

Synthesis of Neoring 6-Methylimidazo[1,2-d][1,2,3,4]thiaziazole-5-carboxylic Acid Derivatives

Zhifeng Chao, Ren Bu, Yuan Lu*

Inner Mongolia Medical University, Hohhot
Email: *yxy_luyuan@immc.edu.cn

Received: Jun. 13th, 2013; revised: Jun. 25th, 2013; accepted: Jul. 9th, 2013

Copyright © 2013 Zhifeng Chao et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Objective: In order to search the new anti-cancer drugs inhibiting with cell division cycle CDC25B phosphatase, designing and synthesizing 6-Methylimidazo[1,2-d][1,2,3,4]thiaziazole-5-carboxylic acid derivatives is meaningful. **Methods:** The objective compounds were synthesized by cyclization, hydrazinolysis, condensation in the basis of 5-amino-1,2,3,4-triazole and bromine ethyl acetoacetate. **Result:** The five new kinds of compounds were synthesized. **Conclusion:** The structures of the compounds were determined by elemental analysis, IR, ¹H NMR and MS, furthermore, it was found that the inhibition rates (% inhibition) of the CDC25B were 85.4 and 82.3 by compounds 3 and 4a with a certain biological activity.

Keywords: 5-Amino-1,2,3,4-thiaziazole; Imidazo[1,2-d][1,2,3,4]thiaziazole; Biological Activity

新环 6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-羧酸衍生物的合成

钞智锋, 布仁, 鲁源*

内蒙古医科大学, 呼和浩特
Email: *yxy_luyuan@immc.edu.cn

收稿日期: 2013 年 6 月 13 日; 修回日期: 2013 年 6 月 25 日; 录用日期: 2013 年 7 月 9 日

摘要: 目的: 为了寻找抑制细胞分裂周期磷酸酯酶 CDC25B 的抗肿瘤新药, 设计和合成 6-甲基-咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-羧酸衍生物是有意义的。**方法:** 以 5-氨基-1,2,3,4-噻三唑和溴代乙酰乙酸乙酯为原料, 经过关环, 肼解, 缩合等反应合成目标化合物。**结果:** 合成了 5 种新的化合物。**结论:** 所得化合物, 通过元素分析、IR、¹H NMR 和质谱分析确定了其结构, 并且化合物 3 和 4a 对 CDC25B 的抑制率(%抑制率)分别为 85.4 和 82.3, 具有一定的生物活性。

关键词: 5-氨基-1,2,3,4-噻三唑; 咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑; 生物活性

1. 引言

恶性肿瘤是机体自身的细胞不受控制时增殖和扩散而导致的疾病, 它严重威胁着人类的健康和生命。^{*}通讯作者。

命。目前, 磷酸酯酶编码基因已被认为是一种新的癌基因^[1]。细胞周期分裂蛋白 25B(CDC25B)是细胞周期分裂蛋白 25(CDC25)磷酸酯酶家族的一员。CDC25B 激活细胞周期蛋白依赖激酶 CDC2, 是有丝

分裂必需的, CDC25B 在分裂的 M 期和 G1 期存在于细胞核中, 而到 S 期和 G2 期转移到细胞质中, 具有原癌基因性质。因此, CDC25B 贯穿于细胞周期的各阶段, 在细胞周期特别是细胞有丝分裂过程中发挥重要作用。Takamasa 等^[2]报道, CDC25B 与某些人类肿瘤的恶性特性相关, 在多种肿瘤中高表达, 其中在乳腺癌中为 32%, 非霍奇金氏淋巴瘤为 56%, 头颈部肿瘤为 50%, 非小细胞肺癌为 44%, 大肠癌为 60%。在这些研究中, CDC25B 在肿瘤组织中的表达水平超过正常组织中的 2~3 倍^[3,4]。人们在寻找高效合理的抗肿瘤药物时, 发现咪唑并杂环化合物具有较好的抗肿瘤活性^[5-9]。为了进一步拓宽寻找抗肿瘤药物的思路, 近年来我们也报道了一系列类似化合物的合成和性质^[10-19]。本文在大量查阅文献的基础上采用 5-氨基-1,2,3,4-噻三唑和溴代乙酰乙酸乙酯为原料, 按下列合成路线制得未见报道的 6-甲基-咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-羧酸衍生物, 并通过元素分析、IR、¹H-NMR 和质谱分析确定了其结构。所得到的化合物进行药理活性的初步筛选, 得出化合物 3 和 4a 对 CDC25B 有一定的抑制作用, 深入的药理实验尚在进行中。期望能够从中筛选出生物利用度高、毒副作用小的新型抗肿瘤化合物。合成路线如图 1 所示。

2. 实验部分

2.1. 主要仪器与试剂

XRC-1 型双目显微熔点测定仪(温度未经校正, 北京市科仪电光仪器厂); VXR-500 MHz 核磁共振波谱仪(TMS 为内标, DMSO 为溶剂, 瑞士 BRUKER 公司); IR-440 型分光光度计(KBr 压片, 日本岛津公司); VG-ZAB-H 质谱仪(电子轰击电离, 英国 VG 公司); 2400 型元素分析仪(美国 PE 公司)。所用试剂均为分

