



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102675212 B

(45) 授权公告日 2014. 11. 05

(21) 申请号 201210141458. X

(22) 申请日 2012. 05. 09

(73) 专利权人 昆明理工大学

地址 650093 云南省昆明市五华区学府路 253 号

(72) 发明人 王月平 闫婉露 郭琼 何严萍

(51) Int. Cl.

C07D 235/28(2006. 01)

A61K 31/4184(2006. 01)

A61P 31/18(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1720043 A, 2006. 01. 11, 权利要求 1、说明书第 59 页记录 412.

CN 1668305 A, 2005. 09. 14, 全文.

JP 特开 2001-48867 A, 2001. 02. 20, 全文.

CN 1058958 A, 1992. 02. 26, 全文.

WO 2010042785 A1, 2010. 04. 15, 说明书第

20 页表 1、第 34 页化合物 114.

WO 2005105814 A1, 2005. 11. 10, 全文.

Stefanie A. Krumm 等. Potent

Host-Directed Small-Molecule Inhibitors of Myxovirus RNA-Dependent RNA-Polymerases.

《Plos one》. 2011, 第 6 卷 (第 5 期), 第 3 页.

Aiming Sun 等. Host-Directed Inhibitors of Myxoviruses: Synthesis and in Vitro

Biochemical Evaluation. 《ACS Medicinal

Chemistry Letters》. 2011, 第 2 卷 (第 11 期), 第 798-803 页.

审查员 辜艳

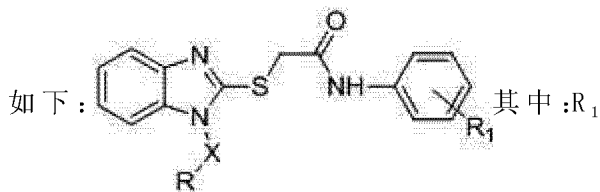
权利要求书 1 页 说明书 12 页

(54) 发明名称

N-取代苯基-2-((1H-苯并咪唑-2-基) 巯基) 乙酰胺类衍生物及其用途

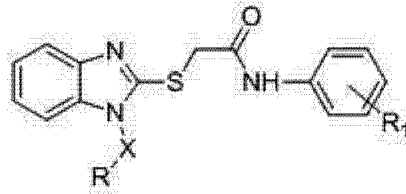
(57) 摘要

本发明公开了一种 N-取代苯基-2-((1H-苯并咪唑-2-基) 巯基) 乙酰胺类衍生物, 结构通式



选自氢、卤素 (F、Cl、Br、I)、三氟甲基、甲氧基、硝基或磺酰胺基; X 为 -C(=O)- 或 -SO₂-; R 为环己基, 苯基或对甲苯基。本发明的化合物具有新颖的结构骨架, 具有较好的抗 HIV-1 病毒活性, 可作为先导化合物用于抗 HIV 药物的制备。

1. 一种 *N*-取代苯基 -2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) 巯基) 乙酰胺类衍生物, 其结构通式如下:



其中:

R_1 选自氢、F、Cl、Br、I、三氟甲基、甲氧基、硝基或磺酰胺基;

X 为 $-C(=O)-$ 或 $-SO_2-$;

R 选自环己基、苯基或对甲苯基。

2. 权利要求 1 所述的 *N*-取代苯基 -2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) 巯基) 乙酰胺类衍生物在制备治疗和预防人类免疫缺陷病毒感染药物中的应用。

N-取代苯基-2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)巯基)乙酰胺类 衍生物及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种 *N*-取代苯基-2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)巯基)乙酰胺类衍生物及其制备方法和应用,属于有机化合物合成与医药应用技术领域。

背景技术

[0002] 艾滋病(AIDS)即获得性免疫缺陷综合症(Acquired immune deficiency syndrome)是由人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)所导致的流行性传染病。严重危害着人类的健康和社会的安全与稳定。

[0003] 自1987年第一个抗AIDS药物齐多夫定上市以来,美国FDA已批准了31个治疗AIDS的药物。它们分别靶向HIV复制过程中的不同环节、不同靶点,包括核苷和非核苷类逆转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂、整合酶抑制剂、融合抑制剂及趋向因子受体拮抗剂。这些药物有效地抑制了HIV病毒在人体内的复制,对于降低病毒载量、提高HIV-1感染者的生活质量、延长艾滋病人的生命起了积极的作用。尤其是将这些药物联合用药构成的鸡尾酒疗法,更是效果显著,使艾滋病的发病率和死亡率大大降低。但长期用药导致的药物毒性、HIV多重耐药病毒株的出现及病人对药物的耐受性等问题,迫使人们不断研发新的抗AIDS药物和新的临床治疗方案,尤其是高效低毒、抗耐药的新药研发一直是国际药物研究领域中的研究热点。

