(*E*)-1-取代苯基-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)肼)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮的合成及 PTP1B 抑制活性研究

孙良鹏^a 姜哲^b 高立信^c 刘晓芳^a 全迎春^a
郑光浩^a 李佳^{*,c} 朴虎日^{*,a}

(^a 长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室 延边大学药学院 延吉 133002)

(^b 延边大学附属医院 延吉 133002)

(^c 中国科学院上海药物研究所 国家新药筛选中心 上海 201203)

摘要 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B)作为胰岛素和瘦素信号转导通路的负调节因子,已成为治疗糖尿病和肥胖症的潜在靶标. 为了寻找非磷酸酯类 PTP1B 抑制剂,设计、合成了一系列(*E*)-1-取代苯基-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)肼)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4a**~**4n**),并对化合物进行了 PTP1B 抑制活性测定. 结果显示,所有化合物对 PTP1B 均显示出较强的抑制活性,其中化合物 **4h** 活性最佳,IC₅₀ 为(2.57±0.50) μmol·L⁻¹.

关键词 PTP1B 抑制剂; 查尔酮; 醛肼; 噻唑

Synthesis and PTP1B Inhibitory Activity of (*E*)-1-Substitutedphenyl-3-(4-((*E*)-(2-(4-phenylthiazol-2-yl)hydrazono)methyl)phenyl)-prop-2-en-1-ones

Sun, Liangpeng^a Jiang, Zhe^b Gao, Lixin^c Liu, Xiaofang^a Quan, Yingchun^a
Zheng, Guanghao^a Li, Jia^{*,c} Piao, Huri^{*,a}

(^a Key Laboratory of Natural Resources of Changbai Mountain & Functional Molecules, Ministry of Education, College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002)

(^b Yanbian University Hospital, Yanji 133002)

(^c National Center for Drug Screening, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

Abstract Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) has recently been identified as new drug target for type II diabetes and obesity due to that it is a negative regulator of the insulin and leptin-signaling pathway. In order to find new nonphosphate-based pTyr mimetics, a series of novel (*E*)-1-phenyl-3-(4-((*E*)-(2-(4-phenyl-thiazol-2-yl)hydrazono)methyl)phenyl)-prop-2-en-1-one (**4a**~**4n**) were designed, synthesized, and evaluated for their PTP1B inhibitory activity. The results demonstrated that all compounds presented potent inhibitory activities against PTP1B, among which compound **4h** exhibited most potent with IC₅₀ value of (2.57±0.50) μmol·L⁻¹.

Keywords PTP1B inhibitor; chalcone; carboxaldehyde hydrazone; thiazole

蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (protein tyrosine phosphatase 1B, PTP1B)可以使胰岛素受体底物-1 和胰岛素受体底物-2 去磷酸化,在胰岛素信号转导通路中起着重要的负调控作用^[1]. 因此,PTP1B 已经成为治疗糖尿病

和肥胖症等相关疾病的重要的药物靶点,小分子 PTP1B 抑制剂极有希望成为有效治疗 II 型糖尿病和肥胖症的药物. 采用高通量筛选技术或运用基于 PTP1B 酶三维结构的设计方法,已经获得大量小分子 PTP1B 抑制

* E-mail: piaohuri@ybu.edu.cn; jli@mail.shcnc.ac.cn

Received December 10, 2012; revised February 20, 2013; published online March 1, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81160381, 81125023).

国家自然科学基金(Nos. 81160381, 81125023)资助项目.

剂^[2], 其中, 很多化合物对 PTP1B 的抑制活性已经达到了纳摩尔级. 酪氨酸磷酸酯模拟物是 PTP1B 抑制剂中研究得最为深入的化合物类型, 如二氟亚甲基磷酸类 (Difluoro-methylene phosphonates, DFMP)、2-草酰氨基苯甲酸类 (Oxalaminobenzoic acids, OBA)、噻二唑烷酮类 (1,2,5-Thiadiazolidin-3-one 1,1-dioxide, TDZ; Isothiazolidin-3(2*H*)-one 1,1-dioxide, IZD)、罗丹宁类 (thioxothiazolidinone) 等化合物. 然而, 令人遗憾的是, 迄今为止, 没有一个 PTP1B 抑制剂能通过临床前实验, 主要因为其中很多化合物带有磷酸、羧酸、磺酸等极性基团, 具有较高的负电荷, 在生物体内主要以负离子的形式存在, 不利于透过细胞膜, 导致生物利用度差; 另外, 有些抑制剂对不同的蛋白酪氨酸磷酸酯酶 (protein tyrosine phosphatases, PTPs) 的选择性不好, 不利于有效作用于特定的 PTPs 靶点, 这些因素限制了它们被开发成为有治疗价值的药物. 因此, 寻找类药性好, 负电荷较少的非酸类 PTP1B 抑制剂先导化合物对于 PTP1B 抑制剂的研究具有重要意义.

