



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114773320 A

(43) 申请公布日 2022.07.22

(21) 申请号 202210614452.3

(22) 申请日 2022.05.29

(71) 申请人 重庆医科大学

地址 400016 重庆市渝中区医学院路1号

(72) 发明人 邓萍 孟丹 蒋君好 谢佳利

李若雨 李奕昊

(74) 专利代理机构 重庆立川知识产权代理事务
所(普通合伙) 50285

专利代理师 李启林

(51) Int. Cl.

C07D 401/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/53 (2006.01)

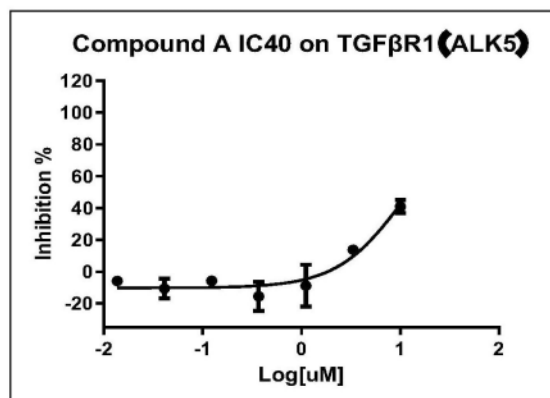
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

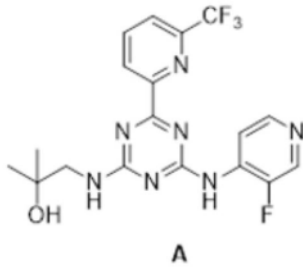
1,3,5-三嗪化合物及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明提供一种1,3,5-三嗪化合物及其制备方法和用途。本发明提供的1,3,5-三嗪化合物,经检测具有较好的抑制肿瘤TGF β R1激酶活性,可做抗肿瘤先导化合物,作为进一步开发成抗肿瘤的药物基础,在肿瘤治疗领域具有潜在、广阔的应用前景。同时,本发明制备方法简单,便于工业化生产。

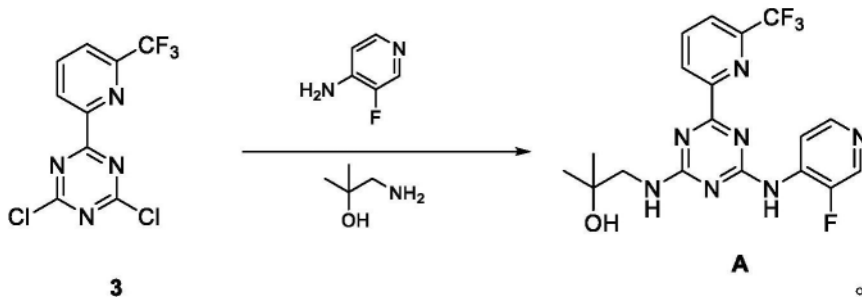


1. 一种1,3,5-三嗪化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述1,3,5-三嗪化合物具有如下式A所示化学结构:



2. 如权利要求1所述的1,3,5-三嗪化合物,其药学上可接受的盐可为盐酸盐、氢溴酸盐、氢氟酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐、甲酸盐、丙酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苦味酸盐、甲磺酸盐或乙磺酸盐。

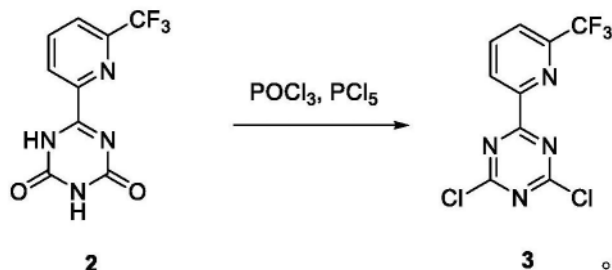
3. 如权利要求1或2所述式A化合物的制备方法,其特征在于,由式3化合物与3-氟吡啶-4-胺和1-氨基-2-甲基丙-2-醇合成式A化合物;合成路线如下:



4. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于:2,4-二氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪(式3化合物)和3-氟吡啶-4-胺在溶剂THF中于碱性条件下以-5~5℃的反应温度反应2~6h,然后加入1-氨基-2-甲基丙-2-醇,室温下搅拌反应10~15h,制备得到式A化合物。

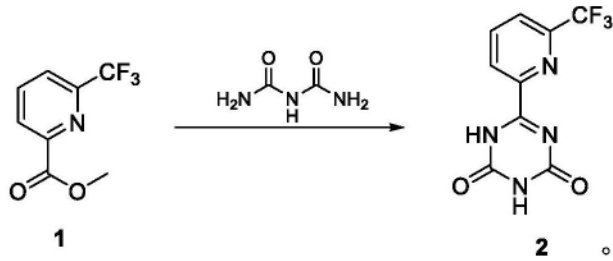
5. 如权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述碱选自碳酸氢钠或碳酸钠。

6. 如权利要求3-5任一项所述的制备方法,其特征在于:由式2化合物、 PCl_5 和 POCl_3 合成式3化合物;合成路线如下:



7. 如权利要求6所述的制备方法,其特征在于:将6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮和 PCl_5 加入 POCl_3 中,在80~120℃下反应1~3h,制备得到式3化合物。

8. 如权利要求6或7所述的制备方法,其特征在于:由式1化合物和缩二脲合成式2化合物;合成路线如下:



9. 如权利要求8所述的制备方法,其特征在于:6-三氟甲基吡啶甲酸甲酯和缩二脲在乙醇钠的作用下回流0.5~2h,制备得到式2化合物。

10. 如权利要求1或2所述式A化合物在制备预防或治疗抗肿瘤药物中的应用。

1,3,5-三嗪化合物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及新药研发技术领域,具体涉及一种1,3,5-三嗪化合物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 小分子激酶抑制剂(SMKIs)作为肿瘤学领域的一类重要药物,在精确靶向治疗癌症方面取得了令人瞩目的进展。2020年全球癌症死亡病例共计996万例,中国癌症死亡人数达到300万,占比全球癌症总死亡人数的30%,故抗癌药物研发与应用具有广阔的国内外市场。癌症即肿瘤的恶化。肿瘤的产生取决于肿瘤细胞形成和调控肿瘤微环境的能力,肿瘤微环境存在IL-2、TNF α 、CXCR4及TGF β 等癌症相关细胞因子。其中,TGF β 信号可促进肿瘤微环境内的成纤维细胞、内皮细胞和周细胞的侵袭和扩散,并降低抗癌药物敏感性。此外,TGF β 信号通过影响癌细胞结构,抑制保护性免疫细胞的活性来重塑细胞外基质,从而干扰T细胞和自然杀伤细胞等多种免疫细胞的生理功能,削弱免疫细胞对癌细胞转移的抑制。同时,TGF β 抑制剂可治疗纤维化、炎症和先天性缺陷等疾病,故TGF β 抑制剂的研究具有广泛应用价值。TGF β 信号传导通路中,TGFBR1是关键节点,其作用机制为:抑制TGFBR1和底物Smad2/Smad3的结合,阻止其对Smad2/Smad3的磷酸化可以有效阻断TGF β 信号向细胞核的传导。

[0003] 1,3,5-三嗪是许多具有生物活性的化合物的核心骨架,如杀虫剂、农药、除草剂、抗疟药、抗癌抗菌素、抗病毒药等。此外,1,3,5-三嗪还广泛应用于有机染料、液晶、荧光增白剂、电致发光材料、气体发生剂、固体推进剂、烟火等。基于此,1,3,5-三嗪类化合物的应用引起了人们的广泛关注。

[0004] 近些年来,国内外科研人员一直致力于1,3,5-三嗪类化合物的构建,如Abhishek R.Tiwari等用不同取代基的苯醇和苯甲脒盐酸盐,加入硫化镍作为催化剂,碳酸铯作碱,DMSO作为溶剂,在100 $^{\circ}$ C条件下反应16h,最终经过环合反应得到不同取代基的1,3,5-三嗪类化合物(参见Abhishek R.Tiwari,NIS-Catalyzed Oxidative Cyclization of Alcohols with Amidines:A Simple and Efficient,Transition-Metal Free Method for The Synthesis of 1,3,5-triazines.Org.Biomol.Chem.2015,13(45),10973-10976)。