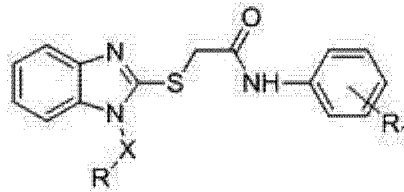
[0004] HIV逆转录酶(RT)是病毒特有的,感染宿主细胞必需的一种关键酶。它主导着HIV的单链RNA被逆转录为双链DNA的过程,而且这一过程又是HIV复制周期中的早期阶段,因此RT是抗AIDS药物研发的最佳靶点之一。目前,经美国FDA批准上市的抗HIV逆转录酶抑制剂有五种:奈韦拉平(Nevirapine)、德拉韦定(Delavirdine)、依非韦伦(Efavirenz)、依曲韦林(etravirine)和利匹韦林(ripivirine)。此外,还有多种非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)处于临床试验阶段,有望成为新的抗HIV-1药物。

[0005] 在迄今已报道的50多类NNRTIs中,已进入一期临床的二甲芳基酮类衍生物是较为典型的一类。为获得具有自主知识产权的全新抗HIV药物,本课题组以二甲芳基酮为先导化合物,根据生物电子等排原理及优势结构理论,对二甲芳基酮类化合物的苯环骨架进行结构跃迁(Scaffold hopping)。经分子模拟及构效关系分析,构建了与RT活性腔具有较好结合能力的苯并咪唑类衍生物。进而采用分子对接(Autodock)对该虚拟化合物库进行筛选评价,对预测活性高的化合物实施定向合成,并经进一步抗HIV-1活性实验,以筛选出具有抗HIV-1活性的新型NNRTIs,为研发创制出具有自主知识产权的新型HIV-1抑制剂提供更好的先导化合物和科学依据。

发明内容

[0006] 本发明旨在提供一种新型的逆转录酶抑制剂 *N*-取代苯基-2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)巯基)乙酰胺类衍生物,该衍生物是一类具有如下结构通式的化合物:

[0007]



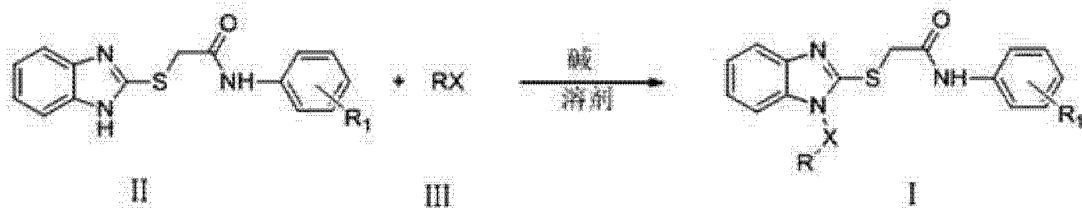
[0008] 其中：

[0009] R_1 选自氢、卤素、三氟甲基、甲氧基、硝基或磺酰胺基；[0010] X 为 $-C(=O)-$ 或 $-SO_2-$ ；

[0011] R 为环己基，苯基或对甲苯基。

[0012] 本发明中所述 R_1 中的卤素为 F、Cl、Br、I。[0013] 本发明所述的逆转录酶抑制剂 *N*-取代苯基-2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)硫基)乙酰胺类衍生物的制备方法如下：[0014] 以 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-硫基)-*N*-取代苯乙酰胺(II)为原料，在适宜的溶剂和碱性条件下，分别与相应的 RX (III) 反应而获得本发明化合物(I)，其反应式如下所示：

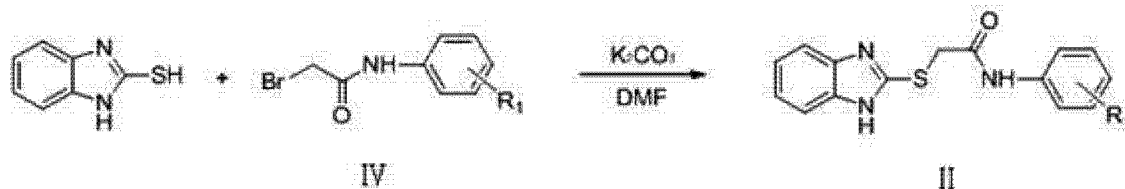
[0015]



[0016] 其中：

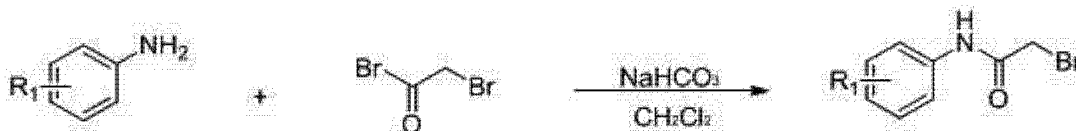
[0017] (1) 中间体 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-硫基)-*N*-取代苯乙酰胺(II)用如下方法制备：[0018] 于干燥的三颈瓶中加入 2-硫基-1*H*-苯并咪唑(0.02mol)，用 10ml *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)溶解后加入无水碳酸钾固体(0.02mol)，逐渐升温至 70℃，加入 2-溴-*N*-取代苯基乙酰胺，70℃下继续搅拌反应，TLC 跟踪 3-4 小时后，反应物 2-溴-*N*-取代苯基乙酰胺消失。停止反应，将反应液倒入冰水中，析出沉淀物，减压抽滤，烘干得粗品，可不经纯化直接用于下一步。其反应式如下所示：

