


丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用

Abstract

提供丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用。具体地提供式X化合物R<sub>a</sub>-S-S-R<sub>b</sub>或其药学上可接受的盐，所述化合物具有优异的抑制丙酮酸脱氢酶激酶活性和抗肿瘤效果。还提供了含有所述化合物的药物组合物以及在抑制丙酮酸脱氢酶激酶和抗肿瘤方面的应用。

Classifications

 **A61K31/428** Thiazoles condensed with carbocyclic rings

View 3 more classifications

CN107922366A

China

[Download PDF](#) [Find Prior Art](#) [Similar](#)

Other languages: [English](#)

**Inventor:** [李剑](#), [黄敏](#), [耿美玉](#), [刘毅夫](#), [唐帅](#), [兰小晶](#), [朱进](#)

**Current Assignee :** East China University of Science and Technology , Shanghai Institute of Materia Medica of CAS

Worldwide applications

2016 [CN](#) [WO](#)

Application CN201680047195.2A events ⓘ

2016-03-23	Application filed by East China University of Science and Technology, Shanghai Institute of Materia Medica of CAS
2018-04-17	Publication of CN107922366A
Status	Pending

**Info:** [Patent citations \(2\)](#), [Non-patent citations \(6\)](#), [Cited by \(2\)](#), [Legal events](#), [Similar documents](#), [Priority and Related Applications](#)

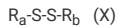
**External links:** [Espacenet](#), [Global Dossier](#), [Discuss](#)

Claims (16)

[Hide Dependent](#) ^

1. 一种式X化合物R<sub>a</sub>-S-S-R<sub>b</sub> (X)的用途，所述用途包括：
- (a)制备抑制丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)活性的药物或制剂，和/或，
- (b)制备抑制和/或治疗肿瘤细胞的药物或制剂；
- 其中，R<sub>a</sub>、R<sub>b</sub>各自独立地为具有S杂原子和N杂原子的端基团，并且所述端基团中，S杂原子和N杂原子构成“S = C-N”或“S-C = N”，并且所述的端基团中，当以-S-S-为中心时，所述N杂原子位于所述S杂原子的外侧，并且所述的各S杂原子与所述-S-S-间隔一个碳原子。
2. 如权利要求1所述的用途，其特征在于，所述的肿瘤为丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)阳性的肿瘤。
3. 如权利要求1所述的用途，其特征在于，所述的式X化合物为式X-1化合物，
- 式中，
- 各R<sub>c</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；
- 各R<sub>d</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>环烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>6-10</sub>芳基，m为0-4；
- 各R<sub>e</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；
- 并且，R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>、R<sub>e</sub>满足下列条件：
- (1)R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的的N、C和S原子共同形成环C，并且与所述S杂原子连接的为单键而与N杂原子连接的为双键；或者
- (2)R<sub>e</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的N共同形成取代或未取代的7-12元环D、或取代的5-6元环E，并且与所述S杂原子连接的为双键而与N杂原子连接的为单键；
- 所述杂环具有1-3个选自下组的杂原子：O、S、和N；
- 所述取代是指具有一个或多个选自下组的取代基：卤素、C<sub>1-10</sub>烷基、卤代C<sub>1-10</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1-10</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>烷基羟基、乙酰基、C<sub>1-10</sub>酰胺基、C<sub>1-10</sub>羧基、C<sub>5-20</sub>芳基、卤代C<sub>5-20</sub>芳基、-(L<sub>1</sub>)<sub>p</sub>-Z；
- 其中，所述各L<sub>1</sub>独立地为：-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>、-O-、-C = O、-CH<sub>2</sub>-(C<sub>1-4</sub>烷基)-；
- p为0-4，r为0-4；
- Z选自下组：C<sub>6-20</sub>芳基、C<sub>1-11</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>的酰胺基、羟基。

4. 一种式X化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，



其中， $R_a$ 、 $R_b$ 各自独立地为具有S杂原子和N杂原子的端基团，并且所述端基团中，S杂原子和N杂原子构成“S = C-N”或“S-C = N”，并且所述的端基团中，当以-S-S-为中心时，所述N杂原子位于所述S杂原子的外侧，并且所述各S杂原子与所述-S-S-间隔一个碳原子。

5. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述的式X化合物为式X-1化合物，

式中，

各 $R_c$ 分别独立地选自下组：无、取代或未取代的 $C_{1-6}$ 烷基；

各 $R_d$ 分别独立地选自下组：无、取代或未取代的 $C_{1-6}$ 烷基、取代或未取代的 $C_{6-10}$ 芳基、取代或未取代的 $C_{6-10}$ 杂芳基、取代或未取代的 $C_{6-10}$ 环烷基、 $-(CH_2)_m-C_{6-10}$ 芳基，m为0-4；

各 $R_e$ 分别独立地选自下组：无、取代或未取代的 $C_{1-6}$ 烷基；

并且， $R_c$ 、 $R_d$ 、 $R_e$ 满足下列条件：

(1) $R_c$ 、 $R_d$ 与相邻的N、C和S原子共同形成环C，并且与所述S杂原子连接的为单键而与N杂原子连接的为双键；或者

(2) $R_e$ 、 $R_d$ 与相邻的N共同形成取代或未取代的7-12元环D、或取代的5-6元环E，并且与所述S杂原子连接的为双键而与N杂原子连接的为单键；

所述杂环具有1-3个选自下组的杂原子：O、S、和N；

所述取代是指具有一个或多个选自下组的取代基：卤素、 $C_{1-10}$ 烷基、卤代 $C_{1-10}$ 烷基、 $C_{1-10}$ 烷氧基、卤代 $C_{1-10}$ 烷氧基、 $C_{1-4}$ 烷基羟基、乙酰基、 $C_{1-10}$ 酰胺基、 $C_{1-10}$ 羧基、 $C_{5-20}$ 芳基、卤代 $C_{5-20}$ 芳基、 $-(L_1)_p-Z$ ；

其中，所述各 $L_1$ 独立地为： $-(CH_2)_r$ 、 $-O-$ 、 $-C=O$ 、 $-CH_2-(C_{1-4}$ 烷基)-；

p为0-4，r为0-4；

Z选自下组： $C_{6-20}$ 芳基、 $C_{1-11}$ 烷基、 $C_{1-10}$ 的酰胺基、羟基。

6. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述取代基为 $-(L_1)_p-Z$ ，其中， $L_1$ 、p、Z的定义如权利要求5所述。

7. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于， $R_a$ 、 $R_b$ 各自相同或不同地为：

n为1-3；

$R_1$ 和 $R_2$ 各自独立地选自下组：氢、羟基、取代或未取代的 $C_{1-10}$ 羧基、取代或未取代的 $C_{1-6}$ 酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的 $C_{1-4}$ 烷基、取代或未取代的 $C_{1-10}$ 烷氧基，且 $R_1$ 和 $R_2$ 不同时为氢；

或者， $R_1$ 、 $R_2$ 共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

8. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述式X化合物为式I化合物：

式中，n、 $R_1$ 、 $R_2$ 的定义如权利要求7所述。

9. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述式X化合物为式II化合物

式中，

环A选自：取代或未取代的 $C_{5-10}$ 碳环、取代或未取代的 $C_{5-10}$ 碳杂环、取代或未取代的 $C_{6-10}$ 芳环、取代或未取代的 $C_{6-10}$ 杂芳环。

10. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述式X化合物选自下组：

11. 如权利要求4所述的化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述式X化合物选自下组：化合物1、8、9、18、19、21、22、25、26、29和33。

