



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101891706 B

(45) 授权公告日 2013. 05. 29

(21) 申请号 201010144779. 6

A61P 25/28(2006. 01)

(22) 申请日 2010. 04. 09

A61P 35/00(2006. 01)

(73) 专利权人 复旦大学

审查员 郭晓赞

地址 200433 上海市邯郸路 220 号

(72) 发明人 楚勇 黄朝辉 叶德泳 胡海荣

(74) 专利代理机构 上海元一成知识产权代理事

务所(普通合伙) 31268

代理人 吴桂琴

(51) Int. Cl.

C07D 281/10(2006. 01)

C07D 417/10(2006. 01)

A61K 31/554(2006. 01)

A61P 3/10(2006. 01)

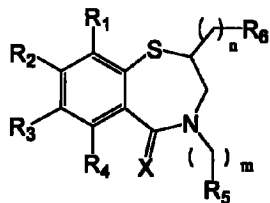
权利要求书1页 说明书24页 附图1页

(54) 发明名称

3, 4- 二氢苯并 [f] [1, 4] 噻氮杂萘类化合物或其盐及其药物用途

(57) 摘要

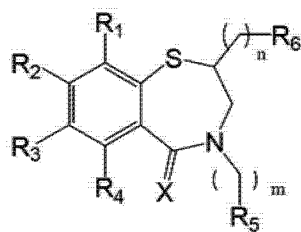
本发明属药物化学领域。涉及式 I 结构通式的 3, 4- 二氢苯并 [f] [1, 4] 噻氮杂萘类化合物或其盐及其药物用途。该 3, 4- 二氢苯并 [f] [1, 4] 噻氮杂萘类化合物能抑制糖原合成酶激酶-3β (GSK-3β), 可作为 GSK-3β 的非 ATP 竞争的小分子抑制剂用于制备预防或治疗与 GSK-3β 相关疾病的药物。本发明还包括这类化合物、其药学上可接受的盐组成的药物组合物在制备预防或治疗与 GSK-3β 相关疾病的药物中的应用。所述与 GSK-3β 相关的疾病包括糖尿病, 阿耳茨海默



I

氏病和肿瘤。

1. 3, 4-二氢苯并[f][1,4]噻氮杂萘类化合物或其盐, 其特征在于, 具有如下的结构通式:



I

其中

X 选自氧或硫原子;

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  选自氢或卤素;

$R_5$  选自苯基或取代苯基, 其中所述取代基选自卤素、硝基、氰基、羧基;

$R_6$  选自苯基或取代苯基, 其中所述取代基选自卤素、氨基、羟基;

n 取自 0 ~ 2, 且为整数;

m 取自 1 ~ 3, 且为整数。

2. 化合物 4-(2-酰胺基苄基)-3, 4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮或其盐。

3. 化合物 4-(4-酰胺基苄基)-3, 4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮或其盐。

4. 化合物 4-(2-(四氮唑-5-基)苄基)-3, 4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮或其盐。

5. 化合物 4-(3-(四氮唑-5-基)苄基)-3, 4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮或其盐。

6. 化合物 4-(4-(四氮唑-5-基)苄基)-3, 4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮或其盐。

7. 权利要求 1-6 任一项所述的化合物或其盐在制备用于预防或治疗与 GSK-3 $\beta$  相关疾病的药物中的用途。

8. 权利要求 7 所述的用途, 其中所述疾病是糖尿病或阿耳茨海默氏病。

### 3,4-二氢苯并[f][1,4]噻氮杂萘类化合物或其盐及其药物用途

#### 技术领域：

[0001] 本发明属于药物化学领域。涉及 3,4-二氢苯并[f][1,4]噻氮杂萘类化合物或其盐及其药物用途。该 3,4-二氢苯并[f][1,4]噻氮杂萘类化合物能抑制糖原合成酶激酶-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), 可作为 GSK-3 $\beta$  的非 ATP 竞争的小分子抑制剂用于制备预防或治疗与 GSK-3 $\beta$  相关疾病的药物。

#### 背景技术：

[0002] 据国际糖尿病联合会预测, 由于不良饮食习惯和缺乏锻炼, 2025 年全球糖尿病患者将高达 3 亿。其中大部为 II 型糖尿病患者。在中国, 糖尿病已成为心血管疾病和肿瘤之后的第三大致死性疾病。

[0003] 当前, 开发糖原合成酶激酶-3 (Glycogen Synthase Kinase-3, GSK-3) 的小分子抑制剂用于治疗复杂性疾病, 如癌症、糖尿病和早老年性痴呆症等正在成为一个新的研究热点。GSK-3 是一个多功能的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶, 不仅参与肝糖代谢过程, 还参与 Wnt 和 Hedgehog 信号通路, 通过磷酸化多种底物蛋白来调节细胞的生理过程。GSK-3 的小分子抑制剂能够抑制 GSK-3 的磷酸化活性, 从而调控机体糖代谢、Tao 蛋白代谢等过程, 可用于治疗 II 型糖尿病或阿耳茨海默氏病等与 GSK-3 活性高表达相关的疾病 (Eldar-Finkelman, Hagit, Trends in Molecular Medicine, 8(3) :126-132, 2002)

[0004] GSK-3 是胰岛素信号通道重要的负调节因子, 其功能受损或过度表达均直接导致 II 型糖尿病 (Frame, Sheelagh, Expert Opinion on Therapeutic Targets, 10(3) : 429-444, 2006)。异常高活性的 GSK-3 通过抑制糖原合成酶的活性从而阻止糖原合成是导致血糖升高的主要原因 (Nikoulina SE, et al, Diabetes, 49(2) :263-271, 2000); GSK-3 还直接抑制胰岛素受体, 影响糖代谢平衡 (Eidar FH, Pro Nat Acad Sci USA, 94(18) : 9660-9664, 1997)。胰岛素受体和糖原合成酶分别处于胰岛素糖代谢信号通路的最上游和最下游, 其活性被抑制限制了胰岛素介导的大部分生理反应。

[0005] GSK-3 是胰岛素信号通路最下游的调节因子, 对它进行选择性调控可能引起较少的副作用。迄今为止的研究表明, GSK-3 抑制剂未显示出明显的副作用。对 Zucker 糖尿病肥胖 (ZDF) 大鼠连续注射 GSK-3 抑制剂 CT99021 [130mg/(kg·d)] 达 20 小时, 并未发现其肝、肺、脂肪等组织细胞中  $\beta$  连环蛋白及 cyclinD1 的 mRNA 水平升高, 也未发现其它 GSK-3 小分子抑制剂对糖尿病哺乳动物存在明显副作用 (Ring DB, et al, Diabetes, 52(3) : 588-595, 2003)。事实上, LiCl 作为最明确的 GSK-3 抑制剂已在临床使用 50 多年, 至今未见导致肿瘤的报道 (Vestergaard P, World J Biol Psychiatry, 2(1) :18-26, 2001)。

[0006] 而且, 对于糖尿病治疗而言, 仅需对高活性的 GSK-3 进行短时间 (约 40min)、中强度 (约 30%~40%) 的抑制即已足够; 而要影响 GSK-3 对生长等其它功能的调节作用, 通常需要高强度地抑制 (>75%) (McManus, et al, EMBO Journal, 24(8) :1571-1583, 2005)。可以预期, 适当抑制高表达的 GSK-3 活性用于治疗目的可能是安全而且有效的。

[0007] 此外, GSK-3 作为神经退行性疾病的治疗靶也已开展了大量研究。GSK-3 涉及与阿耳茨海默氏病 (AD) 相关的生物途径。AD 的主要病理学特征即是细胞外  $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $A\beta$ ) 和细胞内神经纤维缠结的形成和进展 (Goate, A. et al. *Nature*, 349, 704-706, 1991), 而 GSK-3 能通过磷酸化 APP 促使  $A\beta$  的产生 (Hanger, D. P., et al. *Neurosci. Lett.* 147, 58-62, 1992)。已有研究证明, 通过抑制 GSK-3, 尤其是 GSK-3 $\beta$  的活性可减少  $A\beta$  的生成和神经纤维混乱 (LeClerc, C. et al. *J. Biol. Chem.* 276, 251-260, 2001)。如锂盐作为一种明确的 GSK-3 抑制剂, 在治疗浓度通过干扰 APP 剪切可以阻止  $A\beta$  的生成 (Sun, X. et al. *Neurosci. Lett.* 321, 61-64, 2002)。因此, GSK-3 $\beta$  抑制剂也可应用于治疗阿耳茨海默氏病。

[0008] GSK-3 有  $\alpha$  和  $\beta$  两种亚型, 其结构和功能都极为相似, 目前研究最多的是  $\beta$  亚型。多家大型制药公司, 如葛兰素史克、罗氏、礼来, Chiron 已开发了多种 GSK-3 $\beta$  抑制剂, 正在进行临床前的研究。这些抑制剂均有十分明显的降糖作用, 并可促进葡萄糖诱导的胰岛素释放、刺激葡萄糖摄取、提高细胞对胰岛素的敏感度等多种效应, 显示出治疗糖尿病和胰岛素抵抗的巨大潜力。

[0009] 但目前研究开发的 GSK-3 抑制剂几乎都是 ATP 竞争型抑制剂, 即它们都作用于 GSK-3 的 ATP 作用区。由于 ATP 结合区在其它蛋白激酶中高度保守, ATP 竞争型抑制剂与其作用可能导致较多的副作用, 因而此类抑制剂的选择性问题不容忽视。而非 ATP 竞争抑制剂作用于有着较强结构特异性的 GSK-3 非 ATP 结合区, 应该具有更好的选择性和更小的副作用。