[0019]



[0020] (2) 取代的溴乙酰苯胺(IV)按照文献(Thomas J. Tucker, Sandeep Sagar. et. al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2008, 18, 2959-2966)用如下方法制备，反应式如下所示：

[0021]



[0022] (3) 中间体 2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) - 巯基) -*N*- 苯乙酰胺 (II) 与 RX 反应而获得本发明化合物(I)时,按摩尔比为 1:1 ~ 1:1.2 混合,反应温度控制在 25°C ~ 100°C 之间,反应时间为 4 ~ 15 小时,然后将反应液倒入冰水中,搅拌析出沉淀,过滤,用无水乙醇洗涤沉淀,抽滤烘干,得粗品,粗产品经过柱层析或重结晶后,获得纯产品;

[0023] (4) 反应所用的溶剂是二氯甲烷、*N,N*- 二甲基甲酰胺;碱是醇钠,碳酸钾、碳酸氢钠、三乙胺等。

[0024] 上述结构式中取代基如上所定义, R_1 选自氢、卤素 (F、Cl、Br、I)、三氟甲基、甲氧基、硝基或磺酰胺基;X 为 -C(=O)- 或 -SO₂-;R 为环己基,苯基或对甲苯基。

[0025] 本发明另一目的在于将 *N*- 取代苯基 -2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) 巯基) 乙酰胺类衍生物应用在制备治疗和预防人类免疫缺陷病毒感染药物中。

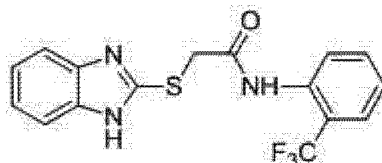
[0026] 经生物活性测试表明,本发明所述的 *N*- 取代苯基 -2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) 巯基) 乙酰胺类衍生物,具有明显的抗 HIV-1 病毒活性、较小的细胞毒性和较高的选择性指数,活性比现有药物如 DDI (去羟肌苷) 高。可应用于制备治疗和预防病毒性感染药物特别是 HIV 病毒感染药物,也可作为新型抗 HIV-1 先导化合物作进一步研究与开发。

具体实施方式

[0027] 下面通过实施例对本发明作进一步说明。但本发明保护范围不局限于所述内容,本发明实施例中所用方法如无特别说明均为常规方法。

[0028] 实施例 1: 中间体 2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) - 巯基) -*N*-(2- 三氟甲基) 苯基) 乙酰胺的合成,具体操作如下:

[0029]

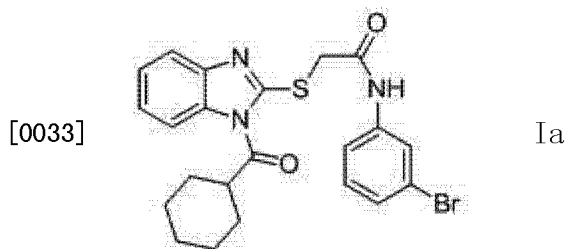


[0030] 于干燥的三颈瓶中加入 2- 巯基 -1*H*- 苯并咪唑 (0.02mol),用 10ml DMF 溶解后加入无水碳酸钾固体 (0.02mol),逐渐升温至 70°C,加入 2- 溴 -*N*-(2-(三氟甲基) 苯基) 乙酰胺,70°C 下继续搅拌反应,TLC 跟踪约 4 小时,反应物 2- 溴 -*N*-(2-(三氟甲基) 苯基) 乙酰胺消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,减压抽滤,烘干得粗品,可不经纯化直接用于下一步。

[0031] 实施例 2 :*N*-(3- 溴苯基) -2-((1- 环己基羰基) -1*H*- 苯并 [d] 咪唑 -2- 基) 巯基) 乙酰胺 (Ia) 的合成,具体操作如下:

[0032] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*- 苯并咪唑 -2- 基) - 巯基) -*N*-(3- 溴苯基) 乙酰胺 (0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 8。加入环己基甲酰氯液体 (0.002mol),温度逐渐升高至 65°C, TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物环己基甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤 3 次,抽滤烘

