



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111518078 B

(45) 授权公告日 2021.02.26

(21) 申请号 202010480122.0

(22) 申请日 2020.05.30

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 111518078 A

(43) 申请公布日 2020.08.11

(73) 专利权人 南方医科大学
地址 510515 广东省广州市白云区沙太南路1023号

(72) 发明人 赵培亮 刁鹏程

(74) 专利代理机构 广州市天河庐阳专利事务所
(普通合伙) 44244

代理人 胡济元

(51) Int. Cl.

C07D 401/12 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CA 2458011 A, 2003.03.06

CN 101151258 A, 2008.03.26

CN 109438365 A, 2019.03.08

CN 110256465 A, 2019.09.20

审查员 王颖

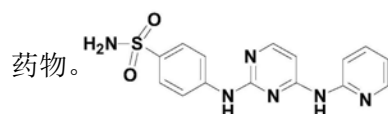
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

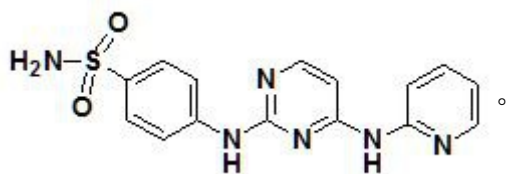
一种含氨基吡啶的嘧啶类化合物及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种含氨基吡啶的嘧啶类化合物,该化合物的化学结构如下所示。本发明所述化合物对人宫颈癌细胞HeLa、人前列腺癌细胞PC-3、人结肠癌细胞HCT116以及人乳腺癌细胞MDA-MB-231的抑制效果显著,可用于制备抗肿瘤



1. 一种含氨基吡啶的嘧啶类化合物,该化合物的化学结构如下所示:



2. 根据权利要求1所述的一种含氨基吡啶的嘧啶类化合物,其特征在于,所述的化合物由以下方法制得:

(1) 将2-氨基吡啶溶于四氢呋喃中,按2-氨基吡啶的摩尔量加入2摩尔倍的氢化钠室温反应30分钟,再按2-氨基吡啶的摩尔量加入1.1摩尔倍的2,4-二氯嘧啶继续室温反应24小时,反应液用稀盐酸调节pH至中性,加入乙酸乙酯进行萃取,取有机相用无水硫酸钠干燥,脱溶,柱层析分离提纯出,得到2-氯-N-(嘧啶-4-基)-吡啶-2-基胺;

(2) 取步骤(1)得到的(2-氯嘧啶-4-基)-吡啶-2-基胺与所述的(2-氯嘧啶-4-基)-吡啶-2-基胺的1.2摩尔倍的磺胺溶于乙二醇甲醚中,在盐酸催化下,120℃反应20小时,反应液用乙酸乙酯进行萃取,取有机相用无水硫酸钠干燥,脱溶,柱层析分离提纯即得所述的含氨基吡啶的嘧啶类化合物。

3. 权利要求1或2所述的含氨基吡啶的嘧啶类化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述的肿瘤为宫颈癌、前列腺癌、结肠癌或乳腺癌。

一种含氨基吡啶的嘧啶类化合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及杂环化合物,具体涉及含氨基吡啶杂环的嘧啶类化合物,该化合物具有抗肿瘤活性,适用于制备抗肿瘤药物。

背景技术

[0002] 恶性肿瘤是严重危害人类健康的一类重大疾病,目前已超越心血管疾病,成为全球死亡率最高的疾病,而攻克恶性肿瘤仍然是现代医学的一个巨大挑战。近年来,随着对细胞致癌研究的不断深入,恶性肿瘤细胞内关于信号转导、周期调控、凋亡诱导、血管生成等各种基本生命活动机制正在被逐步阐明。然而现今临床上使用的抗肿瘤药物虽然具有一定疗效,但仍然存在选择性差、毒副作用大、易出现耐药性等问题,因此,寻找高效、高选择性和低毒广谱的抗癌药物是目前抗癌药物开发的主要方向。