对含酪氨酸磷酸酯 (pTyr) 的多肽进行动力学研究发现, 仅仅靠 pTyr 并不能高亲和力和地结合 PTPs, 催化结构域周边的结构域可作为增强抑制剂亲和性及选择性的靶点^[3]. 通过将非水解 pTyr 类似物结合到一种特异、理想的模板上, 模拟磷酸基团与酶活性部位的氨基酸残基的结合, 同时, 使模板上的其它基团与催化结构域周边的结构域结合, 通过两方面共同发挥作用, 可获得作用强、专一性高的 PTP1B 的抑制剂^[4-6]. 基于上述结论, 鉴于查尔酮类化合物具有较好的分子柔性, 易与不同的受体结合的特点, 而且, 很多来自天然物的查耳酮及其衍生物已经被证实, 对 PTP1B 显示良好的抑制作用^[7-9]. 因此, 我们设想以查尔酮作为模板, 在其结构上引入可能与酶活性部位形成氢键的杂环, 或许可以发现活性更强的新型 PTP1B 抑制剂. 考虑到噻唑环是一个具有广泛生理活性的结构单元, 如抗炎、抗菌、抗 HIV-1、抗肿瘤、抗惊厥, 肝保护及降糖作用^[10]. 另外, 脲类化合物含有活性亚氨基基团 (C=N-N), 具有较强的配位能力, 在农药、医药、材料和分析试剂等方面备受关注^[11,15]. 二者均可提供易与生物大分子形成多重氢键的杂原子, 增加与受体的亲和力和选择性. 因此, 本文根据活性亚结构拼接和活性叠加原理, 将查尔酮, 脲和噻唑环构筑于同一分子中, 以期找到活性更好的先导化合物 (图 1).

本研究合成了 14 个未见报道的化合物, 其结构经 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, MS 和元素分析测试确认. 活性筛选结果表明该类化合物具有较好的 PTP1B 抑制活性, 合成路线如 Scheme 1 所示.

图 1 目标化合物的设计

Figure 1 The design of target compounds

Reagents and conditions: (a) terephthalaldehyde, EtOH, 5% KOH, r.t.; (b) hydrazinecarbothioamide, EtOH, acetic acid, reflux, 3 h; (c) ω -bromoacetophenone, EtOH, reflux, 1 h

Scheme 1

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成与表征

本研究以取代苯乙酮和对苯二甲醛为起始原料经过 Claisen-Schmidt 反应, 合成了 (*E*)-4-(3-氧代-3-取代苯基-1-丙烯基)苯甲醛 (2a~2n), 再在冰醋酸的作用下, 与氨基硫脲反应得到了 (*E*)-2-[4-((*E*)-3-氧代-3-取代苯基-1-丙烯基)苯亚甲基]氨基硫脲 (3a~3n), 最后与 ω -溴代苯乙酮缩合得到目标化合物 (4a~4n), 并通过 IR, ¹H NMR 和 MS 等分析方法对所合成的化合物进行了表征. IR 谱图中, 所有的化合物在 3300 cm⁻¹ 左右出现弱吸收峰归属为 N—H 的伸缩振动, 在 1700 cm⁻¹ 左右出现了共轭双键的羰基峰, 在 1650~1500 cm⁻¹ 范围内出现了 C=N 和 C=C 的吸收峰; ¹H NMR 谱图中, 噻唑环上的质子信

号在 δ 6.9 左右处呈现单峰, HC=N 上的质子信号在 δ 8.0 左右处呈现单峰, 在 δ 7.00~8.90 处为芳环-H 和查尔酮双键的质子信号; MS 谱图中, 所有的化合物均出现了 $[M+1]^+$ 峰。

1.2 生物活性测试

目标化合物在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下, 对 PTP1B 进行初筛, 对于抑制率高于 50% 化合物进行复筛, 得到 IC_{50} 。从表 1 可知, 除了 **2a**, **2d**, **2k** 外, 所有化合物对 PTP1B 均显示了抑制活性, 在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下, 抑制率为 61.61%~100.91%; IC_{50} 为 $(2.57 \pm 0.50) \sim (45.30 \pm 10.16) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中化合物 **4k** [$(2.57 \pm 0.50) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$] 活性最强, 优于与阳性对照物 [$(3.20 \pm 0.31) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]。通过比较化合物 **2** 和 **4** 发现, 化合物 **2** 对 PTP1B 显示了较弱的活性; 而当在查尔酮结构中引入 2-胍基-4-苯基噻唑后, 对 PTP1B 的抑制活性明显增强, 说明化合物 **4** 中的脒结构和噻唑环可以增强与酶的结合力; 分析化合物 **4** 的构效关系, A 环上的取代基的类型与取代位置对活性