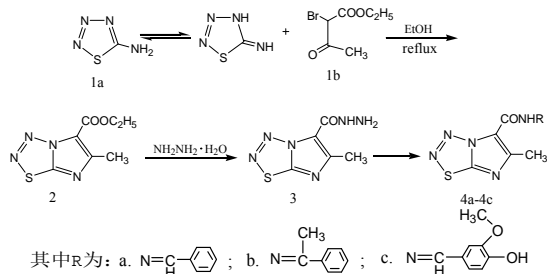


Figure 1. Synthesis of 6-Methylimidazo[1,2-d]thiazotriazole-5-carboxylic acid derivatives
图 1. 6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-羧酸衍生物的合成

析纯, 部分试剂经过常规处理。

2.2. 合成方法

2.2.1. 5-氨基-1,2,3,4-噻三唑(1a)及溴代乙酰乙酸乙酯(1b)的合成

5-氨基-1,2,3,4-噻三唑(1a)的合成参照文献^[20], 收率 80%, m.p.128°C~130°C。溴代乙酰乙酸乙酯(1b)的合成参照文献^[21], 收率 89.4%, 深红色液体。两者均和文献值一致。

2.2.2. 6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-羧酸乙酯(2)的合成

将 1.02 g (0.01 mol) 5-氨基-1,2,3,4-噻三唑(1a)和 2.09 g (0.01 mol)溴代乙酰乙酸乙酯(1b)溶解在 20 ml 的乙醇中, 加热回流 24 h, 薄层色谱跟踪检测(展开剂—氯仿:无水甲醇 = 5:1)。反应结束, 减压蒸干溶剂, 用少量蒸馏水转移固体, 过滤, 干燥, 得黄色固体 1.73 g, 产率 82%。乙醇重结晶, m.p.176~179°C。IR[KBr, $\nu(\text{cm}^{-1})$]: 1710(C=O), 1535(C=C)。¹H-NMR [δ , ppm, DMSO- d_6]: 1.22(t, 3 H, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.47(s, 3H, 6- CH_3), 4.14(q, 2 H, $J = 7.2$ Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$)。ESI-MS [$m/z(\%)$]:213.04 (M^+ , 8.8)。

2.2.3. 6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-甲酰胺(3)的合成

将 2.12 g (0.01 mol) 6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-羧酸乙酯(2)与 50 ml 水合肼(80%)混合, 室温反应 15 h, 薄层色谱跟踪检测(展开剂—四氯化碳:无水乙醇 = 4:1)。反应结束, 过滤, 用蒸馏水洗涤固体三次, 干燥, 得到淡黄色固体 1.66 g, 产率 85%。乙醇重结晶得白色固体(3), m.p.215°C~217°C。IR[KBr, $\nu(\text{cm}^{-1})$]: 3380, 3315(N-H), 1630(C=O)。¹H-NMR [δ , ppm, DMSO- d_6]: 2.46(s, 3H, 6- CH_3), 4.29(s, 2H, NH_2), 8.78(s, 1H, NH)。ESI-MS [$m/z(\%)$]: 199.04 (M^+ , 5.7)。

2.2.4. 6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-甲酰胺衍生物(4a-4c)的合成

将 0.5 g (0.0025 mol)6-甲基咪唑[1,2-d]并-1,2,3,4-噻三唑-5-甲酰胺(3)和 0.265 g (0.0025 mol)苯甲醛溶解在 15ml 乙醇中, 加热回流 24 h, 薄层色谱跟踪检测(展开剂—四氯化碳:无水乙醇 = 5:1)。反应结束,

