(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101712655 A
(43)申请公布日 2010.05.26

(21)申请号 200810196684.1

(22)申请日 2008.10.08

(71)申请人 秦引林
地址 210016 江苏省南京市中山东路 323 号之 2(前半山园 12 号 1 幢 1 层)

(72)发明人 秦引林 刘现军

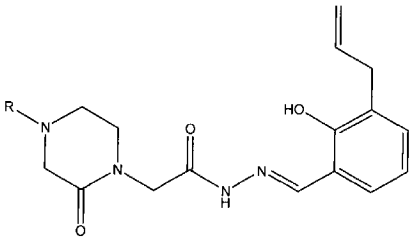
(51)Int.Cl.
C07D 241/08(2006.01)
C07D 241/06(2006.01)
C07D 405/04(2006.01)
A61K 31/495(2006.01)
A61K 31/496(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 13 页

(54)发明名称

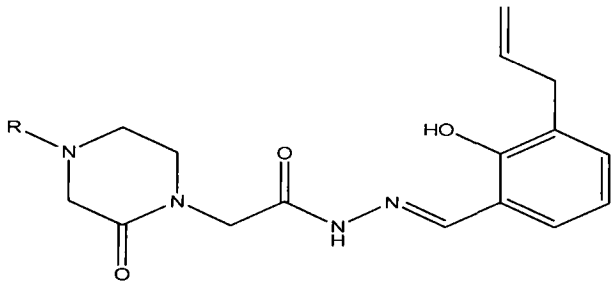
一种乙酰胺类衍生物及其在制药中的应用

(57)摘要

本发明提供了一类乙酰胺类衍生物,结构式为:R 代表 -X-Ar、-X-COOH、-CO-Ar、$-SO_2$-Ar、-X-Het.、或 $-X-NR_1R_2$,其中,X 代表具有 1 至 8 个碳原子的亚烷基,亚烷基不被取代或被具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷烃取代;Ar 代表苯基、吡啶基、萘基、嘧啶基、喹啉基。这种衍生物能通过对癌细胞中半胱天冬酶 -3 酶原的作用引起细胞凋亡,能广泛的应用治疗癌症。

CN 101712655 A

1. 一类乙酰胺类衍生物，其结构式为：



R 为 -X-Ar、-X-COOH、-CO-Ar、$-SO_2$-Ar、-X-Het.、或 $-X-NR_1R_2$；其中 X 为具有 1 至 8 个碳原子的亚烷基，亚烷基不被取代或被具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷烃取代；Ar 为苯基、吡啶基、萘基、嘧啶基或喹啉基，苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基不被取代或被 1 至 5 个取代基取代；Het. 为具有 1-4 个氮原子、1-4 个氧原子或 1-4 个硫原子的饱和或不饱和杂环基；R_1 和 R_2 相同或不同，为氢、具有 1 至 10 个碳原子的烷基或具有 3 至 10 个碳原子的环烷基。

2. 根据权利要求 1 所述的乙酰胺类衍生物，其中 R 为 $-CH_2$-Ar、$-CH_2CH_2$-Ar、-CO-Ar 或 $-SO_2$-Ar，其中，Ar 为苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基，苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基不被取代或被 1 至 5 个取代基取代。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的乙酰胺类衍生物，其特征在于苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基不被取代或被 1 至 5 个取代基取代，取代基为硝基、羟基、羧酸基、具有 1 至 10 个碳原子的烷基、具有 1 至 10 个碳原子的链烯基、具有 1 至 10 个碳原子的炔基、具有 1 至 10 个碳原子的烷氧基、具有 1 至 10 个碳原子的链烯氧基、具有 1 至 10 个碳原子的炔氧基、苯基、苯氧基、芳烷基、芳烷氧基、$-COR_1$、$-CONR_1R_2$、$-CO_2R_1$、$-NHCOR_1$、$-N(OH)H$、$-N(OH)COR_1$、$-OCH_2CO_2R_1$、$-CH_2SR_1$、$-CH_2NR_1R_2$、$-SR_1$、$-OSR_1$、$-SO_2NR_1R_2$、$-NR_1R_2$、$-NR_1SO_2R_2$，R_1 和 R_2 相同或不同，它们为氢、具有 1 至 10 个碳原子的烷基、具有 3 至 10 个碳原子的环烷基。

4. 根据权利要求 1 所述的乙酰胺类衍生物，其特征在于 Het. 为吗啉基、哌啶基、哌嗪基、三唑基、咪唑基、吡咯烷基、噻唑烷基或呋喃基。

5. 根据权利要求 1 所述的乙酰胺类衍生物，其特征在于该乙酰胺类衍生物化合物为：

2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

2-[4-(3- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

2-(4- 对甲苯磺酰基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

2-(4- 对叔丁基苯磺酰基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

2-(4- 对甲基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

2-[4-(2- 甲基呋喃基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

2-[4-(2- 苯基乙基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨

基] 乙酰胺 ;

2-[4-(2- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

2-(4- 对乙酸基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

2-(4- 对硝基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

2-(4-(2- 甲基萘基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

2-(4-(2- 甲氨基乙基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

2-(4-(2- 乙氨基乙基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

2-(4-(2- 苯甲酰基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 ;

6. 一类如权利要求 1 所述的乙酰胺类衍生物盐，其特征在于该乙酰胺类衍生物和任何药学意义上的阴离子成盐。

7. 根据权利要求 7 所述的乙酰胺类衍生物盐，其特征在于该乙酰胺类衍生物盐为盐酸盐、硫酸盐、甲磺酸盐、马来酸盐或枸橼酸盐。

一种乙酰胺类衍生物及其在制药中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种化合物衍生物及其制备方法，及其在制药中的应用，尤其涉及一种乙酰胺类衍生物及其制备方法，及其在制药中的应用，属于医药技术领域。

