



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102746309 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 24

(21) 申请号 201210235671. 7

(22) 申请日 2012. 07. 09

(71) 申请人 四川大学

地址 610041 四川省成都市一环路南一段
24 号

(72) 发明人 尹述凡 李财虎 张露韵 杨芳
蒋丽娟 李颖 董林

(74) 专利代理机构 成都高远知识产权代理事务
所 (普通合伙) 51222
代理人 李高峡

(51) Int. Cl.

C07D 487/04 (2006. 01)

A61K 31/519 (2006. 01)

A61P 19/06 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 13 页

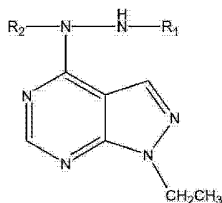
(54) 发明名称

1-N- 乙基 -4-N-2' - 取代酰基胍 -1H- 吡唑
[3, 4-d] 嘧啶类衍生物及其制备方法和用途

(57) 摘要

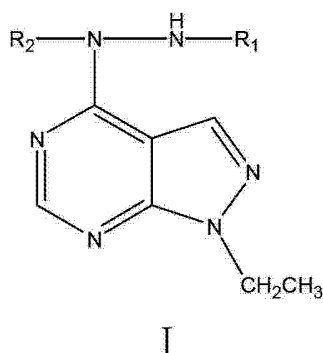
本发明提供了如式 I 所示别嘌醇衍生物及其制备方法。本发明别嘌醇衍生物能够有效抑制肿瘤生长,具有良好的抗肿瘤活性;它还能够有效抑制黄嘌呤氧化酶活性,可用于痛风的治疗,为治疗癌症和痛风提供了一种新的用药选择;同时,本发明化合物的制备方法简单,成本较低,收率

高,具有良好的工业应用前景。



I

1. 如式 I 所示的化合物,其结构式如下:



其中, R_1 选自 H、 $-\text{SO}_2\text{R}_3$ 或 $-\text{COR}_4$, R_2 选自 H 或 $-\text{CO}-\text{R}_5$;

所述 R_3 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香烃;所述 R_4 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香烃、或 $\text{C}_1\sim 5$ 的烷烃或取代烷烃;所述 R_5 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香烃。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征在于:所述 R_3 为苯基或取代苯基; R_4 为苯基或取代苯基、或 $\text{C}_1\sim 3$ 的烷烃或取代烷烃; R_5 为苯基或取代苯基。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物,其特征在于:所述 R_3 为 $-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_6\text{H}_5$ 、 $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ 或 $-\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$;所述 R_4 为 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{Cl}$ 或 $-\text{C}_6\text{H}_5$;所述 R_5 为 $-\text{C}_6\text{H}_5$ 。

4. 根据权利要求 3 所述的化合物,其特征在于:所述化合物为

1-N-乙基-4-N-2'-(4-甲基苯磺酰基)胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

1-N-乙基-4-N-2'-(4-硝基苯磺酰基)胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

1-N-乙基-4-N-2'-苯磺酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

1-N-乙基-4-N-2'-(4-溴苯磺酰基)胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

1-N-乙基-4-N-2'-乙酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

1-N-乙基-4-N-1',2'-二苯甲酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、或

1-N-乙基-4-N-2'-氯乙酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶。

5. 权利要求 1 所述化合物的制备方法,其特征在于:它包括如下操作步骤:

A、取 4-氯-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶和溴乙烷,通过亲电取代反应生成 4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶;

B、取 4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合胍,通过亲核取代反应生成 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶;

C、取 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶,与 $\text{R}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ 或 / 和 R_4COCl 通过亲核取代反应生成式 I 化合物;所述 R_3 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香烃;所述 R_4 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香烃、或 $\text{C}_1\sim 5$ 的烷烃或取代烷烃。

6. 根据权利要求 5 所述的制备方法,其特征在于:步骤 A 中,4-氯-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与溴乙烷的摩尔比为 1 : 1-2;步骤 B 中,4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合胍的摩尔比为 1 : 1-2;步骤 C 中, $\text{R}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ 和 R_4COCl 的总量与 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶的摩尔比为 (1-3):1。

7. 根据权利要求 6 所述的制备方法,其特征在于:步骤 A 中,4-氯-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与溴乙烷的摩尔比为 1 : 1.0-1.5;步骤 B 中,4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合胍的摩尔比为 1 : 1.0-1.5;步骤 C 中, $\text{R}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ 和 R_4COCl 的总量与 1-乙基-4-胍

基 -1H- 吡唑 [3, 4-d] 嘧啶的摩尔比为 (1.2-1.6):1 或 (2.3-2.7):1。

8. 权利要求 1-4 任意一项所述的化合物在制备抗肿瘤或治疗痛风的药物中的用途。

9. 根据权利要求 8 所述的用途, 其特征在于: 所述药物是抗肝癌细胞药物或黄嘌呤氧化酶抑制剂。

10. 一种抗肿瘤、治疗痛风的药物组合物, 其特征在于: 它是由权利要求 1-4 任意一项所述的化合物为活性成分, 加上药学上可用的辅料制备而成的制剂。

1-N-乙基-4-N-2'-取代酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶 类衍生物及其制备方法和用途