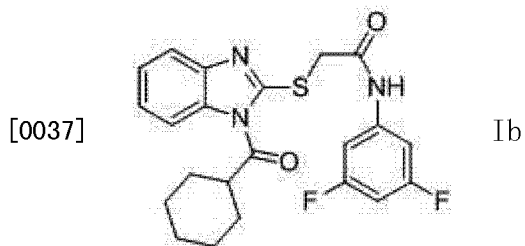
干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色固体 Ia 纯品。检测结果如下:



[0034] 收率:15.1%;熔点:134.5-134.8°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.36-1.40 (m, 3H, cyclohexyl), 1.44-1.82 (m, 4H, cyclohexyl), 1.91-1.94 (m, 2H, cyclohexyl), 2.06-2.09 (m, 2H, cyclohexyl), 3.19-3.20 (m, 1H, cyclohexyl), 4.14 (s, 2H, SCH_2), 6.89-6.93 (m, 1H, Ph), 7.24-7.38 (m, 3H, Ph), 7.43-7.75 (m, 2H, Ph), 8.27-8.27 (d, 1H, $J=1.2\text{Hz}$, Ph), 8.29-8.29 (d, 1H, $J=1.2\text{Hz}$, Ph), 9.70 (s, 1H, CONH)。

[0035] 实施例 3: *N*-(3,5-二氟苯基)-2-((1-环己基羰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Ib) 合成,具体操作如下:

[0036] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(3,5-二氟苯)乙酰胺(0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 8。加入环己基甲酰氯液体(0.002mol),温度逐渐升高至 65°C, TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物环己基甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色固体 Ib,检测结果如下:

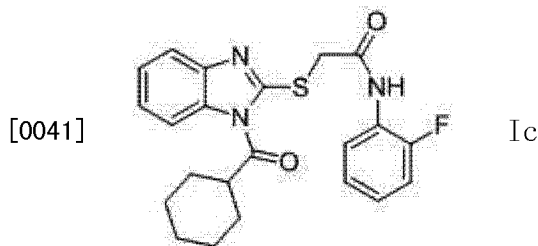


[0038] 产率:17.4%;熔点:157.5-157.8°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.35-1.38 (m, 3H, cyclohexyl), 1.42-1.96 (m, 6H, cyclohexyl), 2.07-2.10 (m, 2H, cyclohexyl), 3.99 (s, 2H, SCH_2), 6.46-6.501 (m, 1H, Ph), 7.06-7.48 (m, 4H, Ph), 7.56-7.58 (d, 1H, $J=8\text{Hz}$, Ph), 7.74-7.76 (d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$, Ph), 10.69 (m, 1H, CONH)。

[0039] 实施例 4: *N*-(2-氟苯基)-2-((1-环己基羰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Ic) 的合成,具体操作如下:

[0040] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(2-氟苯)乙酰胺(0.002mol),用 5ml 二氯甲烷溶解后,加入无水碳酸钾固体(0.02mol),调节 PH 值至 9。加入环己基甲酰氯液体(0.002mol),温度逐渐升高至 35°C, TLC 跟踪反应 10 小时后,反应物环己基甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得淡黄色

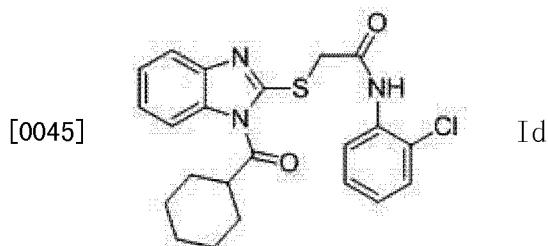
固体 Ic, 检测结果如下:



[0042] 收率:27.7%;熔点:147.5-147.8°C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.37-1.48 (m, 3H, cyclohexyl), 1.67-1.70 (m, 3H, cyclohexyl), 1.95-2.09 (m, 5H, cyclohexyl), 3.20 (m, 1H, cyclohexyl), 4.04 (s, 2H, SCH_2), 6.95-7.10 (m, 3H, Ph), 7.26-7.86 (m, 4H, Ph), 8.40-8.40 (d, 1H, $J=1.2\text{Hz}$, Ph), 10.64 (m, 1H, CONH)。

[0043] 实施例 5: *N*-(2-氯苯基)-2-((1-环己基羰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Id) 的合成, 具体操作如下:

[0044] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(2-氯苯)乙酰胺 (0.002mol), 用 5ml DMF 溶解后, 加入醇钠 (0.02mol), 调节 PH 值至 9。加入环己基甲酰氯液体 (0.002mol), 温度逐渐升高至 65°C, TLC 跟踪反应 6 小时后, 反应物环己基甲酰氯消失。停止反应, 将反应液倒入冰水中, 析出沉淀物, 过滤, 用无水乙醇洗涤产物 3 次, 抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后, 获得黄色固体 Id, 检测结果如下:

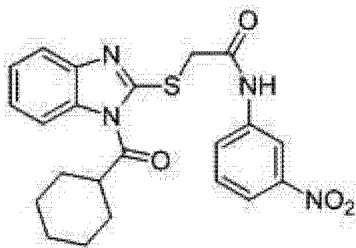


[0046] 收率:14.5%;熔点:109.5-109.8°C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.22-1.48 (m, 3H, cyclohexyl), 1.52-1.79 (m, 3H, cyclohexyl), 1.83-1.96 (m, 2H, cyclohexyl), 2.06-2.10 (m, 2H, cyclohexyl), 3.16-3.89 (m, 1H, cyclohexyl), 4.13 (s, 2H, SCH_2), 6.91-7.00 (m, 1H, Ph), 7.20-7.52 (m, 4H, Ph), 7.55-7.70 (d, 1H, Ph), 7.73-7.73 (d, 1H, Ph), 8.37-8.44 (m, 1H, Ph) 10.01 (s, 1H, CONH)。

[0047] 实施例 6: *N*-(3-硝基苯基)-2-((1-环己基羰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Ie) 的合成, 具体操作如下:

[0048] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(3-硝基苯)乙酰胺 (0.002mol), 用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液, 调节 PH 值至 8。加入环己基甲酰氯液体 (0.002mol), 温度逐渐升高至 65°C, TLC 跟踪反应 6 小时后, 反应物环己基甲酰氯消失。停止反应, 将反应液倒入冰水中, 析出沉淀物, 过滤, 用无水乙醇洗涤产物 3 次, 抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后, 获得白色固体 Ie, 检测结果如下:

[0049]



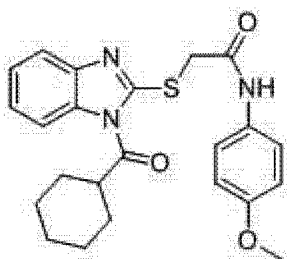
Ie

[0050] 收率:11.9%;熔点:143.0-143.5°C;¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.44-1.47 (m, 3H, cyclohexyl), 1.65-1.66 (m, 2H, cyclohexyl), 1.68-1.69 (m, 1H, J=2.4Hz, cyclohexyl), 1.90-1.94 (m, 2H, cyclohexyl), 2.06-2.09 (m, 2H, cyclohexyl), 3.20 (m, 1H, cyclohexyl), 4.01 (s, 2H, SCH₂), 7.38-7.54 (m, 3H, Ph), 7.76-7.76 (m, 1H, Ph), 7.78-7.78 (d, 1H, J=2.4Hz, Ph), 7.81-7.86 (d, 1H, Ph), 8.34-8.35 (m, 1H, Ph), 10.84 (s, 1H, CONH)。

[0051] 实施例7:*N*-(4-甲氧基苯基)-2-((1-环己基羰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (If) 的合成,具体操作如下:

[0052] 于25ml干燥三颈瓶中加入2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(4-甲氧基苯)乙酰胺(0.002mol),用5ml DMF溶解后加入0.5ml三乙胺溶液,调节PH值至9。加入环己基甲酰氯液体(0.002mol),温度逐渐升高至65°C,TLC跟踪反应6小时后,反应物环己基甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤3次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯=3:1)后,获得白色固体If纯品。检测结果如下:

[0053]



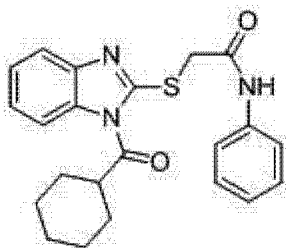
If

[0054] 收率:21.2%;熔点:164.5-164.7°C;¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.24-1.47 (m, 3H, cyclohexyl), 1.66-2.06 (m, 7H, cyclohexyl), 3.19-3.21 (m, 1H, cyclohexyl), 3.73-3.78 (s, 3H, cyclohexyl), 4.01 (s, 2H, SCH₂), 6.77-6.81 (m, 2H, Ph), 7.35-7.39 (m, 4H, Ph), 7.40-7.55 (d, 1H, Ph), 7.72-7.74 (d, 1H, J=6.8Hz, Ph), 10.09 (s, 1H, CONH)。

[0055] 实施例8:*N*-苯基-2-((1-环己基羰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Ig) 的合成,具体操作如下:

[0056] 于25ml干燥三颈瓶中加入2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-苯基乙酰胺(0.002mol),用5ml DMF溶解后加入0.5ml三乙胺溶液,调节PH值至8。加入环己基甲酰氯液体(0.002mol),温度逐渐升高至65°C,TLC跟踪反应5小时后,反应物环己基甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤3次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯=3:1)后,获得白色固体Ig纯品。检测结果如下:

[0057]