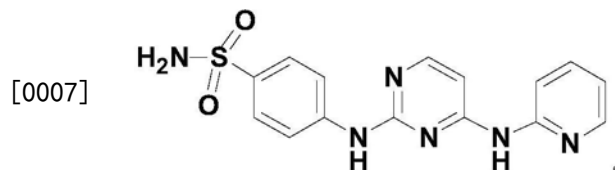
[0003] 嘧啶类衍生物是一类重要的杂环化合物,含有嘧啶结构的化合物常常具有抗癌、抗炎、抗菌等广泛的生物活性。该类化合物已成为药学领域科研工作者研究的热点,尤其是在抗肿瘤药物方面的应用,例如:近年来上市的抗肿瘤药物替吉奥、伊马替尼、玻玛西林、帕博西尼等均含有嘧啶结构片段。公开号为W0 03/018022A1专利申请的实施例7公开了一种3-[4-(5-叔丁基异噁唑-3-基氨基)-嘧啶-2-基氨基]苯基磺酰基胺,该化合物对蛋白激酶CDK1-4具有抑制作用,具有治疗结肠癌、肺癌、宫颈癌的效果。但是上述化合物抑制宫颈癌,前列腺癌,结肠癌或乳腺癌细胞增殖的效果仍不够理想。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是提供一种含氨基吡啶杂环的嘧啶类化合物,该化合物对人宫颈癌细胞HeLa、人前列腺癌细胞PC-3、人结肠癌细胞HCT116以及人乳腺癌细胞MDA-MB-231的抑制效果显著。

[0005] 本发明解决上述技术问题的方案如下:

[0006] 一种含氨基吡啶的嘧啶类化合物,其化学结构如下所示:

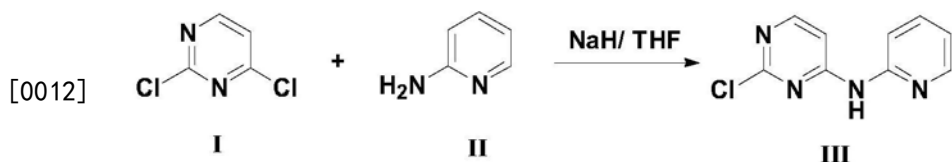


[0008] 上述含氨基吡啶的嘧啶类化合物的具体名称为N²-(4-氨基磺酰基苯基)-N⁴-(吡啶-2-基)-2,4-二氨基嘧啶。

[0009] 上述含氨基吡啶的嘧啶类化合物由以下方法制得:

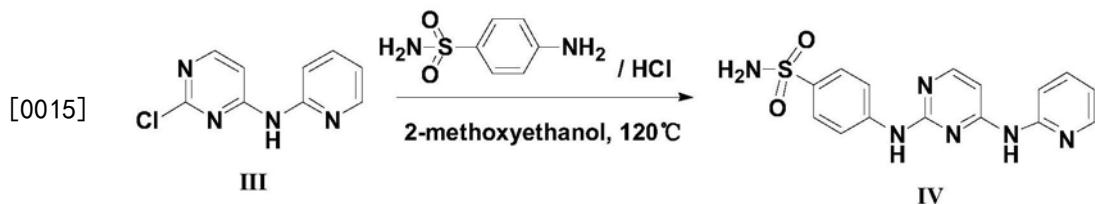
[0010] (1) 将2-氨基吡啶溶于四氢呋喃中,按2-氨基吡啶的摩尔量加入2摩尔倍的氢化钠室温反应30分钟,再按2-氨基吡啶的摩尔量加入1.1摩尔倍的2,4-二氯嘧啶继续室温反应24小时,反应液用稀盐酸调节pH至中性,加入乙酸乙酯进行萃取,取有机相用无水硫酸钠干燥,脱溶,柱层析分离提纯出,得到2-氯-N-(吡啶-2-基)嘧啶-4-胺;

[0011] 上述步骤(1)的化学反应式如下式如下:

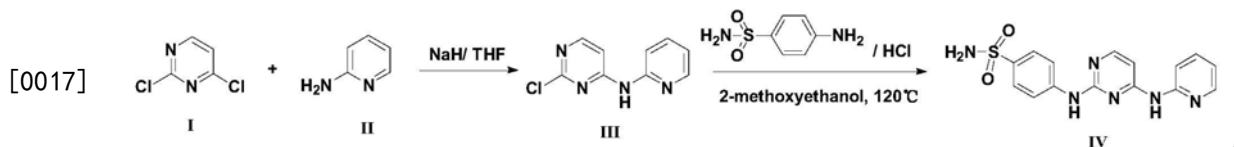


[0013] (2)取步骤(1)得到的2-氯-N-(吡啶-2-)嘧啶-4-胺与1.2摩尔倍的4-氨基苯基磺酰胺溶于乙二醇甲醚中,在盐酸催化下,120℃反应20小时,反应液用乙酸乙酯进行萃取,取有机相用无水硫酸钠干燥,脱溶,柱层析分离提纯即得所述的含氨基吡啶的嘧啶类化合物;

[0014] 上述步骤(2)的化学反应式如下式如下:



[0016] 上述合成含氨基吡啶的嘧啶类化合物方法的工艺路线如下:



[0018] 本发明所述含氨基吡啶的嘧啶类化合物对人宫颈癌细胞HeLa、人前列腺癌细胞PC-3、人结肠癌细胞HCT116以及人乳腺癌细胞MDA-MB-231的抑制效果显著,可用于制备抗肿瘤药物。

附图说明

[0019] 图1为本发明所述含氨基吡啶的嘧啶类化合物核磁共振的氢谱图。

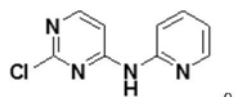
[0020] 图2为本发明所述含氨基吡啶的嘧啶类化合物核磁共振的碳谱图。

具体实施方式

[0021] 实施例1(合成所述含氨基吡啶的嘧啶类化合物)

[0022] (1)合成中间体2-氯-N-(吡啶-2-)嘧啶-4-胺:

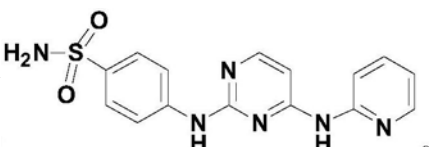
[0023] 将2.0mmol 2-氨基吡啶加入15ml无水四氢呋喃中,室温下边搅拌边加入4.0mmol 氯化钠,反应30分钟后,加入2.2mmol 2,4-二氯嘧啶,继续在室温下搅拌反应24小时,TLC检测,反应结束后,向反应液中滴加稀盐酸调节pH至中性,再将反应液倾入100mL水中,用乙酸乙酯(100mL×3)萃取,静置分液,有机相用饱和食盐水(80mL×3)洗涤,然后用无水硫酸钠干燥,抽滤,减压除去乙酸乙酯得白色固体,将固体用石油醚:乙酸乙酯进行柱层析得到白色固体粉末0.165克,收率40%;对柱层析得到白色固体粉末采用核磁共振氢谱方法进行鉴定,结果显示该白色固体粉末为2-氯-N-(吡啶-2-)嘧啶-4-胺,其结构式为



[0024] (2) 合成含氨基吡啶的嘧啶类化合物

[0025] 将1.0mmol步骤(1)中间体2-氯-N-(吡啶-2-基)嘧啶-4-胺、1.2mmol 4-氨基苯基磺酰胺以及0.1ml盐酸加入5ml乙二醇甲醚中,加热升温至120℃反应15-20小时,TLC检测,反应结束后,将反应液倾入100mL水中,用乙酸乙酯(100mL×3)萃取,静置分液,有机相用饱和食盐水(80mL×3)洗涤,然后用无水硫酸钠干燥,抽滤,减压除去乙酸乙酯得白色固体,将固体用石油醚:乙酸乙酯进行柱层析得到白色固体粉末0.205克,mp 251.6-252.2℃。

[0026] 将所得到的白色固体采用核磁共振谱、高分辨质谱进行鉴定,鉴定结果为:¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ: 7.03 (t, J=5.8Hz, 2H, ArH), 7.17 (s, 2H, NH₂), 7.75 (dd, J₁=8.4Hz, J₂=19.6Hz, 3H, ArH), 7.95-8.01 (m, 3H, ArH), 8.20 (d, J=6.0Hz, 1H, ArH), 8.32 (d, J=4.4Hz, 1H, ArH), 9.68 (s, 1H, NH), 9.99 (s, 1H, NH). ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ: 159.96, 159.36, 157.33, 153.59, 148.12, 144.39, 138.21, 136.13, 126.84, 118.29, 118.02, 113.96, 100.94. HRMS (ESI) m/z: calcd for C₁₅H₁₄N₆O₂S [M+H]⁺ 343.0977, found 343.0970. 由上述鉴定结果可知,所得白色固体为N²-(4-氨基磺酰基苯基)-N⁴-(吡啶-2-基)-2,4-二氨基嘧啶