技术领域

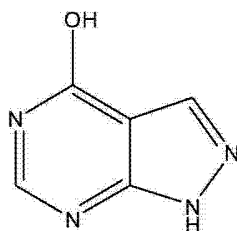
[0001] 本发明涉及别嘌呤醇衍生物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 肿瘤,是当今世界危及人类生命的一种最常见、最严重的疾病之一。化疗、放疗、手术疗法是目前治疗肿瘤的主要手段。而目前用于肿瘤治疗的药物数量有限,其售价较高,为肿瘤患者带来了较大的经济负担。因此,开发出更多的可有效抗肿瘤的药物的显示得尤为必要。

[0003] 别嘌呤醇(Allopurinol),化学名:4-羟基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶,其结构式如下:

[0004]



[0005] 它是天然次黄嘌呤的同分异构体,能抑制黄嘌呤氧化酶的活性,阻止黄嘌呤和次黄嘌呤氧化产生尿酸,从而降低血清尿酸的浓度,主要用于治疗高尿酸血症及痛风。自1963年别嘌呤醇成为治疗痛风的首选药物以来,一直是临床上用于治疗痛风的一线药物。

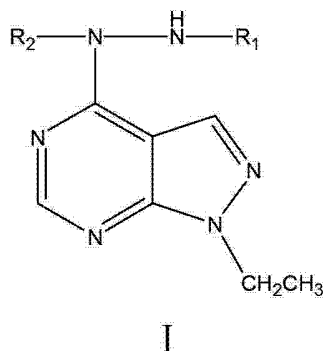
[0006] 目前,还未见将别嘌呤醇作为先导化合物,对其进行结构修饰和改造后,用于抗肿瘤的相关报道。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种别嘌呤醇衍生物及其制备方法和用途。本发明还提供了一种抗肿瘤、治疗痛风的药物组合物。

[0008] 具体地,本发明提供了如式I所示的化合物,其结构式如下:

[0009]



[0010] 其中, R_1 选自 H、 $-\text{SO}_2\text{R}_3$ 或 $-\text{COR}_4$, R_2 选自 H 或 $-\text{CO}-\text{R}_5$;

[0011] 所述 R_3 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香烃;所述 R_4 为 $\text{C}_6\sim 10$ 的芳香烃或取代芳香

烃、或 C1~5 的烷烃或取代烷烃；所述 R₅ 为 C6~10 的芳香烃或取代芳香烃。

[0012] 进一步地，所述 R₃ 为苯基或取代苯基；R₄ 为苯基或取代苯基、或 C1~3 的烷烃或取代烷烃；R₅ 为苯基或取代苯基。

[0013] 更进一步地，所述 R₃ 为 -C₆H₄CH₃、-C₆H₅、-C₆H₄NO₂ 或 -C₆H₄Br；所述 R₄ 为 -CH₃、-CH₂Cl 或 -C₆H₅；所述 R₅ 为 -C₆H₅。

[0014] 进一步优选地，所述化合物为

[0015] 1-N-乙基-4-N-2'-(4-甲基苯磺酰基)肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

[0016] 1-N-乙基-4-N-2'-(4-硝基苯磺酰基)肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

[0017] 1-N-乙基-4-N-2'-苯磺酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

[0018] 1-N-乙基-4-N-2'-(4-溴苯磺酰基)肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

[0019] 1-N-乙基-4-N-2'-乙酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、

[0020] 1-N-乙基-4-N-1',2'-二苯甲酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶、或

[0021] 1-N-乙基-4-N-2'-氯乙酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶。

[0022] 本发明还提供了上述化合物的制备方法，它包括如下操作步骤：

[0023] A、取 4-氯-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶和溴乙烷，通过亲电取代反应生成 4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶；

[0024] B、取 4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合肼，通过亲核取代反应生成 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶；

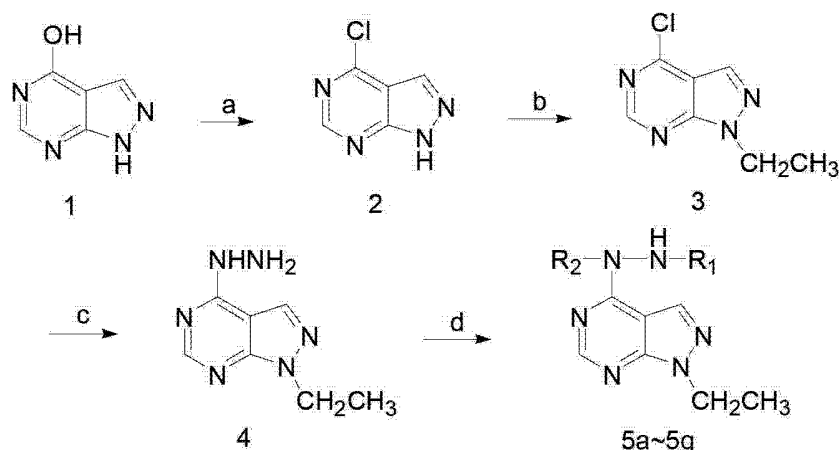
[0025] C、取 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶，与 R₃SO₂Cl 或 / 和 R₄COCl 通过亲核取代反应生成式 I 化合物；所述 R₃ 为 C6~10 的芳香烃或取代芳香烃；所述 R₄ 为 C6~10 的芳香烃或取代芳香烃、或 C1~5 的烷烃或取代烷烃。

