



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110078722 A

(43)申请公布日 2019.08.02

(21)申请号 201811282929.2

(22)申请日 2018.10.31

(71)申请人 南京先进生物材料与过程装备研究院有限公司

地址 210000 江苏省南京市溧水经济开发区溧水产业新城科创中心

(72)发明人 郭程杰

(74)专利代理机构 南京中律知识产权代理事务所(普通合伙) 32341

代理人 沈振涛

(51)Int.Cl.

C07D 409/14(2006.01)

C07C 57/145(2006.01)

C07C 51/43(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书10页 附图1页

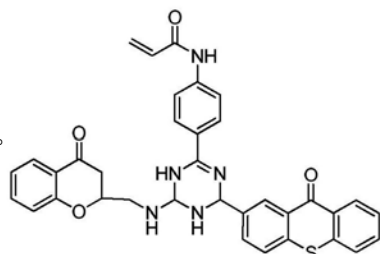
(54)发明名称

一种噻吨酮类STAT3抑制剂马来酸盐晶型A及其应用

(57)摘要

本发明属于医药化学领域,涉及一种式(I)所示的噻吨酮类STAT3抑制剂及其应用,具体涉及一类具有信号传导与转录激活因子-3抑制作用的化合物、含有该化合物的药物组合物,以及所述化合物或药物组合物作为癌症治疗药物的用途,所述化合物对具有持续激活的STAT3活性的MDA-MB-468细胞、DU-145细胞具有良好的抑制作用。

作用。



1. 4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺马来酸盐晶型A,使用Cu-K α 辐射,其X-射线粉末衍射在衍射角 2θ 为 $2.3\pm 0.2^\circ$ 、 $5.4\pm 0.2^\circ$ 、 $8.6\pm 0.2^\circ$ 、 $9.7\pm 0.2^\circ$ 、 $11.3\pm 0.2^\circ$ 、 $14.2\pm 0.2^\circ$ 、 $15.3\pm 0.2^\circ$ 、 $17.2\pm 0.2^\circ$ 、 $21.1\pm 0.2^\circ$ 、 $22.9\pm 0.2^\circ$ 、 $25.4\pm 0.2^\circ$ 和 $28.2\pm 0.2^\circ$ 处显示特征峰。

2. 如权利要求1所述的晶型A,其特征在于:使用Cu-K α 辐射,其X-射线粉末衍射在衍射角 2θ 为 $2.3\pm 0.2^\circ$ 、 $4.3\pm 0.2^\circ$ 、 $5.4\pm 0.2^\circ$ 、 $6.1\pm 0.2^\circ$ 、 $7.1\pm 0.2^\circ$ 、 $8.6\pm 0.2^\circ$ 、 $9.7\pm 0.2^\circ$ 、 $11.3\pm 0.2^\circ$ 、 $13.3\pm 0.2^\circ$ 、 $14.2\pm 0.2^\circ$ 、 $15.3\pm 0.2^\circ$ 、 $16.3\pm 0.2^\circ$ 、 $17.2\pm 0.2^\circ$ 、 $19.3\pm 0.2^\circ$ 、 $21.1\pm 0.2^\circ$ 、 $22.9\pm 0.2^\circ$ 、 $25.4\pm 0.2^\circ$ 、 $26.8\pm 0.2^\circ$ 和 $28.2\pm 0.2^\circ$ 处显示特征峰。

3. 权利要求1-2任一项所述的晶型A的制备方法,包括如下步骤:

步骤a: 2-羟基苯乙酮乙酰化制得式(1)的化合物;

步骤b: 式(1)的化合物环合制得式(2)的化合物;

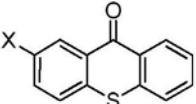
步骤c: 式(2)的化合物溴代制得式(3)的化合物;

步骤d: 式(3)的化合物氨基取代制得式(4)的化合物;

步骤e: 4-硝基苯甲酸甲酯与缩二脲环合制得式(5)的化合物;

步骤f: 式(5)的化合物氯代制得式(6)的化合物;

步骤g: 式(6)的化合物与式(4)的化合物反应制得式(7)的化合物;

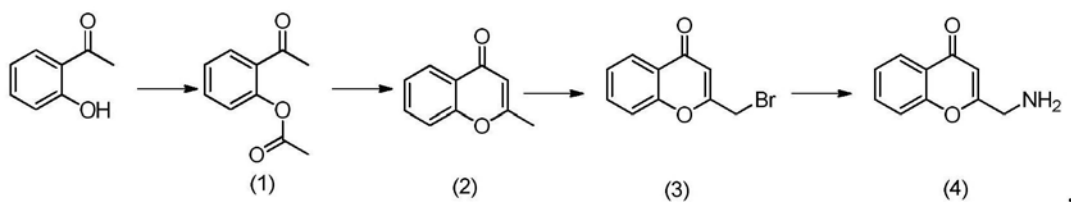
步骤h: 式(7)的化合物与反应制得式(8)的化合物;