(IV), 其结构式为  经计算本例所述方法的产率为60%。

[0027] 实施例2(抗肿瘤活性研究)

[0028] 本发明所述化合物的体外抗肿瘤活性采用如下方法测试所证明。这些效果表明本发明化合物可用于治疗癌症,特别是治疗实体肿瘤,如宫颈癌,前列腺癌,结肠癌以及乳腺癌。具体测试方法如下:

[0029] 采用MTT法检测实施例1所制备的含氨基吡啶的嘧啶类化合物(IV)的体外抗肿瘤活性。收集对数期细胞,调整细胞悬液浓度,以 4×10^3 - 5×10^3 个/mL接种于96孔板,孵育12-24h。待细胞贴壁后,加入不同浓度的药物,设置0.3, 1, 3, 10, 30, 100μmol/L共6个浓度梯度,每个浓度4个复孔。置37℃、5%CO₂培养箱,开始计时培养。在加药48h后取出96孔板,每孔加入5mg/mL MTT溶液20μL, 37℃继续培养4h。然后,小心吸弃孔内上清液,每孔加入150μL DMSO,震荡10min,使结晶物溶解。选择570nm波长在酶联免疫检测仪上测定各孔吸光度值(OD值)。最后进行数据统计,以OD值(570nm)为纵轴,处理时间为横轴,描绘药物对细胞生长的抑制作用效果。按下列公式计算抑制率,抑制率=(1-加药组OD值/对照组OD值)×100%。用GraphPad Prism软件计算半数抑制量IC₅₀。

[0030] 所测活性结果如表1所示:

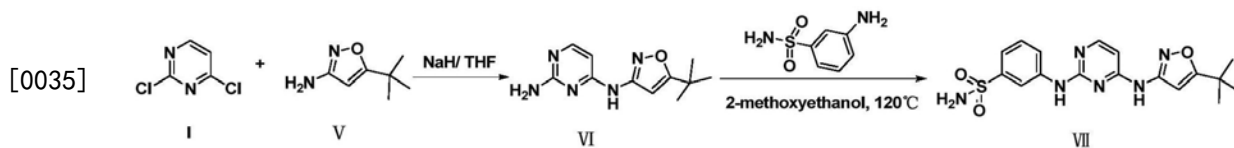
[0031] 表1目标化合物(IV)的抗肿瘤活性($\bar{x} \pm s$)

Comp.	<i>In vitro cytotoxicity</i> IC ₅₀ (μM)			
	HeLa	MDA-MB-231	HCT116	PC-3
[0032] IV	3.04±0.15***	4.90±0.35***	2.45±0.11***	3.37±0.39***
阳性对照品	52.75±0.96	28.14±1.22	22.26±0.83	30.81±1.75
5-Fu	48.70±5.30	24.60±1.60	38.17±3.69	22.63±2.12

[0033] 阳性对照品和对照品(5-氟尿嘧啶)分别与样品IV比较,***P<0.001

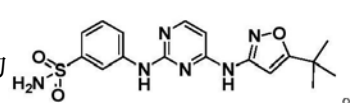
[0034] 上表中的阳性对照品是公开号为W0 03/018022A1专利申请实施例7中所公开的化

合物3-[4-(5-叔丁基异噁唑-3-基氨基)-嘧啶-2-基氨基]苯基磺酰基胺,该化合物的合成路线及方法如下:



[0036] 将2.0mmol 5-叔丁基异噁唑-3-胺加入15ml无水四氢呋喃中,室温下边搅拌边加入4.0mmol氢化钠,反应30分钟后,加入2.2mmol 2,4-二氯嘧啶,继续在室温下搅拌反应24小时,TLC检测,反应结束后,向反应液中滴加稀盐酸调节pH至中性,再将反应液倾入100mL水中,用乙酸乙酯(100mL×3)萃取,静置分液,有机相用饱和食盐水(80mL×3)洗涤,然后用无水硫酸钠干燥,抽滤,减压除去乙酸乙酯得白色固体,将固体用石油醚:乙酸乙酯进行柱层析得到白色固体粉末0.120克。将1mmol的上述中间体VI及1mmol的3-氨基苯基磺酰胺加入5ml乙二醇甲醚中,加热升温至120℃反应15小时,反应结束后,将反应液倾入100mL水中,用乙酸乙酯(100mL×3)萃取,静置分液,有机相用饱和食盐水(80mL×3)洗涤,然后用无水硫酸钠干燥,抽滤,减压除去乙酸乙酯得白色固体,将固体用石油醚:乙酸乙酯进行柱层析得到白色固体粉末0.132克。

[0037] 将所得到的白色固体采用核磁共振谱进行鉴定,鉴定结果为:1H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ:1.28 (s, 9H, 3×CH₃), 6.53 (d, J=5.2Hz, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.16 (s, 2H, NH₂), 7.68 (s, 1H, ArH), 7.71 (s, 1H, ArH), 7.88 (s, 1H, ArH), 7.92 (s, 1H, ArH), 8.13 (d, J=5.6Hz, 1H, ArH), 9.12 (s, 1H, NH), 10.14 (s, 1H, NH). 13C NMR (100MHz, DMSO-d₆) δ:180.11, 160.00, 159.48, 159.18, 157.82, 152.96, 136.84, 132.78, 99.17, 98.20, 94.06, 28.73.

[0038] 由上述鉴定结果可知,所得白色固体为3-[4-(5-叔丁基异噁唑-3-基氨基)-嘧啶-2-基氨基]苯基磺酰基胺(VII),其结构式为  经计算本例所述方法的

的产率为34%。

[0039] 上述体外实验结果显示,含氨基吡啶的嘧啶类化合物(IV)对HeLa,MDA-MB-231,HCT116,和PC-3四种人类肿瘤细胞具有较强的抑制作用,效果均明显优于阳性对照品和对照药品的抑制活性。