12. 一种药物组合物，所述药物组合物中含有

(i)权利要求4-11任一所述的式X化合物或其药学上可接受的盐；

(ii)药学上可接受的载体。

13. 一种制备式I化合物的方法I，其特征在于，包括步骤：

(I-2)在惰性溶剂中，将式B化合物与试剂D进行反应，从而形成式I化合物，其中，所述试剂D选自下组：过硫酸铵、高碘酸钠、亚硝酸钠、盐酸、双氧水、硫酸、或其组合；

(I-3)任选地对步骤(I-2)中形成的式I化合物进行分离或纯化，从而获得分离的或纯化的式I化合物，

式中，n为1-3；

$R_1$ 和 $R_2$ 各自独立地选自下组：氢、羟基、取代或未取代的 $C_{1-10}$ 羧基、取代或未取代的 $C_{1-6}$ 酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的 $C_{1-4}$ 烷基、取代或未取代的 $C_{1-10}$ 烷氧基，且 $R_1$ 和 $R_2$ 不同时为氢；

或者， $R_1$ 、 $R_2$ 共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

14. 如权利要求13所述的方法，其特征在于，所述方法I还包括步骤：

(I-1)在有机溶剂中，将式A化合物与二硫化碳进行反应，从而制得式B化合物，其中，n、 $R_1$ 、 $R_2$ 的定义如权利要求13所述。

15. 一种制备式II化合物的方法II，其特征在于，包括步骤：

(II-1)在有机溶剂中，将式C化合物与试剂D进行反应，形成式II化合物，其中所述试剂D选自下组：过硫酸铵、高碘酸钠、亚硝酸钠、盐酸、双氧水、硫酸、或其组合，式中，

环A选自：取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳环、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳杂环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环。

16. 一种非治疗性地抑制丙酮酸脱氢酶激酶活性的方法，包括步骤：

(a)将丙酮酸脱氢酶激酶与权利要求4-11任一所述的式X化合物、其光学异构体、非消旋体、外消旋体、或其药学上可接受的盐进行接触，从而抑制丙酮酸脱氢酶激酶的活性。

Description

丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用  
技术领域

本发明属于药物化学和药物治疗学领域，具体地，本发明涉及式X化合物和其在抑制丙酮酸脱氢酶激酶方面的应用。

背景技术

癌症是最严重的人类疾病之一。据世界卫生组织(WHO)统计，仅2008年就有760万人死于癌症，预计到2030年这一数字将增加至1320万。由此会带来巨大的医疗压力，并摧毁更多人的经济状况。因此，抗癌药物的研究一直是药物研发工作中的重中之重。

丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)是一种线粒体酶，能够调节丙酮酸脱氢酶复合物(PDC)的活性而后者催化了丙酮酸向乙酰辅酶A的转化，证据表明丙酮酸脱氢酶激酶可以通过磷酸化使PDC失活。PDHK有四个亚型：PDHK1-4，其中PDHK1与癌症的恶性程度紧密相关。PDHK1在多种癌症如肺癌，头颈鳞状上皮癌中都是激活的。PDHK1为原癌基因(C-MYC)和低氧诱导因子(hypoxia inducing factor, HIF)等致癌基因转录调控，以此控制癌细胞的代谢和恶性表型。已有报道称抑制PDHK可以有效地提高肿瘤细胞化疗的效果并且这具有高度的肿瘤特异性。

JX06是2015年报道的一种不可逆抑制剂，目前JX06尚未进入临床应用，基于对与ATP结合口袋毗邻一个疏水口袋的识别，JX06能够与酶结构中保守的半胱氨酸残基(C240)上的硫醇共价结合形成二硫键，通过范德华力引起R286位置的构象变换，从而阻碍ATP与酶的结合进而对PDHK产生抑制。因此，本领域迫切需要研究出新的PDHK抑制剂。

发明内容

本发明的目的在于提供一种抑制丙酮酸脱氢酶激酶活性的化合物及其应用。

本发明的第一方面，提供了一种式X化合物R<sub>a</sub>-S-S-R<sub>b</sub>(X)的用途，所述用途包括：

- (a)制备抑制丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)活性的药物或制剂，和/或，
- (b)制备抑制和/或治疗肿瘤细胞的药物或制剂；

其中，R<sub>a</sub>、R<sub>b</sub>各自独立地为具有S杂原子和N杂原子的端基团，并且所述端基团中，S杂原子和N杂原子构成“S=C-N”或“S-C=N”，并且所述的端基团中，当以-S-S-为中心时，所述N杂原子位于所述S杂原子的外侧，并且所述的各S杂原子与所述-S-S-间隔一个碳原子。

在另一优选例中，所述的肿瘤为丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)阳性的肿瘤。

在另一优选例中，所述的肿瘤选自下组：肺癌、神经母细胞癌、肝癌、结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、肾癌。

在另一优选例中，所述的式X化合物为式X-1化合物，

式中，

各R<sub>c</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；

各R<sub>d</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>环烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>6-10</sub>芳基，m为0-4；

各R<sub>e</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；

并且，R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>、R<sub>e</sub>满足下列条件：

- (1)R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的的N、C和S原子共同形成环C，并且与所述S杂原子连接的为单键而与N杂原子连接的为双键；或者
- (2)R<sub>e</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的N共同形成取代或未取代的7-12元环D、或取代的5-6元环E，并且与所述S杂原子连接的为双键而与N杂原子连接的为单键；

所述杂环具有1-3个选自下组的杂原子：O、S、和N；

所述取代是指具有一个或多个选自下组的取代基：卤素、C<sub>1-10</sub>烷基、卤代C<sub>1-10</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1-10</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>烷基羟基、乙酰基、C<sub>1-10</sub>酰胺基、C<sub>1-10</sub>羧基、C<sub>5-20</sub>芳基、卤代C<sub>5-20</sub>芳基、-(L<sub>1</sub>)p-Z；

其中，所述各L<sub>1</sub>独立地为：-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>、-O-、-C=O、-CH<sub>2</sub>-(C<sub>1-4</sub>烷基)-；

p为0-4，r为0-4；

Z选自下组：C<sub>6-20</sub>芳基、C<sub>1-11</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>的酰胺基、羟基。

在另一优选例中，所述式X化合物为式I化合物：

式中，n为1-3；

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地选自下组：氢、羟基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>羧基、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的C<sub>1-4</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>烷氧基，且R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>不同时为氢；

或者，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

在另一优选例中，所述式X化合物为式II化合物

式中，

环A选自：取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳环、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳杂环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环。

在另一优选例中，环A为取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环，较佳地，在所成吡啶的2,3位并环。

在另一优选例中，所述化合物包括本发明第二方面所述的全部化合物。

本发明的第二方面，提供一种式X化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，

R<sub>a</sub>-S-S-R<sub>b</sub> (X)

其中，R<sub>a</sub>、R<sub>b</sub>各自独立地为具有S杂原子和N杂原子的端基团，并且所述端基团中，S杂原子和N杂原子构成“S=C-N”或“S-C=N”，并且所述的端基团中，当以-S-S-为中心时，所述N杂原子位于所述S杂原子的外侧，并且所述的各S杂原子与所述-S-S-间隔一个碳原子。

在另一优选例中，所述的式X化合物为式X-1化合物，

式中，

各R<sub>c</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；

各R<sub>d</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>环烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>6-10</sub>芳基，m为0-4；

各R<sub>e</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；

并且，R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>、R<sub>e</sub>满足下列条件：

(1)R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的的N、C和S原子共同形成环C，并且与所述S杂原子连接的为单键而与N杂原子连接的为双键；或者

(2)R<sub>e</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的N共同形成取代或未取代的7-12元环D、或取代的5-6元环E，并且与所述S杂原子连接的为双键而与N杂原子连接的为单键；

所述杂环具有1-3个选自下组的杂原子：O、S、和N；

所述取代是指具有一个或多个选自下组的取代基：卤素、C<sub>1-10</sub>烷基、卤代C<sub>1-10</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1-10</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>烷基羟基、乙酰基、C<sub>1-10</sub>酰胺基、C<sub>1-10</sub>羧基、C<sub>5-20</sub>芳基、卤代C<sub>5-20</sub>芳基、-(L<sub>1</sub>)<sub>p</sub>-Z；

其中，所述各L<sub>1</sub>独立地为：-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>、-O-、-C=O、-CH<sub>2</sub>-(C<sub>1-4</sub>烷基)-；

p为0-4，r为0-4；

Z选自下组：C<sub>6-20</sub>芳基、C<sub>1-11</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>的酰胺基、羟基。

