



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111039929 A

(43)申请公布日 2020.04.21

(21)申请号 201911394007.5

(22)申请日 2019.12.30

(71)申请人 中国人民解放军北部战区总医院
地址 110000 辽宁省沈阳市沈河区文化路
83号

(72)发明人 赵庆春 丁怀伟 马玲香 许子华
马群

(74)专利代理机构 沈阳智龙专利事务所(普通
合伙) 21115

代理人 宋铁军

(51)Int.Cl.

C07D 403/06(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书17页 附图7页

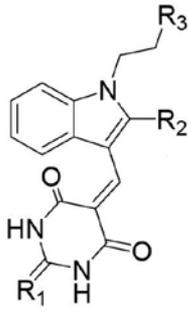
(54)发明名称

抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物

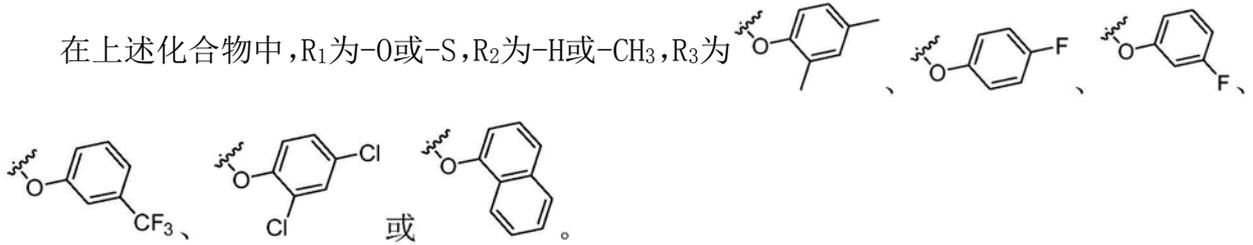
(57)摘要

本发明涉及抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,以及与其系列衍生物在药物中的应用。本发明以ADAM17为靶点设计并全合成了NY系列的15个化合物,并验证了NY系列的15个化合物的抗肿瘤活性,为临床上提供了一个潜在的抗肿瘤活性药物。

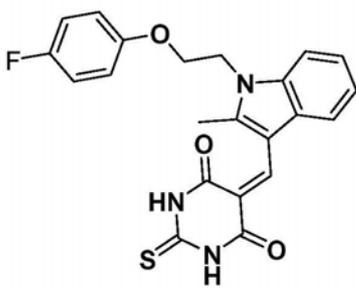
1. 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,其特征在于:该系列化合物的结构通式如下:



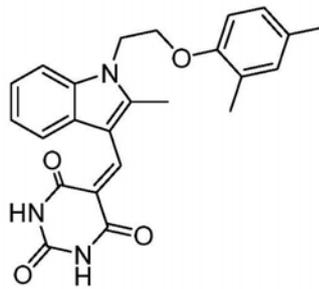
在上述化合物中,R₁为-O或-S,R₂为-H或-CH₃,R₃为



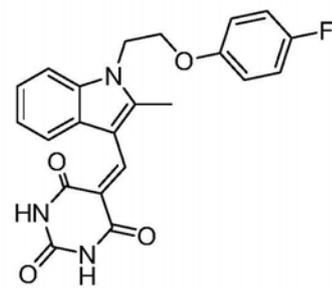
2. 根据权利要求1所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,其特征在于:所述化合物为以下化合物的一种:



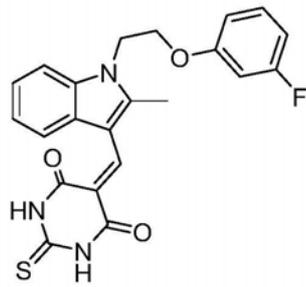
NY-2



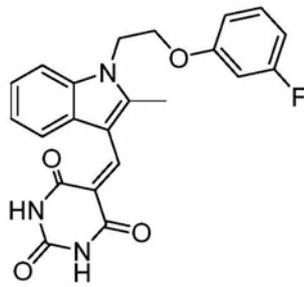
NY-1



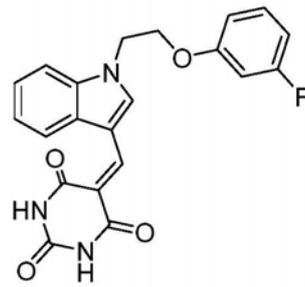
NY-3



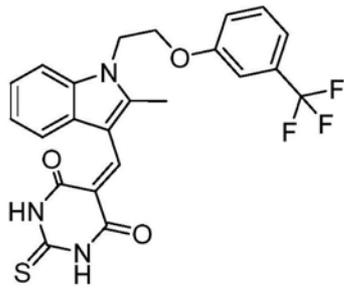
NY-4



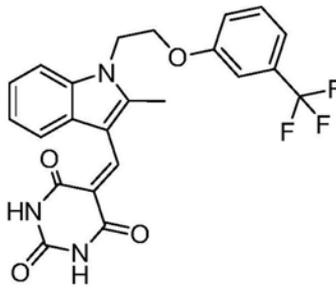
NY-5



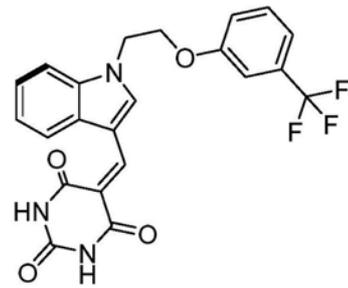
NY-6



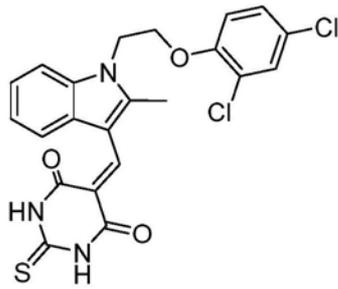
NY-7



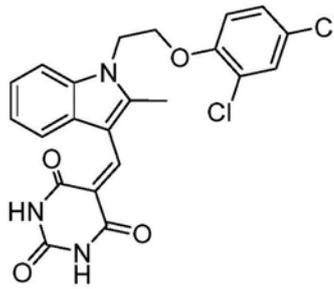
NY-8



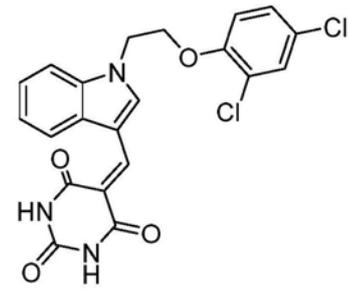
NY-9



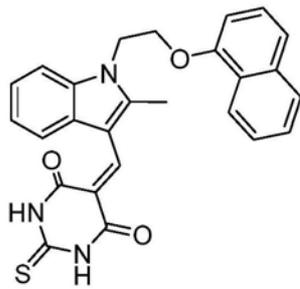
NY-10



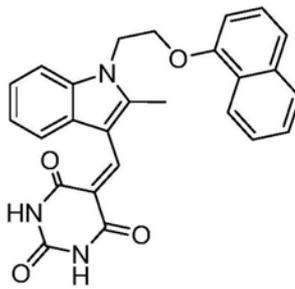
NY-11



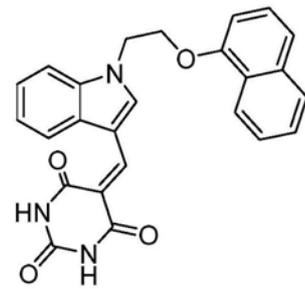
NY-12



NY-13



NY-14



NY-15

3. 根据权利要求1所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物的应用,其特征在于:抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物是作为抑制肿瘤细胞活性的药物。

4. 根据权利要求3所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物的应用,其特征在于:所述肿瘤细胞包括人结直肠癌细胞、乳腺癌细胞和肝癌细胞。

5. 根据权利要求4所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物的应用,其特征在于:所述肿瘤细胞包括HCT116、LoVo, HepG2和T47D。

6. 根据权利要求1所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,其特征在于:合成化合物NY-6, NY-9, NY-12或NY-15以吲哚为起始原料;再经过Vilsmeier反应得到中间体吲哚-3-甲醛;再以取代的苯酚为起始原料,与1-溴-2-氯乙烷反应得到中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯;接着,中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯与中间体吲哚-3-甲醛反应得到中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吲哚-3-甲醛;最后,中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吲哚-3-甲醛与巴比妥酸反应得到目标化合物。

7. 根据权利要求6所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,其特征在于:合成化合物NY-1, NY-3, NY-5, NY-6, NY-8, NY-9, NY-11, NY-12, NY-14或NY-15还需要反应的原料为巴比妥酸和甲醇。

8. 根据权利要求1所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,其特征在于:合成化合物NY-2,NY-3,NY-4,NY-5,NY-7,NY-8,NY-10,NY-11,NY-13或NY-14以2-甲基吡啶为起始原料,以2-甲基吡啶为起始原料经过Vilsmeier反应得到中间体2-甲基吡啶-3-甲醛;再以取代的苯酚为起始原料,与1-溴-2-氯乙烷反应得到中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯;接着,中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯与中间体2-甲基吡啶-3-甲醛反应得到中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛;最后,中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛与2-巯基巴比妥酸反应得到目标化合物。

9. 根据权利要求8所述的抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物,其特征在于:合成化合物NY-2,NY-4,NY-7,NY-10或NY-13还需要反应的原料为2-硫代巴比妥酸和甲醇。

抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物

[0001] 技术领域：本发明属于医药技术领域，具体涉及抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物，以及其与其系列衍生物在药物中的应用。

背景技术：

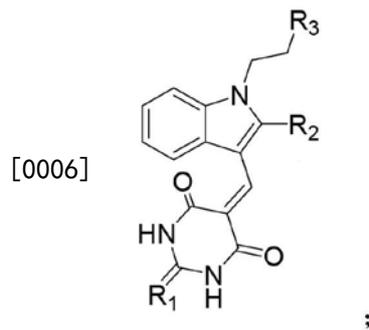
[0002] 肿瘤是严重威胁人类生命健康的疾病，目前临床上治疗主要采用化疗方法。然而，化疗耐药的产生严重限制了化疗药物在临床上的使用，使患者的生存率大幅下降。所以寻找高效低毒的创新型抗肿瘤小分子抑制剂，打破现有化疗药物耐药的局成为肿瘤药物研究的重要策略之一。

发明内容：

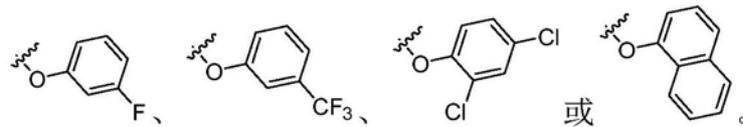
[0003] 发明目的：本发明提供了抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物，以及其与其系列衍生物在药物中的应用。目的在于提供治疗肿瘤的新型药物。

[0004] 技术方案：

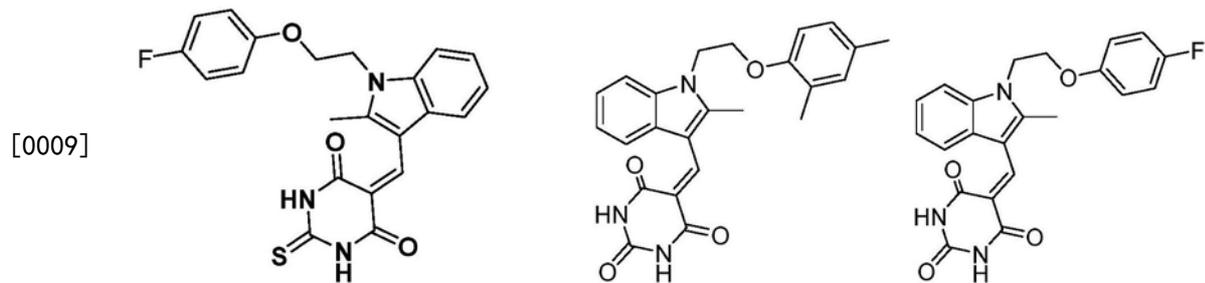
[0005] 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物，其特征在于：该系列化合物的结构通式如下：



