



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104151250 A

(43) 申请公布日 2014. 11. 19

(21) 申请号 201410352911. 0

A61K 31/4184(2006. 01)

(22) 申请日 2014. 07. 22

A61P 35/00(2006. 01)

(71) 申请人 大连理工大学

地址 116024 辽宁省大连市高新园区凌工路
2 号

(72) 发明人 王世盛 管童伟 赵伟杰 郑晓红
王迪 刘思慧

(74) 专利代理机构 大连东方专利代理有限责任
公司 21212

代理人 赵淑梅 李馨

(51) Int. Cl.

C07D 235/18(2006. 01)

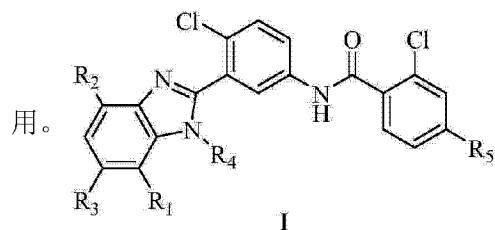
权利要求书2页 说明书15页

(54) 发明名称

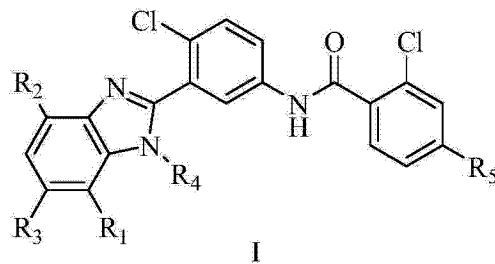
一类含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物
及其合成和应用

(57) 摘要

本发明涉及一类含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其合成和应用,属于化学医药领域,所述化合物具有如下通式 I :其中:R₁为氢、卤素、羟基、氨基、C₁~C₆烷基、C₁~C₆烷氧基、C₁~C₆酯基、C₁~C₆烷基胺基或C₁~C₆酰胺基;R₂为氢、卤素、羟基、氨基、C₁~C₆烷基、C₁~C₆烷氧基、C₁~C₆酯基、C₁~C₆烷基胺基或C₁~C₆酰胺基;R₃为氢、卤素、羟基、氨基、C₁~C₆烷基、C₁~C₆烷氧基、C₁~C₆酯基、C₁~C₆烷基胺基、C₁~C₆酰胺基、苯环或氮杂芳环;R₄为H或C₁~C₆烷基;R₅为甲砜基、硝基、三氟甲基或氰基,所述化合物及其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的应



1. 一类含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物,其特征在于:所述化合物具有如下通式 I:



其中:

R_1 为氢、卤素、羟基、氨基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基或 $C_1 \sim C_6$ 酰胺基;

R_2 为氢、卤素、羟基、氨基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基或 $C_1 \sim C_6$ 酰胺基;

R_3 为氢、卤素、羟基、氨基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基、 $C_1 \sim C_6$ 酰胺基、苯环或氮杂芳环;

R_1 、 R_2 和 R_3 可在所在的苯环上任意可能的位置;

R_4 为 H 或 $C_1 \sim C_6$ 烷基;

R_5 为甲磺基、硝基、三氟甲基或氰基。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征在于:所述 R_1 为氢、 $C_1 \sim C_6$ 烷基或 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基。

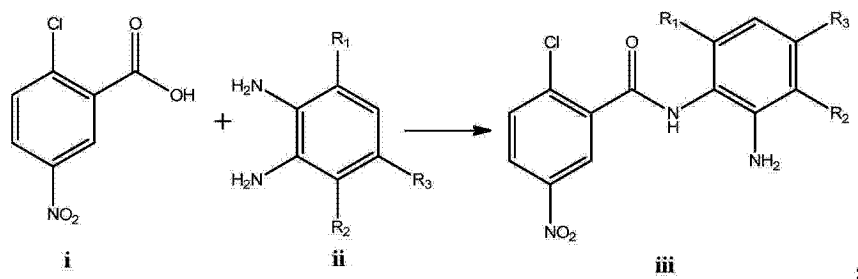
3. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征在于:所述 R_2 为氢、 $C_1 \sim C_6$ 烷基或 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征在于:所述 R_3 为氢、卤素、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基、苯环或氮杂芳环。

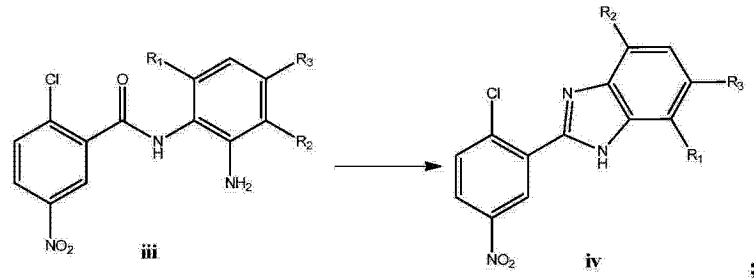
5. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征在于:所述 R_5 为甲磺基、硝基或氰基。

6. 如权利要求 1、2、3、4 或 5 所述的含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物的制备方法,其特征在于:所述制备方法包括如下步骤:

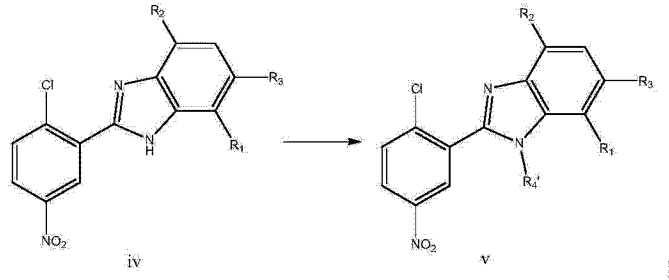
①将化合物 i 与化合物 ii 酰胺化得到化合物 iii,



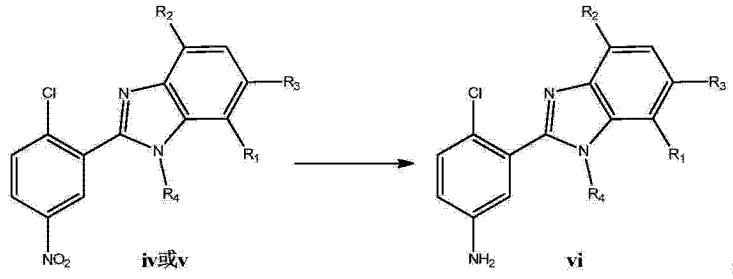
②将化合物 iii 环合得到化合物 iv,



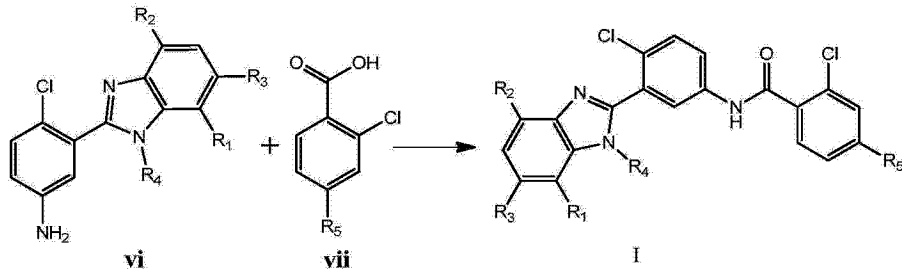
③将化合物iv烷基化得到化合物v,所述化合物v中的 R_4' 为 $C_1 \sim C_6$ 烷基,