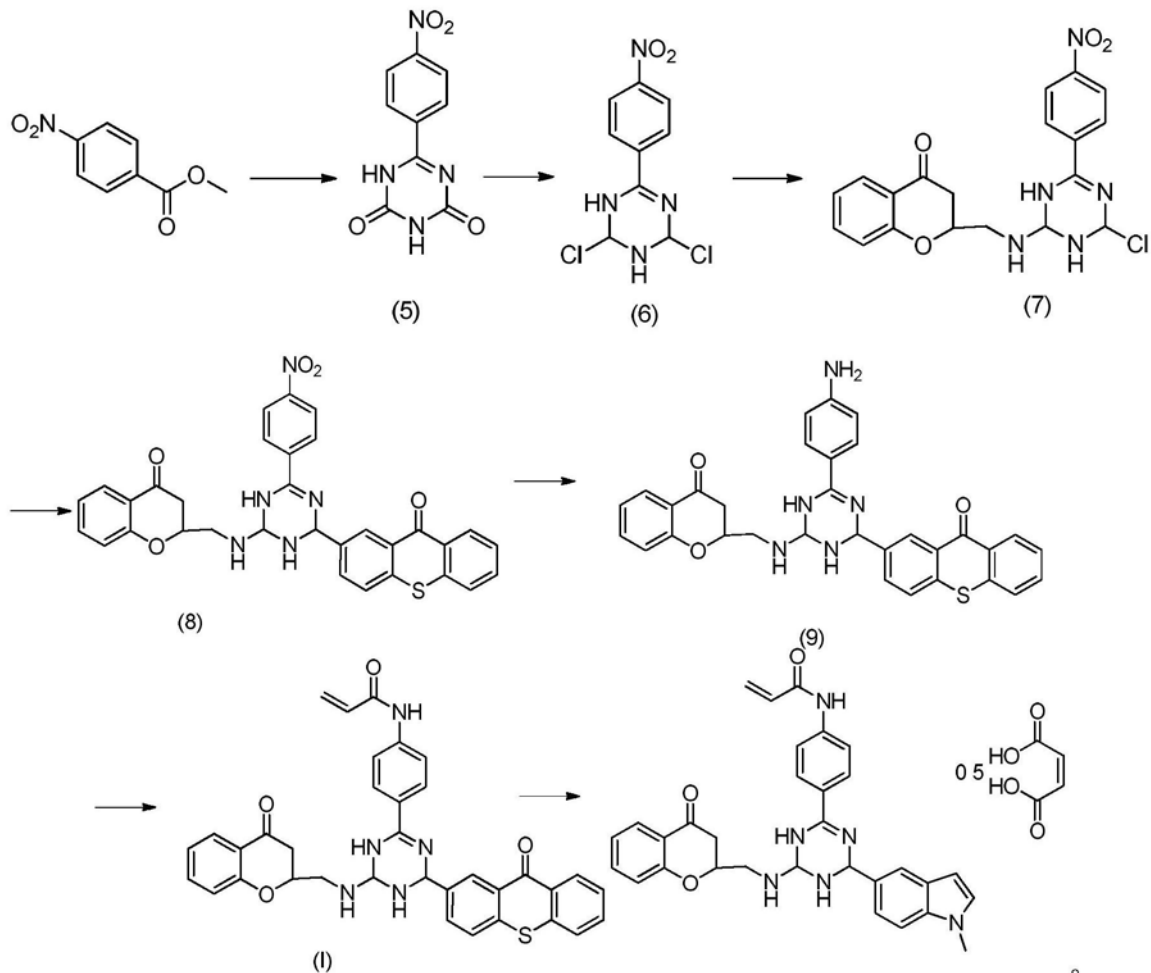
步骤i: 式(8)的化合物还原氢化制得式(9)的化合物;

步骤j: 式(9)的化合物与烯丙酰氯反应制得式(I)所示的STAT3抑制剂;

步骤k: 式(I)的STAT3抑制剂与马来酸反应制得式(I)化合物马来酸盐,将所得马来酸盐加入甲醇或乙醇中,回流,0-5 $^\circ\text{C}$ 析晶,即得4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺马来酸盐晶型A;

反应路线如下:





4. 如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:式(4)的化合物的制备方法为:

步骤a中,式(1)的化合物的制备方法为:将2-羟基苯乙酮、乙酰氯和碳酸钾加入反应瓶中,加入丙酮,回流反应,反应结束后,减压蒸除溶剂,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩,即得;

步骤b中,式(2)的化合物的制备方法为:取2-乙酰氧基苯乙酮于反应瓶中,加入DMSO溶解,0-5℃下分批加入钠氢,加毕,升至室温搅拌,反应结束后,向反应液中加入水,稀盐酸调pH值到弱酸性,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得油状物,向所得油状物中加入乙酸和浓盐酸,回流反应约,反应结束,将反应液旋干,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,即得;

步骤c中,式(3)的化合物的制备方法为:将式(2)的化合物、N-溴代琥珀酰亚胺和过氧化苯甲酰加入反应瓶中,加四氯化碳溶解,回流反应,反应结束后,反应液加水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化,即得;

步骤d中,式(4)的化合物的制备方法为:将式(3)的化合物加入反应瓶中,加入DMF溶解,加入氨水,室温搅拌,反应结束后,反应液加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,加入乙酸乙酯,搅拌溶解后加入饱和的乙酸乙酯氯化氢溶液至上清层无沉淀生成,过滤,干燥,即得。

5. 如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:式(7)的化合物的制备方法为:

步骤e中,式(5)的化合物的制备方法为:称取4-硝基苯甲酸于反应瓶中,加入甲醇溶

解,滴加氯化亚砷,滴毕回流反应,反应结束后,减压旋干,加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH至7-8,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩,即得4-硝基苯甲酸甲酯;取缩二脲于反应瓶中,加入乙二醇二甲醚溶解,0-5℃下分批加入氢化钠,加毕,50℃下搅拌反应1h,再加入4-硝基苯甲酸甲酯,加毕,升温至85℃反应,反应结束后,将反应液倒入水中,用浓盐酸调节pH至酸性,过滤,滤饼烘干,即得;

步骤f中,式(6)的化合物的制备方法为:将6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-(1H,3H)-二酮加入反应瓶中,加入三氯氧磷,五氯化磷,105℃反应,反应结束后,将反应液倒入水中,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,即得;

步骤g中,式(7)的化合物的制备方法为:取式(6)的化合物于反应瓶中,加入四氢呋喃溶解,加入式(4)的化合物,碳酸钠,回流反应,过滤,即得。

6.如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:步骤h中,式(8)的化合物的制备方法为:

取硫代水杨酸、氯苯于反应瓶中,慢慢加入浓硫酸,75℃下反应,反应结束后,将反应液在搅拌下缓慢倒入60℃水中,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干得2-氯-9-氧代-9H-硫杂蒽;

取2-氯-9-氧代-9H-硫杂蒽、联硼酸频哪醇酯、醋酸钾和1,1'-二(二苯膦基)二茂铁二氯化钡于反应瓶中,加入1,4-二氧六环,氮气保护条件下100℃反应,反应结束后,加入水,乙酸乙酯萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,合并有机相,干燥,过滤,浓缩,柱层析纯化,即得2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-氧代-9H-硫杂蒽;

在微波反应瓶中,依次加入4-氯-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺、2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-氧代-9H-硫杂蒽、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钡二氯甲烷络合物、x-phos、碳酸铯和1,4-二氧六环/H₂O,溶解,氩气置换,105℃微波反应,浓缩,柱层析纯化,即得式(8)的化合物。

7.如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:步骤i中,式(9)的化合物的制备方法为:取式(8)的化合物、Pd-C于反应瓶中,加入甲醇,在1个标准大气压下,H₂还原反应,停止反应,过滤,浓缩。

8.如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:步骤j中,式(10)的化合物的制备方法为:取式(9)的化合物、二异丙基乙胺于反应瓶中,加入无水二氯甲烷溶解,缓慢滴入溶解有烯丙基酰氯的二氯甲烷溶液,反应完全,浓缩,柱层析纯化,即得。

9.如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:步骤k中,式(I)化合物与马来酸反应的溶剂选自醇、酮、乙酸乙酯或它们的混合物;优选地,式(I)化合物与马来酸反应的溶剂选自甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯或它们的混合物;进一步优选地,式(I)化合物与马来酸反应的溶剂为甲醇或乙醇。

10.如权利要求1所述的晶型A的制备方法,其特征在于:步骤k中,式(I)化合物与马来酸反应的摩尔比为约1:0.5-0.55;优选地,式(I)化合物与马来酸反应的摩尔比为约1:0.5。

一种噻吨酮类STAT3抑制剂马来酸盐晶型A及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药化学领域,涉及一类STAT3抑制剂及其应用,具体涉及一类具有信号传导与转录激活因子-3抑制作用的化合物、含有该化合物的药物组合物,以及所述化合物或药物组合物作为癌症治疗药物的用途。

技术背景

[0002] 癌症是一大类恶性肿瘤的统称,其特点是无限制、无止境地增生。癌细胞使患者体内的营养物质被大量消耗,同时释放出多种毒素,使人体产生一系列症状,导致人体消瘦、无力、贫血、食欲不振、发热以及严重的脏器功能受损,引起坏死出血合并感染,患者最终由于器官功能衰竭而死亡。

[0003] 信号传导与转录激活因子-3(Signal Transducer and Activator of Transcription-3, STAT3)是一种可以被不同的细胞因子受体激活的相关蛋白,在细胞因子-受体相互作用的过程中充当载体,保持信号在细胞内传递的内在特异性,并通过诱导靶基因转录来表达生物刺激的效应作用,除了参与血管生成和免疫应答之外,还与细胞的增殖、生存、分化、抗凋亡等密切相关。STAT3在多种肿瘤细胞(包括白血病、多发性骨髓瘤等血液肿瘤以及肺癌、乳腺癌、前列腺癌等多种实体肿瘤)中表达异常升高,与恶性肿瘤的发生、发展密切相关。

[0004] 通过抑制STAT3活性有望使癌细胞出现凋亡从而达到治疗癌症的目的,最近研究发现,抑制STAT3信号可以克服包括视网膜母细胞瘤、肺癌、白血病等多种肿瘤的化学耐药性,STAT3已经成功研发为一个新的抗肿瘤靶标。因此,积极寻找新的STAT3抑制剂对于癌症的治疗有着极为重要的意义。

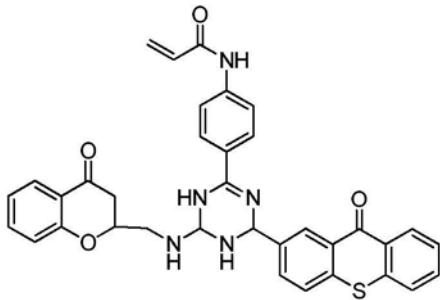
发明内容

[0005] 本发明提供以下技术方案:

[0006] 第一方面,本发明提供了4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺马来酸盐晶型A,使用Cu-K α 辐射,其X-射线粉末衍射在衍射角 2θ 为 $2.3\pm 0.2^\circ$ 、 $5.4\pm 0.2^\circ$ 、 $8.6\pm 0.2^\circ$ 、 $9.7\pm 0.2^\circ$ 、 $11.3\pm 0.2^\circ$ 、 $14.2\pm 0.2^\circ$ 、 $15.3\pm 0.2^\circ$ 、 $17.2\pm 0.2^\circ$ 、 $21.1\pm 0.2^\circ$ 、 $22.9\pm 0.2^\circ$ 、 $25.4\pm 0.2^\circ$ 和 $28.2\pm 0.2^\circ$ 处显示特征峰。

[0007] 其中,4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的化学式如式(I)所示:

[0008]



(I)。

[0009] 本领域知道,用X射线衍射测定化合物的结晶时,由于测定的仪器或测定的条件等的影响,对于所测得的峰会存在一定的测量误差,特别是X-射线衍射图的相对强度随试验条件的变化而变化。例如,2 θ 值的测定误差可为约 $\pm 0.2^\circ$,相对强度的测定误差可为 $\pm 20\%$ 。因此,在确定每种结晶结构时,应该将此误差考虑在内。可以理解为任何与本申请的II晶型具有基本相同或相似的X-射线衍射图的晶型均属于本申请的范围之内。