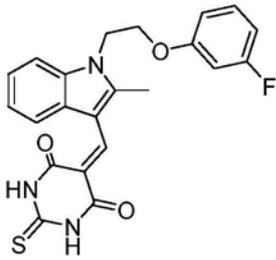
[0007] 在上述化合物中， R_1 为-O或-S， R_2 为-H或-CH₃， R_3 为



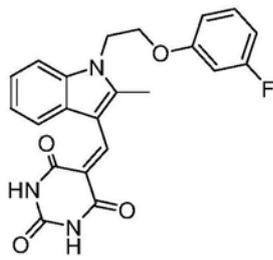
[0008] 所述化合物为以下化合物的一种：



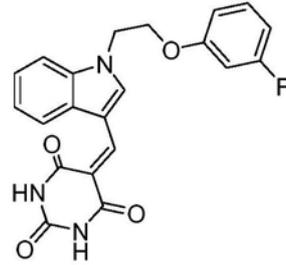
NY-2



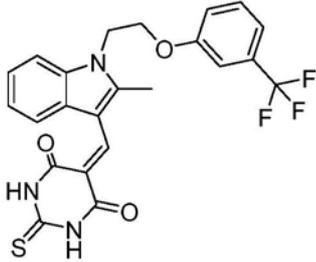
NY-1



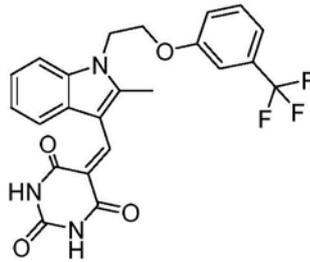
NY-3



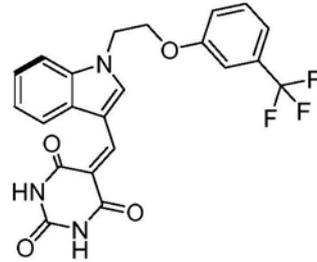
NY-4



NY-5

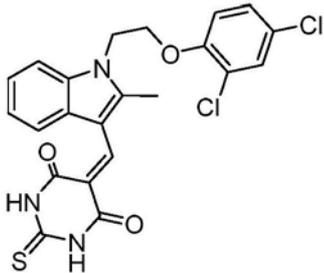


NY-6

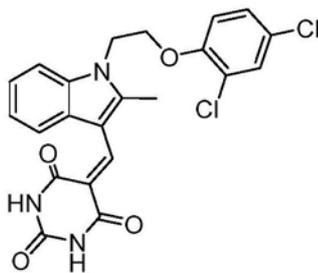


[0010]

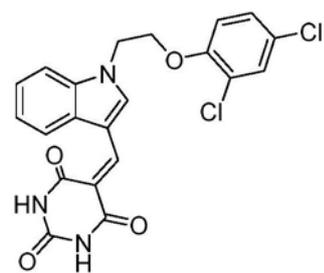
NY-7



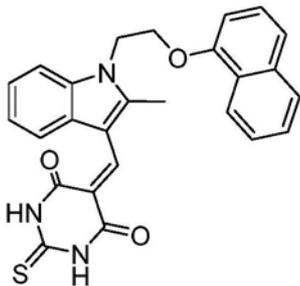
NY-8



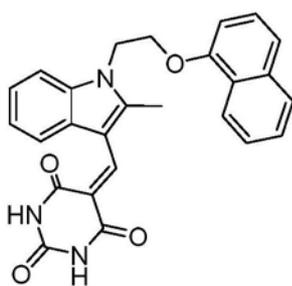
NY-9



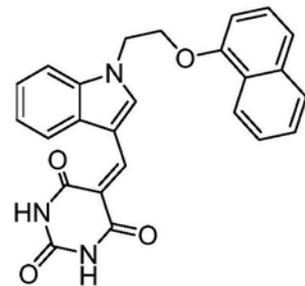
NY-10



NY-11



NY-12



NY-13

NY-14

NY-15

[0011] 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物是作为抑制肿瘤细胞活性的药物。

[0012] 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物的应用,所述肿瘤细胞包括人结直肠癌细胞、乳腺癌细胞和肝癌细胞。

[0013] 所述肿瘤细胞包括HCT116、LoVo、HepG2和T47D。

[0014] 合成化合物NY-6,NY-9,NY-12或NY-15以吲哚为起始原料;再经过Vilsmeier反应得到中间体吲哚-3-甲醛;再以取代的苯酚为起始原料,与1-溴-2-氯乙烷反应得到中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯;接着,中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯与中间体吲哚-3-甲醛反应

得到中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛;最后,中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛与巴比妥酸反应得到目标化合物。

[0015] 合成化合物NY-1,NY-3,NY-5,NY-6,NY-8,NY-9,NY-11,NY-12,NY-14或NY-15还需要反应的原料为巴比妥酸和甲醇。

[0016] 合成化合物NY-2,NY-3,NY-4,NY-5,NY-7,NY-8,NY-10,NY-11,NY-13或NY-14以2-甲基吡啶为起始原料,以2-甲基吡啶为起始原料经过Vilsmeier反应得到中间体2-甲基吡啶-3-甲醛;再以取代的苯酚为起始原料,与1-溴-2-氯乙烷反应得到中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯;接着,中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯与中间体2-甲基吡啶-3-甲醛反应得到中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛;最后,中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛与2-巯基巴比妥酸反应得到目标化合物。

[0017] 合成化合物NY-2,NY-4,NY-7,NY-10或NY-13还需要反应的原料为2-硫代巴比妥酸和甲醇。

[0018] 优点及效果:本发明以ADAM17为靶点设计并全合成了NY系列的15个化合物,并验证了NY系列的15个化合物的抗肿瘤活性,为临床上提供了一个潜在的抗肿瘤活性药物,且可能开发成有效的ADAM17靶点抑制剂。此外,本发明丰富了抗肿瘤化合物数据库,为抑制ADAM17靶点从而达到抗肿瘤的目的提供了新的思路 and 方向,且本发明制备方法收率高且工艺简单。

附图说明:

[0019] 图1为NY-1~15化合物的合成路线;

[0020] 图2为NY-2剂量依赖性地抑制结直肠癌细胞增殖的结果图;

[0021] 图3为NY-2时间依赖性地抑制结直肠癌细胞增殖的结果图;

[0022] 图4为大鼠尾静脉给药NY-2后的药时曲线结果图;

[0023] 图5为NY-2在大鼠体内不同时间点的组织分布结果图;

[0024] 图6为化合物NY-1的HR-MS谱图;

[0025] 图7为化合物NY-2的HR-MS谱图;

[0026] 图8为化合物NY-3的HR-MS谱图;

[0027] 图9为化合物NY-4的HR-MS谱图;

[0028] 图10为化合物NY-5的HR-MS谱图;

[0029] 图11为化合物NY-6的HR-MS谱图;

[0030] 图12为化合物NY-7的HR-MS谱图;

[0031] 图13为化合物NY-8的HR-MS谱图;

[0032] 图14为化合物NY-9的HR-MS谱图;

[0033] 图15为化合物NY-10的HR-MS谱图;

[0034] 图16为化合物NY-11的HR-MS谱图;

[0035] 图17为化合物NY-12的HR-MS谱图;

[0036] 图18为化合物NY-13的HR-MS谱图;

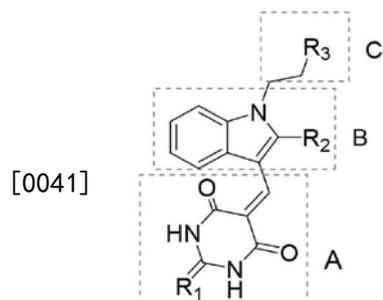
[0037] 图19为化合物NY-14的HR-MS谱图;

[0038] 图20为化合物NY-15的HR-MS谱图。

具体实施方案：

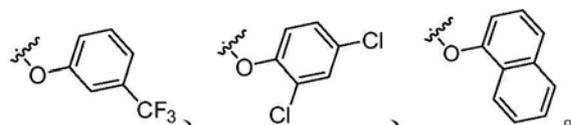
[0039] 结合附图对本发明进行说明：

[0040] 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物，该系列化合物的结构通式如下：



；

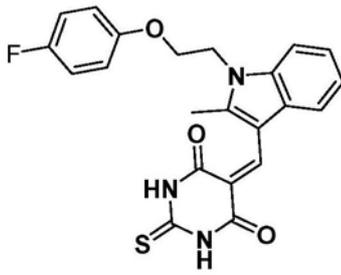
[0042] 在上述化合物中， R_1 为-O、-S， R_2 为-H、-CH₃， R_3 为



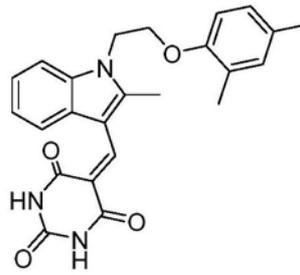
A区域为2-巯基巴比妥酸或巴比妥酸的结构、B区

域为取代的吡唑结构以及C区域的取代苯酚结构。构效关系研究表明，A区域为此类化合物的药效团，B、C区域主要影响此类化合物的溶解性和代谢稳定性等理化性质。

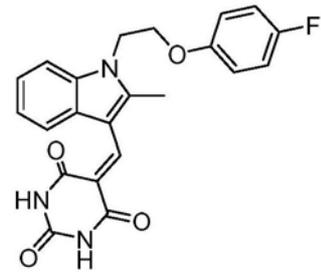
[0043] 所述化合物为以下化合物的一种：



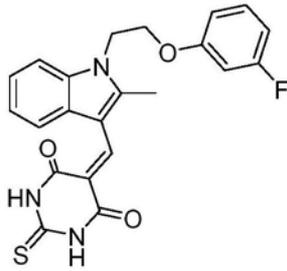
NY-2



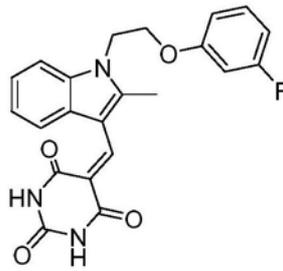
NY-1



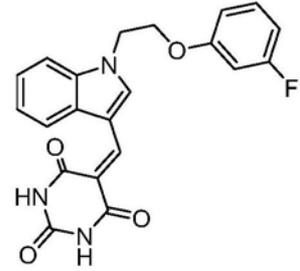
NY-3



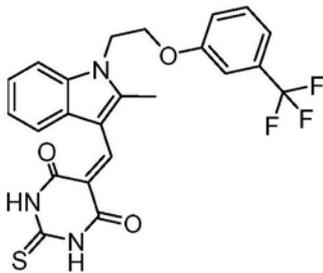
NY-4



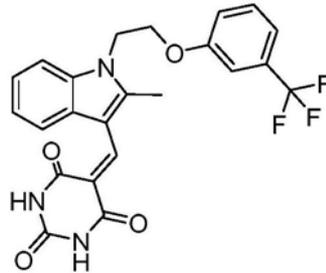
NY-5



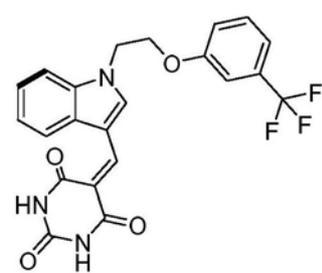
NY-6



NY-7

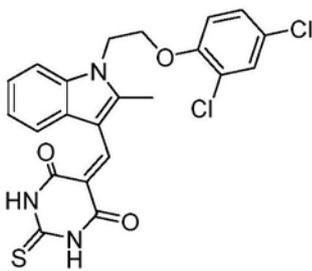


NY-8

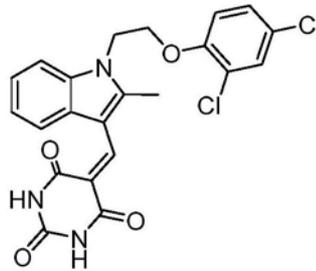


NY-9

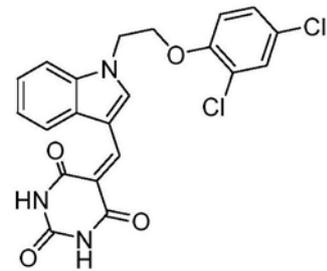
[0044]