④将化合物iv或化合物v还原得到化合物vi,



⑤将化合物vi与化合物vii酰胺化得到化合物I,



7. 如权利要求1、2、3、4或5所述的含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的应用。

8. 如权利要求1、2、3、4或5所述的含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其药学上可接受的盐在与药用辅料制备药物组合物中的应用。

一类含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其合成和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一类含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其合成和应用,属于化学医药领域。

背景技术

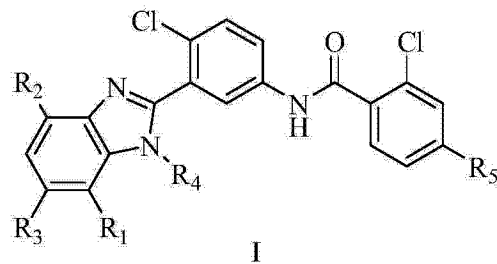
[0002] Hedgehog 信号通路不仅在胚胎的生长增殖等过程中有着至关重要的作用,而且在维持成人生理平衡也起着关键作用 (Taipale J,Varjosalo M.Hedgehog:functions and mechanisms. *Genes Dev.* 2008, 22, 2454. ;Jiang J,Hui CC.Hedgehog signaling in development and cancer. *Dev. Cell*, 2008, 15, 801.)。整个信号通路包括 Hedgehog 蛋白、Patched 蛋白、Smoothed (SMO) 蛋白以及下游的 Gli 转录因子等 (Ingham PW,McMahon AP.Hedgehog signaling in animal development:paradigms and principles. 2001.15(23):3059-3087.)。其中 SMO 蛋白抑制剂是最有临床应用前景的抗肿瘤药物。2012 年 1 月, Vismodegib (GDC-0449) 作为首个口服有效的 Hedgehog 信号通路抑制剂由 FDA 批准上市,用于不能手术或放疗的局部晚期皮肤基底细胞癌患者和肿瘤已转移的患者。但在临床应用中发现该药有很多的不足,如对局部晚期的基底细胞癌患者的治疗中,部分有效、肿瘤萎缩或消失的总和仅占总数的 43%,而在扩散型基底细胞癌的患者中这一比例就低至了 30%;该药在使用过程中,部分患者由于无法忍受副作用而放弃了尝试。一半的患者存在 1 或 2 级的味觉改变甚至味觉消失、中等程度 (占使用人数的 63.8%) 的脱发、71.7% 的患者出现肌肉痉挛等等; Vismodegib 也出现对骨骼生长的抑制,所以未成年人不能使用。Yauch RL 等研究证实,在实验中已观察到该药极易使肿瘤细胞产生耐药性 (Yauch RL,Dijkgraaf GJ,Alicke B,Januario T,Ahn CP,Holcomb T,et al. Smoothed mutation confers resistance to a Hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma. *Science* 2009, 326, 572.)。因此,开发新的小分子 SMO 抑制剂显得尤为重要。

发明内容

[0003] 本发明通过合成一类含苯并咪唑结构单元的二芳基酰胺类衍生物,找到了活性更好、毒性更低的抗肿瘤化合物。

[0004] 本发明提供了一类含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物,其特征在于:所述化合物具有如下通式 I:

[0005]



[0006] 其中：

[0007] R_1 为氢、卤素、羟基、氨基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基或 $C_1 \sim C_6$ 酰胺基；

[0008] R_2 为氢、卤素、羟基、氨基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基或 $C_1 \sim C_6$ 酰胺基；

[0009] R_3 为氢、卤素、羟基、氨基、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基、 $C_1 \sim C_6$ 酰胺基、苯环或氮杂芳环；

[0010] R_1 、 R_2 和 R_3 可在所在的苯环上任意可能的位置；

[0011] R_4 为 H 或 $C_1 \sim C_6$ 烷基；

[0012] R_5 为甲磺基、硝基、三氟甲基或氰基。

[0013] 本发明所述 R_1 优选为氢、 $C_1 \sim C_6$ 烷基或 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基，进一步优选为氢、 $C_1 \sim C_2$ 烷基、 $C_1 \sim C_2$ 烷氧基。

[0014] 本发明所述 R_2 优选为氢、 $C_1 \sim C_6$ 烷基或 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基，进一步优选为氢、 $C_1 \sim C_2$ 烷基、 $C_1 \sim C_2$ 烷氧基。

[0015] 本发明所述 R_3 优选为氢、卤素、 $C_1 \sim C_6$ 烷基、 $C_1 \sim C_6$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_6$ 酯基、 $C_1 \sim C_6$ 烷胺基、苯环或氮杂芳环，进一步优选为氢、F、Cl、Br、I、 $C_1 \sim C_3$ 烷基、 $C_1 \sim C_3$ 烷氧基、 $C_1 \sim C_3$ 酯基、 $C_1 \sim C_3$ 烷胺基、苯环或六元氮杂芳环。

[0016] 本发明所述 R_5 优选为甲磺基、硝基或氰基。

[0017] 本发明所述化合物优选为下列化合物及其药学上可接受的盐：

[0018] 2-氯-N-[4-氯-3-(1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-1)；

[0019] 2-氯-N-[4-氯-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-2)；

[0020] 2-氯-N-[4-氯-3-(4,7-二甲氧基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-3)；

[0021] 2-氯-N-[4-氯-3-(4,7-二甲氧基-1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-4)；

[0022] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲氧甲酰基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-5)；

[0023] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-二甲氨基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-6)；

[0024] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-7)；

[0025] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-溴-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺

(I -8) ;

[0026] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲氧乙氧基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I -9) ;

[0027] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-苯基-1H-苯并咪唑基-2-基)苯基]-4-甲磺基甲酰胺 (I -10) ;

[0028] 2-氯-N-{4-氯-3-[6-(吡啶-2-基)-1H-苯并咪唑基-2-基]苯基}-4-甲磺基苯甲酰胺 (I -11) ;

[0029] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲氧乙氧基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I -12) ;

[0030] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-溴-1H-苯并咪唑-2)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I -13) ;

[0031] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-二甲氨基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I -14) ;

[0032] 2-氯-N-[4-氯-3-(1H-苯并咪唑基-2-基)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I -15) ;

[0033] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-苯基-1H-苯并咪唑基-2-基)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I -16) ;

