基于咔唑的新型碳酰肼衍生物的合成及蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B)抑制活性评价

李英俊^{*,a} 刘雪洁^a 刘季红^b 高立信^c 靳焜^d
盛丽^c 杨鸿境^a 林乐弟^a 李佳^{*,c}

(^a 辽宁师范大学化学化工学院 大连 116029)

(^b 大连理工大学化学分析测试中心 大连 116023)

(^c 中国科学院上海药物研究所 国家新药筛选中心 药物研究国家重点实验室 上海 201203)

(^d 大连理工大学精细化工国家重点实验室 大连 116012)

摘要 合成出了一系列新型基于咔唑的单-/双-碳酰肼衍生物 **3** 和 **4**。利用 ¹H NMR、¹³C NMR、IR 和元素分析对其进行了结构表征。评价了目标化合物对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B)的抑制活性, 讨论了结构与活性的关系。实验结果显示, 大部分化合物对 PTP1B 具有良好的抑制活性, 其中 1,5-双[(9-丁基-3-咔唑基)亚甲基]碳酰肼(**4c**)的抑制活性最高, IC₅₀=(4.81±0.41) μmol/L, 且活性高于对照药物齐墩果酸。对目标化合物 1-[(9-庚基-3-咔唑基)亚甲基]碳酰肼(**3f**)和 **4c** 进行分子对接研究和密度泛函理论(DFT)计算。分子对接结果表明, 化合物 **3f** 和 **4c** 结合到 PTP1B 酶由螺旋 α3 和 α6 形成的活性位点, 与 PTP1B 酶通过氢键、极性、疏水和 π-π 等相互作用形成了稳定的复合物。

关键词 碳酰肼; 咔唑; 合成; PTP1B 抑制剂; 分子对接; DFT 计算

Synthesis and Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) Inhibitory Activity Evaluation of Novel Carbazole-Based Carbohydrazone Derivatives

Li, Yingjun^{*,a} Liu, Xuejie^a Liu, Jihong^b Gao, Lixin^c Jin, Kun^d
Sheng, Li^c Yang, Hongjing^a Lin, Ledi^a Li, Jia^{*,c}

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

(^b Chemistry Analysis and Inspection Center, Dalian University of Technology, Dalian 116023)

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

(^d State Key Laboratory of Fine Chemicals, Dalian University of Technology, Dalian 116012)

Abstract A series of novel carbazole-based mono-/bis-carbohydrazone derivatives **3** and **4** were synthesized. Their structures were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR spectra and elemental analysis. The inhibitory activities of all synthesized compounds against protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) were evaluated, and the structure-activity relationship was discussed. The results indicated that most of the compounds had good inhibitory activity against PTP1B, and 1,5-bis[(9-butyl-3-carbazolyl)methylene]carbohydrazone (**4c**) showed the highest inhibitory activity against PTP1B with IC₅₀=(4.81±0.41) μmol/L and the activity was higher than that of the control drug oleanolic acid. Molecular docking and density functional theory (DFT) calculations of **3f** and **4c** were carried out. The results of molecular docking indicated that 1-[(9-heptyl-3-carbazolyl)methylene]carbohydrazone (**3f**) and **4c** bind to an active site of PTP1B enzyme formed by the helices α3 and α6, and formed a stable complex respectively with PTP1B enzyme by hydrogen bonds, polar, hydrophobic and π-π interactions.

Keywords carbohydrazone; carbazole; synthesis; PTP1B inhibitor; molecular docking; DFT calculations

* Corresponding author. E-mail: chemlab.lnnu@163.com; jli@simm.ac.cn

Received July 27, 2019; revised September 9, 2019; published online October 9, 2019.

Project supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province (No. 20102126).

辽宁省自然科学基金(No. 20102126)资助项目.

2 型糖尿病(T2D)是由内分泌功能障碍引起的一种慢性疾病^[1]. 不受控制的糖尿病与各种急慢性疾病有关, 随着疾病的发展, 它可能导致视力模糊、心血管疾病、肾脏或其他器官损害和功能障碍, 甚至抑郁^[1,2]. 据国际糖尿病联合会 2017 年调查统计结果显示, 全球有 4.25 亿人患有糖尿病, 其中 T2D 占有糖尿病病例的 90%, 并且预计 2045 年全球将有 6.29 亿人患有糖尿病^[3]. 预计到 2035 年, 我国将有 1.43 亿糖尿病患者^[4]. 然而, 目前尚无明确的 T2D 治疗方法. 所有当前治疗的目的就是稳定患者在生理范围内的血糖, 以避免急性高血糖症和并发症的风险. 治疗方法包括口服抗高血糖药物, 或作为最后的手段, 注射外源性胰岛素. 目前尚无可用的药物能够模拟生理胰岛素的作用^[5]. 因此, 寻找新的抗糖尿病药物仍然是一个重要的挑战.

近年来研究表明, 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 是胰岛素和瘦素信号通路的负调节因子, 对活性胰岛素受体、胰岛素受体底物(IRS-1 和 IRS-2)和瘦素受体去磷酸化. 因此, PTP1B 是 2 型糖尿病和肥胖的有效治疗靶点, PTP1B 小分子抑制剂可能是治疗这些疾病的候选药物^[6]. 此外, 最近研究发现, PTP1B 参与多种癌症的发生, 如乳腺癌、肺癌、结肠癌等. 因此, PTP1B 也是一种很有前途的抗肿瘤治疗靶点^[7-9]. 虽然已经通过高通量筛选、基于结构或片段的药物设计发现了多种有效的 PTP1B 抑制剂, 但由于 PTP1B 催化位点高度极性, 使大多数活性位点定向的 PTP1B 抑制剂具有较高的电荷密度和有限的细胞膜渗透性和生物利用度, 这阻碍了它们成为有效的临床药物^[2,6,7,10]. 因此, 开发新型、高效的 PTP1B 抑制剂已成为制药行业和学术界关注的焦点.

碳酰脲(CHs)是由碳酰肼($\text{H}_2\text{NNHC}(=\text{O})\text{NHNH}_2$)与适当的醛/酮缩合得到的单/双取代的碳酰肼衍生物. 碳酰脲具有 $[\text{C}=\text{NNHC}(=\text{O})\text{NHNH}_2]$ 骨架的药效团, 因其含有 N 和 O 供体位点而具有广泛的生物活性^[11,12]. 近年来的研究表明, 碳酰脲衍生物具有抗癌^[13-15]、抗氧

化^[14,16,17]、抗菌^[18,19]、抗真菌^[20]、抑制碳酸酐酶(抗癫痫、利尿和治疗青光眼)^[21]等多种生物活性. 因此此类化合物已引起了人们的关注, 但对其研究报道还较少.

咪唑(Cz)是一类重要的含氮杂环化合物, 具有芳香性和富电子性质, 这种特殊的结构使其衍生物可通过非共价相互作用(如氢键和 π - π 等), 很容易地与生物体中的酶结合, 从而使它们具有多种医学用途^[22]. 近年来的研究显示, 咪唑衍生物具有 PTP1B 抑制活性^[23-25], 并且咪唑环的引入有利于提高 PTP1B 的抑制活性^[26]. 此外, 咪唑衍生物还具有广泛的药理活性, 如抗癌^[27-29]、抑制 α -葡萄糖苷酶(抗糖尿病)^[30]、抗病毒^[31]、抗结核^[32]、抗菌^[33,34]、抑制碳酸酐酶^[35]等活性. 特别是 *N*-直链烷基咪唑及其酰脲衍生物具有抗癌^[28]和抗糖尿病活性^[36], 并且随着烷基链长度的增加, 抗糖尿病活性增加^[36]. 但文献调查显示, 含咪唑环的碳酰脲衍生物的合成及对 PTP1B 抑制活性的研究尚未见文献报道.

