



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106632416 B

(45)授权公告日 2018.08.28

(21)申请号 201610852446.6

A61P 35/00(2006.01)

(22)申请日 2016.09.26

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

EP 2508570 A2,2012.10.10,权利要求,实施例.

申请公布号 CN 106632416 A

CN 1500789 A,2004.06.02,全文.

(43)申请公布日 2017.05.10

CN 103254239 A,2013.08.21,权利要求,实施例.

(73)专利权人 广西师范大学

Ke-Bin Huang et al.Copper(II/I) complexes of 5-pyridin-2-yl-[1,3]dioxolo [4,5-g] isoquinoline: Synthesis, crystal structure, antitumor activity and DNA interaction.《European Journal of Medicinal Chemistry》.2013,第70卷第640-648页.

地址 541004 广西壮族自治区桂林市育才路15号

(72)发明人 陈振锋 梁宏 刘延成 卢幸 李亮萍

(74)专利代理机构 桂林市持衡专利商标事务所有限公司 45107

代理人 唐智芳

(51)Int.Cl.

C07F 1/08(2006.01)

C07D 471/04(2006.01)

A61K 31/555(2006.01)

张前亮.3\_甲基\_咪啉生物物的合成及其抑菌活性研究.《西北农林科技大学硕士学位论文》.2013,第1-2章.

审查员 赵立立

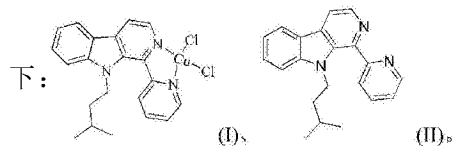
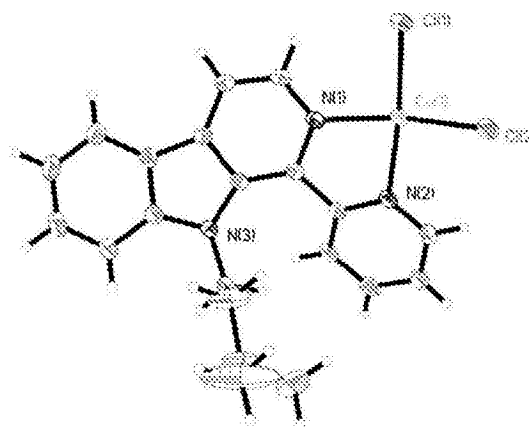
权利要求书2页 说明书9页 附图1页

(54)发明名称

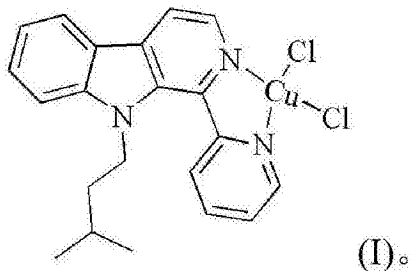
以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咪啉为配体的氯化铜配合物及其合成方法和应用

(57)摘要

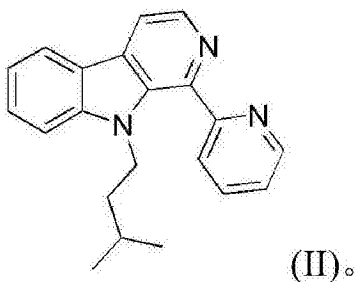
本发明公开了一种以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咪啉为配体的氯化铜配合物及其合成方法和应用。该配合物的结构式如下式(I)所示,其合成方法为:取如下式(II)所示化合物和氯化铜,溶于极性溶剂中,进行配位反应,即得;其中,所述的极性溶剂为选自甲醇和乙醇中的一种或两种与选自水、丙酮、氯仿、二氯甲烷和N,N-二甲基甲酰胺中的一种或两种以上的组合。本发明所述的配合物表现出比配体及顺铂更强的抗肿瘤活性,具有较好的潜在药用价值,有望用于各种抗肿瘤药物的制备。式(I)和式(II)所示结构如



1. 下式 (I) 所示化合物:



2. 权利要求1所述化合物的合成方法,其特征为:取如下式 (II) 所示化合物和氯化铜,溶于极性溶剂中,进行配位反应,即得到目标产物;其中,所述的极性溶剂为选自甲醇和乙醇中的一种或两种与选自水、丙酮、氯仿、二氯甲烷和N,N-二甲基甲酰胺中的一种或两种以上的组合;



3. 根据权利要求2所述的合成方法,其特征为:取式 (II) 所示化合物和氯化铜,溶于极性溶剂中,所得混合液于加热或不加热条件下反应,反应物除去部分溶剂,静置,析出,分离出晶体,即得目标产物。