背景技术

[0002] 细胞凋亡和细胞增殖都是生命的基本现象，是维持体内细胞数量动态平衡的基本措施。在胚胎发育阶段通过细胞凋亡清除多余的和已完成使命的细胞，保证了胚胎的正常发育；在成年阶段通过细胞凋亡清除衰老和病变的细胞，保证了机体的健康。和细胞增殖一样细胞凋亡也是受基因调控的精确过程。细胞凋亡的途径主要有两条，一条是通过胞外信号激活细胞内的凋亡酶半胱天冬酶 (caspase)，一条是通过线粒体释放凋亡酶激活因子激活 caspase。这些活化的可将细胞内的重要蛋白降解，引起细胞凋亡。

[0003] Caspase 属于半胱氨酸蛋白酶，这些蛋白酶是引起细胞凋亡的关键酶，一旦被信号途径激活，能将细胞内的蛋白质降解，使细胞不可逆的走向死亡，它们均有以下特点：①酶活性依赖于半胱氨酸残基的亲核性；②总是在天冬氨酸之后切断底物，所以命名为 Caspase(cysteine aspartate-specific protease)，又称之为凋亡酶；③都是由两大、两小亚基组成的异四聚体，大、小亚基由同一基因编码，前体被切割后产生两个活性亚基。

[0004] 大多数活细胞含有一种称为半胱天冬酶 -3 酶原 (procaspase-3) 的蛋白质，当这种蛋白质被激活后，它就转化为有活性的半胱天冬酶 -3 酶 (caspase-3) 并启动细胞程序性死亡即凋亡。但是在癌症细胞内 caspase-3 的信号通路被中断，结果癌细胞就不被破坏从而形成肿瘤。因此，需要找出一种物质能激活癌症细胞内的 procaspase-3，使之转变为 caspase-3 而使癌症细胞启动程序性死亡。

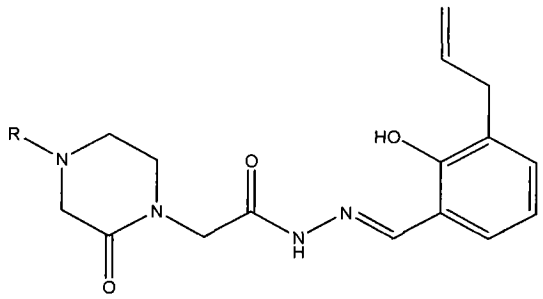
[0005] 目前，国内外均有关于 caspase-3 使癌症细胞启动程序性死亡的研究，但还处于初级阶段，还没有真正意义上的药物上市。2006 年，美国伊利诺斯大学 Paul J. Hergenrother 教授等研究人员造出一种合成分子 PAC-1，该分子能够直接激活 procaspase-3 转变为 caspase-3，从而在细胞内启动凋亡。研究表明，癌细胞获得 PAC-1 后的 23 小时内就会被杀死，该分子对同一个人的癌细胞比非癌变细胞的作用大上百倍。安巍巍等研究去甲斑蝥素 (NCTD) 通过半胱氨酸天冬氨酸酶 (caspase) 途径诱导人宫颈癌 (HeLa) 细胞凋亡的机制，研究表明在 NCTD 作用下，细胞形成典型的凋亡小体，琼脂糖凝胶电泳出现明显的 DNA 梯带，即 NCTD 可诱导 HeLa 细胞发生凋亡。

发明内容

[0006] 技术问题：本发明提供了乙酰胺类衍生物及这种衍生物及其在制药中的应用，其在癌症细胞中发挥作用使细胞自身死亡，本发明人不仅对于乙酰胺类衍生物的激活癌症细胞内的 procaspase-3 作用进行了考察，而且对其促凋亡作用进行了研究。基于这些发现，完成了本发明。

[0007] 技术方案：乙酰胺类衍生物，结构式为：

[0008]



[0009] R 为 -X-Ar、-X-COOH、-CO-Ar、$-SO_2$-Ar、-X-Het.、或 $-X-NR_1R_2$；其中 X 为具有 1 至 8 个碳原子的亚烷基，亚烷基不被取代或被具有 1 至 5 个碳原子的直链或支链烷烃取代；Ar 为苯基、吡啶基、萘基、嘧啶基或喹啉基，苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基不被取代或被 1 至 5 个取代基取代；Het. 为具有 1-4 个氮原子、1-4 个氧原子或 1-4 个硫原子的饱和或不饱和杂环基；R_1 和 R_2 相同或不同，为氢、具有 1 至 10 个碳原子的烷基或具有 3 至 10 个碳原子的环烷基。

[0010] 其中 R 可以优选为 $-CH_2$-Ar、$-CH_2CH_2$-Ar、-CO-Ar 或 $-SO_2$-Ar，其中 Ar 为苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基，苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基不被取代或被 1 至 5 个取代基取代。

[0011] 苯基、吡啶基、嘧啶基或喹啉基不被取代或被 1 至 5 个取代基取代，取代基可以优选为硝基、羟基、羧酸基、具有 1 至 10 个碳原子的烷基、具有 1 至 10 个碳原子的链烯基、具有 1 至 10 个碳原子的炔基、具有 1 至 10 个碳原子的烷氧基、具有 1 至 10 个碳原子的链烯氧基、具有 1 至 10 个碳原子的炔氧基、苯基、苯氧基、芳烷基、芳烷氧基、$-COR_1$、$-CONR_1R_2$、$-CO_2R_1$、$-NHCOR_1$、-N(OH)H、$-N(OH)COR_1$、$-OCH_2CO_2R_1$、$-CH_2SR_1$、$-CH_2NR_1R_2$、$-SR_1$、$-OSR_1$、$-SO_2NR_1R_2$、$-NR_1R_2$、$-NR_1SO_2R_2$，R_1 和 R_2 相同或不同，它们为氢、具有 1 至 10 个碳原子的烷基、具有 3 至 10 个碳原子的环烷基。

