



# (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110194740 B

(45) 授权公告日 2022.06.17

(21) 申请号 201910610686.9

(22) 申请日 2019.07.08

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 110194740 A

(43) 申请公布日 2019.09.03

(73) 专利权人 桂林医学院  
地址 541004 广西壮族自治区桂林市七星  
区环城北二路109号

(72) 发明人 韦健华 张业 梁贵宾 黄日镇  
马献力

(74) 专利代理机构 桂林市持衡专利商标事务所  
有限公司 45107  
专利代理师 唐智芳

(51) Int. Cl.  
C07D 221/14 (2006.01)  
C07D 405/06 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 31/496 (2006.01)

(56) 对比文件  
US 6177423 B1, 2001.01.23  
US 20060182751 A1, 2006.08.17  
CN 108147995 A, 2018.06.12  
CN 103342698 A, 2013.10.09  
CN 104072478 A, 2014.10.01  
熊剑. 哌嗪及其衍生物的应用.《江西化学》

.2004, (第2期), 第29-30页.  
张跃华等. 1,8-萘酰亚胺荧光单体的合成、  
表征与荧光性质.《精细石油化工》.2008, 第25卷  
(第5期), 第60-64页.

张业等. 含噻二唑杂环的1,8-萘酰亚胺衍生  
物的合成与表征.《化学试剂》.2008, 第30卷(第3  
期), 第211-212页.

Aibin Wu等. Derivatives of 5-nitro-1H-  
benzo[de]isoquinoline-1,3(2H)-dione:  
design, synthesis, and biological  
activity.《Monatsh Chem》.2010, 第95-99页.

张业等. N-对苯甲酸基-1,8-萘酰亚胺的合  
成及金属离子识别作用研究.《化学试剂》.2011,  
第54-56页.

张业等. 超声波辅助下合成一些1,8-萘酰亚  
胺衍生物.《有机化学》.2011, 第31卷(第4期), 第  
557-562页.

张业等. 含脱氢松香骨架的1,8-萘酰亚胺衍  
生物的合成及其对阴离子的识别.《有机化学》  
.2011, 第31卷(第2期), 第197-202页.

罗稳等. 萘酰亚胺多胺衍生物的合成及其抗  
肿瘤活性.《应用化学》.2013, 第30卷(第3期), 第  
265-270页. (续)

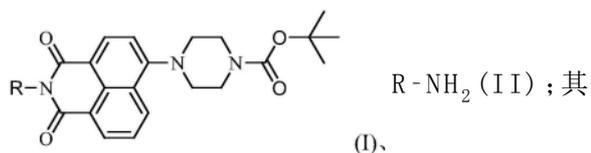
审查员 蒋维

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称  
4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物及  
其合成方法和应用

(57) 摘要  
本发明公开了一类4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-  
萘酰亚胺衍生物及其合成方法和应用。该衍生物  
的结构如下述式(I)所示,其合成方法主要包括  
以下步骤:1)取叔丁氧羰基哌嗪和4-溴-1,8-萘  
酰置于有机溶剂中在加热条件下进行反应,得到  
中间产物;2)取中间产物和式(II)所示化合物置  
于有机溶剂中在加热条件下进行反应,即得目标

化合物。本发明所述衍生物中的某些衍生物与氨  
萘菲特相比活性更高;



中,R为(3,4-亚甲二氧基)苯乙基、N,N-二甲基乙  
基、羟乙基、N-甲基乙基或N-甲基丙基。

CN 110194740 B

[接上页]

(56) 对比文件

Hyewon Seo等.Ground-State Elevation Approach To Suppress Side Reactions in Gold-Sensing Systems Based on Alkyne Activation.《Organic Letters》.2014,第1374-1377页.

Shi-Xian Hua等.Design, synthesis and in vitro evaluation of novel ursolic acid derivatives as potential anticancer agents.《European Journal of Medicinal Chemistry》.2015,第435-452页.

Altan Bolag等.Dipolar Photosystems: Engineering Oriented Push-Pull Components into Double- and Triple-Channel Surface Architectures.《Chem. Eur. J.》.2016,第9006-9014页.

胡晓琳.1,8-萘酰亚胺类衍生物靶向DNA及抗肿瘤活性研究.《浙江化工》.2018,第49卷(第7期),第16-19页.

