

新型 1-(1,3,5-三嗪-6-基)-3-甲基-4-(5-苯基-1,3,4-噁二唑-2-基)吡唑的合成及活性评价

张成路, 孙晓娜, 李传银, 蔡继颖, 王 静, 李益政, 王华玉
(辽宁师范大学化学化工学院, 大连 116029)

摘要 设计合成了 18 个以吡唑桥连 1,3,4-噁二唑和 1,3,5-三嗪的新型多杂环分子[7A(a~f), 7B(a~f) 和 7C(a~f)]; 通过红外光谱(IR)、核磁共振波谱(NMR)和高分辨质谱(HRMS)等对目标分子进行了结构表征; 评价了目标分子对蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B(PTP1B)和细胞分裂周期 25 磷酸酯酶 B(Cdc25B)的抑制活性. 结果表明, 所有目标分子对 PTP1B 和 Cdc25B 均有较好的抑制活性, 其中, 9 个目标分子表现出优异的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制效果, IC_{50} 值低于齐墩果酸(PTP1B 抑制活性测试参照物)和正钒酸钠(Cdc25B 抑制活性测试阳性参照物), 有望成为潜在的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制剂.

关键词 吡唑; 1,3,4-噁二唑; 1,3,5-三嗪; PTP1B 抑制剂; Cdc25B 抑制剂

中图分类号 O626 **文献标志码** A

多杂环分子具有高度的结构多样性并在治疗剂等方面得到广泛应用^[1-3], 其中吡唑、1,3,4-噁二唑、1,3,5-三嗪和吗啉等结构基元已成为构筑活性优良药物分子的活性组块. 吡唑杂环在一些具有广泛生物活性的分子中起着关键性作用^[4,5], 如临床用于治疗男性勃起功能障碍的药物西地那非(见图 1), 用于抗炎、镇痛及退热的药物塞来昔布(西乐葆, 见图 1), 作为 CB1 受体拮抗剂能显著降低糖化血红蛋白和血脂异常, 可用于治疗 II 型糖尿病和肥胖症状的临床药物利莫那班^[6](见图 1)中均含有吡唑基元, 显示出吡唑杂环在药物研究中的重要价值. 1,3,5-三嗪衍生物作为一类重要的杂环化合物,

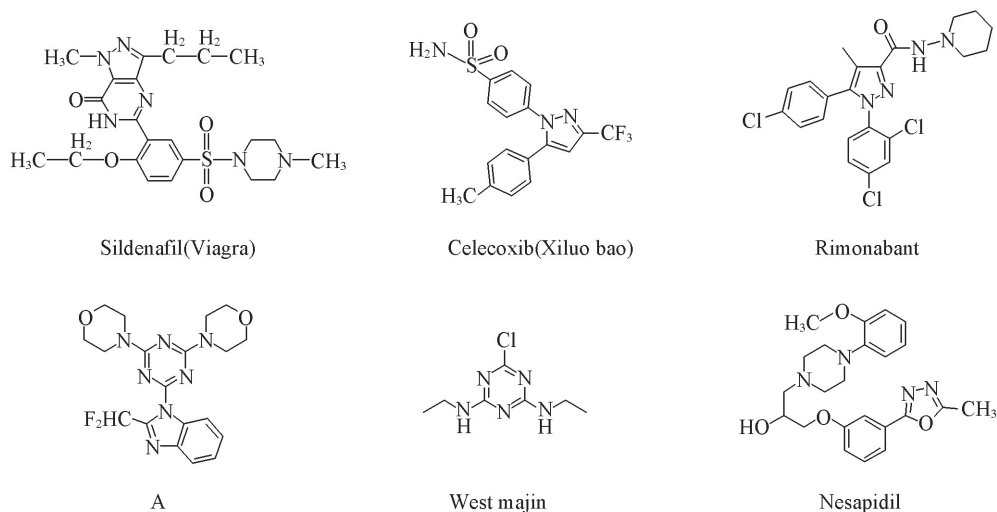


Fig.1 Some clinical drugs containing pyrazole, 1,3,5-triazine and 1,3,4-oxadiazole

收稿日期: 2017-04-19. 网络出版日期: 2017-09-08.

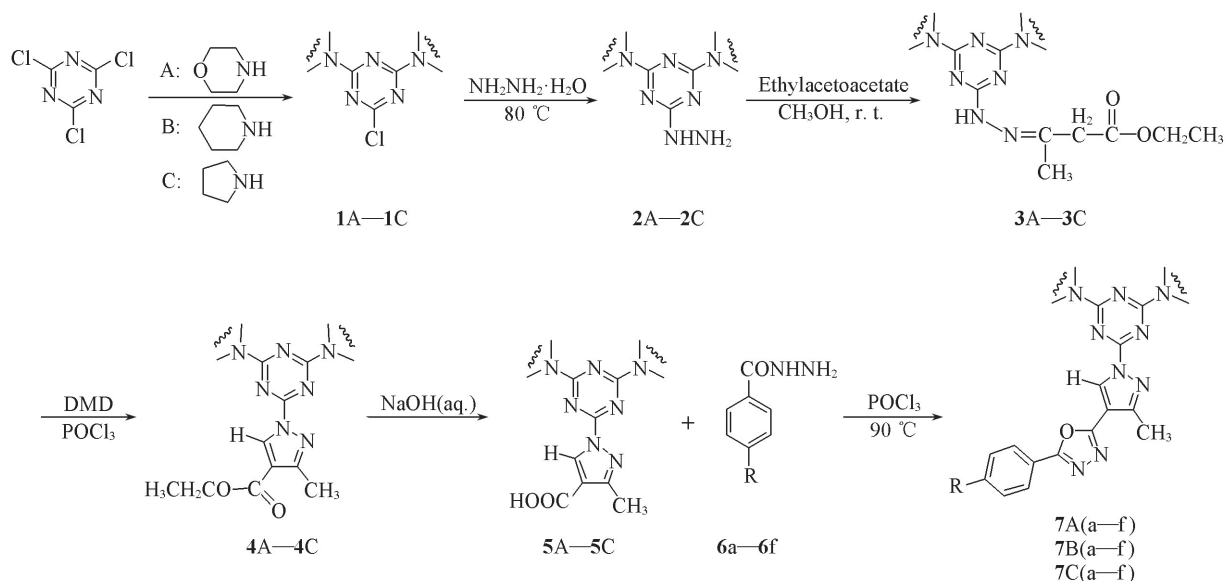
基金项目: 辽宁省教育厅科学技术项目(批准号: 2009A426)资助.

