

新型 1,3,5-三嗪-1*H*-吡唑-三唑并噻二唑衍生物的合成及活性评价

张成路* 李传银 顾耀东 孙晓娜 唐 杰
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 以具有优秀药理活性的吡唑杂环为核心, 连接 1,3,5-三嗪杂环, 引入三唑并噻二唑稠并环, 设计合成了 21 个新型 1,3,5-三嗪-1*H*-吡唑-三唑并噻二唑衍生物. 应用 IR, ¹H NMR 和 HRMS 等对 21 种新物质进行了结构表征. 评价了 21 种新型目标产物对 Cdc25B 和 PTP1B 的抑制活性, 结果发现, 大部分目标分子显示了优良的抑制活性. 在 Cdc25B 抑制活性测试中, 14 个目标分子抑制活性高于阳性参照物 Na₃VO₄, 有望成为潜在的 Cdc25B 抑制剂, 在 PTP1B 抑制活性测试中, 9 个目标分子抑制活性优于阳性参照物齐墩果酸, 有望成为潜在的 PTP1B 抑制剂.

关键词 吡唑; 1,3,5-三嗪; 三唑并噻二唑; Cdc25B 抑制剂; PTP1B 抑制剂

Synthesis and Bioactivity Evaluation of Novel 1,3,5-Triazine-1*H*-pyrazole-triazol-ethiadiazole Derivatives

Zhang, Chenglu* Li, Chuanyin Gu, Yaodong Sun, Xiaona
Tang, Jie Wang, Jing Li, Yizheng Wang, Huayu
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian 116029)

Abstract Twenty-one novel 1,3,5-triazine-1*H*-pyrazole-triazol-ethiadiazole derivatives are designed and synthesized, in which the excellent pharmacological active pyrazole is used as key skeleton by connecting 1,3,5-triazine and introducing triazol-ethiadiazole. The structures of 21 target compounds are characterized by IR, ¹H NMR and HRMS. The inhibitory activities of 21 novel target products against Cdc25B and PTP1B are evaluated. As a result, most of the target compounds exhibit excellent inhibitory activities. In the Cdc25B inhibitory activity test, 14 target compounds have higher inhibitory activities than the positive reference sodium orthovanadate, and they are expected to be potential of Cdc25B inhibitors. In the PTP1B inhibitory activity test, 9 target compounds have better inhibitory activities than the control oleanolic acid, and they are expected to be potential of PTP1B inhibitors.

Keywords pyrazole; 1,3,5-triazine; triazol-ethiadiazole; Cdc25B inhibitor; PTP1B inhibitor

癌症涉及细胞生长不受调节的各种疾病, 医学上称为恶性肿瘤, 是人类面临的主要健康问题^[1]. 糖尿病是人体内糖、蛋白质和脂肪代谢紊乱造成的一种疾病, 已成为世界上继肿瘤及心脑血管疾病后的第三大严重危害人类身体健康的慢性疾病^[2]. 高发病率的癌症和糖尿病带给人类的困扰, 激发了人们寻找更安全有效的新型药物先导物的迫切性, 成为当代药物化学工作者的最强烈目标之一.

蛋白酪氨酸磷酸酯酶(protein tyrosine phosphatases, 缩写为 PTPs)具有促进细胞有丝分裂作用, 或在胰岛素

信号转导通路中起着重要的负调控作用^[3,4]. 在生物体内含酪氨酸磷酸酯(pTyr)的多肽并不能高亲和地结合 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^[5], 通过将非水解 pTyr 类似物, 模拟磷酸基团与酶活性部位的氨基酸残基的结合, 并使其它基团与催化结构域周边的结构域结合而共同发挥作用, 有望获得作用强、选择性高的 PTPs 的抑制剂^[6]. 细胞分裂周期 25 磷酸酯酶 B (cell division cycle 25 phosphatase B, 缩写为 Cdc25B)和蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B (protein tyrosine phosphatase 1B, 缩写为 PTP1B)同属于

* Corresponding author. E-mail: zhangchenglu@lnnu.edu.cn

Received April 17, 2017; revised June 28, 2017; published online January 3, 2018.

Project supported by the Science and Technology Research Program of Liaoning Provincial Department of Education (No. 2009A426).

辽宁省教育厅科学技术研究(No. 2009A426)资助项目.

PTPs. Cdc25B 被发现在大量的人类癌症和肿瘤细胞系中过度表达, 已被确定为抗癌治疗的潜在靶标^[7]. PTP1B 是糖尿病产生过程中重要的诱导因素之一, 还与肿瘤、自身免疫和心血管等许多疾病密切相关, 是机体表达的非受体型的物质^[8], 已被确证是治疗 II 型糖尿病、肥胖症和某些癌症的靶点. 因此探究类药性好和活性优良的 Cdc25B 和 PTP1B 抑制剂, 无疑对筛选出抗肿瘤和抗糖尿病先导药物具有重要意义.

在药用活性分子的研究中, 含不同杂环结构分子的设计合成已成为药物创制的重要方法. 吡唑、均三嗪和噻唑并噻二唑等活性结构的引入, 已成为药用分子设计的重要研究对象. 含吡唑骨架结构的分子, 因其优良的抗肿瘤和抗糖尿病等活性^[9~12], 显示了化学治疗的潜力. 吡唑结构具有较好的分子柔性, 经对其结构修饰后易与不同的受体结合. 在许多天然产物和临床药物中, 吡唑组块对分子的活性都起着关键性作用, 成为重要的药效基团. 如作为 CB1 受体拮抗剂的利莫那班(Rimonabant)和作为 IGF-1R 可逆性抑制剂的 BMS-754807(图 1)等^[13,14], 已被证实对 PTPs 显示良好的抑制作用.

三唑并噻唑和 1,3,5-三嗪组块也已被证实是活性广泛的药效基团, 如临床抗肿瘤药物 A 和 B(图 1)^[15]就是将两种药效基团构筑于分子中而发挥良好的药效作用. 特别是近年的研究发现, 含有三唑并噻唑和 1,3,5-三嗪活性组块的分子具有抑制肿瘤扩散, 肠道驱虫等药效(图 1 中 C)^[16~18], 而且该类分子在

生化反应中易代谢, 且本质是非致癌的^[19], 具有低毒性, 因此含三唑并噻唑和 1,3,5-三嗪组块的药物分子的设计合成已成为药物筛选的重要途径.

从南非灌木柳树中提取的考布他汀 Combretastatin (图 1)是最广为人知的抗癌剂之一^[20,21], 其水溶性前药现已在人类癌症临床试验中显示出较好的结果^[22]. 构效关系(SAR)研究表明, 芳香环-A 和顺式双键的存在对于有效的抗增殖活性具有重要作用^[23~25]. 最新研究还发现, 当双键被 1,2,4-三唑杂环组块替代时(图 1 中 D), 分子具有与考布他汀相当的抗增殖活性^[26].