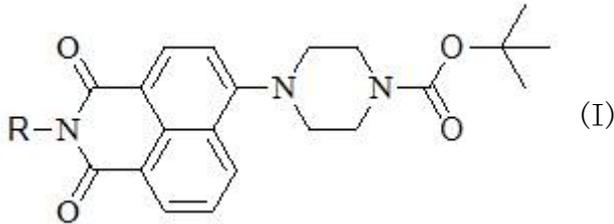
Gui-Bin Liang等.Design, synthesis and antitumor evaluation of new 1,8-naphthalimide derivatives targeting nuclear DNA.《European Journal of Medicinal Chemistry》.2020,第1-13页.

梁贵宾.新型萘酰亚胺衍生物的设计、合成及抗肿瘤作用研究.《中国优秀博硕士学位论文全文数据库(硕士) 工程科技I辑》.2021,第B016-780页.

Mao Xin等.Design, synthesis and biological evaluation of 3-nitro-1,8-naphthalimides as potential antitumor agents.《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》.2020,第1-6页.

Lizhou Yue等.A fluorogenic probe for detecting CO with the potential integration of diagnosis and therapy (IDT) for cancer.《Sensors and Actuators: B. Chemical》.2021,第1-10页.

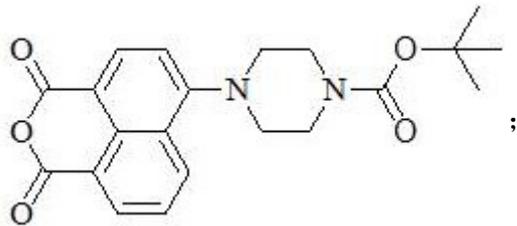
1. 下述式 (I) 所示化合物或其药学上可接受的盐:



其中,R为(3,4-亚甲基二氧基)苄基、羟乙基或N-甲基氨基乙基。

2. 权利要求1所述化合物的合成方法,其特征在于:主要包括以下步骤:

1) 取叔丁氧羰基哌嗪和4-溴-1,8-萘醌置于有机溶剂中,于加热条件下进行反应,反应物冷却,收集沉淀,得到中间产物;所述中间产物的结构如下式所示:



2) 取中间产物和式 (II) 所示化合物置于有机溶剂中,于加热条件下进行反应,反应物冷却,收集沉淀,即得到目标化合物;

$R-NH_2$  (II);

其中,R为(3,4-亚甲基二氧基)苄基、羟乙基或N-甲基氨基乙基。

3. 根据权利要求2所述的合成方法,其特征在于:所述的有机溶剂为醇类溶剂和/或非质子性溶剂。

4. 根据权利要求3所述的合成方法,其特征在于:所述的醇类溶剂为选自甲醇、乙醇、丙醇和正丁醇中的一种或两种以上的组合。

5. 根据权利要求3所述的合成方法,其特征在于:所述的非质子性溶剂为选自乙二醇甲醚、N,N-二甲基甲酰胺、二甲基亚砜、甲苯、四氯化碳和丙酮中的一种或两种以上的组合。

6. 根据权利要求2所述的合成方法,其特征在于:步骤1)中,反应在 $\leq 120^\circ C$ 条件下进行;步骤2)中,反应在 $\leq 100^\circ C$ 条件下进行。

7. 根据权利要求2所述的合成方法,其特征在于:步骤1)中,所得中间产物进行纯化后再用于后续操作。

8. 根据权利要求2所述的合成方法,其特征在于:还包括对所得目标化合物进行纯化的步骤。

9. 权利要求1所述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。

10. 一种药物组合物,含有治疗上有效剂量的权利要求1所述化合物或其药学上可接受的盐。

## 4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物及其合成方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物及其合成方法和应用,属于医药技术领域。

### 背景技术

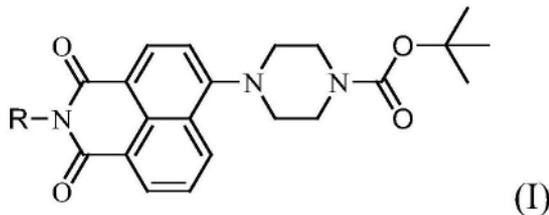
[0002] 已有的研究表明,1,8-萘酰亚胺衍生物具有重要的抗肿瘤活性,其衍生物氨萘菲特(amonafide)和米托萘胺(mitonafide)已进入II期临床试验阶段,因此基于1,8-萘酰亚胺结构筛选高效的抗肿瘤化合物是可行的。因此,我们期望基于1,8-萘酰亚胺结构合成得到具有显著生物活性的新型1,8-萘酰亚胺类化合物。目前尚未见有在4位上引入功能性基团叔丁氧羰基哌嗪制备4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物的公开报道。