基于上述事实, 为了寻找在抗糖尿病和抗癌方面具有潜在应用价值的、高选择性和高活性的新型 PTP1B 抑制剂, 并继续我们的研究工作^[24-26], 本研究设计将 *N*-直链烷基咪唑与碳酰脲药效团杂交形成新型基于咪唑的单-/双-碳酰脲衍生物, 并评价其对 PTP1B 的抑制活性. 对于相应的 *N*-支链烷基咪唑衍生物, 考虑其支链的存在, 使空间位阻增大, 可能导致与 PTP1B 酶的结合能降低, 从而抑制活性降低, 因此本文未设计有关相应 *N*-支链烷基咪唑衍生物的合成. 目标化合物的设计思想如 Scheme 1 所示, 合成路线见 Scheme 2 所示.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

以咪唑和正溴烷烃为原料, 经 *N*-烷基化和甲酰化反应, 得到重要的中间体 9-烷基咪唑-3-甲醛(**2**). 1,3-二氨基脲与适量的中间体 **2** 进行缩合反应(Scheme 2), 高产率地得到了目标化合物 **3** 和 **4**.

图式 1 目标化合物 **3** 和 **4** 的设计思想
Scheme 1 Design strategy of target compounds **3** and **4**

图式 2 目标化合物 3 和 4 的合成路线

Scheme 2 Synthetic routes of target compounds 3 and 4

1.2 目标化合物 3 和 4 的结构确定

1.2.1 IR 谱

由目标化合物 3 和 4 的 IR 数据可知, 在 3307~3325 和 3191~3231 cm⁻¹ 处出现的峰为 N—H 的伸缩振动吸收峰; 在 3046~3078 cm⁻¹ 处出现的峰为不饱和 C—H 的伸缩振动吸收峰; 在 2853~2889 和 2926~2973 cm⁻¹ 处出现的峰为饱和 C—H 的伸缩振动吸收峰; 在 1670~1692 cm⁻¹ 处出现的强峰为 C=O 的伸缩振动吸收峰; 在 1600、1500、1460 cm⁻¹ 左右出现的强峰为苯环骨架伸缩振动吸收峰; 在 1627~1659 cm⁻¹ 处出现的峰为 C=N 的伸缩振动吸收峰; 在 1514~1536 cm⁻¹ 处出现的宽的强峰为 N—H 的弯曲振动吸收峰; 在 1209~1242 cm⁻¹ 处出现的强峰为 C—N 伸缩振动吸收峰。

N—H 和 C=O 伸缩振动吸收峰以及 N—H 弯曲振动吸收峰的出现, 初步证明目标化合物 3 和 4 已合成出来。

对于双-碳酰肼目标化合物 4, 可能存在着两种互变异构形式, 酮式(A 结构)和烯醇式(B 结构)。由于中心 N—C 键的双键特性, 烯醇互变异构体可以采取顺型(*syn*, B 结构)或反型(*anti*, C 结构)构型^[37,38](Scheme 3)。在目标化合物 4 的 IR 谱中未发现 O—H 伸缩振动吸收峰, 所以, 化合物 4 在固态是以酮式(A 结构)形式存在。

1.2.2 ¹H NMR 谱

目标化合物单-唑啉碳酰肼 3 的 ¹H NMR 谱: 以 DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标, 测试了目标化合物 3 的 ¹H NMR 谱。目标化合物 3 可能存在的两种结构(D 和 E)及各原子标号见 Scheme 4。

由目标化合物 3 的 ¹H NMR 数据可知, 在低场 δ_H

图式 3 目标化合物 4 的可能结构

Scheme 3 Possible structures of target compound 4

图式 4 目标化合物 3 和 4 的结构及原子标号

Scheme 4 Structure and atomic labeling of target compounds 3 and 4

10.29~10.32 之间出现的单峰为 NH_a 的质子吸收峰; 在 δ_H 8.54 处出现的单峰为 NH_b 的质子吸收峰; 在 δ_H

7.22~8.25 之间出现的峰为咪唑环和 $\text{CH}=\text{N}$ 上的质子吸收峰; 在 δ_{H} 4.10~4.12 之间出现的宽单峰为 NH_c 的质子吸收峰; 在 δ_{H} 0.80~4.45 之间出现的峰为咪唑环上烷基链的质子吸收峰。

NH_a 质子信号较 NH_b 出现在低场, 这是因为 NH_a 质子受邻近亚胺键 π 电子的各向异性效应去屏蔽作用所致。H-2 质子为双峰($J=7.5\sim 8.0$ Hz), H-4 质子为宽单峰, H-2 质子(δ_{H} 8.20~8.25)与 H-4 质子(δ_{H} 8.02~8.04)相比, 在较低场处出峰, 这说明 H-2 质子与相邻亚胺键上的 N 原子之间形成了分子内氢键。由此可以确定, 目标化合物 **3** 中咪唑环的取向如 Scheme 4 中的 **D** 结构所示, 而非 **E** 结构。

为了确定目标化合物 **3** 中 NH_2 (NH_c) 的取向, 选择化合物 **3a** 测试了其 2D NOESY 谱。结果发现, NH_a 与 NH_c 、 NH_a 与 H_9 存在着相关峰, 这说明它们空间上距离较近。由此证明, 化合物 **3** 为 **D** 结构。

目标化合物双-咪唑碳酰脲 **4** 的 ^1H NMR 谱: 以 $\text{DMSO}-d_6$ 为溶剂, TMS 为内标, 测试了目标化合物 **4** 的 ^1H NMR 谱。目标化合物 **4** 的结构及各原子标号见 Scheme 4。由目标化合物 **4** 的 ^1H NMR 数据可知, 在低场 δ_{H} 10.60~10.64 之间出现的单峰为 $\text{NH}(\text{H}_{10})$ 的质子吸收峰; 在 δ_{H} 8.53~8.55 处出现的单峰为 $\text{CH}=\text{N}(\text{H}_9)$ 的质子吸收峰; 在 δ_{H} 7.25~8.40 之间出现的峰为咪唑环上的质子吸收峰; 在 δ_{H} 0.81~4.49 之间出现的峰为咪唑环上烷基链的质子吸收峰。

H-4 质子为宽单峰, H-2 质子为双峰($J=7.5\sim 8.0$ Hz), H-4 质子(δ_{H} 8.39~8.40)与 H-2 质子(δ_{H} 8.24~8.25)相比, 在较低场处有峰, 这是由于 H-4 质子与相邻亚胺键上的 N 原子之间形成了分子内氢键。由此可以确定, 目标化合物 **4** 在溶液状态(DMSO 中)也是以酮式(keto form)结构存在的(Scheme 4), 而无 Scheme 3 中的 **B** 和 **C** 结构。