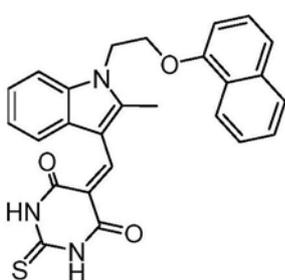
NY-10



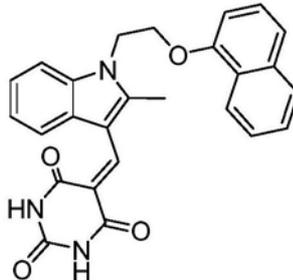
NY-11



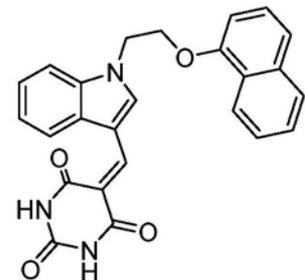
NY-12



NY-13



NY-14



NY-15。

[0045] 所述化合物NY-2至NY-15的结构及命名见表1。

[0046] 表1化合物的结构及命名

[0047]	化合物	R ₁	R ₂	R ₃	命名
	NY-1	O	CH ₃		5-((1-(2-(2,4-dimethylphenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-2	S	CH ₃		5-((1-(2-(4-fluorophenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dione
	NY-3	O	CH ₃		5-((1-(2-(4-fluorophenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-4	S	CH ₃		5-((1-(2-(3-fluorophenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dione
	NY-5	O	H		5-((1-(2-(3-fluorophenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-6	O	CH ₃		5-((1-(2-(3-fluorophenoxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-7	S	CH ₃		5-((2-methyl-1-(2-(3-(trifluoromethyl)phenoxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dione
[0048]	NY-8	O	H		5-((2-methyl-1-(2-(3-(trifluoromethyl)phenoxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-9	O	CH ₃		5-((1-(2-(3-(trifluoromethyl)phenoxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-10	S	CH ₃		5-((1-(2-(2,4-dichlorophenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dione
	NY-11	O	H		5-((1-(2-(2,4-dichlorophenoxy)ethyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-12	O	CH ₃		5-((1-(2-(2,4-dichlorophenoxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
	NY-13	S	CH ₃		5-((2-methyl-1-(2-(naphthalen-1-yloxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dione
	NY-14	O	H		5-((2-methyl-1-(2-(naphthalen-1-yloxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione
[0049]	NY-15	O	CH ₃		5-((1-(2-(naphthalen-1-yloxy)ethyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl)methylene)pyrimidine-2,4,6(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-trione

[0050] 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物的应用,抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物是作为

抑制肿瘤细胞活性的药物。

[0051] 所述肿瘤细胞包括人结直肠癌细胞、乳腺癌细胞和肝癌细胞。

[0052] 所述肿瘤细胞包括HCT116、LoVo, HepG2和T47D。

[0053] 抗肿瘤化合物NY及其系列衍生物生物的合成路线见图1。

[0054] 合成化合物NY-6, NY-9, NY-12或NY-15以吡啶为起始原料;再经过Vilsmeier反应得到中间体吡啶-3-甲醛;再以取代的苯酚为起始原料,与1-溴-2-氯乙烷反应得到中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯;接着,中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯与中间体吡啶-3-甲醛反应得到中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛;最后,中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛与巴比妥酸反应得到目标化合物。

[0055] 合成化合物NY-1, NY-3, NY-5, NY-6, NY-8, NY-9, NY-11, NY-12, NY-14或NY-15还需要反应的原料为巴比妥酸和甲醇。

[0056] 合成化合物NY-2, NY-3, NY-4, NY-5, NY-7, NY-8, NY-10, NY-11, NY-13或NY-14以2-甲基吡啶为起始原料,以2-甲基吡啶为起始原料经过Vilsmeier反应得到中间体2-甲基吡啶-3-甲醛;再以取代的苯酚为起始原料,与1-溴-2-氯乙烷反应得到中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯;接着,中间体1-(2-氯乙氧基)-取代苯与中间体2-甲基吡啶-3-甲醛反应得到中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛;最后,中间体1-(2-(取代苯氧基)乙基)-吡啶-3-甲醛与2-巯基巴比妥酸反应得到目标化合物。

[0057] 合成化合物NY-2, NY-4, NY-7, NY-10或NY-13还需要反应的原料为2-硫代巴比妥酸和甲醇。

[0058] 一、化合物NY及其衍生物NY-1~15,其具体合成路线如下:

[0059] 1. 目标化合物NY-6、NY-9、NY-12、NY-15的合成与制备工艺

[0060] 1.1 中间体3-吡啶甲醛的制备

[0061] 于25mL三颈瓶中,加入2.5mL DMF,在0℃和氩气保护下,缓慢滴加POCl₃(1.00mL, 10.8mmol)。搅拌10min后,将吡啶(1.05g, 9.0mmol)溶解于5mL DMF中,再滴入混合液中。0℃反应45min后,1N NaOH(50mL)缓慢加入到反应液中,产生白色固体,抽滤,冷水洗,得淡黄色固体1.27g,产率为87%。m.p.195-198℃;ESI-MS m/z:146.15[M+H]⁺。

[0062] 1.2 中间体1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯的制备

[0063] 于25mL茄型瓶中,加入3-氟苯酚(0.11g, 1.0mmol), 1-溴-2-氯乙烷(0.42g, 3.0mmol), K₂CO₃(0.35g, 2.5mmol)和8mL乙腈,80℃回流,TLC检测反应。待反应完全后,冷却至室温,抽滤,乙腈洗滤饼。旋干母液,柱层析分离(流动相:石油醚),得淡黄色油状液体0.14g,产率为73%。ESI-MS m/z:174.02[M+H]⁺。

[0064] 1.3 中间体1-(2-氯乙氧基)-3-三氟甲基苯的制备

[0065] 按上述1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯的合成方法,将反应中的3-氟苯酚用3-三氟甲基苯酚替换,得到淡黄色油状液体0.18g,产率为74%。ESI-MS m/z:224.02[M+H]⁺。

[0066] 1.4 中间体1-(2-氯乙氧基)-2,4-二氯苯的制备

[0067] 按上述1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯的合成方法,将反应中的3-氟苯酚用2,4-二氯苯酚替换,得到淡黄色油状液体0.19g,产率为71%。ESI-MS m/z:223.96[M+H]⁺。

[0068] 1.5 中间体1-(2-氯乙氧基)萘的制备

[0069] 按上述1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯的合成方法,将反应中的3-氟苯酚用1-萘酚替换,

得到淡黄色油状液体0.16g,产率为73%。ESI-MS m/z :206.05[M+H]⁺。

[0070] 1.6中间体1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0071] 于25mL茄型瓶中,加入3-吡啶甲醛(0.15g,1.0mmol),1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯(0.19g,1.1mol),K₂CO₃(0.35g,2.5mmol)和5mL DMF,90℃加热,TLC检测反应。待反应完全后,冷却至室温。倒入10mL冰水中,抽滤,水洗,得橘黄色固体0.25g,产率为83%。m.p.122-124℃;ESI-MS m/z :283.10[M+H]⁺。

[0072] 1.7中间体1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0073] 按上述1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯用1-(2-氯乙氧基)-3-三氟甲基苯替换,得橘黄色固体0.30g,产率为82%。m.p.144-145℃;ESI-MS m/z :333.09[M+H]⁺。

[0074] 1.8中间体1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0075] 按上述1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯用1-(2-氯乙氧基)-2,4-二氯苯替换,得橘黄色固体0.31g,产率为85%。m.p.188-190℃;ESI-MS m/z :333.03[M+H]⁺。

[0076] 1.9中间体1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0077] 按上述1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯用1-(2-氯乙氧基)萘替换,得橘黄色固体0.28g,产率为80%。m.p.150-153℃;ESI-MS m/z :315.13[M+H]⁺。

[0078] 1.10 5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-6)的合成

[0079] 于25mL茄型瓶中,加入1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛(0.28g,1.0mmol),巴比妥酸(0.14g,1.1mmol)和10mL甲醇,75℃回流,TLC检测反应。待反应完全后,冷却至室温,抽滤,甲醇洗,得亮黄色固体0.35g,产率为69%。m.p.>240℃;¹H NMR(600MHz,DMSO) δ11.16(s,1H,NH),11.10(s,1H,NH),9.64(s,1H,CH),8.67(s,1H,CH),7.90(d,J=7.5Hz,1H,ArH),7.81(d,J=7.9Hz,1H,ArH),7.39(dt,J=15.2,6.9Hz,2H,ArH),7.27(dd,J=15.5,8.1Hz,1H,ArH),6.80-6.72(m,3H,ArH),4.83(t,J=4.7Hz,2H,CH₂),4.42(t,J=4.8Hz,2H,CH₂);¹³C NMR(151MHz,DMSO) δ164.95,164.15,163.66,162.53,159.78,159.71,150.87,143.41,143.05,137.09,131.26,131.19,130.09,124.22,123.51,118.30,112.45,111.45,111.13,109.43,108.16,108.07,102.59,102.43,67.13,46.85;ESI-MS m/z :394.1238[M+H]⁺。如图11所示。

[0080] 1.11 5-((1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-9)的合成

[0081] 按上述5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛替换,得到亮黄色固体0.37g,产率为68%。m.p.>240℃;

[0082] ¹H NMR(600MHz,DMSO) δ11.13(s,2H,NH),9.65(s,1H,CH),8.67(s,1H,CH),7.90(d,J=7.5Hz,1H,ArH),7.83(d,J=7.8Hz,1H,ArH),7.47(t,J=7.8Hz,1H,ArH),7.39(dt,J=14.6,7.0Hz,2H,ArH),7.27(d,J=7.6Hz,1H,ArH),7.20-7.15(m,2H,ArH),4.85(t,J=