4. 根据权利要求3所述的合成方法,其特征为:反应在50℃至极性溶剂的回流温度范围内进行。

5. 根据权利要求2所述的合成方法,其特征为:取式 (II) 所示化合物和氯化铜,溶于极性溶剂中,所得混合液置于容器中,经液氮冷冻后抽至真空,熔封,然后于30~140℃条件下反应,得到目标产物。

6. 根据权利要求5所述的合成方法,其特征为:反应在50~140℃条件下进行。

7. 根据权利要求2~6中任一项所述的合成方法,其特征为:所述式 (II) 所示化合物按下述方法进行制备:

以色胺和吡啶-2-甲醛为原料,在第一有机溶剂中反应,经过脱水缩合得到化合物1;然后将化合物1置于第二有机溶剂中,加入氧化剂关环并脱氢得到化合物2;再将化合物2置于碱性物质的非质子极性溶剂中,加入1-溴异戊烷进行取代反应,即得;其中:

所述的第一有机溶剂为选自甲苯、甲醇、乙醇、二氯甲烷和三氯甲烷中的一种或两种以上的组合;

所述的第二有机溶剂为选自苯、甲苯、对二甲苯、冰乙酸和二氯甲烷中的一种或两种以上的组合;

所述的氧化剂为钨碳、醋酸锰水合物、四乙酸铅或2,3-二氯-5,6-二氰对苯醌;

所述的碱性物质为无机碱;

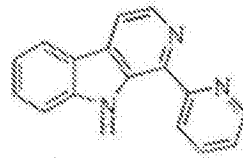
所述的非质子极性溶剂为选自N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷和丙酮中的一种或两种

以上的组合；

所述化合物1和化合物2的结构分别如下：



化合物 1



化合物 2。

8. 根据权利要求7所述的合成方法,其特征在于:对所得式(II)所示化合物进行纯化操作。

9. 权利要求1所述化合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

10. 一种抗肿瘤药物组合物,其特征在于:含有作为活性成分的权利要求1所述化合物。

## 以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咔啉为配体的氯化铜配合物及其合成方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及医药技术领域,具体涉及一种以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咔啉为配体的氯化铜配合物及其合成方法和应用。

### 背景技术

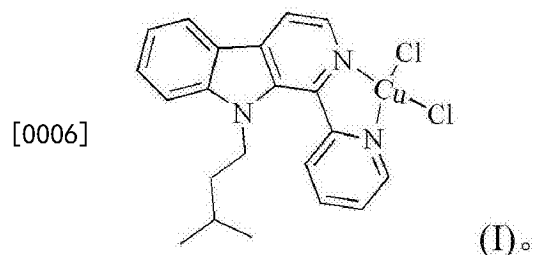
[0002] β-咔啉是一类广泛分布于自然界的生物碱,它们主要存在于多种陆生植物和海洋生物中。从化学结构上分类,β-咔啉生物碱属于吲哚类生物碱,它是由吲哚并吡啶构成的三环体系,它的骨架是一个平面分子,其中2位和9位的两个氮原子以不同的杂化状态存在,在9位氮原子为 $sp^3$ 杂化,为富 $\pi$ 电子体系,2位氮原子为 $sp^2$ 杂化,为缺 $\pi$ 电子体系。两个氮原子与该类化合物的化学性质及生物活性密切相关。该类化合物具有广泛的生物学和药理学活性,其中包括:镇静剂、抗焦虑、催眠、抗痉挛、抗肿瘤、抗病毒、杀虫和抗菌活性等。因此β-咔啉生物碱越来越受到研究人员的重视。

[0003] 另一方面,基于药用活性配体的药物无机化学研究在近年来随着生物无机化学的蓬勃发展而成为热点研究领域,尤其以顺铂、卡铂、奥沙利铂等为代表的第一、二、三代铂类抗癌药物作为一线化疗药物的成功应用,真正标志着金属药物研究与应用新时代的到来。但目前尚未见有以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咔啉为配体的氯化铜(II)配合物及其合成方法和应用的相关报道。

### 发明内容

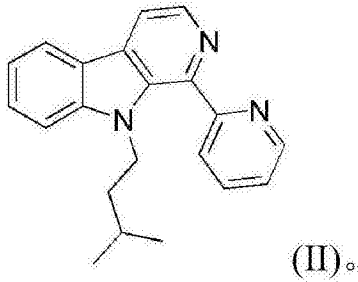
[0004] 本发明要解决的技术问题是提供一种结构新颖的以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咔啉为配体的氯化铜(II)配合物,以及它的合成方法和应用。

[0005] 本发明涉及下式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐:



[0007] 上述式(I)所示化合物的合成方法为:取如下式(II)所示化合物和氯化铜( $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ),溶于极性溶剂中,进行配位反应,即得到目标产物;其中,所述的极性溶剂为选自甲醇和乙醇中的一种或两种与选自水、丙酮、氯仿、二氯甲烷和N,N-二甲基甲酰胺中的一种或两种以上的组合;