[0010] 具体地,4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺马来酸盐的晶型A,使用Cu-K α 辐射,其X-射线粉末衍射在衍射角2 θ 为 $2.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $4.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $5.4 \pm 0.2^\circ$ 、 $6.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $7.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $8.6 \pm 0.2^\circ$ 、 $9.7 \pm 0.2^\circ$ 、 $11.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $13.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $14.2 \pm 0.2^\circ$ 、 $15.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $16.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $17.2 \pm 0.2^\circ$ 、 $19.3 \pm 0.2^\circ$ 、 $21.1 \pm 0.2^\circ$ 、 $22.9 \pm 0.2^\circ$ 、 $25.4 \pm 0.2^\circ$ 、 $26.8 \pm 0.2^\circ$ 和 $28.2 \pm 0.2^\circ$ 处显示特征峰。

[0011] 第二方面,本发明还提供了上述晶型A的制备方法,包括如下步骤:

[0012] 步骤a:2-羟基苯乙酮乙酰化制得式(1)的化合物;

[0013] 步骤b:式(1)的化合物环合制得式(2)的化合物;

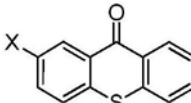
[0014] 步骤c:式(2)的化合物溴代制得式(3)的化合物;

[0015] 步骤d:式(3)的化合物氨基取代制得式(4)的化合物;

[0016] 步骤e:4-硝基苯甲酸甲酯与缩二脲环合制得式(5)的化合物;

[0017] 步骤f:式(5)的化合物氯代制得式(6)的化合物;

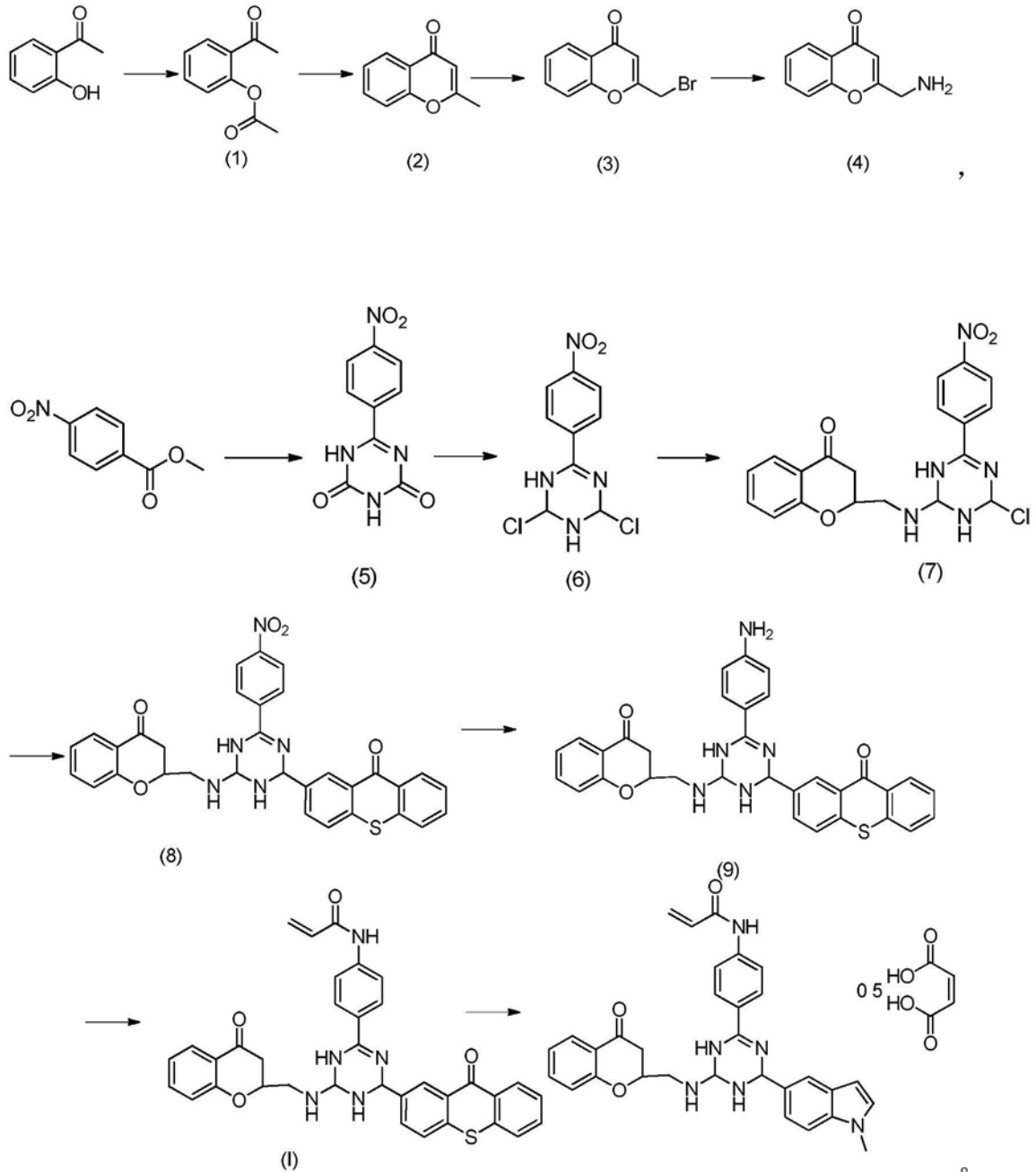
[0018] 步骤g:式(6)的化合物与式(4)的化合物反应制得式(7)的化合物;

[0019] 步骤h:式(7)的化合物与反应制得式(8)的化合物;

[0020] 步骤i:式(8)的化合物还原氢化制得式(9)的化合物;

[0021] 步骤j:式(9)的化合物与烯丙酰氯反应制得式(I)所示的STAT3抑制剂,反应路线如下:

[0022]



[0023] 优选地,式(4)的化合物的制备方法为:

[0024] 步骤a中,式(1)的化合物的制备方法为:将2-羟基苯乙酮、乙酰氯和碳酸钾加入反应瓶中,加入丙酮,回流反应,反应结束后,减压蒸除溶剂,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩,即得;

[0025] 步骤b中,式(2)的化合物的制备方法为:取2-乙酰氧基苯乙酮于反应瓶中,加入DMSO溶解,0-5℃下分批加入钠氢,加毕,升至室温搅拌,反应结束后,向反应液中加入水,稀盐酸调pH值到弱酸性,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得油状物,向所得油状物中加入乙酸和浓盐酸,回流反应约,反应结束,将反应液旋干,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,即得;

[0026] 步骤c中,式(3)的化合物的制备方法为:将式(2)的化合物、N-溴代琥珀酰亚胺和

过氧化苯甲酰加入反应瓶中,加四氯化碳溶解,回流反应,反应结束后,反应液加水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化,即得;

[0027] 步骤d中,式(4)的化合物的制备方法为:将式(3)的化合物加入反应瓶中,加入DMF溶解,加入氨水,室温搅拌,反应结束后,反应液加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,加入乙酸乙酯,搅拌溶解后加入饱和的乙酸乙酯氯化氢溶液至上清层无沉淀生成,过滤,干燥,即得。

[0028] 优选地,式(7)的化合物的制备方法为:

[0029] 步骤e中,式(5)的化合物的制备方法为:称取4-硝基苯甲酸于反应瓶中,加入甲醇溶解,滴加氯化亚砷,滴毕回流反应,反应结束后,减压旋干,加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH至7-8,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩,即得 4-硝基苯甲酸甲酯;取缩二脲于反应瓶中,加入乙二醇二甲醚溶解,0-5℃下分批加入氢化钠,加毕,50℃下搅拌反应1h,再加入4-硝基苯甲酸甲酯,加毕,升温至85℃反应,反应结束后,将反应液倒入水中,用浓盐酸调节pH至酸性,过滤,滤饼烘干,即得;

[0030] 步骤f中,式(6)的化合物的制备方法为:将6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-(1H,3H)-二酮加入反应瓶中,加入三氯氧磷,五氯化磷,105℃反应,反应结束后,将反应液倒入水中,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,即得;

[0031] 步骤g中,式(7)的化合物的制备方法为:取式(6)的化合物于反应瓶中,加入四氢呋喃溶解,加入式(4)的化合物,碳酸钠,回流反应,过滤,即得。

[0032] 优选地,步骤h中,式(8)的化合物的制备方法为:

[0033] 取硫代水杨酸、氯苯于反应瓶中,慢慢加入浓硫酸,75℃下反应,反应结束后,将反应液在搅拌下缓慢倒入60℃水中,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干得2-氯-9-氧代-9H-硫杂蒽;

[0034] 取2-氯-9-氧代-9H-硫杂蒽、联硼酸频哪醇酯、醋酸钾和1,1'-二(二苯膦基)二茂铁氯化钡于反应瓶中,加入1,4-二氧六环,氮气保护条件下100℃反应,反应结束后,加入水,乙酸乙酯萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,合并有机相,干燥,过滤,浓缩,柱层析纯化,即得2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-氧代-9H-硫杂蒽;

[0035] 在微波反应瓶中,依次加入4-氯-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺、2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-氧代-9H-硫杂蒽、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]氯化钡二氯甲烷络合物、x-phos、碳酸铯和1,4-二氧六环/H₂O,溶解,氩气置换,105℃微波反应,浓缩,柱层析纯化,即得式(8)的化合物。

[0036] 优选地,步骤i中,式(9)的化合物的制备方法为:取式(8)的化合物、Pd-C于反应瓶中,加入甲醇,在1个标准大气压下,H₂还原反应,停止反应,过滤,浓缩。

[0037] 优选地,步骤j中,式(10)的化合物的制备方法为:取式(9)的化合物、二异丙基乙胺于反应瓶中,加入无水二氯甲烷溶解,缓慢滴入溶解有烯丙基酰氯的二氯甲烷溶液,反应完全,浓缩,柱层析纯化,即得。

[0038] 优选地,步骤k中,式(I)化合物与马来酸反应的溶剂选自醇、酮、乙酸乙酯或它们的混合物;优选地,式(I)化合物与马来酸反应的溶剂选自甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯或它们的混合物;进一步优选地,式(I)化合物与马来酸反应的溶剂为甲醇或乙醇。

[0039] 优选地,步骤k中,式(I)化合物与马来酸反应的摩尔比为约1:0.5-0.55;优选地,

式(I)化合物与马来酸反应的摩尔比为约1:0.5。

[0040] 第三方面,本发明提供药物组合物,其包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐。

[0041] 在一些实施方案中,本发明提供药物组合物,其包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐,还包含选自下列组成的一种或多种:酪氨酸蛋白酶抑制剂、EGFR抑制剂、VEGFR抑制剂、Bcr-Abl抑制剂、c-kit抑制剂、c-Met抑制剂、Raf抑制剂、MEK抑制剂、组蛋白去乙酰酶抑制剂、VEGF抗体、EGF抗体、HIV蛋白激酶抑制剂、HMG-CoA还原酶抑制剂等。

[0042] 在一些实施方案中,本发明提供本发明的化合物或其药学上可接受的盐及包含本发明的化合物或其药学上可接受的盐的药物组合物,所述化合物或药物组合物用于治疗 and/或预防癌症。