联系人简介: 张成路, 男, 博士, 教授, 主要从事有机合成方面的研究. E-mail: zhangchenglu@lnnu.edu.cn

因具有抗癌、抗疟疾和抗病毒等活性^[7-13]而备受关注,其广谱的医学应用,特别是具有抗肿瘤活性的药物分子 A 和具有优异除草活性西玛津(见图 1)^[14]等的发现,吸引了众多合成工作者的关注. 1,3,4-噁二唑杂环分子具有抗菌、抗病毒和镇痛等活性^[15],抗高血压临床药物奈沙地尔^[16](见图 1)便是其中之一. 综合吡唑、1,3,4-噁二唑和 1,3,5-三嗪等结构基元多样的药理活性,将其构筑于同一分子中有望发现活性优良的新型药物分子先导物.

蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B(PTP1B)是第一个被鉴定的蛋白酪氨酸磷酸酯酶,通过对胰岛素受体的去磷酸化,其在调节胰岛素敏感性和脂肪代谢过程中起到重要作用. PTP1B 的负面调节作用还与肿瘤等许多疾病相关,因此研制高活性的 PTP1B 抑制剂在糖尿病和癌症治疗中具有重要的价值. 细胞分裂周期 25 磷酸酯酶 B(Cdc25B)的活性调节主要通过磷酸化和去磷酸化实现^[17,18]. Cdc25B 是潜在的癌基因,在大量人类癌症肿瘤细胞系过度表达. 因此, Cdc25B 已被确定为抗癌治疗的潜在靶标^[19],小分子 Cdc25B 抑制剂极有希望成为一种新的有效治疗癌症的药物^[20].

为了构筑具有新型结构的分子和筛选出具有优良活性的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制剂,并研究分子的构效关系,本文通过吡唑基元将 1,3,5-三嗪和 1,3,4-噁二唑杂环对接,并在分子中的苯环 4 号位上引入不同取代基,设计合成了 18 个新型目标分子,以期筛选出 PTP1B 和 Cdc25B 抑制剂. 合成路线如 Scheme 1 所示.



Scheme 1 Synthetic routes of the target compounds

a. R=H; b. R=CH₃; c. R=OH; d. R=OCH₃; e. R=Cl; f. R=NH₂.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

三聚氯氰、吗啉、六氢吡啶、吡咯烷、水合肼、乙酰乙酸乙酯、甲醇、*N,N*-二甲基甲酰胺、氢氧化钠、四氢呋喃和乙醇均购自天津市科密欧化学试剂有限公司;三氯氧磷、苯甲酰肼、对甲基苯甲酰肼、对羟基苯甲酰肼、对甲氧基苯甲酰肼、对氯苯甲酰肼和对氨基苯甲酰肼均购自国药集团化学试剂有限公司;以上试剂均为分析纯.

BRUKER Avance-500MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司, CDCl₃为溶剂); TENSOR 27 型傅里叶变换红外光谱仪(德国 Bruker AXS 公司).

1.2 实验过程

1.2.1 1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)(1A~1C)的合成 参考文献[21]方法合成化合物 1A~1C, 熔点数据列于表 1.

Table 1 Melting points for compounds 1A—1C and 2A

Compd.	m. p. (Ref.)/°C	Compd.	m. p. (Ref.)/°C
1A	173. 1—173. 9(173—174 ^[21])	1C	112. 9—113. 7(112—115 ^[21])
1B	114. 6—115. 5(114—117 ^[21])	2A	171. 7—172. 6(171—173 ^[14])

1.2.2 2-胍基-1,3,5-三嗪-双取代(2A~2C)的合成 参考文献[14]方法合成化合物2A~2C, 化合物2A的熔点数据列于表1.

1.2.3 脲衍生物(3A~3C)的合成 取2-胍基-1,3,5-三嗪-双取代物(吗啉/哌啶/吡咯烷)(2A~2C, 0.01 mol)于100 mL圆底烧瓶中, 加入15 mL无水甲醇和乙酰乙酸乙酯(0.04 mol), 室温下搅拌反应2.5 h, 用薄层色谱(TLC)监测反应进程, 待反应完全, 蒸除无水甲醇, 加入少量水, 室温下搅拌过夜, 有固体析出, 过滤, 得产物3A~3C.