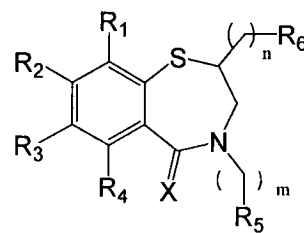
[0010] 三维晶体结构研究已发现, 与大多数酶不同, 在 GSK-3 的 ATP 结合区之外有一个独有且 GSK-3 $\beta$  高度保守的底物作用区 (Dajani, R. et al. *Cell*, 105(6):721-732, 2001; terHaar, E. et al. *Nat Struct Biol*, 8(7):593-6. 2001)。GSK-3 的大多数底物, 如糖代谢底物 GS, 必须首先预磷酸化后并作用于此结合区才能被 GSK-3 识别, 进而参与糖代谢平衡 (Fiol, C. J. et al. *J. Biol. Chem.*, 262(29):14042-14048, 1987)。而 GSK-3 参与调控的 Wnt 信号通路中的 axin,  $\beta$ -连环蛋白则不需要其他激酶的预磷酸化, 其活性结合部位并不位于此区域 (Ikeda, S. et al. *EMBO J.* 17, 1371-1384, 1998)。GSK-3 在各个信号通路中的功能互不干扰的特点很可能与这个非 ATP 活性区与其相应底物的特异性结合有关。不难想象, 能够竞争结合到这个结构特异的活性区的小分子可能仅仅抑制 GSK-3 的活性, 而不影响到其它酶的活性, 具有较高的选择性; 同时也不影响其它信号通道的功能, 降低致癌的风险, 具有较高的特异性。2002 年报道的噻二唑酮类化合物 (TDZD) 是首个作用于此结合区的非 ATP 竞争抑制剂, 它对 GSK-3 $\beta$  有  $\mu$ M 级的抑制作用, 而对 PKA, PKC, CK-2, CDK1/cyclin B 等多种激酶均无抑制 (Martinez, A. et al. *J. Med. Chem.* 45(6):1292-1299, 2002); 后续研究也表明, 此类化合物只要其作用模式是非 ATP 竞争的, 都显示出了很好的选择性 (Castro, A. et al. *bioorgan. med. chem.*, 16(1):495-510, 2008)。TDZD 类的一个化合物 NP-12 对 AD 呈现出很好的治疗效果 (SerenóL, et al. *Neurobiology of Disease*. 35(3):359-67, 2009), 已于 2009 年 11 月在欧洲顺利完成 II 期临床实验 (<http://www.noscira.com>), 现已进入 III 期临床实验 (<http://www.clinicaltrials.gov>, NCT01049399, NCT00948259)。这也是迄今为止进入临床研究的唯一一个 GSK-3 $\beta$  抑制剂, 表明非 ATP 竞争型抑制剂具有良好的应用前景。

[0011] 竞争结合这个非 ATP 结合区甚至可以直接产生拟胰岛素作用。GSK-3 自身磷酸化后的氨基酸残基可以占据这个特殊区域从而导致 GSK-3 的失活。胰岛素对 GSK-3 的抑制即是通过这种自占据模式实现的 (Dajani, R. et al. Cell, 105(6) :721-732, 2001 ;ter Haar, E. et al. Nat Struct Biol, 8(7) :593-6. 2001)。2003 年报道的非 ATP 竞争拟制的短肽 L803-mts 正是模拟 GSK-3 的这一段氨基酸残基, 可以选择性作用于 GSK-3 $\beta$  的这个非 ATP 结合区。它可在  $\mu$ M 级浓度提高人的胚胎肾 293 细胞的 GS 活性 2.5 倍, 而对测试的 6 种其它激酶 MAPK, PKA, PKB, PKC- $\delta$  和 CK-2, 甚至与 GSK-3 最密切的 Cdc2 均无抑制作用 (Plotkin, B. et al. JPET, 305(3) :974-980, 2003)。对 ob/ob 大鼠每天腹腔注射 400nmol, 连续注射三周, 也未引起血脂、体重等发生变化, 且无明显毒副作用 (Kaidanovich-Beilin, O. et al. JPET, 316(1) :17-24, 2006)。

### 发明内容:

[0012] 本发明的目的在于提供对 GSK-3 $\beta$  具有抑制活性的如下式 I 所示结构的新型 3, 4-二氢苯并 [f] [1,4] 噻氮杂 葸类化合物或其盐, 该类化合物能作用于 GSK-3 $\beta$  的非 ATP 结合区并抑制其活性。

[0013]



I

[0014] 其中, X 任选地为氧、硫或氮原子, 优选为 O;

[0015] m 取自 1~3, 且为整数, 优选为 1。

[0016] n 取自 0~2, 且为整数, 优选为 0。

[0017]  $R_1, R_2, R_3, R_4$  独立地为氢、卤素、硝基、羟基、甲基、羟甲基、甲氧基、三氟甲氧基、乙酰基或者乙酰氧基。

[0018]  $R_5$  为芳香基, 优选为苯基和取代苯基。其中所述取代基个数为 1-5 个, 取代基任意选自于卤素、硝基、氨基、氰基、羟基、羧基、硼酸基、 $(C_1-C_4)$  烷基、 $(C_1-C_4)$  烷氧基、三氟甲氧基、酰基或者酰氧基。

[0019]  $R_6$  为芳香基, 优选为呋喃基、吡啶基、苯基、取代苯基。其中所述取代基个数为 1-5 个, 取代基任意选自于卤素、硝基、羟基、氨基、氰基、羟基、 $(C_1-C_4)$  烷基、 $(C_1-C_4)$  烷氧基、三氟甲氧基、酰基或者酰氧基。

[0020] 本发明以 GSK-3 $\beta$  的非 ATP 结合区为靶标, 利用计算机虚拟筛选、设计和化学合成、并通过生物活性评价, 提供了如上述的具有全新化学骨架结构的 GSK-3 $\beta$  非 ATP 竞争抑制剂。

[0021] 本发明某一实施例中, X 为氧原子时,  $R_5$  为 5-7 元芳香基, m 为 1~3;  $R_6$  为 5-7 元芳香基, n 为 0~2; 其中,  $R_5$  选自苯基或取代苯基,  $R_6$  选自呋喃基、吡啶基、苯基或取代苯基; 其中所述取代基数为 1-5 个, 该取代基任意选自于卤素、硝基、羟基、甲基, 甲氧基、三氟

甲氧基、乙酰基或者乙酰氧基。

[0022] 本发明中,所述的盐为药学上可接受的盐。

[0023] 本发明所述的“药学上可接受的盐”具体地可列举为与盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸形成的盐,或与甲酸、乙酸,甲磺酸、乙磺酸等有机酸形成的盐。

[0024] 本发明所述的 3,4-二氢苯并 [f][1,4] 噻氮杂 **萘** 类化合物或其药学上可接受的盐可用于制备 GSK-3 $\beta$  抑制剂。

[0025] 本发明的另一目的是提供包含上述化合物或其盐的药物组合物。

[0026] 本发明的进一步目的是提供上述化合物或其盐以及包含该化合物或其盐的组合物用于制备预防或治疗 GSK-3 $\beta$  相关疾病的药物。所述与 GSK-3 $\beta$  相关的疾病可以是糖尿病、阿耳茨海默氏病和肿瘤,但并不受限于此。

[0027] 本发明的有益效果在于:

[0028] 1. 本发明提供并证明了对 GSK-3 $\beta$  具有抑制活性的新的 3,4-二氢苯并 [f][1,4] 噻氮杂 **萘** 类化合物或其药学上可接受的盐。

[0029] 2. 本发明所述的 3,4-二氢苯并 [f][1,4] 噻氮杂 **萘** 类化合物或其药学上可接受的盐在体外抑制活性实验结果,证明其对 GSK-3 $\beta$  具有抑制作用。

[0030] 3. 本发明所述的 3,4-二氢苯并 [f][1,4] 噻氮杂 **萘** 类化合物或其药学上可接受的盐经酶动力学实验证实其对 GSK-3 $\beta$  的抑制作用是非 ATP 竞争型抑制。

[0031] 4. 本发明所述化合物或其药学上可接受的盐可用于制备预防或治疗与 GSK-3 $\beta$  相关疾病的药物。所述的与 GSK-3 $\beta$  相关疾病是糖尿病、阿耳茨海默氏病或肿瘤,但不受限于此。

#### 附图说明

[0032] 图 1 是已知的 GSK-3 $\beta$  的 ATP 竞争型抑制剂 SB 216763 对 GSK-3 $\beta$  活性测试的动力学数据双倒数图,其中显示了 SB 216763 的曲线与对照曲线相交于 Y 轴,表明其是 ATP 竞争型抑制剂。

[0033] 图 2 是本发明的 3,4-二氢苯并 [f][1,4] 噻氮杂 **萘** 类化合物中的实例 HZkcc 对 GSK-3 $\beta$  活性测试的动力学数据双倒数图,其中显示了 50 $\mu$ M 浓度的 HZkcc 的曲线与对照曲线相交于 X 轴,表明 HZkcc 为非 ATP 竞争型抑制剂。

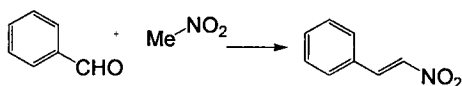
#### 具体实施方式:

[0034] 下面结合实施例进一步说明本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而不以任何方式限制本发明的保护范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。所采用的原料为商业上可购得的或者可以由本领域技术人员根据已知文献方法制备的。

[0035] 实施例 1

[0036] 4-苄基-3,4-二氢-2-苯基苯并 [f][1,4] 噻氮-5(2H)-杂 **萘** 酮 (HZkca) 的制备  
1.1 $\beta$ -硝基苯乙烯 (HZkc01) 的制备

[0037]

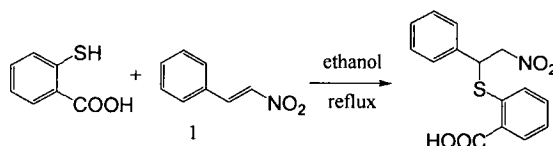


[0038] 取 KOH 11.2g (200mmol) 溶于水 56mL, 置冰水浴搅拌冷却; 然后滴加  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  7.2g (120mmol), 搅拌 5 分钟; 在 40 分钟内滴加苯甲醛 10.6g (100mmol) 的甲醇溶液 (32mL); 加毕, 继续搅拌 1 小时, 然后将反应液快速倒入冰水浴预冷的浓盐酸 30ml (600mmol), 搅拌 10 分钟; 所得固体抽滤, 水洗, 得鲜黄色针晶 12.2g (81.8mmol), 收率 81.8%。

[0039]  $^1\text{H}$ NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8.02 (d, 1H,  $J = 13.69\text{Hz}$ ,  $-\text{CH}=\text{C}$ ); 7.60 (d, 1H,  $J = 13.70\text{Hz}$ ,  $=\text{CH}-\text{NO}_2$ ); 7.57-7.44 (m, 5H, PhH).

[0040] 1.22-[( $\alpha$ - (硝基甲基) 苄基) 硫代苯甲酸 (HZkc02) 的制备

[0041]



[0042]  $\beta$ -硝基苯乙烯 12.2g (81.8mmol), 硫代水杨酸 12.67g (81.8mmol), 无水乙醇 70mL 加入三颈瓶, 回流 3 小时, 反应完毕, 室温静置冷却, 析出白色针晶, 抽滤, 乙醇洗涤, 得 16.3g (53.7mmol), 收率 65.7%。

[0043]  $^1\text{H}$ NMR (400MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  ppm 13.20 (s, 1H, COOH); 7.83 (d, 1H,  $J = 7.69\text{Hz}$ , PhH); 7.62-7.50 (m, 4H, PhH); 7.37-7.25 (m, 4H, PhH); 5.30-5.18 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 5.04 (m, 1H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ). MS (+ESI)  $m/z$ : 303.7 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ , 628.5 [ $2\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ .

[0044] 1.32-[( $\alpha$ - (硝基甲基) 苄基) 硫代苯甲酸甲酯 (HZkc03) 的制备

[0045]

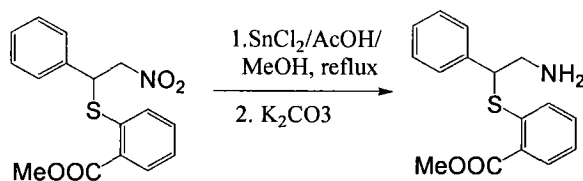


[0046] 2-[( $\alpha$ - (硝基甲基) 苄基) 硫代苯甲酸 16.3g (53.7mmol) 加入三颈瓶, 加甲醇 80ml, 冰水浴搅拌冷却, 滴加  $\text{SOCl}_2$  16ml。加毕, 回流反应两小时, 反应液室温冷却, 析出固体, 抽滤, 甲醇洗, 得白色针晶 15.6g (49mmol), 收率 91.2%。

[0047]  $^1\text{H}$ NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm: 7.91 (d, 1H,  $J = 7.22\text{Hz}$ , PhH); 7.50-7.46 (m, 2H, PhH); 7.43-7.41 (m, 2H, PhH); 7.38-7.26 (m, 4H, PhH); 5.14 (dd, 1H,  $J = 5.56\text{Hz}$ , 11.20Hz,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 4.90-4.77 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ). MS (+ESI)  $m/z$ : 318.1 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ ; 340.0 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ .

[0048] 1.42-[( $\alpha$ - (氨基甲基) 苄基) 硫代苯甲酸甲酯 (HZkc04) 的制备

[0049]



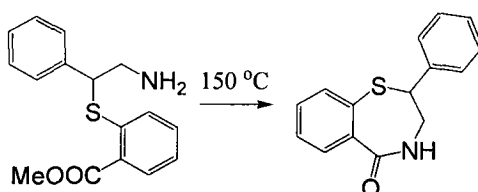
[0050] 将 2-[( $\alpha$ - (硝基甲基) 苄基) 硫代苯甲酸 15.6g (49mmol),  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  44.0g (196mmol), AcOH 47ml (784mmol), MeOH 140ml 加入三颈瓶, 回流反应 3 小时。反应

完毕,冷却至室温,在冰水浴条件下滴加  $K_2CO_3$  (135g) 的水溶液 200ml,加毕,室温下 EtOAc 萃取,萃取液减压浓缩,得糖浆状物;将此产物粗品溶于 EtOAc 50ml,加  $Et_2O$ /浓盐酸 (1 : 1) 80ml,充分震荡,分层,下层用乙醚萃取三次,减压浓缩。然后溶于 EA,冰水浴条件下加入  $K_2CO_3$  aq (20g 溶于 60ml 水),EA 萃取。EA 萃取液减压浓缩,得橘红色糖浆状物 7.1g,收率 57.0%。

[0051]  $^1H$ NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ) :  $\delta$  ppm : 7.86 (d, 1H,  $J = 7.57$ Hz, PhH) ; 7.43-7.24 (m, 7H, PhH) ; 7.15 (m, 1H, PhH) ; 4.42 (t, 1H,  $J = 6.62$ Hz,  $CH-CH_2$ ) ; 3.91 (s, 3H,  $COOCH_3$ ) ; 3.47 (bs, 3H,  $NH_2$  and  $CH-CH_2$ ) ; 3.21 (d, 1H,  $J = 5.68$ Hz,  $CH-CH_2$ ) . MS (+ESI) m/z : 288.1  $[M+H]^+$  .

[0052] 1.53,4-二氢-2-苄基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkc05)

[0053]

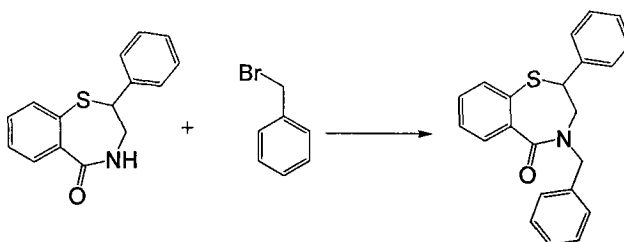


[0054] 将 2-[( $\alpha$ -(氨基甲基)苄基]硫代苯甲酸甲酯粗品于 150 $^{\circ}C$  加热 1.5 小时,反应毕,加入乙腈 3ml,室温冷却,析出晶体。抽滤,乙腈洗涤,得浅黄色砂晶 2.36g (8.6mmol),收率 50.6%。

[0055]  $^1H$ NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ) :  $\delta$  ppm 8.08 (t, 1H,  $J = 6.30$ Hz, PhH) ; 7.73 (m, 1H, PhH) ; 7.62 (m, 1H, PhH) ; 7.52-7.45 (m, 2H, PhH) ; 7.32-7.24 (m, 4H, PhH) ; 4.63 (m, 1H,  $CH-CH_2$ ) ; 3.63-3.56 (m, 1H,  $CH-CH_2$ ) ; 3.41-3.33 (m, 1H,  $CH-CH_2$ ) . MS (+ESI) m/z : 255.9  $[M+H]^+$  , 510.5  $[2M+H]^+$  .

[0056] 1.64-苄基-3,4-二氢-2-苄基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkca) 的制备

[0057]



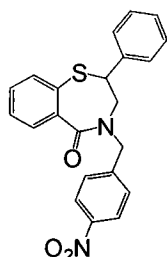
[0058] 60% 的 NaH (0.60g, 6mmol) 加入到溶有 HZkc05 (0.51g, 2mmol) 的 8ml DMF 中,25 $^{\circ}C$  搅拌 30 分钟后于 0 $^{\circ}C$  滴加溶有溴苄 (0.68ml, 4mmol) 的 6ml DMF 溶液,继续搅拌 1 小时。反应液经盐酸酸化,冷却,沉淀水洗至中性,甲醇重结晶得白色晶体 0.87g,收率 42.2%。

[0059]  $^1H$ NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ) :  $\delta$  ppm 7.83 (dd, 1H,  $J = 1.40$ Hz, 5.90Hz, PhH) ; 7.56-7.31 (m, 8H, PhH) ; 7.27-7.22 (m, 3H, PhH) ; 7.06-7.04 (m, 2H, PhH) ; 5.07 (d, 1H,  $J = 14.7$ Hz,  $PhCH_2$ ) ; 4.71 (d, 1H,  $J = 14.7$ Hz,  $PhCH_2$ ) ; 4.18 (dd, 1H,  $J = 5.20$ Hz, 11.00Hz,  $CH-CH_2$ ) ; 3.57-3.43 (m, 2H,  $CH-CH_2$ ) . MS (+ESI) m/z : 346.1  $[M+H]^+$  ; 368.0  $[M+Na]^+$  .

[0060] 实施例 2

[0061] 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-苄基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkcc) 的制备

[0062]



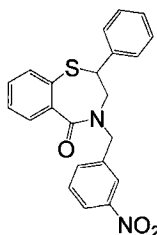
[0063] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成对硝基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,黄色砂晶,收率 51.2%。

[0064]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  ppm 8.22(d, 1H,  $J = 8.71\text{Hz}$ , PhH) ; 8.07(d, 1H,  $J = 8.41\text{Hz}$ , PhH) ; 7.83-7.81(dd, 1H,  $J = 1.40\text{Hz}, 5.62\text{Hz}$ , PhH) ; 7.59-7.47(m, 5H, PhH) ; 7.30-7.10(m, 5H, PhH) ; 5.06(d, 1H,  $J = 15.50\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.85(d, 1H,  $J = 15.52\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.37(dd, 1H,  $J = 4.81\text{Hz}, 11.04\text{Hz}$ ,  $\text{CH-CH}_2$ ) ; 3.68-3.62(m, 1H,  $\text{CH-CH}_2$ ) ; 3.52-3.47(m, 1H,  $\text{CH-CH}_2$ ) . MS(+ESI)  $m/z$  : 391.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$  , 413.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  .

[0065] 实施例 3

[0066] 4-(3-硝基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkcd)的制备

[0067]



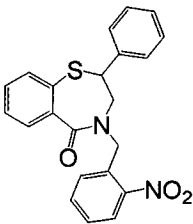
[0068] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成间硝基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(3-硝基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,黄色针状晶体,收率 86.2%。

[0069]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  ppm : 8.21(s, 1H, PhH) ; 8.18(d, 1H,  $J = 6.83\text{Hz}$ , PhH) ; 7.83(dd, 1H,  $J = 1.95\text{Hz}, 5.85\text{Hz}$ , PhH) ; 7.81(d, 1H,  $J = 7.80\text{Hz}$ , PhH) ; 7.59-7.47(m, 4H, PhH) ; 7.30-7.25(m, 3H, PhH) ; 7.13(d, 1H,  $J = 2.44\text{Hz}$ , PhH) ; 7.12(d, 1H,  $J = 1.47\text{Hz}$ , PhH) ; 4.40(d, 1H,  $J = 15.12\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.91(d, 1H,  $J = 15.11\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.39(dd, 1H,  $J = 4.88\text{Hz}, 10.73\text{Hz}$ ,  $\text{CHCH}_2$ ) ; 3.69-3.49(m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ) . MS(+ESI)  $m/z$  : 390.7  $[\text{M}+\text{H}]^+$  ; 412.6  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  .