[0012] Het. 可以优选为吗啉基、哌啶基、哌嗪基、三唑基、咪唑基、吡咯烷基、噻唑烷基或呋喃基。

[0013] 所述乙酰胺衍生物优选化合物为：

[0014] 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0015] 2-[4-(3- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0016] 2-(4- 对甲苯磺酰基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0017] 2-(4- 对叔丁基苯磺酰基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0018] 2-(4- 对甲基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0019] 2-[4-(2- 甲基呋喃基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0020] 2-[4-(2- 苯基乙基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺；

[0021] 2-[4-(2-吡啶基-甲基)-2-哌嗪酮基-1-基]-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0022] 2-(4-对乙酸基苄基-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0023] 2-(4-对硝基苄基-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0024] 2-(4-(2-甲基萘基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0025] 2-(4-(2-甲氨基乙基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺

[0026] 2-(4-(2-乙氨基乙基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0027] 2-(4-(2-苯甲酰基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0028] 2-(4-(2-对硝基苯甲酰基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

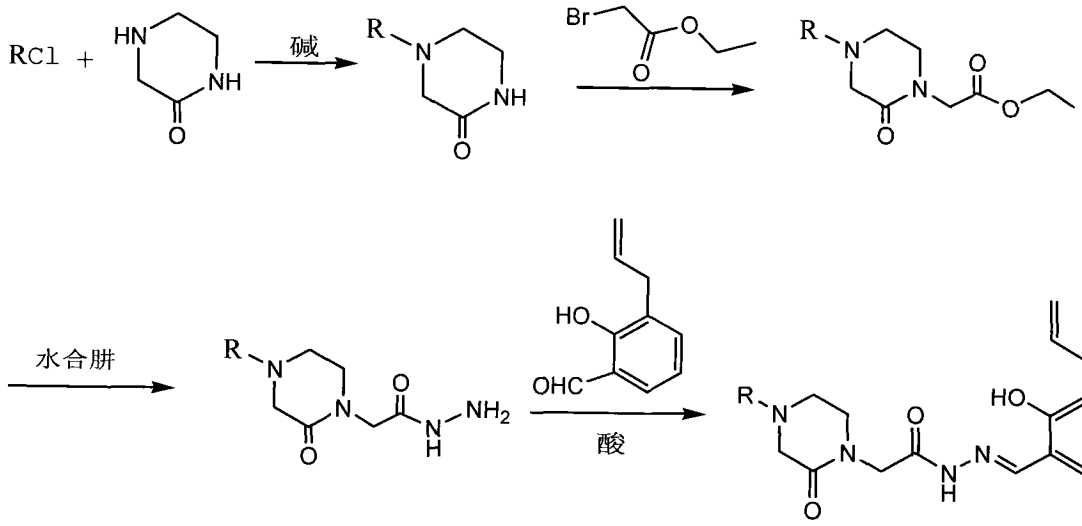
[0029] 2-(4-(4-嘧啶基乙基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0030] 2-(4-(2-喹啉基甲基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0031] 2-(4-(4-丁酸基)-2-哌嗪酮基-1-基)-N-[(2-羟基-3-烯丙基-苯基)亚甲基氨基]乙酰胺；

[0032] 一种制备所述的乙酰胺衍生物的方法，反应如下：

[0033]



[0034] 有益效果：本发明具有如下优点：

[0035] 本发明所述分子特异性地对procaspase-3作用为caspase-3而引起细胞凋亡，而某些癌细胞中procaspase-3含量很高，正常细胞中的procaspase-3较低，即对于人体正常细胞来说，该分子较为安全，相对于目前的一般化疗技术来说，较为安全，该乙酰胺类衍生

物加入适宜药用辅料，可制成适用于临床的药物制剂，能推动了抗肿瘤药物更快、更好地向前发展。

具体实施方式：

[0036] 实施例 1. 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_1) 的制备及结构确证

[0037] (1). 4- 苄基 -2- 哌嗪酮的合成

[0038] 5. 1g 2- 哌嗪酮、5. 0g 氯苄和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液得固体，苯重结晶得白色晶体 8. 6g(熔点 152 ～ 154℃)。

[0039] (2). 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)- 乙酸乙酯的合成

[0040] 8. 55g 4- 苄基 -2- 哌嗪酮、适量的氢化钠加入干燥的 100mL 的丙酮中，搅拌，滴加入 6. 2g 溴乙酸乙酯，滴毕开始加热回流至原料反应完全，冷却，过滤，洗涤，浓缩滤液得油状物，柱层析 (洗脱液 : 乙酸乙酯 / 正己烷 = 4/1) 得油状液体。

[0041] (3). 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)- 乙酰肼的合成

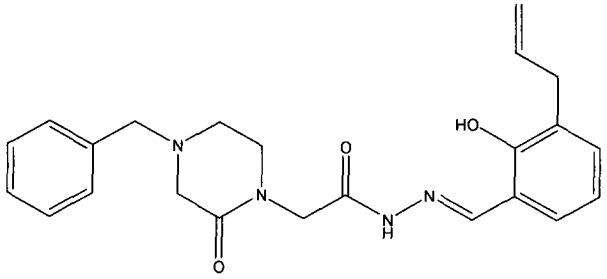
[0042] 5. 0g 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)- 乙酸乙酯加入到 30mL 的乙醇中，搅拌，滴加入 4. 5mL 的水合肼，滴毕开始加热回流至原料反应完全，混合物冷却，减压浓缩得到液体，柱层析 (洗脱液 : 乙酸乙酯 / 甲醇 = 4/1)，收集洗脱液，浓缩得固体。