[0026] 进一步地，步骤 A 中，4-氯-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与溴乙烷的摩尔比为 1 : 1-2；步骤 B 中，4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合肼的摩尔比为 1 : 1-2；步骤 C 中，R₃SO₂Cl 和 R₄COCl 的总量与 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶的摩尔比为 (1-3):1。

[0027] 更进一步地，步骤 A 中，4-氯-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与溴乙烷的摩尔比为 1 : 1.0-1.5；步骤 B 中，4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合肼的摩尔比为 1 : 1.0-1.5；步骤 C 中，R₃SO₂Cl 和 R₄COCl 的总量与 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶的摩尔比为 (1.2-1.6):1 或 (2.3-2.7):1。

[0028] 进一步优选地，其制备方法如下：

[0029]



- [0030] 5a : $R_1 = \text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$, $R_2 = \text{H}$ 5b : $R_1 = \text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$, $R_2 = \text{H}$
- [0031] 5c : $R_1 = \text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $R_2 = \text{H}$ 5d : $R_1 = \text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$, $R_2 = \text{H}$
- [0032] 5e : $R_1 = \text{COCH}_3$, $R_2 = \text{H}$ 5f : $R_1 = R_2 = \text{COC}_6\text{H}_5$
- [0033] 5g : $R_1 = \text{COCH}_2\text{Cl}$, $R_2 = \text{H}$
- [0034] 上述反应式中,
- [0035] 1 : 别嘌醇
- [0036] 2 : 4-氯-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0037] 3 : 4-氯-1-乙基-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0038] 4 : 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0039] 5a : 1-N-乙基-4-N-2'-(4-甲基苯磺酰基)肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0040] 5b : 1-N-乙基-4-N-2'-(4-硝基苯磺酰基)肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0041] 5c : 1-N-乙基-4-N-2'-苯磺酰基肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0042] 5d : 1-N-乙基-4-N-2'-(4-溴苯磺酰基)肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0043] 5e : 1-N-乙基-4-N-2'-乙酰基肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0044] 5f : 1-N-乙基-4-N-1',2'-二苯甲酰基肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0045] 5g : 1-N-乙基-4-N-2'-氯乙酰基肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶
- [0046] (1) 4-氯-1-乙基-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶 3 的合成
- [0047] 原料及其配方 :
- [0048] 4-氯-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶与溴乙烷的摩尔数之比为 1 : 1.2,
- [0049] 溶剂 DMF ;
- [0050] 工艺步骤 :
- [0051] 于常压、将化合物 2 溶解在干燥的 DMF 中,反应液在室温搅拌 10min,用滴液漏斗慢慢滴加量好的三乙胺,混合物继续在室温搅拌 30min。再将已溶解在干燥 DMF 的溴乙烷慢慢滴加到混合物中,继续搅拌 1h 后加入催化量的 KI。反应液用 TLC 检测至完全反应,混合液倒入到 15mL 水中,用稀盐酸调节 pH 至酸性后,加入乙酸乙酯萃取 ($4 \times 20\text{mL}$),有机层用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得油状物。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚 : 乙酸乙酯 (10 : 1) 洗脱,得到白色晶体 3。
- [0052] (2) 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶 4 的合成
- [0053] 原料及其配方 :

[0054] 4-氯-1-乙基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶和水合肼的摩尔数之比为1 : 1.21,

[0055] 溶剂乙腈

[0056] 工艺步骤:

[0057] 于常压、将化合物3溶解在5mL乙腈中,再将水合肼慢慢加入到混合液中,反应物室温搅拌3h,用TLC检测至完全反应。反应液经浓缩得固体粗产物,粗产物经水洗、乙酸乙酯重化后得白色晶体4。

[0058] (3)1-N-乙基-4-N-2'-(4-甲基苯磺酰基)肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶5a的合成

[0059] 原料及其配方:

[0060] 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与4-甲基苯磺酰氯的摩尔数之比为1 : 1.43,

[0061] 溶剂THF;

[0062] 工艺步骤:

[0063] 于常压、将化合物4溶解在THF中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌1h。再将4-甲基苯磺酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌1h,移入室温用TLC检测至反应完全。反应液倒入到10mL水中,用稀盐酸调节PH值为3左右,加入乙酸乙酯萃取(4×20mL),有机层用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚:丙酮(2 : 1)洗脱,得到白色晶体5a。

[0064] (4)1-N-乙基-4-N-2'-(4-硝基苯磺酰基)肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶5b的合成

[0065] 原料及其配方:

[0066] 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与4-硝基苯磺酰氯的摩尔数之比为1 : 1.43,