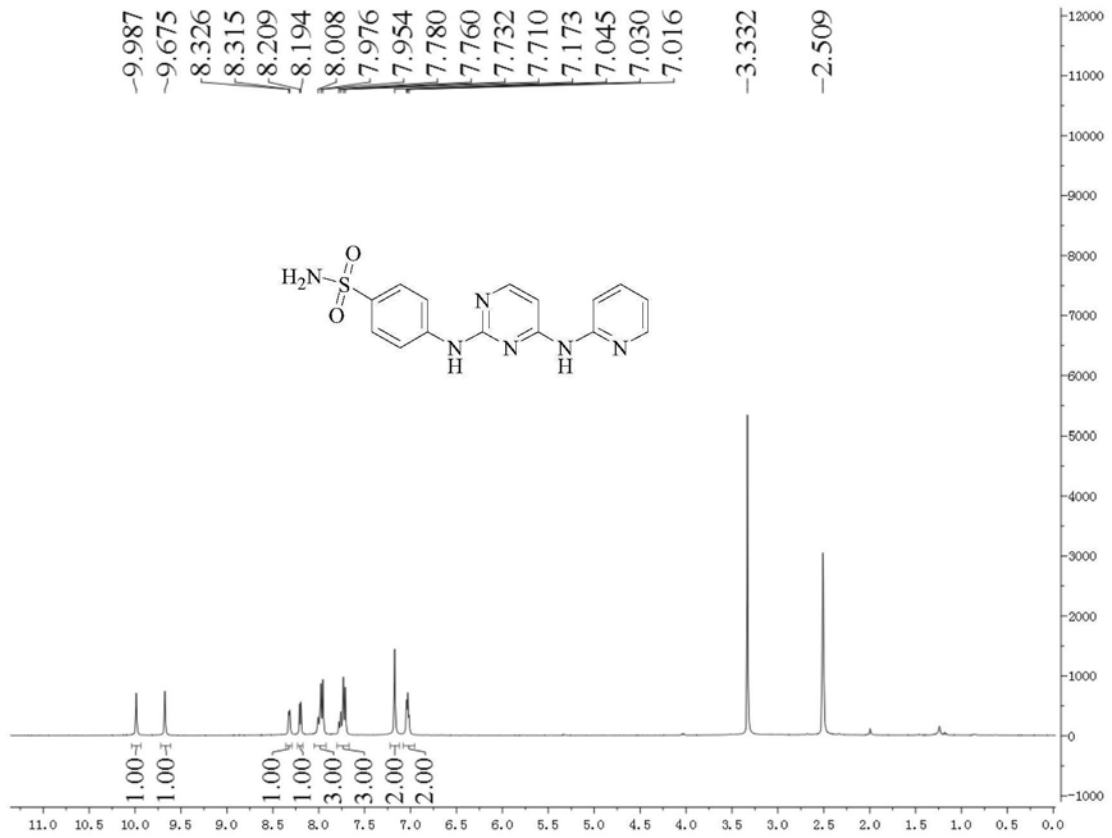


图1

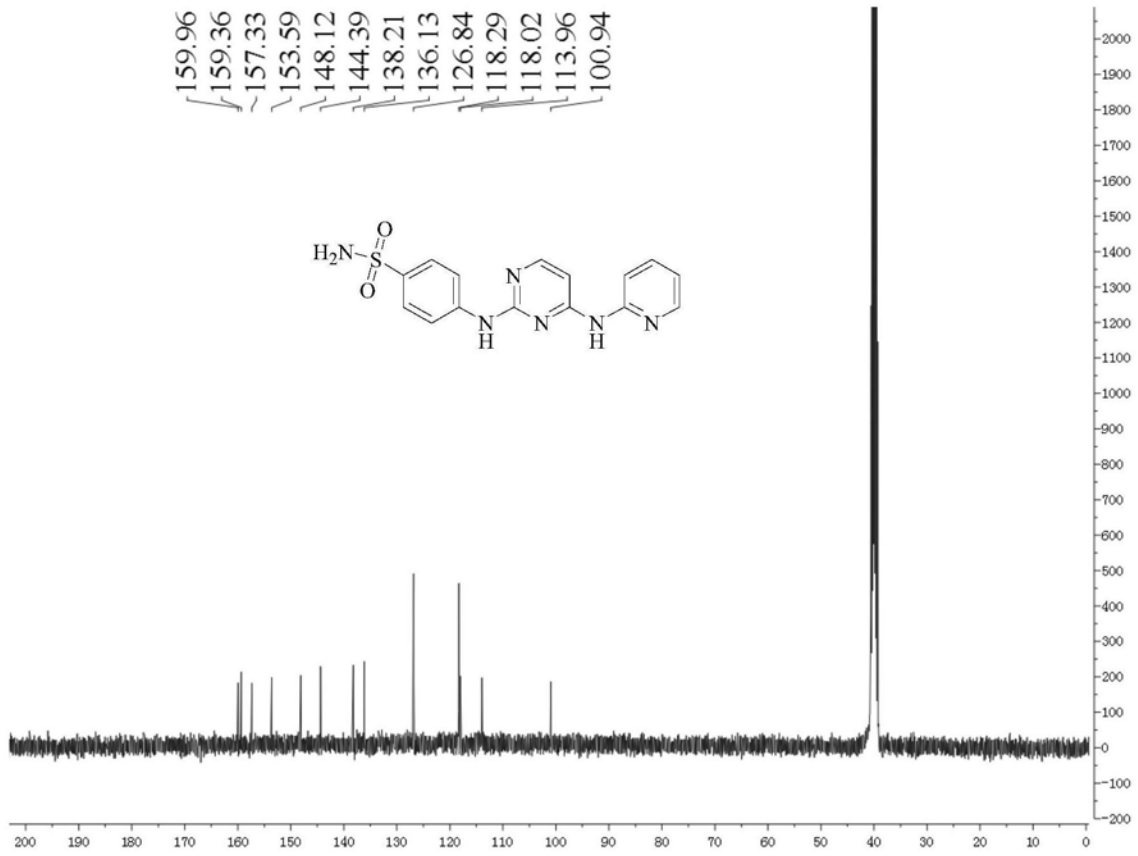


图2