[0070] 实施例 4

[0071] 4-(2-硝基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkce)的制备

[0072]



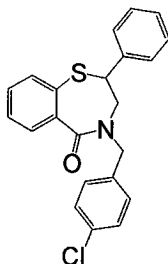
[0073] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成邻硝基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(2-硝基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,黄色针状晶体,收率 84.2%。

[0074]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8.06 (dd, 1H,  $J = 0.97\text{Hz}, 7.32\text{Hz}$ , PhH); 7.86-7.18 (m, 12H, PhH); 5.32 (d, 1H,  $J = 17.06\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 5.20 (d, 1H,  $J = 17.06\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.57 (m, 1H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 3.72-3.56 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ). MS (+ESI)  $m/z$ : 391.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 413.0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0075] 实施例 5

[0076] 4-(4-氯苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkcf) 的制备

[0077]



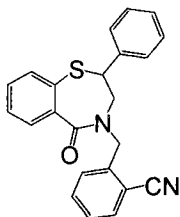
[0078] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成对氯溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(4-氯苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,白色针状晶体,收率 90.3%。

[0079]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.87 (dd, 1H,  $J = 1.47\text{Hz}, 5.85\text{Hz}$ , PhH); 7.63-7.50 (m, 3H, PhH); 7.43-7.38 (m, 4H, PhH); 7.35-7.29 (m, 3H, PhH); 7.15-7.12 (m, 2H, PhH); 5.06 (d, 1H,  $J = 15.12\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.73 (d, 1H,  $J = 15.12\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.30 (dd, 1H,  $J = 4.87\text{Hz}, 1.21\text{Hz}$ ,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 3.66-3.49 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ). MS (+ESI)  $m/z$ : 380.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0080] 实施例 6

[0081] 4-(2-氰基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkcg) 的制备

[0082]



[0083] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成邻氰基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(2-氰基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂

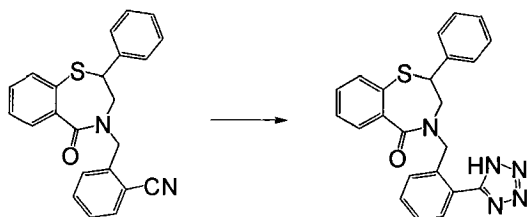
草酮,白色砂晶,收率 93.2%。

[0084]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  ppm 7.78-7.43(m, 7H, PhH) ;7.38(td, 1H,  $J = 1.17\text{Hz}$ , 6.66Hz, PhH) ;7.25-7.20(m, 3H, PhH) ;7.14-7.12(m, 2H, PhH) ;5.13(d, 1H,  $J = 15.65\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ;5.06(d, 1H,  $J = 15.65\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ;4.42(m, 1H,  $\text{CH-CH}_2$ ) ;3.60-3.47(m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ) . MS(+ESI)m/z :371.0[M+H] $^+$  ;393.1[M+Na] $^+$  .

[0085] 实施例 7

[0086] 4-(2-(四氮唑-5-基)苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂草酮(HZkch)的制备

[0087]



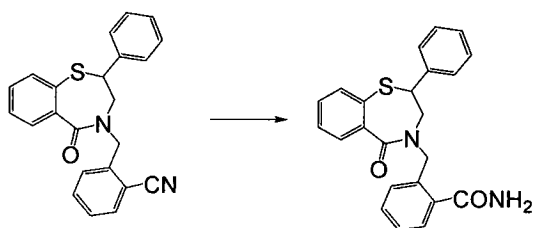
[0088] HZkcg 0.37g(1mmol), 四丁基氟化铵(TBAF)260mg(0.1mmol), 叠氮三甲基硅烷( $\text{TMSN}_3$ )230mg(2mmol), 加入三颈瓶,  $40^\circ\text{C}$  反应 20 小时。反应完毕, 反应液加 2M 盐酸稀释, 用乙酸乙酯(EA)萃取, EA 萃取液用 2M 盐酸洗涤两次, 无水  $\text{MgSO}_4$  干燥。抽滤, 减压蒸馏蒸去溶剂, 得白色片状固体 0.37g(0.9mmol), 收率 91.2%。

[0089]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $d_6$ -DMSO) :  $\delta$  ppm 16.92(bs, 1H, NH) ;7.85(d, 1H,  $J = 7.83\text{Hz}$ , PhH) ;7.75-7.56(m, 7H, PhH) ;7.34-7.21(m, 5H, PhH) ;5.39(d, 1H,  $J = 16.19\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ;5.05(d, 1H,  $J = 16.19\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ;4.86(m, 1H,  $\text{CH-CH}_2$ ) ;3.66-3.40(m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ) . MS(+ESI)m/z : 414.1[M+H] $^+$  ;436.0[M+Na] $^+$  .

[0090] 实施例 8

[0091] 4-(2-酰胺基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂草酮(HZkci)的制备

[0092]



[0093] HZkcg 0.37g(1mmol), 三氟乙酸(TFA)1ml, 浓硫酸 1ml, 加入三颈瓶,  $100^\circ\text{C}$  加热 5 小时。反应完毕, 反应液加水稀释, 室温冷却, 析出固体, 抽滤, 得浅黄色粉末 0.36g, 收率 92.1%。

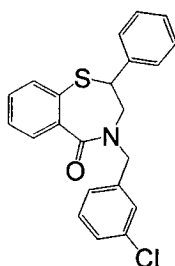
[0094]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $d_6$ -DMSO) :  $\delta$  ppm 7.95(s, 1H, PhH) ;7.68-7.17(m, 14H, PhH,  $\text{CONH}_2$ ) ;5.12(d, 1H,  $J = 15.26\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ;4.87(d, 1H,  $J = 15.26\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ;4.70(dd, 1H,  $J = 4.70\text{Hz}$ , 11.74Hz,  $\text{CH-CH}_2$ ) ;3.69-3.35(m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ) . MS(+ESI)m/z :389.0[M+H] $^+$  ;411.1[M+Na] $^+$  .

[0095] 实施例 9

[0096] 4-(3-氯苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂草酮(HZkcj)

的制备

[0097]



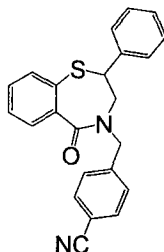
[0098] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成间氯基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(3-氯苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,白色针晶,收率 93.4%。

[0099]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  ppm 7.90-7.53 (m, 4H, PhH) ; 7.44 (s, 1H, PhH) ; 7.36-7.30 (m, 6H, PhH) ; 7.17-7.15 (m, 2H, PhH) ; 5.00 (d, 1H,  $J = 15.11\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.82 (d, 1H,  $J = 15.11\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.35 (dd, 1H,  $J = 4.88\text{Hz}, 11.22\text{Hz}$ ,  $\text{CH-CH}_2$ ) ; 3.67-3.50 (m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ). MS (+ESI)  $m/z$  : 380.0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0100] 实施例 10

[0101] 4-(4-氰基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkck) 的制备

[0102]



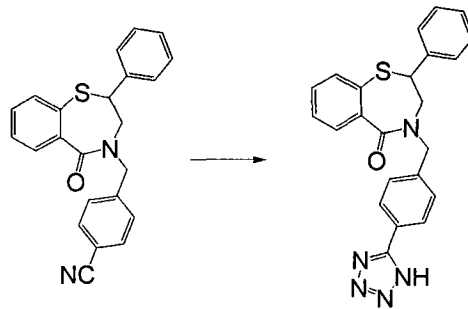
[0103] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成对氰基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(4-氰基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,白色砂晶,收率 91.4%。

[0104]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  ppm 7.81 (dd, 1H,  $J = 1.83\text{Hz}, 7.33\text{Hz}$ , PhH) ; 7.66 (d, 2H,  $J = 7.94\text{Hz}$ , PhH) ; 7.58-7.48 (m, 5H, PhH) ; 7.29-7.25 (m, 3H, PhH) ; 7.11-7.09 (m, 2H, PhH) ; 5.01 (d, 1H,  $J = 15.58\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.81 (d, 1H,  $J = 15.58\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ) ; 4.32 (dd, 1H,  $J = 4.88\text{Hz}, 10.99\text{Hz}$ ,  $\text{CH-CH}_2$ ) ; 3.66-3.44 (m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ). MS (+ESI)  $m/z$  : 371.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0105] 实施例 11

[0106] 4-(4-(四氮唑-5-基)苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkc1) 的制备

[0107]



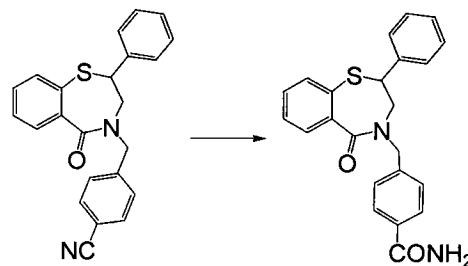
[0108] 将实施例 7 中的 HZkcg 替换成 HZkck, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 7, 得产物 4-(4-(四氮唑-5-基)苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮, 白色片状固体, 收率 89.5%。

[0109]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $d_6$ -DMSO) :  $\delta$  ppm 16.80 (bs, 1H, NH) ; 8.02 (d, 2H, J = 8.05Hz, PhH) ; 7.71-7.55 (m, 6H, PhH) ; 7.28-7.15 (m, 5H, PhH) ; 4.99 (d, 1H, J = 15.36Hz, PhCH<sub>2</sub>) ; 4.86 (d, 1H, J = 15.37Hz, PhCH<sub>2</sub>) ; 4.74 (dd, 1H, J = 4.76Hz, 11.71Hz, CH-CH<sub>2</sub>) ; 3.64-3.46 (m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>). MS (+ESI) m/z : 414.1 [M+H]<sup>+</sup> ; 436.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0110] 实施例 12

[0111] 4-(4-酰胺基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkcm) 的制备

[0112]



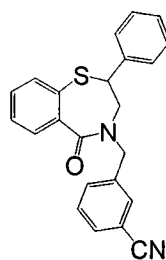
[0113] 将实施例 8 中的 HZkcg 替换成 HZkck, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 8, 得产物 4-(4-酰胺基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮, 白色粉末状固体, 收率 91.5%。

[0114]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $d_6$ -DMSO) :  $\delta$  ppm 7.96-7.15 (m, 15H, PhH, CONH<sub>2</sub>) ; 4.96 (d, 1H, J = 15.25Hz, PhCH<sub>2</sub>) ; 4.84 (d, 1H, J = 15.25Hz, PhCH<sub>2</sub>) ; 4.70 (dd, 1H, J = 5.09Hz, 11.74Hz, CH-CH<sub>2</sub>) ; 3.61-3.44 (m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>). MS (+ESI) m/z : 389.2 [M+H]<sup>+</sup> ; 411.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0115] 实施例 13

[0116] 4-(3-氰基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkcn) 的制备

[0117]



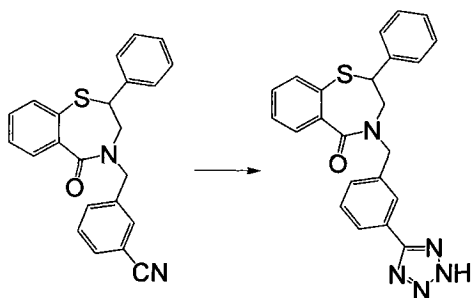
[0118] 将实施例 1 步骤 1.6 中的溴苄替换成间氰基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1,得产物 4-(3-氰基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,白色砂晶,收率 93.1%。