[0008]



[0009] 上述合成方法中涉及的原料式(II)所示化合物作为配体参与反应,其化学名称为1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咪啉,在本申请中也简称为L。该式(II)所示化合物可自行设计合成路线进行制备,优选按下述方法进行制备:

[0010] 以色胺和吡啶-2-甲醛为原料,在第一有机溶剂中反应,经过脱水缩合得到化合物1;然后将化合物1置于第二有机溶剂中,加入氧化剂关环并脱氢得到化合物2(1-(2-吡啶)-β-咪啉);再将化合物2置于碱性物质的非质子极性溶剂中,加入1-溴异戊烷进行取代反应,即得;其中:

[0011] 所述的第一有机溶剂为选自甲苯、甲醇、乙醇、二氯甲烷和三氯甲烷中的一种或两种以上的组合;

[0012] 所述的第二有机溶剂为选自苯、甲苯、对二甲苯、冰乙酸和二氯甲烷中的一种或两种以上的组合;

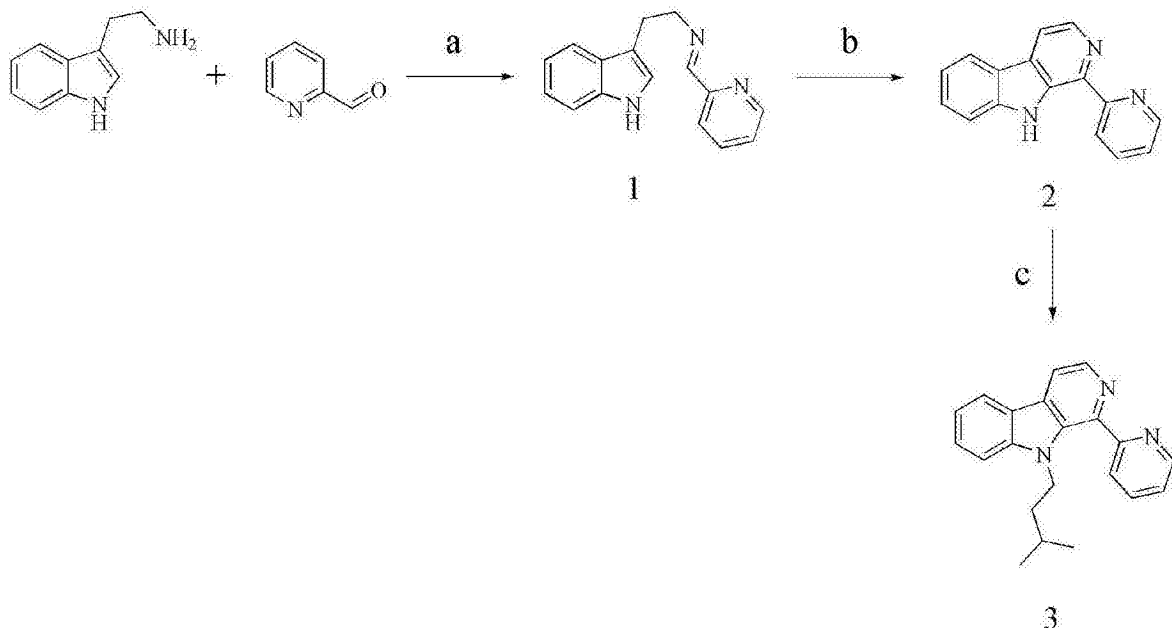
[0013] 所述的氧化剂为钨碳、醋酸锰水合物( $Mn(Ac)_3 \cdot nH_2O$ )、四乙酸铅( $Pb(Ac)_4$ )或2,3-二氯-5,6-二氰对苯醌(DDQ);

[0014] 所述的碱性物质为无机碱;

[0015] 所述的非质子极性溶剂为选自N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砷和丙酮中的一种或两种以上的组合。

[0016] 上述制备式(II)所示化合物方法的合成路线如下:

[0017]



[0018] 试剂:(a) 第一有机溶剂;(b) 氧化剂,第二有机溶剂;(c) 碱性物质,非质子极性溶

剂。

[0019] 上述式(II)所示化合物更为具体的制备方法,包括以下步骤:

[0020] ①以色胺和吡啶-2-甲醛为原料,在第一有机溶剂中反应,反应过程中排出反应生成的水,待反应结束后蒸干溶剂,得到化合物1;

[0021] ②将化合物1置于第二有机溶剂中,加入氧化剂,加热条件下反应,待反应结束,过滤,收集滤液,蒸干,得到化合物2;

[0022] ③取碱性物质溶于非质子极性溶剂中,然后加入化合物2和1-溴异戊烷进行反应,待反应结束,将反应物投入冰水中,对所得冰水混合物进行萃取,收集有机相,蒸干溶剂,即得到式(II)所示化合物(即化合物3)。