### 发明内容

[0003] 本发明要解决的技术问题是提供一类结构新颖且具有较好的生物活性的4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物及其合成方法和应用。

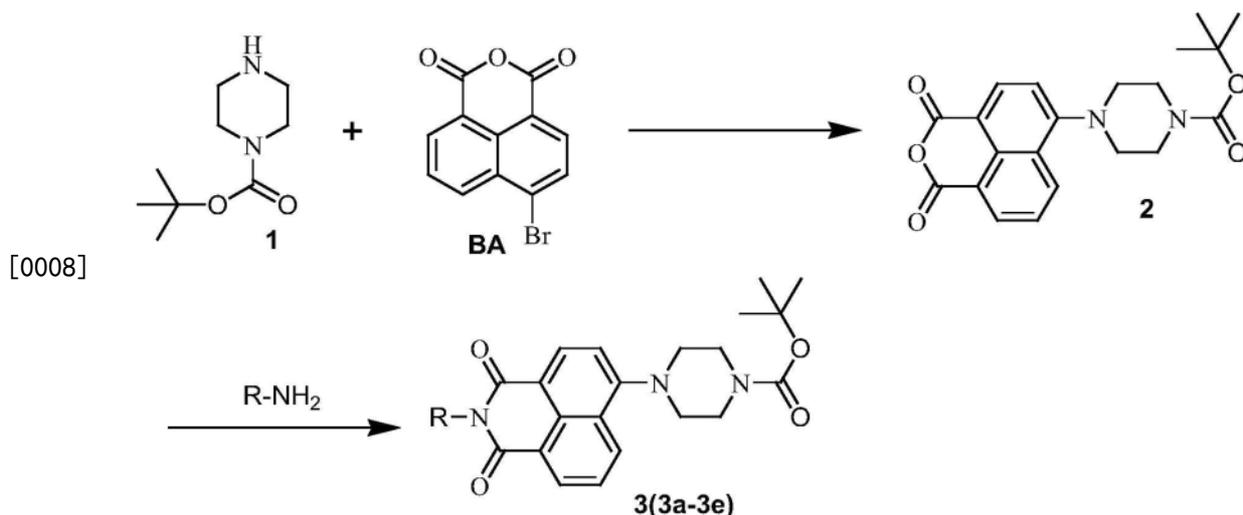
[0004] 本发明所述的4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物具有如下述式(I)所示结构:

[0005]



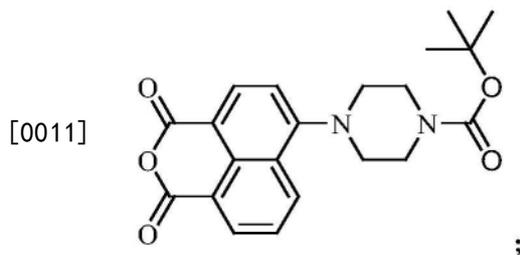
[0006] 其中,R为(3,4-亚甲二氧基)苯乙基、N,N-二甲基乙基、羟乙基、N-甲基乙基或N-甲基丙基。

[0007] 本发明所述4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物按下述路线进行合成(R如前所述):



[0009] 具体的合成方法主要包括以下步骤：

[0010] 1) 取叔丁氧羰基哌嗪(在本申请中也称化合物1)和4-溴-1,8-萘醌(在本申请中也称BA)置于有机溶剂中,于加热条件下进行反应,反应物冷却,收集沉淀,得到中间产物(在本申请中也称化合物2);所述中间产物的结构如下式所示：



[0012] 2) 取中间产物和式(II)所示化合物置于有机溶剂中,于加热条件下进行反应,反应物冷却,收集沉淀,即得到目标化合物(在本申请中对应于3a-3e共5个化合物)；

