

新型双杂环修饰的酰胺硫醚衍生物的合成和生物活性

张成路* 袁 焕 沙禹廷 孙晓娜 李传银 王 静 李益政
(辽宁师范大学化学化工学院 辽宁 大连 116029)

摘 要 首次设计并合成了 16 个新型 1,2,4-三唑与 1,3,4-噻二唑双杂环修饰的酰胺硫醚衍生物,并对其进行了结构表征。分别评价了目标分子对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 和细胞分裂周期 25 磷酸酶 B (Cdc25B)抑制活性,结果发现:16 个目标分子对 PTP1B 具有良好的抑制活性,其中 8-C-d 和 8-D-c 的抑制作用最佳,半抑制浓度 (IC₅₀值)分别为 (1.19 ± 0.22) mg/L 和 (1.08 ± 0.09) mg/L,优于阳性参照物齐墩果酸 (IC₅₀ = (1.27 ± 0.19) mg/L),有望作为抗糖尿病药物先导物;对 Cdc25B 抑制活性测试中,11 个目标分子表现出良好的活性,其中 8-A-d、8-C-d 和 8-D-c 抑制活性的 IC₅₀ 值分别为 (0.97 ± 0.05)、(1.06 ± 0.03) 和 (0.94 ± 0.11) mg/L,低于阳性参照物Na₃VO₄ (IC₅₀ = (1.25 ± 0.14) mg/L),有望作为抗肿瘤药物先导物。

关键词 三唑;噻二唑;蛋白酪氨酸磷酸酶 1B;细胞分裂周期 25 磷酸酶 B;抑制剂
中图分类号:O626 文献标识码:A 文章编号:1000-0518(2017)03-0308-08
DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2017.03.160352

1,2,4-三唑和 1,3,4-噻二唑作为两类重要的五元含氮杂环因其广泛的药理活性及其在合成化学、材料科学及生物学领域中的应用,引起了广泛的关注^[1-10]。许多含有 1,2,4-三唑和 1,3,4-噻二唑核心骨架的衍生物已成为临床药物:如含有 1,2,4-三唑药效基团的广谱强效的抗病毒药物^[11]利巴韦林 (Ribavirin,如图 1),含有 1,3,4-噻二唑药效基团,用来防治植物细菌性病害^[12],对水稻白叶枯病,细菌性条斑病和柑桔溃疡病有较好的防治效果的叶枯唑 (Bismethiazol,如图 1),目前已广泛应用于病毒性疾病的防治。

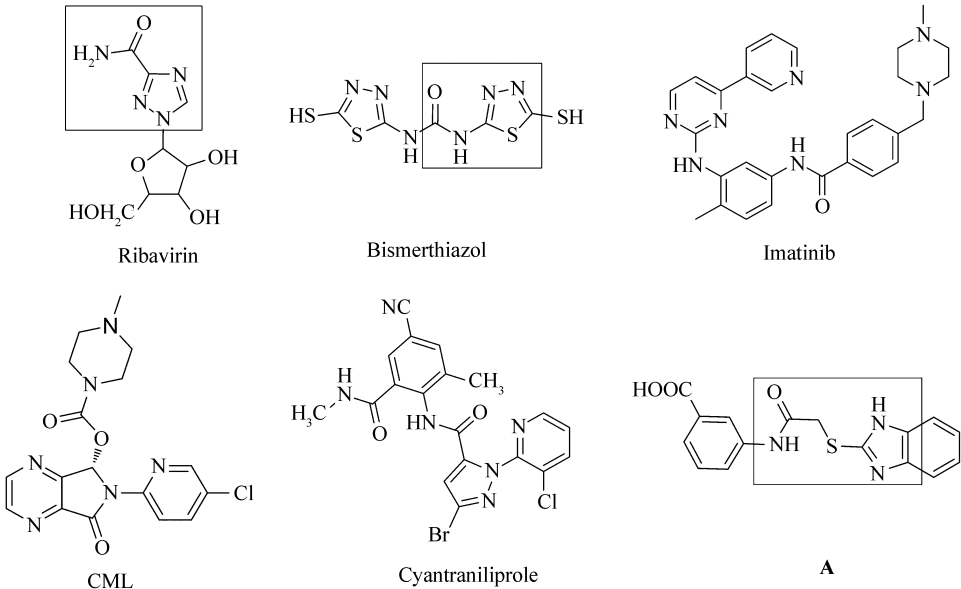
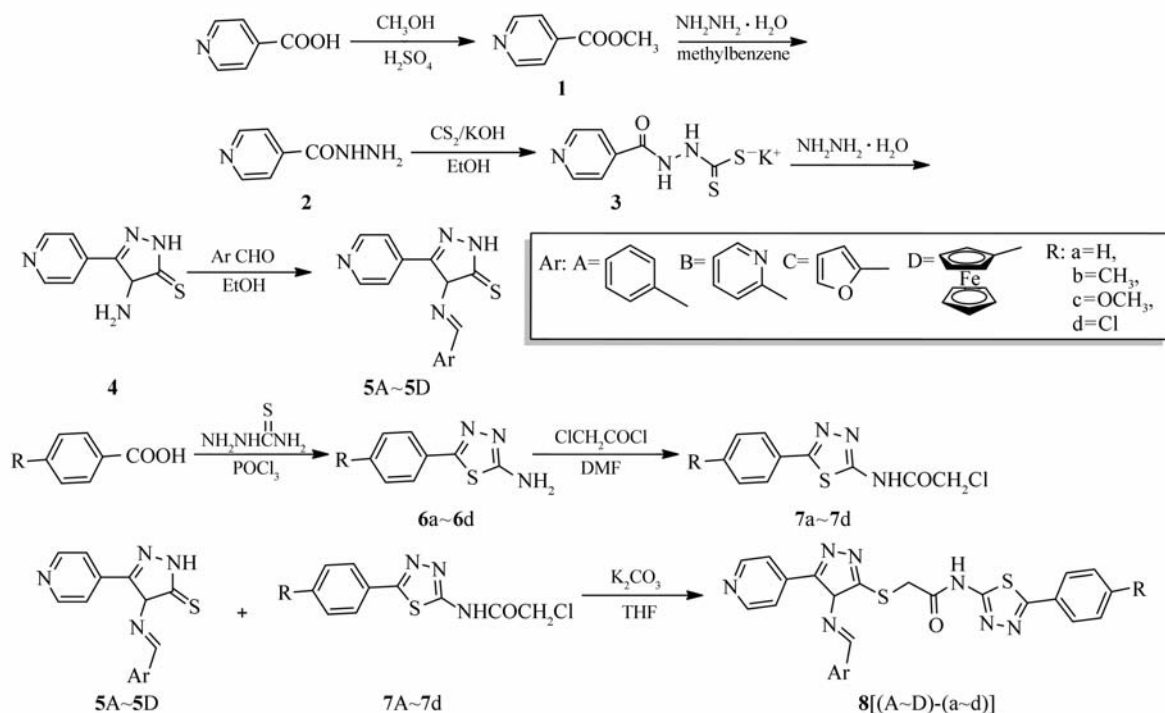