发明内容

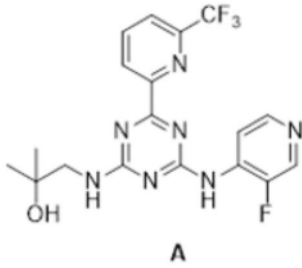
[0005] 第一方面,本发明提供一种1,3,5-三嗪化合物或其药学上可接受的盐。

[0006] 除特殊说明外,本发明所述份数均为重量份,所述百分比均为质量百分比。

[0007] 为实现上述目的,本发明的技术方案为:

[0008] 一种1,3,5-三嗪化合物或其药学上可接受的盐,其特征在于,所述1,3,5-三嗪化合物具有如下式A所示化学结构:

[0009]

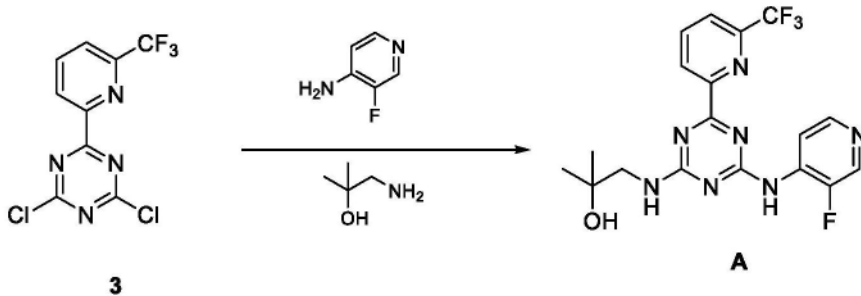


[0010] 上述1,3,5-三嗪化合物,其药学上可接受的盐可为盐酸盐、氢溴酸盐、氢氟酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐、甲酸盐、丙酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、苹果酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苦味酸盐、甲磺酸盐或乙磺酸盐。

[0011] 第二方面,本发明提供一种上述1,3,5-三嗪化合物(式A化合物)的制备方法。

[0012] 上述式A化合物的制备方法,其特征在于,由式3化合物与3-氟吡啶-4-胺和1-氨基-2-甲基丙-2-醇合成式A化合物;

[0013]

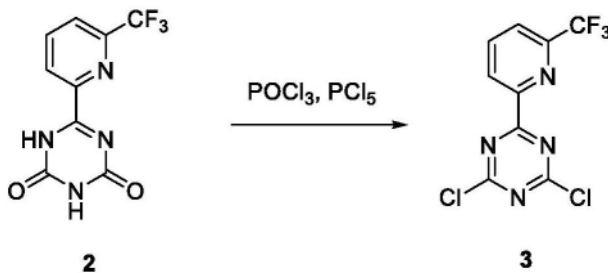


[0014] 2,4-二氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪(式3化合物)和3-氟吡啶-4-胺在溶剂THF中于碱性条件下以 $-5\sim 5^{\circ}\text{C}$ 的反应温度反应2~6h,然后加入1-氨基-2-甲基丙-2-醇,室温下搅拌反应10~15h,制备得到式A化合物。

[0015] 所述碱选自碳酸氢钠或碳酸钠。

[0016] 由式2化合物、 PCl_5 和 POCl_3 合成式3化合物;合成路线如下:

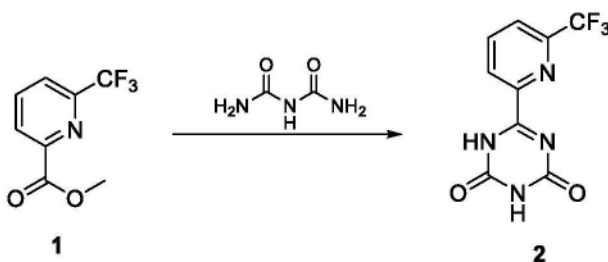
[0017]