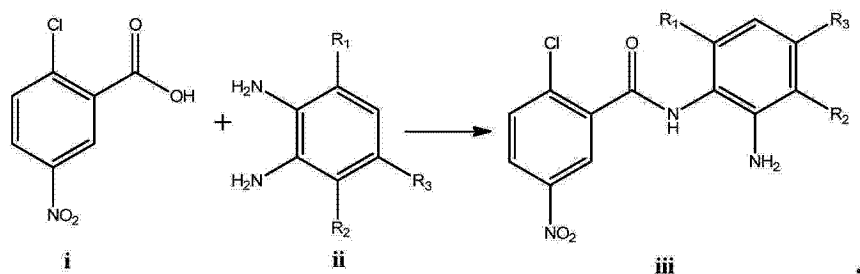
[0034] 2-氯-N-{4-氯-3-[6-(吡啶-2-基)-1H-苯并咪唑-2-基]苯基}-4-硝基苯甲酰胺 (I -17) ;

[0035] 2-氯-N-[4-氯-3-(1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-氰基苯甲酰胺 (I -18)。

[0036] 本发明的另一目的是提供上述含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物的制备方法,所述制备方法包括如下步骤:

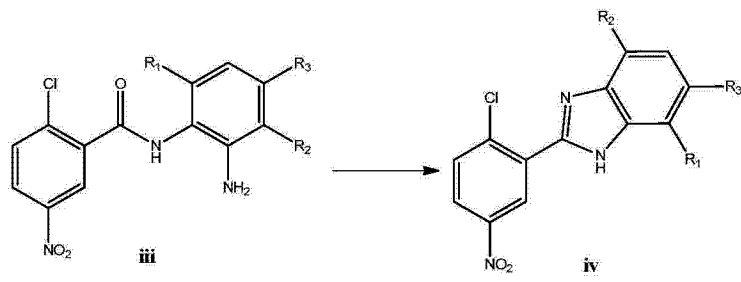
[0037] ①将化合物 i 与化合物 ii 酰胺化得到化合物 iii,

[0038]



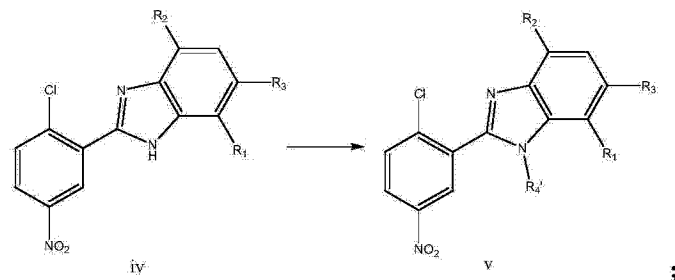
[0039] ②将化合物 iii 环合得到化合物 iv,

[0040]



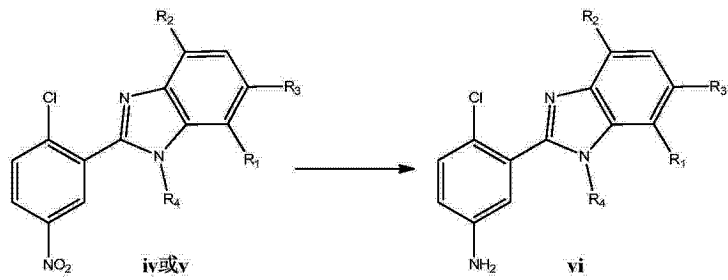
[0041] ③将化合物 iv 烷基化得到化合物 v, 所述化合物 v 中的 R₄' 为 C₁ ~ C₆ 烷基,

[0042]



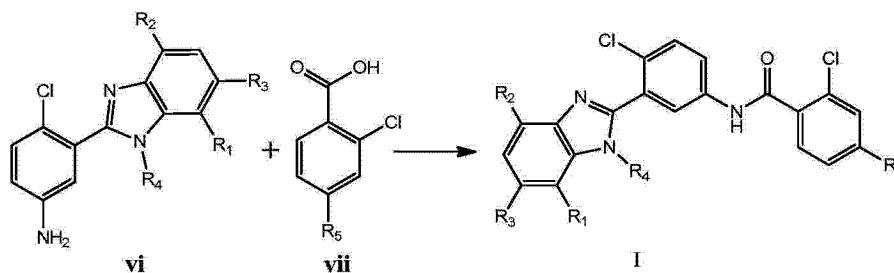
[0043] ④将化合物iv或化合物v还原得到化合物vi，

[0044]



[0045] ⑤将化合物vi与化合物vii酰胺化得到化合物I，

[0046]



[0047] 本发明的又一目的是提供上述含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其药学上可接受的盐在制备抗肿瘤药物中的应用。

[0048] 本发明的再一目的是提供上述含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物及其药学上可接受的盐在与药用辅料制备药物组合物中的应用。

[0049] 本发明所述含苯并咪唑基团的二芳基酰胺类化合物在体外抗肿瘤活性评价中对人胰腺癌 Aspc-1 细胞和人胃癌 Sgc-7901 细胞具有不同程度的抑制作用，其中部分化合物的抑制活性高于阳性对照药环巴胺，可作为活性成分用于抗肿瘤药物的制备。

具体实施方式

[0050] 下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明，但不以任何方式限制本发明。

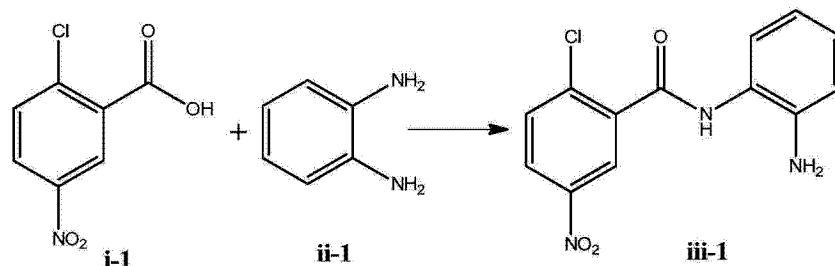
[0051] 实施例 1

[0052] 2-氯-N-[4-氯-3-(1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-1) 的合成

[0053] ①在 50mL 梨形瓶中加入 2.98mmol 化合物 i-1、2.98mmol 邻苯二胺 (化合物 ii-1)、3.28mmol HBTU、5.96mmol 三乙胺及 20mL THF，氮气保护下于室温搅拌 5h，将反应后溶液加入 40mL 水，CH₂Cl₂ 萃取三次，每次 30mL，合并有机相，30mL 水洗，30mL 饱和食盐水洗，

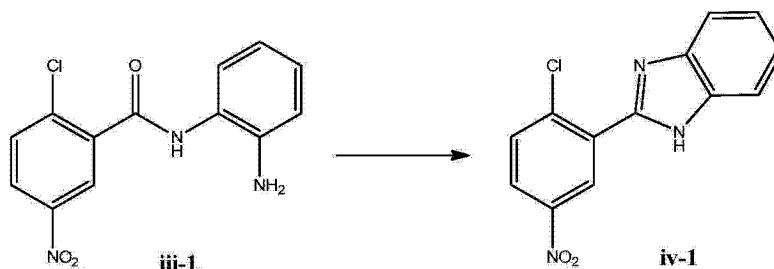
无水硫酸钠干燥,减压蒸馏得到粗品,粗品硅胶柱纯化,流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺=1:1:0.005,得到产物 714mg,产率 82%。ESI-MS: m/z 292.05[M+H]⁺。