4.7Hz, 2H, CH₂), 4.50 (t, J=4.7Hz, 2H, CH₂); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ164.96, 163.67, 158.64, 150.90, 143.38, 143.06, 137.07, 131.22, 130.10, 124.22, 123.50, 123.39, 119.58, 119.50, 118.30, 118.09, 112.47, 111.39, 111.13, 109.45, 67.30, 46.92; ESI-MS m/z: 444.1176 [M+H]⁺。如图14所示。

[0083] 1.12 5-((1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-12)的合成

[0084] 按上述5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛替换,得到亮黄色固体0.36g,产率为73%。m.p.>240℃; ¹H NMR (600MHz, DMSO) δ11.15 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, NH), 9.66 (s, 1H, CH), 8.67 (s, 1H, CH), 7.89 (d, J=7.1Hz, 1H, ArH), 7.83 (d, J=7.5Hz, 1H, ArH), 7.50 (s, 1H, ArH), 7.38 (dd, J=13.5, 6.8Hz, 2H, ArH), 7.32 (d, J=7.4Hz, 1H, ArH), 7.13 (d, J=8.9Hz, 1H, ArH), 4.87 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂), 4.45 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ164.95, 163.51, 152.85, 150.86, 143.39, 143.34, 137.01, 130.15, 129.72, 128.49, 125.34, 124.15, 123.50, 122.89, 118.21, 115.51, 112.61, 111.14, 109.33, 68.07, 46.95; ESI-MS m/z: 444.0572 [M+H]⁺。如图17所示。

[0085] 1.13 5-((1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-15)的合成

[0086] 按上述5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-1H-吡啶-3-甲醛替换,得到亮黄色固体0.34g,产率为74%。m.p.>240℃; ¹H NMR (600MHz, DMSO) δ11.18 (s, 1H, NH), 11.17 (s, 1H, NH), 9.87 (s, 1H, CH), 8.68 (s, 1H, CH), 8.11 (d, J=8.3Hz, 1H, ArH), 7.91 (dd, J=13.7, 8.0Hz, 2H, ArH), 7.80 (d, J=8.1Hz, 1H, ArH), 7.47 (t, J=7.4Hz, 1H, ArH), 7.45-7.42 (m, 2H, ArH), 7.41-7.38 (m, 1H, ArH), 7.38-7.36 (m, 1H, ArH), 7.35 (t, J=6.4Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, J=7.7Hz, 1H, ArH), 5.02 (t, J=4.7Hz, 2H, CH₂), 4.50 (t, J=4.7Hz, 2H, CH₂); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ162.32, 161.94, 154.97, 154.32, 151.06, 148.42, 138.05, 136.21, 129.91, 127.61, 126.61, 126.51, 126.90, 126.02, 125.53, 123.59, 121.88, 121.71, 120.47, 119.84, 109.54, 109.61, 107.33, 67.64, 55.05; ESI-MS m/z: 426.1571 [M+H]⁺。如图20所示。

[0087] 2. 目标化合物NY-1,3,5,8,11,14的合成与制备工艺

[0088] 2.1 中间体2-甲基-3-吡啶甲醛的制备

[0089] 按上述3-吡啶甲醛的合成方法,将反应中的吡啶用2-甲基吡啶替换,得到淡黄色固体1.39g,产率为87%。m.p.167-170℃; ESI-MS m/z: 159.07 [M+H]⁺。

[0090] 2.2 中间体1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯(NY-1-1)的制备

[0091] 按上述1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯的合成方法,将反应中的3-氟苯酚用2,4-二甲基苯酚替换,得到淡黄色油状液体0.15g,产率为70%。ESI-MS m/z: 184.07 [M+H]⁺; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ6.97-6.92 (m, 2H, ArH), 6.82 (d, J=8.1Hz, 1H, ArH), 4.22-4.19 (m, 2H, CH₂), 3.94-3.91 (m, 2H, CH₂), 2.20 (s, 3H, CH₃), 2.15 (s, 3H, CH₃)。

[0092] 2.3 中间体1-(2-氯乙氧基)-4-氟苯的制备

[0093] 按上述1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯的合成方法,将反应中的3-氟苯酚用4-氟苯酚替换,得到淡黄色油状液体0.14g,产率为72%。ESI-MS m/z :174.02[M+H]⁺。

[0094] 2.4中间体1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛(NY-1-2)的制备

[0095] 于25mL茄型瓶中,加入2-甲基-3-吡啶甲醛(0.16g,1.0mmol),1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯(0.20g,1.1mol),K₂CO₃(0.35g,2.5mmol)和5mL DMF,90℃加热,TLC检测反应。待反应完全后,冷却室温。倒入10mL冰水中,抽滤,水洗,得橘黄色固体0.27g,产率为85%。m.p.146-148℃;ESI-MS m/z :307.16[M+H]⁺;¹H NMR(400MHz,DMSO-d₆) δ 10.12(s,1H,CHO),8.12(s,1H,ArH),7.66(s,1H,ArH),7.21(s,2H,ArH),6.88(s,2H,ArH),6.76(s,1H,ArH),4.67(t,J=4.9Hz,2H,CH₂),4.28(t,J=4.9Hz,2H,CH₂),2.81(s,3H,CH₃),2.15(s,3H,CH₃),1.91(s,3H,CH₃)。

[0096] 2.5中间体1-(2-(4-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0097] 按上述1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯用1-(2-氯乙氧基)-4-氟苯替换,得橘黄色固体0.27g,产率为86%。m.p.154-155℃;ESI-MS m/z :297.11[M+H]⁺。

[0098] 2.6中间体1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0099] 按上述1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯用1-(2-氯乙氧基)-3-氟苯替换,得橘黄色固体0.26g,产率为87%。m.p.132-135℃;ESI-MS m/z :297.16[M+H]⁺。

[0100] 2.7中间体1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0101] 按上述1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯用1-(2-氯乙氧基)-3-三氟甲基苯替换,得橘黄色固体0.27g,产率为85%。m.p.154-155℃;ESI-MS m/z :347.19[M+H]⁺。

[0102] 2.8中间体1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0103] 按上述1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯用1-(2-氯乙氧基)-2,4-二氯苯替换,得橘黄色固体0.29g,产率为84%。m.p.198-200℃;ESI-MS m/z :327.06[M+H]⁺。

[0104] 2.9中间体1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的制备

[0105] 按上述1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛的合成方法,将反应中的1-(2-氯乙氧基)-2,4-二甲基苯用1-(2-氯乙氧基)萘替换,得橘黄色固体0.28g,产率为86%。m.p.183-186℃;ESI-MS m/z :329.14[M+H]⁺。

[0106] 2.10 5-((1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-1)的合成

[0107] 于25mL茄型瓶中,加入1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛(0.31g,1.0mmol),巴比妥酸(0.14g,1.1mmol)和10mL甲醇,75℃回流,TLC检测反应。待反应完全后,冷却至室温,抽滤,甲醇洗,得土黄色固体0.33g,产率为69%。m.p.>240℃;¹H NMR(600MHz,DMSO) δ 11.08(s,1H,NH),10.91(s,1H,NH),8.52(s,1H,CH),7.69(s,1H,ArH),7.25(s,2H,ArH),7.20(s,1H,ArH),6.87(s,2H,ArH),6.78(s,1H,ArH),4.76(s,2H,CH₂),4.30(s,2H,CH₂),2.65(t,3H,CH₃),2.15(t,3H,CH₃),1.92(s,3H,CH₃);¹³C NMR(151MHz,DMSO) δ

164.83, 161.94, 154.47, 151.70, 150.98, 146.44, 137.69, 131.67, 129.67, 127.51, 126.49, 125.69, 123.27, 122.10, 112.32, 111.40, 110.46, 66.68, 49.06, 43.90, 20.48, 16.60, 12.92; ESI-MS m/z : 418.1777 [M+H]⁺。如图6所示。

[0108] 2.11 5-((1-(2-(4-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6-(1H,3H,5H)-三酮(NY-3)的合成

[0109] 按上述5-((1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6-(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(4-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛替换,得土黄色固体0.32g,产率为70%。m.p. >240°C; ¹H NMR (600MHz, DMSO) δ 10.93 (s, 2H, NH), 8.52 (s, 1H, CH), 7.69 (d, J=8.2Hz, 1H, ArH), 7.29-7.22 (m, 2H, ArH), 7.19 (t, J=7.4Hz, 1H, ArH), 7.07 (t, J=8.8Hz, 2H, ArH), 6.92-6.87 (m, 2H, ArH), 4.75 (t, J=5.0Hz, 2H, CH₂), 4.33 (t, J=5.0Hz, 2H, CH₂), 2.64 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ 162.31, 159.80, 154.57, 150.46, 148.40, 138.63, 136.62, 130.03, 126.50, 121.78, 121.24, 119.18, 116.50, 116.28, 116.10, 116.13, 106.29, 102.51, 102.34, 67.86, 52.63, 13.01; ESI-MS m/z : 408.1372 [M+H]⁺。如图8所示。

[0110] 2.12 5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6-(1H,3H,5H)-三酮(NY-5)的合成

[0111] 按上述5-((1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6-(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛替换,得土黄色固体0.31g,产率为73%。m.p. >240°C; ¹H NMR (600MHz, DMSO) δ 11.09 (s, 1H, NH), 10.92 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, CH), 7.66 (s, 1H, ArH), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.26 (s, 1H, ArH), 7.25 (s, 1H, ArH), 7.21 (s, 1H, ArH), 6.80 (s, 1H, ArH), 6.74 (s, 1H, ArH), 6.72 (s, 1H, ArH), 4.75 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂), 4.37 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂), 2.50 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ 164.81, 164.17, 162.56, 161.98, 159.80, 159.73, 151.82, 151.03, 146.50, 137.58, 131.24, 131.18, 126.50, 123.28, 123.10, 122.13, 112.29, 111.28, 111.22, 110.57, 108.13, 107.99, 102.51, 102.34, 66.96, 43.63, 13.01; ESI-MS m/z : 408.1361 [M+H]⁺。如图10所示。

[0112] 2.13 5-((2-甲基-1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6-(1H,3H,5H)-三酮(NY-8)的合成

[0113] 按上述5-((1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6-(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛替换,得土黄色固体0.36g,产率为66%。m.p. >240°C; ¹H NMR (600MHz, DMSO) δ 11.09 (s, 1H, NH), 10.92 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, CH), 7.69 (d, J=8.0Hz, 1H, ArH), 7.48 (t, J=7.8Hz, 1H, ArH), 7.30-7.23 (m, 3H, ArH), 7.19 (s, 3H, ArH), 4.77 (t, J=4.7Hz, 2H, CH₂), 4.45 (t, J=4.7Hz, 2H, CH₂), 2.66 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ 164.81, 161.97, 161.85, 158.63, 151.83, 150.96, 146.51, 137.61, 131.18, 130.85, 130.58, 126.47, 125.24, 123.47, 123.32, 123.09, 122.12, 119.32, 117.99, 112.30, 111.31, 110.47, 67.09, 43.65, 13.00; ESI-MS m/z : 458.1304 [M+H]⁺。如图13所示。

[0114] 2.14 5-((1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-11)的合成

[0115] 按上述5-((1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛替换,得土黄色固体0.35g,产率为73%。m.p.>240°C;¹H NMR(600MHz,DMSO) δ11.09(s,1H,NH),10.92(s,1H,NH),8.52(s,1H,CH),7.69(d,J=8.1Hz,1H,ArH),7.52(d,J=2.0Hz,1H,ArH),7.33(dd,J=8.8,2.0Hz,1H,ArH),7.27(t,J=7.4Hz,1H,ArH),7.21(dd,J=16.7,7.2Hz,2H,ArH),7.13(d,J=8.9Hz,1H,ArH),4.79(t,J=4.6Hz,2H,CH₂),4.44(t,J=4.6Hz,2H,CH₂),2.70(s,3H,CH₃);¹³C NMR(151MHz,DMSO) δ164.83,161.94,152.92,151.95,151.04,146.45,137.52,129.77,128.59,126.42,125.31,123.46,123.06,122.43,122.12,115.21,112.30,111.43,110.52,67.99,49.06,12.84;ESI-MS m/z:458.0666[M+H]⁺。如图16所示。