图 1 含有酰胺键的临床药物分子
Fig. 1 Clinical drugs containing an amide bonds

特别值得关注的是,当杂环通过酰胺键和硫醚键拼合时,能有效发挥活性叠加的作用。已有研究发现,骨髓中干细胞 DNA 异常会产生异常蛋白质,从而干扰骨髓中白细胞正常生成,最终导致白细胞数目的剧增,引起造血干细胞疾病。临床用于治疗慢性髓性白血病和恶性胃肠道间质肿瘤的药物伊马替尼(Imatinib,见图1)即为含有酰胺键的杂环药物分子,其治疗的有效率在50%左右^[13];临床用于治疗因多种原因引起失眠症的佐匹克隆(CML,见图1)^[14],即通过酰胺键将吡啶等杂环对接。由杜邦公司开发的第二代鱼尼丁受体抑制剂类杀虫剂溴氰虫酰胺^[15](Cyantraniliprole,见图1),也是通过酰胺键将吡啶等杂环拼合,其适用作物广泛。近年研究成果还显示,通过酰胺键和硫醚键组合并与杂环对接,得到了活性更高药物分子A(见图1)^[16],使类似结构的研究成为学科领域的前沿和热点。

蛋白酪氨酸磷酸酶1B(protein tyrosine phosphatase 1B,缩写PTP1B)是一种催化酪氨酸磷酸化的酶,它可控制细胞生长、增值和分化。研究表明,PTP1B可调节胰岛素和瘦素二者信号传导的途径,达到调节体重和葡萄糖的动态平衡,因此针对糖尿病和肥胖等疾病的治疗,研究PTP1B抑制剂无疑具有重要意义。细胞分裂周期25磷酸酶B(cell division cycle 25B,Cdc25B)是细胞周期蛋白依赖激酶的一个子类,它在细胞周期调节中发挥关键作用^[17]。人体各系统肿瘤均有Cdc25B的过度表达,因此Cdc25B成为癌症治疗的重要靶点。

为筛选活性优良的PTP1B和Cdc25B抑制剂,在本课题组前期研究工作的基础上,本文将已发现的活性优良的二茂铁、吡啶和咪唑等结构基元^[18]设计在目标分子中,通过酰胺键和硫醚键的组合,将活性药效基团1,2,4-三唑和1,3,4-噻二唑拼合,设计了迄今未见报道的新型结构目标分子,以期通过评价其生物活性,探究分子的构效关系,筛选出活性优良的药物先导物。目标产物的合成方法如Scheme 1。



Scheme 1 Synthesis route of target compounds

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

AVANCE 500 MHz NMR 型核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司);Agilent 6224 型高分辨质谱仪(美国 Agilent 公司);TENSOR 27 型傅里叶变换红外光谱仪(德国 Bruker AXS 公司);X-5 型数字显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司);温度计未经校正;WFH-203B 型三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司)。所用的试剂均为市售的分析纯,两个测试蛋白 PTP1B 和 Cdc25B 均由国家新药筛选中心实验室

利用大肠杆菌表达并纯化得到的,纯度在90%以上。

1.2 3-吡啶基-1,2,4-三唑衍生物(5A~5D)的合成通法

以4-吡啶甲酸为起始原料,经酯化、成酰肼、制硫钾盐和合环4步反应合成4-氨基-3-(吡啶-4-基)-1*H*-1,2,4-三唑-5(4*H*)-硫酮(4),收率76%,mp 251.3~253.0℃,与文献值相符^[19]。将10 mmol化合物4和12 mmol芳香醛溶于10 mL无水乙醇,于78℃下搅拌加热4 h,冷却至室温,过滤,所得粗产物经硅胶柱层析[洗脱剂:*V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=2:1]分离,得到化合物5A~5D。