[0119]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.83-7.46 (m, 8H, PhH); 7.31-7.25 (m, 3H, PhH); 7.13-7.11 (m, 2H, PhH); 4.93 (d, 1H,  $J = 15.26\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.83 (d, 1H,  $J = 15.26\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.35 (dd, 1H,  $J = 5.09\text{Hz}, 11.35\text{Hz}$ ,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 3.65-3.44 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ );  $\text{MS} (+\text{ESI}) m/z$ : 371.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0120] 实施例 14

[0121] 4-(3-(四氮唑-5-基)苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkco) 的制备

[0122]



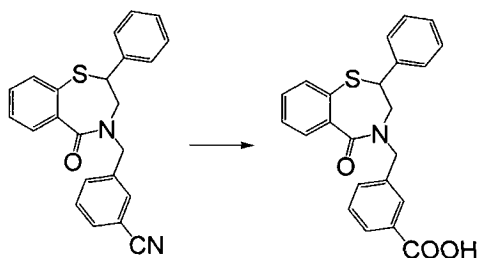
[0123] 将实施例 7 中的 HZkcg 替换成 HZkcn,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 7,得产物 4-(3-(四氮唑-5-基)苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮,白色片状固体,收率 91.4%。

[0124]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  ppm 8.08 (s, 1H, PhH); 7.96 (d, 1H,  $J = 7.04\text{Hz}$ , PhH); 7.73-7.56 (m, 6H, PhH); 7.30-7.17 (m, 5H, PhH); 5.07 (d, 1H,  $J = 14.87\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.87 (d, 1H,  $J = 14.87\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.79 (dd, 1H,  $J = 5.08\text{Hz}, 11.73\text{Hz}$ ,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 3.67-3.48 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ).  $\text{MS} (+\text{ESI}) m/z$ : 414.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 827.3  $[2\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0125] 实施例 15

[0126] 4-(3-羧基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkcp) 的制备

[0127]



[0128] HZkcn 0.37g (1mmol)、浓 HCl 2ml,加入封管中,120℃反应 5 小时。反应完毕,室温冷却,加水稀释,析出固体,抽滤,得白色粉末,收率 75.5%。

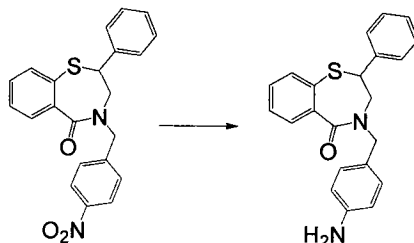
[0129]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  ppm 13.01 (s, 1H,  $\text{COOH}$ ); 8.01 (s, 1H, PhH); 7.87 (d, 1H,  $J = 7.94\text{Hz}$ , PhH); 7.69-7.47 (m, 6H, PhH); 7.28-7.13 (m, 5H, PhH); 4.98 (d, 1H,  $J = 14.97\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.84 (d, 1H,  $J = 14.97\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.69 (dd, 1H,  $J = 4.58\text{Hz}, 11.61\text{Hz}$ ,

CH-CH<sub>2</sub>) ;3.61-3.41 (m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>). MS(+ESI)m/z :390.1 [M+H]<sup>+</sup> ;779.2 [2M+H]<sup>+</sup>.

[0130] 实施例 16

[0131] 4-(2-氨基苄基)-3,4-二氢-2-苯基苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkccq) 的制备

[0132]



[0133] 活性炭 0.36g (30mmol), FeCl<sub>3</sub> 15mg (0.12mmol), 乙醇 5ml, 加入到三颈瓶, 回流 30 分钟, 然后加入 HZkcc 0.39g (1mmol), 回流 30 分钟。停止加热, 反应液稍冷却后加入水合肼 0.10g, 回流反应 2 小时。反应完毕, 抽滤, 滤液减压蒸去溶剂, 室温冷却, 得浅黄针状晶体, 收率 92.5%。

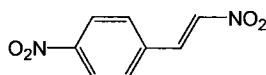
[0134] <sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ ppm 7.80 (d, 1H, J = 7.80Hz, PhH) ;7.56-7.42 (m, 3H, PhH) ;7.27-7.22 (m, 5H, PhH) ;7.05 (d, 2H, J = 7.31Hz, PhH) ;6.69 (d, 2H, J = 6.82Hz, PhH) ;5.05 (d, 1H, J = 14.13Hz, PhCH<sub>2</sub>) ;4.49 (d, 1H, J = 14.14Hz, PhCH<sub>2</sub>) ;4.14 (t, 1H, J = 7.80Hz, CH-CH<sub>2</sub>) ;3.52-3.44 (m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>) ;3.20 (bs, 2H, PhNH<sub>2</sub>). MS(+ESI)m/z :361.1 [M+H]<sup>+</sup> ;721.3 [2M+H]<sup>+</sup>.

[0135] 实施例 17

[0136] 4-苄基-3,4-二氢-2-(4-氨基苄基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkj08a) 的制备

[0137] 17.1 β-硝基-(4-硝基苄基)乙烯 (HZkj01) 的制备

[0138]

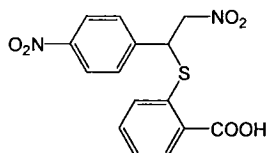


[0139] 将实施例 1 步骤 1.1 中的苯甲醛替换成对硝基苯甲醛, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.1, 得产物 β-硝基-(4-硝基苄基)乙烯, 黄色针晶, 收率 72%。

[0140] <sup>1</sup>HNMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ ppm 8.31 (d, 2H, J = 8.60Hz, PhH), 8.05 (d, 1H, J = 14.10Hz, -CH=C), 7.74 (d, 2H, J = 8.60Hz, PhH), 7.65 (d, 1H, J = 14.10Hz, =CH-NO<sub>2</sub>).

[0141] 17.22-(2-硝基-1-(4-硝基苄基)乙基硫代)苯甲酸 (HZkj02) 的制备

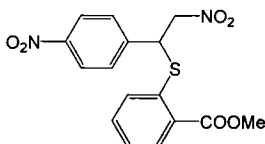
[0142]



[0143] 将实施例 1 步骤 1.2 中的 HZkc01 替换成 HZkj01, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.2, 得产物 2-(2-硝基-1-(4-硝基苄基)乙基硫代)苯甲酸。类白色砂晶, 收率 81%, m. p. 124.2°C -127.9°C。

[0144] 17.32-(2-硝基-1-(4-硝基苄基)乙基硫代)苯甲酸甲酯 (HZkj03) 的制备

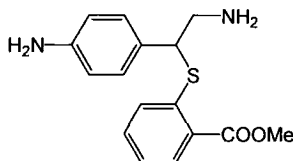
[0145]



[0146] 将实施例 1 步骤 1.3 中的 HZkc02 替换成 HZkj02, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.3, 得产物 2-(2-硝基-1-(4-硝基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯。桔黄色糖浆状物, 收率 85%。产物未进一步纯化, 可直接用于下一步反应。

[0147] 17.42-(2-氨基-1-(4-氨基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯 (HZkj04) 的制备

[0148]

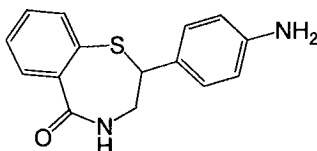


[0149] 将实施例 1 步骤 1.4 中的 HZkc03 替换成 HZkj03, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.4, 得产物 2-(2-氨基-1-(4-氨基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯。浅黄色粉末, 收率 70%, m. p. 148.4°C -149.2°C。

[0150]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.86 (m, 1H, PhH), 7.35-7.28 (m, 2H, PhH), 7.24-7.21 (m, 2H, PhH), 7.13 (m, 1H, PhH), 6.66-6.62 (m, 2H, PhH), 4.26 (t, 1H,  $J = 7.00\text{Hz}$ ,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ), 3.92 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.70 (bs, 2H,  $\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ), 3.18-3.08 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ), 1.46 (bs, 2H,  $\text{Ph}-\text{NH}_2$ ). MS(+ESI) m/z :303.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 325.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0151] 17.53, 4-二氢-2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkj05) 的制备

[0152]

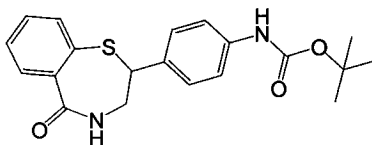


[0153] 将实施例 1 步骤 1.5 中的 HZkc04 替换成 HZkj04, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.5, 得产物 3,4-二氢-2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮。浅黄色粉末, 收率 59%, m. p. 235.5°C -237.4°C。

[0154]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  ppm 8.48 (t, 1H,  $J = 6.31\text{Hz}$ , PhH), 7.58-7.48 (m, 3H, PhH), 6.91 (d, 2H,  $J = 8.62\text{Hz}$ , PhH), 6.45 (d, 2H,  $J = 8.20\text{Hz}$ , PhH), 5.07 (bs, 2H,  $\text{PhNH}_2$ ), 4.48 (dd, 1H,  $J = 4.7\text{Hz}, 8.62\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.30-3.25 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 3.12-3.04 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ). MS(+ESI) m/z :271.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 541.2  $[2\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0155] 17.63, 4-二氢-2-(4-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkj06) 的制备

[0156]

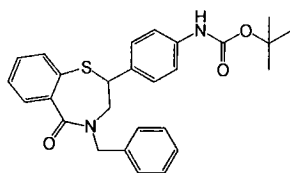


[0157] 取 HZkj05 0.54g(2mmol), (Boc)<sub>2</sub>O 1.6g(8mmol), 加 DMF 8ml, Et<sub>3</sub>N 0.9ml, 50℃ 反应 12 小时。反应完毕, 加水稀释, EtOAc 萃取。萃取液用 brine 洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 减压蒸去溶剂, 粗品硅胶柱层析, PE/EA/MeOH(10 : 6 : 1) 洗脱, 得目标产物, 经甲醇重结晶得类白色针晶, 收率 72%, m. p. 214.9℃ -216.0℃。

[0158] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ ppm 7.78(d, 1H, J = 5.82Hz, PhH), 7.59(d, 1H, J = 6.81Hz, PhH), 7.51-7.48(m, 2H, PhH), 7.34-7.23(m, 4H, PhH), 6.72(bs, 1H, NH), 6.52(bs, 1H, NH), 4.58(dd, 1H, J = 5.41Hz, 9.30Hz, CHCH<sub>2</sub>), 3.59-3.51(m, 1H, CHCH<sub>2</sub>), 3.40-3.34(m, 1H, CHCH<sub>2</sub>), 1.52(s, 9H, 3CH<sub>3</sub>)。MS(+ESI)m/z : 393.1[M+Na]<sup>+</sup>, 741.2[2M+H]<sup>+</sup>。

[0159] 17.74- 苄基 -3,4- 二氢 -2-(4-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮 -5(2H)-杂 萆酮 (HZkj07a) 的制备