[0116] 2.15 5-((2-甲基-1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮(NY-14)的合成

[0117] 按上述5-((1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的1-(2-(2,4-二甲基苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛用1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-甲醛替换,得土黄色固体0.32g,产率为74%。m.p.>240°C;¹H NMR(600MHz,DMSO) δ11.10(s,1H,NH),10.93(s,1H,NH),8.55(s,1H,CH),7.93(d,J=8.2Hz,1H,ArH),7.82(d,J=7.9Hz,2H,ArH),7.45(dd,J=17.9,9.3Hz,3H,ArH),7.36(dd,J=14.7,7.9Hz,2H,ArH),7.28(d,J=7.7Hz,1H,ArH),7.22(t,J=7.4Hz,1H,ArH),6.97(d,J=7.6Hz,1H,ArH),4.91(t,J=4.8Hz,2H,CH₂),4.54(t,J=4.8Hz,2H,CH₂),2.72(s,3H,CH₃);¹³C NMR(151MHz,DMSO) δ164.82,161.94,153.97,151.32,151.06,146.42,137.85,134.41,127.91,126.91,126.61,126.51,125.90,125.02,123.13,123.09,122.18,121.91,120.97,112.44,111.54,110.71,105.83,67.04,43.75,13.16;ESI-MS m/z:440.1532[M+H]⁺。如图19所示。

[0118] 3.目标化合物NY-2,4,7,10,13的合成与制备工艺

[0119] 3.1 5-((1-(2-(4-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-硫代二氢嘧啶-4,6(1H,5H)-二酮(NY-2)的合成

[0120] 按上述5-((1-(2-(4-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的巴比妥酸用2-硫代巴比妥酸替换,得红棕色固体0.31g,产率为73%。m.p.>240°C;¹H NMR(600MHz,DMSO) δ12.17(s,1H,NH),12.06(s,1H,NH),8.54(s,1H,CH),7.71(d,J=8.2Hz,1H,ArH),7.31(s,1H,ArH),7.23(s,2H,ArH),7.07(t,J=8.6Hz,2H,ArH),6.91(t,J=8.6Hz,2H,ArH),4.78(t,J=5.2Hz,2H,CH₂),4.33(t,J=5.2Hz,2H,CH₂),2.69(s,3H,CH₃);¹³C NMR(151MHz,DMSO) δ175.24,166.96,166.12,162.55,159.92,159.75,159.68,154.28,138.23,136.93,131.23,130.17,129.08,126.34,124.07,123.86,121.65,119.65,116.55,116.20,116.93,116.16,109.02,102.52,102.35,67.86,52.86,13.06;ESI-MS m/z:424.1053[M+H]⁺。如图7所示。

[0121] 3.2 5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-硫代二氢嘧啶-4,6(1H,5H)-二酮(NY-4)的合成

[0122] 按上述5-((1-(2-(3-氟苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的巴比妥酸用2-硫代巴比妥酸替换,得红棕色固体0.30g,产率为71%。m.p.>240℃;¹H NMR (600MHz, DMSO) δ12.18 (s, 1H, NH), 12.07 (s, 1H, NH), 8.55 (s, 1H, CH), 7.70 (d, J=8.2Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, J=6.1Hz, 1H, ArH), 7.26 (d, J=7.2Hz, 1H, ArH), 7.23 (d, J=6.2Hz, 1H, ArH), 6.99 (d, J=6.2Hz, 1H, ArH), 6.79 (d, J=11.2Hz, 1H, ArH), 6.75 (s, 1H, ArH), 6.72 (d, J=2.2Hz, 1H, ArH), 4.77 (t, J=4.9Hz, 2H, CH₂), 4.38 (t, J=5.0Hz, 2H, CH₂), 2.68 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ178.24, 164.16, 163.12, 162.55, 159.92, 159.75, 159.68, 154.28, 147.23, 137.93, 131.23, 131.17, 129.08, 126.34, 124.07, 123.56, 122.65, 113.65, 111.55, 111.20, 109.93, 108.16, 108.02, 102.52, 102.35, 66.86, 43.86, 13.06; ESI-MS m/z: 424.1096 [M+H]⁺。如图9所示。

[0123] 3.3 5-((2-甲基-1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-硫代二氢嘧啶-4,6(1H,5H)-二酮(NY-7)的合成

[0124] 按上述5-((2-甲基-1-(2-(3-(三氟甲基)苯氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的巴比妥酸用2-硫代巴比妥酸替换,得红棕色固体0.34g,产率为73%。m.p.>240℃;¹H NMR (600MHz, DMSO) δ12.18 (s, 1H, NH), 12.18 (s, 1H, NH), 8.56 (s, 1H, CH), 7.72 (d, J=8.1Hz, 1H, ArH), 7.72 (d, J=8.1Hz, 1H, ArH), 7.47 (t, J=8.2Hz, 1H, ArH), 7.32 (t, J=6.6Hz, 1H, ArH), 7.27 (d, J=7.7Hz, 1H, ArH), 7.43 (s, 1H, 7H), 7.23 (d, J=7.0Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, J=5.7Hz, 1H, ArH), 4.79 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂), 4.46 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂), 2.71 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ178.24, 163.11, 159.91, 158.59, 154.28, 147.24, 137.97, 131.17, 130.85, 130.64, 125.27, 124.10, 123.54, 123.46, 122.64, 119.30, 118.00, 113.65, 111.58, 111.25, 109.84, 66.99, 43.88, 13.05; ESI-MS m/z: 474.1081 [M+H]⁺。如图12所示。

[0125] 3.4 5-((1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-硫代二氢嘧啶-4,6(1H,5H)-二酮(NY-10)的合成

[0126] 按上述5-((1-(2-(2,4-二氯苯氧基)乙基)-2-甲基-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的巴比妥酸用2-硫代巴比妥酸替换,得红棕色固体0.34g,产率为72%。m.p.>240℃;¹H NMR (600MHz, DMSO) δ12.17 (s, 1H, NH), 12.06 (s, 1H, NH), 8.54 (s, 1H, CH), 7.72 (d, J=8.1Hz, 1H, ArH), 7.52 (d, J=2.5Hz, 1H, ArH), 7.35-7.28 (m, 2H, ArH), 7.21 (dd, J=12.9, 7.4Hz, 2H, ArH), 7.13 (d, J=9.0Hz, 1H, ArH), 4.82 (t, J=4.5Hz, 2H, CH₂), 4.45 (t, J=4.6Hz, 2H, CH₂), 2.75 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ178.23, 163.21, 159.88, 154.37, 152.89, 147.17, 137.88, 129.77, 128.59, 126.29, 125.35, 124.21, 123.52, 122.64, 122.44, 115.25, 113.66, 111.72, 109.91, 67.90, 43.89, 12.91; ESI-MS m/z: 474.0458 [M+H]⁺。如图15所示。

[0127] 3.5 5-((2-甲基-1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)-2-硫代二氢嘧啶-4,6(1H,5H)-二酮(NY-13)的合成

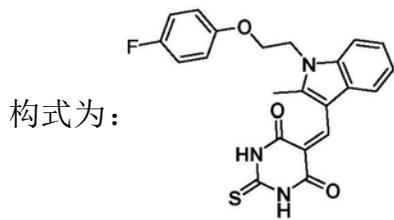
[0128] 按上述5-((2-甲基-1-(2-(萘-1-基氧基)乙基)-1H-吡啶-3-基)亚甲基)嘧啶-2,4,6(1H,3H,5H)-三酮的合成方法,将反应中的巴比妥酸用2-硫代巴比妥酸替换,得红棕色固体0.31g,产率为69%。m.p.>240℃;¹H NMR (600MHz, DMSO) δ12.18 (s, 1H, NH), 12.07 (s, 1H, NH), 8.56 (s, 1H, CH), 7.91-7.87 (m, 2H, ArH), 7.82 (d, J=8.1Hz, 2H, ArH), 7.41-7.34 (m,

4H, ArH), 7.26 (d, J=3.7Hz, 2H, ArH), 6.98 (d, J=7.8Hz, 1H, ArH), 4.96 (t, J=4.8Hz, 2H, CH₂), 4.57 (t, J=4.8Hz, 2H, CH₂), 2.77 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (151MHz, DMSO) δ 175.22, 166.94, 159.97, 154.32, 151.06, 148.42, 138.05, 136.21, 129.91, 127.61, 126.61, 126.51, 126.90, 126.02, 125.53, 123.59, 121.88, 121.71, 120.47, 119.84, 109.54, 106.61, 107.33, 67.94, 52.55, 13.10; ESI-MS m/z: 478.1215 [M+Na]⁺。如图18所示。

[0129] 二、通过如下实验验证本发明中化合物抑制肿瘤细胞增殖的活性作用及体内药代动力学和组织分布的研究内容。

[0130] 通过全合成的方式获得NY-1~15。

[0131] 以下以NY-2为例进行说明, NY-2, 5-((1-(2-(4-fluorophenoxy) ethyl)-2-methyl-1H-indol-3-yl) methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1H,5H)-dione结



目前此化合物尚未报道, 属本实验室合成的新化合物。此外,

本发明首次得出其具有抑制肿瘤细胞增殖的活性。

[0132] 1.1 NY-2体外抑制肿瘤细胞增殖研究

[0133] 1) 仪器与试剂: DMEM培养基 (Hyclone公司), 胎牛血清 (Hyclone公司); CKX31型倒置显微镜 (菲律宾奥林巴斯公司); 恒温CO₂培养箱 (美国Thermo公司); 5810R型台式高速低温离心机 (德国Eppendorf公司)。

[0134] 2) 细胞培养: 将复苏后的细胞转移至培养瓶中, 37℃培养箱中培养 (5% CO₂, 相对湿度90%), 隔天更换培养液。待细胞长满瓶壁的80-90%左右时, 进行传代或下步试验, 控制细胞密度在1×10⁵ cells/mL左右。

[0135] 3) MTT法筛选15个衍生物的抗肿瘤活性: 将处于对数期的HCT116, LoVo, T47D, HepG2细胞, 按0.5×10⁴ cells/mL密度接种于96孔板, 在37℃、5% CO₂培养箱中过夜使其贴壁后加入不同浓度的衍生物NY-1~15作用48h后, 在避光的环境下每孔加入20μL MTT溶液 (5mg/mL), 于培养箱中避光孵育4h, 然后轻柔地吸去上清液, 每孔加入150μL DMSO, 置于振荡器上振荡5min至蓝紫色结晶完全溶解后于酶标仪490nm处测定吸光度 (OD) 值。每组设3个复孔, 实验重复三次。通过生存曲线计算半数抑制率IC₅₀值。按照如下公式计算细胞存活率:

$$\text{细胞存活率 (\%)} = \frac{\text{实验组 (OD 均值)} - \text{调零组 (OD 均值)}}{\text{对照组 (OD 均值)} - \text{调零组 (OD 均值)}} \times 100\%$$