由目标化合物 **4** 的 IR 和 ^1H NMR 谱数据可知, 目标化合物 **4** 无论在固态还是在 DMSO 溶液中都是以酮式结构存在的。

1.2.3 ^{13}C NMR 谱

由目标化合物 **3** 的 ^{13}C NMR 谱可知, 在低场 δ_{C} 157.35~157.88 之间出现的峰为 $\text{C}=\text{O}$ 的碳吸收峰; 在次低场 δ_{C} 141.29~141.85 之间出现的宽峰为 $\text{CH}=\text{N}$ 的碳吸收峰, 由于 N 原子的四极矩作用, 使弛豫时间增大, 导致峰型变宽; 在 δ_{C} 109.12~141.17 处出现的峰为咪唑环上的碳吸收峰; 在 δ_{C} 37.04~44.27 处出现的峰为 NCH_2 的碳吸收峰; 在 δ_{C} 20.24~31.64 处出现的峰为其它 CH_2 的碳吸收峰; 在 δ_{C} 11.81~14.36 处出现的峰为 CH_3 的碳吸收峰。

由目标化合物 **4** 的 ^{13}C NMR 谱可知, 在低场 δ_{C} 152.78~152.84 之间出现的峰为 $\text{C}=\text{O}$ 的碳吸收峰; 在次低场 δ_{C} 144.42~144.63 之间出现的非常弱的峰为 $\text{CH}=\text{N}$ 的碳吸收峰, 这是由于 N 原子的四极矩作用使弛豫时间增大, 峰变宽变弱; 在 δ_{C} 109.85~141.35 处出现的峰为咪唑环上的碳吸收峰; 在 δ_{C} 37.60~44.33 处出现的峰为 NCH_2 的碳吸收峰; 在 δ_{C} 20.26~31.67 处出现的峰为其它 CH_2 的碳吸收峰; 在 δ_{C} 11.83~14.37 处出现的峰为 CH_3 的碳吸收峰。

根据上述 IR、 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据分析可知, 目标化合物 **3** 和 **4** 已被成功合成出来, 结构正确。

1.3 目标化合物 **3** 和 **4** 的生物活性研究

为了评价目标化合物对 PTP1B 的抑制活性以及构效关系, 通过改变咪唑环中 N 原子上烷基链的长度, 以及咪唑环的数目, 合成出了一系列基于咪唑的单-/双-碳酰脲衍生物 **3** 和 **4**。对所合成的目标化合物 **3** 和 **4** 进行了 PTP1B 抑制活性的筛选, 并利用 Molinspiration Property Calculator (MIPC) 程序软件计算了其药代动力学参数脂水分配系数($\log P$), 测试与计算结果见表 1。

由表 1 的实验结果可以看出, 绝大多数目标化合物对 PTP1B 具有较高的抑制活性(**3a**~**3c** 除外), 抑制率为 76.01%~94.43%, $\text{IC}_{50}=(4.81\pm 0.41)\sim(33.46\pm 3.53)$ $\mu\text{mol/L}$, 其中化合物 **4c** 活性最高, IC_{50} 值为 (4.81 ± 0.41) $\mu\text{mol/L}$ 。化合物 **4a**~**4d** 的活性均大于阳性对照药物齐墩果酸 [$\text{IC}_{50}=(6.92\pm 0.46)$ $\mu\text{mol/L}$]。

通过构效分析发现, 目标化合物对 PTP1B 的抑制活性与咪唑环的数目以及咪唑环上烷基链的长度有关。双-咪唑碳酰脲的活性高于单-咪唑碳酰脲。在单-咪唑碳酰脲 **3** 中, R 为长链时, 化合物 **3d**~**3g** 的活性高于短链化合物 **3a**~**3c** 的活性, 这可能是因为短链化合物的脂水分配系数($\log P$)较小(见表 1), 脂溶性较差的原因。

在双-咪唑碳酰脲 **4** 中, R 为短链时, 化合物 **4a**~**4d** 的活性高于长链化合物 **4e**~**4g** 的活性, 这可能是因为短链化合物的脂水分配系数($\log P$)较小(表 1), 水溶性相对较好的原因。

由上述讨论可知, 化合物的活性与其亲水性和亲脂性的良好匹配有关。由文献调查可知, 新型基于咪唑的单-/双-碳酰脲衍生物的合成及对 PTP1B 抑制活性的研究目前尚未见文献报道。

1.4 理论计算

1.4.1 分子对接研究

利用 Dockingserver 软件, 选择目标化合物 **3** 和 **4** 系列中活性最高的化合物 **3f** 和 **4c** 进行了分子对接的研究, 以便考查基于咪唑的单-/双-碳酰脲衍生物对 PTP1B 抑

表 1 目标化合物 3 和 4 对 PTP1B 的抑制活性
Table 1 Inhibitory activities of target compounds 3 and 4 against PTP1B

Compd.	R	Log <i>P</i>	PTP1B ^a	
			Inhibition/% at 20 μg/mL	IC ₅₀ ^b /(μmol·L ⁻¹)
3a	C ₂ H ₅	2.22	9.31 ± 4.93	—
3b	<i>n</i> -C ₃ H ₇	2.72	16.99 ± 1.31	—
3c	<i>n</i> -C ₄ H ₉	3.28	17.83 ± 1.31	—
3d	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	3.78	80.23 ± 1.91	29.72 ± 4.09
3e	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	4.29	80.90 ± 2.00	33.46 ± 3.53
3f	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	4.79	77.97 ± 0.14	25.94 ± 8.45
3g	<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	5.30	76.01 ± 2.45	26.61 ± 9.41
4a	C ₂ H ₅	7.58	89.76 ± 0.06	6.91 ± 1.42
4b	<i>n</i> -C ₃ H ₇	8.46	92.46 ± 1.60	5.26 ± 0.19
4c	<i>n</i> -C ₄ H ₉	8.99	90.87 ± 0.31	4.81 ± 0.41
4d	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	9.31	91.59 ± 0.03	6.02 ± 0.12
4e	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	9.55	90.40 ± 0.57	12.30 ± 0.16
4f	<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	9.75	94.43 ± 2.67	16.84 ± 0.70
4g	<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	9.91	93.77 ± 2.42	8.95 ± 0.51

^a Positive control: oleanolic acid, IC₅₀ = (6.92 ± 0.46) μmol/L. ^b—: not calculated, because the inhibition rate is less than 50%.

制活性的差异. 目标化合物 3f 和 4c 与 PTP1B (PDB ID: 1NNY) 的分子对接结果见图 1~2 和表 2.

由图 1 和表 2 可以看出, 目标化合物 3f 结合到 PTP1B 酶由螺旋 α3 和 α6 形成的活性位点, 与 PTP1B 酶形成了稳定的复合物, 具有较高的结合能(−18.91 kJ/mol). 在化合物 3f 中, N(2)H—C(O)—N(3)H—N(5)H₂ 骨架中的 N(2)和 N(3)原子均与氨基酸残基 ASP181 形成了氢键, 且 N(3)原子形成的氢键最强(0.272 nm). H(2)、H(3)和 N(5)与氨基酸残基 ASP181 有较强的极性作用. 此外, 咪唑环及其烷基链中的碳原子沿着螺旋 α3 和 α6 的侧链形成了疏水相互作用; 咪唑环还与氨基酸残基 TYR152 形成了 π-π 相互作用.