[0023] 上述式(II)所示化合物合成方法的步骤①中,色胺和吡啶-2-甲醛的物质的量之比通常为0.8~1.2:1,反应可以在加热或不加热的条件下进行,反应过程中可以用分水器排出反应生成的水,反应是否完全可以可采用薄层层析(TLC)跟踪检测;优选地,反应采用加热回流反应,此时反应的时间控制在2~6h较合适。该步骤中,得到的是化合物1的粗产物,为了减少后续反应中的杂质,提高后序反应的产率,优选是对所得残渣进行纯化操作后再进行后序反应。具体的纯化操作可以是对所得残渣用小极性溶剂重结晶,所得重结晶产物再用于后序反应。所述用于重结晶的小极性溶剂与现有技术相同,具体可以是石油醚和/或正己烷等。

[0024] 上述式(II)所示化合物合成方法的步骤②中,反应优选采用加热回流反应,反应是否完全可以可采用薄层层析跟踪检测。该步骤中,得到的是化合物2的粗产物,为了减少后续反应中的杂质,提高后序反应的产率,优选是对所得残渣进行纯化操作后再进行后序反应。具体的纯化操作可以是对所得残渣用选自甲醇、乙醇和二氯甲烷中的一种或两种以上的组合溶剂进行重结晶,或者是将所得残渣上硅胶柱层析纯化,在上硅胶柱层析时,所用的洗脱剂为石油醚和二氯甲烷按6:1~1:1的体积比组成的混合溶剂。

[0025] 上述式(II)所示化合物合成方法的步骤②中,根据氧化剂的不同,选用不同的第二有机溶剂,具体如下:

[0026] (1)当氧化剂的选择为钯碳时,第二有机溶剂优选为苯、甲苯和对二甲苯中的一种或两种以上的组合,当二有机溶剂的选择为上述两种以上的组合时,它们之间的配比可以为任意配比。所述的钯碳可以是5%Pd/C或10%Pd/C,所述钯碳的加入量通常按10mmol化合物1加入2~4g钯碳计算。

[0027] (2)当氧化剂的选择为醋酸锰水合物或四乙酸铅时,第二有机溶剂优选为冰乙酸;所述醋酸锰水合物或四乙酸铅的加入量通常为化合物1物质的量的2~8倍。当氧化剂的选择为醋酸锰水合物或四乙酸铅时,优选反应结束后用碱液调节体系的pH $\geq$ 7,再对其进行萃取,收集有机相,蒸干溶剂所得的残渣再上硅胶柱层析纯化;其中,所述的碱液可以是氨水、乙酸钠、碳酸钠、磷酸钠、碳酸氢钠或碳酸钾等碱性物质的水溶液,所述碱液的浓度优选为5~30w/w%;用于萃取调pH值后体系的溶剂具体可以是乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿或乙醚等。

[0028] (3)当氧化剂的选择为2,3-二氯-5,6-二氰对苯醌时,第二有机溶剂优选为苯、甲苯和二氯甲烷的一种或两种以上的组合,当二有机溶剂的选择为上述两种以上的组合时,它们之间的配比可以为任意配比。所述2,3-二氯-5,6-二氰对苯醌的加入量通常为化合物1物质的量的1~4倍。

[0029] 上述式(II)所示化合物合成方法的步骤③中,所述碱性物质、化合物2和1-溴异戊烷的物质的量之比通常为1~4:1:1~3,其中的碱性物质进一步可以是氢氧化钠、氯化钙、氢氧化钙、氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸铯和碳酸钾中的一种或两种以上的组合,当碱性物质的选择为上述两种以上的组合时,它们之间的配比可以为任意配比。该步骤中,反应可以在0~80℃条件下进行,反应是否完全可采用薄层层析(TLC)跟踪检测;优选地,反应在20~50℃,此时反应的时间控制在1~6h较合适。对冰水混合物进行萃取的溶剂具体可以是乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、石油醚或乙醚等常规萃取溶剂。

[0030] 上述式(II)所示化合物合成方法中所涉及的各种溶剂(如第一有机溶剂、第二有机溶剂以及非质子极性溶剂等)的用量,以能够溶解各步骤中参与反应的原料为宜。

[0031] 上述方法制备得到的是式(II)所示化合物的粗产物,为了进一步提高式(II)所示化合物的纯度,更有利于后续反应的进行,优选是对上述所得粗产物进行纯化操作后再用于本发明目标产物的合成方法中。所述的纯化操作与现有技术相同,具体可以是将粗产物上硅胶柱层析纯化,以得到式(II)所示化合物纯品;在上硅胶柱层析时,所用的洗脱剂为二氯甲烷和甲醇按1000:1~50:1的体积比组成的混合溶剂。