[0013] R-NH<sub>2</sub> (II)；

[0014] 其中,R为(3,4-亚甲二氧基)苯乙基、N,N-二甲基乙基、羟乙基、N-甲基乙基或N-甲基丙基。

[0015] 本发明所述的合成方法中,所述的有机溶剂为醇类溶剂和/或非质子性溶剂,其中,所述的醇类溶剂具体可以是选自甲醇、乙醇、丙醇和正丁醇中的一种或两种以上的组合;所述的非质子性溶剂具体可以是选自乙二醇甲醚、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基亚砜(DMSO)、甲苯、四氯化碳和丙酮中的一种或两种以上的组合。所述有机溶剂的用量可根据需要确定,通常情况下,以1mmol的4-溴-1,8-萘醌为基准,所有反应原料用25-50mL的有机溶剂来溶解。当有机溶剂的加入量较大时,反应完全后优选先回收部分有机溶剂后(通常是除去占加入量40-50%的有机溶剂)再将反应物冷却。

[0016] 本发明所述的合成方法的步骤1)中,以薄层层析跟踪检测缩合反应是否完全。反应优选在≤130℃条件下进行,进一步优选在60-120℃条件下进行,更优选在80-120℃条件下进行。当反应在80-120℃条件下进行时,反应至完全需要6-8h的时间。由步骤1)制得的是中间产物的粗品,为了进一步减少引入到步骤2)中的杂质,优选是将步骤1)所得中间产物进行纯化后再用于步骤2)所述的操作中。所述的纯化可以是现有技术中常规的纯化操作,本申请中,优选是将中间产物用溶剂进行重结晶后再用于步骤2)的操作中。所述用于重结

晶的溶剂与合成方法中用来合成得到中间产物的有机溶剂相同,优选为甲醇或乙醇。

[0017] 本发明所述的合成方法的步骤2)中,以薄层层析跟踪检测缩合反应是否完全。反应优选在 $\leq 100^{\circ}\text{C}$ 条件下进行,进一步优选在 $50-100^{\circ}\text{C}$ 条件下进行,更优选在 $60-80^{\circ}\text{C}$ 条件下进行。当反应在 $60-80^{\circ}\text{C}$ 条件下进行时,反应至完全需要3-6h的时间。

[0018] 上述合成方法合成得到的是目标化合物的粗品,可采用现有常规的纯化方法对其进行纯化以提高式(I)所示化合物的纯度,具体可以采用重结晶或硅胶柱层析来进行纯化。当采用重结晶进行纯化时,用于重结晶的溶剂与合成方法中用来合成得到目标化合物的有机溶剂相同,优选为甲醇或乙醇。当采用柱层析进行纯化时,具体是将步骤2)所得的目标化合物上硅胶柱层析,用由体积比为1-50:1的二氯甲烷和甲醇组成的洗脱剂洗脱(优选由体积比为15:1的二氯甲烷和甲醇组成的洗脱剂洗脱),洗脱液蒸除溶剂,得到纯化后的目标化合物。

[0019] 还包括对所得目标化合物进行纯化的步骤。

[0020] 本发明还包括上述式(I)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。

[0021] 本发明进一步包括一种药物组合物,含有治疗上有效剂量的上述式(I)所示化合物或其药学上可接受的盐。

[0022] 与现有技术相比,本发明提供了一类结构新颖的4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物,其制备周期短,后处理简单,成本低,且得到的衍生物纯度高,质量稳定;申请人的体外试验结果表明,通过在1,8-萘酰亚胺的4位上引入功能性基团叔丁氧羰基哌嗪使所得4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物具有较好的生物活性,其中部分衍生物的生物活性显著,有望开发成抗肿瘤药物。

### 具体实施方式

[0023] 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。

[0024] 以下各实施例中,BA表示4-溴-1,8-萘酐,化合物1表示叔丁氧羰基哌嗪,化合物2表示中间产物(即4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酐)。