在另一优选例中，所述环C为二环，较佳地，环C选自下组：5-10元碳杂环并5-10元碳环、5-10元碳杂环并5-10元碳杂环、5-10元碳杂环并5-10元芳环、5-10元碳杂环并5-10元芳杂环。

在另一优选例中，所述环D为二环，较佳地为5-7元环并5-7元环，更佳地环D选自下组：六元环并六元环，更佳地为六元杂环并苯环、六元杂环并六元碳环、萘基。

在另一优选例中，所述取代基为-(L<sub>1</sub>)<sub>p</sub>-Z。

在另一优选例中，所述L<sub>1</sub>选自下组：-O-CH<sub>2</sub>-、-O-CO-CH<sub>2</sub>-。

在另一优选例中，所述Z为C<sub>6-20</sub>芳基或C<sub>1-10</sub>的酰胺基。

在另一优选例中，R<sub>e</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的N形成的环优选为二环。

在另一优选例中，所述环C、D和E为饱和或不饱和的、芳环或非芳环的、杂环或非杂环的。

在另一优选例中，所述环E为取代的5-6元环。

在另一优选例中，所述环E为取代的5-6元杂环。

在另一优选例中，所述环D为取代或未取代的7-10元环。

在另一优选例中，R<sub>a</sub>、R<sub>b</sub>各自相同或不同地为：

n为1-3；

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地选自下组：氢、羟基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>羧基、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的C<sub>1-4</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>烷氧基，且R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>不同时为氢；

或者，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

在另一优选例中，所述式X化合物为式I化合物：

式中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>的定义如上所述。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>共同形成饱和或不饱和的6元苯环或碳环。

在另一优选例中，n=1。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>为取代或未取代的C<sub>1-10</sub>羧基，较佳的n为1，R<sub>2</sub>为氢。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>为酯基，较佳的R<sub>1</sub>为甲酯，n为1，R<sub>2</sub>为氢。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>为甲基，较佳的n为1，R<sub>2</sub>为氢。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地为取代或未取代的羟甲基或H。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地为C<sub>1-10</sub>烷基取代的羟甲基或H，较佳地所述C<sub>1-10</sub>烷基选自下组：甲基、乙基、正丁基、正癸基。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地为N，N二甲酰胺基取代的羟甲基或H。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地为乙酰基取代的羟甲基或H，n为2。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地为取代或未取代的羟甲基或H，较佳地所述取代基选自下组：苯基、对甲苯基、对甲氧基苯基、萘基。

在另一优选例中，R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地为-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH取代的羟甲基。

在另一优选例中，所述式X化合物为式II化合物

式中，

环A选自：取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳环、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳杂环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环。

在另一优选例中，环A为取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环，较佳地，在所成吡啶的2,3位并环。

在另一优选例中，环A为饱和的C<sub>5-7</sub>碳环。

在另一优选例中，环A为取代或未取代的6元碳杂环，较佳地为含一个氧的杂环，且所含氧原子在N的对位。

在另一优选例中，环A为取代或未取代的6元碳杂环，较佳地，所述取代基选自甲基、二甲基、C<sub>1-10</sub>羧基、乙酯基，较佳地，取代位置在N原子的对位。

在另一优选例中，所述式X化合物选自下组：

在另一优选例中，所述式X化合物选自下组：化合物1、8、9、18、19、21、22、25、26、29和33。

在另一优选例中，所述式I化合物选自下组：

在另一优选例中，所述式II化合物选自下组：

本发明的第三方面，提供了一种药物组合物，所述药物组合物中含有

(i)本发明第二方面所述的式X化合物或其药学上可接受的盐；

(ii)药学上可接受的载体。

在另一优选例中，所述药物组合物中含有0.001-99wt%，较佳地0.1-90wt%，更佳地1-80wt%的式X化合物或其药学上可接受的盐，按组合物的总重量计。

在另一优选例中，所述的药物组合物的剂型为口服剂型、或注射剂。

在另一优选例中，所述口服剂型选自：片剂、胶囊剂、膜剂、颗粒剂。

在另一优选例中，所述口服剂型为缓释型或非缓释型剂型。

在另一优选例中，所述的药物组合物还包括其他活性成分，所述活性成分选自：顺铂、紫杉醇、或抗肿瘤的抗体。

本发明的第四方面，提供了一种制备式I化合物的方法I，包括步骤：

(I-2)在惰性溶剂中，将式B化合物与试剂D进行反应，从而形成式I化合物，其中，所述试剂D选自下组：过硫酸铵、高碘酸钠、亚硝酸钠、盐酸、双氧水、硫酸、或其组合；

(I-3)任选地对步骤(I-2)中形成的式I化合物进行分离或纯化，从而获得分离的或纯化的式I化合物；

式中，n为1-3；

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地选自下组：氢、羟基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>羧基、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的C<sub>1-4</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>烷氧基，且R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>不同时为氢；

或者，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

在另一优选例中，在步骤(I-3)，所述的分离包括重结晶。

在另一优选例中，在步骤(I-2)中，所述式B化合物与试剂D的摩尔百分比为1：0.1-3，较佳地为1：0.5-2.5，更佳地为1：1.0-2.0。

在另一优选例中，在步骤(I-2)中，在-5至50℃下(优选20-30℃)反应；反应5-30h(较佳地为10-25h)，和/或在搅拌条件下进行反应。

在另一优选例中，所述方法I还包括步骤：

(I-1)在有机溶剂中，将式A化合物与二硫化碳进行反应，从而制得式B化合物，其中，n、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>的定义如前所述。

在另一优选例中，所述(I-1)中，所述有机溶剂选自下组：四氢呋喃、甲基四氢呋喃、水、或其组合。

在另一优选例中，在步骤(I-1)中，所述式A化合物与二硫化碳的摩尔百分比为1：0.5-2.5，较佳地为1：1.0-2.0，更佳地为1.1-1.8。

在另一优选例中，在步骤(I-1)中，在20-25℃下进行反应；反应1-12h(较佳地为2-10h)；和/或在搅拌条件下进行反应。

本发明的第五方面，提供了一种制备式II化合物的方法II，包括步骤：

(II-1)在有机溶剂中，将式C化合物与试剂D进行反应，形成式II化合物，其中所述试剂D选自下组：过硫酸铵、高碘酸钠、亚硝酸钠、盐酸、双氧水、硫酸、或其组合，式中，

环A选自：取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳环、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳杂环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环。

在另一优选例中，所述式C化合物与试剂D的摩尔百分比为1：0.1-3，较佳地为1：0.5-2.5，更佳地为1：1.0-2.0。

在另一优选例中，在步骤(II-1)中，在-5至50℃下(优选20-30℃)反应；反应5-30h(较佳地为10-25h)，和/或在搅拌条件下进行反应。

本发明的第六方面，提供了一种非治疗性地抑制丙酮酸脱氢酶激酶活性的方法，包括步骤：

(a)将丙酮酸脱氢酶激酶与本发明第二方面所述的式X化合物、其光学异构体、非消旋体、外消旋体、或其药学上可接受的盐进行接触，从而抑制丙酮酸脱氢酶激酶的活性。

在另一优选例中，在步骤(a)中，将式X化合物、其光学异构体、非消旋体、外消旋体、或其药学上可接受的盐添加到细胞培养体系中，从而使其与丙酮酸脱氢酶激酶进行接触。

在另一优选例中，所述的细胞为正常细胞或肿瘤细胞。

在另一优选例中，所述的细胞为哺乳动物细胞。

在另一优选例中，所述的细胞为人细胞。

本发明的第七方面，提供了一种抑制丙酮酸脱氢酶激酶或治疗肿瘤的方法，所述的方法包括：给需要的对象施用本发明第二方面所述的式X化合物、其光学异构体、非消旋体、外消旋体、或其药学上可接受的盐。

