

四氢咪唑并[2',1':2,3]噻吩并[5,4-c]哌啉 衍生物的合成及抗肿瘤活性

寇丽栋 王 伟*

(河南师范大学化学化工学院,河南省手性醇类药物工程技术研究中心 河南 新乡 453007)

摘 要 以4-哌啉酮为原料,经过胺基保护、缩合、环合、脱保护等步骤,设计合成了一系列新型的5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉类化合物。通过核磁共振波谱(^1H NMR、 ^{13}C NMR)、质谱(MS)和元素分析确证了其结构。对其体外活性研究发现,该类化合物对乳腺癌细胞 MCF-7 具有一定的抑制活性,其中化合物 **5a** 的抑制活性最为显著,半数抑制浓度(IC_{50})值达到了 $8.6 \mu\text{mol/L}$ 。为此类化合物的抗肿瘤活性研究提供了参考。

关键词 四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉;衍生物;抗肿瘤

中图分类号:O626.2

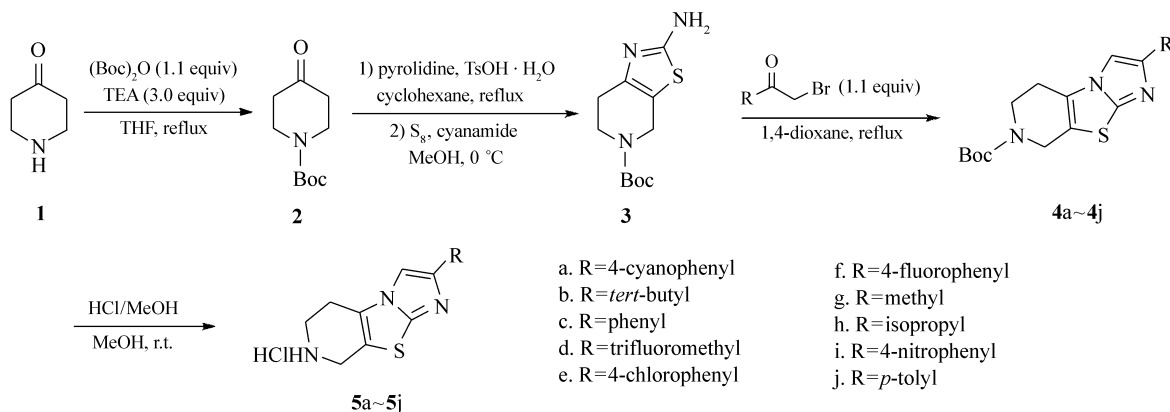
文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2017)08-0905-07

DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2017.08.160420

含氮杂环化合物由于具有广泛的生物活性而倍受重视,现已开发出许多含氮杂环类的杀菌剂、除草剂、杀虫剂及医用药物,此类化合物已成为农药和医药的研究热点,具有广阔的应用前景。许多含哌啉和咪唑结构单元的杂环化合物具有不同的生物活性,其中由于哌啉是碱性基团,同时具有很好的水溶性,因此哌啉环常被引入许多药物分子,用于调节药物 pH 值和脂水分配系数,进而改善药物分子生物利用度并提高药效^[1-2];具有五元杂环体系的咪唑同样在农药、医药、功能材料等领域受到广泛应用,其广泛存在天然产物中,多种衍生物已开发成为重要药物,用于抗菌、抗炎、抗肿瘤、治疗低血糖和生理紊乱等疾病^[3]。四氢噻吩并哌啉衍生物是很好的 Hh 信号通路抑制剂,对前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌和一些血液癌症具有较强的抑制效果^[4-5]。新型咪唑并噻吩化合物具有抑制肿瘤细胞中 Met 受体酪氨酸激酶生长的作用^[6-9],具有开发成为新型抗肿瘤靶向药物的潜质。

本文以4-哌啉酮为原料,先用叔丁氧羰基(Boc)酸酐进行胺基保护,再与单质硫和氰胺在对甲苯磺酸作用下成环得到化合物 *N*-Boc-2-氨基-噻唑并[5,4-c]哌啉(**3**),化合物 **3** 与不同的溴乙酰基化合物成