3-(吡啶-4-基)-4-苯烯基氨基-1*H*-1,2,4-三唑-5(4*H*)-硫酮(5A):白色固体,收率89%,mp 187.4~188.9℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3109, 2968, 2568, 1640, 1565, 1065, 752; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 11.10(s, 1H, S—H), 9.99(s, 1H, N=C—H), 8.75(d, *J*=4.4 Hz, 2H, PyH), 8.11~8.05(m, 2H, PyH), 7.86~7.73(m, 5H, Ph)。

3-(吡啶-4-基)-4-(吡啶-2-基甲烯基氨基)-1*H*-1,2,4-三唑-5(4*H*)-硫酮(5B):淡黄色固体,收率86%,mp 193.7~198.5℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3120, 2985, 2549, 1700, 1611, 1074, 744; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 11.09(s, 1H, S—H), 9.97(s, 1H, N=C—H), 8.77~8.75(m, 2H, PyH), 8.07(d, *J*=7.9 Hz, 1H, PyH), 7.85~7.80(m, 2H, PyH), 7.50~7.38(m, 3H, PyH)。

3-(吡啶-4-基)-4-(呋喃-2-基甲烯基氨基)-1*H*-1,2,4-三唑-5(4*H*)-硫酮(5C):淡灰色固体,收率85%,mp 188.6~190.5℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3103, 2956, 2580, 1650, 1600, 1077, 756; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 11.08(s, 1H, S—H), 9.78(s, 1H, N=C—H), 8.70(d, *J*=5.8 Hz, 2H, PyH), 8.05(d, *J*=5.8 Hz, 2H, PyH), 7.43(d, *J*=1.8 Hz, 1H, furan—H), 7.12(d, *J*=1.8 Hz, 1H, furan—H), 6.75(d, *J*=1.8 Hz, 1H, furan—H)。

3-(吡啶-4-基)-4-二茂铁基甲烯基氨基-1*H*-1,2,4-三唑-5(4*H*)-硫酮(5D):橘黄色固体,收率81%,mp 180.54~181.7℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3108, 2957, 2567, 1668, 1580, 1405, 1072, 766, 451; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 11.15(s, 1H, S—H), 10.12(s, 1H, N=C—H), 8.32(d, *J*=4.7 Hz, 2H, PyH), 8.15(d, *J*=7.8 Hz, 2H, PyH), 4.78(t, *J*=1.8 Hz, 2H, FcH), 4.56(t, *J*=1.8 Hz, 2H, FcH), 4.35(s, 5H, PyH)。

1.3 目标产物的8[(A~D)-(a~d)]合成通法

分别以4种芳香酸为起始原料,采用经典的方法^[20]合成2-氨基-5-取代1,3,4-噻二唑(6a~6d)(其中6a收率91%,mp 209.5~210.8℃;6b收率90%,mp 210.3~211.9℃;6c收率93%,mp 192.4~194.1℃;6d收率77%,mp 214.8~215.2℃,所得结果与文献之相符)。将化合物6的氨基利用ClCH₂COCl进行氨基保护^[21]制得2-氯-*N*-(5-(芳香基)-1,3,4-噻二唑-2-基)乙酰胺(7a~7d)制备(其中7a收率80%,mp 127.5~126.8℃;7b收率81%,mp 133.4~135.2℃;7c收率81%,mp 112.3~114.1℃;7d收率78%,mp 130.2~131.7℃,所得结果与文献相符)。然后分别将1 mmol中间体(5A~5D)、10 mL丙酮及1.2 mmol的K₂CO₃置于100 mL反应瓶中,室温搅拌5 min,然后分别缓慢滴入15 mL中间体7a~7d的丙酮溶液(1 mmol化合物7a~7d溶于15 mL丙酮中)。回流搅拌,薄层液相色谱(TLC)监测反应完成后,将反应液倾入冷水中,过滤,所得粗产品经硅胶柱层析(洗脱剂:*V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=3:1)分离,得到目标化合物8[(A~D)-(a~d)]。

N-(5-苯基-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-苯基-2-甲烯基氨基-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基))硫基乙酰胺(8-A-a):白色固体,收率73%,mp 235.3~236.5℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3514, 3060, 2931, 1665, 1611, 1107, 783, 685; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 11.29(s, 1H, N—H), 10.39(s, 1H, N=C—H), 8.76(d, *J*=4.4 Hz, 2H, PyH), 8.09~8.04(m, 2H, PyH), 7.93(t, *J*=8.6 Hz, 8H, Ph), 7.66~7.43(m, 2H, Ph), 4.50(s, 2H, CH₂); HRMS(ESI)计算值C₂₄H₁₈N₈OS₂[M+1]⁺:498.1045,实测值:498.1033。

N-(5-(对甲苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-苯基-2-甲烯基氨基-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(8-A-b):白色固体,收率70%,mp 237.5~238.9℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3608, 3030, 2982, 1680, 1610, 1124, 775, 664; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 11.34(s, 1H, N—H), 10.06(s, 1H, N=C—H), 8.78~8.77(m, 2H, PyH), 8.09(d, *J*=8.6 Hz, 2H, PyH), 7.84~7.83(m, 3H, Ph), 7.43~7.26(m, 4H, Ph), 4.45(s, 2H, CH₂), 2.72(s, 3H, CH₃); HRMS(ESI)计算值C₂₅H₂₀N₈OS₂[M+1]⁺:

512. 1201, 实测值:512. 1218。

N-(5-(4-甲氧苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-苯基-2-甲烯基氨基-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-A-c**):白色固体,收率75%,mp 241.2~244.1℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3564,3030,2975,1675,1632,1110,764,673; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.60(s,1H,N—H),10.12(s,1H,N=C—H),8.32(d, J =4.7 Hz,2H,PyH),8.18(d, J =7.8 Hz,2H,PyH),8.06~8.04(m,2H,Ph),7.65~7.63(m,3H,Ph),7.55~7.47(m,2H,Ph),4.36(s,2H,CH₂),3.88(s,3H,OCH₃);HRMS(ESI)计算值C₂₅H₂₀N₈O₂S₂[M+1]⁺:528.1151,实测值:528.1165。

N-(5-(4-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-苯基-2-甲烯基氨基-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-A-d**):白色固体,收率62%,mp 213.7~215.4℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3582,3040,2968,1660,1609,1108,756,680; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.38(s,1H,N—H),10.67(s,1H,N=C—H),8.32(d, J =4.7 Hz,2H,PyH),8.18(d, J =7.8 Hz,2H,PyH),8.06~8.04(m,4H,Ph),7.65~7.63(m,4H,Ph),7.55~7.47(m,1H,Ph),4.40(s,2H,CH₂);HRMS(ESI)计算值C₂₄H₁₇ClN₈O₂S₂[M+1]⁺:532.0655,实测值:532.0646。

N-(5-苯基-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(吡啶-2-基甲烯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-B-a**):淡黄色固体,收率74%,mp 243.7~245.1℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3614,3030,2975,1673,1613,1107,773,656; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.09(s,1H,N—H),10.53(s,1H,N=C—H),8.78~8.77(m,3H,PyH),8.09(d, J =7.9 Hz,3H,PyH),7.84~7.81(m,2H,PyH),7.43~7.26(m,5H,Ph),4.65(s,2H,CH₂);HRMS(ESI)计算值C₂₃H₁₇N₉O₂S₂[M+1]⁺:499.0997,实测值:499.0991。

N-(5-(对甲苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(吡啶-2-基甲烯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-B-b**):淡黄色固体,收率72%,mp 246.4~248.1℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3562,3039,2981,1675,1616,1132,739,670; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.26(s,1H,N—H),10.06(s,1H,N=C—H),8.73(d, J =5.8 Hz,2H,PyH),8.14~8.13(m,1H,PyH),7.86(t, J =7.0 Hz,3H,PyH),7.09(t, J =1.8 Hz,4H,Ph),4.27(s,2H,CH₂),2.71(s,3H,CH₃);HRMS(ESI)计算值C₂₄H₁₉N₉O₂S₂[M+1]⁺:513.1154,实测值:513.1160。

N-(5-(4-甲氧苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(吡啶-2-基甲烯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-B-c**):淡黄色固体,收率70%,mp 250.3~251.6℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3587,3030,2968,1660,1606,1109,768,658; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.48(s,1H,N—H),10.66(s,1H,N=C—H),8.74~8.73(m,3H,PyH),8.08(d, J =7.9 Hz,3H,PyH),7.82~7.79(m,2H,PyH),7.41~7.26(m,4H,Ph),4.64(s,2H,CH₂),3.84(s,3H,OCH₃);HRMS(ESI)计算值C₂₄H₁₉N₉O₂S₂[M+1]⁺:529.1103,实测值:529.1112。

N-(5-(4-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(吡啶-2-基甲烯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-B-d**):淡黄色固体,收率75%,mp 228.8~229.2℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3547,3030,2983,1670,1616,1087,758,682; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.54(s,1H,N—H),10.64(s,1H,N=C—H),8.78~8.77(m,3H,PyH),8.09(d, J =7.9 Hz,3H,PyH),8.84~8.81(m,2H,PyH),7.43~7.26(m,4H,Ph),4.64(s,2H,CH₂);HRMS(ESI)计算值C₂₃H₁₆ClN₉O₂S₂[M+1]⁺:533.0608,实测值:533.0613。

N-(5-苯基-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(呋喃-2-基甲烯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-C-a**):淡灰色固体,收率80%,mp 231.6~233.2℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3564,3030,2981,1682,1609,1166,1092,774,676; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6), δ :11.20(s,1H,N—H),9.54(s,1H,N=C—H),8.73(d, J =5.8 Hz,2H,PyH),8.02((d, J =5.8 Hz,2H,PyH),7.69~7.52(m,5H,Ph),7.43(d, J =8.5 Hz,1H,furan—H),7.12(d, J =8.6 Hz,1H,furan—H),6.75~6.74(m,1H,furan—H),4.30(s,2H,CH₂);HRMS(ESI)计算值C₂₂H₁₆N₈O₂S₂[M+1]⁺:488.0838,实测值:488.0831。

N-(5-(对甲苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(呋喃-2-基甲烯基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺(**8-C-b**):淡灰色固体,收率82%,mp 237.3~239.0℃,IR(KBr), σ/cm^{-1} :3575

, 3030, 2979, 1668, 1604, 1158, 1083, 763, 662; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.32 (s, 1H, N—H), 9.59 (s, 1H, N=C—H), 8.11 (d, J = 1.4 Hz, 2H, PyH), 7.87 ~ 7.81 (m, 2H, PyH), 7.78 ~ 7.75 (m, 4H, Ph), 7.45 (d, J = 3.5 Hz, 1H, furan—H), 7.13 (d, J = 3.5 Hz, 1H, furan—H), 6.75 ~ 6.73 (m, 1H, furan—H), 4.32 (s, 2H, CH₂), 2.77 (s, 3H, CH₃); HRMS (ESI) 计算值 $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_2\text{S}_2$ [M + 1]⁺: 502.0994, 实测值: 502.0986。