3) 结果: 与对照组相比, NY-2可明显抑制HCT116、LoVo (结直肠癌), HepG2 (肝癌), T47D (乳腺癌) 细胞增殖活性, 且剂量和时间依赖性的抑制结直肠癌细胞LoVo和HCT116的增殖能力, NY-1~15抑制HCT116、LoVo, HepG2和T47D, 具体结果表2所示。

[0136] 表2 NY-1~15抑制HCT116、LoVo, HepG2和T47D

化合物	IC ₅₀ (μM)			
	HCT116	LoVo	T47D	HepG2
NY-1	—	—	—	26.22
NY-2	5.35	5.82	34.71	20.03
NY-3	43.71	21.45	—	—
NY-4	27.53	41.83	25.41	553.80
NY-5	11.40	23.52	33.98	37.20
NY-6	38.76	28.74	53.74	40.75
[0137] NY-7	12.46	20.59	21.79	77.39
NY-8	—	38.06	10.30	—
NY-9	35.30	—	—	85.21
NY-10	26.03	86.48	23.31	66.67
NY-11	—	23.15	16.58	90.12
NY-12	20.03	—	40.36	—
NY-13	12.79	43.16	5.15	33.14
NY-14	—	—	74.33	—
NY-15	11.31	124.20	21.43	13.46

[0138] 从表中可以得出NY-2可抑制多种肿瘤细胞增殖,且其抑制结直肠癌细胞尤为显著,因此,选取2做体内药代动力学和组织分布研究。

[0139] 1.2NY-2体内药代动力学和组织分布研究

[0140] 1) 仪器与试剂:NY-2(本实验室合成,纯度>98%),特非那定标准品(中国食品药品检定研究院,含量99.4%);乙腈(色谱纯,德国Merck公司);甲酸(LC/MS,Fisher Scientific);纯净水(屈臣氏饮用水);0.9%氯化钠注射液(华仁药业股份有限公司);肝素钠(北京索莱宝科技有限公司);HPLC高效液相色谱仪(LC-20A,日本岛津,SIL-20AC自动进样器,SPD-20A紫外检测器,CTO-20A柱温箱);API 3200MD三重四级杆质谱仪(美国AB SCIEX公司),Analyst MD Software1.6.2数据采集及分析软件,MultiQuant MD 3.0.2数据分析模块);色谱柱(ACE Excel SuperC18 column 3μm(100×2.1mm));台式高速冷冻离心机(TGL-20M,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);pH计(德国SARTORIUS公司);电子分析天平(AUWI 20D,北京岛津公司);XK96-3型微量振荡器(江苏新康医疗器械有限公司)。

[0141] 2) 血浆样品的制备与采集:将配制好的肝素钠溶液涂抹于1.5mLEP管中,自然晾干。空白SD大鼠用4%水合氯醛麻醉(0.5mL/100g),腹主动脉取血至取尽为止,并迅速分装于事先准备好的肝素管中。将EP管置于离心机中,4℃,3500rpm离心10min。吸取上层澄清空白血浆置于另一干净EP管中,置于-20℃冰箱储存备用。

[0142] 3) 血浆样品预处理:采用蛋白沉淀法进行血浆样品预处理。精密量取50μL空白大鼠血浆,依次加入10μL已配好的内标标准溶液和乙腈,涡旋30秒充分混合,再加入150μL乙腈作为蛋白沉淀剂,涡旋混合3min,使其充分混匀,于离心机内4℃,16000rpm离心10min。吸取上清液,进行LC-MS/MS分析。

[0143] 4) 尾静脉给药NY-2在大鼠体内药代动力学研究中静脉注射药品的配制:化合物

NY-2溶液的配制:以10mg/kg的剂量静脉注射给药。精密称取适量的NY-2化合物粉末,由于两个化合物的水溶性较差,所以先用含DMSO 1%,含PEG300 25%,含乙醇10%的混合溶液溶解并超声,溶解后无可见微粒,溶液澄清,再用生理盐水稀释,配成NY-2的质量浓度为5mg/mL的样品溶液,于4℃冰箱保存。

[0144] 5) 动物单次给药分组设计

[0145] 将已经进行适应性饲养72h的6只SPF级SD大鼠为NY-2给药组。正式给药前禁食12h,自由饮水。按体重分别尾静脉单剂量(10mg/kg)单次缓慢注射NY-2样品溶液。给药后4h内禁食不禁水,4h后不禁食不禁水。

[0146] 6) 尾静脉给药NY-2在大鼠体内组织分布研究中给药方案与样品采集:每组四只大鼠尾静脉注射以相等剂量(10mg/kg)的两种药液。给药后于不同时间点实施脱臼处死,小心取出主要组织:心,肝,脾,肺,肾,大脑,肌肉,肠每个组织经0℃的生理盐水冲洗除去残留血液及其他内容物后,用滤纸吸干水滴,精确称量后于-20℃冰箱储存直至其进一步使用。

[0147] 7) 组织样品预处理:

[0148] 将冻存的组织样品(心,肝,脾,肺,肾,大脑,肌肉,肠)于室温解冻后在乙腈-生理盐水(1:1,v/v)的溶液中匀浆,组织和匀浆液的比例为1:3(w/v),匀浆后得组织匀浆液,将组织匀浆液超声5min,转移至冷冻离心机中,4℃,3500rpm离心5min,吸取上清液50μL置新的1.5mLEP管中,加10μL内标(特非那定标准溶液550ng/mL)后再加150μL乙腈涡旋混合3min,用来沉淀组织匀浆上清液中残留的蛋白及其他杂质等,再置离心机中,4℃,16000rpm,离心5min,取上清液用于LC-MS/MS系统检测分析,进样体积15μL。

[0149] 图2-3表明化合物NY-2可以快速入血,使得其在血浆中的暴露量较高,进而到达靶组织有助于药物在靶组织中发挥靶向抗癌的效果;此外,NY-2的半衰期、平均滞留时间适中,说明NY-2能在体内保持一定的血药浓度,具有良好的药代动力学行为。本研究过程中还发现尾静脉给药后NY-2均可迅速广泛地分布于各组织,尤其血流量大的组织,但不易透过血脑屏障,结果如表3,图4-5所示。

[0150] 图2-3表明化合物NY-2可以时间和浓度依赖性地抑制结直肠癌细胞HCT116的增殖,即随着HCT116细胞浓度地增加和药物作用时间的延长,抑制肿瘤细胞增殖作用越明显;静脉给药后,化合物NY-2在大鼠体内的动态分布情况,即随着给药时间的延长,药物在体内逐渐消除,以血药浓度对时间点作图,得到静脉注射10mg/kgNY-2后的平均血药浓度-时间曲线图。表3将大鼠尾静脉注射化合物NY-2后计算得到各大鼠在不同时间点的血浆药物浓度。不同时间下NY-2的血药浓度-时间数据经DAS2.0药动学软件拟合,依据二室模型得到NY-2的药代动力学结果参数采用统计矩算法,其主要药动学参数见表3。NY-2的血药浓度的峰值(C_{max})为2750.7ng/mL,同时药时曲线下面积($AUC_{0-\infty}$)为402.5ng/mL*h \pm 130.5;(AUC_{0-t})为370.3ng/mL*h \pm 111.2,NY-2的半衰期($t_{1/2}$)为2.15h,平均滞留时间(MRT_{0-t})为1.07h(6h后多数采样时间点浓度低于定量下限,故未纳入药动数据统计)。

[0151] 表3主要药动学参数

	参数	NY-2
	C_{\max} (ng/mL)	2750.67±1113.24 ^{***}
	AUC _{0-t} (ng/mL*h)	370.25±111.24 ^{***}
[0152]	AUC _{0-∞} (ng/mL*h)	402.45±130.46 ^{***}
	$t_{1/2}$ (h)	2.15±0.62 ^{***}
	CL _Z (mL/h/kg)	28.13±12.99
	MRT _{0-t} (h)	1.07±0.16 ^{***}
	V _Z (mL/kg)	82.16±28.13

[0153] 本发明首次发现并合成的NY-2具有抑制HCT116、LoVo (结直肠癌), HepG2 (肝癌), T47D (乳腺癌) 细胞增殖的作用。为临床上提供了一个潜在的抗肿瘤活性药物。