[0067] 溶剂THF;

[0068] 工艺步骤:

[0069] 于常压、将化合物4溶解在THF中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌1h。再将4-硝基苯磺酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌1h,移入室温用TLC检测至反应完全。反应液倒入到10mL水中,用稀盐酸调节PH值为3左右,加入乙酸乙酯萃取(4×20mL),有机层用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚:丙酮(2 :

[0070] 1)洗脱,得到白色晶体5b。

[0071] (5)1-N-乙基-4-N-2'-苯磺酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶5c合成

[0072] 原料及其配方:

[0073] 1-乙基-4-肼基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与苯磺酰氯的摩尔数之比为1 : 1.43,溶剂THF;

[0074] 工艺步骤:

[0075] 于常压、将化合物4溶解在THF中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌1h。再将苯磺酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌1h,移入室温用TLC检测至反应完全。反应液倒入到10mL水中,用稀盐酸调节PH值为3左右,加入乙酸乙酯萃取(4×20mL),有机层

用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚:丙酮(2:1)洗脱,得到白色晶体 5c。

[0076] (6)1-N-乙基-4-N-2'--(4-溴苯磺酰基)胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶 5d 的合成

[0077] 原料及其配方:

[0078] 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与 4-溴苯磺酰氯的摩尔数之比为 1:1.43,

[0079] 溶剂 THF;

[0080] 工艺步骤:

[0081] 于常压、将化合物 4 溶解在 THF 中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌 1h。再将苯磺酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h,移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中,用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右,加入乙酸乙酯萃取(4×20mL),有机层用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚:丙酮(2:1)洗脱,得到白色晶体 5d。

[0082] (7)1-N-乙基-4-N-2'-乙酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶 5e 的合成原料及其配方:

[0083] 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与乙酰氯的摩尔数之比为 1:1.43,溶剂 THF;

[0084] 工艺步骤:

[0085] 于常压、将化合物 4 溶解在 THF 中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌 1h。再将乙酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h,移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中,用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右,加入乙酸乙酯萃取(4×20mL),有机层用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚:丙酮(2:1)洗脱,得到白色晶体 5e。

[0086] (8)1-N-乙基-4-N-1',2'-二苯甲酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶 5f 的合成

[0087] 原料及其配方:

[0088] 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与苯甲酰氯的摩尔数之比为 1:2.5,

[0089] 溶剂 THF;

[0090] 工艺步骤:

[0091] 于常压、将化合物 4 溶解在 THF 中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌 1h。再将乙酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h,移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中,用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右,加入乙酸乙酯萃取(4×20mL),有机层用饱和氯化钠洗涤,无水硫酸镁干燥,浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析,用石油醚:丙酮(2:1)洗脱,得到白色晶体 5f。

[0092] (9)1-N-乙基-4-N-2'-氯乙酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶 5g 的合成

[0093] 原料及其配方:

[0094] 1-乙基-4-胍基-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶与氯乙酰氯的摩尔数之比为 1:1.43,

[0095] 溶剂 THF;

[0096] 工艺步骤:

[0097] 于常压、将化合物 4 溶解在 THF 中,冰浴条件下加入量好的吡啶,混合物继续搅拌

1h。再将乙酰氯慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h, 移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中, 用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右, 加入乙酸乙酯萃取 (4×20mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到白色晶体 5g。

[0098] 本发明还提供了上述化合物在制备抗肿瘤或治疗痛风的药物中的用途。

[0099] 进一步地, 所述药物是抗肝癌细胞药物或黄嘌呤氧化酶抑制剂。

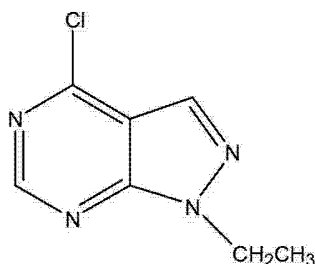
[0100] 本发明还提供了一种抗肿瘤、治疗痛风的药物组合物, 它是由上述的化合物为活性成分, 加上药学上可用的辅料制备而成的制剂。

[0101] 本发明别嘌呤醇衍生物能够有效抑制肿瘤生长, 具有良好的抗肿瘤活性; 它还能够有效抑制黄嘌呤氧化酶活性, 可用于痛风的治疗, 为治疗癌症和痛风提供了一种新的用药选择; 同时, 本发明化合物的制备方法简单, 成本较低, 收率高, 具有良好的工业应用前景。

具体实施方式

[0102] 实施例 14- 氯 -1- 乙基 -1H- 吡唑 [3, 4-d] 嘧啶 (简称化合物 3) 的制备方法

[0103]