鉴于吡唑、三唑并噻二唑和均三嗪可作为优良广谱的药效基团且组块在生化反应中易代谢而低毒的性能, 根据亚结构拼接和活性叠加原理, 参比考布他汀和类似分子的结构特征, 为筛选优良的 Cdc25B 和 PTP1B 抑制剂, 我们设计以均三嗪作为考布他汀分子中的芳香环 A, 以吡唑替代双键, 对接三唑并噻二唑, 构筑大共轭、多杂原子体系(图 1 中 Target), 借助分子结构中多杂原子富电子特征, 期望一方面增加与受体的亲和力, 另一方面创建与酶活性部位形成氢键的多位点, 从而发现活性优良的新型 PTPs 抑制剂, 为抗肿瘤和抗糖尿病先导药物的筛选提供重要的理论参考. 目标分子合成路线如 Schemes 1, 2 所示.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成与表征

首先, 在碱性条件下, 均三嗪与胺通过亲核取代反

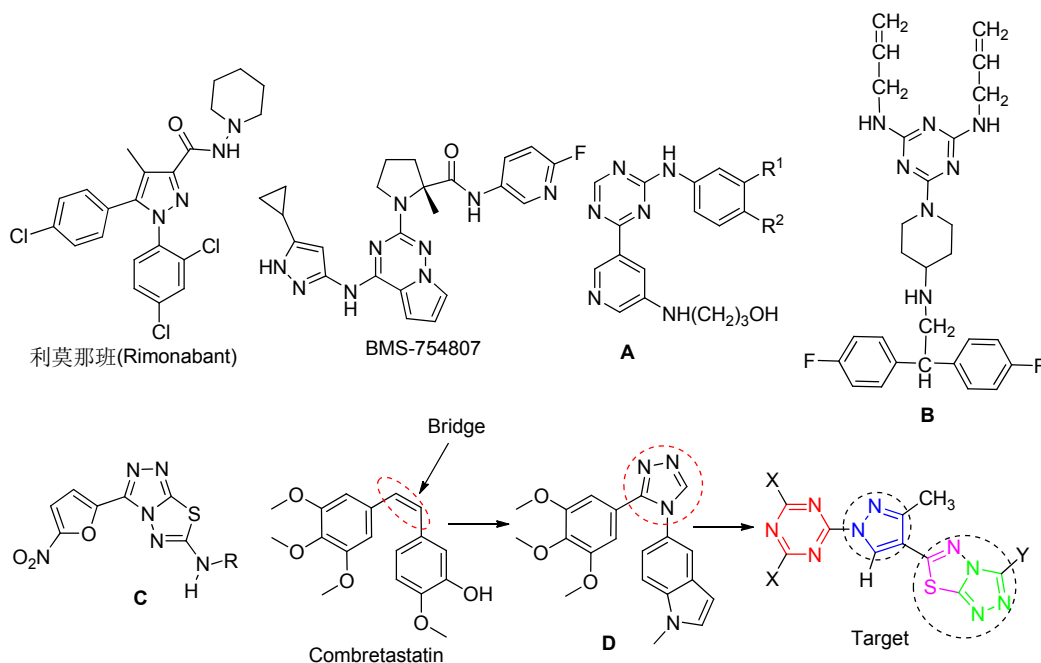
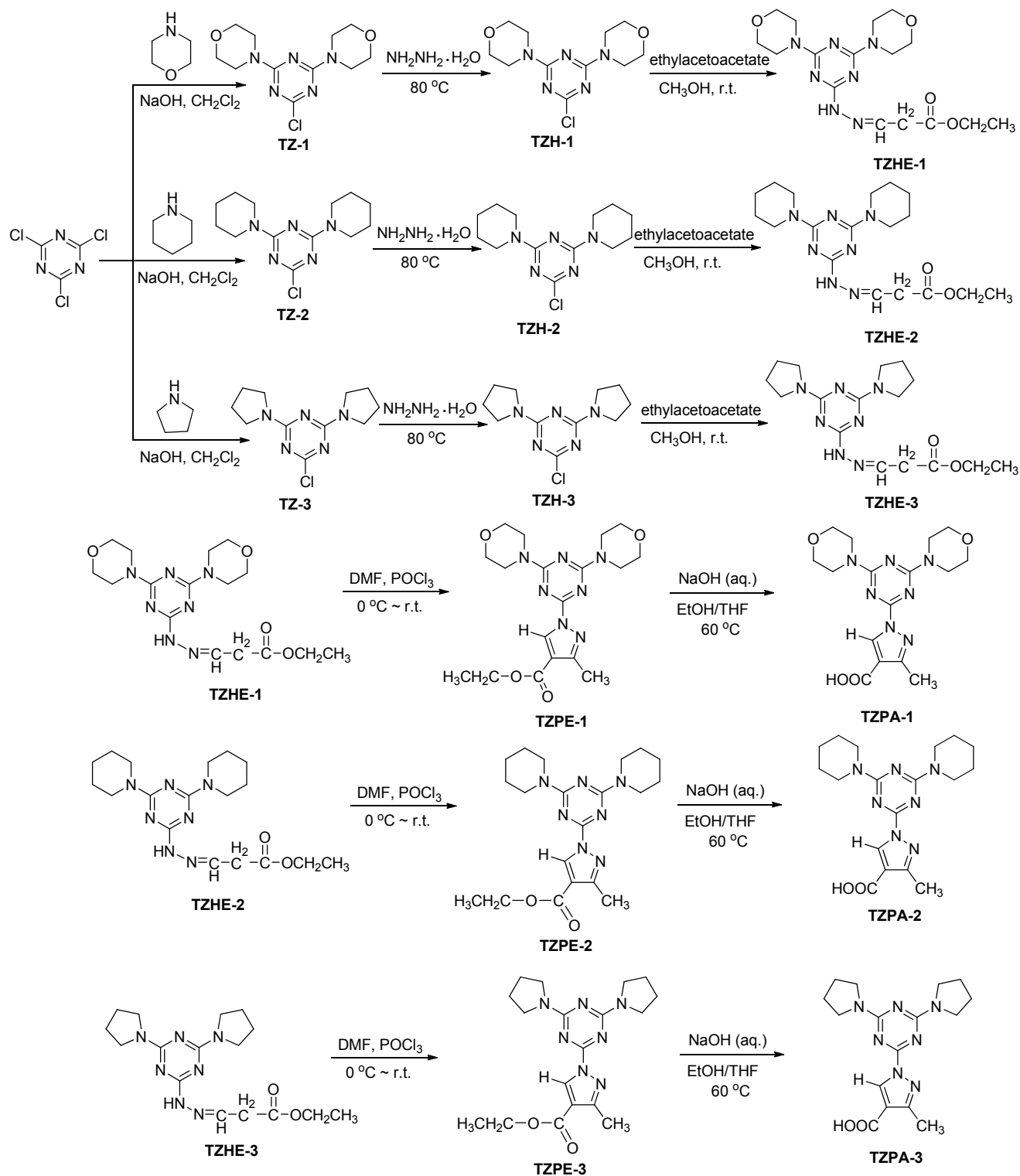