[0054]



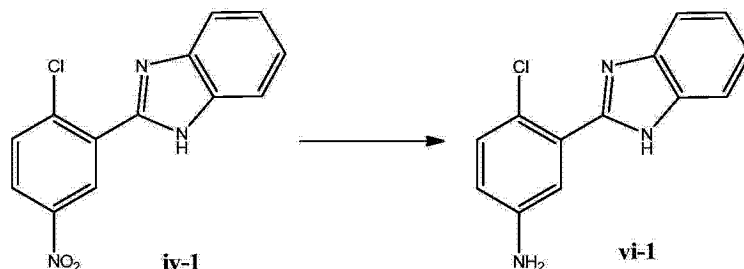
[0055] ②在 25mL 梨形瓶中加入 1.714mmol 步骤①所得的产物(化合物 iii-1)与 12mL H₂OAc, 130 °C 搅拌回流 3.5h, 减压蒸馏除去乙酸, 加入 20mL 水, CH₂Cl₂ 萃取三次, 每次 30mL, 合并有机相, 30mL 水洗, 30mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品硅胶柱纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺=1:1:0.005, 得到产物 410mg, 产率 87%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.36(2H, m), 7.67(1H, d, J = 8.4Hz), 7.72(2H, s), 8.20(1H, dd, J = 8.8Hz, 2.8Hz), 9.30(1H, d, J = 2.8Hz)。

[0056]



[0057] ③在 25mL 梨形瓶中加入 0.44mmol 步骤②所得的产物(化合物 iv-1)、3.55mmol 二水合二氯化锡、0.5mL 浓盐酸与 5mL 乙醇, 室温搅拌 4h, 用氢氧化钠饱和溶液调 pH = 12, EtOAc 萃取四次, 每次 30mL, 合并有机相, 水洗两次, 每次 50mL, 50mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品制备薄层层析纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺=1:1:0.01, 得到产物 71.8mg, 产率 82%。

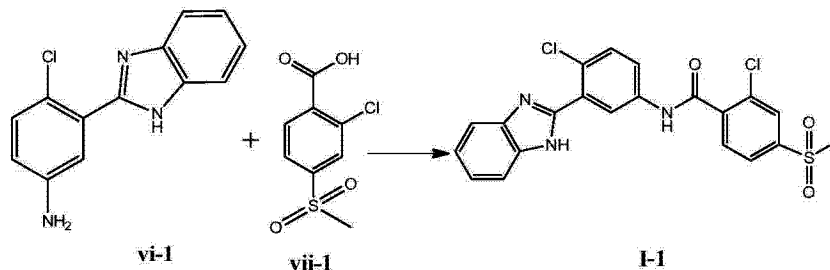
[0058]



[0059] ④在 50mL 梨形瓶中加入 2.98mmol 步骤③所得的产物(化合物 vi-1)、2.98mmol 2-氯-4-甲氨基苯甲酸(化合物 vii-1)、3.28mmol HBTU、5.96mmol 三乙胺及 20mL THF, 氮气保护下于室温搅拌 5h, 将反应后溶液加入 40mL 水, CH₂Cl₂ 萃取三次, 每次 30mL, 合并有机相, 30mL 水洗, 30mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品硅胶柱纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺=1:1:0.005,

得到化合物 I -1。¹H NMR(400MHz, MeOD) δ 8.16(1H, d, J = 2.8), 8.13(1H, d, J = 1.6Hz), 8.03(1H, dd, J = 1.6, 8.0Hz), 7.93(1H, dd, J = 2.4, 8.8Hz), 7.85(1H, d, J = 8.0Hz), 7.71(1H, s), 7.63(2H, d, J = 8.8Hz), 7.32-7.30(2H, m), 3.20(3H, s); ESI-MS: m/z 460.12[M+H]⁺.

[0060]

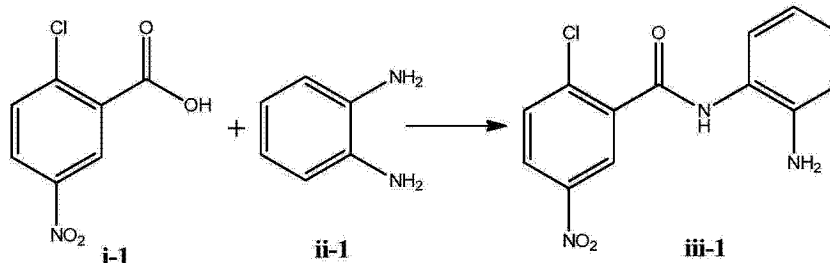


[0061] 实施例 2

[0062] 2-氯-N-[4-氯-3-(1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I -2) 的合成

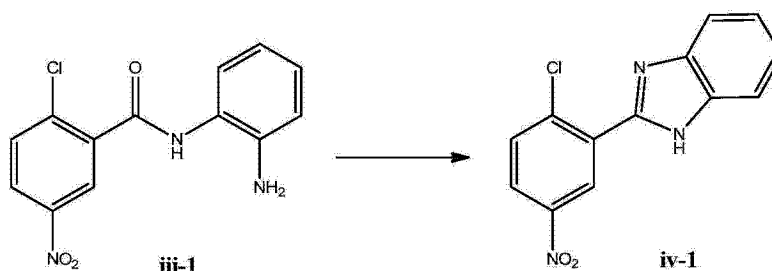
[0063] ①在 50mL 梨形瓶中加入 2.98mmol 化合物 i -1、2.98mmol 邻苯二胺 (化合物 ii -1)、3.28mmol HBTU、5.96mmol 三乙胺及 20mL THF, 氮气保护下于室温搅拌 5h, 将反应后溶液加入 40mL 水, CH₂Cl₂ 萃取三次, 每次 30mL, 合并有机相, 30mL 水洗, 30mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品硅胶柱纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺 = 1:1:0.005, 得到产物 714mg, 产率 82%。ESI-MS: m/z 292.05[M+H]⁺.

[0064]



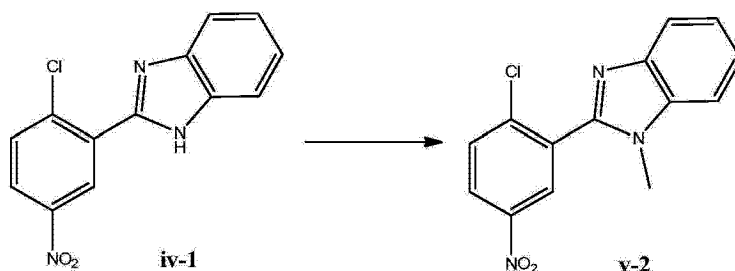
[0065] ②在 25mL 梨形瓶中加入 1.714mmol 步骤①所得的产物 (化合物 iii -1) 与 12mL HOAc, 130 °C 搅拌回流 3.5h, 减压蒸馏除去乙酸, 加入 20mL 水, CH₂Cl₂ 萃取三次, 每次 30mL, 合并有机相, 30mL 水洗, 30mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品硅胶柱纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺 = 1:1:0.005, 得到产物 410mg, 产率 87%。¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.36(2H, m), 7.67(1H, d, J = 8.4Hz), 7.72(2H, s), 8.20(1H, dd, J = 8.8Hz, 2.8Hz), 9.30(1H, d, J = 2.8Hz).