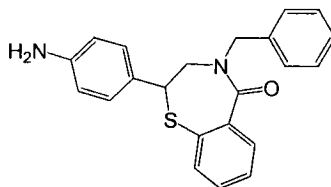
[0160]



[0161] 取 HZkj06 0.15g, 加叔丁醇钾 0.09g, THF 1.5ml, 冰水浴反应半小时, 然后加入溴苄, 继续反应 2 小时。反应完毕, 加水, 析出固体, 加 EtOAc 萃取, 萃取液 brine 洗涤, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 减压蒸去溶剂, 所得产物未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

[0162] 17.84- 苄基 -3,4- 二氢 -2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮 -5(2H)-杂 萆酮 (HZkj08a) 的制备

[0163]



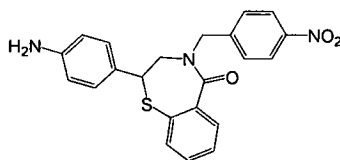
[0164] HZkj07a 0.067g 溶于 2ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 加入 TFA 0.2ml, 室温搅拌 6 小时。反应完毕, 减压蒸去溶剂, 粗品硅胶柱层析, PE/EA/MeOH/Et<sub>3</sub>N(10 : 6 : 1 : 0.05) 洗脱, 得 4-苄基 -3,4- 二氢 -2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮 -5(2H)-杂 萆酮, 黄色固体, 收率 87%, m. p. 82.5℃ -85.3℃。

[0165] <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ ppm 7.81(d, 1H, J = 7.30Hz, PhH), 7.54-7.30(m, 8H, PhH), 6.87(d, 2H, J = 8.30Hz, PhH), 6.65(d, 2H, J = 8.30Hz, PhH), 5.05(d, 1H, J = 14.61Hz, PhCH<sub>2</sub>), 4.70(d, 1H, J = 14.11Hz, PhCH<sub>2</sub>), 4.15(dd, 1H, J = 5.4Hz, 10.20Hz, CH-CH<sub>2</sub>), 3.87(bs, 2H, PhNH<sub>2</sub>), 3.52-3.40(m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>)。 <sup>13</sup>C NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm : 170.1, 140.4, 137.1, 134.3, 131.4, 129.9, 129.2, 129.1, 128.8, 128.5, 127.9, 116.4, 53.6, 53.0, 50.3。MS(+ESI)m/z : 361.1[M+H]<sup>+</sup>, 721.3[2M+H]<sup>+</sup>。

[0166] 实施例 18

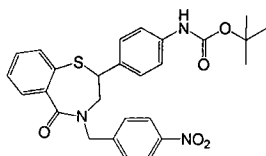
[0167] 4-(4-硝基苄基)-3,4- 二氢 -2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮杂 萆 -5(2H)-酮 (HZkj08b) 的制备

[0168]



[0169] 18. 14-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(4-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮杂萘-5(2H)-酮 (HZkj07b) 的制备

[0170]

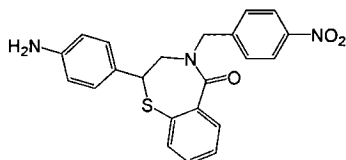


[0171] 将实施例 17 步骤 17.7 中的溴苄替换成对硝基溴苄,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 17.7,得产物 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(4-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮杂萘-5(2H)-酮。类白色粉末,收率 50%。

[0172]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8.18 (d, 2H,  $J = 8.30\text{Hz}$ , PhH), 7.80 (d, 1H,  $J = 8.30\text{Hz}$ , PhH), 7.57-7.44 (m, 5H, PhH), 7.27 (d, 2H,  $J = 8.30\text{Hz}$ , PhH), 7.01 (d, 2H,  $J = 8.30\text{Hz}$ , PhH), 6.82 (s, 1H, NH), 5.03 (d, 1H,  $J = 15.60\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.83 (d, 1H,  $J = 15.60\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.35 (dd, 1H,  $J = 4.90\text{Hz}, 10.70\text{Hz}$ ,  $\text{CHCH}_2$ ), 3.63-3.44 (m, 2H,  $\text{CHCH}_2$ ), 1.48 (s, 9H,  $3\text{CH}_3$ ). MS (+ESI)  $m/z$ : 450.1  $[\text{M}-\text{tBu}]^+$ , 528.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0173] 18. 24-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮杂萘-5(2H)-酮 (HZkj08b) 的制备

[0174]



[0175] 将实施例 17 步骤 17.8 中的 HZkj07a 替换成 HZkj07b,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 17.8,得产物 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(4-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮杂萘-5(2H)-酮 (HZkj08b),黄色针晶,收率 88%, m. p. 191.8 $^{\circ}\text{C}$  -193.0 $^{\circ}\text{C}$ 。

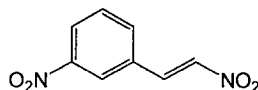
[0176]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8.22 (d, 2H,  $J = 8.72\text{Hz}$ , PhH); 7.80 (dd, 1H,  $J = 1.98\text{Hz}, 7.13\text{Hz}$ , PhH); 7.58-7.44 (m, 5H, PhH); 6.89 (d, 2H,  $J = 8.32\text{Hz}$ , PhH); 6.57 (d, 2H,  $J = 8.32\text{Hz}$ , PhH); 5.05 (d, 1H,  $J = 15.46\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.71 (d, 1H,  $J = 15.46\text{Hz}$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.30 (dd, 1H,  $J = 4.76\text{Hz}, 10.70\text{Hz}$ ,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ); 3.77 (bs, 2H,  $\text{PhNH}_2$ ); 3.63-3.42 (m, 2H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 170.3, 147.5, 145.9, 145.0, 140.1, 134.4, 131.7, 131.0, 130.0, 129.3, 129.2, 128.7, 124.0, 115.4, 53.8, 53.6, 50.3. MS (+ESI)  $m/z$ : 406.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 811.3  $[\text{2M}+\text{H}]^+$ .

[0177] 实施例 19

[0178] 4-苄基-3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkf08a) 的制备

[0179] 19.1  $\beta$ -硝基-(3-硝基苯基)乙烯 (HZkf01) 的制备

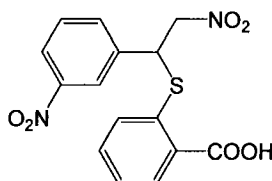
[0180]



[0181] 将实施例 1 步骤 1.1 中的苯甲醛替换成间硝基苯甲醛,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.1,得产物  $\beta$ -硝基-(3-硝基苯基)乙烯,黄色针状晶体,收率 75%, m. p. 126. 2°C -127. 0°C。

[0182]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  ppm 8. 43(t, 1H, J = 2. 00Hz, PhH), 8. 36(m, 1H, PhH), 8. 05(d, 1H, J = 13. 70Hz,  $-\text{CH}=\text{C}$ ), 7. 88(d, 1H, J = 7. 80Hz, PhH), 7. 71-7. 67(m, 2H, PhH and  $=\text{CH}-\text{NO}_2$ ).

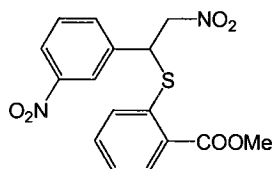
[0183] 19. 22-(2-硝基-1-(3-硝基苯基)乙基硫代)苯甲酸 (HZkf02) 的制备  
[0184]



[0185] 将实施例 1 步骤 1.2 中的 HZkc01 替换成 HZkf01,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.2,得产物 2-(2-硝基-1-(3-硝基苯基)乙基硫代)苯甲酸。类白色砂晶,收率 79%, m. p. 153. 6°C -156. 0°C。

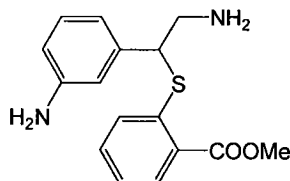
[0186]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :  $\delta$  ppm 13. 25(s, 1H,  $\text{COOH}$ ), 8. 51(t, 1H, J = 2. 01Hz, PhH), 8. 16(m, 1H, PhH), 8. 06(d, 1H, J = 8. 21Hz, PhH), 7. 84(dd, 1H, J = 1. 60Hz, 7. 90Hz, PhH), 7. 68-7. 64(m, 2H, PhH), 7. 53(td, 1H, J = 1. 20Hz, 7. 90Hz, PhH), 7. 29(td, 1H, J = 1. 20Hz, 7. 80Hz, PhH), 5. 56(dd, 1H, J = 6. 70Hz, 9. 01Hz,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ), 5. 43-5. 37(m, 1H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ), 5. 18-5. 13(m, 1H,  $\text{CH}-\text{CH}_2$ ).

[0187] 19. 32-(2-硝基-1-(3-硝基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯 (HZkf03) 的制备  
[0188]



[0189] 将实施例 1 步骤 1.3 中的 HZkc02 替换成 HZkf02,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.3,得产物 2-(2-硝基-1-(3-硝基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯。类白色针晶 (MeOH),收率 90%, m. p. 127. 4°C -129. 0°C。产物未经进一步纯化,直接用于下一步反应。

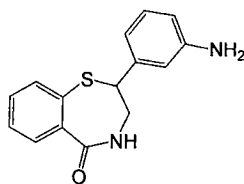
[0190] 19. 42-(2-氨基-1-(3-氨基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯 (HZkf04)  
[0191]



[0192] 将实施例 1 步骤 1.4 中的 HZkc03 替换成 HZkf03,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.4,得产物 2-(2-氨基-1-(3-氨基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯,桔黄色糖浆状物,收率 64%。产物未经进一步纯化,直接用于下一步反应。

[0193] 19. 53,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkf05)的制备

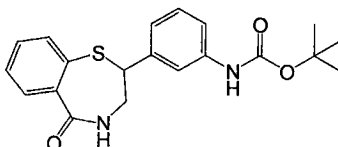
[0194]



[0195] 将实施例 1 步骤 1.5 中的 HZkc04 替换成 HZkf04,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.5,得产物 3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮。浅黄色粉末,收率 58%, m. p. 231.9°C -233.1°C。产物未经进一步纯化,直接用于下一步反应。

[0196] 19. 63,4-二氢-2-(3-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkf06)的制备

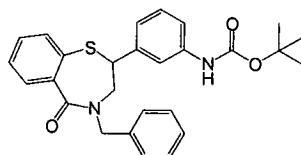
[0197]



[0198] 将实施例 17 步骤 17.6 中的 HZkj05 替换成 HZkf05,其余所需原料试剂及制备方法同实施例 17.6,得产物 3,4-二氢-2-(3-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮。白色针晶,收率 83%,m. p. 128.0°C -131.1°C。产物未经进一步纯化,直接用于下一步反应。

[0199] 19. 74-苄基-3,4-二氢-2-(3-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkf07a)的制备