[0032] 本发明所述式(I)所示化合物的合成方法中,在极性溶剂的组成中,甲醇或乙醇或者是甲醇和乙醇的组合在极性溶剂中所占的比例优选为50~98v/v%;当极性溶剂中含有水、丙酮、氯仿、二氯甲烷和N,N-二甲基甲酰胺中的两种以上的选择时,在它们的总量不超出50%的前提条件下,它们的配比可以为任意配比。所述极性溶剂的用量可根据需要确定,通常情况下,1mmol的氯化铜和1mmol式(II)所示化合物用5~80mL的极性溶剂来溶解。在具体的溶解步骤中,一般将氯化铜和式(II)所示化合物混合后再加极性溶剂;也可将氯化铜和式(II)所示化合物分别用极性溶剂溶解,再混合在一起反应。

[0033] 本发明所述式(I)所示化合物的合成方法中,所述氯化铜和式(II)所示化合物的物质的量之比可以是1~6:1。

[0034] 本发明所述的式(I)所示化合物具体在合成时,可采用常压溶液法或高压溶剂热法进行合成。

[0035] 当采用常压溶液法时,其合成方法包括:取式(II)所示化合物和氯化铜,溶于极性溶剂中,所得混合液于加热或不加热条件下反应,反应物除去部分溶剂,静置,析出,分离出晶体,即得目标产物。

[0036] 上述常压溶液法中,反应可以在20℃至极性溶剂的回流温度范围内进行,优选采用回流反应,进一步优选反应是在50℃至极性溶剂的回流温度范围内进行,更优选是在60℃条件下反应。反应是否完全可采用薄层层析跟踪检测。本方法中,产物一般以晶体的形式大量生成,如果前序步骤中极性溶剂的加入量较大(如接近配比的上限)或溶剂对产物的溶解性较好,则反应后溶液可能呈澄清状态,这是因为所形成的产物沉淀被极性溶剂溶解所致,此时可将所得反应液浓缩或减压蒸馏以除去部分溶剂,通常是浓缩除去极性溶剂加入量的50~90%。分离得到的固体可进一步用乙醚、丙酮、乙醇、甲醇或二氯甲烷进行洗涤,之后再干燥。

[0037] 当高压溶剂热法时,其合成方法包括:取式(II)所示化合物和氯化铜,溶于极性溶剂中,所得混合液置于容器中,经液氮冷冻后抽至真空,密封,然后于30~140℃条件下反应,得到目标产物。

[0038] 上述高压溶剂热法中,所述的容器通常为厚壁硼硅玻璃管,反应通常在30~140℃条件下进行,在此温度条件下,反应的时间优选控制在2~24h,也可根据实际情况延长至24h以上。进一步优选混合溶液是在50~140℃条件下进行反应,更优选混合溶液是在80~100℃条件下进行反应。当反应在80℃以下的常温或加热条件下进行时,反应需要更长的时间才可获得较高的产率。

[0039] 本发明还包括上述式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0040] 本发明还包括以上述式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐为活性成分制备的抗肿瘤药物。

[0041] 与现有技术相比,本发明提供了一种新的以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咪啉为配体的氯化铜(II)配合物,以及它的合成方法和应用。申请人通过考察其对多种肿瘤细胞株的抑制作用,结果表明该配合物具有较强的体外抗肿瘤活性,且明显高于顺铂,具有较好的潜在药用价值,有望用于各种抗肿瘤药物的制备。

## 附图说明

[0042] 图1为本发明实施例5制得的最终产物的X射线单晶结构图。

## 具体实施方式

[0043] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的详述,以更好地理解本发明的内容,但本发明并不限于以下实施例。

[0044] 实施例1:式(II)所示化合物即1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咪啉(L)的合成

[0045] 1)将1.6g(10mmol)色胺、1.1g(10mmol)吡啶-2-甲醛和50ml甲苯加入150ml圆底烧瓶,加上分水器和冷凝管组成分水回流装置,加热回流4小时,待反应结束后蒸干溶剂,残渣用100ml正己烷重结晶得到化合物1(2.3g,产率92%);

[0046] 2)将2.5g(10mmol)化合物1、2.5g钯碳(10%Pd/C)和100ml对二甲苯加入250ml圆底烧瓶,加热至回流,并用薄层层析跟踪检测至反应结束,静置抽滤并将滤液蒸干,所得残渣上硅胶柱层析纯化( $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:1$ ),得到化合物2(2.1g,产率86%);