在另一优选例中，所述的对象包括人和非人哺乳动物(如啮齿动物和灵长动物)。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再——累述。

附图说明

图1显示了化合物分别在1μM(上图)和0.3μM(下图)时的分子水平酶活(A549 细胞)。

图2显示了化合物19、21在不同浓度下对A549细胞活性氧(ROS)的影响。

图3显示了化合物19、21不同浓度下对A549细胞外乳酸释放的影响。

具体实施方式

本申请发明人经过广泛而深入地研究，首次意外地发现了式X化合物可以显著地抑制丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)的活性，活化线粒体丙酮酸脱氢酶复合体(PDC)，促进细胞质依赖的无氧糖酵解向线粒体依赖的糖氧化转化，式X化合物在抑制肿瘤细胞的增殖实验中也取得良好结果。在此基础上，完成了本发明。

术语

如本文所用，术语“本发明化合物”、或“化合物”指式X所示的化合物、或其消旋体、对应异构体、或其药学上可接受的盐。应理解，该术语还包括上述组分的混合物。

基团

术语“C<sub>1-6</sub>烷基”指具有1-6个碳原子的直链或支链烷基，例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、或类似基团。

术语“C<sub>1-6</sub>烷氧基”指具有1-6个碳原子的直链或支链烷氧基，例如甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、或类似基团。

“环烷基”指3至8元全碳单环、全碳5元/6元或6元/6元稠合环或多环稠合环基团，其中一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的π电子系统。环烷基实例有环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环己二烯基、金刚烷基、环庚烷基、环庚三烯基等。

“5-7元单环”指具有5-7元的单环(仅有一个环结构)，所述的单环可以是饱和或不饱和环，如环烷基、环烯基、芳环。

“碳环”指环骨架皆为碳原子的饱和或不饱和环，其中一个或多个环可以含有一个或多个双键。

“杂环”指环骨架上至少存在一个选自下组的杂原子的饱和或不饱和环：N、S、O或P，其中一个或多个环可以含有一个或多个双键。

“芳环”指具有共轭的π电子系统的芳环，包括碳环芳基、杂芳基。

“杂芳基”指具有1个杂原子作为环原子，其余的环原子为碳的芳基，杂原子包括氧、硫、氮。所述环可以是5元或6元或7元环。杂芳基基团的实例包括但不限于咪唑基、噻吩基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、吡啶基、吡咯、N-烷基吡咯基。

“烷氧基”指-O(烷基)。代表性实例包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基等。

术语“卤素”是指氟、氯、溴、碘。术语“卤代的”是指氟代的、氯代的、溴代的、碘代的。

在本文中，除特别说明之处，本发明的各个基团可以未取代的或取代的，所述“取代”指基团上的一个或多个氢原子被选自下组的取代基取代：C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、卤代C<sub>1-10</sub>烷基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1-10</sub>烷氧基、卤素、羟基、C<sub>1-10</sub>羧基(-COOH)、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>醛基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>酰基、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>酯基、氨基、苯基、C<sub>1-4</sub>烷基羟基、C<sub>1-10</sub>酰胺基、C<sub>5-20</sub>芳基、卤代C<sub>5-20</sub>芳基、氰基；所述的苯基包括未取代的苯基或具有1-3个取代基的取代苯基，所述取代基选自：卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、氰基、OH、硝基、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>环烷基、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷氧基、氨基。

式X化合物

本发明提供了一种式X化合物、其光学异构体或其药学上可接受的盐，

R<sub>a</sub>-S-S-R<sub>b</sub> (X)

其中，R<sub>a</sub>、R<sub>b</sub>各自独立地为具有S杂原子和N杂原子的端基团，并且所述端基团中，S杂原子和N杂原子构成“S=C-N”或“S-C=N”，并且所述的端基团中，当以-S-S-为中心时，所述N杂原子位于所述S杂原子的外侧，并且所述的各S杂原子与所述-S-S-间隔一个碳原子。

在另一优选例中，所述的式X化合物为式X-1化合物，

式中，

各R<sub>c</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；

各R<sub>d</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳基、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>环烷基、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C<sub>6-10</sub>芳基，m为0-4；

各R<sub>e</sub>分别独立地选自下组：无、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>烷基；

并且，R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>、R<sub>e</sub>满足下列条件：

(1)R<sub>c</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的的N、C和S原子共同形成环C，并且与所述S杂原子连接的为单键而与N杂原子连接的为双键；或者

(2)R<sub>e</sub>、R<sub>d</sub>与相邻的N共同形成取代或未取代的7-12元环D、或取代的5-6元环E，并且与所述S杂原子连接的为双键而与N杂原子连接的为单键；

所述杂环具有1-3个选自下组的杂原子：O、S、和N；

所述取代是指具有一个或多个选自下组的取代基：卤素、C<sub>1-10</sub>烷基、卤代C<sub>1-10</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>烷氧基、卤代C<sub>1-10</sub>烷氧基、C<sub>1-4</sub>烷基羟基、乙酰基、C<sub>1-10</sub>酰胺基、C<sub>1-10</sub>羧基、C<sub>5-20</sub>芳基、卤代C<sub>5-20</sub>芳基、-(L<sub>1</sub>)p-Z；

其中，所述各L<sub>1</sub>独立地为：-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>、-O-、-C=O、-CH<sub>2</sub>-(C<sub>1-4</sub>烷基)-；

p为0-4，r为0-4；

Z选自下组：C<sub>6-20</sub>芳基、C<sub>1-11</sub>烷基、C<sub>1-10</sub>的酰胺基、羟基。

在另一优选例中，所述环C为二环，较佳地，环C选自下组：5-10元碳杂环并5-10元碳环、5-10元碳杂环并5-10元碳杂环、5-10元碳杂环并5-10元芳环、5-10元碳杂环并5-10元芳杂环。

式I化合物

如本文所用，式I化合物如下所示：

式中，

n为1-3；

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地选自下组：氢、羟基、C<sub>1-10</sub>羧基、C<sub>1-6</sub>酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的C<sub>1-4</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>烷氧基，且R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>不同时为氢；

或者，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

式II化合物

如本文所用，式II化合物如下所示：

式中，

环A选自：取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳环、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳杂环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环。

丙酮酸脱氢酶激酶

丙酮酸脱氢酶激酶即Pyruvate Dehydrogenase Kinase(PDHK)，是一种线粒体酶，能够抑制丙酮酸脱氢酶复合物(PDC)，是葡萄糖氧化的关键控制酶，可以阻止丙酮酸转化为乙酰辅酶A，而后者是三羧酸循环的底物。PDHK的活化能导致糖酵解和其下游糖氧化的脱节。在人类细胞中现已证实存在四个亚型的PDHK分别为PDHK1-4，其中PDHK1与癌症的恶性程度紧密相关。PDHK1在多种癌症如肺癌，头颈鳞状上皮癌中都是激活的。PDHK1为原癌基因(C-MYC)和低氧诱导因子(hypoxia inducing factor，HIF)等致癌基因转录调控，以此控制癌细胞的代谢和恶性表型。

PDHK1在人体癌细胞内一般为各种致癌的酪氨酸激酶所磷酸化。抑制PDHK可以有效地提高肿瘤细胞化疗的效果并且具有高度的肿瘤特异性。除了上述代谢抗癌机制，还有研究表明PDC的活化导致活性氧应激(reactive oxygen species，ROS)增加并诱导肿瘤细胞的凋亡。因此，抑制PDHK可以作为杀伤肿瘤细胞的靶点。

药學上可接受的盐

本发明还包括式X化合物的药學上可接受的盐。

术语“药學上可接受的盐”指本发明化合物与酸或碱所形成的适合作药物的盐。药學上可接受的盐包括无机盐和有机盐。一类优选的盐是本发明化合物与酸形成的盐。适合形成盐的酸包括但不限于：盐酸、氢溴酸、氢氟酸、硫酸、硝酸、磷酸等无机酸，甲酸、乙酸、丙酸、草酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、苦味酸、甲磺酸、苯甲磺酸，苯磺酸等有机酸；以及天冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸。