表 1 化合物 **2** 和 **4a**~**4n** 对 PTP1B 的抑制活性

Table 1 Inhibitory activity of compounds **2** and **4a**~**4n** against PTP1B

Compd.	R	PTP1B	
		Inhibition rate ^a /%	$\text{IC}_{50}^b/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
2a	4-F	22.55	NA ^c
2c	3-Cl	75.55	44.68 ± 4.19
2d	4-Cl	38.88	NA
2e	2,4-Cl ₂	99.86	22.31 ± 0.65
2f	4-Br	61.61	45.30 ± 10.16
2h	Phenyl(3,4-fused)	98.67	22.26 ± 1.21
2k	4-OCH ₃	44.89	NA
2m	2-OH	93.32	19.36 ± 1.09
4a	4-F	83.92	5.80 ± 0.74
4b	2-Cl	87.15	4.39 ± 0.76
4c	3-Cl	78.56	4.78 ± 1.01
4d	4-Cl	84.17	5.18 ± 0.64
4e	2,4-Cl ₂	83.01	4.37 ± 1.08
4f	4-Br	91.38	3.95 ± 0.14
4g	H	88.18	6.23 ± 0.78
4h	Phenyl(3,4-fused)	95.01	2.57 ± 0.50
4i	2-OCH ₃	81.04	3.05 ± 0.29
4j	3-OCH ₃	100.91	4.21 ± 0.50
4k	4-OCH ₃	83.81	4.94 ± 0.47
4l	4-CH ₃	80.20	5.29 ± 0.94
4m	2-OH	71.91	4.91 ± 0.47
4n	2-OH, 4,6-(OCH ₂ OCH ₃) ₂	80.04	3.87 ± 0.53
Ursolic acid ^d		98.45	3.20 ± 0.31

^a Values tested at 20 $\mu\text{g/mL}$ concentration. ^b The pNPP assay. IC_{50} values were determined by regression analyses and expressed as means $\pm$ SD of three replications. ^c Not active at 20 $\mu\text{g/mL}$ concentration. ^d Positive control.

影响明显, 不管是吸电子还是供电子都使活性有所提高; 比较化合物 **4g** 和 **4h**, **4h** 的活性提高了一倍, 推测可能由于查尔酮部分延伸至催化中心的周边区域, 并为之通过 π - π 作用结合, 因此, 萘环比苯环作用更强^[8]。另外, 我们选取活性最好的化合物 **4h** 对其他相关 PTP, 如 T 细胞蛋白酪氨酸磷酸酶(T-cell protein tyrosine phosphatase, TCPTP), 细胞周期分裂蛋白 25B (cell division cycle 25 homolog B, CDC25B), 白细胞共同抗原相关蛋白(leukocyte antigen-related phosphatase, LAR), 含 SH2 结构域蛋白酪氨酸磷酸酶 **1** 和 **2** (Src homology phosphatase, SHP-1 和 SHP-2) 进行选择评价。结果如表 2 所示, 化合物 **4h** 在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下对 LAR, SHP-1 和 SHP-2 没有抑制活性, 显示了较好的选择性; 对于 TCPTP, **4h** 显示了近 3 倍的选择性; 对于 CDC25B 没有显示出明显的差别, 与对 PTP1B 的抑制活性相似。

表 2 化合物 **4h** 对 PTP 相关酶的抑制活性 [$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$]^a

Table 2 Inhibitory activity [$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$] of compound **4h** against related PTPs

PTP1B	TCPTP	CDC25B	LAR	SHP-1	SHP-2
2.57 ± 0.50	7.37 ± 0.82	2.48 ± 0.15	NA ^b	NA	NA

^a The pNPP assay. IC_{50} values were determined by regression analyses and expressed as means $\pm$ SD of three replications; ^b Not active at 20 $\mu\text{g/mL}$ concentration.

2 结论

以查尔酮为母体, 在 B 环上引入 2-胍基-4-苯基噻唑结构, 设计合成了 14 个新型的 (*E*)-1-取代苯基-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)脒)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮衍生物。活性结果表明, 该类化合物具有较强的 PTP1B 抑制作用, 与已知的 PTP1B 抑制剂相比, 其结构中不含负电荷, 而且对于其他相关 PTP 表现出了一定的选择性, 值得进一步进行结构优化, 以发现更高活性的化合物。

3 实验部分

3.1 仪器和试剂

熔点用毛细管法测定, 温度计未经校正; IR 用 FI-IR1730 型红外分光光度计测定(KBr 压片); ¹H NMR 用 BRUKER AV-300 型核磁共振仪测定(TMS 为内标, DMSO-*d*₆ 为溶剂); ESI-MS 用 Agilent 1100LC/DAD/MSD 型液相色谱质谱联用仪; 元素分析仪为 Perkin-Elmer 204Q 型; 酶标仪为 Bio-RAD 680 型。本实验所用试剂均为 AR 级或 CP 级。