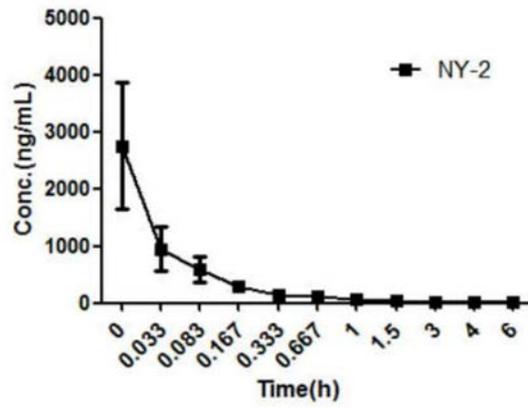


图4

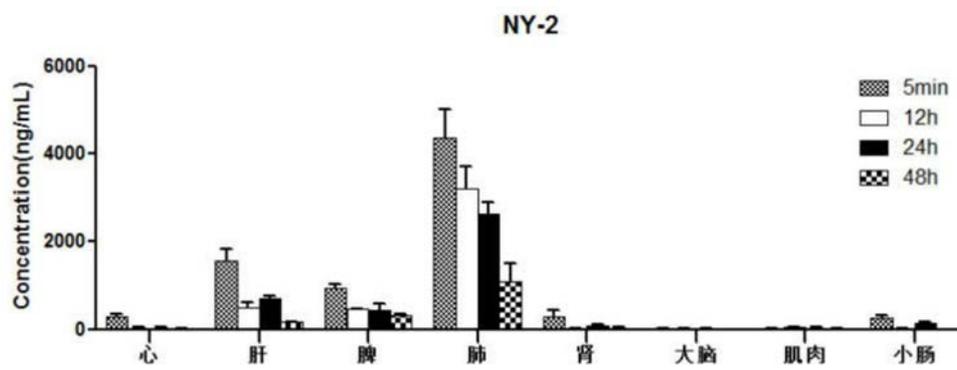


图5

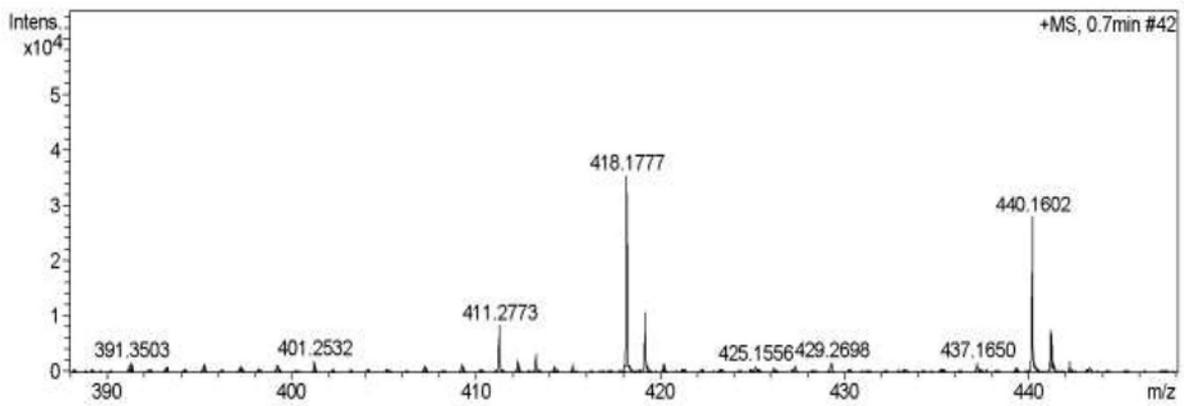


图6

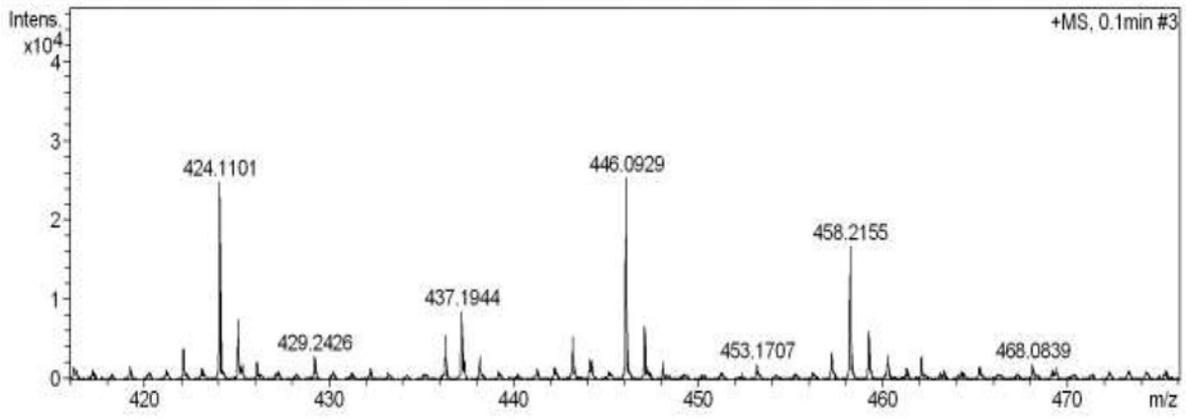


图7

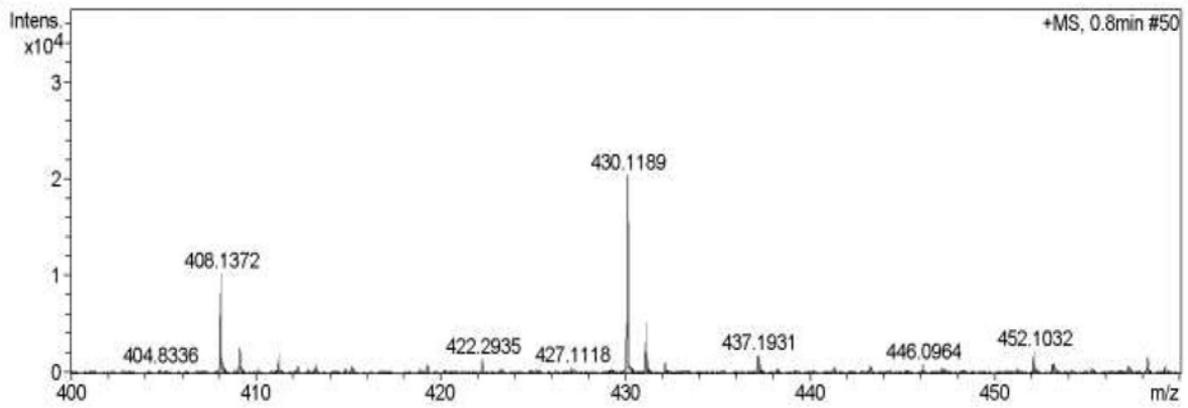


图8

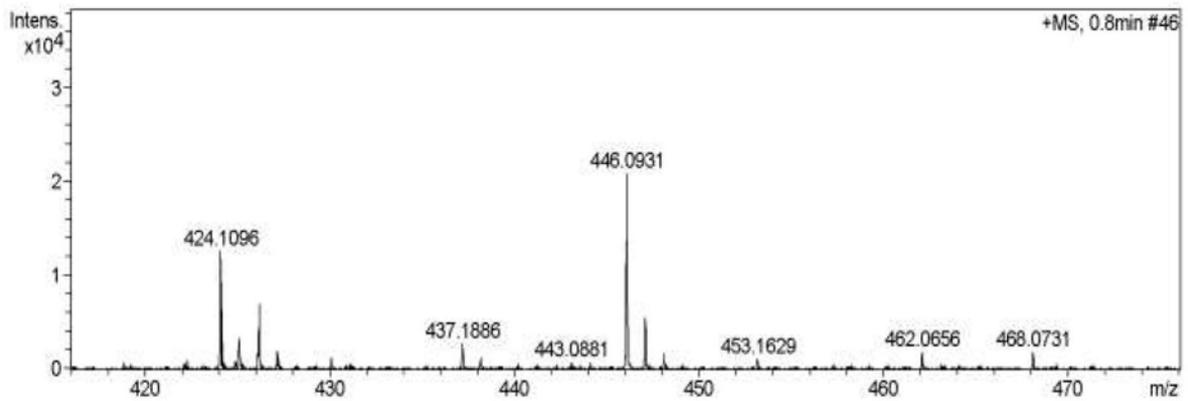


图9

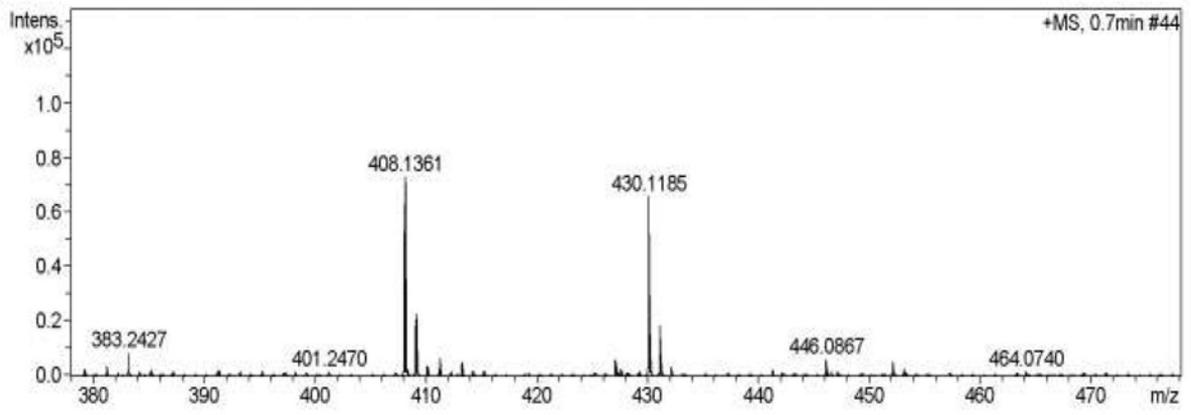


图10

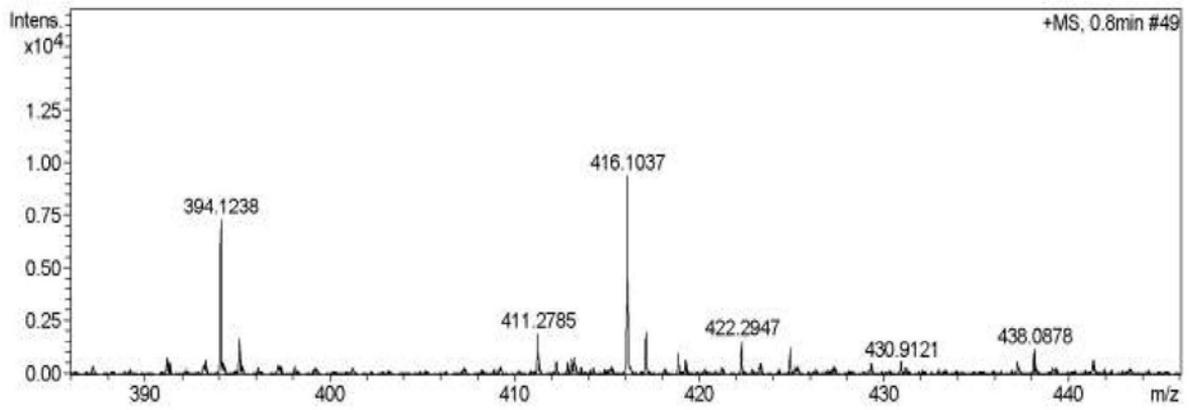


图11

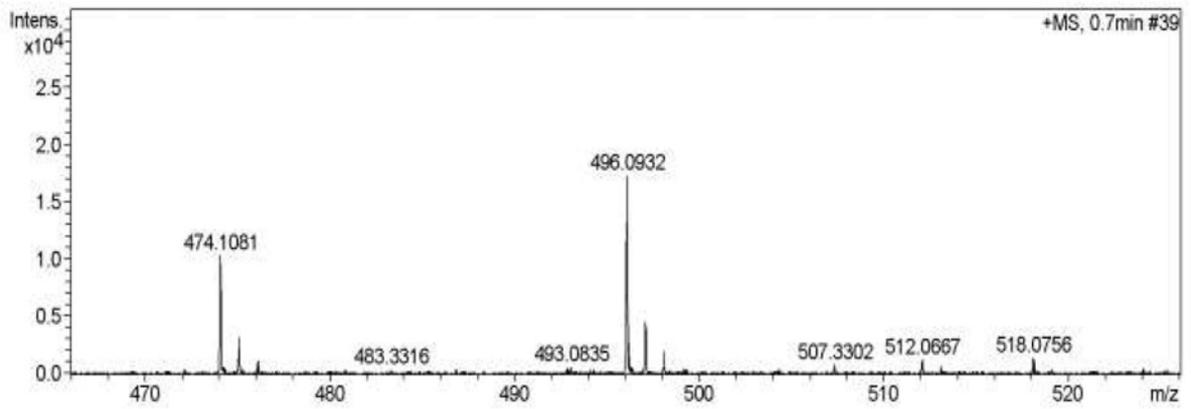