N-(5-(4-甲氧苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(呋喃-2-基甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺 (**8-C-c**): 淡灰色固体, 收率 76%, mp 237.4 ~ 239.1 °C, IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3614, 3043, 2975, 1670, 1612, 1158, 1078, 767, 682; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.26 (s, 1H, N—H), 10.34 (s, 1H, N=C—H), 8.32 (d, J = 4.7 Hz, 2H, PyH), 8.18 (d, J = 7.8 Hz, 2H, PyH), 8.05 ~ 8.04 (m, 4H, Ph), 7.65 ~ 7.63 (m, 1H, furan—H), 7.55 ~ 7.47 (m, 1H, furan—H), 6.75 ~ 6.74 (m, 1H, furan—H), 4.44 (s, 2H, CH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃); HRMS (ESI) 计算值 $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_3\text{S}_2$ [M + 1]⁺: 518.0943, 实测值: 518.0951。

N-(5-(4-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-(呋喃-2-基甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺 (**8-C-d**): 淡灰色固体, 收率 77%, mp 220.6 ~ 222.3 °C, IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3577, 3030, 2988, 1675, 1610, 1160, 1084, 759, 669; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.26 (s, 1H, N—H), 10.66 (s, 1H, N=C—H), 8.74 (d, J = 4.8 Hz, 2H, PyH), 8.08 ~ 8.06 (m, 2H, PyH), 7.82 ~ 7.80 (m, 4H, PyH), 7.41 ~ 7.38 (m, 1H, furan—H), 7.26 (d, J = 3.5 Hz, 1H, furan—H), 6.75 ~ 6.73 (m, 1H, furan—H), 4.32 (s, 2H, CH₂); HRMS (ESI) 计算值 $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{ClN}_8\text{O}_2\text{S}_2$ [M + 1]⁺: 522.0448, 实测值: 522.0453。

N-(5-苯基-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-二茂铁基-2-甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺 (**8-D-a**): 橘黄色固体, 收率 70%, mp 267.4 ~ 268.6 °C, IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3548, 3030, 2982, 1668, 1608, 1409, 1107, 798, 657, 483; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.43 (s, 1H, N—H), 9.70 (s, 1H, N=C—H), 8.32 (d, J = 4.7 Hz, 2H, PyH), 8.18 (d, J = 7.8 Hz, 2H, PyH), 8.06 ~ 8.04 (m, 2H, Ph), 7.65 ~ 7.63 (m, 2H, Ph), 7.55 ~ 7.47 (m, 1H, Ph), 4.79 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.56 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.32 (s, 5H, PyH), 4.25 (s, 2H, CH₂); HRMS (ESI) 计算值 $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{FeN}_8\text{OS}_2$ [M + 1]⁺: 606.0707, 实测值: 606.0715。

N-(5-(对甲苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-二茂铁基-2-甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺 (**8-D-b**): 橘黄色固体, 收率 71%, mp 268.9 ~ 270.2 °C, IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3566, 3040, 2983, 1676, 1612, 1410, 1110, 754, 681, 490; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.41 (s, 1H, N—H), 10.06 (s, 1H, N=C—H), 8.82 ~ 8.77 (m, 2H, PyH), 8.09 (d, J = 7.9 Hz, 2H, PyH), 7.84 ~ 7.81 (m, 2H, Ph), 7.43 ~ 7.40 (m, 2H, Ph), 4.79 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.56 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.35 (s, 5H, PyH), 4.22 (s, 2H, CH₂), 2.71 (s, 3H, CH₃); HRMS (ESI) 计算值 $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{FeN}_8\text{OS}_2$ [M + 1]⁺: 620.0864, 实测值: 620.0832。

N-(5-(4-甲氧苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-二茂铁基-2-甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺 (**8-D-c**): 橘黄色固体, 收率 71%, mp 273.6 ~ 275.0 °C, IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3561, 3030, 2980, 1681, 1609, 1421, 1121, 781, 680, 475; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.40 (s, 1H, N—H), 9.74 (s, 1H, N=C—H), 8.78 ~ 8.77 (m, 2H, PyH), 8.09 (d, J = 7.9 Hz, 2H, PyH), 7.84 ~ 7.81 (m, 2H, Ph), 7.43 ~ 7.26 (m, 2H, Ph), 4.74 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.56 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.35 (s, 5H, PyH), 4.20 (s, 2H, CH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃); HRMS (ESI) 计算值 $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{FeN}_8\text{O}_2\text{S}_2$ [M + 1]⁺: 636.0813, 实测值: 636.0825。

N-(5-(4-氯苯基)-1,3,4-噻二唑-2-基)-2-((4-二茂铁基-2-甲基氨基)-5-(吡啶-4-基)-4*H*-1,2,4-三唑-3-基)硫基)乙酰胺 (**8-D-d**): 橘黄色固体, 收率 70%, mp 250.6 ~ 251.8 °C, IR (KBr), σ/cm^{-1} : 3621, 3030, 2979, 1675, 1610, 1410, 1120, 767, 687, 490; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ : 11.40 (s, 1H, N—H), 9.70 (s, 1H, N=C—H), 8.78 ~ 8.77 (m, 2H, PyH), 8.09 ~ 8.06 (m, 2H, PyH), 7.84 ~ 7.81 (m, 2H, Ph), 7.43 ~ 7.26 (m, 2H, Ph), 4.76 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.56 (t, J = 1.8 Hz, 2H, FcH), 4.35 (s, 5H, PyH),