Scheme 1 Synthetic route of tetrahydroimidazo[2',1':2,3]thiazolo [5,4-c]piperidine derivatives

环生成化合物 **4a**~**4j**,最后脱保护得到化合物 **5a**~**5j**。合成路线见 Scheme 1。所得到的 10 个化合物结构经过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、MS、HRMS 和元素分析进行确证,并对进一步进行了抗肿瘤活性测试。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

Bruker AV400 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司);Waters Acquity 型液相质谱联用仪(美国 Waters 公司);PE2400-II 型元素分析仪(美国 Perkin-Elmer 公司);WK-1B 型数字熔点仪(上海精密科学仪器厂);Bruker microToF II 型高分辨质谱仪(德国 Bruker 公司)。

4-哌啶酮(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司),三乙醇胺(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司),二碳酸二叔丁酯(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司),四氢呋喃(分析纯,山东富宇化工有限公司),其它试剂均为市售分析纯。

1.2 合成

1.2.1 *N*-Boc-4-哌啶酮(**2**)的合成 参考文献[10-11],在 1000 mL 多口反应瓶中加入 50 g(0.5 mol) 4-哌啶酮和 200 mL 四氢呋喃(THF),在 N_2 气保护条件下,缓慢加入 150 g(1.0 mol) 三乙醇胺和 120 g(0.55 mol) 二碳酸二叔丁酯,加完后于 70 $^\circ\text{C}$ 回流反应 12 h,薄层色谱(TLC)监控原料反应完全后,旋蒸除去溶剂 THF,加入 500 mL 二氯甲烷,用稀盐酸调节体系的 pH 值 7~8,再用饱和氯化钠溶液洗涤,有机相经干燥旋蒸得到 *N*-Boc-4-哌啶酮 82 g,收率为 82%。

1.2.2 *N*-Boc-2-氨基-噻唑并[5,4-*c*]哌啶(**3**)的合成 在装有分水器的反应瓶中,把 50 g(0.25 mol) *N*-Boc-4-哌啶酮加入 300 mL 环己烷中,再加入 20 g(0.275 mol) 吡咯烷和 0.5 g(2.63 mmol) 一水合对甲基苯磺酸,升温回流并除水,反应 5 h 后冷却至室温,过滤反应液,蒸出滤液中的环己烷和吡咯烷,将所得到的蒸馏后的产物加入 500 mL 无水吡啶中,再加入 16 g(0.5 mol) 单质硫,反应温度设定为 0 $^\circ\text{C}$,缓慢滴加 50 mL 溶有 21 g(0.5 mol) 氰胺的吡啶溶液,滴加完后缓慢升温至 90 $^\circ\text{C}$,反应 60 min 后 TLC 监控原料反应完全,冷却至室温,有大量固体析出,抽滤反应液,滤饼用 200 mL \times 3 的乙醚洗涤后烘干,得到淡黄色的产品 *N*-Boc-2-氨基-噻唑并[5,4-*c*]哌啶 38 g,收率为 59%。 ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 6.83(s, 2H), 4.26(s, 2H), 3.56(t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.44~2.40(m, 2H), 1.40(s, 9H); MS(ESI) m/z : 256.3($M+H$) $^+$; HRMS(ESI) 计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_3$ [$M-H$] $^+$: 227.0702, 实测值: 227.07041。

1.2.3 化合物 **4a**~**4j** 的合成(以化合物 **4a** 为例) 在 1000 mL 多口反应瓶中,加入 50 g(0.2 mol) *N*-Boc-2-氨基-噻唑并[5,4-*c*]哌啶、48 g(0.22 mol) 对溴乙酰基苯乙腈和 500 mL 1,4-二氧六环, N_2 气保护下,加热至回流, TLC 监控原料反应完全,降至室温,缓慢加入一定量的碳酸氢钠溶液,调节反应液 pH 值 7~8,再用 800 mL 乙酸乙酯萃取反应液 3 次,合并有机相,蒸除有机相溶剂后经硅胶柱层析分离提纯(洗脱剂: V (石油醚): V (乙酸乙酯) = 5:1) 得到 60 g 化合物 **4a**。