[0018] 将6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮和 PCl_5 加入 POCl_3 中,在 $80\sim 120^{\circ}\text{C}$ 下反应1~3h,制备得到式3化合物。

[0019] 由式1化合物和缩二脲合成式2化合物;合成路线如下:

[0020]



[0021] 6-三氟甲基吡啶甲酸甲酯和缩二脲在乙醇钠的作用下回流0.5~2h,制备得到式2化合物。

[0022] 第三方面,本发明提供式A化合物在制备预防或治疗抗肿瘤药物中的应用。

[0023] 有益效果:

[0024] 本发明提供了一种1,3,5-三嗪化合物(式A化合物),是优良的抗肿瘤先导化合物,作为进一步开发成抗肿瘤的药物基础,在肿瘤治疗领域具有潜在、广阔的应用前景。同时,本发明制备方法简单,便于工业化生产。

附图说明:

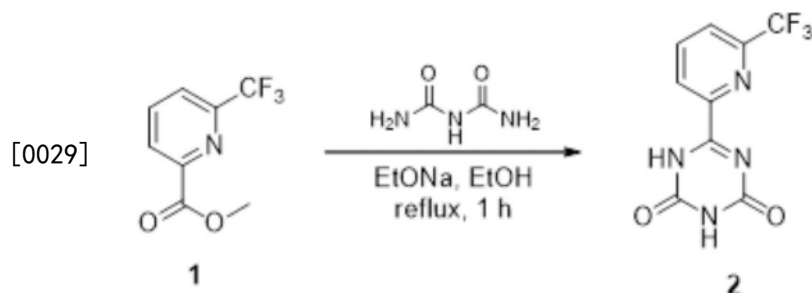
[0025] 图1是化合物A的体外酶学抑制活性结果图。

具体实施方式

[0026] 下面通过具体实施例对本发明进行具体描述,在此指出以下实施例只用于对本发明进行进一步说明,不能理解为对本发明保护范围的限制,本领域的技术熟练人员可以根据上述发明内容对本发明作出一些非本质的改进和调整。本发明所用原料及试剂均为市售产品。

[0027] 实施例1

[0028] 6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮(2)的合成

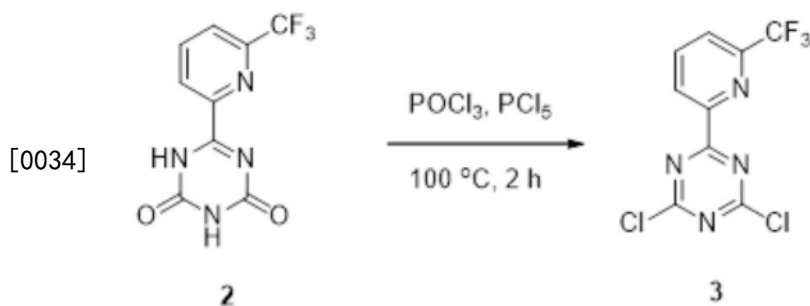


[0030] 将Na (384mg, 16.70mmol) 和乙醇 (50ml) 制备成新鲜NaOEt溶液,向其加入6-三氟甲基吡啶甲酸甲酯 (3.30g, 16.09mmol) 和缩二脲 (848mg, 8.22mol)。混合液回流下搅拌1h,然后浓缩。将残余物倒入水中,用饱和NaHCO₃ (aq.) 处理,pH值调至7。过滤收集沉淀的固体并在真空下干燥,得到所需的化合物2 (2.39g, 产率58%),为白色固体。

[0031] ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9.67 (br, 1H), 8.38 (d, J=8.0Hz, 1H), 8.14 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.93 (d, J=7.6Hz, 1H) .