制备方法

本发明中制备反应步骤均采用现有技术中本领域技术人员熟知的方法，对各个步骤的反应参数没有特别限制。本领域技术人员可以根据不同的最终预期的化合物，对反应式中涉及的各步骤反应的反应物、反应条件等适当作出调整。

本发明提供了一种制备式I化合物的方法I，包括步骤：

(I-2)在惰性溶剂中，将式B化合物与试剂D进行反应，从而形成式I化合物，其中，所述试剂D选自下组：过硫酸铵、高碘酸钠、亚硝酸钠、盐酸、双氧水、硫酸、或其组合；

(I-3)任选地对步骤(I-2)中形成的式I化合物进行分离或纯化，从而获得分离的或纯化的式I化合物；

式中，n为1-3；

R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>各自独立地选自下组：氢、羟基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>羧基、取代或未取代的C<sub>1-6</sub>酯基、取代或未取代的羟甲基、取代或未取代的C<sub>1-4</sub>烷基、取代或未取代的C<sub>1-10</sub>烷氧基，且R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>不同时为氢；

或者，R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>共同形成饱和或不饱和的5-8元芳环或碳环。

在另一优选例中，在步骤(I-3)，所述的分离包括重结晶。

在另一优选例中，在步骤(I-2)中，所述式B化合物与试剂D的摩尔百分比为1：0.1-3，较佳地为1：0.5-2.5，更佳地为1：1.0-2.0。

在另一优选例中，在步骤(I-2)中，在-5至50℃下(优选20-30℃)反应；反应5-30h(较佳地为10-25h)，和/或在搅拌条件下进行反应。

在另一优选例中，所述方法还包括步骤：

(I-1)在有机溶剂中，将式A化合物与二硫化碳进行反应，从而制得式B化合物，其中，n、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>的定义如前所述。

在另一优选例中，所述(I-1)中，所述有机溶剂选自下组：四氢呋喃、甲基四氢呋喃、水、或其组合。

在另一优选例中，在步骤(I-1)中，所述式A化合物与二硫化碳的摩尔百分比为1：0.5-2.5，较佳地为1：1.0-2.0，更佳地为1.1-1.8。

在另一优选例中，在步骤(I-1)中，在20-25℃下进行反应；反应1-12h(较佳地为2-10h)；和/或在搅拌条件下进行反应。

本发明还提供了一种制备式II化合物的方法II，包括步骤：

(II-1)在有机溶剂中，将式C化合物与试剂D进行反应，形成式II化合物，其中所述试剂D选自下组：过硫酸铵、高碘酸钠、亚硝酸钠、盐酸、双氧水、硫酸、或其组合，式中，

环A选自：取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳环、取代或未取代的C<sub>5-10</sub>碳杂环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>芳环、取代或未取代的C<sub>6-10</sub>杂芳环。

在另一优选例中，所述式C化合物与试剂D的摩尔百分比为1：0.1-3，较佳地为1：0.5-2.5，更佳地为1：1.0-2.0。

在另一优选例中，在步骤(II-1)中，在-5至50℃下(优选20-30℃)反应；反应5-30h(较佳地为10-25h)，和/或在搅拌条件下进行反应。

在另一优选例中，式I化合物的制备方法包括步骤：

将取代的吗啉(n = 1)或高吗啉(n = 2)和适量的二硫化碳，溶于四氢呋喃中，室温下搅拌反应10-20小时。向反应体系中加入适量的过硫酸铵水溶液，室温搅拌10-20小时。有机层旋干后用乙酸乙酯重结晶或经硅胶柱层析后得到题述化合物。其中取代的吗啉或高吗啉为购买或合成(见具体实施例)。

在另一优选例中，式II化合物的制备方法包括步骤：

将并环的2-巯基噻唑溶于四氢呋喃中，然后加入适量的过硫酸铵水溶液，室温搅拌10-20小时。有机层旋干后用乙酸乙酯重结晶或经硅胶柱层析后得到标题化合物。其中取代的2-巯基噻唑为购买或合成(见具体实施例)。

组合物和施用法

本发明还提供了一种用于抑制丙酮酸脱氢酶激酶的组合物。所述的组合物包括(但不限于)：药物组合物、食品组合物、膳食补充剂、饮料组合物等。

在本发明中，所述的药物组合物可直接用于疾病治疗，例如，用于抗肿瘤方面的治疗。在使用本发明药物制剂时，还可同时使用其他治疗剂，如抗肿瘤的药物等。

本发明还提供了一种药物组合物，它含有安全有效量的本发明化合物以及药学上可接受的载体或赋形剂。这类载体包括(但不限于)：盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、粉剂、及其组合。药物制剂应与给药方式相匹配。

以药物组合物为例，本发明的组合物可以被制成针剂形式，例如用生理盐水或含有葡萄糖和其他辅剂的水溶液通过常规方法进行制备。诸如片剂和胶囊之类的药物组合物，可通过常规方法进行制备。药物组合物如针剂、溶液、片剂和胶囊宜在无菌条件下制造。本发明的药物组合也可以被制成粉剂用于雾化吸入。活性成分的给药量是治疗有效量，例如每天约1微克/千克体重-约5毫克/千克体重。此外，本发明细胞自噬抑制剂还可与其他治疗剂一起使用。

对于本发明的药物组合物，可通过常规的方式施用于所需的对象(如人和非人哺乳动物)。代表性的施用方式包括(但不限于)：口服、注射、雾化吸入等。

使用药物组合物时，是将安全有效量的药物施用于哺乳动物，其中该安全有效量通常至少约10微克/千克体重，而且在大多数情况下不超过约8毫克/千克体重，较佳地该剂量是约10微克/千克体重-约1毫克/千克体重。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

本发明的主要优点在于：

- (1)提供了一类新型式X化合物，其可用于(a)制备抑制丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK)活性的药物或制剂，和/或，(b)制备抑制和/或治疗肿瘤细胞的药物或制剂；
- (2)本发明化合物结果简单，制备工艺简洁，生产成本低；
- (3)本发明化合物体内外抗肿瘤机制明确、药效显著。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数按重量计算。

实施例1双(4-(2-(甲氧基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

将2.3g化合物1-1溶于50mL甲醇，在氮气保护下，加入600mg甲醇钠，在回流温度下加热过夜，待体系冷至室温后，用200mL乙酸乙酯和200mL水分层，有机相经硅胶柱层析得到化合物1-2 1.5g，将化合物1-2溶于50mL甲醇，加入50mg钨碳(10%)，氢气还原(1atm)过夜，过滤后旋干得到0.85g化合物1-3，直接加入20mLTHF和0.5g二硫化碳于室温下搅拌，将2g过硫酸铵溶于10mL水中，于10小时后加入，继续搅拌过夜，将反应体系用200mL乙酸乙酯和200mL水分层后有机相旋干，用1:3的乙酸乙酯和石油醚柱层析分离得到1g化合物1产率47%(依照化合物1-1计算)。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.60-4.40(m,4H),4.11-4.00(m,2H),3.85-3.7(m,4H),3.65-3.42(m,6H),3.42-3.39(s,6H),3.39-3.10(m,2H)；HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>:412.0619，测量值：412.0618

实施例2双(4-(2-(苯酚基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

将1g化合物1-1溶于50mLDMF中，在氮气保护下，加入0.35g氯化钠(60%)，在100℃下加热过夜，待体系冷至室温后，用200mL乙酸乙酯和200mL水分层，有机相经硅胶柱层析得到化合物2-2 0.65g，将化合物2-2溶于50mL甲醇，加入50mg钨碳(10%)，氢气还原(1atm)过夜，过滤后旋干得到0.46g化合物2-3，直接加入20mLTHF和0.4g二硫化碳于室温下搅拌，将1g过硫酸铵溶于10mL水中于10小时后加入，继续搅拌过夜，将反应体系用200mL乙酸乙酯和200mL水分层后有机相旋干，用1:4的乙酸乙酯和石油醚柱层析分离得到0.4g化合物2产率63%(依照化合物2-3计算)