3.2 化合物的合成

3.2.1 (*E*)-4-(3-氧代-3-取代苯基-1-丙烯基)苯甲醛 (**2a**~**2n**) 的合成

查尔酮 **2a**~**2n** 根据文献报道的方法制备^[12]。

3.2.2 (*E*)-2-[4-((*E*)-3-氧代-3-取代苯基-1-丙烯基)苯基]氨基硫脲(**3a~3n**)的合成

化合物 **3a~3n** 参照文献报道的方法制备^[13~15]. 在装有 20 mL 70%乙醇的 100 mL 的圆底烧瓶中, 加入 2 mmol 查尔酮衍生物 **2**, 2 mmol 氨基硫脲, 0.8 mL 冰醋酸, 氮气保护, 搅拌回流 3 h, TCL 监测至反应完毕, 冷却、抽滤、滤饼用乙醇洗涤, 干燥, 得到粗品. 粗品经 DMSO-EtOH 混合溶剂重结晶, 得黄色粉末状固体 **3a~3n**.

3.2.3 (*E*)-1-取代苯基-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4a~4n**)的合成

化合物 **4a~4n** 参照文献报道的方法制备^[13~15]. 在装有 15 mL 无水乙醇的 50 mL 的圆底烧瓶中, 加入 1.5 mmol 查尔酮衍生物 **3**, 1.5 mmol ω -溴代苯乙酮, 氮气保护, 搅拌回流 1 h, TCL 监测至反应完毕, 冷却, 抽滤, 滤饼用乙醇洗涤, 干燥, 得到粗品. 粗品经 DMSO-EtOH 混合溶剂重结晶, 得黄色粉末状固体 **4a~4n**.

(*E*)-1-(4-氟苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4a**): 黄色固体, 产率 67%. m.p. 234~235 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 6.86 (s, 1H, thiazole-H), 7.49 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, C=C), 7.76 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, C=C), 8.03 (s, 1H, CH=N), 7.16~7.92 (m, 13H, Ar-H), 12.37 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 192.26, 169.24, 167.71, 152.17, 144.23, 141.54, 138.85, 137.96, 135.46, 135.21, 132.32 (2×C), 129.76 (2×C), 129.32 (2×C), 129.13 (2×C), 129.06 (2×C), 128.09, 122.63, 117.28 (2×C), 104.48; IR (KBr) ν : 3267 (N—H), 1736 (C=O), 1623 (C=N), 1596 (C=N), 1558 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 428 (M⁺+1). Anal. calcd for C₂₅H₁₈FN₃OS: C 70.24, H 4.24, N 9.83; found C 70.35, H 4.37, N 9.92.

(*E*)-1-(2-氯苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4b**): 黄色固体, 产率 72%. m.p. 142~143 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 6.88 (s, 1H, thiazole-H), 7.16 (d, $J=16.8$ Hz, 1H, C=C), 7.58 (d, $J=16.8$ Hz, 1H, C=C), 8.05 (s, 1H, CH=N), 7.43~7.88 (m, 13H, Ar-H), 12.38 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 193.06, 169.24, 151.35, 144.22, 142.64, 138.11, 137.78, 135.62, 134.94, 133.68, 132.27, 131.53, 130.55, 129.79 (2×C), 129.52 (2×C), 129.13 (2×C), 128.29, 126.58 (2×C), 122.05, 118.96, 104.39; IR (KBr) ν : 3278 (N—H), 1729 (C=O), 1634 (C=N), 1583 (C=N), 1542 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 444 (M⁺+1). Anal. calcd for C₂₅H₁₈ClN₃OS: C 67.64, H 4.09, N 9.47; found C

67.81, H 4.24, N 9.59.

(*E*)-1-(3-氯苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4c**): 黄色固体, 产率 74%. m.p. 227~228 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 6.90 (s, 1H, thiazole-H), 7.45 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 7.88 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.04 (s, 1H, CH=N), 7.28~7.91 (m, 13H, Ar-H), 12.39 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 192.72, 169.75, 151.96, 145.24, 141.54, 139.31, 137.83, 135.23, 135.04, 133.25, 132.76, 131.53, 130.64, 129.84 (2×C), 129.57 (2×C), 129.24 (2×C), 128.57, 126.63 (2×C), 124.30, 119.85, 104.61; IR (KBr) ν : 3253 (N—H), 1746 (C=O), 1617 (C=N), 1578 (C=N), 1546 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 444 (M⁺+1). Anal. calcd for C₂₅H₁₈ClN₃OS: C 67.64, H 4.09, N 9.47; found C 67.78, H 4.19, N 9.36.