[0043] (4). 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺的合成

[0044] 1. 3g 3- 烯丙基水扬醛溶入 10mL 的乙醇中，搅拌，然后加入 2. 5g. 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)- 乙酰肼和 60mL 乙醇以及 0. 05mL 浓盐酸，加热回流至原料反应完全，混合物冷却，浓缩，柱层析 (洗脱液 : 正己烷 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0045] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 1(s, 1H), 7. 95(s, 1H), 7. 3(s, 1H), 7. 04 ～ 7. 14(d, 5H), 6. 9(s, H), 6. 7(s, H), 6. 3(s, H), 5. 13(s, 1H), 4. 95(ddd, 2H), 4. 09(dd, 2H), 3. 62(dd, 2H), 3. 35(s, 2H), 3. 25(d, 2H), 3. 22(d, 2H), 2. 62(d, 2H)。

[0046]



I_1

[0047] 实施例 2. 2-[4-(3- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_2) 的制备及结构确证

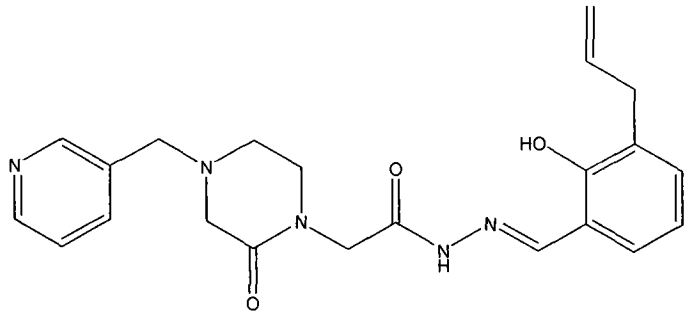
[0048] (1). 4-(3- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮的合成

[0049] 5. 1g 2- 哌嗪酮、5. 0g3- 氯甲基吡啶和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0050] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物。

[0051] ^{1}H-NMR(DMSO, -d_6) δ 8.75(s,1H),8.6(s,1H),8.15(s,1H),7.95(s,1H),7.8(s,1H),7.5(s,1H),7.2(s,1H),6.8(s,H),6.65(s,H),6.25(s,H),5.16(s,1H),4.91(ddd,2H),4.12(dd,2H),3.66(dd,2H),3.37(s,2H),3.24(d,2H),3.16(d,2H),2.64(d,2H)。

[0052]



I_2

[0053] 实施例 3.2-(4- 对甲苯磺酰基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_3) 的制备及结构确证

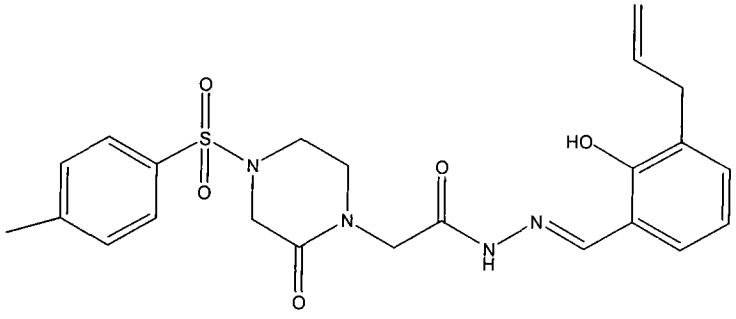
[0054] (1).4- 对甲苯磺酰基 -2- 哌嗪酮的合成

[0055] 5.1g 2- 哌嗪酮、7.6g 对甲苯磺酰氯和 5.1g 三乙胺分别加入 60ml 的二氯甲烷中,搅拌,加热回流 5h 至反应完,冷却至室温,过滤,浓缩滤液,柱层析 (洗脱液 :氯仿 / 甲醇 = 10/1),收集洗脱液,浓缩得产品。

[0056] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物。

[0057] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8.15(s,1H),7.90(s,1H),7.81(s,2H),7.35(s,1H),7.23(s,2H),6.9(s, H),6.63(s, H),6.2(s, H),5.10(s,1H),4.91(ddd,2H),4.2(dd,2H),3.38(s,2H),3.28(d,2H),3.16(d,2H),2.60(d,2H),2.32(d,3H)。

[0058]



I_3

[0059] 实施例 42-(4- 对叔丁基苯磺酰基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_4) 的制备及结构确证

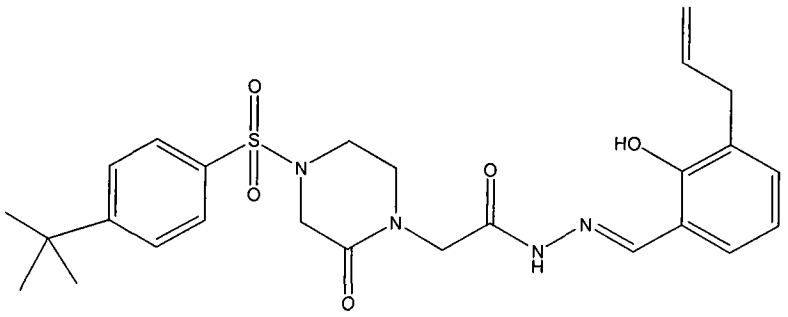
[0060] (1).4- 对叔丁基苯磺酰基 -2- 哌嗪酮的合成

[0061] 5.1g 2- 哌嗪酮、9.3g 对叔丁基苯磺酰氯和 5.1g 三乙胺分别加入 60ml 的二氯甲烷中,搅拌,加热回流 5h 至反应完,冷却至室温,过滤,浓缩滤液,柱层析 (洗脱液 :氯仿 / 甲醇 = 10/1),收集洗脱液,浓缩得产品。