N-Boc-2-(4-苯腈)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-*c*]哌啶(**4a**): 浅黄色固体,收率 80%, mp 120.1~122.5 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3), δ : 7.89(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.66~7.64(m, 2H), 7.37(s, 1H), 4.54(s, 2H), 3.86(t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.79~2.76(m, 2H), 1.49(s, 9H); MS(ESI) m/z : 380.9($M+H$) $^+$ 。

N-Boc-2-叔丁基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-*c*]哌啶(**4b**): 黄色固体,收率 75%, mp 99.7~101.6 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3), δ : 7.02(s, 1H), 4.49(s, 2H), 3.81(t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.71(t, J = 5.2 Hz, 2H), 1.48(s, 9H), 1.33(s, 9H); MS(ESI) m/z : 335.8($M+H$) $^+$ 。

N-Boc-2-苯基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-*c*]哌啶(**4c**): 浅黄色固体,收率 72%, mp 123.1~124.3 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD), δ : 7.94(s, 1H), 7.79(d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.40(t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.30(t, J = 7.2 Hz, 1H), 4.58(s, 2H), 3.87(t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.85~2.82(m, 2H), 1.54(s, 9H); MS(ESI) m/z : 356.2($M+H$) $^+$ 。

N-Boc-2-三氟甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-*c*]哌啶(**4d**): 白色固体,收率 20%, mp 119.2~121.6 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3), δ : 7.63(s, 1H), 4.56(s, 2H), 3.86(t, J =

5.6 Hz, 2H), 2.79 ~ 2.78 (m, 2H), 1.48 (s, 9H); MS (ESI) m/z : 347.8 (M + H)⁺。

N-Boc-2-(4-氯代苯)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉(**4e**): 黄色固体, 收率 31%, mp 118.7 ~ 119.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.74 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.54 ~ 4.51 (m, 2H), 3.87 ~ 3.85 (m, 2H), 2.78 ~ 2.75 (m, 2H), 1.49 (s, 9H); MS (ESI) m/z : 390.1 (M + H)⁺。

N-Boc-2-(4-氟苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉(**4f**): 黄色固体, 收率 64%, mp 105.7 ~ 106.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.68 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.55 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.53 ~ 4.29 (m, 2H), 3.89 ~ 3.85 (m, 2H), 2.77 ~ 2.71 (m, 2H), 1.47 (s, 9H); MS (ESI) m/z : 386.2 (M + H)⁺。

N-Boc-2-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉(**4g**): 白色固体, 收率 76%, mp 154.1 ~ 155.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.79 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.69 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.88 ~ 2.85 (m, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.45 (s, 9H); MS (ESI) m/z : 294.4 (M + H)⁺。

N-Boc-2-异丙基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉(**4h**): 白色固体, 收率 73%, mp 146.3 ~ 147.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.56 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 3.66 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.17 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 2.64 ~ 2.57 (m, 2H), 1.65 (s, 9H), 1.38 (s, 6H); MS (ESI) m/z : 322.5 (M + H)⁺。

N-Boc-2-(4-硝基苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉(**4i**): 黄色固体, 收率 59%, mp 102.4 ~ 103.6 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.48 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.94 ~ 4.92 (m, 2H), 3.76 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.85 ~ 2.81 (m, 2H), 1.43 (s, 9H); MS (ESI) m/z : 401.4 (M + H)⁺。

N-Boc-2-(4-甲基苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2-3]噻吩并[5,4-c]哌啉(**4j**): 白色固体, 收率 54%, mp 99.5 ~ 100.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7.76 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.67 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.82 ~ 4.79 (m, 2H), 3.65 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.76 ~ 2.73 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.43 (s, 9H); MS (ESI) m/z : 370.5 (M + H)⁺。