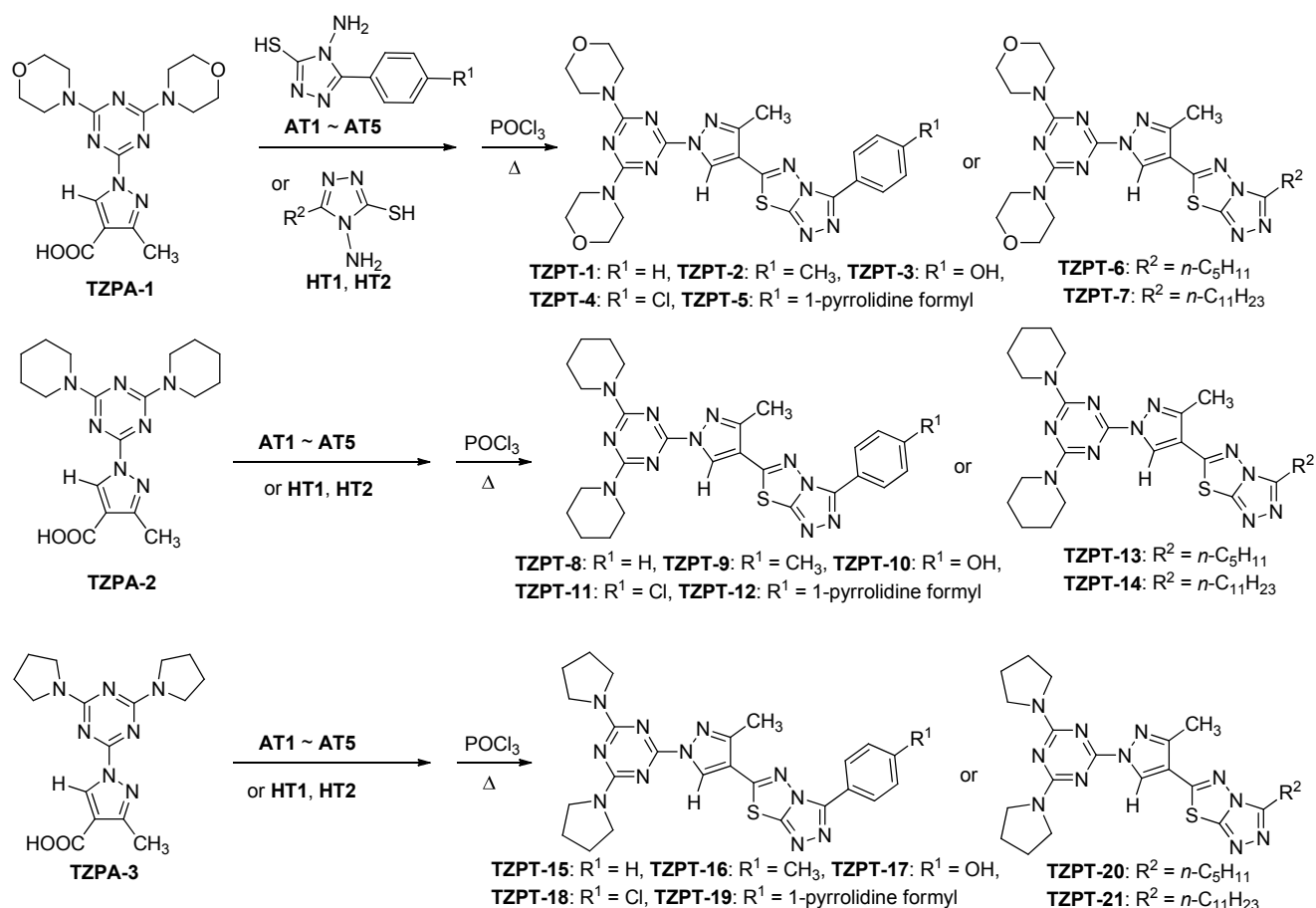
图 1 一些临床药物分子和设计思路

Figure 1 Some clinical drug molecules and design proposition

图式 1 中间体 **TZPA1**~**TZPA3** 的合成方法Scheme 1 Synthetic methods of intermediates **TZPA1**~**TZPA3**

应, 分别合成化合物 **TZ1**~**TZ3** 和 **TZH-1**~**TZH-3**, 随着均三嗪上氯原子分别被取代, 要求不断提高反应温度, 以达到提高产率的目的; 其次, 分别将 **TZH-1**~**TZH-3** 与乙酰乙酸乙酯混合, 通过亲核加成和消除反

应合成了 **TZHE-1**~**TZHE-3**; 第三, 在 POCl₃ 和 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)存在下, 利用 Knorr 反应将 **TZHE-1**~**TZHE-3** 转化成含吡唑组块的 **TZPE-1**~**TZPE-3**, 再在碱性条件下将分子中的酯基水解后, 获



图式 2 目标化合物 TZPT-1~TZPT-21 的合成方法

Scheme 2 Synthetic methods of target compounds TZPT-1~TZPT-21

得 **TZPA-1**~**TZPA-3**; 最后利用 1,2,4-三唑分子 **AT1**~**AT5**, **HT1**, **HT2** 中的氨基和 **TZPA-1**~**TZPA-3** 分子中的羧基在 POCl_3 存在下首先缩合生成酰胺, 同时借助分子中的巯基向酰胺键的羰基亲核进攻后再消除一分子水, 构筑了含三唑并噻二唑的目标分子 **TZPT-1**~**TZPT-21**.

IR 谱图中, 在 3100 , $1620\sim 1450\text{ cm}^{-1}$ 左右范围的 IR 信号可以证明目标分子结构中芳香环的存在; 3030 cm^{-1} 左右出现的峰为苯环上 C—H 吸收峰, 1650 cm^{-1} 左右出现的峰为 C=N 吸收峰, 1110 cm^{-1} 左右出现的峰为 C—N 吸收峰, 690 cm^{-1} 左右出现的峰为 C—S 吸收峰, 初步表明吡唑和三唑并噻二唑杂环的存在. $^1\text{H NMR}$ 谱图中, 在 $\delta\ 1.4\sim 1.6$ 和 $3.6\sim 3.8$ 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 $\delta\ 8.9$ 左右处出现的峰为吡唑环=CH 上的质子信号, 在 $\delta\ 2.4$ 左右处出现的峰为吡唑环上 CH_3 的质子信号, 表明成功构筑吡唑环, 在 $\delta\ 0.9$ 和 1.4 左右处出现的为烷基的质子信号, 在 $\delta\ 8.0$ 和 7.6 左右处出现芳环的质子信号, 表明芳环的存在; HRMS 谱图中, 所有的化合物均出现了 $[\text{M}+1]^+$ 峰.