[0032] 2-LCMS:LC-MS:m/z for C₉H₆F₃N₄O₂ (M+H)⁺:calculated 259.04;found 259.1.实施例2

[0033] 2,4-二氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪的合成(3)



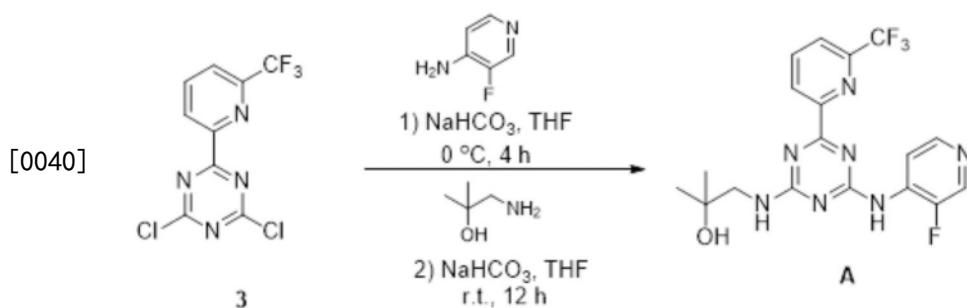
[0035] 将6-(6-三氟甲基-吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪-2,4(1H,3H)-二酮(2.05g,7.94mmol)和 PCl_5 (13.80g,66.27mmol)加入 POCl_3 (29ml)中,混合物在 100°C 下搅拌2h,浓缩。将粗品溶于EtOAc中,使用饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤,萃取。有机层用无水 Na_2SO_4 上干燥,减压浓缩。残留物通过快速色谱法(硅胶,石油醚:EtOAc=5:1)提纯,得到化合物3(900mg,产率38%),白色固体。

[0036] $^1\text{H NMR}$: $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.75(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 8.16(t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.96(dd, $J=8.0, 0.8\text{Hz}$, 1H) .

[0037] LC-MS: m/z for $\text{C}_9\text{H}_4\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_4(\text{M}+\text{H})^+$:calculated 294.98;found 295.1.

[0038] 实施例3

[0039] 1-((4-((3-氟吡啶-4-基)氨基)-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪-2-基)氨基)-2-甲基丙醇的合成(A)



[0041] 将2,4-二氯-6-(6-(三氟甲基)吡啶-2-基)-1,3,5-三嗪(88mg,0.30mmol)和 NaHCO_3 (50mg,0.60mmol)加入3-氟吡啶-4-胺(34mg,0.30mmol)的干燥THF(10ml)溶液中,在 0°C 下反应4h。然后将1-氨基-2-甲基丙-2-醇(27mg,0.30mol)加入上述混合物中,室温下搅拌反应12h。反应结束,混合物用EtOAc-水(30ml:10ml)稀释。萃取后,有机层用饱和食盐水(10mL)洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥,减压浓缩。所得残余物通过Prep-HPLC纯化,得化合物A(8mg,产率38%),白色固体。

[0042] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 333K) δ 9.55(br, 1H), 8.53-8.57(m, 1H), 8.46(s, 1H), 8.24-8.43(m, 3H), 8.03(d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.50-7.59(m, 1H) 4.32-4.44(m, 1H), 3.36-3.45(m, 2H), 1.14(s, 6H) .

[0043] LC-MS: m/z for $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_4\text{N}_7\text{O}(\text{M}+\text{H})^+$:calculated 424.15;found 424.2.

[0044] 实施例4化合物A体外TGFBR1(ALK5)激酶活性评价

[0045] 1.试剂和仪器:

[0046] 试剂: ALK5 (Carna, Cat. No. 08-518), ADP-Glo Kinase Assay 试剂盒 (Promega, Cat. No. V9102), DMSO (Sigma, Cat.No.D8418-1L), 384-well plate (Corning, Cat. No.3573), 1 倍激酶缓冲液 (50 mM Tris, pH7.5, 0.001% BSA, 200 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT), 现用现配制。

[0047] 仪器: 离心机 (Eppendorf, Cat.No.5430), 酶标仪 (Perkin Elmer: Cat.No.Caliper EZ Reader II), Echo 550 (Labcyte, Cat.No.Echo 550)。