1.2.4 1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(4A~4C)的合成 向100 mL的三口瓶中加入脲衍生物(3A~3C, 0.01 mol)和7 mL *N,N*-二甲基甲酰胺, 室温下搅拌, 待固体完全溶解后, 在冰盐浴下缓慢滴加4 mL新蒸 POCl₃, 冰盐浴下继续搅拌0.5 h后, 移至室温下搅拌3 h, 将反应液倒入200 mL冰水中搅拌, 用稀 NaOH 溶液调节 pH=7, 有固体析出, 过滤. 固体用乙醇重结晶, 得产物4A~4C.

1.2.5 1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸(5A~5C)的合成 向100 mL圆底烧瓶中加入1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(4A~4C, 0.01 mol)、7 mL无水乙醇和7 mL四氢呋喃, 60 °C下搅拌回流, 待固体完全溶解后, 加入20 mL NaOH 溶液(2 mol/L), 继续反应6 h, 用TLC监测反应进程, 待反应完全, 蒸除无水乙醇和四氢呋喃, 用稀盐酸2 mol/L调节 pH=4~5, 有固体析出, 过滤. 固体用乙醇重结晶, 得产物5A~5C.

1.2.6 1,3,5-三嗪-1,3,4-噁二唑-1H-吡唑衍生物[7A(a~f), 7B(a~f)和7C(a~f)]的合成 向100 mL三口瓶中加入取代苯甲酰胍(0.001 mol)和6 mL新蒸 POCl₃, 升温至90 °C, 回流加热搅拌, 待固体完全溶解后, 加入化合物1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸(5A~5C, 0.0011 mol), 继续反应6 h, 停止反应, 将反应液倒入200 mL冰水混合物中搅拌, 有固体析出, 过滤. 固体用乙醇重结晶, 得目标产物.

化合物2B, 2C, 3A~3C, 4A~4C, 5A~5C, 7A(a~f), 7B(a~f)和7C(a~f)的理化性质及核磁数据分别列于表2~表4.

Table 2 Appearance, yields, melting points, IR and HRMS data for compounds 2B, 2C, 3A—3C, 4A—4C, 5A—5C, 7A(a—f), 7B(a—f) and 7C(a—f)

Compd.	Appearance	Yield (%)	m. p./°C	HRMS(positive-SIMS)	
				<i>m/z</i> (calcd.), [M+H] ⁺	IR(KBr), $\tilde{\nu}$ /cm ⁻¹
2B	White solid	75	192. 3—193. 2	278. 2023(278. 2015)	3350, 3288, 2940, 1627, 1105
2C	White solid	78	202. 6—203. 1	250. 1711(250. 1702)	3352, 3285, 2933, 1625, 1110
3A	White solid	88	78. 6—79. 5	394. 2128(394. 2125)	3332, 2940, 2850, 1740, 1690, 1375, 1250
3B	White solid	86	86. 8—87. 2	390. 2546(390. 2539)	3312, 2935, 2850, 1728, 1680, 1370, 1250
3C	White solid	71	125. 0—126. 0	362. 2235(362. 2226)	3340, 2940, 2860, 1735, 1670, 1375, 1252
4A	Yellow solid	55	230. 2—230. 9	404. 1962(404. 1968)	3030, 2962, 1740, 1690, 1634, 1375, 1250, 1110
4B	Yellow solid	61	137. 1—138. 0	400. 2375(400. 2383)	3031, 2951, 1730, 1670, 1630, 1370, 1230, 1110
4C	Yellow solid	60	176. 6—177. 1	372. 2079(372. 2070)	3030, 2960, 1740, 1675, 1630, 1370, 1250, 1105
5A	Yellow solid	70	>300	376. 1662(376. 1655)	3436, 3031, 2950, 1740, 1682, 1630, 1380, 1250, 1105
5B	Yellow solid	79	>300	372. 2078(372. 2070)	3440, 3030, 2947, 1760, 1680, 1635, 1380, 1105
5C	Yellow solid	70	278. 9—279. 7	344. 1766(344. 1757)	3430, 3035, 2940, 1745, 1670, 1632, 1375, 1110