[0062] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0063] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8.23(s,1H),7.95(s,1H),7.84(s,2H),7.38(s,1H),7.21(s,2H),6.9(s, H),6.6(s, H),6.13(s, H),5.14(s,1H),4.9(ddd,2H),4.13(dd,2H),3.32(s,2H),3.24(d,2H),3.11(d,2H),2.62(d,2H),1.32(d,9H)。

[0064]



I_4

[0065] 实施例 5.2-(4- 对甲基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_5) 的制备及结构确证

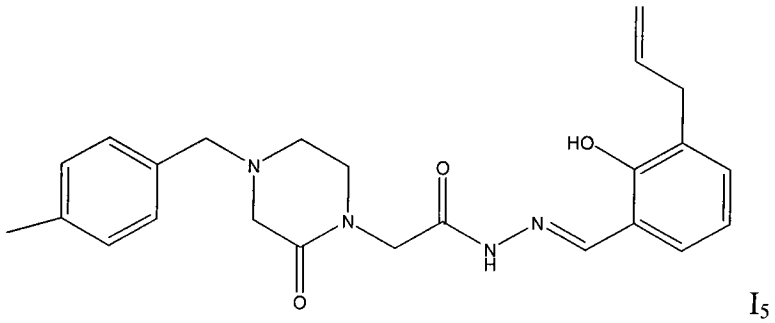
[0066] (1).4- 对甲基苄基 -2- 哌嗪酮的合成

[0067] 5.1g 2- 哌嗪酮、5.6g 对甲基氯苄和 4.2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中,搅拌,加热回流 5h,冷却至室温,过滤,浓缩滤液,柱层析 (洗脱液 :氯仿 / 甲醇 = 10/1),收集洗脱液,浓缩得产品。

[0068] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物 .

[0069] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8.2(s,1H),7.83(s,1H),7.24(s,1H),6.94 ～ 7.01(d,4H),6.86(s, H),6.58(s, H),6.23(s, H),5.14(s,1H),4.91(ddd,2H),4.04(dd,2H),3.67(dd,2H),3.3(s,2H),3.18(d,2H),3.05(d,2H),2.65(d,2H),2.32(d,3H)。

[0070]



I_5

[0071] 实施例 6.2-[4-(2- 甲基呋喃基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_6) 的制备及结构确证

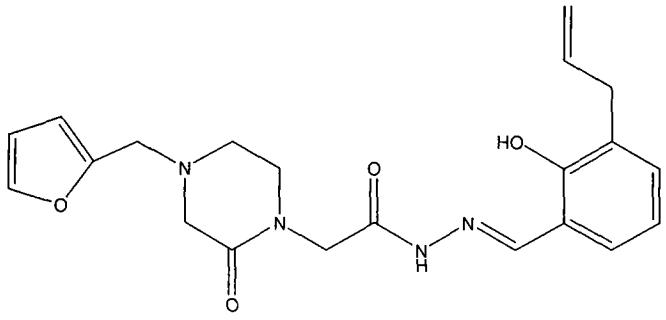
[0072] (1).4-(2- 甲基呋喃基)-2- 哌嗪酮的合成

[0073] 5.1g 2- 哌嗪酮、5.0g2- 氯甲基呋喃和 4.2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中,搅拌,加热回流 5h,冷却至室温,过滤,浓缩滤液,柱层析 (洗脱液 :氯仿 / 甲醇 = 10/1),收集洗脱液,浓缩得产品。

[0074] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0075] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8.2(s,1H),7.95(s,1H),7.25(s,1H),7.15(d,1H),6.84(s, H),6.7(s, H),6.3(s, H),6.18(d,1H),5.98(d,1H),5.13(s,1H),4.95(ddd,2H),4.12(dd,2H),3.61(dd,2H),3.35(s,2H),3.27(d,2H),3.21(d,2H),2.63(d,2H)。

[0076]



I_6

[0077] 实施例 7. 2-[4-(2- 苯基乙基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_7) 的制备及结构确证

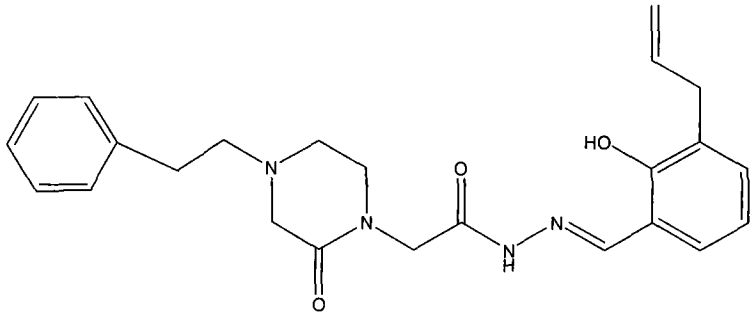
[0078] (1). 4-(2- 苯基乙基)-2- 哌嗪酮的合成

[0079] 5. 1g 2- 哌嗪酮、5. 0g2- 苯基氯乙烷和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0080] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0081] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 25(s,1H),7. 91(s,1H),7. 41(s,1H),7. 04 ～ 7. 14(d,5H),6. 75(s, H),6. 61(s, H),6. 42(s, H),5. 10(s,1H),4. 91(ddd,2H),4. 02(dd,2H),3. 64(dd,2H),3. 31(s,2H),3. 21(d,2H),3. 14(d,2H),2. 71(d,2H),2. 62(d,2H)。