(*E*)-1-(4-氯苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4d**): 黄色固体, 产率 85%. m.p. 233~234 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 6.87 (s, 1H, thiazole-H), 7.57 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, C=C), 7.83 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, C=C), 8.08 (s, 1H, CH=N), 7.31~8.19 (m, 13H, Ar-H), 12.38 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 193.56, 169.35, 151.96, 143.87, 142.56, 141.03, 138.57, 138.02, 135.57, 135.39, 131.52 (2×C), 129.76 (2×C), 129.37 (2×C), 129.16 (2×C), 128.96 (2×C), 128.27, 123.45, 117.67 (2×C), 104.52; IR (KBr) ν : 3294 (N—H), 1728 (C=O), 1638 (C=N), 1596 (C=N), 1539 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 444 (M⁺+1). Anal. calcd for C₂₅H₁₈ClN₃OS: C 67.64, H 4.09, N 9.47; found C 67.78, H 4.19, N 9.36.

(*E*)-1-(2,4-二氯苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4e**): 黄色固体, 产率 89%. m.p. 219~220 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 6.89 (s, 1H, thiazole-H), 7.39 (d, $J=13.8$ Hz, 1H, C=C), 7.86 (d, $J=13.8$ Hz, 1H, C=C), 8.05 (s, 1H, CH=N), 7.27~7.88 (m, 12H, Ar-H), 12.36 (s, 1H, NH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 191.28, 169.60, 151.58, 148.34, 145.53, 142.39, 139.41, 138.02, 135.75, 134.78, 133.47, 132.81, 131.55, 130.06 (2×C), 129.89 (2×C), 129.44 (2×C), 128.35, 126.67 (2×C), 124.21, 121.73, 104.51; IR (KBr) ν : 3262 (N—H), 1725 (C=O), 1635 (C=N), 1581 (C=N), 1526 (C=C) cm⁻¹; MS m/z : 479 (M⁺+1). Anal. calcd for C₂₅H₁₇Cl₂N₃OS: C 62.77, H 3.58, N 8.78; found C 62.59, H 3.72, N 8.94.

(*E*)-1-(4-溴苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腈)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4f**): 黄色固体, 产率 78%. m.p.

205~206 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 6.87 (s, 1H, thiazole-H), 7.47 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, C=C), 7.83 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, C=C), 8.07 (s, 1H, CH=N), 7.31~8.14 (m, 13H, Ar-H), 12.37 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 194.15, 169.64, 151.79, 143.52, 141.48, 138.66, 137.87, 135.19, 134.91, 131.76 ($2\times\text{C}$), 130.26 ($2\times\text{C}$), 129.89 ($2\times\text{C}$), 129.56 ($2\times\text{C}$), 129.31 ($2\times\text{C}$), 128.92, 128.38, 128.06 ($2\times\text{C}$), 123.69, 104.47; IR (KBr) ν : 3298 (N—H), 1734 (C=O), 1631 (C=N), 1576 (C=N), 1531 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 490 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{BrN}_3\text{OS}$: C 61.48, H 3.71, N 8.60; found C 61.33, H 3.67, N 8.81.

(*E*)-1-苯基-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腓)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4g**): 黄色固体, 产率 86%. m.p. 226~227 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 6.89 (s, 1H, thiazole-H), 7.72 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.01 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.07 (s, 1H, CH=N), 7.31~8.19 (m, 14H, Ar-H), 12.38 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 189.57, 168.48, 151.09, 143.80, 140.76, 138.05, 136.91, 135.76, 135.09, 133.64, 129.90 ($2\times\text{C}$), 129.27 ($2\times\text{C}$), 129.08 ($2\times\text{C}$), 129.00 ($2\times\text{C}$), 128.04 ($2\times\text{C}$), 127.04 ($2\times\text{C}$), 125.99, 122.79, 104.44; IR (KBr) ν : 3309 (N—H), 1708 (C=O), 1606 (C=N), 1559 (C=N), 1527 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 412 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OS}$: C 73.32, H 4.68, N 10.26; found C 73.15, H 4.52, N 10.39.

(*E*)-1-萘基-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腓)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4h**): 黄色固体, 产率 87%. m.p. 192~193 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 6.87 (s, 1H, thiazole-H), 7.75 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.18 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.09 (s, 1H, CH=N), 7.38~8.97 (m, 16H, Ar-H), 12.35 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 189.34, 168.95, 151.48, 144.63, 141.17, 138.67, 135.25, 134.32, 133.83, 133.54, 133.48, 132.76, 130.55, 129.92 ($2\times\text{C}$), 129.84 ($2\times\text{C}$), 129.22 ($2\times\text{C}$), 128.85, 128.50, 128.34, 127.63, 127.19, 126.92 ($2\times\text{C}$), 125.44, 123.16, 104.58; IR (KBr) ν : 3253 (N—H), 1738 (C=O), 1628 (C=N), 1556 (C=N), 1527 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 460 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{OS}$: C 75.79, H 4.61, N 9.14; found C 75.95, H 4.79, N 9.35.