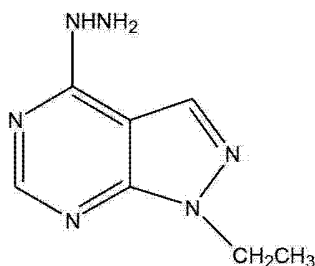
3

[0104] 于常压、将 4- 氯 -1H- 吡唑并 [3, 4-d] 嘧啶 (0.1g, 0.65mmol) 溶解在 5mL 干燥的 DMF 中, 反应液在室温搅拌 10min, 用滴液漏斗慢慢滴加量好的三乙胺 (0.20g, 1.95mmol), 混合物继续在室温搅拌 30min。再将已溶解在 3mL 干燥 DMF 的溴乙烷 (0.084g, 0.78mmol) 慢慢滴加到混合物中, 继续搅拌 1h 后加入催化量的 KI。反应液用 TLC 检测至完全反应, 混合液倒入到 15mL 水中, 用稀盐酸调节 pH 至酸性后, 加入乙酸乙酯萃取 (4×20mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得油状物。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 乙酸乙酯 (10 : 1) 洗脱, 得到白色晶体 3。

[0105] 化合物 3: 白色晶体, 76 ~ 77 °C ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ : 8.87 (s, 1H, CH), 8.49 (s, 1H, CH), 4.51 (dd, J=7.24Hz, J=14.52Hz, 2H, CH₂), 1.45 (t, J=7.26Hz, 3H, CH₃); ¹³C NMR (100MHz, DMSO-d₆) 156.65, 150.77, 150.35, 134.40, 106.12, 42.43, 15.12; IR (KBr, ν, cm⁻¹): 3466, 3094, 2924, 2854, 1690, 1575, 1538, 1460, 1389, 1283, 1209, 1131, 1007-, 956, 782, 680, 594, 533, 406. HRMS (ESI) calcd for C₇H₇ClN₄ [M + H]⁺ 182.0359 found 183.0535.

[0106] 实施例 21- 乙基 -4- 肼基 -1H- 吡唑 [3, 4-d] 嘧啶 (简称化合物 4) 的合成

[0107]



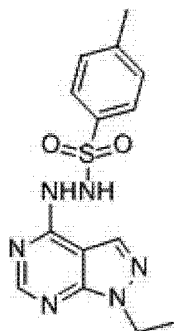
4

[0108] 于常压、将化合物 3 (0.1g, 0.56mmol) 溶解在 5mL 乙腈中, 再将水合肼 (0.034g, 0.68mmol) 慢慢加入到混合液中, 反应物室温搅拌 3h, 用 TLC 检测至完全反应。反应液经浓缩得固体粗产物, 粗产物经水洗、乙酸乙酯重化后得白色晶体 4。

[0109] 化合物 4: 白色固体, 198 ~ 200 °C ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 8.29 (s, 1H, CH), 8.05 (s, 1H, CH), 4.85 (s, 2H, NH_2), 4.65 (s, 1H, NH), 4.30 (dd, J = 7.18Hz, J = 14.38Hz, 2H, CH_2), 1.36 (t, J = 7.22Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 161.03, 155.41, 153.66, 135.16, 99.12, 41.50, 15.20; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1717, 1659, 1599, 1538, 1497, 1441, 1375, 1346, 1295, 1251, 1182, 1091, 962, 913, 860, 785, 694, 620, 541. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 178.0967 found 179.1044.

[0110] 实施例 31-N-乙基-4-N-2'-(4-甲基苯磺酰基)肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶 (简称化合物 5a)

[0111]



5a

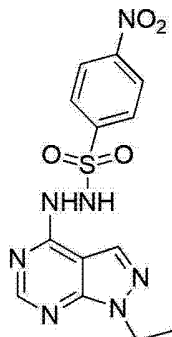
[0112] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 溶解在 5mL THF 中, 冰浴条件下加入量好的吡啶 (0.19g, 2.41mmol), 混合物继续搅拌 1h。再将 4-甲基苯磺酰氯 (0.39g, 2.05mmol) 慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h, 移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中, 用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右, 加入乙酸乙酯萃取 (4×20mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到白色晶体 5a。

[0113] 5a: 白色固体, 186 ~ 187 °C ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.28 (br, 1H, NH), 10.04 (br, 1H, NH), 8.16 (s, 2H, CH), 7.73 (d, J = 8.20Hz, 2H, ArH), 7.41 (d, J = 7.08Hz, 2H, ArH), 4.34 (dd, J = 7.18Hz, J = 14.42Hz, 2H, CH_2), 2.39 (s, 3H, CH_3), 1.37 (t, J = 7.20Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 161.24, 154.86, 153.24, 144.15, 135.82, 133.83, 130.03, 128.22, 99.54, 41.79, 21.47, 15.14; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3437, 3194, 3052, 2924, 2855, 1923, 1592, 1499, 1454, 1336, 1292, 1245, 1162, 109

1, 960, 917, 810, 789, 718, 658, 582, 538, 486, 423. HRMS (ESI) calcd for $C_{14}H_{16}N_6O_2S[M + H]^+$ 332.1055 found 333.1128.