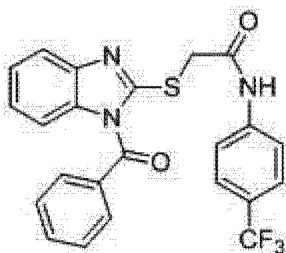
Ig

[0058] 收率:21.6%; 熔点: 128.3-128.5 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1.37-1.50 (m, 3H, cyclohexyl), 1.64-1.83 (m, 5H, cyclohexyl), 1.92-1.95 (m, 1H, cyclohexyl), 2.06-2.10 (m, 1H, cyclohexyl), 3.18-3.24 (m, 1H, cyclohexyl), 4.02 (s, 2H, SCH_2), 4.85-4.87 (m, 2H, Ph), 7.02-7.06 (m, 1H, Ph), 7.24-7.49 (m, 4H, Ph), 7.55-7.57 (d, 1H, $J=8\text{Hz}$, Ph), 7.74-7.76 (d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$, Ph), 10.261 (s, 1H, CONH)。

[0059] 实施例 9:2-((1-苯甲酰基-1H-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)-N-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺 (Ih) 的合成,具体操作如下:

[0060] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1H-苯并咪唑-2-基)-巯基)-N-(4-(三氟甲基)苯基)乙酰胺 (0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 9。加入苯甲酰氯液体 (0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物苯甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出固体,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色晶体 Ih,检测结果如下:

[0061]



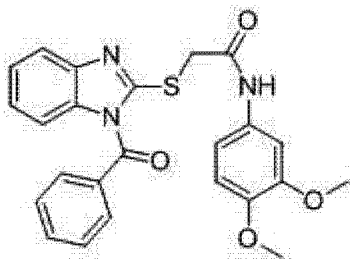
Ih

[0062] 收率:25.3%;熔点:143.5-143.8°C $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4.01 (s, 2H, SCH_2), 6.78-6.80 (d, 1H, $J=8.4\text{Hz}$, Ph), 7.11-7.36 (m, 3H, Ph), 7.36-7.38 (m, 1H, Ph), 7.55-7.58 (m, 4H, Ph), 7.59-7.77 (m, 4H, Ph), 10.70 (s, 1H, CONH)。

[0063] 实施例 10:2-((1-苯甲酰基-1H-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)-N-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰胺 (Ii) 的合成,具体操作如下:

[0064] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1H-苯并咪唑-2-基)-巯基)-N-(3,4-二甲氧基苯基)乙酰胺 (0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 8。加入苯甲酰氯液体 (0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物苯甲酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出固体,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色晶体 Ii,检测结果如下:

[0065]



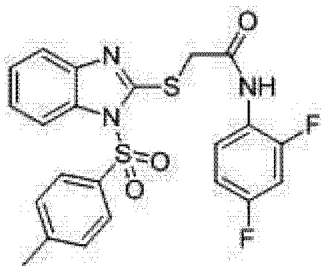
Ii

[0066] 收率:25.1%;熔点:179.2-179.5°C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 3.73-3.81 (m, 6H, OCH_3), 4.05 (s, 2H, SCH_2), 6.76-6.85 (m, 3H, Ph), 7.08-7.12 (m, 1H, Ph), 7.26-7.35 (m, 1H, Ph), 7.43-7.70 (m, 1H, Ph), 7.71-7.80 (m, 6H, Ph), 10.26 (s, 1H, CONH)。

[0067] 实施例 11 :*N*-(2,4-二氟苯基)-2-((1-甲苯磺酰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Ij) 的合成,具体操作如下

[0068] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(2,4-二氟苯)乙酰胺 (0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5 ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 8。加入对甲基苯磺酰氯固体 (0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物对甲基苯磺酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得色固体 Ij,检测结果如下:

[0069]



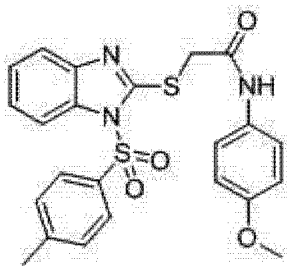
Ij

[0070] 收率:24.7% 熔点:167.0-167.4°C $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.33 (s, 3H, PhCH_3), 4.15 (s, 2H, SCH_2), 6.91-6.93 (m, 1H, Ph), 6.93-7.34 (m, 5H, Ph), 7.40-7.43 (m, 1H, Ph), 7.61-7.63 (m, 1H, Ph), 7.93-7.97 (m, 3H, Ph), 8.22-8.25 (m, 1H, Ph), 9.46 (s, 1H, CONH)。

[0071] 实施例 12 :*N*-(4-甲氧基苯基)-2-((1-甲苯磺酰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Ik) 的合成,具体操作如下:

[0072] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(4-甲氧基苯)乙酰胺 (0.002 mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 9。加入对甲基苯磺酰氯固体 (0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 8 小时后,反应物对甲基苯磺酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色固体 Ik,检测结果如下:

[0073]