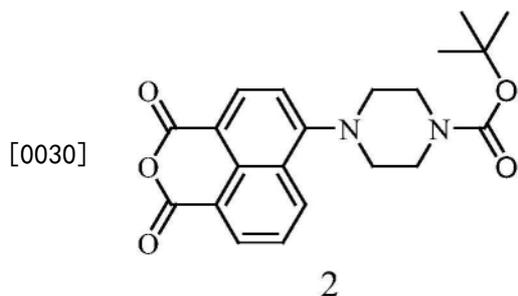
[0025] 实施例1:化合物2的合成

[0026] 称取5.0g (18.2mmol) 4-溴-1,8-萘酐于100m L圆底烧瓶中,再加入10.0g (53.7mmol) N-Boc-哌嗪,加入无水乙二醇甲醚50mL,  $125^{\circ}\text{C}$ 回流3h,薄层色谱检测反应。反应结束,趁热除去部分溶剂后,静置冷却过夜后,抽滤得到滤饼,无水乙醇重结晶即可得到4.75g黄色晶体,收率69.1%。

[0027] 对所得黄色晶体进行结构表征,数据如下:

[0028]  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, DMSO)  $\delta$  8.59-8.48 (m, 2H), 8.43 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.86 (dd,  $J=8.4, 7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.39 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 3.65 (s, 4H), 3.24 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 1.45 (s, 9H). MS  $m/z$ : 383 [M+H] $^+$ .

[0029] 因此,可确定本实施例所得黄色晶体为化合物2,即4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酐,其结构式如下式所示:



[0031] 实施例2:化合物2的合成

[0032] 称取2.5g (9.1mmol) BA于50mL圆底烧瓶中,再加入1.67g (9mmol) 化合物1,加入乙醇50mL,100℃回流6h,趁热除去部分溶剂,静置冷却过夜,抽滤,收集滤饼,得到0.48g黄色粉末,收率9.79%。

[0033] 对所得黄色晶体进行结构表征,数据如下:

[0034]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO)  $\delta$  8.59-8.48 (m, 2H), 8.43 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.86 (dd,  $J=8.4, 7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.39 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 3.65 (s, 4H), 3.24 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 1.45 (s, 9H). MS  $m/z$ : 383  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[0035] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末为化合物2,即4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘醌。

[0036] 实施例3:化合物2的合成

[0037] 称取2.5g (9mmol) NBA于50mL圆底烧瓶中,再加入1.67g (9mmol) 1,加入二甲基亚砜和N,N-二甲基甲酰胺按1:1的体积比组成的混合溶剂50mL,80℃回流6h,趁热除去部分溶剂后,静置冷却过夜,收集滤饼,得到1.45g黄色粉末,收率31.7%。

[0038] 对所得黄色晶体进行结构表征,数据如下:

[0039]  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO)  $\delta$  8.59-8.48 (m, 2H), 8.43 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 7.86 (dd,  $J=8.4, 7.4\text{Hz}$ , 1H), 7.39 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 3.65 (s, 4H), 3.24 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H), 1.45 (s, 9H). MS  $m/z$ : 383  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

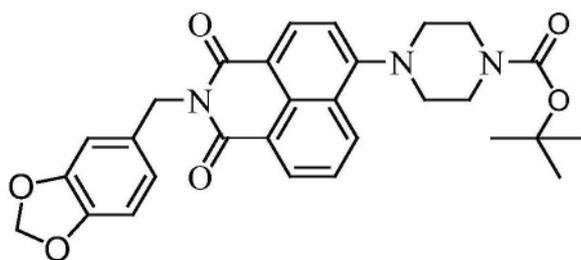
[0040] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末为化合物2,即4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘醌。

[0041] 实施例4:4-叔丁氧羰基哌嗪-N-胡椒基-1,8-萘醌亚胺(化合物3a)的合成

[0042] 称取0.50g化合物2 (1.31mmol) 于圆底烧瓶中,再加入0.20g (1.33mmol) 胡椒乙胺,再加入50mL乙醇溶解,80℃回流3h,薄层色谱监测反应,反应结束后,冷却,过滤,得到黄色粉末3a 0.510g, Yield, 71.4%;  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.57 (d,  $J=6.9\text{Hz}$ , 1H), 8.51 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 1H), 8.40 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 1H), 7.74-7.67 (m, 1H), 7.21 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 1H), 6.86 (d,  $J=1.2\text{Hz}$ , 1H), 6.81-6.76 (m, 1H), 6.73 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 1H), 5.91 (s, 2H), 4.38-4.26 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.74 (s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 3.21 (s, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ), 2.95-2.86 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.51 (s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.33, 163.87, 155.79, 154.85, 147.74, 146.19, 132.81, 132.55, 131.30, 130.12, 129.96, 126.41, 126.06, 123.40, 121.98, 117.34, 115.39, 109.57, 108.37, 100.91 (O-C-O), 80.37 (C-O), 53.09, 41.98, 34.16, 28.55. MS  $m/z$ : 552  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