由图 2 可以看出, 目标化合物 4c 中的两个咪唑环不在同一个平面内, 其中一个咪唑环靠近 PTP1B 酶的 α6 螺旋, 另一个咪唑环靠近 PTP1B 酶的 α3 螺旋. 由图 2 和表 2 可以看出, 目标化合物 4c 结合到 PTP1B 酶由螺旋 α3 和 α6 形成的活性位点, 与 PTP1B 酶形成了稳定的复合物, 具有较高的结合能(−21.25 kJ/mol). 在化合物 4c 中, 碳酰胺骨架 C=N(1)—N(2)H—C(O)—N(3)H—N(4)=C 中的 N(2)、N(3)和 N(4)原子与氨基酸残基 VAL184 和 GLU186 形成了 4 个氢键, 咪唑环的 N(5)原子与 SER190 形成了 1 个氢键. 碳酰胺骨架中 H、O、N 的原子还与氨基酸残基 GLU186 存在着较强的极性作用. 此外, 羰基、席夫碱基、咪唑环及其烷基链中的碳原子沿着螺旋 α3 和 α6 的侧链形成了广泛的疏水相互作用; 咪唑环还与氨基酸残基 PHE182 形成了 π-π 相互作用.

通过分子对接的研究可知, 碳酰胺骨架对化合物抑制 PTP1B 的活性起着重要作用. 化合物 4c 与 3f 的活性

图 1 化合物 3f 与 PTP1B 酶的对接结果(A)及 3f 附近结合位点的关键残基(B)

Figure 1 Docking result of compound 3f with PTP1B enzyme (A) and key residues in binding site surrounding 3f (B)

差异是由于化合物 4c 与 PTP1B 酶形成的氢键个数多于

图2 化合物 4c 与 PTP1B 酶的对接结果(A)及 4c 附近结合位点的关键残基(B)

Figure 2 Docking result of compound 4c with PTP1B enzyme (A) and key residues in binding site surrounding 4c (B)

表2 目标化合物 3f 和 4c 与 PTP1B 的分子对接结果

Table 2 Molecular docking results of compounds 3f and 4c with PTP1B (PDB ID: 1NNY)

Compd.	Est. free energy of binding/ (kJ·mol ⁻¹)	No. of H-bond	H-bonds (nm)	Polar (nm)	Hydrophobic (nm)	Pi-Pi (nm)
3f	-18.91	2	N2-ASP181 (0.320) N3-ASP181 (0.272)	H2-ASP181 (0.237) H3-ASP181 (0.210) N5-ASP181 (0.377)	C8-PRO180 (0.321) C7-PRO180 (0.359) C15-PRO185 (0.380) C16-PRO185 (0.362) C29-TYR152 (0.304) C30-TYR152 (0.330)	C13-TYR152 (0.345) C14-TYR152 (0.358)
4c	-21.25	5	N3-VAL184 (0.307) N3-GLU186 (0.301) N4-GLU186 (0.341) N2-GLU186 (0.315) N5-SER190 (0.321)	O1-GLU186 (0.354) H3-GLU186 (0.296) H2-GLU186 (0.328) N1-GLU186 (0.366)	C3-PRO180 (0.325) C34-PHE182 (0.308) C4-PRO185 (0.383) C26-ALA189 (0.348) C25-ALA189 (0.325)	C15-PHE182 (0.350) C14-PHE182 (0.376)

化合物 3f, 且化合物 4c 与 PTP1B 酶的结合能大于化合物 3f, 所以双-咪唑碳酰脲化合物 4c 对 PTP1B 的抑制活性高于单-咪唑碳酰脲化合物 3f.

由 1,3-二氨基脲与咪唑两个药效团杂交所形成的基于咪唑的碳酰脲衍生物是潜在的 PTP1B 抑制剂.

1.4.2 Mulliken 原子电荷分析

利用 Gaussian 09 软件, 在 HF/3-21G 基组上, 计算了目标化合物 4c 和 3f 的 Mulliken 原子电荷(MAC)分布, 以便确定它们与 PTP1B 蛋白酶可能的结合位点. 计算结果见图 3~4.

由图 3 可知, 化合物 3f 的负电荷主要集中在 NH-C(O)-NH-NH₂ 骨架中的 N30 和 N31 及咪唑环 N25 上, 电荷分别为 N30=-0.766e、N31=-0.736e 和 N25=-1.113e. 由图 4 可知, 化合物 4c 的负电荷主要集中在 NH-C(O)-NH 骨架中的 N74 和 N76 及咪唑环上 N35 和 N70 上, 电荷分别为 N74/N76=-0.760e 和 N35/N70=-1.113e. 这些负电荷较大的原子均可能与氨基

酸残基相互作用形成氢键, 这与实验观察结果(表 1)及分子对接结果(表 2)一致.

1.4.3 MEP 计算

利用 Multiwfn 软件, 在 HF/3-21G 基组上计算了目标化合物 3f 和 4c 的分子静电势(MEP). 由 MEP 计算结果(图 5 和图 6)可知, 目标化合物 3f 和 4c 的静电势最大负值区域主要集中在 C=O 旁的氮原子附近(3f: 蓝色点 14 区, 4c: 蓝色点 9/10 区), 其值分别为 -3.11 和 -2.98 eV, 表明该区域优选与氢原子形成氢键. 这一结果与分子对接(表 2)和 Mulliken 电荷计算结果(图 3 和 4)以及实验结果(表 1)一致.

2 结论

合成出了 14 个新型基于咪唑的单-/双-碳酰脲衍生物 3a~3g 和 4a~4g, 评价了其对于 PTP1B 的抑制活性, 讨论了其结构与活性的关系. 实验结果显示, 大部分化合物对 PTP1B 具有良好的抑制活性, 其中化合物 4c 的

X-5 显微熔点测定仪(温度计未经校正); 德国 TENSOR 27 型 FT-IR 红外光谱仪, KBr 压片; 德国 BRUKER 400/500 MHz 核磁共振仪, DMSO- d_6 为溶剂,

图6 化合物4c的分子静电势

Figure 6 Molecular electrostatic potential of compound 4c

TMS 为内标; 德国 Elementar 公司 Vario EL 型元素分析仪. 所用试剂均为分析纯.

3.2 中间体化合物的合成

中间体化合物 **1** 和 **2** 按参考文献[39, 40]方法合成.

3.2 目标化合物 3 和 4 的合成通法

3.2.1 目标化合物 3 的合成通法

在干燥的 50 mL 三口瓶中依次加入 1 mmol 中间体化合物 **2**、20 mL C_2H_5OH 和几滴冰醋酸, 加热至固体溶解. 然后加入 1 mmol 1,3-二氨基脲, 回流反应 6 h. 反应结束后, 蒸出少量溶剂, 待反应混合物彻底冷却后, 抽滤出粗产品, 用少量冰乙醇淋洗后即得到目标产物 **3**.

1-[(9-乙基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**3a**): 白色粉末, 产率 84.8%. m.p. 186.1~186.9 °C; 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.30 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.21(d, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz- H_2), 8.03 (s, 1H, Cz- H_4), 8.02 (s, 1H, CH=N), 7.87 (dd, $J=8.5, 1.0$ Hz, 1H, Cz- H_5), 7.62 (d, $J=7.0$ Hz, 1H, Cz- H_1), 7.60 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Cz- H_8), 7.47 (td, $J=7.8, 1.0$ Hz, 1H, Cz- H_7), 7.23 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, Cz- H_6), 4.45 (q, $J=7.0$ Hz, 2H, NCH_2), 4.11 (s, 2H, NH_2), 1.32 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 125 MHz) δ : 157.35 (C=O), 141.29 (CH=N), 140.09, 139.96, 125.99, 125.83, 124.69, 122.35, 122.26, 120.55, 119.22, 119.06, 109.30, 109.12, 37.04 (NCH_2), 13.68 (CH_3); IR (KBr) ν : 3322, 3191, 3078, 2970, 2857, 1674, 1627, 1605, 1518, 1489, 1471, 1235 cm^{-1} . Anal. calcd for $C_{16}H_{17}N_5O$: C 65.07, H 5.80, N 23.71; found C 65.33, H 5.98, N 23.50.