1.2.4 化合物 **5a** ~ **5j** 的合成 (以化合物 **5a** 为例) 在反应瓶中, 将化合物 **4a** (32 g, 0.085 mol) 加入甲醇 500 mL 中, 在 0 °C 条件下, 缓慢滴加含有 4 mol/L 盐酸的甲醇溶液 100 mL, 滴加完后升至室温反应 2 h, TLC 监控原料反应完全, 蒸出一部分甲醇, 冷却析晶, 抽滤反应液得到晶体, 滤饼烘干后得到 27 g 化合物 **5a**。

4-(5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻吩并[5,4-c]吡啶-2-基)苄腈盐酸盐(**5a**): 浅黄色固体, 收率 98%, mp 167.3 ~ 169.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD), δ: 10.26 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.00 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.78 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.29 ~ 3.26 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD), δ: 165.2, 153.1, 139.4, 138.6, 131.8, 127.9, 122.2, 107.1, 101.5, 59.8, 56.3, 47.3, 42.1; MS (ESI) m/z : 281.2 (M + H)⁺; 元素分析 C₁₅H₁₃ClN₄S 实测值 (计算值)/%: C 56.89 (56.87), H 4.09 (4.14), N 17.65 (17.68); HRMS (ESI) 计算值 C₁₅H₁₂N₄S [M + H]⁺: 281.0783, 实测值: 281.0763。

2-(叔丁基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻吩并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5b**): 白色固体, 收率 98%, mp 201.3 ~ 202.6 °C; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD), δ: 10.14 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 4.67 (s, 2H), 3.88 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.58 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD), δ: 159.2, 131.4, 126.5, 122.3, 101.8, 59.1, 51.5, 42.3, 28.1, 23.6; MS (ESI) m/z : 236.1 (M + H)⁺; 元素分析 C₁₂H₁₈ClN₃S 实测值 (计算值)/%: C 53.09 (53.03), H 6.74 (6.77), N 15.49 (15.46); HRMS (ESI) 计算值 C₁₂H₁₇N₃S [M + H]⁺: 236.1143, 实测值: 236.1121。

2-苯基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻吩并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5c**): 白色固体, 收率 95%, mp 173.4 ~ 174.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, D₂O), δ: 10.23 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.72 ~ 7.66 (m, 2H), 7.60 ~

7.48(m, 3H), 4.56(s, 2H), 3.76(t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.25(t, $J = 6.0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR(100 MHz, D_2O), δ : 165.2, 153.3, 139.3, 138.6, 131.8, 127.9, 122.1, 101.5, 59.8, 56.3, 47.3, 41.9; MS(ESI) m/z : 256.3($\text{M} + \text{H}$) $^+$; 元素分析 $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 57.57(57.63), H 4.89(4.84), N 14.45(14.40); HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 256.0830, 实测值: 256.0817。

2-(三氟甲基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5d**): 白色固体, 收率 91%, mp 159.7 ~ 160.6 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD), δ : 10.12(s, 1H), 8.16(s, 1H), 3.95(s, 2H), 3.25(t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.82 ~ 2.79(m, 2H); ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD), δ : 161.4, 129.5, 122.5, 119.7, 101.4, 59.7, 52.1, 42.3, 27.3; MS(ESI) m/z : 248.2($\text{M} + \text{H}$) $^+$; 元素分析 $\text{C}_9\text{H}_9\text{ClF}_3\text{N}_3\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 38.16(38.10), H 3.14(3.20), N 14.85(14.81); HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_9\text{H}_8\text{F}_3\text{N}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 248.0391, 实测值: 248.0381。

2-(4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5e**): 黄色固体, 收率 94%, mp 161.8 ~ 162.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 10.16(s, 1H), 8.51(s, 1H), 7.87(d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.52(d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.32(m, 2H), 3.54(m, 2H), 3.11(m, 2H); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 165.2, 153.3, 139.3, 138.6, 131.8, 129.3, 124.7, 104.1, 59.8, 56.3, 47.3, 41.9; MS(ESI) m/z : 289.7($\text{M} + \text{H}$) $^+$; 元素分析 $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 51.49(51.54), H 4.04(4.02), N 12.85(12.88); HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 290.0440, 实测值: 290.0432。