[0047] 3)将0.24g(10mmol)氢化钠和15ml N,N-二甲基甲酰胺加入到50ml圆底烧瓶,室温搅拌10分钟,再加入2.5g(10mmol)化合物2和10mmol 1-溴异戊烷,并用薄层层析跟踪检测至反应结束,然后将反应液投入500ml冰水中,用100ml乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,蒸干溶剂,所得残渣上硅胶柱层析纯化( $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=100:1$ ),得到化合物3(2.7g,产率86%)。

[0048] 对所得产物进行表征:

[0049] (1)核磁共振氢谱和碳谱,它们的波谱数据如下:

[0050]  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.79(d,  $J=4.6\text{Hz}$ , 1H), 8.60(d,  $J=5.4\text{Hz}$ , 1H), 8.26-8.19(m, 2H), 8.11(d,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 8.00(td,  $J=7.7, 1.8\text{Hz}$ , 1H), 7.68(ddd,  $J=8.2, 2.1, 1.0\text{Hz}$ , 1H), 7.49(t,  $J=7.6\text{Hz}$ , 2H), 7.37(t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 1H), 4.25(t,  $J=8.2\text{Hz}$ , 2H), 1.29-1.24(m, 2H), 1.24-1.17(m, 1H), 0.65(d,  $J=6.4\text{Hz}$ , 6H)。

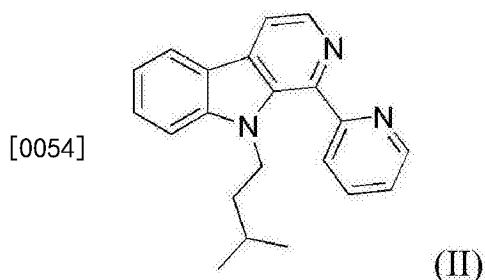
[0051]  $^{13}\text{C}$  NMR(126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 154.59, 148.98, 143.53, 139.77, 137.47, 134.50, 133.66, 133.58, 130.24, 126.12, 124.41, 122.25, 120.95, 120.84, 115.27, 110.54, 44.15,



37.58, 26.21, 22.32.

[0052] (2) 高分辨质谱, ESI-MS  $m/z$ : 316  $[M+H]^+$ .

[0053] 因此, 可确定上述产物即为1-(2-吡啶)-9-异戊基- $\beta$ -咔啉, 其化学结构式如下述式(II)所示:



[0055] 实施例2: 配体L的合成

[0056] 重复实施例1, 不同的是:

[0057] 步骤2) 中, 用 $Mn(Ac)_3$ 代替钨碳, 用冰乙酸代替对二甲苯, 控制 $Mn(Ac)_3$ 的加入量为化合物1物质的量的2倍, 反应在70°C条件下进行, TLC跟踪检测至反应结束, 然后用氨水将体系的pH调至7, 再用乙酸乙酯萃取三次, 合并有机相, 蒸干溶剂, 所得残渣上硅胶柱(层析纯化( $V_{石油醚}:V_{二氯甲烷}=1:1$ )), 得到化合物2。

[0058] 对本实施例所得产物进行核磁共振氢谱、核磁共振碳谱和高分辨质谱分析, 确定为目标产物1-(2-吡啶)-9-异戊基- $\beta$ -咔啉。

[0059] 实施例3: 配体L的合成

[0060] 重复实施例2, 不同的是:

[0061] 步骤2) 中, 用 $Pb(Ac)_4$ 代替 $Mn(Ac)_3$ , 控制 $Pb(Ac)_4$ 的加入量为化合物1物质的量的5倍, 反应在60°C条件下进行。

[0062] 对本实施例所得产物进行核磁共振氢谱、核磁共振碳谱和高分辨质谱分析, 确定为目标产物1-(2-吡啶)-9-异戊基- $\beta$ -咔啉。

[0063] 实施例4: 配体L的合成

[0064] 重复实施例1, 不同的是:

[0065] 步骤2) 中, 用2,3-二氯-5,6-二氰对苯醌代替钨碳, 用二氯甲烷代替对二甲苯, 2,3-二氯-5,6-二氰对苯醌的加入量与化合物1的物质的量相等。

[0066] 对本实施例所得产物进行核磁共振氢谱、核磁共振碳谱和高分辨质谱分析, 确定为目标产物1-(2-吡啶)-9-异戊基- $\beta$ -咔啉。

[0067] 实施例5: 目标配合物 $[Cu(L)Cl_2]$ 的合成

[0068] 在一端开口的厚壁硼硅玻璃管中, 直接加入0.1mmol  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 和0.1mmol配体L, 再加入0.6ml甲醇/二氯甲烷混合溶液(甲醇和二氯甲烷的体积比为3:1), 在抽真空的条件下, 将开口端熔封, 然后在50°C条件下充分反应20小时, 得到绿色结晶型固体产物。