Continued

Compd.	Appearance	Yield(%)	m. p./°C	HRMS(positive-SIMS) <i>m/z</i> (calcd.), [M+H] ⁺	IR(KBr), $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$
7Aa	Yellow solid	67	170. 1—170. 9	476. 2080(476. 2085)	3030, 2945, 1634, 1601, 1555, 1429, 1380, 1250, 1097, 745
7Ab	Yellow solid	63	168. 3—169. 7	490. 2237(490. 2241)	3031, 2930, 1640, 1610, 1541, 1438, 1375, 1250, 1105, 838
7Ac	Yellow solid	60	280. 1—280. 9	492. 2030(492. 2024)	3280, 3030, 2935, 1642, 1621, 1545, 1432, 1380, 1230, 1105, 840
7Ad	Brownish solid	61	163. 4—164. 6	506. 2186(506. 2179)	3030, 2935, 1630, 1601, 1550, 1450, 1380, 1200, 1100, 841
7Ae	Yellow solid	58	195. 6—196. 4	510. 1691(510. 1699)	3030, 2940, 1635, 1613, 1545, 1431, 1380, 1210, 1100, 824
7Af	Yellow solid	51	202. 9—204. 1	491. 2189(491. 2198)	3426, 3030, 2940, 1630, 1610, 1540, 1425, 1380, 1210, 1092, 835
7Ba	Brownish solid	62	180. 0—181. 8	472. 2495(472. 2488)	3030, 2935, 1630, 1610, 1545, 1441, 1375, 1240, 1090, 709
7Bb	Yellow solid	62	198. 7—199. 3	486. 2652(486. 2649)	3030, 2930, 1635, 1615, 1540, 1440, 1375, 1245, 1100, 845
7Bc	Brownish solid	50	230. 2—231. 7	488. 2444(488. 2436)	3260, 3030, 2940, 1635, 1625, 1540, 1445, 1380, 1200, 1102, 825
7Bd	Yellow solid	68	240. 7—242. 0	502. 2601(502. 2606)	3030, 2940, 1631, 1615, 1545, 1438, 1375, 1225, 1095, 831
7Be	Yellow solid	50	165. 3—166. 1	506. 2105(506. 2114)	3030, 2930, 1630, 1610, 1540, 1445, 1375, 1225, 1100, 811
7Bf	Yellow solid	47	232. 8—233. 8	487. 2604(487. 2607)	3425, 3030, 2940, 1635, 1612, 1543, 1445, 1375, 1220, 1105, 836
7Ca	Brownish solid	67	138. 3—139. 9	444. 2182(444. 2174)	3035, 2930, 1635, 1612, 1543, 1435, 1375, 1235, 1105, 735
7Cb	Yellow solid	52	171. 1—172. 0	458. 2339(458. 2347)	3030, 2930, 1651, 1610, 1540, 1430, 1375, 1220, 1110, 839
7Cc	Yellow solid	40	212. 2—213. 1	460. 2131(460. 2139)	3265, 3030, 2940, 1635, 1625, 1540, 1438, 1380, 1229, 1105, 831
7Cd	Brownish solid	42	222. 4—223. 4	474. 2288(474. 2292)	3030, 2940, 1645, 1612, 1540, 1440, 1375, 1210, 1110, 845
7Ce	Yellow solid	39	175. 9—176. 5	478. 1792(478. 1788)	3030, 2945, 1635, 1610, 1535, 1445, 1380, 1205, 1105, 814
7Cf	Yellow solid	38	222. 6—223. 2	459. 2291(459. 2298)	3424, 3030, 2945, 1650, 1615, 1530, 1445, 1375, 1240, 1115, 845

Table 3 ¹H NMR for compounds 2B, 2C, 3A—3C, 4A—4C, 5A—5C, 7A(a—f), 7B(a—f) and 7C(a—f) *

Compd.	¹ H NMR(500 MHz), δ
2B	6. 10(s, 1H), 4. 01(s, 2H), 3. 75(t, <i>J</i> =4. 9 Hz, 8H), 1. 66—1. 62(m, 12H)
2C	6. 15(s, 1H), 3. 99(s, 2H), 3. 55—3. 50(m, 8H), 2. 05—1. 89(m, 8H)
3A	7. 68(s, 1H), 4. 21(q, <i>J</i> =7. 2 Hz, 2H), 3. 79—3. 71(m, 16H), 3. 36(s, 2H), 2. 27(s, 3H), 1. 30(t, <i>J</i> =7. 2 Hz, 3H)
3B	7. 61(s, 1H), 4. 17(q, <i>J</i> =7. 1 Hz, 2H), 3. 74(t, <i>J</i> =4. 9 Hz, 8H), 3. 34(s, 2H), 2. 15(s, 3H), 1. 63—1. 50(m, 12H), 1. 29(t, <i>J</i> =7. 1 Hz, 3H)
3C	7. 65(s, 1H), 4. 17(q, <i>J</i> =7. 1 Hz, 2H), 3. 57—3. 50(m, 8H), 3. 43(s, 2H), 2. 15(s, 3H), 2. 0—1. 86(m, 8H), 1. 28(t, <i>J</i> =7. 1 Hz, 3H)
4A	8. 86(s, 1H), 4. 26(q, <i>J</i> =7. 1 Hz, 2H), 3. 81—3. 65(m, 16H), 2. 43(s, 3H), 1. 31(t, <i>J</i> =7. 1 Hz, 3H)
4B	9. 04(s, 1H), 4. 34(q, <i>J</i> =7. 0 Hz, 2H), 3. 71(t, <i>J</i> =4. 9 Hz, 8H), 2. 58(s, 3H), 1. 67—1. 53(m, 12H), 1. 37(t, <i>J</i> =7. 0 Hz, 3H)
4C	8. 95(s, 1H), 4. 31(q, <i>J</i> =7. 1 Hz, 2H), 3. 71—3. 59(m, 8H), 2. 56(s, 3H), 2. 10—1. 87(m, 8H), 1. 37(t, <i>J</i> =7. 1 Hz, 3H)
5A	12. 63(s, 1H), 8. 92(s, 1H), 3. 80—3. 63(m, 16H), 2. 41(s, 3H)
5B	12. 38(s, 1H), 9. 02(s, 1H), 3. 74(t, <i>J</i> =5. 0 Hz, 8H), 2. 58(s, 3H), 1. 63—1. 52(m, 12H)
5C	12. 11(s, 1H), 9. 06(s, 1H), 3. 80—3. 59(m, 8H), 2. 58(s, 3H), 1. 95—1. 86(m, 8H)
7Aa	8. 96(s, 1H), 7. 87(d, <i>J</i> =7. 5 Hz, 2H), 7. 75—7. 60(m, 3H), 3. 79—3. 62(m, 16H), 2. 34(s, 3H)