1.2 目标化合物对 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性

测试了所合成目标化合物 **TZPT-1**~**TZPT-21** 对 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性, 结果如表 1 和表 2 所示. 针对目标分子进行的构效分析发现, 将吡唑、三唑并噻二唑和 1,3,5-三嗪活性组块拼合, 成功构筑了与天然产物考布他汀类似的新型结构的分子, 并显现出优秀的 Cdc25B 和 PTP1B 抑制活性, 实现了有效的活性叠加, 尤其是作为广谱生物学特征不可或缺的杂环支架三唑并噻二唑^[27]的加入, 使具有新型结构的多杂环分子展现了更为显著的活性, 达到了预期研究的目的. 分析原因可能是含有多杂原子的分子与生物大分子具有了更高的相似度, 增强了两两者之间的相互作用. 进一步分析发现, 含有哌啶的分子, 由于其自身的药理特性和优异的亲水性, 显示比含吗啉和吡咯烷更为优秀的抑制效果, 由此推测哌啶杂环可作为重要的药效基团构筑于活性分子中. 研究还发现, 当在分子中的苯环 4 号位引入斥电子基团时, 可使化合物表现更强的抑制活性, 原因可能斥电子效应可使目标分子电子云密度增大, 导致理化性质变化增大, 目标分子更易与生物大分子受体相互吸引, 形成牢固的复合物, 从而产生药理效应, 表现出

表1 目标化合物对 Cdc25B 的抑制活性^a

Table 1 Inhibitory activities of target compounds against Cdc25B

Compound	Inhibition rate ^b /%	IC ₅₀ ^c /(μg·mL ⁻¹)
TZPT-1	70.81 ± 2.40	4.01 ± 0.18
TZPT-2	85.01 ± 1.12	3.22 ± 0.11
TZPT-3	96.63 ± 0.19	0.18 ± 0.00
TZPT-4	98.05 ± 1.09	1.04 ± 0.01
TZPT-5	74.32 ± 2.41	5.20 ± 0.17
TZPT-6	95.77 ± 0.17	0.53 ± 0.26
TZPT-7	90.43 ± 2.05	1.10 ± 0.02
TZPT-8	90.99 ± 3.87	1.96 ± 0.01
TZPT-9	99.69 ± 0.19	0.60 ± 0.03
TZPT-10	98.43 ± 0.12	0.10 ± 0.02
TZPT-11	96.96 ± 0.01	0.37 ± 0.01
TZPT-12	80.22 ± 2.01	3.04 ± 0.12
TZPT-13	97.66 ± 0.09	0.32 ± 0.04
TZPT-14	95.85 ± 0.35	0.46 ± 0.03
TZPT-15	89.04 ± 1.01	2.91 ± 0.04
TZPT-16	96.67 ± 2.57	0.91 ± 0.15
TZPT-17	97.30 ± 0.41	0.13 ± 0.02
TZPT-18	94.51 ± 0.91	0.50 ± 0.03
TZPT-19	78.13 ± 0.08	3.94 ± 0.01
TZPT-20	98.26 ± 0.06	0.45 ± 0.05
TZPT-21	97.98 ± 0.01	0.56 ± 0.04

^a Na₃VO₄ [IC₅₀=(1.86 ± 0.24) μg/mL] as a positive control; ^b values tested at 20 μg/mL concentration; ^c values calculated by nonlinear fitting through the inhibition rate at 5 μg/mL concentration.

表2 目标化合物抑制 PTP1B 的活性^a

Table 2 Inhibitory activities of target compounds against PTP1B

Compound	Inhibition rate ^b /%	IC ₅₀ ^c /(μg·mL ⁻¹)
TZPT-1	84.03 ± 3.92	6.12 ± 0.04
TZPT-2	81.94 ± 1.83	3.64 ± 0.12
TZPT-3	91.77 ± 1.30	0.90 ± 0.01
TZPT-4	90.66 ± 0.81	1.22 ± 0.01
TZPT-5	70.12 ± 2.54	6.98 ± 0.33
TZPT-6	91.96 ± 2.55	1.19 ± 0.02
TZPT-7	89.60 ± 1.97	4.01 ± 0.21
TZPT-8	94.35 ± 1.87	3.72 ± 0.44
TZPT-9	94.27 ± 1.68	2.96 ± 0.18
TZPT-10	95.35 ± 3.36	0.67 ± 0.11
TZPT-11	93.65 ± 5.24	1.10 ± 0.07
TZPT-12	88.96 ± 0.31	4.77 ± 0.35
TZPT-13	95.54 ± 0.34	1.02 ± 0.08
TZPT-14	98.55 ± 0.32	3.66 ± 0.06
TZPT-15	89.13 ± 0.83	6.01 ± 1.53
TZPT-16	89.91 ± 4.58	3.42 ± 0.04
TZPT-17	93.37 ± 2.80	0.87 ± 0.07
TZPT-18	92.55 ± 1.18	1.16 ± 0.03
TZPT-19	79.13 ± 0.74	5.51 ± 0.27
TZPT-20	94.92 ± 1.83	1.11 ± 0.01
TZPT-21	92.23 ± 0.29	3.78 ± 0.50

^a Oleanolic acid [IC₅₀=(1.25 ± 0.09) μg/mL] as a positive control. ^b Values tested at 20 μg/mL concentration. ^c Values calculated by nonlinear fitting through the inhibition rate at 5 μg/mL concentration.

更好的抑制活性。当苯环 4 号位为羟基时, 如 TZPT-3、

TZPT-10 和 TZPT-17, 可能由于其与生物大分子间产生氢键, 可极大影响分子片段与生物酶之间的相互作用, 赋予有机分子一定的水溶性, 也增加与受体的亲和力和选择性, 从而使化合物发挥优秀的药理活性作用。对于含有脂肪基的目标分子, TZPT-6, TZPT-13 和 TZPT-20 显示了较强的脂溶和亲水兼容性, 但脂肪碳链过长时, 其亲水性降低, 同时在与受体相作用时也可能产生空间位阻或分子缠绕, 阻碍了分子中活性位点与受体靶点的相互作用, 使其抑制活性受到较大影响。此外苯环 4 号位氯原子的引入可能因为增大了分子脂溶性, 使目标分子对 Cdc25B 和 PTP1B 的抑制活性增强。

2 结论

成功合成了 21 个新型 1,3,5-三嗪-1*H*-吡唑-三唑并噻二唑衍生物目标分子 TZPT-1~TZPT-21。在 Cdc25B 抑制活性测试中, 所有目标分子初筛抑制率达到 50% 以上, 其中 14 个目标分子抑制活性高于阳性参照物 Na₃VO₄, Cdc25B 抑制活性优秀, 有望成为潜在的 Cdc25B 抑制剂; 在 PTP1B 抑制活性测试中, 所有目标分子初筛抑制率达到 50% 以上, 9 个目标分子抑制活性优于阳性对照物齐墩果酸, PTP1B 抑制活性优良, 有望成为潜在的 PTP1B 抑制剂。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

AVANCE 500 MHz NMR 核磁共振波谱仪; Waters Xevo Q-TOF MS 液相色谱-质谱联用仪; TENSOR 27 傅立叶变换红外光谱仪; X-5 型数字显微熔点测定仪(温度计未经校正); WFH-203B 型三用紫外分析仪。其余试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

3.2 实验方法

3.2.1 化合物 TZ1~TZ3、TZh-1~TZh-3、AT1~AT5 和 HT1、HT2 的合成

化合物 TZ1~TZ3 的合成参考文献[28], 化合物 TZh-1~TZh-3 的合成参考文献[29, 30], 中间体化合物 AT1~AT5 的合成参考文献[31, 32], 中间体化合物 HT1, HT2 的合成参考文献[33], 所合成物质均与文献值相符。

3.2.2 脘衍生物 TZHE-1~TZHE-3 的合成

取 0.01 mol 化合物 TZh-1~TZh-3 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 15 mL 无水甲醇和 0.04 mol 乙酰乙酸乙酯, 室温搅拌 2.5 h, 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, 室温搅拌过夜, 有固体析出, 抽滤, 得脘衍生物 TZHE-1~TZHE-3。

乙酰乙酸乙酯-4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪脲(**TZHE-1**): 白色固体, 收率 87.9%. m.p. 78.6~79.5 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.68 (s, 1H), 4.21 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.79~3.71 (m, 16H), 3.36 (s, 2H), 2.27 (s, 3H, CH_3), 1.30 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); IR (KBr) ν : 3332, 2940, 2850, 1740, 1690, 1375, 1250 cm^{-1} .