2-(4-氟苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5f**): 黄色固体, 收率 89%, mp 155.7 ~ 156.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 10.21(s, 1H), 8.57(s, 1H), 7.69(d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.46(d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.29 ~ 4.25(m, 2H), 3.55 ~ 3.52(m, 2H), 3.10 ~ 3.06(m, 2H); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 164.7, 154.1, 139.3, 138.7, 132.2, 129.6, 124.5, 104.3, 59.8, 56.3, 47.5, 42.3; MS(ESI) m/z : 274.4($\text{M} + \text{H}$) $^+$; 元素分析 $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClFN}_3\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 54.19(54.28), H 4.34(4.23), N 13.55(13.56); HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{FN}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 274.0736, 实测值: 274.0718。

2-甲基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5g**): 白色固体, 收率 97%, mp 158.1 ~ 159.6 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 10.17(s, 1H), 7.97(s, 1H), 4.11(s, 2H), 3.62(t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.83(d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.21(s, 3H); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 159.6, 131.4, 130.1, 117.6, 98.9, 59.3, 53.2, 44.6, 21.7; MS(ESI) m/z : 193.2($\text{M} + \text{H}$) $^+$; 元素分析 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 46.97(47.05), H 5.34(5.27), N 18.17(18.29), HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 194.0674, 实测值: 194.0663。

2-异丙基-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5h**): 白色固体, 收率 94%, mp 184.6 ~ 185.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 10.11(s, 1H), 8.37(s, 1H), 4.33(s, 2H), 3.59(t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.21(d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 2.47 ~ 2.44(m, 2H), 1.25(s, 6H); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 160.4, 132.7, 128.9, 116.3, 100.6, 61.1, 54.8, 45.6, 32.6, 22.9; MS(ESI) m/z : 222.3($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 元素分析 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 51.31(51.25), H 6.23(6.25), N 16.37(16.30); HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 222.0987, 实测值: 222.0967。

2-(4-硝基苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5i**): 白色固体, 收率 87%, mp 192.6 ~ 193.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 10.37(s, 1H), 8.49(s, 1H), 8.17(d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.97(d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.33 ~ 4.30(m, 2H), 3.38 ~ 3.34(m, 2H), 2.95 ~ 2.91(m, 2H); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 165.9, 156.4, 136.7, 131.5, 129.6, 127.7, 121.5, 102.6, 62.3, 55.4, 42.8, 41.3; MS(ESI) m/z : 301.4($\text{M} + \text{H}$) $^+$; 元素分析 $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$ 实测值(计算值)/%: C 49.99(49.93), H 3.84(3.89), N 16.65(16.64); HRMS(ESI)计算值 $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 301.0681, 实测值: 301.0669。

2-(对甲苯基)-5,6,7,8-四氢咪唑并[2',1':2,3]噻唑并[5,4-c]吡啶盐酸盐(**5j**): 白色固体, 收率

92% ,mp 177. 5 ~ 178. 3 ℃ ; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) , δ: 10. 25 (s, 1H) , 8. 81 (s, 1H) , 7. 84 (d, *J* = 8. 8 Hz, 2H) , 7. 47 (d, *J* = 8. 8 Hz, 2H) , 4. 61 ~ 4. 59 (m, 2H) , 3. 32 (d, *J* = 8. 0 Hz, 2H) , 2. 76 ~ 2. 73 (m, 2H) , 2. 21 (s, 3H) ; ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) , δ: 160. 3, 155. 8, 136. 7, 129. 4, 127. 6, 124. 9, 118. 1, 101. 7, 65. 3, 54. 5, 42. 2, 42. 5, 27. 6; MS (ESI) *m/z*: 270. 4 (*M* + *H*)⁺ ; 元素分析 C₁₅H₁₆ClN₃S 实测值 (计算值) / % : C 58. 97 (58. 91) , H 5. 24 (5. 27) , N 13. 69 (13. 74) ; HRMS (ESI) 计算值 C₁₅H₁₅N₃S [*M* + *H*]⁺ : 270. 0987 , 实测值: 270. 0966。