Continued

Compd.	$^1\text{H NMR (500 MHz), } \delta$
7Ab	8.91(s, 1H), 8.01(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.43(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.74—3.60(m, 16H), 2.42(s, 3H), 2.33(s, 3H)
7Ac	10.17(s, 1H), 8.90(s, 1H), 8.12(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.40(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.79—3.62(m, 16H), 2.34(s, 3H)
7Ad	8.90(s, 1H), 8.06(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.16(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 3.85(s, 3H), 3.81—3.62(m, 16H), 2.39(s, 3H)
7Ae	8.90(s, 1H), 8.13(d, $J=8.25$ Hz, 2H), 7.62(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 3.75—3.55(m, 16H), 2.41(s, 3H)
7Af	8.89(s, 1H), 7.90(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.71(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 5.60(s, 2H), 3.76—3.61(m, 16H), 2.40(s, 3H)
7Ba	8.82(s, 1H), 7.90(d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.64—7.51(m, 3H), 3.49(t, $J=4.9$ Hz, 8H), 2.36(s, 3H), 1.88—1.61(m, 12H)
7Bb	8.83(s, 1H), 8.01(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.43(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.74(t, $J=4.9$ Hz, 8H), 2.49(s, 3H), 2.36(s, 3H), 1.61—1.51(m, 12H)
7Bc	10.13(s, 1H), 8.83(s, 1H), 8.09(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.23(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.75(t, $J=4.9$ Hz, 8H), 2.41(s, 3H), 1.61—1.51(m, 12H)
7Bd	8.83(s, 1H), 8.04(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.10(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 3.80(s, 3H), 3.69(t, $J=4.9$ Hz, 8H), 2.41(s, 3H), 1.60—1.50(m, 12H)
7Be	8.83(s, 1H), 8.09(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.57(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 3.72(t, $J=4.9$ Hz, 8H), 2.40(s, 3H), 1.61—1.51(m, 12H)
7Bf	8.83(s, 1H), 7.81(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.70(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 5.61(s, 2H), 3.73(t, $J=4.9$ Hz, 8H), 2.41(s, 3H), 1.60—1.52(m, 12H)
7Ca	8.82(s, 1H), 7.91(d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.64—7.48(m, 3H), 3.56—3.46(m, 8H), 2.40(s, 3H), 1.92—1.82(m, 8H)
7Cb	8.82(s, 1H), 7.98(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.39(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.57—3.45(m, 8H), 2.42(s, 3H), 2.36(s, 3H), 1.92—1.84(m, 8H)
7Cc	10.12(s, 1H), 8.86(s, 1H), 7.99(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.32(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.56—3.45(m, 8H), 2.42(s, 3H), 1.93—1.84(m, 8H)
7Cd	8.82(s, 1H), 8.02(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.16(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 3.85(s, 3H), 3.53—3.48(m, 8H), 2.39(s, 3H), 1.88—1.79(m, 8H)
7Ce	8.82(s, 1H), 8.17(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.60(d, $J=8.3$ Hz, 2H), 3.57—3.48(m, 8H), 2.42(s, 3H), 1.92—1.85(m, 8H)
7Cf	8.83(s, 1H), 7.89(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.80(d, $J=8.2$ Hz, 2H), 5.60(s, 2H), 3.50—3.41(m, 8H), 2.42(s, 3H), 1.87—1.80(m, 8H)

* Compounds 2B, 2C, 3A—3C, 4A—4C and 5A—5C in CDCl_3 , compounds 7A(a—f), 7B(a—f) and 7C(a—f) in DMSO-d_6 .

Table 4 $^{13}\text{C NMR}$ for compounds 5A—5C, 7A(a—f), 7B(a—f) and 7C(a—f) *

Compd.	$^{13}\text{C NMR (500 MHz), } \delta$
5A	172.05, 170.86, 166.52, 140.33, 136.66, 104.32, 64.88, 43.97, 13.56
5B	172.21, 170.63, 166.25, 140.82, 136.73, 104.25, 47.72, 25.65, 22.18, 13.75
5C	172.18, 170.77, 166.33, 141.15, 136.23, 104.37, 54.68, 25.32, 13.68
7Aa	170.57, 166.58, 162.52, 141.16, 140.30, 137.58, 133.83, 131.27, 129.39, 127.27, 104.28, 64.96, 44.78, 13.82
7Ab	170.56, 166.57, 162.54, 141.05, 140.35, 137.57, 135.24, 129.35, 127.20, 125.27, 104.27, 64.86, 44.57, 20.37, 13.97
7Ac	170.56, 166.59, 162.57, 146.29, 141.17, 137.54, 136.68, 131.26, 124.27, 122.13, 104.25, 64.57, 44.28, 13.90
7Ad	170.23, 166.44, 162.54, 148.29, 141.34, 138.66, 137.52, 131.68, 123.25, 120.14, 104.25, 64.28, 55.18, 44.39, 13.92
7Ae	170.48, 166.25, 162.33, 141.06, 140.12, 137.28, 132.29, 125.23, 122.82, 120.35, 104.27, 64.57, 44.35, 13.92
7Af	170.48, 166.62, 162.19, 141.26, 139.55, 137.33, 132.12, 125.76, 122.93, 120.34, 104.58, 64.29, 44.47, 13.83
7Ba	170.27, 166.47, 162.47, 141.12, 140.44, 137.54, 133.82, 131.27, 129.25, 127.26, 104.10, 47.64, 25.06, 22.37, 13.83
7Bb	170.45, 166.52, 162.54, 141.17, 139.86, 137.58, 135.25, 129.34, 127.20, 125.16, 104.27, 47.58, 25.62, 22.27, 20.32, 13.67
7Bc	170.87, 166.48, 162.57, 146.27, 141.28, 137.39, 136.52, 131.79, 124.64, 122.36, 104.20, 47.56, 25.36, 22.13, 13.97
7Bd	170.29, 166.48, 162.39, 148.29, 141.37, 137.23, 136.58, 131.54, 123.25, 120.38, 104.25, 55.29, 47.64, 25.36, 22.77, 13.97
7Be	170.43, 166.06, 162.32, 141.12, 140.01, 137.35, 132.59, 125.22, 122.37, 120.45, 104.43, 47.28, 25.62, 22.39, 13.66
7Bf	170.48, 166.25, 162.15, 141.23, 140.21, 137.22, 132.34, 125.35, 122.87, 120.28, 104.37, 47.25, 25.42, 22.77, 13.98
7Ca	170.55, 166.58, 162.32, 141.23, 139.88, 137.63, 133.25, 131.27, 129.42, 127.16, 104.15, 54.76, 25.03, 13.82
7Cb	170.27, 166.42, 162.38, 141.22, 140.22, 137.61, 135.24, 129.35, 127.10, 125.28, 104.07, 54.97, 25.38, 22.02, 13.79
7Cc	170.31, 166.28, 162.38, 146.27, 141.17, 137.58, 136.25, 131.25, 124.30, 122.23, 104.05, 54.28, 25.66, 13.62
7Cd	170.28, 166.34, 162.25, 148.17, 141.32, 137.55, 136.82, 131.43, 123.57, 120.26, 104.25, 56.27, 54.28, 25.66, 13.82
7Ce	170.29, 166.42, 162.27, 141.02, 139.95, 137.25, 132.28, 125.23, 122.45, 120.46, 104.25, 54.28, 25.46, 13.93
7Cf	170.48, 166.27, 162.38, 141.27, 140.78, 137.33, 132.14, 125.78, 122.28, 120.34, 104.25, 54.28, 25.34, 13.92