图12

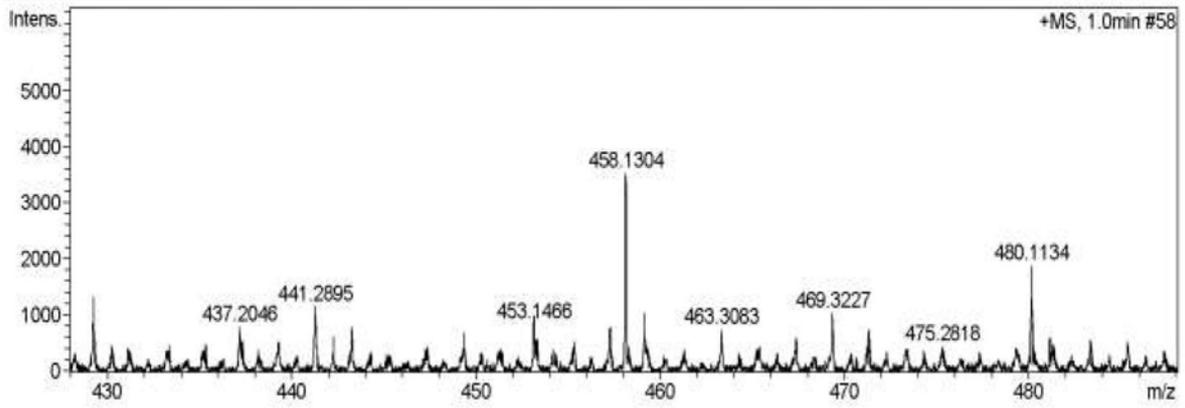


图13

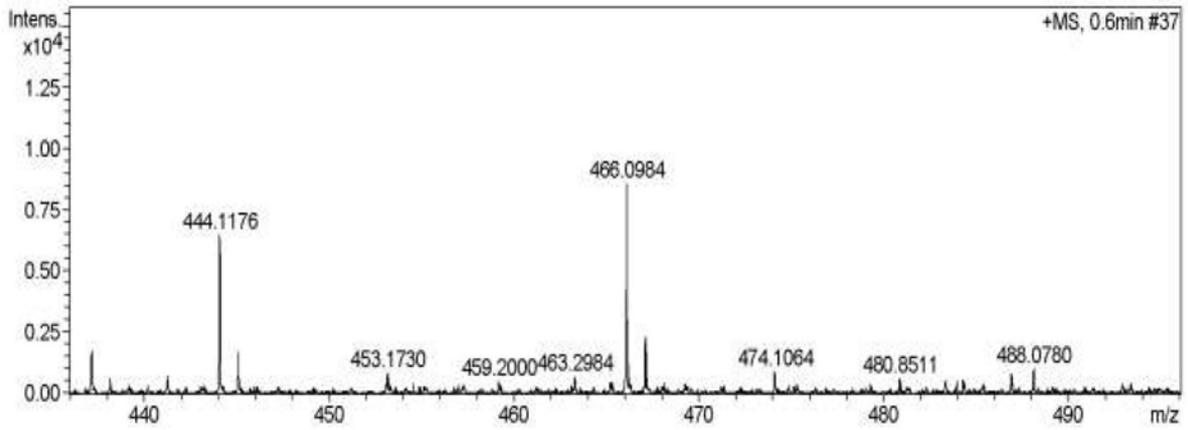


图14

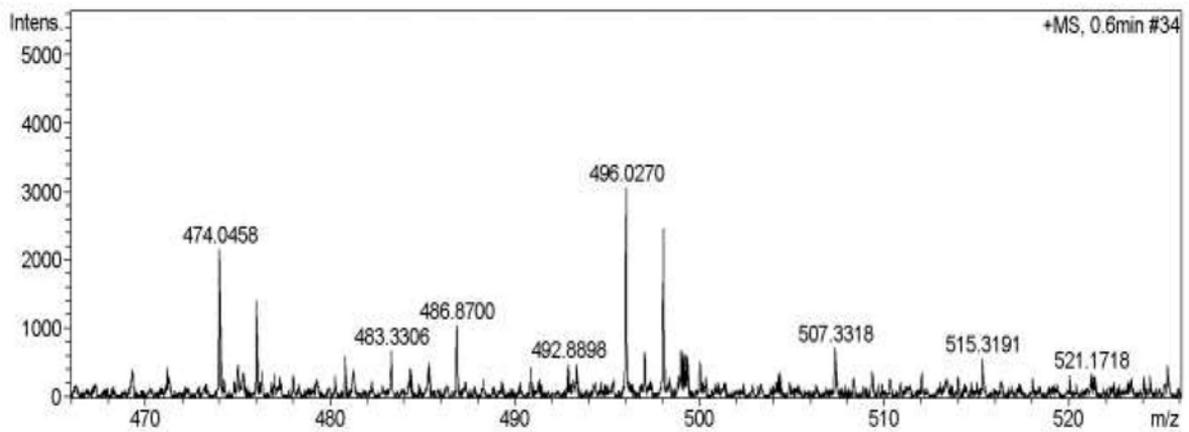


图15

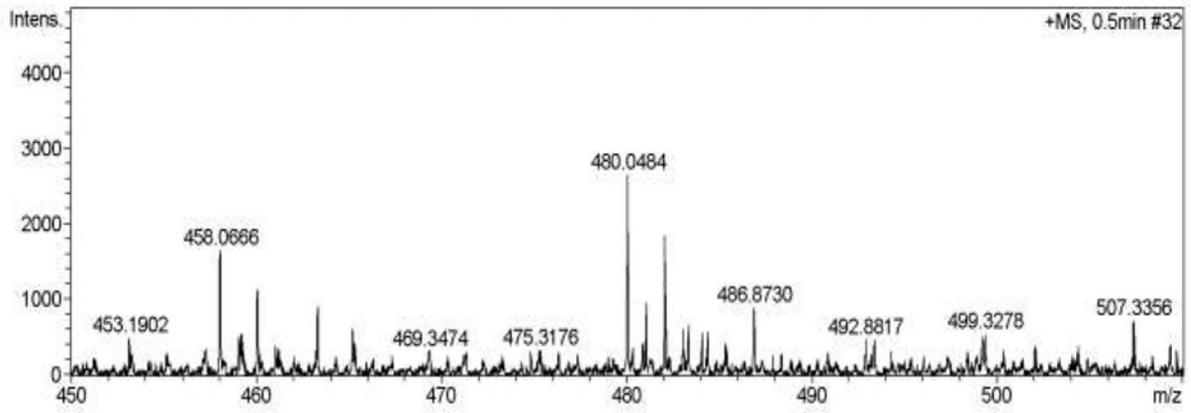


图16

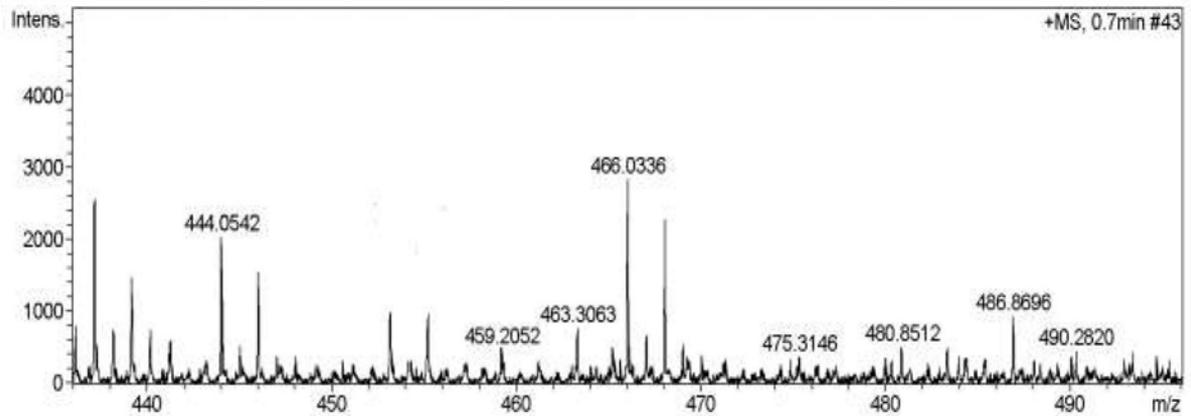


图17

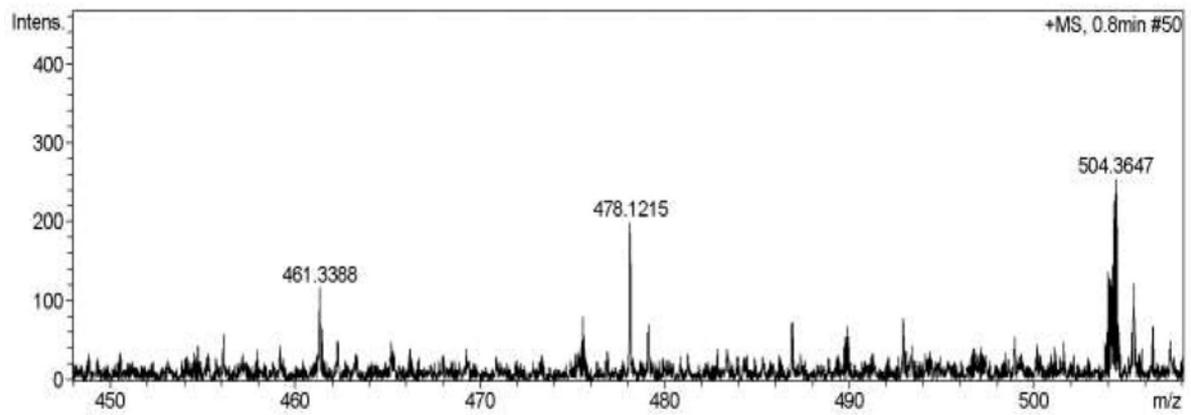


图18

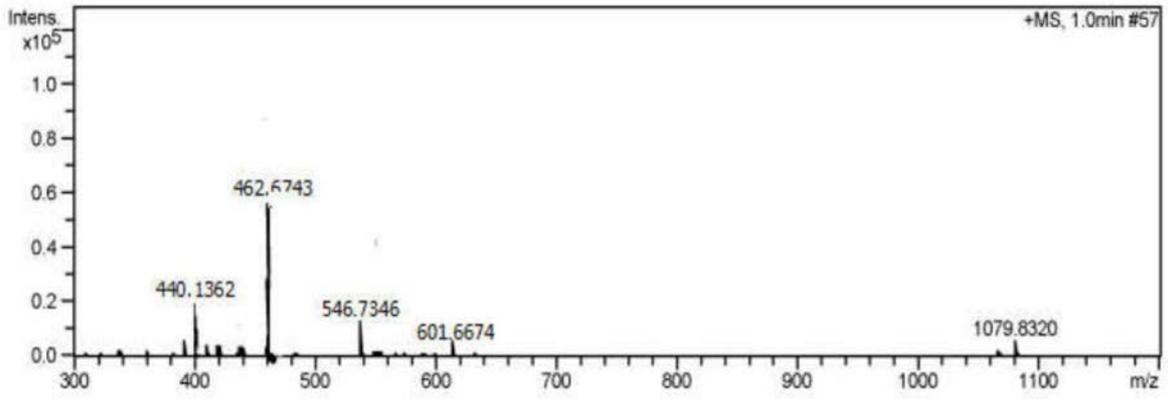


图19

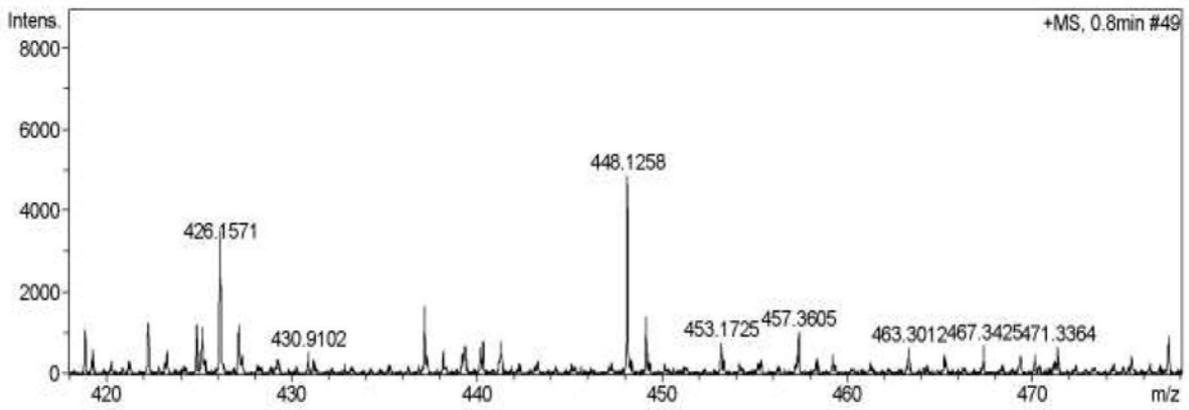


图20