1-[(9-丙基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**3b**): 白色粉末, 产率 88.2%. m.p. 186.5~187.1 °C; 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.29 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.21 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz- H_2), 8.02 (s, 2H, CH=N, Cz- H_4), 7.86 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H, Cz- H_5), 7.62 (d, $J=$

8.0 Hz, 1H, Cz- H_1), 7.60 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz- H_8), 7.46 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, Cz- H_7), 7.23 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, Cz- H_6), 4.37 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, NCH_2), 4.10 (s, 2H, NH_2), 1.68~1.97 (m, 2H, NCH_2CH_2), 0.88 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 100 MHz) δ : 157.85 (C=O), 141.74 (CH=N), 141.17, 141.01, 126.45, 126.28, 125.15, 122.70, 122.61, 120.99, 119.66, 119.52, 110.04, 109.87, 44.27 (NCH_2), 22.36, 11.81 (CH_3); IR (KBr) ν : 3307, 3202, 3075, 2959, 2872, 1674, 1627, 1608, 1514, 1489, 1467, 1224 cm^{-1} . Anal. calcd for $C_{17}H_{19}N_5O$: C 66.00, H 6.19, N 22.64; found C 66.15, H 5.99, N 22.77.

1-[(9-丁基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**3c**): 奶白色粉末, 产率 85.7%. m.p. 181.1~182.6 °C; 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.29 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.20 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz- H_2), 8.02 (s, 2H, CH=N, Cz- H_4), 7.86 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H, Cz- H_5), 7.60 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz- H_1), 7.58 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz- H_8), 7.46 (td, $J=7.6, 0.8$ Hz, 1H, Cz- H_7), 7.22 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, Cz- H_6), 4.39 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, NCH_2), 4.11 (s, 2H, NH_2), 1.66~1.87 (m, 2H, NCH_2CH_2), 1.21~1.40 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2$), 0.87 (t, $J=7.5$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 100 MHz) δ : 157.84 (C=O), 141.70 (CH=N), 141.08, 140.93, 126.46, 126.29, 125.17, 122.72, 122.64, 121.00, 119.65, 119.52, 110.00, 109.82, 42.59 (NCH_2), 31.19, 20.24, 14.18 (CH_3); IR (KBr) ν : 3307, 3202, 3075, 2955, 2872, 1674, 1627, 1601, 1514, 1489, 1471, 1209 cm^{-1} . Anal. calcd for $C_{18}H_{21}N_5O$: C 66.85, H 6.55, N 21.66; found C 66.63, H 6.71, N 21.40.

1-[(9-戊基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**3d**): 白色粉末, 产率 86.4%. m.p. 187.2~187.9 °C; 1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.30 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.21 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Cz- H_2), 8.02 (s, 2H, CH=N, Cz- H_4), 7.87 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H, Cz- H_5), 7.60 (d, $J=$

8.0 Hz, 1H, Cz-H₁), 7.58 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz-H₈), 7.47 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz-H₇), 7.23 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz-H₆), 4.39 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, NCH₂), 4.11 (s, 2H, NH₂), 1.67~1.87 (m, 2H, NCH₂CH₂), 1.17~1.39 (m, 4H, NCH₂-CH₂(CH₂)₂), 0.80 (t, $J=6.8$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 157.88 (C=O), 141.85 (CH=N), 141.09, 140.92, 126.48, 126.27, 125.16, 122.72, 122.63, 120.99, 119.66, 119.53, 109.95, 109.80, 42.77 (NCH₂), 29.08, 28.70, 22.36, 14.28 (CH₃); IR (KBr) ν : 3307, 3202, 3075, 2952, 2868, 1670, 1627, 1601, 1514, 1489, 1467, 1238 cm⁻¹. Anal. calcd for C₁₉H₂₃N₅O: C 67.63, H 6.87, N 20.76; found C 67.43, H 6.62, N 20.57.

1-[(9-己基-3-吡唑基)亚甲基]碳酰脲(**3e**): 白色粉末, 产率 91.7%. m.p. 183.4~184.0 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.32 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.21 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Cz-H₂), 8.04 (s, 1H, Cz-H₄), 8.01 (s, 1H, CH=N), 7.87 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H, Cz-H₅), 7.60 (d, $J=6.5$ Hz, 1H, Cz-H₁), 7.59 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Cz-H₈), 7.47 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, Cz-H₇), 7.22 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz-H₆), 4.39 (t, $J=6.8$ Hz, 2H, NCH₂), 4.11 (s, 2H, NH₂), 1.66~1.87 (m, 2H, NCH₂CH₂), 1.12~1.41 (m, 6H, NCH₂CH₂(CH₂)₃), 0.80 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 157.86 (C=O), 141.74 (CH=N), 141.08, 140.92, 126.45, 126.28, 125.15, 122.72, 122.64, 121.00, 119.67, 119.52, 109.97, 109.80, 42.79 (NCH₂), 31.42, 28.96, 26.57, 22.46, 14.28 (CH₃); IR (KBr) ν : 3307, 3202, 3075, 2952, 2868, 1674, 1627, 1601, 1514, 1489, 1471, 1238 cm⁻¹. Anal. calcd for C₂₀H₂₅N₅O: C 68.35, H 7.17, N 19.93; found C 68.52, H 7.04, N 20.17.

1-[(9-庚基-3-吡唑基)亚甲基]碳酰脲(**3f**): 奶白色粉末, 产率 89.2%. m.p. 187.3~187.9 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.31 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.21 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Cz-H₂), 8.03 (s, 2H, CH=N, Cz-H₄), 7.87 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H, Cz-H₅), 7.59 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Cz-H₁), 7.58 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz-H₈), 7.46 (td, $J=7.8, 1.0$ Hz, 1H, Cz-H₇), 7.22 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, Cz-H₆), 4.38 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, NCH₂), 4.12 (s, 2H, NH₂), 1.65~1.88 (m, 2H, NCH₂CH₂), 1.01~1.42 (m, 8H, NCH₂CH₂(CH₂)₄), 0.80 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 157.86 (C=O), 141.78 (CH=N), 141.09, 140.93, 126.44, 126.29, 125.14, 122.74, 122.65, 120.99, 119.67, 119.51, 109.95, 109.79, 42.80 (NCH₂), 31.64, 29.00, 28.89, 26.89, 22.42, 14.32 (CH₃); IR (KBr) ν : 3307, 3202, 3078, 2948, 2864, 1670, 1627, 1605, 1514, 1489, 1467, 1231 cm⁻¹. Anal. calcd for C₂₁H₂₇N₅O:

C 69.01, H 7.45, N 19.16; found C 69.26, H 7.67, N 19.01.