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ7.34-7.27(m,5H),7.02-6.90(m,5H),6.05-4.45(m,4H),4.45-3.03(m,14H)；HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:559.0824,测量值：559.0823

实施例3双(4-(2-(对甲氧基苯酚基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例2，不同之处在于：将对甲苯酚换成对甲氧基苯酚，得到0.09克黄色固体(化合物3)，收率是40%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ6.91-6.79(m,8H),7.02-6.90(m,5H),5.80-4.21(m,4H),3.91-3.79(m,2H),3.77(s,6H),3.69-3.27(m,4H)；HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:619.1035,测量值：619.1037

实施例4双(4-(2-(α-萘酚基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备



同实施例2，不同之处在于：将对甲苯酚换成α-萘酚，得到0.13克黄色固体(化合物4)，收率是53%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ8.33-8.18(m,2H),7.85-7.75(m,2H),7.57-7.42(m,6H),7.41-7.32(m,2H),6.89-6.68(m,2H),5.88-4.39(m,4H),4.37-4.11(m,8H),3.89-3.39(m,6H);  
HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M+H]<sup>+</sup>:659.1137,测量值: 659.1141

实施例5双(4-(2-(甲氧基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例1，不同之处在于：将2位氯甲基取代的N-苄基吗啉(1-1)换成2位氯甲基取代的N-苄基高吗啉，得到0.05克黄色固体(化合物5)，收率是36%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.21-5.10(m,1H),4.92-4.80(m,1H),4.79-4.68(m,1H),4.27-4.08(m,3H),3.99-3.45(m,12H),3.42(s,3H),3.39(s,3H),2.51-1.98(m,4H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>:440.0932,测量值: 440.0930

实施例6双(4-(2-(对甲基苯酚基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例2，不同之处在于：将2位氯甲基取代的N-苄基吗啉换成2位氯甲基取代的N-苄基高吗啉，得到0.04克黄色固体(化合物6)，收率是31%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ7.15-7.01(m,4H),6.90-6.78(m,4H),5.29-5.20(m,1H),5.05-4.81(m,1H),4.81-4.69(m,1H),4.38-4.11(m,5H),4.11-3.99(m,4H),3.99-3.90 (m,4H),3.90-3.50(m,5H),2.53-2.37(m,1H),2.37-2.32(m,1H),2.28(S,6H),2.24-2.14(m,1H),2.14-2.00(m,1H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:615.1450,测量值: 615.1456

实施例7双(4-(2-(苯酚基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例6，不同之处在于：将对甲苯酚换成苯酚，得到0.03克黄色固体(化合物7)，收率是43%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ7.33-7.21(m,4H),7.04-6.86(m,6H),5.32-5.21(m,1H),5.06-4.83(m,1H),4.83-4.70(m,1H),4.35-4.14(m,5H),4.12-4.04(m,4H),4.02-3.83(m,3H),3.77-3.54(m,5H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:587.1134,测量值: 587.1135

实施例8双(4-(2-(乙氧基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

将2g 2位氯甲基取代的N-苄基吗啉溶于10mL甲酰胺和2mL水中，加热至200℃搅拌过夜，冷却后加入过量的氨水，用200mL乙酸乙酯萃取后旋干得1.3g化合物8-1，将其溶于30mLDMF，加入0.8g氯化钠(60%)并2g碘乙烷，在80℃下加热5小时，用200mL乙酸乙酯和100mL水分层，有机相柱层析分离后得到0.9g化合物8-2，直接溶于30mL甲醇加入0.05g钯碳后于1atm下加氢还原10小时，旋干后直接加入20mLTHF和0.5g二硫化碳于室温下搅拌，将2g过硫酸铵溶于10mL水中于10小时后加入，继续搅拌过夜，将反应体系用200mL乙酸乙酯和200mL水分层后有机相旋干，用1:3的乙酸乙酯和石油醚柱层析分离得到0.5g化合物8收率为36%(依照化合物8-1计算)。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.61-4.61(m,4H),4.10-4.00(m,2H),3.86-3.71(m,1H),3.66-3.26(m,12H),1.23(t,J = 7.2Hz,6H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>:440.0932,测量值: 440.0936

实施例9双(4-(2-(乙酰氧基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

将0.5g 2位羟甲基取代的N-苄基吗啉溶于10mL二氯甲烷中，加入和0.5g三乙胺，降温至0℃，将0.25g乙酰氯滴入，回到室温，搅拌过夜，加入100mL二氯甲烷和50mL水分层，有机层旋干，柱层析得到0.45g化合物10-1，用与实施例9同样的方法最后得到0.22g化合物9，收率40%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.36-4.79(m,4H),4.25-4.16(m,4H),4.10-4.03(m,2H),3.91-3.83(m,1H),3.82-3.74(m,2H),3.64-3.48(m,2H),3.45-3.25(m,2H),2.12(s,6H);  
HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>:468.0517,测量值: 468.0519

实施例10双(4-(2-羟甲基吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

以实施例8的方法得到2位羟甲基取代的N-苄基吗啉为原料，在甲醇中用钯碳 加氢脱苄，得到2位羟甲基取代的吗啉，用与实施例1同样的方法得到0.1g化合物10，收率60%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.67-4.22(m,4H),4.11-4.00(m,2H),3.84-3.74(m,5H),3.72-3.62(m,3H),3.61-3.30(m,4H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:407.0198,测量值: 407.0205

实施例11双(4-(2-(二甲氨基甲酸基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

以2位羟甲基取代的N-苄基吗啉为原料，经钯碳加氢，并用叔丁氧基保护N后得到化合物11-1，将0.5g化合物11-1溶于10mL THF并降温至-78℃加入1当量的正丁基锂，1小时后再加入1.2当量的二甲氨基甲酸酐，并缓慢回到室温，得到0.6g化合物12-2，将0.6g化合物11-2溶于5mLTFA中室温搅拌1小时，旋干后用碳酸钾在甲醇中游离得0.3g化合物11-3，之后用与实施例8同样的方法最后得到0.12g化合物11，收率20%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.64-4.61(m,4H),4.26-4.02(m,6H),3.82-3.79(m,2H),3.76(t,J = 11.2Hz 2H),3.64-3.15(m,4H), 2.94(s,12H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:549.0940,测量值: 549.0943

实施例12双(4-(2-(乙氧基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例8，不同之处在于：将2位氯甲基取代的N-苄基吗啉换成2位氯甲基取代的N-苄基高吗啉，得到0.11克黄色油状物(化合物12)，收率是36%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.21-5.11(m,1H),4.91-4.82(m,1H),4.77-4.67(m,1H),4.27-4.10(m,3H),3.96-3.45(m,16H),2.51-2.35(m,1H),2.35-2.24(m,1H),2.24-2.14(m,1H),2.14-2.03(m,3.5H),1.26-1.17(m,6H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>:468.1245,测量值: 468.1246

实施例13双(4-(2-(正丁氧基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例12，不同之处在于：将碘乙烷换成正溴丁烷，得到0.09克黄色油状物(化合物13)，收率是30%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.22-5.12(m,1H),4.91-4.80(m,1H),4.78-4.68(m,1H),4.27-4.05(m,3H),4.00-3.74(m,16H),3.66-3.40(m,12H),2.51-2.36(m,1H),2.33-2.23(m,1H),2.23-2.12(m,1H),2.10-1.96(m,1H),1.63-1.56(m,4H),1.42-1.32(m,4H),0.97-0.87(m,6H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>22</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:547.1763,测量值: 547.1774

实施例14双(4-(2-(正癸氧基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例12，不同之处在于：将碘乙烷换成正溴癸烷，得到0.14克黄色油状物(化合物14)，收率是33%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.21-5.10(m,1H),4.92-4.79(m,1H),4.79-4.67(m,1H),4.29-4.02(m,3H),4.02-3.74(m,4H),3.74-3.37(m,12H),2.50-2.34(m,1H),2.34-2.23(m,1H),2.23-2.11(m,1H),2.11-1.96(m,1H),1.65-1.51(m,4H),1.35-1.22(m,28H),0.88(t,J = 8Hz,6H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>34</sub>H<sub>64</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:715.3641,测量值: 715.3645