[0082]



I_7

[0083] 实施例 8. 2-[4-(2- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基]-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_8) 的制备及结构确证

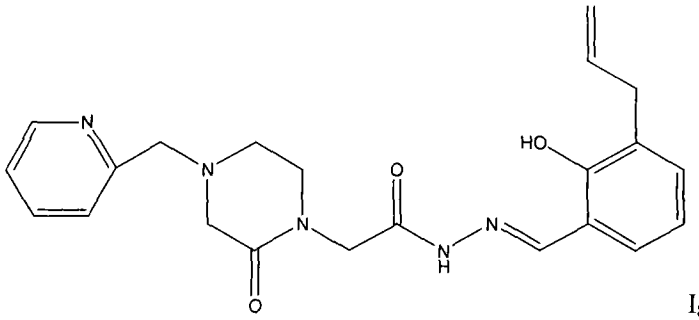
[0084] (1). 4-(2- 吡啶基 - 甲基)-2- 哌嗪酮的合成

[0085] 5. 1g 2- 哌嗪酮、5. 0g2- 氯甲基吡啶和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0086] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0087] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 65(s,1H),8. 15(s,1H),7. 95(s,1H),7. 82(s,1H),7. 58(s,1H),7. 35(s,1H),7. 21(s,1H),6. 82(s, H),6. 63(s, H)6. 24(s, H),5. 17(s,1H),4. 90(ddd,2H),4. 16(dd,2H)3. 61(dd,2H),3. 33(s,2H),3. 25(d,2H)3. 11(d,2H),2. 65(d,2H)。

[0088]



I_8

[0089] 实施例 9. 2-(4- 对乙酸基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_9) 的制备及结构确证

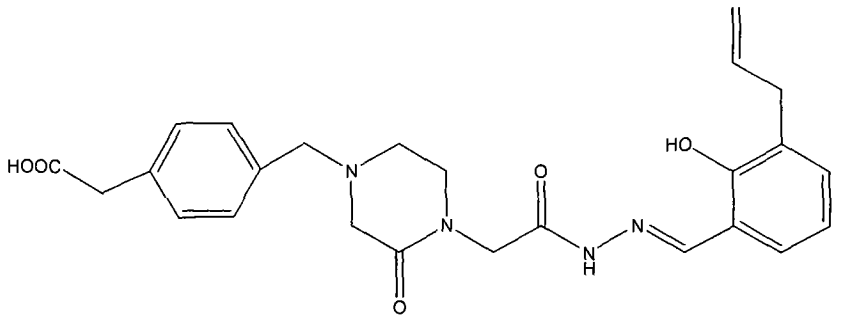
[0090] (1). 4- 对乙酸基苄基 -2- 哌嗪酮的合成

[0091] 5. 1g 2- 哌嗪酮、6. 8g 对乙酸基氯苄和 8. 8g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0092] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0093] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 9. 2(s, 1H), 8. 28(s, 1H), 8. 05(s, 1H), 7. 35(s, 1H), 6. 98(d, 4H), 6. 85(s, H), 6. 71(s, H), 6. 34(s, H), 5. 11(s, 1H), 4. 97(ddd, 2H), 4. 12(dd, 2H), 3. 61(dd, 2H), 3. 48(s, 2H), 3. 37(s, 2H), 3. 22(d, 2H), 3. 11(d, 2H), 2. 62(d, 2H)。

[0094]



I_9

[0095] 实施例 10. 2-(4- 对硝基苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_{10}) 的制备及结构确证

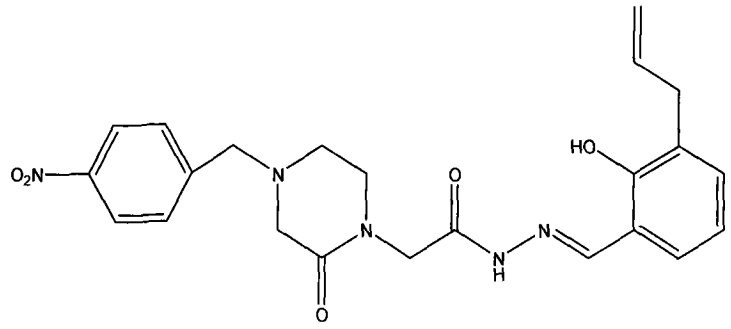
[0096] (1). 4- 对硝基苄基 -2- 哌嗪酮的合成

[0097] 5. 1g 2- 哌嗪酮、6. 8g 对硝基苄氯和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0098] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0099] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 14, 1H), 8. 05(s, 2H), 7. 92s, 1H), 7. 31(s, 1H), 7. 21(d, 2H), 6. 9(s, H), 6. 7(s, H), 6. 3(s, H), 5. 14(s, 1H), 4. 92(ddd, 2H), 4. 07(dd, 2H), 3. 61(dd, 2H), 3. 33(s, 2H), 3. 21(d, 2H), 3. 14(d, 2H), 2. 61(d, 2H)。

[0100]



I_{10}

[0101] 实施例 11. 2-(4-(2- 甲基萘基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_{11}) 的制备及结构确证