1-[(9-辛基-3-吡唑基)亚甲基]碳酰脲(**3g**): 白色粉末, 产率 94.7%. m.p. 181.5~181.8 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.30 (s, 1H, NH_a), 8.54 (s, 1H, NH_b), 8.20 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz-H₂), 8.02 (s, 2H, CH=N, Cz-H₄), 7.86 (dd, $J=8.5, 1.5$ Hz, 1H, Cz-H₅), 7.59 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz-H₁), 7.58 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Cz-H₈), 7.46 (td, $J=7.8, 1.0$ Hz, 1H, Cz-H₇), 7.22 (t, $J=7.5$ Hz, 1H, Cz-H₆), 4.38 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, NCH₂), 4.11 (s, 2H, NH₂), 1.65~1.87 (m, 2H, NCH₂CH₂), 1.09~1.35 (m, 10H, NCH₂CH₂(CH₂)₅), 0.81 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 157.84 (C=O), 141.70 (CH=N), 141.07, 140.92, 126.44, 126.29, 125.15, 122.72, 122.65, 121.00, 119.66, 119.51, 109.97, 109.80, 42.79 (NCH₂), 31.62, 29.19, 29.06, 28.98, 26.92, 22.47, 14.36 (CH₃); IR (KBr) ν : 3307, 3202, 3078, 2952, 2868, 1670, 1627, 1605, 1514, 1489, 1467, 1220 cm⁻¹. Anal. calcd for C₂₂H₂₉N₅O: C 69.63, H 7.70, N 18.45; found C 69.34, H 7.93, N 18.18.

3.2.2 目标化合物 4 的合成通法

在干燥的 50 mL 三口瓶中依次加入 2 mmol 中间体化合物 **2**、20 mL C₂H₅OH 和几滴冰醋酸, 加热至固体溶解。然后, 加入 1 mmol 1,3-二氨基脲, 回流反应 6 h。反应结束后, 蒸出少量溶剂, 待反应混合物彻底冷却后, 抽滤出粗产品, 将粗产品转移至小烧杯中, 用 5 mL 水洗两次, 抽干, 再用乙醇洗涤 (5 mL $\times$ 2), 抽干所得粗品用 DMSO 重结晶后即得到纯品目标产物 **4**。

1,5-双[(9-乙基-3-吡唑基)亚甲基]碳酰脲(**4a**): 奶白色粉末, 产率 92.0%. m.p. 256.3~256.9 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.64 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.55 (s, 2H, CH=N $\times$ 2), 8.40 (brs, 2H, Cz-H₄ $\times$ 2), 8.25 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Cz-H₂ $\times$ 2), 7.95 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, Cz-H₅ $\times$ 2), 7.69 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, Cz-H₁ $\times$ 2), 7.65 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Cz-H₈ $\times$ 2), 7.50 (t, $J=7.8$ Hz, 2H, Cz-H₇ $\times$ 2), 7.26 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, Cz-H₆ $\times$ 2), 4.49 (q, $J=6.8$ Hz, 4H, N-CH₂ $\times$ 2), 1.35 (t, $J=7.3$ Hz, 6H, CH₃ $\times$ 2); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 152.82 (C=O), 144.51 (CH=N), 140.76, 140.50, 126.60, 126.26, 125.15, 122.86, 122.69, 121.09, 119.94, 119.70, 109.89, 109.85, 37.60 (NCH₂), 14.22 (CH₃); IR (KBr) ν : 3202, 3046, 2973, 2889, 1684, 1656, 1598, 1587, 1532, 1492, 1475, 1225 cm⁻¹. Anal. calcd for C₃₁H₂₈N₆O: C 74.38, H 5.64, N 16.79; found C 74.69, H 5.47, N 16.68.

1,5-双[(9-丙基-3-吡唑基)亚甲基]碳酰脲(**4b**): 白色粉末, 产率 91.8%. m.p. 242.9~243.5 °C; ¹H NMR (500

MHz, DMSO- d_6) δ : 10.60 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.53 (s, 2H, C-H=N $\times$ 2), 8.39 (brs, 2H, Cz-H $_4$ $\times$ 2), 8.25 (d, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_2$ $\times$ 2), 7.93 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_5$ $\times$ 2), 7.69 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_1$ $\times$ 2), 7.65 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_8$ $\times$ 2), 7.49 (t, J =7.8 Hz, 2H, Cz-H $_7$ $\times$ 2), 7.26 (t, J =7.3 Hz, 2H, Cz-H $_6$ $\times$ 2), 4.41 (t, J =7.0 Hz, 4H, NCH $_2$ $\times$ 2), 1.76~1.93 (m, 4H, NCH $_2$ CH $_2$ $\times$ 2), 0.90 (t, J =7.5 Hz, 6H, CH $_3$ $\times$ 2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 152.83 (C=O), 144.50 (CH=N), 141.35, 141.06, 126.56, 126.21, 125.10, 122.71, 122.55, 121.00, 119.88, 119.66, 110.11, 110.10, 44.33 (NCH $_2$), 22.38, 11.83 (CH $_3$); IR (KBr) ν : 3205, 3053, 2962, 2875, 1688, 1656, 1598, 1583, 1532, 1492, 1474, 1223 cm^{-1} . Anal. calcd for C $_{33}$ H $_{32}$ N $_6$ O: C 74.98, H 6.10, N 15.90; found C 74.82, H 5.86, N 16.08.

1,5-双[(9-丁基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**4c**): 白色粉末, 产率 92.8%. m.p. 221.3~222.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.61 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.53 (s, 2H, C-H=N $\times$ 2), 8.39 (brs, 2H, Cz-H $_4$ $\times$ 2), 8.25 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_2$ $\times$ 2), 7.93 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_5$ $\times$ 2), 7.68 (d, J =9.0 Hz, 2H, Cz-H $_1$ $\times$ 2), 7.64 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_8$ $\times$ 2), 7.49 (t, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_7$ $\times$ 2), 7.26 (t, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_6$ $\times$ 2), 4.43 (t, J =7.0 Hz, 4H, NCH $_2$ $\times$ 2), 1.71~1.86 (m, 4H, NCH $_2$ CH $_2$ $\times$ 2), 1.25~1.42 (m, 4H, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ $\times$ 2), 0.90 (t, J =7.5 Hz, 6H, CH $_3$ $\times$ 2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 152.82 (C=O), 144.52 (CH=N), 141.26, 140.97, 126.57, 126.22, 125.12, 122.73, 122.57, 121.01, 119.87, 119.66, 110.07, 110.04, 42.65 (NCH $_2$), 31.21, 20.26, 14.19 (CH $_3$); IR (KBr) ν : 3209, 3050, 2955, 2868, 1685, 1630, 1598, 1532, 1489, 1467, 1213 cm^{-1} . Anal. calcd for C $_{35}$ H $_{36}$ N $_6$ O: C 75.51, H 6.52, N 15.10; found C 75.74, H 6.41, N 15.33.

1,5-双[(9-戊基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**4d**): 白色粉末, 产率 90.5%. m.p. 210.9~211.3 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.61 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.53 (s, 2H, C-H=N $\times$ 2), 8.39 (brs, 2H, Cz-H $_4$ $\times$ 2), 8.24 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_2$ $\times$ 2), 7.94 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_5$ $\times$ 2), 7.67 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_1$ $\times$ 2), 7.63 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_8$ $\times$ 2), 7.49 (t, J =7.8 Hz, 2H, Cz-H $_7$ $\times$ 2), 7.26 (t, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_6$ $\times$ 2), 4.42 (t, J =7.0 Hz, 4H, NCH $_2$ $\times$ 2), 1.74~1.86 (m, 4H, NCH $_2$ CH $_2$ $\times$ 2), 1.23~1.38 (m, 8H, NCH $_2$ CH $_2$ (CH $_2$) $_2$ $\times$ 2), 0.82 (t, J =7.0 Hz, 6H, CH $_3$ $\times$ 2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 152.84 (C=O), 144.62 (CH=N), 141.25, 140.96, 126.57, 126.21, 125.12, 122.73, 122.56, 121.01, 119.89, 119.66, 110.04, 110.02, 42.82 (NCH $_2$), 29.11, 28.74, 22.38, 14.32 (CH $_3$); IR (KBr) ν :

3325, 3209, 3050, 2955, 2868, 1688, 1627, 1597, 1532, 1489, 1467, 1242 cm^{-1} . Anal. calcd for C $_{37}$ H $_{40}$ N $_6$ O: C 76.00, H 6.89, N 14.37; found C 76.15, H 7.08, N 14.51.