4. 20(s,2H,CH₂);HRMS(ESI)计算值C₂₈H₂₁ClFeN₈OS₂[M+1]⁺:640.0318,实测值:640.0304。

2 结果与讨论

2.1 PTP1B 和 Cdc25B 抑制活性测试

PTP1B 是从大肠杆菌中表达并纯化的谷胱甘肽巯基转移酶(GST)融合蛋白,采用紫外底物间硝基苯磷酸盐(pNPP)考察用不同化合物对这种融合蛋白的活性抑制;Cdc25B 蛋白是以 GST 融合蛋白形式存在于上清液中,细胞裂解后经 GSH-亲和柱纯化得到。采用荧光底物邻甲基荧光磷酸酯(OMFP)考察不同化合物对 Cdc25B 蛋白活性抑制情况,针对化合物的药用效果进行初步评价。选择抑制率 >50% 的目标分子进行复筛,测试样品浓度为 5 mg/L 时的抑制活性,得出抑制活性剂量依赖关系,即 IC₅₀ 值。IC₅₀ 值通过样品活性对样品浓度进行非线性拟合得到。筛选实验参照文献^[22-24]方法进行。其中 Na₃VO₄ 是酪氨酸磷酸酯酶广谱的抑制剂,可作为 Cdc25B 抑制活性的对照药物,齐墩果酸(Oleanolic acid)是通过 PTP1B 靶点筛选出来的阳性抑制剂,可作为 PTP1B 的抑制活性的对照药物。本实验由国家新药中心协助完成,结果如表 1 所示。

表 1 目标化合物对 Cdc25B 和 PTP1B 的抑制率
Table 1 Inhibition rate of the target compounds for Cdc25B and PTP1B

Compd.	IC ₅₀ /(mg·L ⁻¹) ^a		Compd.	IC ₅₀ /(mg·L ⁻¹) ^a	
	Cdc25B	PTP1B		Cdc25B	PTP1B
8-A-a	NA	3.87 ± 0.33	8-C-a	NA	8.88 ± 0.24
8-A-b	NA	5.17 ± 0.46	8-C-b	6.16 ± 1.16	7.47 ± 1.13
8-A-c	NA	11.02 ± 0.54	8-C-c	5.24 ± 0.16	3.66 ± 0.37
8-A-d	0.97 ± 0.05	1.28 ± 0.06	8-C-d	1.06 ± 0.03	1.19 ± 0.22
8-B-a	5.16 ± 1.57	7.67 ± 0.61	8-D-a	1.34 ± 0.18	2.84 ± 0.44
8-B-b	NA	10.43 ± 0.61	8-D-b	2.35 ± 0.41	5.64 ± 0.60
8-B-c	11.49 ± 0.39	8.49 ± 1.63	8-D-c	0.94 ± 0.11	1.08 ± 0.09
8-B-d	14.46 ± 3.57	9.12 ± 1.30	8-D-d	5.82 ± 0.71	5.12 ± 5.12
Na ₃ VO ₄ ^b	1.25 ± 0.14	—	Oleanolic acid ^c	—	1.11 ± 0.09

a. values tested at 5 μg/mL concentration; b. Na₃VO₄ as a positive control; c. Oleanolic acid as a positive control.

在 PTP1B 抑制活性的测定中发现,所有目标分子均表现出了良好的抑制活性,表明通过酰胺硫醚键将 1,2,4-三唑与 1,3,4-噻二唑拼合能够产生良好的 PTP1B 抑制活性,其中 8-C-d 和 8-D-c 的抑制作用最明显,IC₅₀ 值分别为 (1.19 ± 0.22) 和 (1.08 ± 0.09) mg/L,优于对照物齐墩果酸 (IC₅₀ = (1.27 ± 0.19) mg/L)。在 Cdc25B 抑制活性测试中,11 个目标分子表现出良好的活性,其中 8-A-d、8-C-d 和 8-D-c 的 IC₅₀ 值分别为 (0.97 ± 0.05)、(1.06 ± 0.03) 和 (0.94 ± 0.11) mg/L,低于对比参照物 Na₃VO₄ (IC₅₀ = (1.25 ± 0.14) mg/L),说明其抑制效果优良。

2.2 构效分析

根据药物化学原理,药物活性分子与受体的分子识别和相互作用是引发药理活性的基础,并具有很高的特异性。一方面 1,2,4-三唑和 1,3,4-噻二唑骨架结构是优良的药效基团,多杂原子的存在增加了与生物体内大分子的相似性,通过酰胺硫醚键将其拼合,能形成可旋转的空间结构,从而在与受体分子作用时产生较好的空间排布,增加其相互的作用。另一方面由于结构特异性药物也依赖于药物分子内的化学基团,它们因影响的分子的极性、电性、大小以及空间结构等因素而导致其活性发生变化。目标分子中具有芳香性和生物活性的吡啶、呋喃和二茂铁基等因与杂环发生共轭效应,改变了目标分子的极性和电性,成为必要的活性基团,发挥了活性叠加作用;氯原子和甲氧基的存在一方面改变了分子的电子密度,另一方面也增加了分子的脂溶性,使目标分子与受体间的分子间作用力增大;酰胺键和硫醚键的存在,使目标分子与受体之间更易产生氢键,达到对受体分子的识别和相互作用,从而表达出目标分子优异的生物活性。

目标分子 8-C-d 对 PTP1B 抑制活性较为明显,可能是苯环上的氯原子和呋喃环的氧原子同时与生物大分子发生辅助作用的结果。化合物 8-D-c 对 PTP1B 的抑制作用明显,可能是分子结构同时引入斥