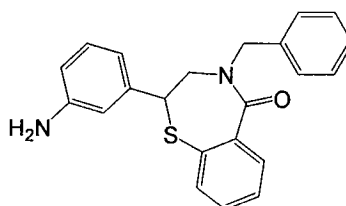
[0200]



[0201] 取 HZkf060.15g,加叔丁醇钾 0.09g, THF 1.5ml,冰水浴反应半小时,然后加入溴苄,继续反应 2 小时。反应完毕,加水,析出固体,加 EtOAc 萃取,萃取液 brine 洗涤,无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥,减压蒸去溶剂,产物未经进一步纯化,直接用于下一步反应。

[0202] 19. 84-苄基-3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkf08a)的制备

[0203]



[0204] 将实施例 17 步骤 17.8 中的 HZkj07a 替换成 HZkf07a,其余所需原料试剂及制

备方法同实施例 17.8, 得产物 4-苄基-3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkf08a), 黄色固体, 收率 55%, m. p. 59.5°C -63.2°C。

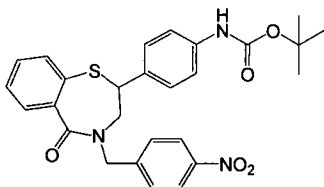
[0205]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.81(d, 1H, J = 7.51Hz, PhH), 7.56-7.26(m, 8H, PhH), 7.01(td, 1H, J = 2.40, 7.50Hz, PhH), 6.54(d, 1H, J = 7.91Hz, PhH), 6.42(d, 1H, J = 7.51Hz, PhH), 6.38(s, 1H, PhH), 5.04(d, 1H, J = 14.60Hz,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.71(d, 1H, J = 14.31Hz,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.12(dd, 1H, J = 5.60Hz, 13.50Hz,  $\text{CH-CH}_2$ ), 3.55-3.42(m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ), 2.94(bs, 2H,  $\text{PhNH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 169.9, 146.6, 142.7, 140.7, 137.3, 134.2, 131.3, 130.0, 129.7, 129.2, 129.1, 128.7, 128.5, 127.8, 116.9, 114.6, 113.3, 53.9, 52.8, 50.2. MS(+ESI)m/z :361.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 721.3  $[2\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0206] 实施例 20

[0207] 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkf08b) 的制备

[0208] 20.14-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(4-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkj07b) 的制备

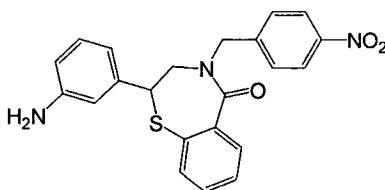
[0209]



[0210] 将实施例 19 步骤 19.7 中的溴苄替换成对硝基溴苄, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 19.7, 得产物 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(3-(N-叔丁氧酰氨基)苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮, 类白色粉末, 收率 52%。产物未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。。

[0211] 20.24-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkf08b) 的制备

[0212]



[0213] 将实施例 17 步骤 17.8 中的 HZkj07a 换成 HZkf07b, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 17.8, 得产物 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(3-氨基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkf08b), 黄色针晶, 收率 89%, m. p. 162.4°C -163.7°C。

[0214]  $^1\text{H}$ NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8.78(d, 2H, J = 8.78Hz, PhH); 7.82(dd, 1H, J = 1.95Hz, 7.32Hz, PhH); 7.59-5.0(m, 5H, PhH); 7.06(t, 1H, J = 7.80Hz, PhH); 6.58(dd, 1H, J = 1.46Hz, 7.80Hz, PhH); 6.50(d, 1H, J = 7.80Hz, PhH); 6.46(s, 1H, PhH); 5.07(d, 1H, J = 15.60Hz,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.82(d, 1H, J = 15.60Hz,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.26(dd, 1H, J = 4.88Hz, 10.73Hz,  $\text{CH-CH}_2$ ); 3.67-3.46(m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 170.2, 147.5, 146.5, 144.9, 142.1, 140.1, 134.4, 131.7, 130.0, 129.9, 129.3, 129.2, 128.7, 124.0, 117.0,

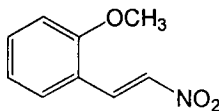
114. 9, 113. 3, 53. 8, 53. 6, 50. 2. MS(+ESI) : 406. 1 [M+H]<sup>+</sup>; 811. 3 [2M+H]<sup>+</sup>.

[0215] 实施例 21

[0216] 4-苄基-3,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮 (HZkka) 的制备

[0217] 21. 1β-硝基-(2-甲氧基苯基)乙烯 (HZkk01) 的制备

[0218]

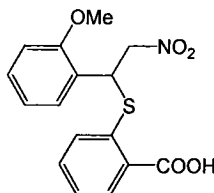


[0219] 邻甲氧基苯甲醛 13.6g(100mmol), 硝基甲烷 12g(200mmol), NH<sub>4</sub>Ac 7.7g(100mmol), 冰醋酸 85ml, 一同加入三颈瓶, 加热回流 3 小时。反应完毕, 反应液中加饱和食盐水 200 ml, 用 EtOAc 萃取。萃取液水洗, 无水 MgSO<sub>4</sub> 干燥, 减压蒸去溶剂, 得褐色糖浆状物粗品。粗品加甲醇稀释, 室温放置, 析出晶体, 抽滤, 甲醇洗涤, 得黄色针晶 7.7g(43mmol), 收率 43%, m. p. 47.6°C -47.9°C。

[0220] <sup>1</sup>HNMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ ppm 8.15(d, 1H, J = 13.60Hz, CH=C), 7.88(d, 1H, J = 13.70Hz, =CHNO<sub>2</sub>), 7.48-7.44(m, 2H, PhH), 7.02(td, 1H, J = 1.00Hz, 7.80Hz, PhH), 6.98(d, 1H, J = 7.80Hz, PhH), 3.95(s, 3H, OCH<sub>3</sub>). MS(+ESI)m/z : 180.1 [M+H]<sup>+</sup>, 202.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

[0221] 21. 22-(2-硝基-1-(2-甲氧基苯基)乙基硫代)苯甲酸 (HZkk02) 的制备

[0222]

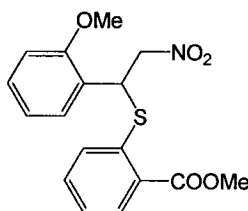


[0223] 将实施例 1 步骤 1.2 中的 HZkc01 替换成 HZkk01, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.2, 得产物 2-(2-硝基-1-(2-甲氧基苯基)乙基硫代)苯甲酸。类白色针晶, 收率 88%, m. p. 139.3°C -140.3°C。

[0224] <sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) : δ ppm 13.15(bs, 1H, COOH), 7.83(dd, 1H, J = 1.1Hz, 7.70Hz, PhH), 7.56-7.47(m, 3H, PhH), 7.32-7.23(m, 2H, PhH), 7.04(m, 1H, PhH), 6.93(t, 1H, J = 7.30Hz, PhH), 5.48(dd, 1H, J = 7.00Hz, 8.50Hz, CH-CH<sub>2</sub>), 5.25-5.19(m, 1H, CH-CH<sub>2</sub>), 5.05-5.00(m, 1H, CH-CH<sub>2</sub>), 3.85(s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

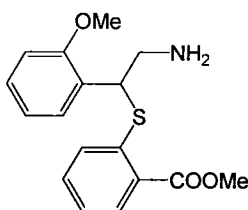
[0225] 21. 32-(2-硝基-1-(2-甲氧基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯 (HZkk03) 的制备

[0226]



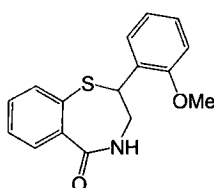
[0227] 将实施例 1 步骤 1.3 中的 HZkc02 替换成 HZkk02, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.3, 得产物 2-(2-硝基-1-(2-甲氧基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯。类白色针晶, 收率 88%, m. p. 114.9°C -117.8°C。产物未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。

[0228] 21.42-(2-氨基-1-(2-甲氧基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯(HZkk04)的制备  
[0229]



[0230] 将实施例 1 步骤 1.4 中的 HZkc03 替换成 HZkk03, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.4, 得产物 2-(2-氨基-1-(2-甲氧基苯基)乙基硫代)苯甲酸甲酯。桔黄色糖浆状物, 收率 67%。产物未经进一步纯化, 直接用于下一步反应。。

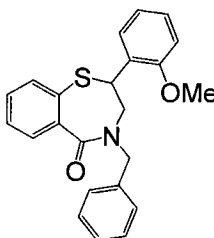
[0231] 21.53,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkk05)的制备  
[0232]



[0233] 将实施例 1 步骤 1.5 中的 HZkc04 替换成 HZkk04, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1.5, 得产物 3,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮。类白色针晶, 收率 62%, m. p. 176.7°C -180.1°C。

[0234]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.76 (m, 1H, PhH), 7.61 (m, 1H, PhH), 7.49-7.43 (m, 2H, PhH), 7.27-7.23 (m, 1H, PhH), 6.92 (td, 1H,  $J = 0.80\text{Hz}, 7.51\text{Hz}$ , PhH), 6.86 (d, 1H,  $J = 8.21\text{Hz}$ , PhH), 6.71 (t, 1H,  $J = 6.40\text{Hz}$ , PhH), 5.12 (dd, 1H,  $J = 5.11\text{Hz}, 9.41\text{Hz}$ ,  $\text{CHCH}_2$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.59-3.53 (m, 1H,  $\text{CHCH}_2$ ), 3.38-3.30 (m, 1H,  $\text{CHCH}_2$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm :172.4, 156.0, 139.8, 134.4, 131.5, 130.6, 129.8, 129.0, 128.8, 128.1, 120.7, 110.4, 55.3, 49.1, 45.9. MS(+ESI)m/z :286.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 571.2  $[2\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0235] 21.64-苄基-3,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkka)的制备  
[0236]



[0237] 将实施例 1 步骤 1.6 中的 HZkc05 替换成 HZkk05, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1, 得产物 4-苄基-3,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮, 白色片状晶体, 收率 92.4%。

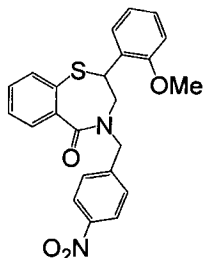
[0238]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.82-7.26 (m, 10H, PhH); 7.20 (td, 1H,  $J = 0.98\text{ Hz}, 7.31\text{Hz}$ , PhH); 6.86 (t, 1H,  $J = 7.31\text{Hz}$ , PhH); 6.80 (d, 1H,  $J = 8.29\text{Hz}$ , PhH); 4.91-4.87 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{-Ph}$ ,  $\text{CH-CH}_2$ ); 3.75 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.51-3.45 (m, 2H,  $\text{CH-CH}_2$ ). MS(+ESI): 376.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;

751.3[2M+H]<sup>+</sup>.