[0114] 实施例 41-N-乙基-4-N-2'-(4-硝基苯磺酰基)胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶(简称化合物 5b)的合成

[0115]



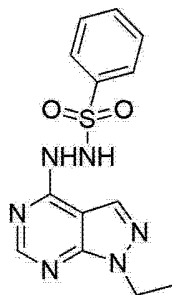
5b

[0116] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 溶解在 5mL THF 中, 冰浴条件下加入量好的吡啶 (0.19g, 2.41mmol), 混合物继续搅拌 1h。再将 4-硝基苯磺酰氯 (0.39g, 2.05mmol) 慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h, 移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中, 用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右, 加入乙酸乙酯萃取 (4×20mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到白色晶体 5b。

[0117] 化合物 5b: 浅黄色固体, 194 ~ 195 °C 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.78 (br, 1H, NH), 10.17 (br, 1H, NH), 8.43 (s, 2H, CH), 8.17 (s, 2H, ArH), 8.09 (d, $J = 8.76$ Hz, 2H, ArH), 4.34 (dd, $J = 7.14$ Hz, $J = 14.44$ Hz, 2H, CH_2), 1.37 (t, $J = 7.24$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 159.45, 157.86, 155.31, 152.62, 148.07, 138.51, 134.74, 129.58, 104.26, 46.61, 19.86; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3364, 3262, 3106, 2625, 2855, 1698, 1657, 1597, 1530, 1449, 1350, 1312, 1242, 1171, 1088, 1010, 961, 855, 746, 703, 612, 462. HRMS (ESI) calcd for $C_{13}H_{13}N_7O_4S[M + H]^+$ 363.0750 found 364.0837.

[0118] 实施例 51-N-乙基-4-N-2'-苯磺酰基胍-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶(简称化合物 5c)的合成

[0119]



5c

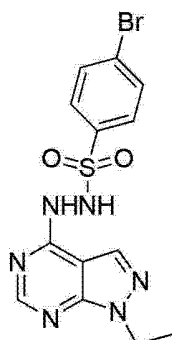
[0120] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 溶解在 5mL THF 中, 冰浴条件下加入量好的

吡啶 (0.19g, 2.41mmol), 混合物继续搅拌 1h。再将苯磺酰氯 (0.39g, 2.05mmol) 慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h, 移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中, 用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右, 加入乙酸乙酯萃取 (4×20mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到白色晶体 5c。

[0121] 化合物 5c: 白色固体, 194 ~ 195 °C ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.40 (br, 1H, NH), 10.10 (br, 1H, NH), 8.16 (s, 2H, CH), 7.85 (d, J = 7.36Hz, 2H, ArH), 7.60 ~ 7.69 (m, 3H, ArH), 4.33 (dd, J = 7.12Hz, J = 14.48Hz, 2H, CH₂), 1.37 (t, J = 7.12Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 160.38, 154.85, 153.22, 138.80, 133.74, 129.60, 128.16, 99.55, 41.81, 15.15; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3227, 3077, 2979, 2861, 1593, 1548, 1500, 1442, 1353, 1292, 1248, 1167, 1090, 1008, 959, 919, 857, 790, 739, 693, 637, 577, 542, 502. HRMS (ESI) calcd for C₁₄H₁₄N₆O₂S [M + H]⁺ 318.0899 found 319.0984.

[0122] 实施例 61-N-乙基-4-N-2'-(4-溴苯磺酰基)肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶 (简称化合物 5d) 的合成。

[0123]



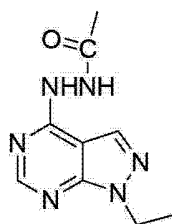
5d

[0124] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 溶解在 5mL THF 中, 冰浴条件下加入量好的吡啶 (0.19g, 2.41mmol), 混合物继续搅拌 1h。再将 4-溴苯磺酰氯 (0.39g, 2.05mmol) 慢慢滴加到混合液中继续搅拌 1h, 移入室温用 TLC 检测至反应完全。反应液倒入到 10mL 水中, 用稀盐酸调节 PH 值为 3 左右, 加入乙酸乙酯萃取 (4×20mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得固体。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到 5d。

[0125] 化合物 5d: 白色固体, 194 ~ 195 °C ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 10.49 (br, 1H, NH), 10.09 (br, 1H, NH), 8.16 (s, 2H, CH), 7.76 ~ 7.84 (m, 4H, ArH), 4.34 (m, J = 7.08Hz, J = 14.32Hz, 2H, CH₂), 1.38 (t, J = 7.20Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 158.84, 154.87, 153.18, 137.72, 133.99, 132.70, 130.26, 127.80, 99.51, 41.84, 15.15; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3361, 3259, 3185, 3130, 3090, 2924, 2854, 1913, 1658, 1598, 1565, 1537, 1388, 1318, 1282, 1159, 1087, 1066, 1007, 959, 907, 821, 759, 717, 674, 615, 575, 530. HRMS (ESI) calcd for C₁₃H₁₃BrN₆O₂S [M + H]⁺ 396.0004 found 397.0088.