[0043] 可以将本发明的化合物或其药学上可接受的盐与药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂混合制备成药物制剂,以适合于经口或胃肠外给药。给药方法包括,但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内和经口途径。所述制剂可以通过任何途径施用,例如通过输注或推注,通过经上皮或皮肤粘膜(例如口腔粘膜或直肠等)吸收的途径施用。给药可以是全身的或局部的。经口施用制剂的实例包括固体或液体剂型,具体而言,包括片剂、丸剂、粒剂、粉剂、胶囊剂、糖浆、乳剂、混悬剂等。所述制剂可通过本领域已知的方法制备,且包含药物制剂领域常规使用的载体、稀释剂或赋形剂。

[0044] 第四方面,本发明提供本发明通式I所示的化合物或其药学上可接受的盐,或包含其的药物组合物在制备治疗和/或预防癌症的药物中的用途,其中所述的癌症选自前列腺、乳腺癌、黑素瘤、乳头状甲状腺肿瘤、胆管癌、结肠癌、卵巢癌、肺癌、恶性淋巴瘤,以及皮肤、结肠、甲状腺、肺和卵巢的原发和复发性实体瘤或者白血病。

附图说明

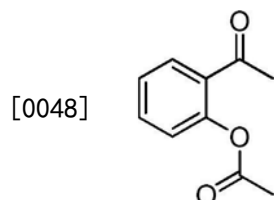
图1为4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺马来酸盐的晶型A的X射线衍射图谱。

具体实施方式

[0045] 下面代表性的实施例是为了更好地说明本发明,而非用于限制本发明的保护范围。

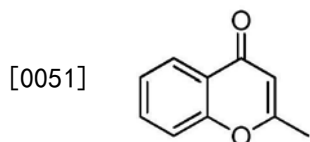
[0046] 实施例1 2-氨基-4H-色烯-4-酮盐酸盐的制备

[0047] 步骤1 2-乙酰氧基苯乙酮的制备



[0049] 将2-羟基苯乙酮(100mmol)、乙酰氯(250mmol)和碳酸钾(500mmol)加入反应瓶中,加入300ml丙酮,回流反应12h,反应结束后,减压蒸除溶剂,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得油状物,直接投下一步。

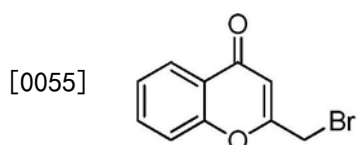
[0050] 步骤2 2-甲基-4H-色烯-4-酮的制备



[0052] 称取2-乙酰氧基苯乙酮(50mmol)于反应瓶中,加入100ml DMSO溶解,0-5℃下分批加入钠氢(150mmol),加毕,升至室温搅拌3h,反应结束后,向反应液中加入水,稀盐酸调pH值到弱酸性,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得油状物,向所得油状物中加入100ml乙酸和5滴浓盐酸,回流反应约3h,反应结束,将反应液旋干,加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化得标题化合物。

[0053] ES:M/Z 161[M+H]⁺。

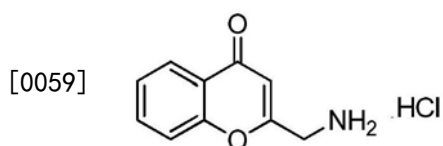
[0054] 步骤3 2-溴甲基-4H-色烯-4-酮的制备



[0056] 将步骤2所得2-甲基-4H-色烯-4-酮(10mmol)、N-溴代琥珀酰亚胺(NBS, 10mmol)和过氧化苯甲酰(BPO, 0.95mmol)加入反应瓶中,加20ml四氯化碳溶解,回流反应12h,反应结束后,反应液加水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,柱层析纯化,得标题化合物。

[0057] ES:M/Z 239[M+H]⁺。

[0058] 步骤4 2-氨基甲基-4H-色烯-4-酮盐酸盐的制备

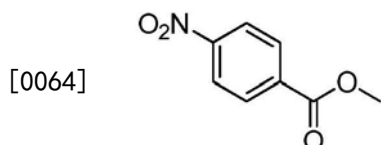


[0060] 将步骤3所得2-溴甲基-4H-色烯-4-酮(0.5mmol)加入反应瓶中,加入5ml DMF 溶解,加入2ml氨水,室温搅拌12h,反应结束后,反应液加入水,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干,加入乙酸乙酯5ml,搅拌溶解后加入饱和的乙酸乙酯氯化氢溶液至上清层无沉淀生成,过滤,干燥,得标题化合物。

[0061] ES:M/Z 239[M+H]⁺。

[0062] 实施例2 2,4-二氯-6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪的制备

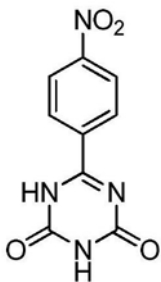
[0063] 步骤1 4-硝基苯甲酸甲酯的制备



[0065] 称取4-硝基苯甲酸(250mmol)于反应瓶中,加入300mL甲醇溶解,滴加氯化亚砷(375mmol),滴毕回流反应12h,反应结束后,减压旋干,加入饱和碳酸氢钠溶液调节pH至7-8,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得标题化合物,直接投下一步。

[0066] 步骤2 6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-(1H,3H)-二酮的制备

[0067]

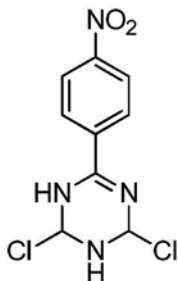


[0068] 称取缩二脲(100mmol)于反应瓶中,加入150mL乙二醇二甲醚溶解,0-5℃下分批加入氯化钠(83.4mmol),加毕,50℃下搅拌反应1h,再加入4-硝基苯甲酸甲酯(83.4mmol),加毕,升温至85℃反应20h,反应结束后,将反应液倒入水中,用浓盐酸调节pH至酸性,过滤,滤饼烘干,得标题化合物。

[0069] ES:M/Z 235[M+H]⁺。

[0070] 步骤3 2,4-二氯-6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪的制备

[0071]