[0043] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末3a为4-叔丁氧羰基哌嗪-N-胡椒基-1,8-萘醌亚胺,其结构式如下式所示:

[0044]



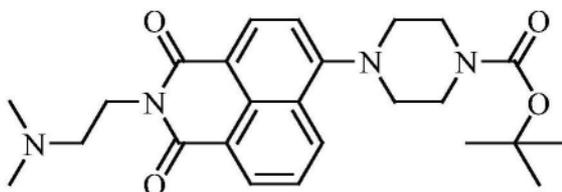
3a

[0045] 实施例5:4-叔丁氧羰基哌嗪-N-(N,N-二甲基)乙二胺基-1,8-萘酰亚胺(化合物3b)的合成

[0046] 称取0.50g化合物2(1.31mmol)于圆底烧瓶中,再加入0.12g(1.33mmol)N,N-二甲基乙二胺,再加入50mL乙醇溶解,80℃回流6h,薄层色谱监测反应,反应结束后,冷却,过滤,得到黄色粉末3b 0.361g,Yield,58.7%;<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ8.55(dd,J=7.2,1.1Hz,1H),8.48(d,J=8.0Hz,1H),8.38(d,J=8.5Hz,1H),7.71-7.62(m,1H),7.18(d,J=8.1Hz,1H),4.28(t,J=7.1Hz,2H,CH<sub>2</sub>),3.73(s,4H,2CH<sub>2</sub>),3.18(s,4H,2CH<sub>2</sub>),2.62(t,J=7.1Hz,2H,CH<sub>2</sub>),2.33(s,6H,2CH<sub>3</sub>),1.49(s,9H,3CH<sub>3</sub>).<sup>13</sup>C NMR(100MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ164.48,164.02,155.73,154.82,132.55,131.30,130.04,129.97,126.36,126.01,123.39,117.37,117.35,115.32,80.33,57.10,53.06,45.82,38.11,28.53.MS m/z:453[M+H]<sup>+</sup>.

[0047] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末3b为4-叔丁氧羰基哌嗪-N-(N,N-二甲基)乙二胺基-1,8-萘酰亚胺,其结构式如下式所示:

[0048]



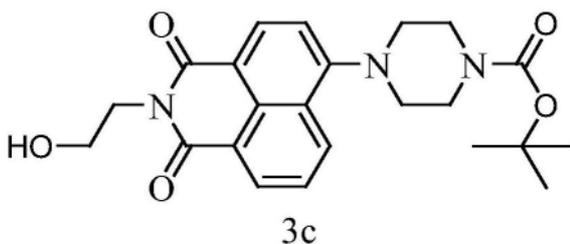
3b

[0049] 实施例6:4-叔丁氧羰基哌嗪-N-羟乙基-1,8-萘酰亚胺(化合物3c)的合成

[0050] 称取0.50g化合物2(1.81mmol)于圆底烧瓶中,再加入0.08g(1.32mmol)乙醇胺,再加入50mL甲醇溶解,70℃回流6h,薄层色谱监测反应,反应结束后,冷却,过滤,得到黄色粉末3c 0.378g,Yield,65.2%;<sup>1</sup>H NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ8.56(d,J=7.1Hz,1H),8.49(d,J=8.0Hz,1H),8.39(d,J=8.3Hz,1H),7.74-7.64(m,1H),7.19(d,J=8.1Hz,1H),4.42(t,J=5.2Hz,2H,CH<sub>2</sub>),3.95(t,J=5.2Hz,2H,CH<sub>2</sub>),3.74(s,4H,2CH<sub>2</sub>),3.20(s,4H,2CH<sub>2</sub>),1.50(s,9H,3CH<sub>3</sub>).<sup>13</sup>C NMR(100MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ165.35,164.92,156.07,154.84,132.92,131.61,130.41,130.02,126.31,126.06,123.13,116.95,115.36,80.40(C-O),62.01(C-OH),53.08,42.83,28.54.MS m/z:448[M+Na]<sup>+</sup>.