[0239] 实施例 22

[0240] 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkkc)的制备

[0241]



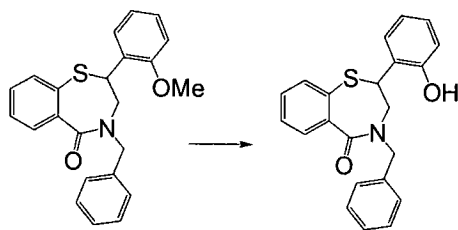
[0242] 将实施例 1 步骤 1.6 中的 HZkc05 换成 HZkk05, 溴苄替换成对硝基溴苄, 其余所需原料试剂及制备方法同实施例 1, 得产物 4-(4-硝基苄基)-3,4-二氢-2-(2-甲氧基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮。浅黄色针状晶体, 收率 89.6%。

[0243] <sup>1</sup>HNMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 8.23(d, 2H, J = 8.32Hz, PhH); 7.80(dd, 1H, J = 1.99Hz, 6.73Hz, PhH); 7.61(d, 3H, J = 8.32Hz, PhH); 7.51-7.45(m, 2H, PhH); 7.29(d, 1H, J = 7.92Hz, PhH); 7.22(t, 1H, J = 7.53Hz, PhH); 6.87(t, 1H, J = 7.53Hz, PhH); 6.82(d, 1H, J = 7.93Hz, PhH); 5.05(d, 1H, J = 15.45Hz, PhCH<sub>2</sub>); 4.88(d, 1H, J = 15.45Hz, PhCH<sub>2</sub>); 5.07-4.86(m, 1H, CH-CH<sub>2</sub>); 3.75(s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.58-3.46(m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>). MS(+ESI)m/z: 421.1[M+H]<sup>+</sup>; 841.3[2M+H]<sup>+</sup>.

[0244] 实施例 23

[0245] 4-苄基-3,4-二氢-2-(2-羟基苯基)苯并[f][1,4]噻氮-5(2H)-杂萘酮(HZkkb)的制备

[0246]



[0247] HZkka 0.37g, 氢溴酸 2ml, 加入三颈瓶, 回流 12 小时。反应完毕, 反应液室温置冷, 析出固体, 抽滤, 得白色针状晶体, 收率 91.6%。

[0248] <sup>1</sup>HNMR(400MHz, d<sub>6</sub>-DMSO): δ ppm 9.69(s, 1H, PhOH); 7.66-7.25(m, 9H, PhH); 7.03(m, 2H, PhH); 6.74(d, 1H, J = 7.82Hz, PhH); 6.65(t, 1H, J = 7.82Hz, PhH); 4.88(dd, 1H, J = 4.25Hz, 10.70Hz, CH-CH<sub>2</sub>); 4.83(d, 1H, J = 14.87Hz, PhCH<sub>2</sub>); 4.75(d, 1H, J = 14.87Hz, PhCH<sub>2</sub>); 3.55-3.41(m, 2H, CH-CH<sub>2</sub>). MS(+ESI): 362.2[M+H]<sup>+</sup>; 723.2[2M+H]<sup>+</sup>.

[0249] 实施例 243, 4-二氢苯并[f][1,4]噻氮杂萘类化合物体外对 GSK-3β 的生物活性评价:

[0250] ①体外酶抑制活性测试

[0251] 采用 [γ-32P]ATP 作为标记试剂, 通过检测 GSK-3β 的磷酸化底物 pGSM 的放射计数来反映酶的活性水平。计算该浓度下化合物的抑制率, 进而测量不同浓度下的抑制率得

到化合物的半抑制浓度 ( $IC_{50}$  值)。实验中采用的阳性对照物为 ATP 竞争型的 GSK-3 $\beta$  小分子抑制剂 SB 216763(Sigma S3442)。

[0252] 所用的主要试剂如下：

[0253] GSK-3 $\beta$  (upstate, 产 品 号 14-306) ;GSM(upstate, 产 品 号 14-533) ; ATP • 2Na(Roche) ;P81 纸 (upstate, 20-134) ;[ $\gamma$ - $^{32}P$ ]ATP(北京市福瑞生物工程公司核酸研究室) ;SB216763(sigma-RBI)

[0254] 按如下步骤：

[0255] (1)、依次加入 5 $\times$ buffer 8.5uL, GSK-3 $\beta$  溶液 (4ng/uL) 2.5uL, GSM 溶液 (20ng/uL) 2.5uL, 待测化合物溶液 1.25uL (终浓度 100uM), [ $\gamma$ - $^{32}P$ ]ATP 溶液 (1uCi/uL) 10uL。30 $^{\circ}C$  水浴中孵育 10 分钟后, 加入 EDTA • 2Na 溶液 (100mM) 5uL, 终止反应。

[0256] (2)、取 20uL 反应液滴加到 P81 纸上, 放置 2 分钟。

[0257] (3)、将上述 P81 纸转移到 25mL 锥形瓶, 加 0.75% 磷酸溶液 20mL, 振摇 (220r/m) 5 分钟。重复洗涤共 3 次

[0258] (4)、加入丙酮 20mL, 振摇 (220r/m) 5 分钟。

[0259] (5)、将 P81 纸转移到托盘, 烘箱 40 $^{\circ}C$  烘烤 10 分钟。

[0260] (6)、将 P81 纸转移到闪烁瓶, 加 3mL 闪烁液, 读取放射计数。

[0261] 活性筛选结果表明 3,4-二氢苯并 [f] [1,4] 噻氮杂 **萘** 类系列化合物对 GSK-3 $\beta$  具有微摩尔浓度级的抑制作用。表 1 为部分化合物的活性数据。

[0262] 表 1

[0263]

化合物编号	HZkkc	HZkck	HZkcl	HZkcp	HZkce
$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	24	27	85	90	36
化合物编号	HZkcn	HZkco	HZkcg	HZkci	HZkcd
$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	31	24	58	34	20

[0264] ②酶动力学测试确定本发明所述化合物对 GSK-3 $\beta$  的作用模式

[0265] 测试一定浓度化合物在一系列不同 ATP 浓度时 GSK-3 $\beta$  的活性, 计算出反应速率。通过反应速率的倒数 ( $1/v$ ) 对 ATP 浓度的倒数 ( $1/[ATP]$ ) 作图得到 Lineweaver-Burk 图。根据直线的相交点, 确定 3,4-二氢苯并 [f] [1,4] 噻氮杂 **萘** 类化合物的作用类型。已知的 GSK-3 $\beta$  的 ATP 竞争型小分子抑制剂 SB216763(Sigma S3442) 作为参照品进行平行测试以验证测试体系的可靠性。

[0266] 先将 [ $\gamma$ - $^{32}P$ ]ATP 储备液 (10uCi/uL) 用 cocktail 缓冲液稀释到 1.5uCi/uL, 此时非标记 ATP 浓度为 250uM。然后用高纯水稀释成一系列 ATP 浓度: 100  $\mu$  M, 70  $\mu$  M, 50  $\mu$  M, 30  $\mu$  M, 20  $\mu$  M, 15  $\mu$  M。配制一定浓度的待测化合物, 运用上述体外酶抑制活性测试方法测试其在该系列浓度 ATP 中酶的活性。计算反应速率并对 ATP 浓度进行双倒数作图, 判断酶抑制剂是 ATP 竞争型还是非 ATP 竞争型。

[0267] 通过双倒数图证明本发明所述的 3,4-二氢苯并 [f] [1,4] 噻氮杂 **萘** 化合物对 GSK-3 $\beta$  的抑制为非 ATP 竞争抑制 (如图 1 和图 2 所示)。

[0268] 本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考, 就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解, 在阅读了本发明的上述讲授内容之后, 本领域技术人员基于常识有能力对本发明作各种改动或修改, 这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所

限定的范围。

SB 216763 (ATP竞争型)

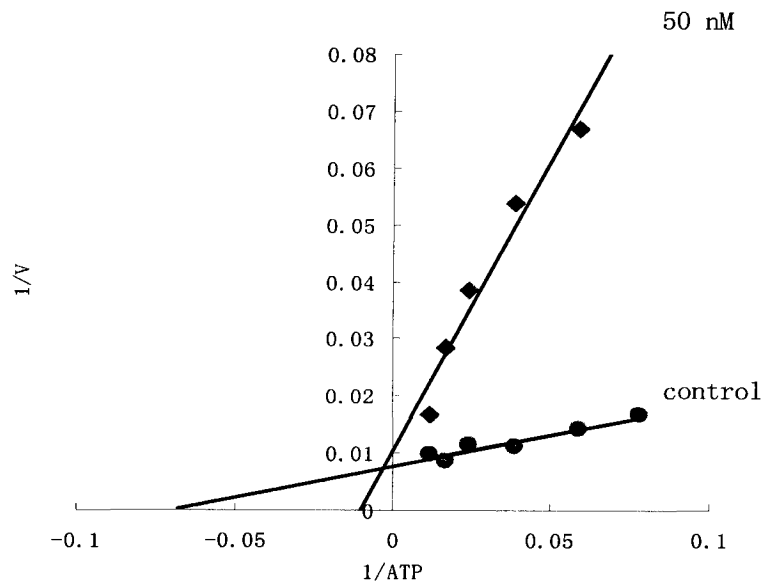


图 1

HZkcc (非ATP竞争抑制)

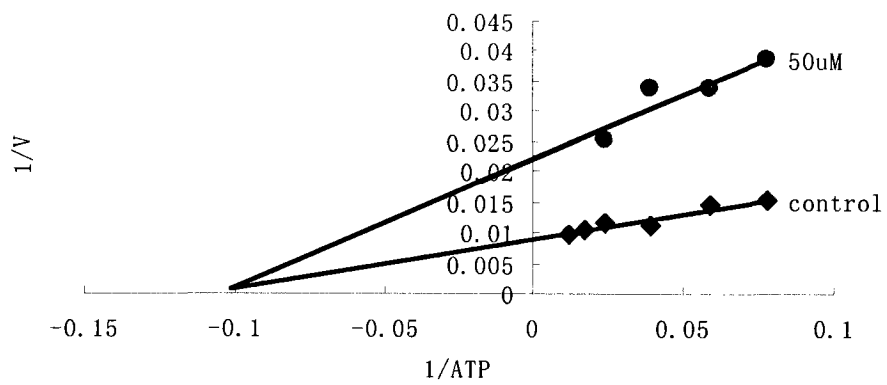


图 2