电子基甲氧基和二茂铁基团。其中二茂铁的芳香结构中两个茂环可以是重叠的,也可以是错位的,这种独特的空间构型使其具有优良的生物活性。

在 Cdc25B 抑制活性测试结果中,11 个目标分子的抑制作用良好。除了呋喃和二茂铁基团,苯基和吡啶基团也显现出较好的生物活性,原因是吡啶与苯结构相似,芳香环上下电子外露,极可能改变了分子的电性,增强了目标分子的生物活性。

3 结 论

设计合成了 16 个新型 1,2,4-三唑与 1,3,4-噻二唑双杂环修饰的酰胺硫醚衍生物。所有目标化合物均表现出良好 PTP1B 的抑制活性,其中 **8-C-d** 和 **8-D-c** 的抑制效果最佳,IC₅₀ 均优于阳性参照物齐墩果酸(IC₅₀ = (1.27 ± 0.19) mg/L),表明当引入呋喃、甲氧基和二茂铁基团时,PTP1B 抑制作用明显,有望作为抗糖尿病药物先导物;11 个目标分子表现出良好的 Cdc25B 抑制活性,其中 **8-A-d**、**8-C-d** 和 **8-D-c** 的 IC₅₀ 值低于阳性参照物 Na₃VO₄(IC₅₀ = (1.25 ± 0.14) mg/L),表明当引入苯基和吡啶时,Cdc25B 具有较好的抑制效果,有望作为抗肿瘤药物先导物。

致谢 PTP1B 和 Cdc25B 抑制活性筛选试验由国家新药筛选中心协助测定,在此对他们的帮助表示诚挚的谢意。

参 考 文 献

- [1] Radwan A A, eLthair K. E H. Synthesis and In-Silico Studies of Some Diaryl triazole Derivatives as Potential Cyclooxygenase Inhibitors[J]. *Arch Pharmacol Res*, 2013, **36**(5):553-563.
- [2] Marino J P Jr, Fisher P W, Hofmann G A, et al. Highly Potent Inhibitors of Methionine Aminopeptidase-2 Based on a 1,2,4-Triazole Pharmacophore[J]. *Med Chem*, 2007, **50**(16):3777-3785.
- [3] Wang B L, Shi Y X, Ma Y, et al. Synthesis and Biological Activity of Some Novel Trifluoromethyl-Substituted 1,2,4-Triazole and Bis(1,2,4-Triazole) Mannich Bases Containing Piperazine Rings[J]. *Agric Food Chem*, 2010, **58**(9):5515-5522.
- [4] Thottempudi V, Shreeve J M. Synthesis and Promising Properties of a New Family of High-Density Energetic Salts of 5-Nitro-3-trinitromethyl-1H-1,2,4-Triazole and 5,5'-Bis(trinitromethyl)-3,3'-azo-1H-1,2,4-triazole[J]. *J Am Chem Soc*, 2011, **133**(49):19982-19992.
- [5] YANG Haikui, XU Wanfu, DUAN Anna, et al. Syntheses and Biological Activities of Novel Imine and Imide Derivatives Bearing 1,2,4-Triazole Moiety[J]. *Chem J Chinese Univ*, 2014, **35**(3):555-563 (in Chinese).
杨海葵, 许万福, 段安娜, 等. 含 1,2,4-三唑环的亚胺及酰亚胺类化合物的合成及生物活性[J]. 高等学校化学学报, 2014, **35**(3):555-563.
- [6] Oruç E E, Rollas S F, Shvets N, et al. 1,3,4-Thiadiazole Derivatives. Synthesis, Structure Elucidation, and Structure Antituberculosis Activity Relationship Investigation[J]. *J Med Chem*, 2004, **47**(27):6760-6767.
- [7] Yang S J, Choe J H, Abdildinova A, et al. A Highly Efficient Diversification of 2-Amino/Amido-1, Highly Efficient Diversification of 2-Amino/Amido-1,3,4-oxadiazole and 1,3,4-Thiadiazole Derivatives via Reagent-Based Cyclization of Thiosemicarbazide Intermediate on Solid-Phase[J]. *ACS Comb Sci*, 2015, **17**(12):732-741.
- [8] Fan Z J, Yang Z K, Zhang H K, et al. Synthesis, Crystal Structure, and Biological Activity of 4-Methyl-1,2,3-thiadiazole-Containing 1,2,4-Triazole[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles[J]. *Agric Food Chem*, 2010, **58**(5):2630-2636.
- [9] Xia J, Zou L H, Lai G Y, et al. Synthesis, Fungicidal Activity, and 3D-QSAR of Pyridazinone-Substituted 1,3,4-Oxadiazoles and 1,3,4-Thiadiazoles[J]. *Agric Food Chem*, 2002, **50**(13):3757-3760.
- [10] CHEN Danping, WU Wenneng, LI Feifei, et al. Research and Application of Five-member Heterocyclic Fungicides[J]. *Mod Agrochem*, 2014, **2**(13):5-10 (in Chinese).
陈丹萍, 吴文能, 李飞飞, 等. 五元杂环类杀菌活性化合物的研究进展[J]. 现代农药, 2014, **2**(13):5-10.
- [11] Moriyama K, Suzuki T, Negishi K, et al. Effects of Introduction of Hydrophobic Group on Ribavirin Base on Mutation Induction and Anti-RNA Viral Activity[J]. *J Med Chem*, 2008, **51**(1):159-166.
- [12] SHEN Suwen, LIU Yongfeng, ZHOU Sujin, et al. 4 Antagonistic Bacteria and Streptomycin, Rice Research Article Bacterial Spot Disease Bismethiazol Cooperative Control[J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2010, (4):98-100 (in Chinese).
沈素文, 刘永峰, 周苏津, 等. 4 株拮抗细菌与链霉素、叶枯唑协同控制水稻细菌性条斑病研究[J]. 江苏农业科学, 2010, (4):98-100.
- [13] Jida M, Soueidan M, Willand N, et al. A Facile and Rapid Synthesis of N-Benzyl-2-substituted Piperazines[J]. *Tetrahedron Lett*, 2011, **52**(4):1705-1708.
- [14] Xiong W F, Qi C R, He H T, et al. Base-Promoted Coupling of Carbon Dioxide, Amines, and N-Tosylhydrazones: A Novel