(*E*)-1-(2-甲氧基苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腓)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4i**): 黄色固体, 产率 81%. m.p. 208~209 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 3.89 (s, 3H, OCH₃), 6.91 (s, 1H, thiazole-H), 7.39 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, C=C), 7.51 (d, $J=14.4$ Hz, 1H, C=C),

8.05 (s, 1H, CH=N), 7.05~7.88 (m, 13H, Ar-H), 12.35 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 194.76, 169.33, 159.74, 152.50, 145.12, 141.92, 137.93, 135.79, 134.81, 133.26, 131.55, 130.73 ($2\times\text{C}$), 130.31 ($2\times\text{C}$), 129.42 ($2\times\text{C}$), 128.46, 127.32 ($2\times\text{C}$), 125.48, 122.72, 117.25, 113.63, 104.52, 56.72; IR (KBr) ν : 3317 (N—H), 1709 (C=O), 1607 (C=N), 1562 (C=N), 1539 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 440 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 71.05, H 4.82, N 9.56; found C 71.31, H 4.65, N 9.38.

(*E*)-1-(3-甲氧基苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腓)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4j**): 黄色固体, 产率 62%. m.p. 150~151 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 3.87 (s, 3H, OCH₃), 6.90 (s, 1H, thiazole-H), 7.48 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, C=C), 7.97 (d, $J=16.5$ Hz, 1H, C=C), 8.07 (s, 1H, CH=N), 7.28~7.99 (m, 13H, Ar-H), 12.38 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 198.21, 169.64, 163.35, 152.31, 144.62, 141.45, 138.24, 135.49, 133.57, 131.18, 130.26, 130.14 ($2\times\text{C}$), 130.03 ($2\times\text{C}$), 129.86 ($2\times\text{C}$), 128.71, 126.98 ($2\times\text{C}$), 122.67, 120.20, 115.83, 114.75, 104.54, 56.76; IR (KBr) ν : 3314 (N—H), 1741 (C=O), 1632 (C=N), 1587 (C=N), 1512 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 440 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 71.05, H 4.82, N 9.56; found C 71.23, H 4.96, N 9.41.

(*E*)-1-(4-甲氧基苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腓)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4k**): 黄色固体, 产率 67%. m.p. 229~230 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6.91 (s, 1H, thiazole-H), 7.48 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, C=C), 7.78 (d, $J=15.9$ Hz, 1H, C=C), 8.04 (s, 1H, CH=N), 6.98~8.07 (m, 13H, Ar-H), 12.35 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 189.35, 169.41, 166.63, 152.42, 144.56, 141.78, 138.54, 135.23, 133.14, 132.91, 132.27 ($2\times\text{C}$), 129.79 ($2\times\text{C}$), 129.38 ($2\times\text{C}$), 129.17 ($2\times\text{C}$), 128.43, 127.72 ($2\times\text{C}$), 122.59, 115.67 ($2\times\text{C}$), 104.49, 56.82; IR (KBr) ν : 3236 (N—H), 1725 (C=O), 1621 (C=N), 1553 (C=N), 1527 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 440 (M^++1). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 71.05, H 4.82, N 9.56; found C 71.26, H 4.68, N 9.71.

(*E*)-1-(4-甲基苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)腓)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4l**): 黄色固体, 产率 79%. m.p. 226~227 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 2.42 (s, 3H, CH₃), 6.86 (s, 1H, thiazole-H), 7.75 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 7.98 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.11 (s, 1H, CH=N), 7.31~8.12 (m, 13H, Ar-H), 12.37 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 188.94, 169.37, 151.53, 144.02, 143.48, 141.67, 138.86, 137.78, 134.92,

134.65, 130.12 (2×C), 129.96 (2×C), 129.45 (2×C), 129.37 (2×C), 129.21 (2×C), 128.32, 127.41 (2×C), 122.36, 104.47, 22.69; IR (KBr) ν : 3328 (N—H), 1729 (C=O), 1639 (C=N), 1544 (C=N), 1526 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 425 ($M^+ + 1$). Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{OS}$: C 73.73, H 5.00, N 9.92; found C 73.52, H 4.86, N 10.06.