* Compounds 5A—5C in CDCl_3 , compounds 7A(a—f), 7B(a—f) and 7C(a—f) in DMSO-d_6 .

1.2.7 PTP1B 和 Cdc25B 的抑制活性 采用光吸收检测法对目标化合物的活性进行了测试. 将样品用二甲基亚砷溶解, 低温保存, 在初筛选择单浓度条件下, 对样品的活性进行测试. 对于抑制率大于 50% 的样品, 测试活性剂量依赖关系(即 IC_{50} 值)通过样品活性对样品浓度进行非线性拟合得到, 再进行进一步的筛选. IC_{50} 值参照文献[22,23]方法测定.

2 结果与讨论

2.1 目标化合物的合成与表征

通过吡唑杂环将 1,3,5-三嗪环和 1,3,4-噁二唑杂环连接, 并引入不同芳香基团取代基, 可高效、简捷地将不同活性基团构筑于同一分子中; 通过 IR, 1H NMR 和 HRMS 等方法对目标化合物进行了表征. IR 谱图中, 3100 和 1620~1450 cm^{-1} 处的峰表明所有目标分子结构中均存在芳香环; 3030 cm^{-1} 处的峰为苯环上 C—H 吸收峰, 1650 cm^{-1} 处的峰为 C=N 吸收峰, 1250 cm^{-1} 处为 C—O 吸收峰, 初步表明芳香基团和噁唑等结构的存在. 1H NMR 谱图中, 在 δ 1.4~1.6 和 3.6~3.8 范围内出现的质子信号表明哌啶、吡咯烷和吗啉结构构筑成功; 在 δ 8.9 处为吡唑环=CH—上的质子信号, 在 δ 2.4 处为吡唑环上—CH₃的质子信号, 表明已构筑吡唑环; 在 δ 8.0 和 7.6 处为芳环的质子信号, 表明芳环的存在. ^{13}C NMR 谱图中, δ 170 和 166 处的信号表明三嗪的存在; δ 65~44 和 25~22 处的信号表明哌啶、吡咯烷和吗啉结构已构筑成功; δ 141~136 和 104 处的信号表明吡唑环构筑成功; δ 162 和 148~141 处的信号表明噁二唑构筑成功; δ 137~120 处的信号表明苯环的存在. 在 HRMS 谱图中, 所有化合物均出现了 $[M+1]^+$ 峰, 如化合物 7Aa. 上述结构分析表明, 通过本文方法已合成目标分子.

2.2 PTP1B 和 Cdc25B 抑制活性测试

目标化合物初筛选择的浓度均为 20 $\mu g/mL$, 然后选择抑制率大于 50% 的化合物, 样品浓度为 5 $\mu g/mL$, 进行复筛, 得出抑制活性剂量依赖关系, 即 IC_{50} 值, 其中 PTP1B 抑制活性以齐墩果酸为对照物, Cdc25B 抑制活性以 Na_3VO_4 为对照物. 该实验由国家新药中心协助完成, 结果如表 5 所示.