[0066]



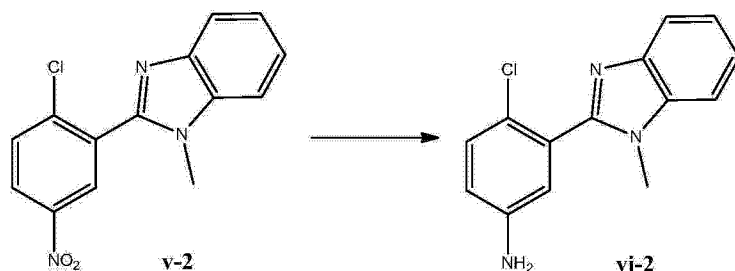
[0067] ③在 25mL 梨形瓶中加入 0.365mmol 步骤②所得的产物(化合物 iv-1)、6mL 50% 氢氧化钠溶液与 0.402mmol CH_3I , 室温搅拌 30min, 将反应后溶液加入 15mL 水, 甲苯萃取三次, 每次 20mL, 合并有机相, 30mL 水洗, 30mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品制备薄层层析纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺 = 2:1:0.01, 得到产物 82.1mg, 产率 78%。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 3.72(3H, s), 5.22(1H, s), 7.42(3H, m), 8.74(1H, d, $J = 8.8\text{Hz}$), 7.85(1H, dd, $J = 6.8\text{Hz}, 1.2\text{Hz}$), 8.34(1H, dd, $J = 8.8\text{Hz}, 2.8\text{Hz}$), 8.50(1H, d, $J = 2.8\text{Hz}$).

[0068]



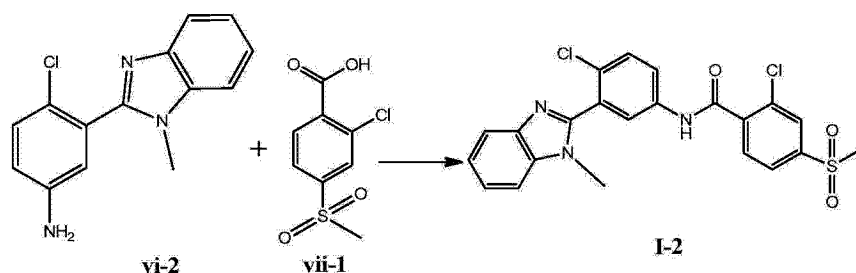
[0069] ④在 25mL 梨形瓶中加入 0.44mmol 步骤③所得的产物(化合物 v-2)、3.55mmol 二水合二氯化锡、0.5mL 浓盐酸与 5mL 乙醇, 室温搅拌 4h, 用氢氧化钠饱和溶液调 $\text{pH} = 12$, EtOAc 萃取四次, 每次 30mL, 合并有机相, 水洗两次, 每次 50mL, 50mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品制备薄层层析纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺 = 1:1:0.01, 得到产品 71.8mg, 产率 82%。

[0070]



[0071] ⑤在 50mL 梨形瓶中加入 2.98mmol 步骤④所得的产物(化合物 vi-2)、2.98mmol 2-氯-4-甲磺基苯甲酸(化合物 vii-1)、3.28mmol HBTU、5.96mmol 三乙胺及 20mL THF, 氮气保护下于室温搅拌 5h, 将反应后溶液加入 40mL 水, CH_2Cl_2 萃取三次, 每次 30mL, 合并有机相, 30mL 水洗, 30mL 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏得到粗品, 粗品硅胶柱纯化, 流动相为石油醚:乙酸乙酯:三乙胺 = 1:1:0.005, 得到化合物 I-2。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 12.16(1H, s), 8.44(1H, dd, $J = 8.9, 2.6\text{Hz}$), 7.71(2H, dd, $J = 13.1, 2.1\text{Hz}$), 7.57-7.50(2H, m), 7.43(1H, dd, $J = 8.0, 1.7\text{Hz}$), 7.29(1H, t, $J = 4.6\text{Hz}$), 7.26-7.20(2H, m), 7.16-7.10(1H, m), 3.65(3H, s), 2.57(3H, s); m/z : 474.04 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0072]



[0073] 实施例 3

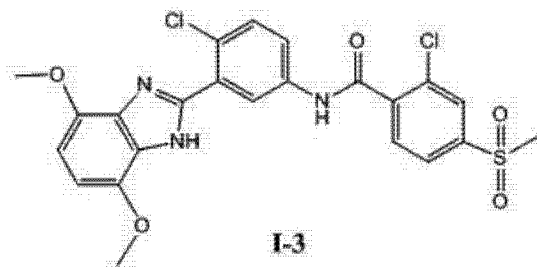
[0074] 2-氯-N-[4-氯-3-(4,7-二甲氧基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-3) 的合成

[0075] 与实施例 1 的区别为：

[0076] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 3,6-二甲氧基邻苯二胺；

[0077] 化合物 I-3。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 10.90 (1H, s), 8.66-8.53 (2H, m), 7.61-7.52 (2H, m), 7.31 (1H, d, $J = 7.9\text{Hz}$), 7.18 (1H, d, $J = 7.9\text{Hz}$), 6.45 (2H, s), 3.84 (6H, s), 2.89 (3H, s); ESI-MS: m/z 520.03 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0078]



[0079] 实施例 4

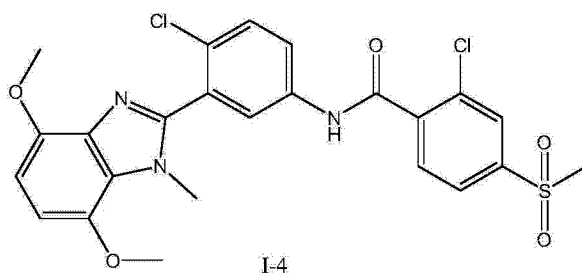
[0080] 2-氯-N-[4-氯-3-(4,7-二甲氧基-1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-4) 的合成

[0081] 与实施例 2 的区别为：

[0082] 将实施例 2 中步骤①的邻苯二胺替换为 3,6-二甲氧基邻苯二胺；

[0083] 化合物 I-4。 $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 11.87 (1H, s), 8.50 (1H, dd, $J = 8.9, 2.5\text{Hz}$), 7.76 (2H, dd, $J = 8.1, 2.1\text{Hz}$), 7.52 (1H, d, $J = 8.9\text{Hz}$), 7.42 (1H, d, $J = 8.0\text{Hz}$), 7.23 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7\text{Hz}$), 6.46 (1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$), 6.27 (1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$), 3.87 (3H, s), 3.85 (3H, s), 3.68 (3H, s), 2.72 (3H, s); ESI-MS: m/z 534.08 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[0084]