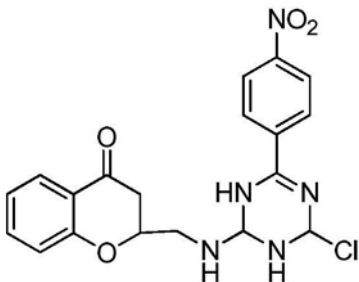


[0072] 将6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2,4-(1H,3H)-二酮(200mmol)加入反应瓶中,加入200mL三氯氧磷,五氯化磷(800mmol),105℃反应12h,反应结束后,将反应液倒入水中,二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥,浓缩得标题化合物。

[0073] ES:M/Z 275[M+H]⁺。

[0074] 实施例3 4-氯-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0075]

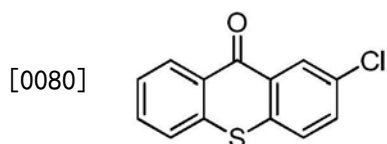


[0076] 称取实施例2所得物2,4-二氯-6-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪(50mmol)于反应瓶中,加入100mL四氢呋喃溶解,加入实施例1所得物2-氨基甲基-4H-色烯-4-酮盐酸盐 2-(三氟甲基)-吡啶-4-胺(55mmol),碳酸钠(100mmol),回流反应72h,过滤,柱层析纯化得标题化合物。

[0077] ES:M/Z 416[M+H]⁺。

[0078] 实施例4 4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺DE ZHIBEI

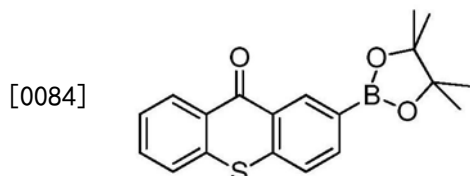
[0079] 步骤1 2-氯-9-氧代-9H-硫杂蒽的制备



[0081] 称取4.5g硫代水杨酸、12.5g氯苯于反应瓶中,慢慢加入40mL浓硫酸,75°C下反应2h,反应结束后,将反应液在搅拌下缓慢倒入60°C水中,乙酸乙酯萃取,无水硫酸钠干燥,过滤,旋干得标题化合物。

[0082] ES:M/Z 247[M+H]⁺。

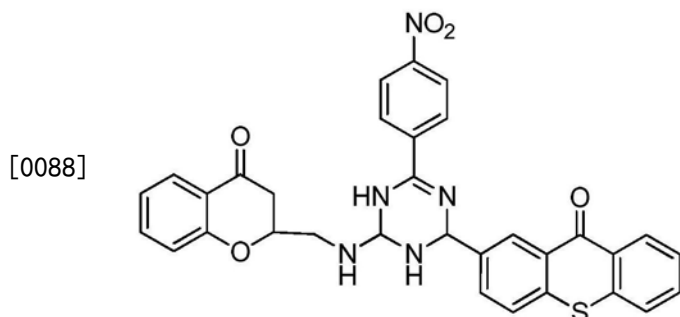
[0083] 步骤2 2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-氧代-9H-硫杂蒽的制备



[0085] 取2-氯-9-氧代-9H-硫杂蒽(1mmol)、联硼酸频哪醇酯(1.1mmol)、醋酸钾(2mmol)和1,1'-二(二苯膦基)二茂铁二氯化钯(Pd(dppf)Cl₂,2mmol)于反应瓶中,加入5mL 1,4-二氧六环,氮气保护条件下100°C反应24h,反应结束后,加入水,乙酸乙酯萃取,合并有机相,饱和食盐水洗涤,合并有机相,干燥,过滤,浓缩,柱层析纯化。

[0086] ES:M/Z 339[M+H]⁺。

[0087] 步骤3 4-(9-氧代-9H-硫杂蒽-2-基)-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

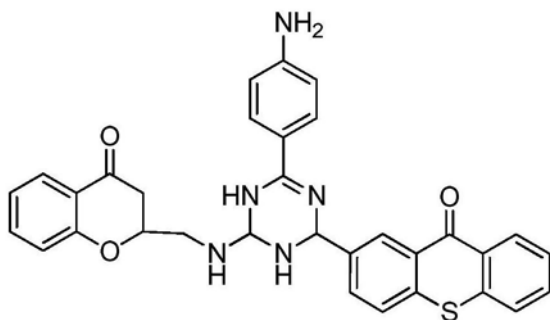


[0089] 在30ml微波反应瓶中,依次加入4-氯-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺(10mmol)、2-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂戊环硼烷)-9-氧代-9H-硫杂蒽(10mmol)、[1,1'-双(二苯基膦)二茂铁]二氯化钯二氯甲烷络合物(0.1mmol)、x-phos(0.4mmol)、碳酸铯(100mmol)和1,4-二氧六环/H₂O(60ml/10ml),溶解,氩气置换,105°C微波反应90min,浓缩,柱层析纯化得标题化合物。

[0090] ES:M/Z 592[M+H]⁺。

[0091] 步骤4 4-(9-氧代-9H-硫杂蒽-2-基)-6-(4-氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0092]

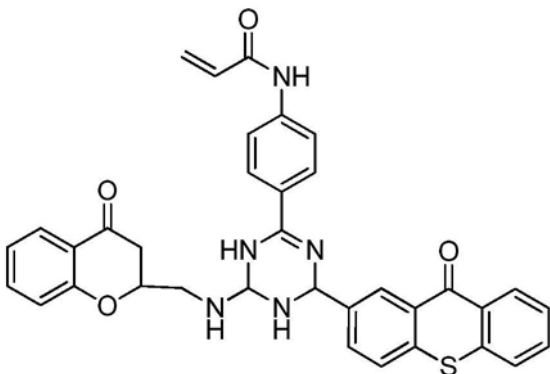


[0093] 称取步骤3所得物4-(9-氧代-9H-硫杂蒽-2-基)-6-(4-硝基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺(1mmol)、10%Pd-C(10mg)于反应瓶中,加入15ml 甲醇,在1个标准大气压下,H₂还原1h,停止反应,过滤,浓缩标题化合物,直接用于下一步。