1,5-双[(9-己基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**4e**): 浅黄色粉末, 产率 90.2%. m.p. 200.0~200.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.62 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.53 (s, 2H, CH=N $\times$ 2), 8.39 (brs, 2H, Cz-H $_4$ $\times$ 2), 8.24 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_2$ $\times$ 2), 7.94 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_5$ $\times$ 2), 7.67 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_1$ $\times$ 2), 7.63 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_8$ $\times$ 2), 7.49 (t, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_7$ $\times$ 2), 7.26 (t, J =7.3 Hz, 2H, Cz-H $_6$ $\times$ 2), 4.42 (t, J =7.0 Hz, 4H, NCH $_2$ $\times$ 2), 1.72~1.86 (m, 4H, NCH $_2$ CH $_2$ $\times$ 2), 1.15~1.39 (m, 12H, N CH $_2$ CH $_2$ (CH $_2$) $_3$ $\times$ 2), 0.81 (t, J =7.0 Hz, 6H, CH $_3$ $\times$ 2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 152.80 (C=O), 144.48 (CH=N), 141.25, 140.96, 126.56, 126.21, 125.08, 122.72, 122.57, 121.02, 119.90, 119.65, 110.06, 110.04, 42.85 (NCH $_2$), 31.43, 28.99, 26.60, 22.49, 14.30 (CH $_3$); IR (KBr) ν : 3325, 3220, 3050, 2952, 2853, 1692, 1652, 1627, 1598, 1569, 1493, 1471, 1242 cm^{-1} . Anal. calcd for C $_{39}$ H $_{44}$ N $_6$ O: C 76.44, H 7.24, N 13.71; found C 76.17, H 7.45, N 13.96.

1,5-双[(9-庚基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**4f**): 白色粉末, 产率 90.6%. m.p. 202.2~202.5 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.61 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.53 (s, 2H, CH=N $\times$ 2), 8.40 (brs, 2H, Cz-H $_4$ $\times$ 2), 8.24 (d, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_2$ $\times$ 2), 7.94 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_5$ $\times$ 2), 7.66 (d, J =9.0 Hz, 2H, Cz-H $_1$ $\times$ 2), 7.62 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_8$ $\times$ 2), 7.49 (t, J =7.8 Hz, 2H, Cz-H $_7$ $\times$ 2), 7.25 (t, J =7.3 Hz, 2H, Cz-H $_6$ $\times$ 2), 4.42 (t, J =6.8 Hz, 4H, NCH $_2$ $\times$ 2), 1.70~1.88 (m, 4H, NCH $_2$ CH $_2$ $\times$ 2), 1.11~1.37 (m, 16H, NCH $_2$ CH $_2$ (CH $_2$) $_4$ $\times$ 2), 0.81 (t, J =7.0 Hz, 6H, CH $_3$ $\times$ 2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 152.80 (C=O), 144.63 (CH=N), 141.25, 140.96, 126.55, 126.21, 125.08, 122.73, 122.57, 121.01, 119.89, 119.65, 110.06, 110.03, 42.86 (NCH $_2$), 31.67, 29.04, 28.91, 26.92, 22.45, 14.35 (CH $_3$); IR (KBr) ν : 3325, 3213, 3064, 2926, 2853, 1688, 1659, 1627, 1598, 1489, 1471, 1235 cm^{-1} . Anal. calcd for C $_{41}$ H $_{48}$ N $_6$ O: C 76.84, H 7.55, N 13.11; found C 76.63, H 7.73, N 12.99.

1,5-双[(9-辛基-3-咪唑基)亚甲基]碳酰脲(**4g**): 白色粉末, 产率 91.1%. m.p. 200.2~200.8 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.60 (s, 2H, NH $\times$ 2), 8.53 (s, 2H, C-H=N $\times$ 2), 8.39 (brs, 2H, Cz-H $_4$ $\times$ 2), 8.24 (d, J =7.5 Hz, 2H, Cz-H $_2$ $\times$ 2), 7.93 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_5$ $\times$ 2), 7.67 (d, J =8.5 Hz, 2H, Cz-H $_1$ $\times$ 2), 7.63 (d, J =8.0 Hz, 2H, Cz-H $_8$ $\times$ 2), 7.49 (t, J =7.8 Hz, 2H, Cz-H $_7$ $\times$ 2), 7.25 (t, J =

7.5 Hz, 2H, Cz-H₆×2), 4.42 (t, *J*=6.8 Hz, 4H, NCH₂×2), 1.70~1.88 (m, 4H, NCH₂CH₂×2), 1.11~1.39 (m, 20H, NCH₂CH₂(CH₂)₅×2), 0.82 (t, *J*=7.0 Hz, 6H, CH₃×2); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 152.78 (C=O), 144.42 (CH=N), 141.25, 140.96, 126.55, 126.20, 125.08, 122.72, 122.57, 121.01, 119.88, 119.65, 110.07, 110.03, 42.85 (NCH₂), 31.63, 29.20, 29.08, 29.01, 26.94, 22.48, 14.37 (CH₃); IR (KBr) ν : 3325, 3231, 3050, 2926, 2853, 1688, 1648, 1627, 1598, 1580, 1493, 1471, 1235 cm⁻¹. Anal. calcd for C₄₃H₅₂N₆O: C 77.21, H 7.84, N 12.56; found C 77.32, H 7.63, N 12.40.