[0048] 2. 实验方法

[0049] 2.1. 配制1倍激酶缓冲液

[0050] 50mM Tris, pH 7.5, 0.001% BSA, 200mM NaCl, 10mM MgCl₂, 1mM DTT。

[0051] 2.2 化合物配制

[0052] 2.2.1 化合物稀释

[0053] 2.2.1.1 本发明化合物A使用DMSO配制为1mM的工作液, 使用DMSO依次按3倍稀释梯度稀释至1.000mM, 0.333mM, 0.111mM, 0.0370mM, 0.0123mM, 0.00411mM, 0.00137mM, 得7个浓度工作液。

[0054] 2.2.1.2 使用echo转移50nL化合物溶液至384孔板中, 得到10.00μM, 3.33μM, 1.11μM, 0.370μM, 0.123μM, 0.0411μM, 0.0137μM的7个样品终浓度溶液。

[0055] 2.3 激酶反应

[0056] 384孔板中已有50nL的100% DMSO溶解化合物。向384孔板的化合物孔和阳性孔分别加入2.5μL的2倍激酶溶液, 向阴性对照孔中加入2.5μL的1倍激酶缓冲液, 以1000rpm的转速离心30s, 室温孵育10min。向384孔板中加入2.5μL的2倍底物溶液, 以1000rpm离心30s, 反应振荡混匀后室温孵育120min。加入5μL ADP-Glo R1溶液, 以1000rpm转速离心30s, 振荡混匀后室温孵育180min。加入10μL ADP-Glo R2溶液, 以1000rpm离心30s, 振荡混匀后室温孵育60min。

[0057] 2.4 数据读取

[0058] 在Envision上读取样品发光数值。

[0059] 2.5 拟合曲线

[0060] 2.5.1 从Envision程序上复制发光读数的数据。

[0061] 2.5.2 将发光数值通过公式转化为抑制百分率。

[0062]
$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Conversion\%}_{\text{max}} - \text{Conversion\%}_{\text{sample}}}{\text{Conversion\%}_{\text{max}} - \text{Conversion\%}_{\text{min}}} \times 100$$

[0063] 其中: Conversion%_{sample}是样品的转化率读数; Conversion%_{min}: 阴性对照孔均值, 代表没有酶活孔的转化率读数; Conversion%_{max}: 阳性对照孔均值, 代表没有化合物抑制孔的转化率读数。

[0064] 2.5.3 拟合量效曲线

[0065] 将数据导入GraphPad Prism 5软件, 以浓度的log值作为X轴, 百分比抑制率为Y轴, 采用分析软件GraphPad Prism 5的log (inhibitor) vs. response-Variable slope拟合量效曲线, 从而得出化合物对酶活性的IC₄₀值。

[0066] 本发明化合物A的TGFβR1激酶抑制活性通过以上的实验方法进行测定, 测得化合

物A的体外酶学抑制活性见图1:TGFβR1的IC₄₀约为10.00μmol。

[0067] 结论:本发明化合物对TGFβR1激酶具有一定的抑制作用,可作为抑制TGFβR1的先导化合物进一步研究。

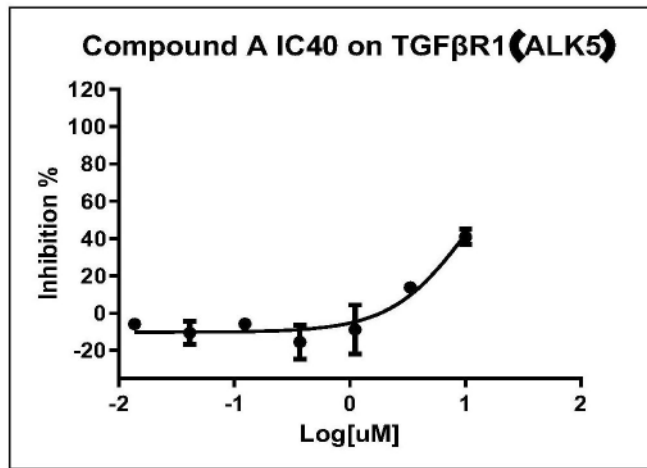


图1