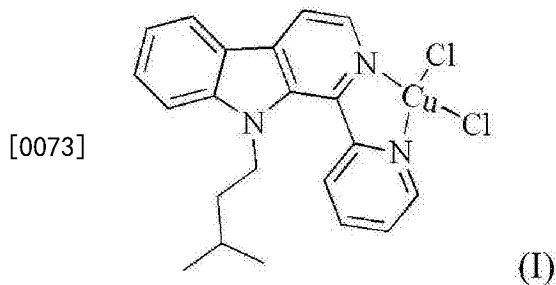
[0069] 对所得产物进行表征:

[0070] (1) 高分辨质谱, ESI-MS  $m/z$ : 491  $[Cu(L)(DMSO)Cl]^+$ . (DMSO来自质谱测试时使用的溶剂)

[0071] (2) X射线单晶衍射分析, 如图1所示。

[0072] 因此可确定上述产物即为以1-(2-吡啶)-9-异戊基- $\beta$ -咔啉为配体的铜(II)配合

物即目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>],其结构式如下述式(I)所示:



[0074] 实施例6:目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]的合成

[0075] 在一端开口的厚壁硼硅玻璃管中,直接加入0.2mmol CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O和0.1mmol配体L,再加入0.6ml乙醇/氯仿混合溶液(乙醇和氯仿的体积比为3:1),在抽真空的条件下,将开口端熔封,然后在80℃条件下充分反应12小时,得到绿色结晶型固体产物。

[0076] 所得产物经过高分辨质谱和X射线单晶衍射分析进行结构测定,确定为目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]。

[0077] 实施例7:目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]的合成

[0078] 在一端开口的厚壁硼硅玻璃管中,直接加入0.3mmol CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O和0.1mmol配体简称L,再加入0.6ml甲醇/乙醇/N,N-二甲基甲酰胺混合溶液(甲醇、乙醇和N,N-二甲基甲酰胺的体积比为5:1:1),在抽真空的条件下,将开口端熔封,然后在100℃条件下充分反应4小时,得到绿色结晶型固体产物。

[0079] 所得产物经过高分辨质谱和X射线单晶衍射分析进行结构测定,确定为目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]。

[0080] 实施例8:目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]的合成

[0081] 在一端开口的厚壁硼硅玻璃管中,直接加入0.4mmol CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O和0.1mmol配体L,再加入0.6ml乙醇/丙酮混合溶液(乙醇和丙酮的体积比为10:1),在抽真空的条件下,将开口端熔封,然后在80℃条件下充分反应4小时,得到绿色结晶型固体产物。

[0082] 所得产物经过高分辨质谱和X射线单晶衍射分析进行结构测定,确定为目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]。

[0083] 实施例9:目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]的合成

[0084] 取6mmol CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O和1mmol配体L置于圆底烧瓶中,向其中加入80ml乙醇/水混合溶液(乙醇和水的体积比为1:1),搅拌溶解后,加热至60℃反应12小时,反应物减压浓缩除去部分溶剂,静置,有绿色晶体析出,分离出固体,用乙醇洗涤,干燥,得到绿色晶体。

[0085] 所得产物经过高分辨质谱和X射线单晶衍射分析进行结构测定,确定为目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]。

[0086] 实施例10:目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]的合成

[0087] 取2mmol CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O和1mmol配体L置于圆底烧瓶中,向其中加入50ml甲醇/丙酮/水混合溶液(甲醇、丙酮和水的体积比为30:1:10),搅拌溶解后,加热至50℃反应12小时,反应物减压浓缩除去部分溶剂,静置,有绿色晶体析出,分离出固体,用乙醇洗涤,干燥,得到绿色晶体。

[0088] 所得产物经过高分辨质谱和X射线单晶衍射分析进行结构测定,确定为目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]。

[0089] 实施例11:目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]的合成

[0090] 取3mmol CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O和1mmol配体L置于圆底烧瓶中,向其中加入30ml甲醇/氯仿混合溶液(甲醇和氯仿的体积比为1:1),搅拌溶解后,于20℃反应18小时,反应物减压浓缩除去部分溶剂,静置,有绿色晶体析出,分离出固体,用乙醇洗涤,干燥,得到绿色晶体。

[0091] 所得产物经过高分辨质谱和X射线单晶衍射分析进行结构测定,确定为目标配合物[Cu(L)Cl<sub>2</sub>]。

[0092] 为了充分说明本发明所述配合物在制药中的用途,申请人对其进行了体外抗肿瘤活性实验。

[0093] 实验例1:以1-(2-吡啶)-9-异戊基-β-咪啉为配体的氯化铜(II)配合物(按本发明实施例5所述方法制得)及配体L(按本发明实施例1所述方法制得)对多种人类肿瘤株进行体外抑制活性实验