1.3 抗肿瘤活性测试

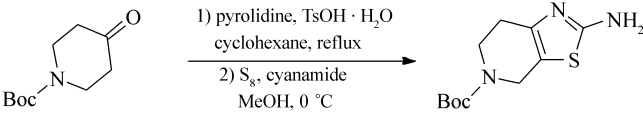
参考文献[12-13] , 收集处于生长期乳腺癌细胞 MCF-7 , 采用四唑盐 (MTT) 法对所得的目标化合物进行初步的抗肿瘤细胞活性测试。在培养瓶中加入 0. 25% 胰蛋白酶消化液, 使其贴壁细胞脱落, 制成细胞悬液 (约 4 × 10⁴ 个/mL)。将细胞悬浮液注入 96 孔板上 (180 μL/孔) , 置 37 ℃ 恒温 CO₂ 培养箱培养 24 h。加入目标化合物的二甲基甲酰胺 (DMF) 溶液 (20 μL/孔) , 再加入 80 μL 含 10% (体积分数) 血清培养液, 培养 48 h。将 MTT 加入 96 孔板中 (20 μL/孔) , 置于培养箱中 4 h。吸去上清液, 加入二甲基亚砷 (DMSO) (150 μL/孔) , 在平板摇床振摇 6 min。用酶联免疫检测仪在波长在 470 nm 处测定每孔的吸光值 (OD 值)。以未加受试药物, 而只加相应溶媒的受试组作为阴性对照, 以顺铂为阳性对照计算细胞抑制率^[10-11] , 测试 3 次求其平均值。计算公式如下: 细胞抑制率 / % = 100 × (阴性对照组 OD 值 - 受试药物组 OD 值) / 阴性对照组 OD 值。

2 结果与讨论

2.1 温度对化合物 3 合成的影响

由于水的存在会影响生成化合物 3 的反应往正向进行, 而所使用的对甲基苯磺酸含有一分子水, 且反应过程中有水产生, 因此在反应过程中通过分水器除去水来促进反应的进行。在实验过程中我们发现, 反应温度对反应收率很大影响, 为了进一步优化反应条件, 以化合物 2 反应生成化合物 3 为模型反应, 进一步研究了温度对反应收率的影响 (如表 1)。

表 1 反应温度对化合物 3 产率的影响
Table 1 Effect of the reaction temperature on the yield of compound 3



Reaction temperatures/℃	Yield / %	Reaction temperatures/℃	Yield / %
40	18	80	41
50	23	90	59
60	31	100	55
70	36	110	52

由表 1 可见, 化合物 3 的收率随温度的升高而增加, 当温度达到 90 ℃ 时收率最高, 达到了 59% , 继续升高温度会导致副产物的增加, 收率逐渐降低, 最终得出 90 ℃ 为最佳反应温度。

2.2 不同溶剂对化合物 4 合成的影响

在化合物 4a 的合成过程中, 涉及到氨基和羰基的缩合以及卤素与胺基氢的取代成环反应。为了使这两步反应充分进行, 并且减少副产物的生成, 提高产物收率, 我们对反应溶剂进行了筛选 (见表 2)。

由表 2 可知, 对于反应溶剂, 反应在 1, 4-二氧六环、苯和甲苯中比甲醇、乙醇和乙腈中效果好, 收率分别达到 80%、82% 和 76% , 说明极性较小的溶剂有利于反应; 但是当二氯甲烷为溶剂时, 收率只有 23% , 这是由于反应回流温度过低所致; 鉴于苯的毒性较大和甲苯沸点太高不易回收, 我们选择 1, 4-二氧六环为最佳反应溶剂。

