每组平均肿瘤体积、裸鼠平均体重和肿瘤生长抑制率（TGI）， $TGI\% = 100 \times [1 - (\text{实验组平均肿瘤体积}_{\text{final}} - \text{实验组平均肿瘤体积}_{\text{initial}}) / (\text{空白对照组平均肿瘤体积}_{\text{final}} - \text{空白组平均肿瘤体积}_{\text{initial}})]$ 。

[0106] 初步体内试验结果表明，制备的多取代共轭双烯衍生物对供试癌细胞起到了一定

的抑制作用,给药 7 天后,化合物 I-16 处理组平均肿瘤体积 162mm^3 ,5-FU 处理组平均肿瘤体积 353mm^3 ,空白对照组平均肿瘤体积 298mm^3 ;与对照药剂 5- 氟尿嘧啶 (5-FU) 相比,化合物 I-16 活性优异,并且该化合物的 TGI 值达 49.81%。

[0107] 因此,本发明的共轭双烯衍生物及其药学上可接受的盐可通过常规方法制备成各种实用型药剂,如颗粒剂、片剂、丸剂、胶囊、注射剂、悬浮剂或乳剂的药物,广泛用于癌症的预防及治疗领域。