[0051] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末3c为4-叔丁氧羰基哌嗪-N-羟乙基-1,8-萘酰亚胺,其结构式如下式所示:

[0052]

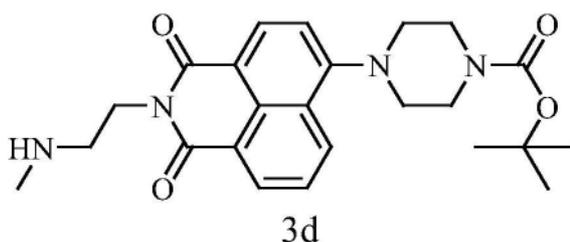


[0053] 实施例7:4-叔丁氧羰基哌嗪-N-甲基乙基-1,8-萘酰亚胺(化合物3d)的合成

[0054] 称取0.500g化合物2(1.8mmol)于圆底烧瓶中,再加入0.10g(1.34mmol)N-甲基乙胺,再加入50毫升无水乙醇溶解,80℃回流3h,薄层色谱监测反应,反应结束后,蒸干溶剂上硅胶柱层析(洗脱剂为二氯甲烷-甲醇( $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=15:1$ )),得到黄色化合物3d 0.390g, Yield,65.0%; $^1\text{H NMR}$ (400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 8.55(d,J=7.3Hz,1H),8.47(d,J=8.0Hz,1H),8.37(d,J=8.5Hz,1H),7.67(t,J=7.9Hz,1H),7.18(d,J=8.1Hz,1H),4.32-4.29(m,2H, $\text{CH}_2$ ),3.72(s,4H, $2\text{CH}_2$ ),3.18(s,4H, $2\text{CH}_2$ ),3.00-2.86(m,2H, $\text{CH}_2$ ),2.45(s,3H, $\text{CH}_3$ ),2.01(s,1H,NH),1.48(s,9H, $3\text{CH}_3$ ). $^{13}\text{C NMR}$ (100MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 164.63,164.16,155.68,154.72,132.52,131.26,130.01,129.90,126.25,125.91,123.24,117.17,115.22,80.24(C-O),52.95,49.94,39.61,36.26,28.42.MS  $m/z$ :439[M+H] $^+$ .

[0055] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末3d为4-叔丁氧羰基哌嗪-N-甲基乙基-1,8-萘酰亚胺,其结构式如下式所示:

[0056]

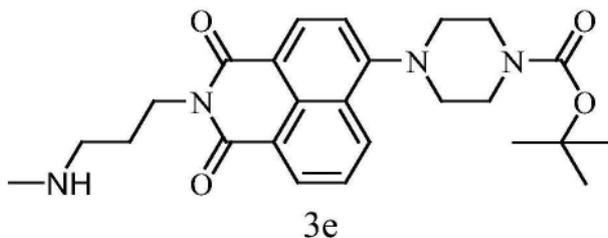


[0057] 实施例8:4-叔丁氧羰基哌嗪-N-甲基丙基-1,8-萘酰亚胺(化合物3e)的合成

[0058] 称取0.500g化合物2(1.8mmol)于圆底烧瓶中,再加入0.08g(1.31mmol)N-甲基丙胺,再加入50毫升无水乙醇溶解,80℃回流3h,薄层色谱监测反应,反应结束后,蒸干溶剂上硅胶柱层析(洗脱剂为二氯甲烷-甲醇( $V_{\text{二氯甲烷}}:V_{\text{甲醇}}=15:1$ )),得到黄色化合物3e 0.443g, Yield,72.1%; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.54(d,J=7.2Hz,1H),8.47(d,J=8.0Hz,1H),8.38(d,J=8.4Hz,1H),7.72-7.65(m,1H),7.18(d,J=8.1Hz,1H),4.21(t,J=7.0Hz,2H, $\text{CH}_2$ ),3.72(s,4H, $2\text{CH}_2$ ),3.18(s,4H, $2\text{CH}_2$ ),2.69(t,J=6.9Hz,2H, $\text{CH}_2$ ),2.46(s,3H, $\text{CH}_3$ ),2.05-1.93(m,2H, $\text{CH}_2$ ),1.48(s,9H, $3\text{CH}_3$ ). $^{13}\text{C NMR}$ (100MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 164.57,164.12,155.84,154.82,132.65,131.37,130.17,129.92,126.33,126.03,123.24,117.14,115.35,80.36(C-O),53.05,48.91,38.06,35.89,28.52,27.76.MS  $m/z$ :439[M+H] $^+$ .