[0085] 实施例 5

[0086] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲氧基-1-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺

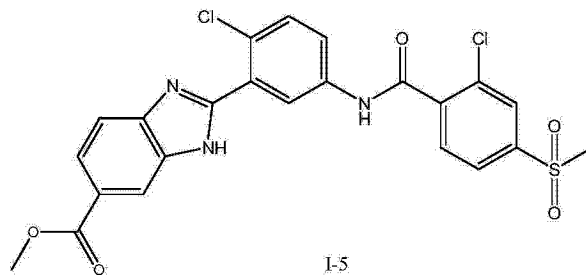
酰胺 (I -5) 的合成

[0087] 与实施例 1 的区别为：

[0088] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 3,4-二氨基苯甲酸甲酯；

[0089] 化合物 I -5。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 11.09 (1H, s), 8.39 (1H, dd, J = 21.4, 2.4Hz), 8.27 (1H, d, J = 39.5Hz), 8.15 (1H, d, J = 1.6Hz), 8.02 (1H, dd, J = 8.0, 1.6Hz), 7.94 (2H, d, J = 8.0Hz), 7.88 - 7.79 (2H, m), 7.70 (2H, d, J = 8.9Hz), 3.88 (3H, s), 3.36 (3H, s).

[0090]



[0091] 实施例 6

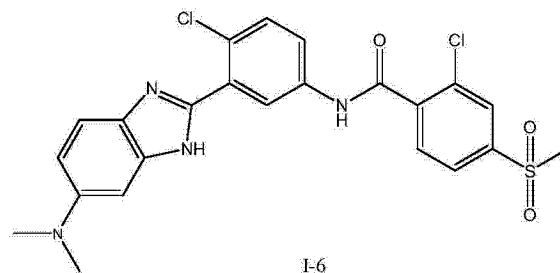
[0092] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-二甲氨基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I -6) 的合成

[0093] 与实施例 1 的区别为：

[0094] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 4-二甲氨基邻苯二胺；

[0095] 化合物 I -6。¹H NMR(400MHz, MeOD) δ 8.14 (t, J = 3.5Hz, 1H), 8.10 (d, J = 1.6Hz, 1H), 7.98 (dd, J = 8.0, 1.7Hz, 1H), 7.89 (dd, J = 8.8, 2.6Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.51 (d, J = 9.6Hz, 1H), 7.01 - 6.90 (m, 2H), 3.19 (s, 3H), 2.96 (s, 6H).

[0096]



[0097] 实施例 7

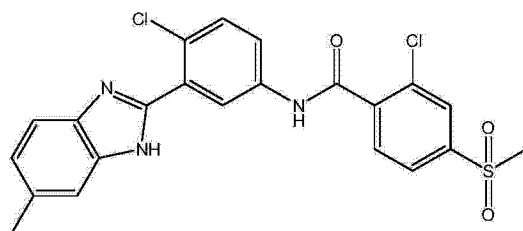
[0098] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I -7) 的合成

[0099] 与实施例 1 的区别为：

[0100] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 4-甲基邻苯二胺；

[0101] 化合物 I -7。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 11.02 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.01 (dd, J = 8.0, 1.7Hz, 1H), 7.94 (dd, J = 8.8, 2.4Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.0Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.8Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 3.36 (s, 3H), 2.44 (s, 3H).

[0102]



I-7

[0103] 实施例 8

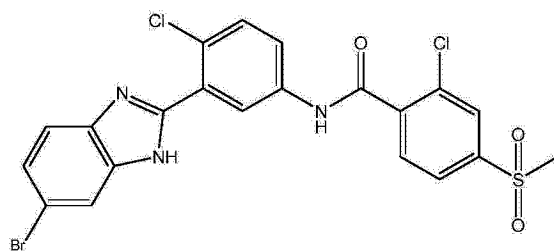
[0104] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-溴-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-8) 的合成

[0105] 与实施例 1 的区别为:

[0106] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 4-溴邻苯二胺;

[0107] 化合物 I-8。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 10.21(s, 1H), 7.56(s, 1H), 7.32(d, J = 1.5Hz, 1H), 7.20(dd, J = 8.0, 1.6Hz, 1H), 7.11(d, J = 7.9Hz, 1H), 7.04 - 6.69(m, 3H), 6.62 - 6.50(m, 1H), 2.53(s, 3H).

[0108]



I-8

[0109] 实施例 9

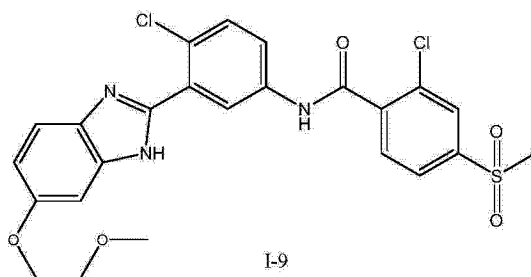
[0110] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-甲氧乙氧基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-甲磺基苯甲酰胺 (I-9) 的合成

[0111] 与实施例 1 的区别为:

[0112] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 4-(2'-甲氧基)乙氧基邻苯二胺;

[0113] 化合物 I-9。ESI-MS:m/z534.08[M+H]⁺.

[0114]



I-9

[0115] 实施例 10

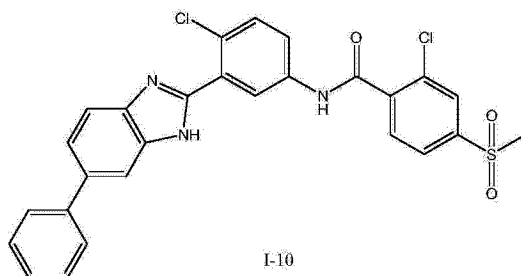
[0116] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-苯基-1H-苯并咪唑基-2-基)苯基]-4-甲磺基甲酰胺 (I-10) 的合成

[0117] 与实施例 1 的区别为:

[0118] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 4- 苯基邻苯二胺；

[0119] 化合物 I -10。ESI-MS:m/z536.05[M+H]⁺。

[0120]



[0121] 实施例 11

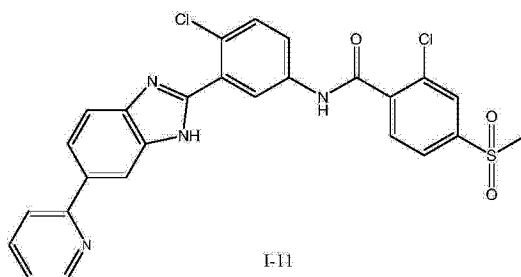
[0122] 2- 氯 -N- {4- 氯 -3- [6- (吡啶 -2- 基) -1H- 苯并咪唑基 -2- 基] 苯基} -4- 甲磺基苯甲酰胺 (I -11) 的合成