(*E*)-1-(2-羟基苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)脞)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4m**): 黄色固体, 产率 60%; m.p. 216~217 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 6.91 (s, 1H, thiazole-H), 7.56 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 7.89 (d, $J=15.3$ Hz, 1H, C=C), 8.08 (s, 1H, CH=N), 7.01~8.26 (m, 13H, Ar-H), 12.39 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ : 193.42, 169.27, 161.10, 152.65, 146.52, 142.02, 137.46, 135.31, 134.93, 132.84, 131.60, 130.09 (2×C), 129.87 (2×C), 129.22 (2×C), 128.75, 126.34 (2×C), 124.18, 123.67, 119.12, 117.53, 104.56; IR (KBr) ν : 3291 (N—H), 1707 (C=O), 1639 (C=N), 1553 (C=N), 1507 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 426 ($M^+ + 1$). Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 70.57, H 4.50, N 9.88; found C 70.39, H 4.34, N 10.12.

(*E*)-1-(2-羟基-4,6-二甲氧甲基苯基)-3-[4-((*E*)-(2-(4-苯基噻唑-2-基)脞)甲基)苯基]-2-丙烯-1-酮(**4n**): 黄色固体, 产率 62%. m.p. 161~162 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ : 3.41 (s, 6H, OCH_3), 5.23 (s, 2H, OCH_2), 5.30 (s, 2H, OCH_2), 6.89 (s, 1H, thiazole-H), 7.39 (d, $J=14.7$ Hz, 1H, C=C), 7.65 (d, $J=14.7$ Hz, 1H, C=C), 6.28~7.88 (m, 11H, Ar-H), 8.05 (s, 1H, CH=N), 12.38 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz) δ : 196.13, 169.53, 167.41, 163.82, 151.20, 144.32, 143.61, 138.35, 134.72, 134.03, 132.15, 130.29 (2×C), 130.02 (2×C), 129.81 (2×C), 129.34 (2×C), 120.28, 115.49, 114.95, 104.51, 102.42, 93.57, 56.48; IR (KBr) ν : 3264 (N—H), 1726 (C=O), 1634 (C=N), 1586 (C=N), 1533 (C=C) cm^{-1} ; MS m/z : 486 ($M^+ + 1$). Anal. calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$: C 66.79, H 4.77, N 8.65; found C 69.57, H 4.59, N 8.77.

3.3 PTP1B 抑制活性的测试

药理筛选由中国国家新药筛选中心完成。PTP1B 的体外抑酶活性实验测试方法参照文献[16], 以对硝基苯磷酸二钠(Disodium 4-nitrophenyl phosphate, *p*NPP)为底物, 熊果酸为(Ursolic Acid)为阳性对照药物, PTP1B 筛选体系为: 30 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ GST-PTP1B, 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ *p*NPP, 50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mops pH 6.5, 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT, 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA, 2% DMS. 通过检测水解产物对硝基苯酚钠(Disodium *p*-Nitrophenol, *p*NP)在 405 nm 处光吸收的变化以观察酶的活性变化以及化合物对酶活性的

抑制情况, 以相对活性对化合物浓度作图, 经公式 $v/v_0 = 100/(1+b*[I]/\text{IC}_{50})$ 拟合, 得出 IC_{50} 值. 其他相关 PTP 酶抑制活性的测试原理及方法同 PTP1B 的测试.

致谢 活性筛选试验由中国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.