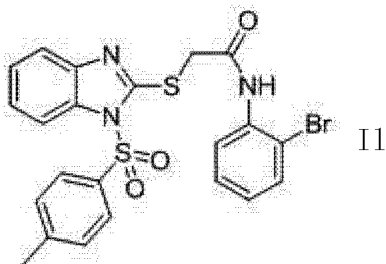
Ik

[0074] 收率:31.3%;熔点:145.3-145.8°C;¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.39 (s, 3H, Ph-CH₃), 3.78 (s, 3H, -OCH₃), 4.02 (s, 2H, SCH₂), 6.81-6.83 (d, 2H, J=9.2Hz, Ph), 7.29-7.39 (m, 6H, Ph), 7.64-7.66 (m, 1H, Ph), 7.96-8.03 (m, 3H, Ph), 9.88 (s, 1H, CONH)。

[0075] 实施例 13:*N*-(2-溴苯基)-2-((1-甲苯磺酰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (I1) 的合成,具体操作如下:

[0076] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(2-溴苯)乙酰胺(0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 8。加入对甲基苯磺酰氯固体(0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 8 小时后,反应物对甲基苯磺酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色固体 I1,检测结果如下:

[0077]



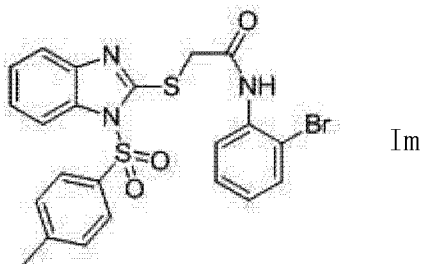
I1

[0078] 收率:23.8%;熔点:166.0-166.2°C;¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.37 (s, 3H, Ph-CH₃), 4.03 (s, 2H, SCH₂), 6.73-6.85 (m, 2H, Ph), 7.26-7.38 (m, 4H, Ph), 7.63-7.66 (m, 1H, Ph), 7.94-7.99 (m, 3H, Ph), 8.31-8.37 (m, 1H, Ph), 10.47 (s, 1H, CONH)。

[0079] 实施例 14:*N*-(4-溴苯基)-2-((1-甲苯磺酰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (Im) 的合成,具体操作如下:

[0080] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(2-溴苯)乙酰胺(0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 9。加入对甲基苯磺酰氯固体(0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物对甲基苯磺酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色固体 Im,检测结果如下:

[0081]



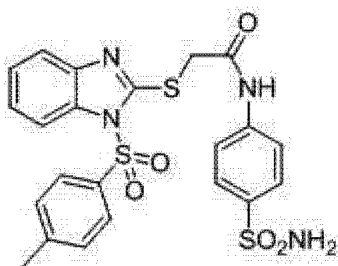
Im

[0082] 收率:17.8% 熔点:152.0-152.3°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.37 (s, 3H, PhCH_3), 4.02 (s, 2H, SCH_2), 7.10-7.12 (d, 2H, $J=8.8\text{Hz}$, Ph), 7.26-7.30 (m, 2H, Ph), 7.35-7.40 (m, 2H, Ph), 7.44-7.47 (m, 2H, Ph), 7.62-7.65 (m, 1H, Ph), 7.94-8.01 (m, 3H, Ph), 10.27 (s, 1H, CONH)。

[0083] 实施例 15 :*N*-(4-磺酰胺基苯基)-2-((1-甲苯磺酰基)-1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)巯基)乙酰胺 (In) 的合成,具体操作如下:

[0084] 于 25ml 干燥三颈瓶中加入 2-((1*H*-苯并咪唑-2-基)-巯基)-*N*-(4-磺酰胺基苯基)乙酰胺 (0.002mol),用 5ml DMF 溶解后加入 0.5ml 三乙胺溶液,调节 PH 值至 8。加入对甲基苯磺酰氯固体 (0.002mol),温度逐渐升高至 65°C,TLC 跟踪反应 6 小时后,反应物对甲基苯磺酰氯消失。停止反应,将反应液倒入冰水中,析出沉淀物,过滤,用无水乙醇洗涤产物 3 次,抽滤烘干得粗品。粗产品经过柱层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1)后,获得白色固体 In,检测结果如下:

[0085]



In

[0086] 收率:27.6%;熔点:201.0-201.3°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.27 (s, 3H, Ph-CH_3), 3.33 (s, 2H, $\text{SO}_2\text{-CH}_2$), 4.31 (s, 2H, SCH_2), 7.22-7.37 (m, 3H, Ph), 7.40-7.43 (m, 2H, Ph), 7.43-7.45 (m, 1H, Ph), 7.66-7.72 (m, 4H, Ph), 7.82-7.83 (m, 1H, Ph), 7.84-7.98 (m, 1H, Ph), 10.69 (s, 1H, CONH)。