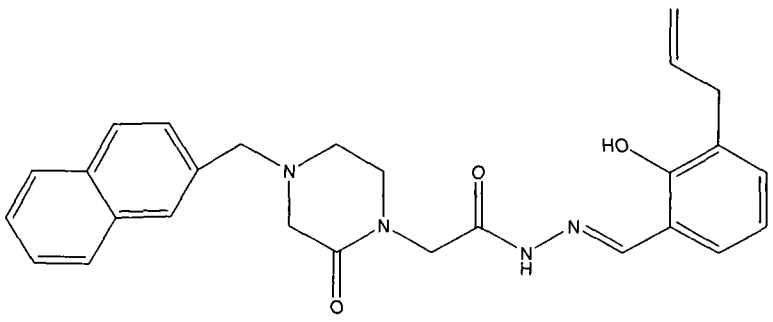
[0102] (1). 4-(2- 甲基萘基)-2- 哌嗪酮的合成

[0103] 5. 1g 2- 哌嗪酮、6. 5g2- 氯甲基萘和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙醇中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0104] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0105] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 18(s, 1H), 7. 96(s, 1H), 7. 37(s, 1H), 7. 18 ～ 7. 65(d, 7H), 6. 9(s, H), 6. 7(s, H), 6. 3(s, H), 5. 18(s, 1H), 4. 97(ddd, 2H), 4. 12(dd, 2H), 3. 65(dd, 2H), 3. 31(s, 2H), 3. 22(d, 2H), 3. 14(d, 2H), 2. 64(d, 2H)。

[0106]



I_{11}

[0107] 实施例 12. 2-(4-(2- 二甲基氨乙基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_{12}) 的制备及结构确证

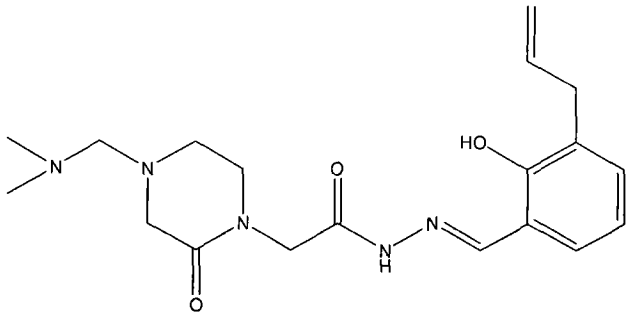
[0108] (1). 4-(2- 二甲基氨乙基)-2- 哌嗪酮的合成

[0109] 5. 1g 2- 哌嗪酮、4. 3g 二甲基氨氯乙烷和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙腈中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇 = 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0110] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0111] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 1(s, 1H), 7. 95(s, 1H), 7. 3(s, 1H), 6. 9(s, H), 6. 7(s, H), 6. 3(s, H), 5. 13(s, 1H), 4. 95(ddd, 2H), 4. 09(dd, 2H), 3. 62(dd, 2H), 3. 35(s, 2H), 3. 25(d, 2H), 3. 22(d, 2H), 2. 62(d, 2H), 2. 18(d, 6H).

[0112]



I_{12}

[0113] 实施例 13. 2-(4-(2- 二乙基氨基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_{13}) 的制备及结构确证

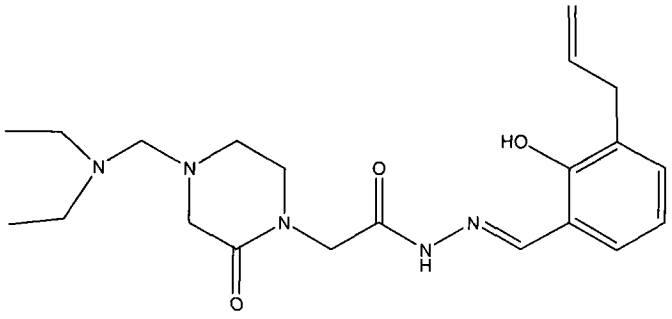
[0114] (1). 4-(2- 二乙基氨乙基)-2- 哌嗪酮的合成

[0115] 5. 1g 2- 哌嗪酮、5. 4g 二乙基氨氯乙烷和 4. 2g 碳酸氢钠分别加入 60ml 的乙腈中，搅拌，加热回流 5h，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇＝ 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0116] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0117] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 14(s,1H)，7. 88(s,1H)，7. 31(s,1H)，6. 93(s,H)，6. 74(s,H)，6. 32(s, H)，5. 11(s,1H)，4. 97(ddd,2H)，4. 12(dd,2H)，3. 64(dd,2H)，3. 31(s,2H)，3. 22(d,2H)，3. 14(d,2H)，2. 62(d,2H)，2. 48(d,4H)，1. 68(d,6H)。

[0118]



I_{13}

[0119] 实施例 14. 2-(4-(2- 苯甲酰基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_{14}) 的制备及结构确证

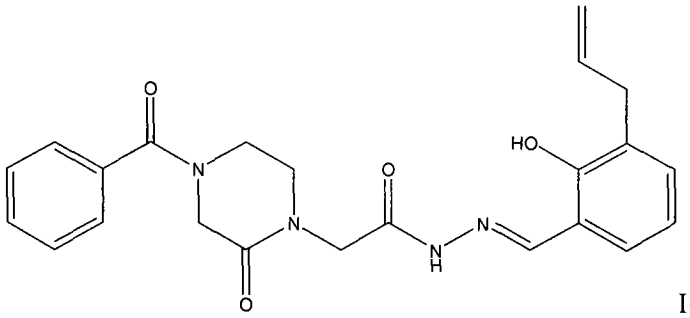
[0120] (1). 4-(2- 苯甲酰基)-2- 哌嗪酮的合成

[0121] 5. 1g 2- 哌嗪酮溶入 60ml 的二氯甲烷中，搅拌，将 5. 6g 苯甲酰氯滴加到上述反应液中，加热回流至反应完全，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 : 氯仿 / 甲醇＝ 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0122] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0123] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 11(s,1H)，7. 92(s,1H)，7. 75(s,2H)，7. 31(s,1H)，7. 26(s,2H)，6. 91(s, H)，6. 64(s, H)，6. 2(s, H)，5. 10(s,1H)，4. 91(ddd,2H)，4. 2(dd,2H)，3. 38(s,2H)，3. 28(d,2H)，3. 16(d,2H)，2. 60(d,2H)。