- Benzothiazol-2-Ylphenyl Moiety as Inhibitors of Tumorigenesis by Oncogenic Met Signaling[J]. *Eur J Med Chem*, 2012, **47**: 239-254.
- [5] Lucas B S, Aaron W, An S, *et al.* Design of 1-Piperazinyl-4-Arylphthalazines as Potent Smoothed Antagonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, **20**(12): 3618-3622.
- [6] Aronov A M, Baker C, Bemis G W, *et al.* Flipped Out: Structure-Guided Design of Selective Pyrazolopyrrole ERK Inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2007, **50**(6): 1280-1287.
- [7] Yang Y, Engkvist O, Llinàs A, *et al.* Beyond Size, Ionization State, and Lipophilicity: Influence of Molecular Topology on Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity for Druglike Compounds[J]. *J Med Chem*, 2012, **55**(8): 3667-3677.
- [8] Munshi N, Jeay S, Li Y, *et al.* ARQ197, A Novel and Selective Inhibitor of the Human C-Met Receptor Tyrosine Kinase with Antitumor Activity[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, **9**(6): 1544-1553.
- [9] D'Angelo N D, Bellon S F, Booker S K, *et al.* Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Potent c-Met Inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2008, **51**(18): 5766-5779.
- [10] Allegretti P A, Ferreira E M. Platinum-Catalyzed Cyclizations via Carbene Intermediates: Syntheses of Complementary Positional Isomers of Isoxazoles[J]. *Chem Sci*, 2013, **4**(3): 1053-1058.
- [11] Zhuo W, Erin J M, Samantha J S. Modular Synthesis of Functionalized Bis-bispidine Tetraazamacrocycles[J]. *Org Lett*, 2011, **13**(24): 6540-6543.
- [12] YANG Ruisheng, HU Guoqiang, XIE Songqiang, *et al.* Synthesis and Antitumor Activity of 3-Methylthio-4-amino-5-pyridin-3-yl-1,2,4-triazole Schiff Bases[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2008, **25**(7): 783-786 (in Chinese).
杨锐生, 胡国强, 谢松强, 等. 3-甲硫基-4-氨基-5-(吡啶-3-基)-1,2,4-三唑席夫碱的合成及抗肿瘤活性[J]. *应用化学*, 2008, **25**(7): 783-786.
- [13] LUO Wen, LI Zhan, ZHAI Yangyang, *et al.* Synthesis and Antitumor Activity of Polyamine Derivatives of Naphthalimide[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2015, **27**(6): 886-890 (in Chinese).
罗稳, 李展, 翟洋洋, 等. 萘酰亚胺多胺衍生物的合成及其抗肿瘤活性[J]. *应用化学*, 2013, **30**(3): 265-270.

Synthesis and Antitumor Activity of Tetrahydroimidazo[2',1':2,3]thiazolo [5,4-c]piperidine Derivatives

KOU Lidong, WANG Wei*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, He'nan Engineering Laboratory of Chemical
Pharmaceutical and Biomedical Materials, He'nan Normal University, Xinxiang, He'nan 453007, China)

Abstract A series of novel 5,6,7,8-tetrahydroimidazo[2',1':2,3]thiazolo[5,4-c]piperidines was synthesized through sequential amino protection, condensation, cyclization, and deprotection reactions using piperidone as the raw material. The structures of these compounds were confirmed by proton or carbon nuclear magnetic resonance (^1H NMR, ^{13}C NMR), mass spectrometry (MS) and elemental analysis. The antitumor activities of these compounds were evaluated *in vitro*, and the results indicated that these compounds had certain inhibitory activities against MCF-7 human breast cancer cells, and the inhibitory activity of compound **5a** reached the level of strong potency with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) value of $8.6\ \mu\text{mol/L}$. It provides a reference for the antitumor activity of such compounds.

Keywords tetrahydroimidazo[2',1':2,3]thiazolo[5,4-c]piperidine; derivatives; antitumor

Received 2016-10-18; Revised 2016-12-27; Accepted 2017-03-28

Supported by the Scientific and Technological Projects of Henan Province (No. 122107000014)

Corresponding author: WANG Wei, professor engineering; Tel: 0373-3328635; E-mail: weiwang161718@163.com; Research interests: drug synthesis