[0126] 实施例 71-N-乙基-4-N-2'-乙酰基肼-1H-吡唑 [3,4-d] 嘧啶 (简称化合物 5e) 的合成

[0127]



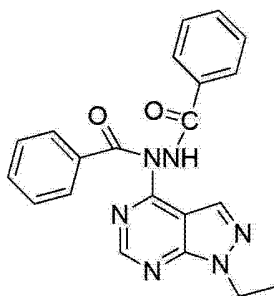
5e

[0128] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 和 TEA (0.51g, 5.05mmol) 在冰欲条件下依次加入到 10mL 二氯甲烷中, 搅拌一段时间, 再将已溶解在 2mL 二氯甲烷中的乙酰氯 (0.16g, 2.04mmol) 慢慢滴加到混合物中并继续搅拌 1.5h。反应液用 TLC 检测至反应完全后倒入到 15mL 水中, 加入二氯甲烷萃取 (3×15mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 浓缩得油状物。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到浅黄色油状物 5e。

[0129] 化合物 5e: 浅黄色油状物 ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.38 (br, 1H, NH), 10.09 (br, 1H, NH), 8.29 (s, 1H, CH), 8.16 (s, 1H, CH), 4.34 (dd, $J = 7.12\text{Hz}$, $J = 14.48\text{Hz}$, 2H, CH_2), 2.03 (s, 3H, CH_3), 1.37 (t, $J = 7.20\text{Hz}$, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 170.06, 160.53, 155.35, 153.53, 132.34, 99.12, 41.83, 21.06, 15.16; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3200, 3056, 2925, 2855, 1956, 1634, 1592, 1449, 1350, 1277, 1230, 1156, 1074, 1012, 891, 762, 708, 663, 597, 532. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}[\text{M} + \text{H}]^+$ 220.1073 found 221.1148.

[0130] 实施例 81-N-乙基-4-N-1', 2'-二苯甲酰基肼-1H-吡啶 [3, 4-d] 嘧啶的合成 (简称化合物 5f) 的合成

[0131]



5f

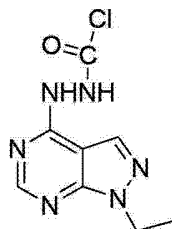
[0132] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 和 TEA (0.51g, 5.05mmol) 在冰欲条件下依次加入到 10mL 二氯甲烷中, 搅拌一段时间, 再将已溶解在 2mL 二氯甲烷中的乙酰氯 (0.16g, 2.04mmol) 慢慢滴加到混合物中并继续搅拌 1.5h。反应液用 TLC 检测至反应完全后倒入到 15mL 水中, 加入二氯甲烷萃取 (3×15mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 浓缩得油状物。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到浅黄色油状物 5f。

[0133] 化合物 5f: 白色固体, 144 ~ 145.8 $^{\circ}\text{C}$ ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.52 (br, 1H, NH), 8.67 (s, 1H, CH), 8.09 (s, 1H, CH), 7.92 ~ 7.96 (m, 4H, ArH), 7.80 ~ 7.82 (m, 2H, ArH), 7.74 ~ 7.76 (m, 2H, ArH), 7.68 ~ 7.70 (m, 2H, ArH), 4.49 (dd, $J = 7.30\text{Hz}$, $J = 14.54\text{Hz}$, 2H, CH_2), 1.44 (t, $J = 7.22\text{Hz}$, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 171.73, 170.99, 166.33, 154.61, 153.69, 134.57, 133.67, 132.97, 132.37, 128.99, 128.94, 127.97, 127.93, 104.60, 42.37, 15.06; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3261, 3057, 2925, 2854, 1714, 1664, 1631

, 1578, 1552, 1527, 1486, 1454, 1421, 1341, 1313, 1270, 1105, 958, 913, 869, 821, 795, 708, 691, 578, 545. HRMS (ESI) calcd for $C_{21}H_{18}N_6O_2[M + H]^+$ 386.1491 found 387.1577.

[0134] 实施例 91-N-乙基-4-N-2'-氯乙酰基肼-1H-吡唑[3,4-d]嘧啶的合成(简称化合物 5g)的合成

[0135]



5g

[0136] 于常压、将化合物 4 (0.3g, 1.69mmol) 和 TEA (0.51g, 5.05mmol) 在冰欲条件下依次加入到 10mL 二氯甲烷中, 搅拌一段时间, 再将已溶解在 2mL 二氯甲烷中的氯乙酰氯 (0.16g, 2.04mmol) 慢慢滴加到混合物中并继续搅拌 1.5h。反应液用 TLC 检测至反应完全后倒入到 15mL 水中, 加入二氯甲烷萃取 (3×15mL), 有机层用饱和氯化钠洗涤, 浓缩得油状物。粗产物经硅胶柱层析, 用石油醚: 丙酮 (2 : 1) 洗脱, 得到 5g。

[0137] 化合物 5g: 灰色固体, 202 ~ 204 °C 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ : 11.27 (br, 1H, NH), 8.11 ~ 8.50 (m, 2H, CH), 4.37 ~ 4.41 (m, 4H, CH₂), 1.41 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 164.75, 150.37, 148.88, 146.33, 133.19, 96.40, 41.15, 40.10, 13.37; IR (KBr, ν , cm^{-1}): 3428, 3134, 2949, 2629, 1722, 1663, 1611, 1499, 1403, 1345, 1223, 1106, 965, 884, 799, 700, 639, 527; HRMS (ESI) calcd for $C_9H_{11}N_6OCl[M + H]^+$ 254.0683 found 255.0794. 以下通过试验例来说明本发明的有益效果。下述试验例中所用的化合物 4、5a、5b、5c、5d、5e、5f、5g, 分别是由实施例 2-9 制备得到。