3.3 目标化合物生物活性测试

目标化合物对 PTP1B 的抑制活性筛选实验方法: 按照参考文献[41]的方法进行。

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物 3 和 4 的 IR、¹H NMR 和 ¹³C NMR 以及目标化合物 3a 的 2D NOES 谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Sun, R.; Deng, X. X.; Zhang, D. D.; Xie, F. Z.; Wang, D.; Wang, J. T.; Tavallaie, M. S.; Jiang, F. Q.; Fu, L. *Bioorg. Chem.* **2019**, *87*, 12.
- [2] Paudel, P.; Seong, S. H.; Park, H. J.; Jung, H. A.; Choi, J. S. *Mar. Drugs* **2019**, *17*, 166.
- [3] Lima, R. C. L.; Kato, L.; Kongstad, K. T.; Staerk, D. J. *Funct. Foods* **2018**, *45*, 444.
- [4] Xu, H. M.; Mu, C.; Bao, D.; Xing, Q. L. *Chin. J. Diabetes Mellitus* **2018**, *10*, 735.
- [5] Ferhati, X.; Matassini, C.; Fabbrini, M. G.; Goti, A.; Morrone, A.; Cardona, F.; Moreno-Vargas, A. J.; Paoli, P. *Bioorg. Chem.* **2019**, *87*, 534.
- [6] Liu, H. Y.; Sun, D. W.; Du, H.; Zheng, C. J.; Li, J. Y.; Piao, H. R.; Li, J.; Sun, L. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *172*, 163.
- [7] Sun, L. P.; Wang, P. P.; Xu, L. L.; Gao, L. X.; Li, J.; Piao, H. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 1187.
- [8] Kostrzewa, T.; Stysko, J.; Gorska-Ponikowska, M.; Sledzinski, T.; Kuban-Jankowska, A. *Anticancer Res.* **2019**, *39*, 3379.
- [9] Kostrzewa, T.; Przychodzen, P.; Gorska-Ponikowska, M.; Kuban-Jankowska, A. *Anticancer Res.* **2019**, *39*, 745.
- [10] Li, X. Q.; Xu, Q.; Li, C.; Luo, J.; Li, X. X.; Wang, L. J.; Jiang, B.; Shi, D. Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *166*, 178.
- [11] El-Sherif, A. A.; Elbastweesy, E. R.; El-Reash, G. M. A.; Aljahdali, M. S. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2019**, *14*, 7241.
- [12] Choudhary, S.; Varshney, S.; Varshney, A. K. *J. Appl. Chem. Res.* **2016**, *10*, 99.
- [13] Božić, A.; Marinković, A.; Bjelogrić, S.; Todorović, T. R.; Cvijetić, I. N.; Novaković, I.; Muller, C. D.; Filipović, N. R. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 104763.
- [14] Fetoh, A.; El-Gammal, O. A.; El-Reash, G. M. A. *J. Mol. Struct.* **2018**, *1173*, 100.
- [15] Ibrahim, S. A.; Elsamani, T. *J. Pharm. Res. Int.* **2018**, *21*, 1.
- [16] Muğlu, H.; Çavuş, M. S.; Bakır, T.; Yakan, H. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1196*, 819.
- [17] Božić, A. R.; Filipović, N. R.; Novaković, I. T.; Bjelogrić, S. K.; Nikolić, J. B.; Drmanić, S. Ž.; Marinković, A. D. *J. Serb. Chem. Soc.* **2017**, *82*, 495.
- [18] Fetoh, A.; Salah, Z.; El-Reash, G. M. A. *Appl. Organometal. Chem.* **2019**, *33*, e4727.
- [19] Rubčić, M.; Pisk, J.; Pičuljan, K.; Damjanović, V.; Lovrić, J.; Vrdoljak, V. J. *Mol. Struct.* **2019**, *1178*, 222.
- [20] Chohan, Z. H.; Pervez, H.; Khan, K. M.; Supuran, C. T. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2005**, *20*, 81.
- [21] Iqbal, S.; Saleem, M.; Azim, M. K.; Taha, M.; Salar, U.; Khan, K. M.; Perveen, S.; Choudhary, M. I. *Bioorg. Chem.* **2017**, *72*, 89.
- [22] Zhang, L.; Ge, Y.; Song, H. M.; Wang, Q. M.; Zhou, C. H. *Bioorg. Chem.* **2018**, *80*, 195.
- [23] Tang, Y. B.; Liu, J. Z.; Zhang, S. E.; Du, X.; Nie, F. L.; Tian, J. Y.; Ye, F.; Huang, K.; Hu, J. P.; Li, Y.; Xiao, Z. Y. *Chem. Med. Chem.* **2014**, *9*, 918.
- [24] Li, Y.-J.; Wang, S.-Y.; Jin, K.; Gao, L.-X.; Sheng, L.; Zhang, N.; Yang, K.-D.; Zhao, Y.; Li, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *38*, 1242 (in Chinese).
(李英俊, 王思远, 靳焜, 高立信, 盛丽, 张楠, 杨凯栋, 赵月, 李佳, 有机化学, **2018**, *38*, 1242.)
- [25] Li, Y.-J.; Wang, S.-Y.; Jin, K.; Gao, L.-X.; Sheng, L.; Zhang, N.; Liu, J.-H.; Li, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *39*, 491 (in Chinese).
(李英俊, 王思远, 靳焜, 高立信, 盛丽, 张楠, 刘继红, 李佳, 有机化学, **2018**, *39*, 491.)
- [26] Li, Y.-J.; Zhao, Y.; Jin, K.; Gao, L.-X.; Sheng, L.; Liu, X.-J.; Yang, H.-J.; Lin, L.-D.; Li, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 2599 (in Chinese).
(李英俊, 赵月, 靳焜, 高立信, 盛丽, 刘雪洁, 杨鸿境, 林乐弟, 李佳, 有机化学, **2019**, *39*, 2599.)
- [27] Bondock, S.; Alqahtani, S.; Fouda, A. M. *Synth. Commun.* **2019**, *49*, 2188.
- [28] Krishnan, K. G.; Ashothai, P.; Padmavathy, K.; Lim, W. M.; Mai, C. W.; Thanikachalam, P. V.; Ramalingam, C. *New J. Chem.* **2019**, *43*, 12069.
- [29] Li, G.; Tang, H. D.; Liu, C. F.; Liao, X. Y.; Li, S. C.; Shu, Z. N.; Yu, H.; Peng, Y. *Bioorg. Chem.* **2019**, *90*, UNSP 103074.
- [30] Adib, M.; Peytam, F.; Shourgeshty, R.; Mohammadi-Khanaposhtani, M.; Jahani, M.; Imanparast, S.; Faramarzi, M. A.; Larijani, B.; Moghadamnia, A. A.; Esfahani, E. N.; Bandarian, F.; Mahdavi, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 713.
- [31] Caruso, A.; Ceramella, J.; Iacopetta, D.; Saturnino, C.; Mauro, M. V.; Bruno, R.; Aquaro, S.; Sinicropi, M. S. *Molecules* **2019**, *24*, 1912.
- [32] Shaikh, M. S.; Kanhed, A. M.; Chandrasekaran, B.; Palkar, M. B.; Agrawal, N.; Lherbet, C.; Hampannavar, G. A.; Karpoomath, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 2338.
- [33] Tamene, D.; Endale, M. *Adv. Pharm. Sci.* **2019**, *2019*, 1.
- [34] Zhou, S. L.; Tang, H. L.; Yao, M.; Cao, S. N.; Zhuang, L. Y.; Cao, C. S. *Chem. Pap.* **2019**, *73*, 2477.
- [35] Rifati-Nixha, A.; Arslan, M.; Genç, N.; Çikrikçi, K.; Gökçe, B.; Arslan, O. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **2019**, *33*, e22306.
- [36] Eseyin, O. A.; Edem, E.; Johnson, E.; Ahmad, A.; Afzal, S. *Trop. J. Pharm. Res.* **2018**, *17*, 537.
- [37] Dragancea, D.; Shova, S.; Enyedy, É. A.; Breza, M.; Rapta, P.; Carrella, L. M.; Rentschler, E.; Dobrov, A.; Arion, V. B. *Polyhedron* **2014**, *80*, 180.
- [38] El-Reash, G. M. A.; El-Gammal, O. A.; Radwan, A. H. *Spectrochim. Acta A* **2014**, *121*, 259.
- [39] Jagadeeswari, S.; Paramaguru, G.; Thennarasu, S.; Renganathan, R. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1060*, 191.
- [40] Budreckiene, R.; Buika, G.; Grazulevicius, J. V.; Jankauskas, V.; Staniskiene, B. *J. Photochem. Photobiol. A* **2006**, *181*, 257.
- [41] Sun, L. P.; Shen, Q.; Piao, H. H.; Ma, W. P.; Gao, L. X.; Zhang, W.; Nan, F. J.; Li, J.; Piao, H. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3630.

(Cheng, F.)