[0059] 因此,可确定本实施例所得黄色粉末3e为4-叔丁氧羰基哌嗪-N-甲基丙基-1,8-萘酰亚胺,其结构式如下式所示:

[0060]



[0061] 为说明本发明所述4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物的抗肿瘤作用,申请人对按上述实施例4-9所述方法制得的目标化合物均进行了的抗肿瘤活性实验(以米托蒽胺和氨茶菲特为参比),并对按上述各实施例所述方法制得的目标化合物开展对正常细胞的毒性实验。

[0062] 采用MTT法测试化合物的体外抗肿瘤活性和对正常细胞的毒性。取处于对数生长期的细胞,每孔180 $\mu$ L(约4500-5000个细胞)含细胞的培养基接种于96孔培养板,于37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>充分湿化条件下培养24h。待细胞贴壁后,按每孔20 $\mu$ L的量加入样品,每个样品设6个复孔,同时设定相应的空白对照。继续培养48h后,每孔加入10 $\mu$ L MTT试剂(浓度为5mg/mL),继续孵育4h后,吸弃上清液,每孔再加入150 $\mu$ L DMSO,轻微震荡反应5~8min,使结晶颗粒充分溶解。空白对照组调零,用酶标仪以490nm波长测定去除本底光吸收值后的吸光度值(A值),计算细胞增殖抑制率,对初筛抗肿瘤效果好的受试化合物,继续用5个浓度梯度继续做相应细胞株的IC<sub>50</sub>值,所有实验均重复3次后取平均值。实验结果详见下表1。

[0063] 表1. 目标化合物对不同肿瘤细胞株的半抑制率浓度(IC<sub>50</sub>,  $\mu$ M)

Compounds	IC <sub>50</sub>			
	MGC-803	HepG2	SKOV3	T24
3a	5.78 $\pm$ 0.69	4.31 $\pm$ 0.35	4.16 $\pm$ 0.42	3.69 $\pm$ 0.31
3b	10.91 $\pm$ 0.58	11.38 $\pm$ 0.71	10.25 $\pm$ 0.24	6.91 $\pm$ 0.28
3c	8.81 $\pm$ 0.57	7.62 $\pm$ 0.43	9.13 $\pm$ 0.32	7.41 $\pm$ 0.19
3d	8.69 $\pm$ 0.41	7.48 $\pm$ 0.62	5.42 $\pm$ 0.29	3.88 $\pm$ 0.43
3e	17.41 $\pm$ 0.42	9.75 $\pm$ 0.89	13.07 $\pm$ 0.76	8.45 $\pm$ 0.69
Mitonafile	6.81 $\pm$ 0.75	0.012 $\pm$ 0.02	1.38 $\pm$ 0.51	1.11 $\pm$ 0.31
Amonafide	9.06 $\pm$ 0.45	7.94 $\pm$ 0.61	6.31 $\pm$ 0.46	5.01 $\pm$ 0.47

[0065] 由表1中数据可知:

[0066] 在对人胃癌细胞MGC-803的抑制活性测试实验中,化合物3a、3c和3d表现出良好的抑制活性,活性优于氨茶菲特,其中化合物3a的活性甚至优于米托蒽胺。

[0067] 在对人肝癌细胞HepG2的抑制活性测试实验中,化合物3a、3c和3d表现出良好的抑制活性,活性显著优于氨茶菲特。

[0068] 在对人卵巢癌细胞SKOV-3的抑制活性测试实验中,化合物3a和3d表现出良好的抑制活性,活性优于氨茶菲特。

[0069] 在对人卵巢癌细胞SKOV-3和人膀胱癌细胞T24的抑制活性测试实验中,化合物3a和3d表现出良好的抑制活性,活性优于氨茶菲特。

[0070] 以上结果表明,通过将叔丁氧羰基哌嗪引入1,8-萘酰亚胺结构制备出新型的4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺抗肿瘤化合物是可行的,有望筛选出高效的新型抗肿瘤化合物,与氨茶菲特相比,某些4-叔丁氧羰基哌嗪-1,8-萘酰亚胺衍生物(如化合物3a和3d)的活性更高效。