乙酰乙酸乙酯-4,6-二哌啶基-1,3,5-三嗪脲(**TZHE-2**): 白色固体, 收率 85.6%. m.p. 86.8~87.2 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.61 (s, 1H), 4.17 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 3.74 (t, $J=4.9$ Hz, 8H), 3.34 (s, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.63~1.50 (m, 12H), 1.29 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); IR (KBr) ν : 3312, 2935, 2850, 1728, 1680, 1370, 1250 cm^{-1} .

乙酰乙酸乙酯-4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪脲(**TZHE-3**): 白色固体, 收率 70.6%. m.p. 125.0~126.0 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.65 (s, 1H), 4.17 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 3.57~3.50 (m, 8H), 3.43 (s, 2H), 2.15 (s, 3H), 2.00~1.86 (m, 8H), 1.28 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); IR (KBr) ν : 3340, 2940, 2860, 1735, 1670, 1375, 1252 cm^{-1} .

3.2.3 1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(**TZPE-1**~**TZPE-3**)的合成

于 100 mL 三口瓶中, 加入 0.01 mol 脲衍生物 **TZHE-1**~**TZHE-3**, 加入 7 mL 干燥的 DMF, 室温搅拌, 固体完全溶解后, 冰盐浴下, 缓慢滴加 4 mL 新蒸 POCl_3 , 冰盐浴下继续搅拌 0.5 h 后, 移至室温搅拌 3 h, 将反应液倒入 200 mL 冰水中搅拌, 稀 NaOH 溶液调节至 pH=7, 有固体析出, 抽滤. 固体用乙醇重结晶, 得产物 **TZPE-1**~**TZPE-3**.

(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-3-甲基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(**TZPE-1**): 浅黄色固体, 收率 54.6%. m.p. 230.2~230.9 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.86 (s, 1H), 4.26 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 3.81~3.65 (m, 16H), 2.43 (s, 3H), 1.31 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); IR (KBr) ν : 3030, 2962, 1740, 1690, 1634, 1375, 1250, 1110 cm^{-1} .

(4,6-二哌啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-3-甲基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(**TZPE-2**): 浅黄色固体, 收率 61.4%. m.p. 137.1~138.0 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 9.04 (s, 1H(s, 1H, 吡唑)), 4.34 (q, $J=7.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.71 (t, $J=4.9$ Hz, 8H, 哌啶), 2.58 (s, 3H, 吡唑 CH_3), 1.67~1.53 (m, 12H, 哌啶), 1.37 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH_3); IR (KBr) ν : 3031, 2951, 1730, 1670, 1630, 1370, 1230, 1110 cm^{-1} .

(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-3-甲基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(**TZPE-3**): 浅黄色固体, 收率 60.1%. m.p. 176.6~177.1 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.95 (s, 1H), 4.31 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 3.71~3.59 (m, 8H), 2.56 (s,

3H), 2.10~1.87 (m, 8H), 1.37 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); IR (KBr) ν : 3030, 2960, 1740, 1675, 1630, 1370, 1250, 1105 cm^{-1} .

3.2.4 1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸(**TZPA-1**~**TZPA-3**)的合成

于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 0.01 mol 1,3,5-三嗪-双取代(吗啉/哌啶/吡咯烷)-1H-吡唑-4-羧酸乙酯 **TZPE-1**~**TZPE-3**, 加入 7 mL 无水乙醇和 7 mL 四氢呋喃, 温度 60 °C, 加热搅拌回流, 固体完全溶解后, 加入 20 mL NaOH 溶液(2 mol/L), 继续反应 6 h, TLC 监测反应进程, 待反应完全, 蒸除无水乙醇和四氢呋喃, 2 mol/L 稀盐酸调节至 pH 为 4~5, 有固体析出, 抽滤. 固体用乙醇重结晶, 得中间体产物 **TZPA-1**~**TZPA-3**.

(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-3-甲基-1H-吡唑-4-羧酸(**TZPA-1**): 浅黄色固体, 收率 69.8%. m.p. > 300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 12.63 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 3.80~3.63 (m, 16H), 2.41 (s, 3H); IR (KBr) ν : 3436, 3031, 2950, 1740, 1682, 1630, 1380, 1250, 1105 cm^{-1} .

(4,6-二哌啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-3-甲基-1H-吡唑-4-羧酸(**TZPA-2**): 浅黄色固体, 收率 79.2%. m.p. > 300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 12.38 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 3.74 (t, $J=5.0$ Hz, 8H), 2.58 (s, 3H), 1.63~1.52 (m, 12H); IR (KBr) ν : 3440, 3030, 2947, 1760, 1680, 1635, 1380, 1105 cm^{-1} .

(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-3-甲基-1H-吡唑-4-羧酸乙酯(**TZPA-3**): 浅黄色固体, 收率 70.1%. m.p. 278.9~279.7 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 12.11 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 3.80~3.59 (m, 8H), 2.58 (s, 3H), 1.95~1.86 (m, 8H); IR (KBr) ν : 3430, 3035, 2940, 1745, 1670, 1632, 1375, 1110 cm^{-1} .

3.2.5 1,3,5-三嗪-1H-吡唑-三唑并噻二唑衍生物 **TZPT-1**~**TZPT-21** 的合成

在氮气氛围下, 将 0.5 mmol 中间体 **AT** 或 **HT** 和 0.2 mmol 四丁基溴化铵加入 100 mL 三口瓶中, 量取 10 mL 新蒸的 POCl_3 加入其中, 升温至 90 °C, 固体完全溶解后, 加入 0.6 mmol 中间体 **TZPA**, 加毕升温至 135 °C(与中间体 **HT** 反应时升温至 110 °C), 固体即刻完全溶解, 10 min 后有浅黄色固体析出, 继续反应 5 h. 反应停止后, 将反应液加入到 200 mL 冰水中, 剧烈搅拌, 用 NaOH 溶液调 pH 至 6~7, 有浅黄色固体析出, 搅拌过夜, 过滤出沉淀物, 固体用乙酸乙酯洗涤(与中间体 **HT** 反应时用甲醇洗涤), 干燥得目标产物 **TZPT-1**~**TZPT-21**.