[0124]



I_{14}

[0125] 实施例 15. 2-(4-(2- 对硝基苯甲酰基)-2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺 (I_{15}) 的制备及结构确证

[0126] (1). 4- 对硝基苯甲酰基 -2- 哌嗪酮的合成

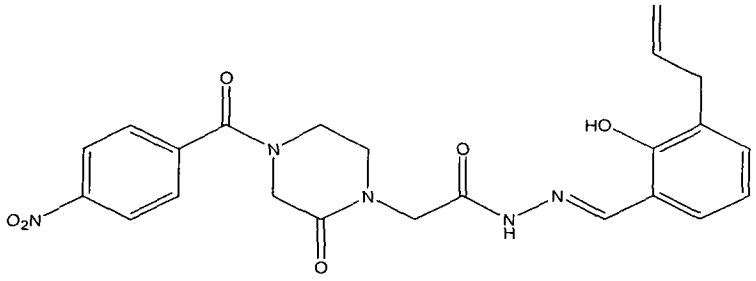
[0127] 5. 1g 2- 哌嗪酮、7. 4g 对硝基苯甲酰氯分别加入 30ml 的二氯甲烷中，搅拌溶解，

[0128] 室温下，将对硝基苯甲酰氯滴加到 2- 哌嗪酮溶液中，加热回流至反应完全，冷却至室温，过滤，浓缩滤液，柱层析 (洗脱液 :氯仿 / 甲醇＝ 10/1)，收集洗脱液，浓缩得产品。

[0129] 所得产品按实施例 1 中 (2)、(3)、(4) 相同方法得到目标产物

[0130] ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ 8. 37(s,2H),8. 21(s,2H),8. 14(s,1H),7. 95(s,1H),7. 37(s,1H),6. 94(s, H),6. 736(s, H),6. 35(s, H),5. 13(s,1H),4. 95(ddd,2H),4. 09(dd,2H),3. 62(dd,2H),3. 32(s,2H),3. 20(d,2H),3. 18(d,2H),2. 61(d,2H)。

[0131]



I_{15}

[0132] 实施例 16. 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺甲磺酸盐的制备

[0133] 27. 6g 2-(4- 苄基 -2- 哌嗪酮基 -1- 基)-N-[(2- 羟基 -3- 烯丙基 - 苯基) 亚甲基氨基] 乙酰胺加入到 250mL 甲醇中，搅拌，滴加入 9. 6g 甲磺酸，充分搅拌，微热，然后减压浓缩，冷却结晶，过滤，干燥即得。

[0134] 实施例 17. 药物对 procaspase-3 的作用

[0135] 将 procaspase-3 加到 96 孔培养板上，加入 40uM 的药物溶液，每孔 0. 2mL，对照组加等体积培养液，置 37℃条件下 2 小时，加入特异性底物 Ac-DEVD-pNA(acetyl-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilide)，根据产生黄色的 pNA(p-nitroaniline)，在 405nm 附近有强吸收，以空白样品作为对照。通过测定吸光度来检测 caspase 3 的活性从而得到对于 procaspase-3 的 EC_{50}。结果如下 :

[0136]

实施例化合物	EC_{50}(uM)
I_1	0. 28

实施例化合物	EC_{50}(uM)
I_3	0.84
I_5	0.53
I_9	1.25

[0137] 结论：从结果看，实施例化合物有明显的促使 procaspase-3 发生降解的作用，促使其转变为 caspase-3。

[0138] 实施例 18. 药物导致细胞凋亡实验

[0139] 溴化噻唑蓝四唑 (MTT) 还原反应测定肿瘤细胞存活率：将对数生长期的人白血病细胞 (HL-60) 稀释成 1×10^5cells·mL^{-1} 接种于 96 孔培养板，每孔 0.2mL，接种同时加不同浓度药物样品，每个浓度平行 4 孔，对照组加等体积培养液，置 37℃体积分数为 5% CO_2 培养箱培养，48h 后取出 96 孔培养板，每孔加入新配制的 1mg·mL^{-1}MTT 50μL，混匀，置 37℃，体积分数为 5% CO_2 培养箱内继续培养 4h，再离心，弃上清液后每孔加 200μL DMSO，振荡 10min，溶解 MTT 沉淀，用 EL309 型酶标仪，以 570nm 为实验波长，450nm 为参考波长测定其吸收度，按下式计算肿瘤细胞存活率及杀伤率并计算 IC_{50}：

[0140]

$$\text{肿瘤细胞存活率} = \frac{\text{实验孔测定值}}{\text{对照孔测定值}} \times 100\%,$$

[0141] 肿瘤细胞杀伤率＝ 1- 肿瘤细胞存活率；结果如下：

[0142]

实施例化合物	IC_{50}(uM)
I_1	0.56
I_2	0.84
I_3	1.02
I_4	0.32
I_5	1.52
I_6	2.60
I_7	4.38
I_8	10.2
I_9	5.36

实施例化合物	IC_{50}(uM)
I_{10}	2.30
I_{11}	1.56
I_{12}	＞ 20
I_{13}	＞ 20
I_{14}	2.51
I_{15}	3.56

[0143] 结论：从结果看，大部分实施例化合物有明显的促使肿瘤白血细胞发生凋亡的作用，各种不同结构的分子对引起细胞凋亡的作用有比较大的差异，极性相对较大的 I_{12} 和 I_{13} 对肿瘤细胞的作用较其它化合物小。