Table 5 Inhibiting activity of target compounds against PTP1B and Cdc25B

Compd.	PTP1B ^a		Cdc25B ^b	
	Inhibition ^c (%)	$IC_{50}^d/(\mu g \cdot mL^{-1})$	Inhibition ^c (%)	$IC_{50}^d/(\mu g \cdot mL^{-1})$
7Aa	65.03±3.09	9.04±1.37	88.00±1.36	6.75±0.42
7Ab	73.95±1.99	8.69±1.61	91.30±1.81	5.19±0.35
7Ac	91.02±1.82	1.08±0.07	92.50±0.06	1.59±0.01
7Ad	81.44±3.93	8.01±0.58	81.12±0.16	3.90±0.05
7Ae	90.63±0.51	1.19±0.05	93.74±0.31	1.81±0.04
7Af	93.74±0.87	1.02±0.08	90.02±0.22	1.50±0.21
7Ba	96.77±0.26	2.64±0.01	98.82±0.33	3.11±0.00
7Bb	95.53±0.06	2.53±0.10	95.80±1.49	2.58±0.07
7Bc	98.31±0.54	0.79±0.00	95.45±0.08	0.39±0.02
7Bd	96.81±0.68	1.71±0.34	91.19±1.34	2.47±0.30
7Be	97.08±0.44	1.05±0.01	90.00±6.67	1.34±0.05
7Bf	96.93±0.01	0.74±0.06	96.65±0.16	0.32±0.52
7Ca	76.60±6.47	8.58±1.66	87.34±0.05	6.62±0.36
7Cb	84.00±0.04	8.33±0.08	93.33±0.51	3.16±0.72
7Cc	91.60±0.10	0.84±0.06	97.91±0.34	0.69±0.10
7Cd	86.11±1.29	7.91±1.49	90.98±4.50	3.02±0.21
7Ce	91.09±0.32	1.10±0.07	97.84±0.98	1.43±0.07
7Cf	95.14±0.15	0.89±0.04	93.17±1.30	0.59±0.13

a. Oleonic acid [$IC_{50} = (1.25 \pm 0.09) \mu g/mL$] as a positive control; b. Na_3VO_4 [$IC_{50} = (1.86 \pm 0.24) \mu g/mL$] as a positive control; c. values tested at 20 $\mu g/mL$ concentration; d. values calculated by nonlinear fitting through the inhibition rate at 5 $\mu g/mL$ concentration.

综上, 合成的 18 个吡唑与 1,3,5-三嗪和 1,3,4-噁二唑对接的新型多杂环目标分子[7A(a~f), 7B(a~f)和 7C(a~f)]均表现出优良的 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性, 所有目标分子初筛抑制率均达到 50% 以上. IC_{50} 值测定结果表明, 其中各 9 个目标分子表现出优异的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制效果, 有望成为潜在的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制剂.

通过构效分析发现,含有哌啶基团的目标化合物较含吗啉和吡咯基团的目标化合物普遍具有更高的抑制活性,表明哌啶基团的亲水性对于 PTP1B 和 Cdc25B 的抑制具有显著的促进作用. 对比测试结果发现,目标分子中引入氨基、羟基和卤素氯原子可同时展现出更优良的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制活性,其原因可能是氯原子的引入增大了分子脂溶性,使其易与受体结合;氨基和羟基自身氢键存在时,由于目标分子与生物大分子间产生氢键作用,使目标分子与生物大分子导向结合,增加其与受体分子的亲和力和选择性,使目标分子更易与受体相结合,发生更有效的作用,对 PTP1B 和 Cdc25B 产生更优良的抑制活性. 在目标分子的结构上,由于多杂环和多杂原子的特征,使其与生物大分子更具相似度,多位点作用发挥了活性叠加的功效,新型目标分子结构排布合理,构建了大的共轭体系,使电子移动和偏移成为可能,在与生物大分子作用时,能体现较好的平面性和刚性的特征.

由此可见,通过对吡啶、1,3,4-噁二唑和 1,3,5-三嗪杂环体系不同位点进行结构修饰,达到了预期目的,可筛选出对 PTP1B 和 Cdc25B 具有优良抑制活性的目标分子,该类分子有望成为潜在的 PTP1B 和 Cdc25B 抑制剂,成为抗癌和抗糖尿病药物先导物.

3 结 论

将吡啶、1,3,5-三嗪和 1,3,4-噁二唑等药效基团拼合于同一分子中,构筑了一类活性优良的新型分子. 该类分子表现出优异的蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (PTP1B) 和细胞分裂周期 25 磷酸酯酶 B (Cdc25B) 抑制活性,尤其是在 PTP1B 和 Cdc25B 的抑制活性测试中发现,分别有 9 个目标分子抑制活性高于对应的阳性参照物,有望成为新型 PTP1B 和 Cdc25B 抑制剂. 本文结果证明了分子结构的相似性、大共轭体系和氢键等因素在活性表达中的重要作用,为抗糖尿病和抗肿瘤药物先导物的筛选提供了参考.