6-(3-甲基-1-(4,6-二吗啉-4-基)-1,3,5-三嗪-2-基)-1H-

吡唑-4-基)-3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-1): 灰白色固体, 收率 60.1%. m.p. >300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.93 (s, 1H), 8.09 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.57~7.51 (m, 3H), 3.97~3.87 (m, 16H), 2.77 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.28, 167.08, 160.55, 152.12, 144.20, 141.23, 138.63, 133.22, 131.01, 129.43, 127.37, 103.32, 65.52, 44.09, 13.99; IR (KBr) ν : 3030, 2940, 1650, 1610, 1545, 1445, 1380, 1250, 1105, 739, 682 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_{11}\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 532.1991, found 532.1976.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对甲苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-2): 浅棕色固体, 收率 71.1%. m.p. 294.5~295.8 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.94 (s, 1H), 8.24 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 3.90~3.73 (m, 16H), 2.65 (s, 3H), 2.42 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.34, 167.51, 161.09, 152.13, 144.17, 142.23, 138.62, 136.25, 129.33, 127.09, 125.17, 103.22, 66.73, 45.12, 21.22, 13.09; IR (KBr) ν : 3030, 2930, 1650, 1615, 1550, 1445, 1380, 1250, 1110, 835, 691 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_{11}\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 546.2148, found 546.2143.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对羟基苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-3): 浅棕色固体, 收率 42.3%. m.p. 291.0~292.1 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 10.07 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.41 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 3.84 (s, 16H), 2.71 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.33, 167.42, 160.02, 152.23, 144.53, 146.25, 138.74, 130.35, 125.23, 121.16, 103.27, 66.82, 46.09, 13.87; IR (KBr) ν : 3260, 3030, 2940, 1655, 1612, 1547, 1438, 1375, 1235, 1115, 829, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_{11}\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 548.1941, found 548.1942.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对氯苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-4): 浅棕色固体, 收率 62.7%. m.p. >300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.91 (s, 1H), 8.33 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.77~3.69 (m, 16H), 2.69 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.27, 167.55, 160.72, 152.77, 144.07, 141.02, 138.29, 131.08, 125.27, 123.83, 121.27, 103.47, 65.52, 45.09, 13.92; IR (KBr) ν : 3035, 2945, 1650, 1615, 1540, 1445, 1380, 1250, 1115, 821, 685 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{ClN}_{11}\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 566.1602, found 566.1598.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对羰基吡咯烷基苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-5): 黄棕色固体, 收率 67.8%. m.p. >300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.92 (s, 1H), 8.35 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.87~3.80 (m, 16H), 3.42~3.31 (m, 4H), 2.71 (s, 3H), 1.85~1.80 (m, 4H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.32, 167.57, 161.02, 152.43, 146.25, 142.37, 138.46, 135.24, 129.31, 126.25, 123.37, 103.72, 66.45, 54.47, 45.09, 25.61, 13.89; IR (KBr) ν : 3030, 2950, 1728, 1655, 1612, 1543, 1430, 1380, 1235, 1120, 845, 691 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_{12}\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 629.2519, found 629.2516.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-正戊烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-6): 浅棕色固体, 收率 51.8%. m.p. 233.5~234.3 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.92 (s, 1H), 3.82~3.72 (m, 16H), 2.82 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 1.90~1.81 (m, 2H), 1.44~1.38 (m, 4H), 0.92 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.04, 167.45, 160.07, 152.44, 142.16, 138.45, 103.46, 65.52, 45.09, 32.48, 25.42, 24.89, 22.26, 15.19, 13.92; IR (KBr) ν : 3030, 2940, 1690, 1380, 1240, 1105, 685 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_{11}\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 526.2461, found 526.2459.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-正十一烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-7): 浅棕色固体, 收率 59.4%. m.p. 296.2~297.9 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.87 (s, 1H), 3.97~3.87 (m, 16H), 3.31 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.69 (s, 3H), 1.96~1.89 (m, 2H), 1.49~1.43 (m, 2H), 1.39~1.23 (m, 14H), 0.88 (t, $J=6.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.05, 167.42, 160.02, 152.23, 146.25, 144.53, 141.03, 138.74, 130.27, 125.23, 121.16, 103.27, 66.82, 46.09, 13.87; IR (KBr) ν : 3030, 2935, 1640, 1375, 1219, 1110, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_{11}\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 610.3400, found 610.3390.

6-(3-甲基-(4,6-二吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-8): 浅棕色固体, 收率 54.8%. m.p. 282.9~284.2 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.94 (s, 1H), 7.97 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.55~7.51 (m, 3H), 3.83 (t, $J=4.7$ Hz, 8H), 2.76 (s, 3H), 1.69~1.61 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.44, 167.05, 160.27, 152.12, 144.35, 141.27, 138.23, 133.05, 131.27, 129.03, 127.10,

103.47, 43.04, 25.37, 22.13, 13.76; IR (KBr) ν : 3030, 2935, 1645, 1610, 1540, 1438, 1380, 1105, 735, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528.2406, found 528.2409.

6-(3-甲基-(4,6-二嘧啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对甲苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-9**): 浅棕色固体, 收率 69.9%. m.p. 286.9 ~ 287.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.93 (s, 1H), 8.27 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 3.83 (t, $J=4.7$ Hz, 8H), 2.74 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.69~1.64 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.38, 167.09, 160.52, 152.17, 144.36, 142.62, 138.32, 136.26, 129.17, 127.44, 125.27, 103.42, 43.25, 25.27, 22.09, 20.97, 13.43; IR (KBr) ν : 3030, 2935, 1650, 1617, 1543, 1438, 1380, 1105, 832, 682 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 542.2563, found 542.2562.

6-(3-甲基-(4,6-二嘧啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对羟基苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-10**): 浅黄色固体, 收率 39.6%. m.p. 205.1 ~ 206.6 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 10.12 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.41 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 3.83 (t, $J=4.6$ Hz, 8H), 2.74 (s, 3H), 1.68~1.64 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.46, 167.44, 160.27, 152.09, 146.53, 144.58, 141.30, 138.20, 130.22, 125.09, 121.22, 103.29, 43.37, 25.37, 22.23, 13.77; IR (KBr) ν : 3250, 3030, 2940, 1651, 1620, 1545, 1440, 1375, 1120, 840, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_{11}\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 544.2355, found 544.2356.

6-(3-甲基-(4,6-二嘧啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对氯苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-11**): 浅黄色固体, 收率 58.0%. m.p. 250.0 ~ 251.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.94 (s, 1H), 8.34 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.74 (t, $J=5.3$ Hz, 8H), 2.76 (s, 3H), 1.69~1.53 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.27, 167.58, 160.74, 152.83, 144.07, 141.25, 138.39, 131.08, 123.47, 121.64, 103.47, 43.03, 25.22, 22.17, 13.92; IR (KBr) ν : 3030, 2940, 1650, 1625, 1540, 1445, 1375, 1110, 821, 685 cm^{-1} . HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{ClN}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 562.2016, found 562.2005.