[0094] ES:M/Z 562[M+H]⁺。

[0095] 步骤5 4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺的制备

[0096]



[0097] 称取步骤4所得物4-(9-氧代-9H-硫杂蒽-2-基)-6-(4-氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺(0.1mmol)、二异丙基乙胺(0.3mmol)于反应瓶中,加入15ml无水二氯甲烷溶解,缓慢滴入溶解有烯丙酰氯(0.12mmol)的二氯甲烷(1ml)溶液,10min反应完全,浓缩,柱层析纯化得标题化合物。

[0098] ¹H NMR(600MHz,CDCl₃)(δ ,ppm):10.12(s,1H),7.81~7.83(m,2H),7.68~7.70(m,2H),7.57~7.59(m,1H),7.51~7.52(m,2H),7.44~7.46(m,1H),7.39~7.40(m,1H),7.28~7.30(m,2H),7.19~7.20(m,1H),7.07~7.09(m,2H),6.64~6.65(m,1H),6.48~6.50(m,1H),6.01~6.03(m,1H),5.56(s,1H),5.50~5.52(m,1H),4.89(s,1H),4.46~4.48(m,1H),3.06~3.08(m,2H),2.81~2.83(m,2H),2.00~2.03(brs,2H),1.91~1.92(brs,1H)。

[0099] ES:M/Z 616[M+H]⁺。

[0100] 实施例5

[0101] 将实施例4制得的4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺与马来酸反应制得式(I)化合物马来酸盐,将所得马来酸盐加入甲醇或乙醇中,回流,0~5℃析晶,即得4-(二苯并[b,d]噻吩-4-基)-6-(4-烯丙酰氨基苯基)-N-(2-甲基-4H-色烯-4-酮基)-1,3,5-三嗪-2-胺马来酸盐的晶型A。其中,式(I)化合物与马来酸反应的摩尔比为约1:0.5。

[0102] 测定其X射线衍射图谱,见图1。

[0103] 实验例1:生物活性测定

[0104] 化合物准备:将POD810全自动微孔板预处理系统将本发明实施例制备的化合物加入孔板中,化合物起始浓度为100uM,每个化合物做双复孔,2倍稀释10个点。

[0105] 细胞的培养:分别将前列腺癌细胞DU-145、人乳腺癌细胞MDA-MB-468 用含15%胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基,在37度培养箱内培养,取对数生长期细胞用于实验。

[0106] MTT细胞存活性实验:分别将前列腺癌细胞DU-145、人乳腺癌细胞MDA-MB-468接种于96孔板中($5-10 \times 10^4$ cells/well),分别用实施例6至11的化合物处理48h,每孔中加入20 μ l 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT) 孵化4h,然后加入每孔中100 μ l DMSO,置摇床上低速振荡10min,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪OD490nm处测量各孔的吸光值,使用GraphPad Prism 处理得到对应曲线和IC₅₀值,结果见表1。

[0107] 表1

[0108]

化合物	DU-145 IC ₅₀ 值 (nM)	化合物	MDA-MB-468 IC ₅₀ 值 (nM)
式 (I) 的化合物	100.3	实施例 10	86.7

[0109] 实验结果表明,本发明对具有持续激活的STAT3活性的MDA-MB-468细胞、DU-145细胞具有良好的抑制作用。

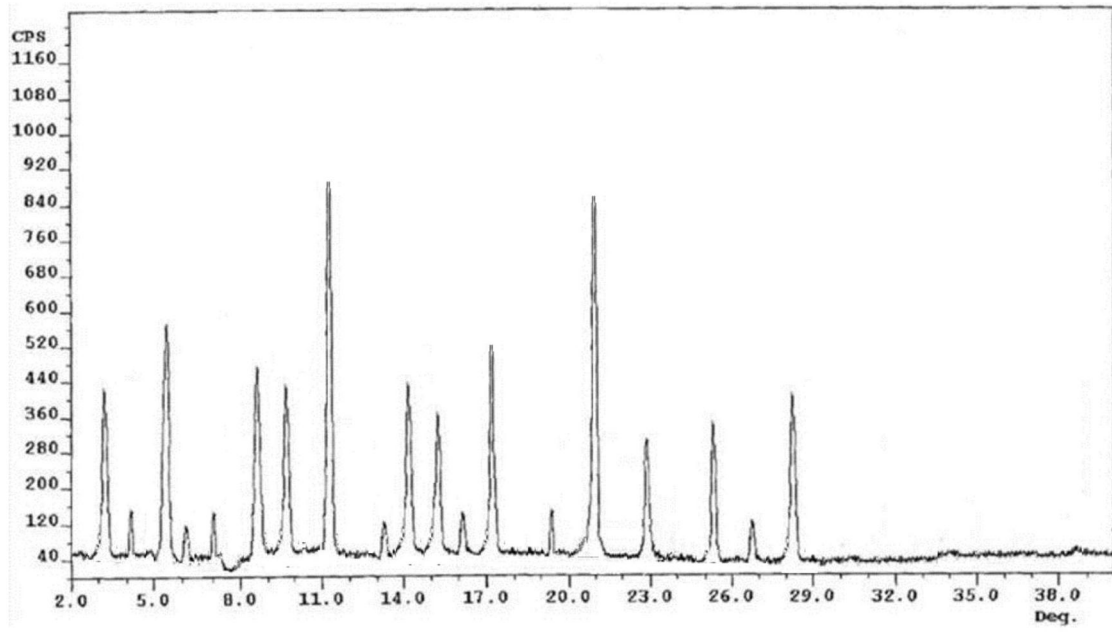


图1