实施例15双(4-(2-(正癸氧基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例12，不同之处在于：将碘乙烷换成苄基2-溴乙基醚，得到0.04克黄色油状物(化合物15)，收率是19%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.22-5.11(m,1H),4.91-4.80(m,1H),4.78-4.65(m,1H),4.26-4.08(m,3H),4.01-3.40(m,23H),2.51-2.37(m,1H),2.33-2.24(m,1H),2.22-2.10(m,1H),2.10-2.00(m,1H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:523.1035,测量值: 523.1041

实施例16双(4-(2-羟甲基高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例10，不同之处在于：将2位氯甲基取代的N-苄基吗啉换成对2位氯甲基取代的N-苄基高吗啉，得到0.05克黄色油状物(化合物16)，收率是23%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.08-4.97(m,1H),4.87-4.76(m,1H),4.70-4.60(m,1H),4.25-4.12(m,3H),4.07-3.41(m,12H),2.51-2.37(m,1H),2.35-2.26(m,1H),2.24-2.14(m,1H),2.02-1.94(m,1H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:435.0511,测量值: 435.0518

实施例17双(4-(2-(二甲氨基甲酸基甲基)高吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例11，不同之处在于：将2位羟甲基取代的N-苄基吗啉换成2位羟甲基取代的N-苄基高吗啉，得到0.04克黄色固体(化合物17)，收率是25%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.28-5.18(m,1H),4.92-4.80(m,1H),4.78-4.67(m,1H),4.33-3.97(m,8H),3.96-3.72(m,3H),3.68-3.39(m,4H),2.92(s,12H),2.49-2.35(m,1H),2.35-2.23(m,1H),2.23-2.12(m,1H),2.12-1.98(m,1H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:577.1253,测量值: 577.1262

实施例18双(4-(R-3-(乙氧基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例8，不同之处在于：将2位羟甲基取代的N-苄基吗啉(化合物8-1)换成R型的3位羟甲基取代的N-苄基吗啉(化合物18-1)，得到0.07克黄色固体(化合物18)，收率是35%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.80-4.41(m,4H),4.15-4.09(m,2H),4.00(dd,J = 12.0,4.0Hz,2H),3.93-3.30(m,14H),1.21(t,J = 6.8Hz,6H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,440.0932,测量值: 440.0931

实施例19双(4-(R-3-(甲氧基甲基)吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例1，不同之处在于：将2位氯甲基取代的N-苄基吗啉(化合物1-1)换成R型的3位氯甲基取代的N-苄基吗啉(化合物19-1)，得到0.15克黄色油状物(化合物19)，收率是39%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.80-4.48(m,4H),4.17-4.06(m,2H),4.00(dd,J = 12.0,4.0Hz,2H),3.90-3.47(m,10H),3.43(s,6H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,412.0619,测量值: 412.0621

实施例20双(4-(R-3-羟甲基吗啉)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例10，不同之处在于：将2位羟甲基取代的吗啉换成R型的3位羟甲基取代的吗啉，得到0.07克黄色油状物(化合物20)，收率是40%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.91-4.50(m,4H),4.22-3.94(m,8H),3.80-3.73(m,2H),3.72-3.46(m,4H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:407.0198,测量值: 407.0197

实施例21双(4-高吗啉基硫代羰基)化二硫的制备

将1g高吗啉，1.5g二硫化碳，溶于50mL四氢呋喃中，在室温搅拌反应10小时。然后向反应体系中加入20mL 2.5g过硫酸铵的水溶液，室温搅拌10小时。有机层旋干后用乙酸乙酯重结晶后得到1.4g化合物21，产率82%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ4.42-4.25(m,7H),4.16-3.97(m,2H),3.93-3.70(m,7H),2.31-2.21(m,2H),2.18-2.06(m,2H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,352.0408,测量值: 352.0405

实施例22双(4-(2-甲基)吗啉基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例21，不同之处在于：将高吗啉换成2位甲基取代的吗啉，得到0.2克化合物22，收率是76%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.63-4.65(m,4H),4.10-3.92(m,2H),3.88-3.65(m,4H),3.62-3.36(m,2H),3.32-2.94(m,2H),1.27(s,3H),1.26(s,3H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,352.0408,测量值: 352.0405

实施例23双(4-(2-甲基)吗啉基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例21，不同之处在于：将高吗啉换成苯并吗啉，得到0.08克化合物23，收率是42%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ8.05(d,J = 8.2Hz,2H),7.27(t,J = 8.0Hz,2H),7.16-7.04(m,4H),4.28(t,J = 4.8Hz,2H),4.03(t,J = 4.8Hz,2H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,420.0095,测量值: 420.0093

实施例24双(4-(反式-八氢-苯并1,4噁嗪)基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例21，不同之处在于：将高吗啉换成反式-八氢-苯并1,4噁嗪，得到0.03克化合物24，收率是25%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.27-5.16(m,2H),4.36-4.24(m,2H),4.23-4.15(m,2H),4.10-4.06(m,2H),4.00-3.89(m,2H),3.86-3.76(m,2H),2.88-2.72(m,2H),2.04-1.98(m,2H),1.88-1.78(m,4H),1.27-1.25(m,8H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,432.1034,测量值: 432.1036

实施例25双(4-(2-C1-10羧基)吗啉基硫代羰基)化二硫的制备

同实施例21，不同之处在于：将高吗啉换成2-C1-10羧基吗啉，得到0.19克化合物25，收率是85%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ13.30(brs,2H),5.14-4.90(m,1H),4.79-4.17(m,5H),4.16-3.73(m,6H),3.73-3.63(m,2H); HRMS(ESI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M+Na]<sup>+</sup>:434.9783,测量值: 434.9784

实施例26双(4-(吗啉-2-羧酸甲酯)基硫代羰基)化二硫的制备

将0.1g化合物25溶于15mL甲醇，于室温加入0.1mL浓硫酸搅拌过夜，用50mL水和200mL乙酸乙酯分层，有机相旋干后用乙酸乙酯重结晶得到0.07g化合物26，收率65%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ5.50-5.00(m,2H),4.96-4.72(m,2H),4.34(dd,J = 9.4,2.9Hz,2H),4.23-4.11(m,2H),3.93-3.72(m,12H); HRMS(EI)m/z计算

值:C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,440.0204,测量值: 440.0205

实施例27双(2-([1,3]噻唑并[5,4-B]吡啶))化二硫的制备

将2-巯基噻唑[5,4-B]并吡啶0.5g溶于50mL THF, 于室温加入1g过硫酸铵的水溶液20mL, 搅拌过夜, 有机层旋干, 用乙酸乙酯重结晶, 得到0.3g化合物27, 收率60%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ8.61(d,J = 4.6Hz,2H),8.39(d,J = 8.3Hz,2H),7.65-7.58(m,2H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,333.9475,测量值: 333.9476

实施例28双(2-环戊烯并噻唑)化二硫的制备

将1α-氯代环戊烷和1.5g二硫代氨基甲酸铵溶于100mL乙醇加热回流过夜, 旋干后用乙酸乙酯和水分层, 有机相经重结晶得1.2g化合物28-2, 取1g化合物33-2溶于50mL THF, 于室温加入1g过硫酸铵的水溶液20mL, 搅拌过夜, 有机层旋干, 用乙酸乙酯重结晶, 得到0.7g化合物28, 收率70%。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ2.91(t,J = 7.2Hz,4H),2.77(t,J = 7.4Hz,4H),2.46-2.37(m,4H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,311.9883,测量值: 311.9884

实施例29双(2-环庚烯并噻唑)化二硫的制备

同实施例28, 不同之处在于: 将α-氯代环戊烷换成α-溴代环庚烷, 得到0.6克化合物29, 收率是60%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ2.98-2.89(m,4H),2.83-2.75(m,4H),1.89-1.81(m,4H),1.77-1.64(m,4H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,368.0509,测量值: 368.0510