[0094] 1、细胞株与细胞培养

[0095] 本实验选用人胃癌细胞MGC-803、人肝癌细胞株Hep G2、人膀胱癌细胞T-24、人非小细胞肺癌细胞NCI-H460以及人正常细胞HL-7702共5种细胞株。

[0096] 所有肿瘤细胞株均培养在含10wt%小牛血、100U/mL青霉素、100U/mL链霉素的RPMI-1640培养液内,置37℃含体积浓度5%CO<sub>2</sub>孵箱中培养;人正常细胞株则培养在含10wt%小牛血、100U/mL青霉素、100U/mL链霉素的DMEM培养液内。

[0097] 2、待测化合物的配制

[0098] 将各待测化合物的DMSO储液(浓度为0.002mol/L)通过RPMI1640培养基依次稀释成五个浓度梯度,分别为20、10、5、2.5、1.25μmol/L,其中助溶剂DMSO终浓度≤1%。首先测试20μmol/L的各待测化合物对于肿瘤细胞增殖的抑制率,视为初筛结果;再分别测试不同梯度浓度下各待测化合物对各种肿瘤细胞的增殖抑制程度,用以拟合计算半数抑制浓度,即IC<sub>50</sub>值。

[0099] 3、细胞生长抑制实验(MTT法)

[0100] (1)取对数生长期的肿瘤细胞,经胰蛋白酶消化后,用含10%小牛血清的培养液配制成浓度为5000个/mL的细胞悬液,以每孔190μL接种于96孔培养板中,使待测细胞密度至1000~10000个/孔(边缘孔用无菌PBS填充);

[0101] (2)5%CO<sub>2</sub>,37℃孵育24h,至细胞单层铺满孔底,每孔加入一定浓度梯度的药物10μL,每个浓度梯度设4个复孔;

[0102] (3)5%CO<sub>2</sub>,37℃孵育48小时,倒置显微镜下观察;

[0103] (4)每孔加入10μL的MTT溶液(5mg/mL PBS,即0.5%MTT),继续培养4h;

[0104] (5)终止培养,小心吸去孔内培养液,每孔加入150μL DMSO充分溶解甲瓩沉淀,振荡器混匀后,在酶标仪用波长为570nm,参比波长为450nm测定各孔的光密度值;

[0105] (6)同时设置调零孔(培养基、MTT、DMSO),对照孔(细胞、相同浓度的药物溶解介质、培养液、MTT、DMSO)。

[0106] (7)根据测得的光密度值(OD值),来判断活细胞数量,OD值越大,细胞活性越强。

[0107] 计算化合物对肿瘤细胞生长的抑制率。对于在初筛浓度下抑制率超过50%的细胞株,进一步通过SPSS软件对五个浓度梯度的抑制率数据进行拟合,求出化合物对不同肿瘤株的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>值,单位μmol/L),化合物对于不同细胞株的IC<sub>50</sub>值如表1所示。

[0108] 表1:本发明所述化合物对5种细胞株的IC<sub>50</sub>值(μmol/L)

[0109]

	Hep G2	T-24	MGC-803	NCI-H460	HL-7702
[Cu(L)Cl <sub>2</sub> ]	3.76±0.17	3.23±0.12	3.8±0.11	3.15±0.14	1.68±0.09
配体 L	>20	>20	>20	>20	>20
顺铂	8.25±0.60	15.63±0.33	9.12±0.81	16.38±0.63	12.82±0.91

[0110] 从体外抗肿瘤活性测试结果来看,本发明所述配合物具有较强的抗肿瘤活性,其活性明显优于顺铂,有望开发成抗肿瘤药物。

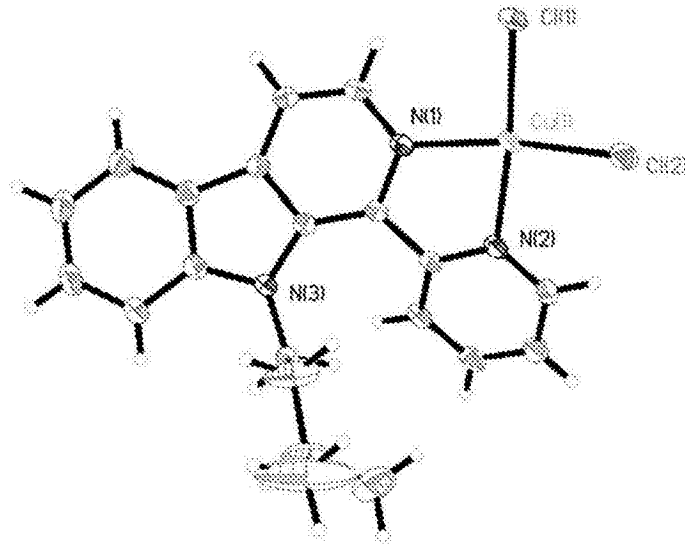


图1