[0123] 与实施例 1 的区别为：

[0124] 将实施例 1 中步骤①的邻苯二胺替换为 4-(吡啶 -2- 基) - 邻苯二胺；

[0125] 化合物 I -11。ESI-MS:m/z537.06[M+H]⁺。

[0126]



[0127] 实施例 12

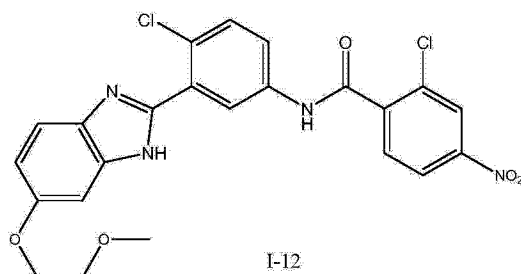
[0128] 2- 氯 -N- [4- 氯 -3- (6- 甲氧乙氧基 -1H- 苯并咪唑 -2- 基) 苯基] -4- 硝基苯甲酰胺 (I -12) 的合成

[0129] 与实施例 9 的区别为：

[0130] 将实施例 9 中步骤④的 2- 氯 -4- 甲磺基苯甲酸替换为 2- 氯 -4- 硝基苯甲酸；

[0131] 得到化合物 I -12。ESI-MS:m/z501.10[M+H]⁺。

[0132]



[0133] 实施例 13

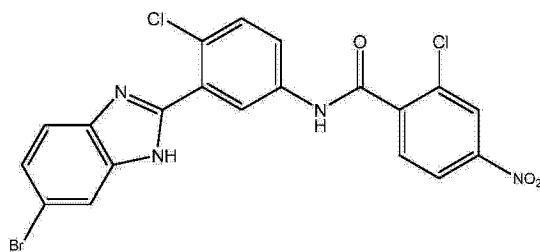
[0134] 2- 氯 -N- [4- 氯 -3- (6- 溴 -1H- 苯并咪唑 -2) 苯基] -4- 硝基苯甲酰胺 (I -13) 的合成

[0135] 与实施例 8 的区别为：

[0136] 将实施例 8 中步骤④的 2-氯-4-甲磺基苯甲酸替换为 2-氯-4-硝基苯甲酸；

[0137] 化合物 I-13。¹H NMR(400MHz, MeOD) δ 8.41(d, J = 2.1Hz, 1H), 8.29(dd, J = 8.4, 2.2Hz, 1H), 8.20(d, J = 2.6Hz, 1H), 7.91(dd, J = 8.8, 2.6Hz, 1H), 7.84(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.82(s, 1H), 7.63(d, J = 8.8Hz, 1H), 7.58(d, J = 8.6Hz, 1H), 7.43(dd, J = 8.6, 1.8Hz, 1H).

[0138]



I-13

[0139] 实施例 14

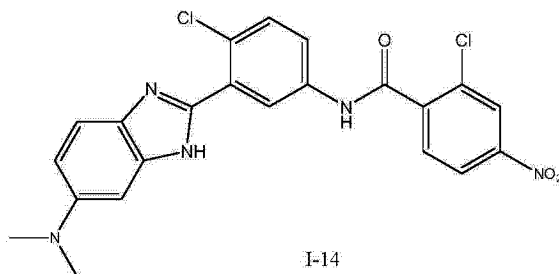
[0140] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-二甲氨基-1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I-14) 的合成

[0141] 与实施例 6 的区别为：

[0142] 将实施例 6 中步骤④的 2-氯-4-甲磺基苯甲酸替换为 2-氯-4-硝基苯甲酸；

[0143] 化合物 I-14。¹H NMR(400MHz, MeOD) δ 8.41(d, J = 2.1Hz, 1H), 8.13(d, J = 2.7Hz, 1H), 8.02(d, J = 8.6Hz, 1H), 7.90(dd, J = 8.8, 2.6Hz, 1H), 7.84(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.60(d, J = 8.8Hz, 1H), 6.99-6.94(m, 2H), 2.97(s, 6H).

[0144]



I-14

[0145] 实施例 15

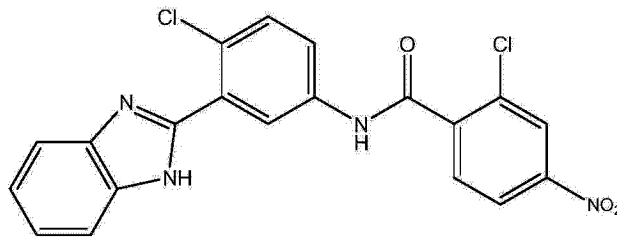
[0146] 2-氯-N-[4-氯-3-(1H-苯并咪唑基)-2-基]苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I-15) 合成

[0147] 与实施例 1 的区别为：

[0148] 将实施例 1 中步骤④的 2-氯-4-甲磺基苯甲酸替换为 2-氯-4-硝基苯甲酸；

[0149] 化合物 I-15。¹H NMR(400MHz, MeOD) δ 8.41(d, J = 2.1Hz, 1H), 8.29(dd, J = 8.4, 2.2Hz, 1H), 8.16(d, J = 2.6Hz, 1H), 7.91(dd, J = 8.8, 2.7Hz, 1H), 7.84(d, J = 8.4Hz, 1H), 7.62(d, J = 8.8Hz, 4H), 7.30(dd, J = 6.1, 3.2Hz, 2H).

[0150]



I-15

[0151] 实施例 16

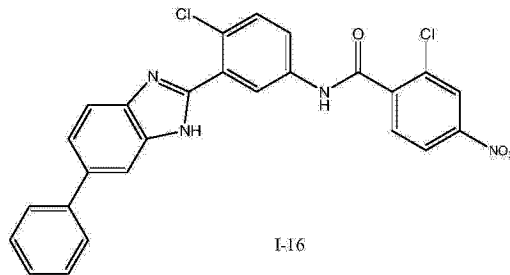
[0152] 2-氯-N-[4-氯-3-(6-苯基-1H-苯并咪唑基-2-基)苯基]-4-硝基苯甲酰胺 (I-16) 的合成

[0153] 与实施例 10 的区别为：

[0154] 将实施例 10 中步骤④的 2-氯-4-甲磺基苯甲酸替换为 2-氯-4-硝基苯甲酸；

[0155] 化合物 I-16。ESI-MS: m/z 503.07 [M+H]⁺。

[0156]



I-16

[0157] 实施例 17

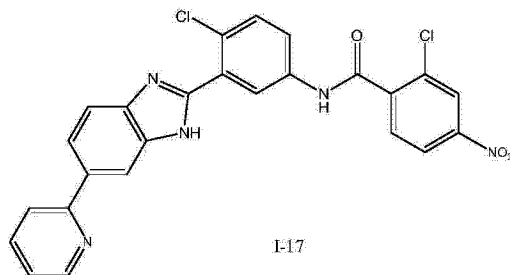
[0158] 2-氯-N-{4-氯-3-[6-(吡啶-2-基)-1H-苯并咪唑-2-基]苯基}-4-硝基苯甲酰胺 (I-17) 的合成