- and Versatile Approach to Carbamates[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2015, **54**(10):3084-3087.
- [15] Rakse M, Karthikeyan C, Deora G S, *et al.* Design, Synthesis and Molecular Modelling Studies of Novel 3-Acetamido-4-Methyl Benzoic Acid Derivatives as Inhibitors of Protein Tyrosine Phosphatase 1B[J]. *Euro J Med Chem*, 2013, **70**:469-476.
- [16] Zinatossadat H. Solvent-free Synthesis of Substituted Five Membered Heterocycles: One-pot Reaction of Primary Amine and Alkyl Propiolate or Isothiocyanate in the Presence of Oxalyl Chloride[J]. *Chinese Chem Lett*, 2014, **25**(1):159-162.
- [17] Park Y H, Jeon Y H, Kim I Y. Selenoprotein W Promotes Cell Cycle Recovery from G2 Arrest Throgh the Activation of CDC25B[J]. *Biochim Biophys Acta, Mol Cell Res*, 2012, **1823**(12):2217-2226.
- [18] Jeffrey J, Anderson S, Wingard B, *et al.* Uptake of Cyantraniliprole into Tomato Fruit and Foliage under Hydroponic Conditions; Application to Calibration of a Plant/Soil Uptake Model[J]. *Agric Food Chem*, 2013, **61**(38):9027-9035.
- [19] ZHANG Chenglu, ZHU Chang'an, WU Feiyu, *et al.* Synthesis, Biological Activity and Electrochemical Properties of Ferrocenyl 1,3,4-Triazoles Derivatives[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2014, **31**(4):455-461 (in Chinese).
张成路, 朱长安, 武飞宇, 等. 二茂铁基 1,3,4-三唑席夫碱衍生物合成及生物活性和电化学性质[J]. *应用化学*, 2014, **31**(4):455-461.
- [20] Mobinikhaledi A, Foroughifar N, Bayat M. Synthesis of Some Novel 3-(4-Pyridinyl)-6-ary-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazoles[J]. *Org Prep Proced Int*, 2011, **43**(4):368-371.
- [21] Tu G G, Li S H, Huang H M, *et al.* Novel Aminopeptidase N Inhibitors Derived from 1,3,4-Thiazole Scaffold[J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, **16**:6663-6668.
- [22] Lindqvist A, Källström H, Lundgren A, *et al.* Cdc25B Cooperates With Cdc25A to Induce Mitosis but Has a Unique Role in Activating Cyclin B1 Cdk1 at the Centrosome[J]. *J Cell Biol*, 2005, **171**(1):35-45.
- [23] Sun L P, Shen Q, Piao H H, *et al.* Synthese and Biological Evaluation of (±)-3-(2-(2-Fluorobenzyloxy) Naphthalen-6-yl)-2-Aminopropanoic Acid Derivatives as Novel PTP1B Inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2011, **46**(9):3630-3638.
- [24] He X P, Li C, Jin X P, *et al.* Microwave-assisted Construction of Triazole-linked Amino Acid-Glucoside Conjugates as Novel PTP1B Inhibitors[J]. *New J Chem*, 2011, **35**(3):622-631.

Synthesis and Bioactivity of Novel Bis-heterocyclic Amide Modified Sulfide Derivatives

ZHANG Chenglu^{*}, XI Huan, SHA Yuting, SUN Xiaona, LI Chuanyin, WANG Jing, LI Yizheng
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029, China)

Abstract Sixteen novel double-heterocyclic modified amide sulfide derivatives containing 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole were designed and synthesized, and their structures were characterized. The inhibitory activities of synthesized molecules against cell division cycle 25B (Cdc25B) of protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) were evaluated. The results show that all target molecules exhibit good inhibitory activity against PTP1B. Compounds **8-C-d** and **8-D-c** have the optimal inhibition. Their half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) values are (1.19 ± 0.22) mg/L and (1.08 ± 0.09) mg/L, respectively, which are lower than that of positive reference oleanolic acid ($IC_{50} = (1.27 \pm 0.19)$ mg/L). They are expected to be anti-diabetic drug leading compounds. The target molecules also exhibit good inhibitory activities against Cdc25B. The IC_{50} values of compounds **8-A-d**, **8-C-d** and **8-D-c** are higher than that of positive reference Na_3VO_4 ($IC_{50} = (1.25 \pm 0.14)$ mg/L), which are expected to be anticancer drug leading compounds.

Keywords triazole; thiadiazole; protein tyrosine phosphatase 1B; cell division cycle 25B; inhibitors

Received 2016-09-02; Revised 2016-10-20; Accepted 2016-11-28

Supported by Technology Research Program of Liaoning Provincial Department of Education (No. 2009A426)

Corresponding author: ZHANG Chenglu, professor; Tel: 0411-84203175; E-mail: zhangchenglu@lnu.edu.cn; Research interests: drug synthesis