参 考 文 献

- [1] Krchůč V., Holladay M. V., *Chem. Rev.*, **2002**, 102(1), 61—92
- [2] Wang H. Y., Liu J. B., Lu J. R., Ying M., Yang X. Y., Yang S. X., Ma Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2016**, 37(2), 246—253 (王宏韞, 刘金彪, 卢俊瑞, 应明, 杨旭云, 杨树勋, 马瑶. 高等学校化学学报, **2016**, 37(2), 246—253)
- [3] Zhang Y., Wang B. L., Zhan Y. Z., Zhang L. Y., Li Y. H., Li Z. M., *Chem. J. Chinese Universities*, **2016**, 37(6), 1100—1107 (张燕, 王宝雷, 詹益周, 张丽媛, 李永红, 李正名. 高等学校化学学报, **2016**, 37(6), 1100—1107)
- [4] Bertuzzi G., Locatelli E., Colecchia D., Colecchia D., Calandro P., Bonini B. F., Chandanshive J. Z., Mazzanti A., Zani P., Chiariello M., Franchini M., *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 117, 1—7
- [5] Rathelot P., Azas N., El-Kashef H., Delmas F., Giorgio C. D., Timon-David P., Maldonado J., Vanelle P., *Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, 37(8), 671—679
- [6] Silvestri R., Cascio M. G., Regina G. L., Piscitelli F., Lavecchia A., Brizzi A., Pasquini S., Botta M., Novellino E., Marzo V. D., Corelli F., *J. Med. Chem.*, **2008**, 51(6), 1560—1576
- [7] Zhou C., Min J., Liu Z., Young A., Deshazer H., Gao T., Chang Y. T., Kallenbach N. R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18(4), 1308—1311
- [8] Srinivas K., Srinivas U., Bhanuprakash K., Harakishore K., Murthy U. S. N., Rao V. J., *Eur. J. Med. Chem.*, **2006**, 41(11), 1240—1246
- [9] Ojha H., Gahlot P., Tiwari A. K., Pathak M., Kakkar R., *J. Pept. Res.*, **2011**, 77(77), 57—62
- [10] Menicagli R., Samaratani S., Signore G., Vaglini F., Via L. D., *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(19), 4649—4652
- [11] Garaj V., Puccetti L., Fasolis G., Winum J. Y., Montero J. L., Scozzafava A., Vullo D., Innocenti A., Supuran C. T., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 15(12), 3102—3108
- [12] Melato S., Prosperi D., Coghi P., Basilico N., Monti D., *Chem. Med. Chem.*, **2008**, 3(6), 873—876
- [13] Xiong Y. Z., Chen F. E., Balzarini J., Clercq E. D., Pannecouque C., *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43(6), 1230—1236
- [14] Zhu W., Liu Y., Zhao Y., Wang H., Tan L., Fan W., Gong P., *Arch. Pharm.*, **2012**, 345(10), 812—821
- [15] Mo Q. J., Duan W. G., Li X. R., Huang D. P., Luo Z. J., *Chin. J. Org. Chem.*, **2011**, 31(7), 1114—1121 (莫启进, 段文贵, 李行任, 黄丹平, 罗湛江. 有机化学, **2011**, 31(7), 1114—1121)
- [16] Desai N. C., Bhatt N., Somani H., Trivedi A., *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, 67(17), 54—59
- [17] Lavecchia A., Giovanni C. D., Pesapane A., Montuori N., Ragno P., Martucci N. M., Masullo M., Vendittis E. D., Novellino E.,

J. Med. Chem., **2012**, 55(9), 4142—4158

- [18] Zhang C. L., Sun L. J., Wu F. Y., Qu R. F., Zhu C. A., Wang X., Chai J. H., Guo Y., Hu X., *Chem. J. Chinese Universities*, **2014**, 35(7), 1445—1450(张成路, 孙丽杰, 武飞宇, 曲瑞峰, 朱长安, 王雪, 柴金华, 国阳, 胡雪. 高等学校化学学报, **2014**, 35(7), 1445—1450)
- [19] Li Y. J., Yu Y., Jin K., Gao L. X., Luo T. C., Sheng L., Shao X., Li J., *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, 24(17), 4125—4128
- [20] Zhang C. L., Wang X., Guo Y., Wu Y. F., Gao L. N., Sun L. J., Chai J. H., Zhu C. A., *Chin. J. Org. Chem.*, **2014**, 34(11), 2331—2337(张成路, 王雪, 国阳, 吴一非, 高丽娜, 孙丽杰, 柴金华, 朱长安. 有机化学, **2014**, 34(11), 2331—2337)
- [21] Matsuno T., Kato M., Simon M., Tsuchida Y., Takahashi M., Yaguchi S., Terada S., *Chem. Pharm. Bull.*, **1997**, 45(2), 291—296
- [22] Sarath K. B., Nabajyoti G., Sudhagar S., Muthusamy V. S., Lakshmi B. S., *J. Chem. Inf. Model.*, **2012**, 52(8), 2004—2012
- [23] Park H., Bahn Y. J., Jung S. K., Jeong D. G., Lee S. H., Seo II., Yoon T. S., Kim S. J., Ryu S. E., *J. Med. Chem.*, **2008**, 51(18), 5533—5541

Synthesis and Bioactivities Evaluation of Novel 1-(1,3,5-Triazin-6-yl)-3-methyl-4-(5-phenyl- 1,3,4-oxadiazol-2-yl) pyrazole[†]

ZHANG Chenglu*, SUN Xiaona, LI Chuanyin, CAI Jiyong,

WANG Jing, LI Yizheng, WANG Huayu

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract Eighteen novel multi-heterocyclic molecules [7A(a—f), 7B(a—f), 7C(a—f)] were designed and synthesized by hybrid-linking 1,3,4-oxadiazole and 1,3,5-triazine onto pyrazole. The structures of all the compounds were confirmed by IR, NMR and HRMS. The inhibitory activities of target molecules against protein tyrosine phosphatase 1B(PTP1B) and cell division cycle 25 phosphatase B(Cdc25B) were evaluated. As a result, all of the target molecules behave good inhibitory activities against PTP1B and Cdc25B, in which nine compounds show excellent inhibitory activities, respectively. The inhibitory activities of nine compounds are better than the reference oleanolic acid and Na₃VO₄, respectively. The nine compounds are expected to become potential inhibitors of PTP1B and Cdc25B.

Keywords Pyrazole; 1,3,4-Oxadiazole; 1,3,5-Triazine; PTP1B inhibitor; Cdc25B inhibitor

(Ed.: P, H, D, K)

[†] Supported by the Science and Technology Research Program of Liaoning Provincial Department of Education, China(No.2009A426).