6-(3-甲基-(4,6-二嘧啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对羰基吡咯烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-12**): 浅棕色固体, 收率 62.1%. m.p. 296.6~297.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.93 (s, 1H), 8.32 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.73

(t, $J=5.3$ Hz, 8H), 3.42~3.36 (m, 4H), 2.75 (s, 3H, CH_3), 1.81~1.60 (m, 16H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.42, 167.43, 161.15, 152.03, 146.21, 142.32, 138.29, 135.46, 129.51, 126.08, 123.09, 103.02, 54.17, 43.44, 25.25, 22.12, 13.76; IR (KBr) ν : 3030, 2940, 1728, 1649, 1620, 1537, 1445, 1375, 1115, 845, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_{12}\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 625.2934, found 625.2936.

6-(3-甲基-(4,6-二嘧啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-正戊烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-13**): 浅黄色固体, 收率 41.6%. m.p. 215.3 ~ 217.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.88 (s, 1H), 3.73 (t, $J=5.2$ Hz, 8H), 2.80 (t, $J=7.7$ Hz, 2H), 2.66 (s, 3H), 1.81~1.75 (m, 2H), 1.81~1.75 (m, 12H), 1.46~1.34 (m, 4H), 0.99 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.07, 167.42, 160.09, 152.43, 144.21, 142.15, 138.42, 103.60, 43.44, 32.19, 25.90, 25.42, 24.66, 22.86, 22.08, 15.16, 13.84; IR (KBr) ν : 3030, 2935, 1660, 1380, 1120, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 522.2876, found 522.2869.

6-(3-甲基-(4,6-二嘧啶基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-正十一烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-14**): 浅棕色固体, 收率 47.5%. m.p. 210.2 ~ 211.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.88 (s, 1H), 3.83 (t, $J=5.2$ Hz, 8H), 3.10 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 1.95~1.89 (m, 2H), 1.70~1.64 (m, 12H), 1.47~1.41 (m, 2H), 1.37~1.25 (m, 14H), 0.87 (t, $J=6.8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.05, 167.42, 160.08, 152.35, 144.20, 141.08, 138.39, 103.57, 43.38, 31.09, 29.85, 29.13, 28.95, 25.91, 25.04, 22.83, 22.01, 21.24, 15.12, 13.22; IR (KBr) ν : 3035, 2940, 1650, 1375, 1105, 682 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 606.3815, found 606.3818.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (**TZPT-15**): 浅黄色固体, 收率 62.9%. m.p. >300 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.97 (s, 1H), 8.39 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.57~7.49 (m, 3H), 3.63~3.51 (m, 8H), 2.76 (s, 3H), 1.87~1.82 (m, 8H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.28, 167.04, 160.57, 152.10, 144.09, 141.33, 138.64, 133.27, 131.12, 127.46, 103.42, 54.25, 25.14, 13.76; IR (KBr) ν : 3030, 2940, 1650, 1627, 1543, 1438, 1370, 740 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 500.2093, found 500.2097.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡

唑-4-基)-3-对甲苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-16): 浅棕色固体, 收率 69.2%. m.p. >300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.96 (s, 1H), 8.27 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 3.76~3.58 (m, 8H), 3.61 (s, 4H), 2.74 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.98~1.93 (m, 8H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.35, 167.51, 161.12, 152.24, 144.16, 142.25, 138.43, 136.21, 129.34, 127.07, 125.12, 103.22, 54.19, 25.23, 21.25, 13.73; IR (KBr) ν : 3030, 2945, 1659, 1620, 1540, 1445, 1375, 1109, 841, 685 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 514.2250, found 514.2235.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对羟苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-17): 浅黄色固体, 收率 40.3%. m.p. 244.7~245.2 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 10.11 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 8.40 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 3.54~3.49 (m, 8H), 2.74 (s, 3H), 1.82~1.80 (m, 8H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.60, 167.42, 160.44, 152.26, 146.27, 144.25, 141.30, 138.74, 130.47, 125.58, 121.24, 103.45, 54.25, 25.14, 13.46; IR (KBr) ν : 3264, 3030, 2940, 1655, 1621, 1543, 1445, 1370, 1110, 845, 682 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_{11}\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 516.2042, found 516.2039.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对氯苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-18): 浅黄色固体, 收率 58.9%. m.p. 239.1~240.2 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.97 (s, 1H), 8.34 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 3.67~3.52 (m, 8H), 2.75 (s, 3H), 1.99~1.91 (m, 8H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.27, 167.53, 160.71, 152.74, 144.29, 141.22, 138.26, 131.08, 123.75, 121.27, 103.46, 54.26, 25.65, 13.58; IR (KBr) ν : 3030, 2945, 1652, 1625, 1540, 1440, 1380, 1110, 821, 685 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{ClN}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 534.1703, found 534.1701.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-对羰基吡咯烷苯基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-19): 黄棕色固体, 收率 59.8%. m.p. >300 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.94 (s, 1H), 8.32 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.83~3.58 (m, 12H), 2.74 (s, 3H), 2.01~1.94 (m, 12H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.32, 167.43, 161.25, 152.38, 146.76, 142.38, 138.56, 135.26, 129.32, 126.29, 123.37, 103.32, 54.37, 25.23, 13.25; IR (KBr) ν : 3030, 2940, 1728, 1650, 1620, 1538, 1445, 1375, 1120,

842, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_{12}\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 597.2621, found 597.2620.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-正戊烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-20): 浅黄色固体, 收率 47.1%. m.p. 201.2~202.9 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.92 (s, 1H), 3.72~3.61 (m, 8H), 2.80 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.66 (s, 3H), 1.97~1.90 (m, 8H), 1.45~1.35 (m, 6H), 0.92 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.18, 167.35, 160.24, 152.36, 144.23, 142.15, 138.57, 103.55, 54.27, 32.46, 25.88, 25.02, 24.83, 22.16, 15.25, 13.29; IR (KBr) ν : 3030, 2942, 1661, 1380, 1110, 682 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 494.2563, found 494.2564.

6-(3-甲基-(4,6-二吡咯烷基-1,3,5-三嗪-2-基)-1*H*-吡唑-4-基)-3-正十一烷基-[1,2,4]三唑并[3,4-*b*][1,3,4]噻二唑 (TZPT-21): 浅黄色固体, 收率 43.1%. m.p. 213.8~215.1 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.92 (s, 1H), 3.73~3.59 (m, 8H), 2.95 (t, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.63 (s, 3H), 1.97~1.90 (m, 8H), 1.89~1.73 (m, 2H), 1.47~1.41 (m, 2H), 1.36~1.25 (m, 14H), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 172.14, 167.39, 160.09, 152.40, 144.21, 141.07, 138.62, 103.25, 54.28, 31.17, 29.95, 29.12, 28.85, 25.92, 25.22, 22.83, 21.24, 15.14, 13.29; IR (KBr) ν : 3035, 2940, 1657, 1375, 1115, 690 cm^{-1} ; HRMS (positive-ESIMS) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_{11}\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 578.3502, found 578.3504.

3.3 目标分子的活性测试

目标化合物对 Cdc5B 和 PTP1B 的抑制活性测试由国家新药筛选中心完成. 首先在样品浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 的条件下, 进行 Cdc25B 和 PTP1B 的抑制活性初筛测试, 然后选择抑制率大于 50% 的化合物, 样品浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$, 进行复筛, 测试将样品活性与样品浓度进行非线性拟合得出抑制活性剂量依赖关系, 即 IC_{50} 值. Cdc25B 抑制活性测试中以 Na_3VO_4 为阳性参照物, 筛选实验参照文献[34]方法进行; PTP1B 的抑制活性测试中以齐墩果酸为阳性对照物, 筛选实验参考文献[35]的方法进行.