[0159] 与实施例 11 的区别为：

[0160] 将实施例 11 中步骤④的 2-氯-4-甲磺基苯甲酸替换为 2-氯-4-硝基苯甲酸；

[0161] 化合物 I-17。ESI-MS: m/z 504.07 [M+H]⁺。

[0162]



I-17

[0163] 实施例 18

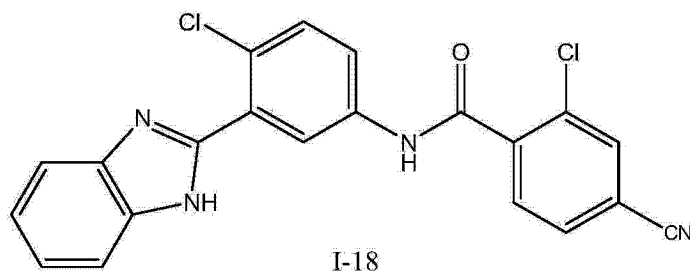
[0164] 2-氯-N-[4-氯-3-(1H-苯并咪唑-2-基)苯基]-4-氰基苯甲酰胺 (I-18) 的合成

[0165] 与实施例 1 的区别为：

[0166] 将实施例 1 中步骤④的 2-氯-4-甲磺基苯甲酸替换为 2-氯-4-氰基苯甲酸；

[0167] 得到化合物 I-18。ESI-MS: m/z 407.06 [M+H]⁺。

[0168]



[0169] 应用例 1

[0170] 体外抗癌活性评价：

[0171] ①将化合物 I -1 ~ I -18、阳性对照药环巴胺用 DMSO 溶解，-4℃ 保存；使用时，用细胞培养液稀释至 DMSO 的最终浓度 < 0.1%。

[0172] ②培养肿瘤细胞：人胰腺癌细胞株 Aspc-1 和人胃癌细胞株 Sgc-7901，分别培养在含有 10% 胎牛血清、100 μg/mL 链霉素和 100U/mL 青霉素的 DMEM 培养液中，37℃、5% CO₂、饱和湿度条件下培养。细胞单层贴壁生长，至 70 ~ 80% 融合时胰蛋白酶消化传代。

[0173] ③接种细胞：分别取对数生长期的 Aspc-1 和 Sgc-7901 细胞，用 0.25% 胰蛋白酶消化液消化 1 ~ 3min，然后用含胎牛血清的 DMEM 培养液制成单细胞悬浮液接种于 96 孔培养板中，每孔 3000 个细胞 (Aspc-1 为每孔 5000 个细胞)，体积为 100 μL (边缘孔用无菌 PBS 填充)。

[0174] ④细胞培养：5% CO₂，37℃ 孵育，培养 24h，用倒置显微镜观察，细胞贴壁生长，生长状态正常。

[0175] ⑤加入检测样品：取受试样品母液，用含胎牛血清的 DMEM 培养液分别稀释成 100 μmol/L、80 μmol/L、50 μmol/L、30 μmol/L、10 μmol/L、1 μmol/L 六个浓度。设置空白组 (含培养液，无细胞)、对照组 (培养细胞不加药)。每孔体积 100 μL。

[0176] ⑥染色：分别培养 48h、72h 后每孔加入 MTT (5mg/mL，PBS 配制)。孵育 4h 后，终止。吸净孔内上清液，每孔加入 DMSO 100 μL，溶解结晶物。

[0177] ⑦比色：在酶标仪上选择 570nm 波长，振荡 10min，测 A₅₇₀ 值。

[0178] ⑧计算 IC₅₀：细胞生长抑制率 (IR) = (1 - 实验组平均 OD 值 / 对照组平均 OD 值) × 100。统计分析采用 SPSS13.0。T 检验分析不同组间的差异 P < 0.05 视为差异显著，用 SPSS13.0 进行 IC₅₀ 计算。结果见表 1。

[0179] 表 1 目标化合物对 Aspc-1 和 Sgc-7901 细胞的体外抑制作用

[0180]

	SGC-7901			ASPC-1		
	抑制率/% (100 μ mol/L)	IC ₅₀ (48h)	IC ₅₀ (72h)	抑制率/% (100 μ mol/L)	IC ₅₀ (48h)	IC ₅₀ (72h)
I -1	68.9	44.48 \pm 2.31	23.40 \pm 8.67	79.8	49.61 \pm 0.92	45.46 \pm 4.11
I -2	0.4	>100	>100	24.7	>100	>100
I -3	16	>100	>100	17.9	>100	>100
I -4	18.7	>100	>100	24.2	>100	>100
I -5	70	39.42 \pm 2.66	21.30 \pm 4.80	71.2	37.67 \pm 0.53	29.41 \pm 4.43
I -6	84.2	22.46 \pm 5.61	16.35 \pm 7.21	87.7	33.50 \pm 2.61	18.90 \pm 5.63

[0181]

I -7	79.3	42.67 \pm 7.37	21.60 \pm 0.58	80.7	46.33 \pm 1.12	37.44 \pm 1.11
I -8	77.8	46.74 \pm 3.82	24.65 \pm 3.90	82.7	44.96 \pm 1.35	28.86 \pm 1.91
I -9	88.9	21.09 \pm 0.76	17.02 \pm 2.59	86.7	26.63 \pm 1.29	16.37 \pm 1.08
I -10	68.9	45.78 \pm 7.81	28.43 \pm 8.67	69.9	51.65 \pm 6.72	31.49 \pm 4.81
I -11	80.3	35.36 \pm 5.78	19.43 \pm 2.64	78.9	40.66 \pm 2.70	17.47 \pm 8.36
I -12	69.9	51.34 \pm 6.77	39.27 \pm 7.71	58.5	54.62 \pm 1.78	46.82 \pm 5.15
I -13	55.1	52.46 \pm 4.64	36.33 \pm 9.27	58.7	63.50 \pm 6.61	48.90 \pm 6.87
I -14	69.3	47.12 \pm 8.32	22.62 \pm 3.28	65.7	50.03 \pm 4.00	47.94 \pm 8.71
I -15	66.1	44.21 \pm 1.72	36.62 \pm 7.64	62.7	34.90 \pm 0.34	30.26 \pm 5.01
I -16	72.2	36.02 \pm 2.75	28.05 \pm 3.78	76.5	33.61 \pm 8.51	26.33 \pm 4.58
I -17	71.5	32.75 \pm 8.83	21.42 \pm 5.23	69.1	31.45 \pm 0.62	21.09 \pm 8.05
I -18	60.2	65.06 \pm 4.57	59.67 \pm 9.40	59.0	71.60 \pm 8.71	47.07 \pm 5.01
环巴胺	92.9	52.47 \pm 0.69	50.39 \pm 0.92	95.7	53.55 \pm 0.55	58.55 \pm 0.23