References

- [1] (a) Neel, B. G.; Tonks, N. K. *Curr. Opin. Cell Biol.* **1997**, *9*, 193.
(b) Hunter, T. *Cell* **2000**, *100*, 113.
(c) Tonks, N. K.; Neel, B. G. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 182.
- [2] (a) Lee, S.; Wang, Q. *Med. Res. Rev.* **2007**, *27*, 553.
(b) Combs, A. P. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2333.
(c) Sparks, R. B.; Polam, P.; Zhu, W.; Crawley, M. L.; Takvorian, A.; McLaughlin, E.; Wei, M.; Ala, P. J.; Gonneville, L.; Taylor, N.; Li, Y.; Wynn, R.; Burn, T. C.; Liu, P. C. C.; Combs, A. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 736.
(d) Black, E.; Breed, J.; Breeze, A. L.; Embrey, K.; Garcia, R.; Gero, T. W.; Godfrey, L.; Kenny, P. W.; Morley, A. D.; Minshull, C. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2503.
(e) Stuibler, M.; Zhao, L.; Aubry, I.; Schmidt-Arras, D.; Bohmer, F.-D.; Li, C.-J.; Tremblay, M. L. *ChemBioChem* **2007**, *8*, 179.
- [3] Zhang, Z.-Y. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2002**, *42*, 209.
- [4] Combs, A. P.; Yue, E. W.; Bower, M.; Ala, P. J.; Wayland, B.; Douthy, B.; Takvorian, A.; Polam, P.; Wasserman, Z.; Zhu, W.; Crawley, M. L.; Pruitt, J.; Sparks, R.; Glass, B.; Modi, D.; McLaughlin, E.; Bostrom, L.; Li, M.; Galya, L.; Blom, K.; Hillman, M.; Gonneville, L.; Reid, B. G.; Wei, M.; Becker-Pasha, M.; Klabe, R.; Huber, R.; Li, Y.; Hollis, G.; Burn, T. C.; Wynn, R.; Liu, P.; Metcalf, B. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6544.
- [5] Combs, A. P.; Zhu, W.; Crawley, M. L.; Glass, B.; Polam, P.; Sparks, R. B.; Modi, D.; Takvorian, A.; McLaughlin, E.; Yue, E. W.; Wasserman, Z.; Bower, M.; Wei, M.; Rupar, M.; Ala, P. J.; Reid, B. M.; Ellis, D.; Gonneville, L.; Emm, T.; Taylor, N.; Yeleswaram, S.; Li, Y.; Wynn, R.; Burn, T. C.; Hollis, G.; Liu, P. C. C.; Metcalf, B. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3774.
- [6] Maccari, R.; Paoli, P.; Ottanà, R.; Jacomelli, M.; Ciurleo, R.; Manao, G.; Steindl, T.; Langer, T.; Vigorita, M. G.; Camici, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5137.
- [7] Vogel, S.; Ohmayer, S.; Brunner, G.; Heilmann, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4286.
- [8] Sun, L. P.; Gao, L. X.; Ma, W. P.; Nan, F. J.; Li, J.; Piao, H. R. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, *80*, 584.
- [9] Sun, L. P.; Jiang, Z.; Gao, L. X.; Li, Y. Z.; Sun, L. Y.; Li, J.; Piao, H. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 2108 (in Chinese).
(孙良鹏, 姜哲, 高立信, 李英哲, 孙立云, 李佳, 朴虎日, 有机化学, **2012**, *32*, 2108.)
- [10] (a) Holla, B. S.; Malini, K. V.; Rao, B. S.; Sarojini, B. K.; Kumari, N. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 313.
(b) Pandeya, S. N.; Sriram, D.; Nath, G.; DeClerq, E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1999**, *9*, 25.
(c) Ramla, M. M.; Omar, M. A.; El-Khamry, A. M.; El-Diwan, H. I. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7324.
(d) Dawood, K. M.; Gawad, H. A.; Rageb, E. A.; Ellithey, M.; Mohamed, H. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3672.
(e) Roberts, J. C.; Nagasawa, H. T.; Zera, R. T.; Fricke, R. F.; Goon, D. J. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1891.
(f) Sakashita, H.; Akahoshi, F.; Kitajima, H.; Tsutsumiuchi, R.; Hayashi, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3662.

- [11] (a) Lanthier, C. M.; Pamiak, M. A.; Dmitrienko, G. I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 1557.
(b) Ling, A.; Plewe, M.; Gonzalez, J.; Madsen, P.; Sams, C. K.; Lau, J.; Gregor, V.; Murphy, D.; Teston, K.; Kuki, A.; Shi, S.; Truesdale, L.; Kiel, D.; May, J.; Lakis, J.; Anderes, K.; Iatsimirskaia, E.; Sidelmann, U. G.; Knudsen, L. B.; Brand, C. L.; Polinsky, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 663.
(c) Horiuchi, T.; Chiba, J.; Uoto, K.; Soga, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 305.
- [12] Meng, F. L.; Zheng, C. J.; Li, Y. J.; Sun, L. P.; Liu, X. K.; Zhang, T. Y.; Piao, H. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 183 (in Chinese).
(孟凡领, 郑昌吉, 李因晶, 孙良鹏, 刘学坤, 张天一, 朴虎日, 有机化学, **2012**, 32, 183.)
- [13] Sun, Y. D.; Liu, F. M.; Xie, Z. F.; Chen, J. S. *Chin. J. Org. Chem.* **2005**, 25, 449 (in Chinese).
(孙亚栋, 刘方明, 解正峰, 陈家胜, 有机化学, **2005**, 25, 449.)
- [14] Liu, W. W.; Zhao, Y. Q.; Wang, Q. Q.; Li, N.; Tang, L. J.; Zeng, Y. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, 28, 907 (in Chinese).
(刘玮玮, 赵跃强, 王钦琪, 李娜, 唐丽娟, 曾艳霞, 有机化学, **2008**, 28, 907.)
- [15] Chimenti, F.; Bolasco, A.; Secci, D.; Chimenti, P.; Granese, A.; Carradori, S.; Yáñez, M.; Orallo, F.; Ortuso, F.; Alcaro, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 5715.
- [16] (a) Shi, L.; Yu, H. P.; Zhou, Y. Y.; Du, J. Q.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Li, J. *Acta Pharmacol. Sin.* **2008**, 29, 278.
(b) Zhang, W.; Hong, D.; Zhou, Y. Y.; Zhang, Y. N.; Shen, Q.; Li, J. Y.; Hu, L. H.; Li, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, 1760, 1505.

(Cheng, F.)