致谢 活性筛选试验由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.

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物的氢谱、碳谱和高分辨质谱. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References

- [1] Salahuddin; Shaharyar, M.; Mazumder, A.; Ahsan, M. *J. Arabian J. Chem.* **2014**, *7*, 418.
- [2] Yang, L.; Yan, J.-F.; Fan, L.; Chen, X.; Shangguan, R.-Y.; Wang, L.-F.; Yang, D.-C. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1908 (in Chinese). (杨龙, 晏菊芳, 范莉, 陈欣, 上官瑞燕, 汪林发, 杨大成, 有机化学, **2012**, *32*, 1908.)
- [3] (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.
- [4] 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*, 4142.
- [5] Zhang, Z.-Y. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2002**, *42*, 209.
- [6] Maccari, R.; Paoli, P.; Ottanà, R.; Jacomelli, M.; Ciurleo, R.; Manna, G.; Steindl, T.; Langer, T.; Vigorita, M. G.; Camici, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5137.
- [7] Li, Y.; Yu, Y.; Jin, K.; Gao, L.; Luo, T.; Sheng, L.; Shao, X.; Li, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4125.
- [8] Owen, C.; Czopek, A.; Agouni, A.; Grant, L.; Judson, R.; Lees, E. K.; McIlroy, G. D.; Goransson, O.; Welch, A.; Bence, K. K.; Kahn, B. B.; Neel, B. G.; Mody, N.; Delibegovic, M. *PloS One* **2012**, *7*, 32693.
- [9] Farag, A. M.; Mayhoub, A. S.; Barakat, S. E.; Bayomi, A. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 881.
- [10] Xia, Y.; Fan, C.-D.; Zhao, B.-X.; Zhao, J.; Shin, D.-S.; Miao, J.-Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 2347.
- [11] Xia, Y.; Dong, Z.-W.; Zhao, B.-X.; Ge, X.; Meng, N.; Shin, D.-S.; Miao, J.-Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 6893.
- [12] Rao, K. S.; Ramesh, P.; Trivedi, R.; Kantam, M. L. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 1227.
- [13] 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*, 1560.
- [14] Wittman, M. D.; Carboni, J. M.; Yang, Z.; Lee, F. Y.; Antman, M.; Attar, R.; Balimane, P.; Chang, C.; Chen, C.; Discenza, L.; Frennesson, D.; Gottardis, M. M.; Greer, A.; Hurlburt, W.; Johnson, W.; Langley, D. R.; Li, A.; Li, J.; Liu, P.; Mastalerz, H.; Mathur, A.; Menard, K.; Patel, K.; Sack, J.; Sang, X.; Saulnier, M.; Smith, D.; Stefanski, K.; Trainor, G.; Velaparthi, U.; Zhang, G.; Zimmermann, K.; Vyas, D. M. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7360.
- [15] (a) Kuo, G.-H.; DeAngelis, A.; Emanuel, S.; Wang, A.-H.; Zhang, Y.; Connolly, P. J.; Chen, X.; Gruninger, R. H.; Rugg, C.; Fuentes-Pesquera, A.; Middleton, S. A.; Jolliffe, L.; Murray, W. V. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4535.
(b) Robert, J.; Jarry, C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4805.
- [16] Misra, R. N.; Xiao, H.-Y.; Williams, D. K.; Kim, K. S.; Lu, S.; Keller, K. A.; Mulheron, J. G.; Batorsky, R.; Tokarski, J. S.; Sack, J. S.; Kimball, S. D.; Lee, F. Y.; Webster, K. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2973.
- [17] Badr, S. M. I.; Barwa, R. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 4506.
- [18] Guzeldemirci, N. U.; Kucukbasmaci, O. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 63.
- [19] Taori, K.; Paul V. J.; Luesch, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806.
- [20] Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Niven, M. L.; Hamel, E.; Schmidt, J. M. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 119.
- [21] Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Hamel, E.; Lin, C. M.; Alberts, D. S.; Garcia-Kendall, D. *Experientia* **1989**, *45*, 209.
- [22] Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Kimatrai, S. M.; Preti, D.; Aghazadeh, T. M.; Bassetto, M.; Brancale, A.; Hamel, E.; Castagliuolo, I.; Bortolozzi, R.; Basso, G.; Viola, G. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2606.
- [23] Chaudhary, V.; Venghateri, J. B.; Dhaked, H. P.; Bhoyar, A. S.; Guchhait, S. K.; Panda, D. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 3439.
- [24] Madadi, N. R.; Penthalha, N. R.; Howk, K.; Ketkar, A.; Eoff, R. L.; Borrelli, M. J.; Crooks, P. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *103*, 123.
- [25] Qin, Y.-J.; Li, Y. J.; Jiang, A.-Q.; Yang, M.-R.; Zhu, Q.-Z.; Dong, H.; Zhu, H. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 447.
- [26] Zhang, Q.; Peng, Y.; Wang, X.-I.; Keenan, S. M.; Arora, S.; Welsh, W. J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 749.
- [27] Kamel, M. M.; Megally Abdo, N. Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 75.
- [28] Matsuno, T.; Kato, M.; Tsuchida, Y.; Takahashi, M.; Yaguchi, S.; Terada, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, *45*, 291.
- [29] Zhu, W.; Liu, Y.; Zhao, Y.; Wang, H.; Tan, L.; Fan, W.; Gong, P. *Arch. Pharm.* **2012**, *345*, 812.
- [30] Zhang, C.-L.; Sun, X.-N.; Li, C.-Y.; Cai, J.-Y.; Wang, J.; Li, Y.-Z.; Wang, H.-Y. *Chem. J. Chin. Univ.* **2017**, *38*, 1764 (in Chinese). (张成路, 孙晓娜, 李传银, 蔡继颖, 王静, 李益政, 王华玉, 高等学校化学学报, **2017**, *38*, 1764.)
- [31] Zhang, C.-L.; Tang, J.; Yin, L.-Y.; Xi, H.; Guo, Y.; Sun, L.-J. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, *36*, 358 (in Chinese). (张成路, 唐杰, 殷立莹, 裴焕, 国阳, 孙丽杰, 有机化学, **2016**, *36*, 358.)
- [32] Bijul, L. A.; Gupta, R. L. *Indian J. Chem.* **2010**, *49B*, 1235.
- [33] Wang, X. *M.S. Thesis*, Liaoning Normal University, Dalian, **2015** (in Chinese). (王雪, 学位论文, 辽宁师范大学, 大连, **2015**.)
- [34] Park, H.; Bahn, Y. J.; Jung, S.-K.; Jeong, D.-G.; Lee, S.-H.; Seo, I.; Yoon, T.-S.; Kim, S. J.; Ryu, S. E. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5533.
- [35] Baskaran, S. K.; Goswami, N.; Selvaraj, S.; Muthusamy, V. S.; Lakshmi, B. S. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 2004.

(Zhao, C.)