[0087] 实施例 16 :HIV 生物活性检测实验

[0088] 体外细胞水平的抗 HIV 病毒活性由比利时 Katholieke 大学的 Rega 药物研究所测定,主要包括:对 HIV 感染的 MT-4 细胞的抑制活性及细胞毒性两方面;方法如下:将化合物置于 HIV 感染的 MT-4 细胞中,处理不同时间,采用 MTT 法测定药物对 HIV 诱导的细胞病变的保护作用,计算使 50% 的细胞免于 HIV 诱导的细胞病变所需的浓度半数有效浓度 IC_{50} 值,毒性测定与抗 HIV 活性实验平行进行,也是在 MT-4 细胞培养中,用 MTT 法测定使 50% 的未感染细胞发生细胞病变的浓度值 (CC_{50}),并计算选择性指数 $\text{SI}=\text{CC}_{50}/\text{IC}_{50}$ 。

[0089] 本实施例中使用的材料与内容如下:

[0090] 各化合物的抗 HIV 活性由药物对 HIV 在细胞中引起的细胞病变的抑制作用效率来监控,采用 MT-4 细胞进行细胞培养,采用的病毒株有:HIV-1 病毒株 III_B 及 HIV-2 病毒株 ROD。

[0091] 具体操作如下:将化合物用市售 DMSO 或水溶解后用磷酸盐缓冲食盐水溶液稀释,将浓度为 3×10^5 的 MT-4 细胞用 100 μ l 各化合物不同浓度溶液在 37 $^{\circ}$ C 预培养 1 h,然后向该化合物中加入 100 μ l 适当的病毒稀释液,将细胞于 37 $^{\circ}$ C 培养 1 h 后,洗涤三次,将细胞再次分别悬浮于含有或不含有化合物的 RPMI 1640 培养介质(含有 2mM 谷氨酰胺、10% 胎牛血清和 0.075% 碳酸氢钠)中,接着将细胞在 5% CO₂ 氛围中,于 37 $^{\circ}$ C 下再培养 7 天,并于感染后第三天用含有或不含有化合物的培养介质替换补充培养液,每种培养液条件都重复操作两次,对病毒的细胞病变作用每天都用反向光学显微镜监控,具体来讲,本实验中所用的病毒稀释液常常会在病毒感染后第五天导致细胞病变,药物抑制浓度以药物对病毒细胞病变作用产生 50% 抑制作用而同时对细胞无直接毒性的浓度 (CC₅₀) 表示。需要强调的是,当化合物水溶性较差,需要用 DMSO 才能溶解时,DMSO 浓度相对于水来讲,一般低于 10%,(DMSO 在 MT-4 细胞培养介质中最终浓度小于 2%)。因为 DMSO 能影响测试化合物的抗病毒活性,对含有相同浓度 DMSO 溶液抗病毒活性对比空白实验也应该平行进行。另外,DMSO 最终浓度(1/1000)远远低于影响 HIV-1 在 T 细胞中复制所需的浓度。

[0092] 本实施例中使用市售的 DDI(去羟肌苷)、齐多夫定 (AZT)、Nevirapine(奈韦拉平)、和 Efavirenz (依非韦伦) 作对照品,目标化合物对 HIV 的抑制活性结果见表 1。

[0093] 表 1:不同化合物对 HIV 的抑制活性结果

[0094]

化合物名称	IC ₅₀ (μ M)		CC ₅₀ (μ M)	SI
	HIV-1 III _B	HIV-2 ROD		
Ia	17.61	>141.57	141.57	8
Ib	>33.53	>33.53	33.53	≤ 1
Ic	38.32	>120.54	120.54	3.1
Id	22.78	>133.29	133.29	5.9
Ie	>24.49	>24.49	24.49	<1
If	>32.61	>32.61	32.61	≤ 1
Ig	>162.01	>162.01	162.01	<1
Ih	>36.18	>36.18	36.18	<1
Ii	>159.44	>159.44	159.44	<1
Ij	≥ 41.6	>110.28	110.28	≤ 2.7
Ik	4.53	>180.55	180.55	39.9
Il	5.6	>141.05	141.05	25.2
Im	8.11	>108.09	108.09	13.3
In	4.76	>27.84	27.84	5.9
DDI	18.92		211.66	11.2
AZT	0.007	0.007	93.55	13364
Nevirapine	0.23		15.02	65.3
Efavirenz	0.003		6.34	>2113

[0095] 结果表明:化学结构通式中所包含的化合物普遍具有较好的抗 HIV-1 病毒活性,较小的细胞毒性和较高的选择性指数,本类化合物不具有抗 HIV-2 作用,为经典的非核苷类逆转录酶抑制剂。其中,活性最好的化合物 Ik、Il、Im 的活性和选择性指数均高于上市药物 DDI,可应用于制备治疗和预防病毒性感染药物特别是 HIV 病毒感染药物。也可作为新型抗 HIV-1 先导化合物作进一步研究与开发。