冷却, 静置, 析出结晶, 过滤, 水洗, 用乙醇重结晶, 得白色晶体(4a)。用同样的方法得到 4b 和 4c。结果见表 1、表 2。

3. 结果与讨论

3.1. 结构表征

所合成化合物以 TLC 法检测, 在 253.5 nm 紫外光下均为单一斑点。乙醇重结晶均可得到较纯晶体, 熔点均尖锐。所有未知化合物在 253.5 nm 紫外线下检测, 均为单一斑点。元素分析的实测值和理论值的百分误差为 $\pm 0.3\%$; EI-MS 所测各化合物的 M^+ 和各自的相对分子质量相符。红外光谱分析, 各化合物的特征吸收峰在 IR 图谱中都可找到基团的归宿, 例如化合物 2: 在 1710 cm^{-1} 处($C=O$), 处 1535 cm^{-1} ($C=C$); 化合物 3: 在 $3380, 3315\text{ cm}^{-1}$ 处(N-H), 1630 cm^{-1} 处($C=O$)。化合物 4a-4c: 在 3260 cm^{-1} 处(N-H), 3060 cm^{-1} 处($CH=N$), 1650 cm^{-1} 处($C=O$), 2975 cm^{-1} 处(Ar-H), 1570 cm^{-1} 处苯环骨架($C=C$)。经 $^1\text{H-NMR}$ 检测, 化合物 2: 有三组吸收峰, 化学位移 $\delta 1.22\text{ ppm}$ 为母环五位羧酸乙酯上甲基氢的共振信号, 受相邻亚甲基 2 个氢的偶合, 分裂为三重峰($J=7.2\text{ Hz}$); 化学位移 $\delta 2.47\text{ ppm}$ 为母环六位上甲基氢的共振信号, 为单峰; 化学位移 $\delta 4.14\text{ ppm}$ 为母环五位羧酸乙酯上亚甲基氢的共振信号, 受相邻甲基 3 个氢的偶合, 分裂为四重峰($J=7.2\text{ Hz}$)。化合物 3, 4a-4c 的 $^1\text{HNMR}$ 谱中, $\delta 1.22\text{ ppm}$, $\delta 4.14\text{ ppm}$ 的吸收峰全都消失。各化合物氢的化学位移和数量在 $^1\text{HNMR}$ 中都可找到其归宿。例如, 化合物 3 的 $^1\text{HNMR}$ 谱上共有三组吸收峰, 化学位移 $\delta 2.46\text{ ppm}$ 为母环六位上甲基氢的共振信号, 为单峰; 化学位移 $\delta 4.29\text{ ppm}$ 为碳酰肼上氨基氢的共振信号, 为单峰; 化学位移 $\delta 8.78\text{ ppm}$ 为碳酰肼上亚氨基氢的共振信号, 为单峰。其中部分化合物 2, 3, 4b 的 $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO)图谱如图 2、图 3 和图 4。

通过以上方法对其结构进行了确证, 证明得到的产物均为预期设计的目标化合物。

3.2. 生物活性

我们将化合物 3 和 4a 送往国家新药筛选中心进行药理活性筛选, 样品用 DMSO 溶解。在浓度为 $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ 下, 对样品的活性进行测试。结果发现化合物 3

Table 1. MS and elementary analysis of compounds 4a-4c
表 1. 化合物 4a-4c 的 MS 和元素分析值

化合物	分子式	MS (m/z%)	元素分析实测值(计算值)%		
			C	H	N
4a	$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_6$ OS	286.06 (M^+ , 13.5)	50.42 (50.34)	3.51 (3.52)	29.41 (29.35)
4b	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_6$ OS	300.08 (M^+ , 17.5)	52.09 (51.99)	4.02 (4.03)	28.03 (27.98)
4c	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_6$ O_3S	332.07 (M^+ , 17.6)	47.05 (46.98)	3.65 (3.64)	25.32 (25.29)

Table 2. Melting point, productivity and $^1\text{H NMR}$ of compounds 4a-4c
表 2. 化合物 4a-4c 的熔点、产率及 $^1\text{HNMR}$

化合物	熔点 $^{\circ}\text{C}$	产率 (%)	$^1\text{HNMR}$ (d_6 -DMSO) δ
4a	245~246	71	2.50(s, 3H, 6- CH_3), 11.26(s, 1H, NH), 8.02(s, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 7.49-7.53(m, 5H, Ar-H)
4b	241~243	75	2.29(s, 3H, 6- CH_3), 10.24(s, 1H, NH), 3.34(s, 1H, $-\text{N}=\text{C}(\text{CH}_3)$), 7.39-7.47(m, 5H, Ar-H)
4c	261~262	68	2.56(s, 3H, 6- CH_3), 3.83(s, 3H, m- OCH_3), 7.03-8.05(m, 3H, Ar-H), 8.72(s, 1H, $\text{CH}=\text{N}$), 11.32(s, 1H, p-OH), 11.45(s, 1H, NH)

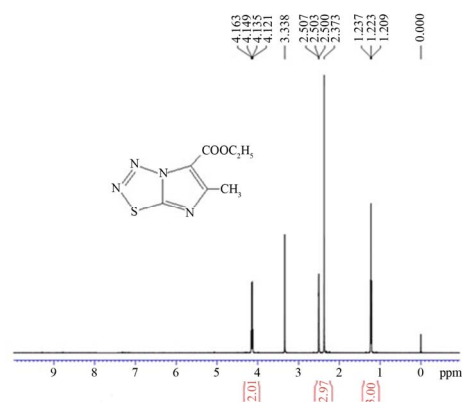


Figure 2. $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) spectrum of compound 2
图 2. 化合物 2 的 $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO)图谱

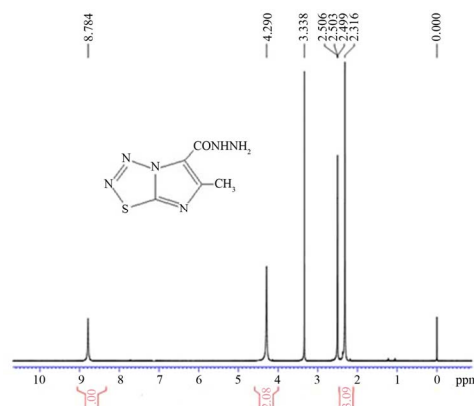


Figure 3. $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO) spectrum of compound 3
图 3. 化合物 3 的 $^1\text{H-NMR}$ (d_6 -DMSO)图谱