[0138] 试验例 1 本发明化合物抗肿瘤效果

[0139] 利用 MTT 法对化合物 4、5a、5b、5c、5d、5e、5f、5g 和阳性对照物 17-AAG (17-allylaminogeldanamycin 简称 17-AAG 是第一代格尔德霉素衍生物) 进行 Hsp90 抑制实验。

[0140] 将生长良好的人肝癌细胞 7402 和 7221 接种于 96 孔板, 7×10^3 /孔。24h 后将浓度梯度 (终浓度) 为 2 $\mu g/ml$ 、4 $\mu g/ml$ 、8 $\mu g/ml$ 、16 $\mu g/ml$ 、32 $\mu g/ml$ 和 64 $\mu g/ml$ 的试药分别加入板中, 培养 72h 之后, 加入 MTT 溶液 10 μl (5mg/ml), 37°C 作用 4h, 弃上清, 加入 DMSO 150 μl /孔, 室温振摇 30min, 测定 OD570nm 值。根据细胞增殖抑制率公式计算: 抑制率 (%) = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / 对照组 OD 值 × 100%。IC₅₀ 值利用统计软件进行计算。实验结果见表 1。

[0141] 表 1 目标化合物抗肿瘤活性测定结果

化合物 编号	IC ₅₀ 值(μg·mL ⁻¹)		化合物 编号	IC ₅₀ 值(μg·mL ⁻¹)	
	72h			72h	
	Bel-7402	SMMC-7221		Bel-7402	SMMC-7221
17-AAG	7.27	5.77	5c	>100	>100
allopurinol	--	--	5d	>64	>64
4	4.55	6.28	5f	>64	>64
5a	>64	>64	5g	46.16	31.72
5b	>100	>100			

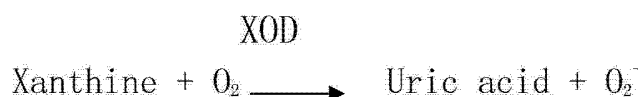
[0143] “--”：无活性值；IC₅₀ 值 >64，表示所述化合物的 IC₅₀ 超过了 64 μg·mL⁻¹，具体浓度未明确，但仍表明所述化合物对上述肿瘤有抑制作用，仅活性弱于阳性对照；IC₅₀ 值 >100，同上。

[0144] 由上述试验可知，别嘌呤对 Bel-7402、SMMC-7221 无抗肿瘤活性，而本发明化合物 4-5g，对上述肿瘤抑制活性良好，表明本发明式 I 化合物具有良好的抗肿瘤活性。其中，相对于阳性药物而言，化合物 4 与阳性药物活性相当，而化合物 5a-5g 的活性稍弱。

[0145] 试验例 2 本发明化合物对黄嘌呤氧化酶的抑制活性研究

[0146] XOD 活力测定：在黄嘌呤氧化酶的催化下，底物黄嘌呤被氧化成尿酸，即发生下列反应：

[0147]



[0148] XOD 活力由检测产物尿酸的特征吸收峰(λ=290nm)附近的光度值确定。

[0149] 实验方法，在 290nm 处用分光光度法测定。在石英比色皿中，加入缓冲溶液、底物溶液和酶溶液，25℃预温 2min，在 290nm 处测定吸光度变化值，每隔 5sec 记录一次，共测 1min，在这段时间内反应，吸光度随时间呈线性增加，斜率为反应速率(dA/min)，斜率越大，说明酶的活力越强。

[0150] 样品测定：按同样的方法，在酶促反应体系中分别加入样品溶液(5 μL, 10 μL, 15 μL, 20 μL)，25℃预温 2min，每隔 5sec 在 290nm 处纪录吸光度增长的数值，共计 1min。每个样品平行操作 3 次，分别记录反应速率，取平均值计算样品的抑制率。

[0151] 结果参见表 2。

[0152] 表 2 目标化合物对黄嘌呤氧化酶抑制活性测定结果

[0153]	化合物编号	IC ₅₀ /μg·mL ⁻¹	化合物编号	IC ₅₀ /μg·mL ⁻¹
	allopurinol	1.60	5c	47.97
			5g	>100
	4	60.18		
	5a	>100		
	5b	54.08		

[0154] 由上述实验可知,本发明式 I 化合物能够有效抑制黄嘌呤氧化酶,具有良好的抗痛风活性。

[0155] 综上所述,本发明别嘌呤醇衍生物能够有效抑制肿瘤生长,具有良好的抗肿瘤活性;它还能够有效抑制黄嘌呤氧化酶活性,可用于痛风的治疗,为治疗癌症和痛风提供了一种新的用药选择;同时,本发明化合物的制备方法简单,成本较低,收率高,具有良好的工业应用前景。