实施例30双(2-(6,6-二甲基环己烯并噻唑))化二硫的制备

同实施例28, 不同之处在于: 将α-氯代环戊烷换成2-溴-4,4-二甲基环己酮, 得到0.8克化合物30, 收率是80%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ2.83-2.75(m,4H),2.53(s,4H),1.67-1.58(m,4H),1.03(s,12H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,396.0822,测量值: 396.0829

实施例31双(2-(6-甲基环己烯并噻唑))化二硫的制备

同实施例28, 不同之处在于: 将α-氯代环戊烷换成2-溴-4-甲基环己酮, 得到0.8克化合物31, 收率是80%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ2.93-2.79(m,4H),2.79-2.68(m,2H),2.40-2.29(m,2H),1.94-1.79(m,4H),1.56-1.43(m,2H),1.10(s,3H),1.08(s,3H); HRMS(EI)m/z计算

值:C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,368.0509,测量值: 368.0508

实施例32双(2-(6,7-二氢-4氢-吡喃并[4,3-D]噻唑))化二硫的制备

同实施例28, 不同之处在于: 将α-氯代环戊烷换成3-溴-四氢吡喃酮, 得到0.6克化合物32, 收率是60%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ4.75(s,4H),3.96-3.88(m,4H),2.83-2.75(m,4H); HRMS(EI)m/z计算值:C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,343.9782,测量值: 343.9781

实施例33双(2-(环己烯并噻唑-6-甲酸乙酯))化二硫的制备

同实施例28, 不同之处在于: 将α-氯代环戊烷换成对环己酮甲酸乙酯, 得到0.67克化合物33, 收率是67%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ4.18(q,J = 7.0Hz,4H),3.08-2.99(m,4H),2.99-2.87(m,2H),2.87-2.74(m,4H),2.32-2.21(m,2H),2.07-1.90(m,2H),1.28(t,J = 7.1Hz,6H); HRMS(ESI)m/z

计算值:C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M+H]<sup>+</sup>:485.0692,测量值: 485.0700

实施例34双(2-(环己烯并噻唑-6-甲酸))化二硫的制备

将实施例33的中间体水解得到中间体34-1用同样方法氧化得到0.72克化合物34, 收率是72%

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ12.48(brs,2H),3.07-2.97(m,2H),2.95-2.83(m,2H),2.83-2.68(m,6H),2.19-2.06(m,2H),1.93-1.79(m,2H); HRMS(EI)m/z计算

值:C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>4</sub>[M]<sup>+</sup>,427.9993,测量值: 427.9991

生物学评价

实施例35化合物(1-34)对丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK1)激酶活性的影响

1、实验方法

(1)固定底物: 底物PDHE1(0.5μg/well)用碳酸盐缓冲液稀释(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub>, pH 9.6)进行固定(100μL/well), 置37°C摇床, 110rpm, 固定3h。然后, 不含钾PBST洗涤三次, 每次5min, 拍干。

(2)酶促反应: 100μL HEPES反应体系: 50mM HEPES(pH 7.5), 10mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM EGTA, 10μM ATP, 0.1μg酶; 置37°C摇床, 110rpm, 1h反应。无钾PBST洗涤三次, 每次5min, 拍干。

(3)一抗孵育: 磷酸化PDHE1(S293)抗体用PBST稀释, 稀释比例为1:400, 每孔加入100μL抗体稀释液, 置37°C摇床, 110rpm, 孵育1h。然后PBST洗涤三次, 拍干。

(4)二抗孵育: 抗兔HRP二抗, 用PBST以1: 2000稀释, 每孔加入100μL抗体稀释液, 置37°C摇床, 110rpm, 孵育1h。然后TBST洗涤三次, 拍干。

(5)显色: 加入2mg/ml的OPD显色液100μl/well(用含有0.03%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的0.1M柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 5.4)稀释)。

(6)加入2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50μl/well中止反应, 用可调波长式微孔板酶标仪 SPECTRA MAX 190读数, 波长为490nm。

(7)结果分析

IC<sub>50</sub>值采用酶标仪随机附带软件以四参数法回归求得。

2、实验结果

化合物(1-34)对丙酮酸脱氢酶激酶(PDHK1)的抑制情况通过以上实验进行测定, 测得的IC<sub>50</sub>值见表1。

化合物19和21对丙酮酸脱氢酶激酶家族其他成员抑制PDHK2-4激酶活性的IC<sub>50</sub>值见表2。

表1.化合物(1-34)抑制PDHK1活性的IC<sub>50</sub>值

表2.化合物(19、21)抑制PDHK2、3、4活性的IC<sub>50</sub>值

结果显示，化合物(1-34)对PDHK1激酶均有一定的抑制作用，其中化合物1、8、9、18、19、21、22、26、29、31、33号化合物活性较好，均小于120nM。化合物(19、21)对PDHK2和PDHK3也有抑制作用，但是对PDHK4无抑制作用(>10μM)。

实施例36化合物对多种肿瘤细胞增殖的影响

1、实验方法

处于对数生长期的肿瘤细胞按合适密度接种至96孔培养板，每孔100μL体系，待细胞贴壁后，加入10μL不同浓度的化合物，每个浓度设三个复孔。化合物作用72h后，弃去细胞培液，加入10％(w/v)三氯乙酸(100μL/孔)于4℃固定1h，随后用蒸馏水冲洗五次。反面放置至烘箱中干燥，取出冷却，每孔加入100μLSRB溶液(4mg/mL SRB粉末溶于1％冰醋酸)，室温下放置15min后，用1％冰醋酸冲洗五次以充分去除未与板底蛋白结合的SRB。反面放置至烘箱中干燥，取出冷却，每孔加入10mM Tris溶液150μL,用酶标仪测定560nm波长下的OD值。按以下公式计算化合物对肿瘤细胞生长的抑制率：

IC<sub>50</sub>值采用酶标仪随机附带软件以四参数法回归求得。

2、实验结果

化合物(19、21)对肺癌细胞A549和人神经母细胞瘤Kelly的增殖抑制结果见表3。结果显示，化合物19、21有较好的增殖抑制作用。

表3.化合物(19、21)对A549细胞和Kelly细胞增殖抑制IC<sub>50</sub>

实施例37化合物1、8、9、18、19、21、22、26在A549肿瘤细胞中对PDHK抑制作用的影响

1、实验方法

将细胞接种于六孔板，经处理后，融合度达到80％左右，收集细胞，用冷的PBS洗两次，加入1×SDS凝胶上样缓冲液裂解细胞5min。细胞裂解液在沸水浴中加热10分钟后，于4℃12000rpm离心10分钟，取上清，弃沉淀。

蛋白样品置于不同浓度SDS-聚丙烯酰胺凝胶中，在Tris-甘氨酸-SDS电泳缓冲液中以80V电泳至蛋白Marker分开后，用120V电泳约2h进行分离。用半干印迹法或湿转法将蛋白从凝胶转移至硝酸纤维素膜，按所需蛋白分子量大小转移1-2.5h。用丽春红染色液染色确定蛋白转印情况和蛋白条带位置，依据蛋白Marker分子量裁剪相应目的条带，然后用封闭液(含3％BSA的TBST)室温封闭1h，与相应的抗体(用3％BSA的TBST稀释)4℃孵育过夜。用TBST洗涤液室温洗涤3次，每次10min。加入用辣根过氧化物酶标记的二抗(1：2000用3％BSA的TBST稀释)，室温孵育1h。然后用TBST洗三次，每次10min。根据曝光强度选择合适的发光试剂孵育后，用全自动凝胶成像分析系统进行显色分析。

2、实验结果

对分子水平酶活较好的式X化合物进行细胞水平酶活检测。

图1显示了化合物在1μM和0.3μM时对A549细胞PDHK蛋白磷酸化的影响，以JX06和JX25为阳性对照。

结果显示，在肿瘤细胞(A549)中，化合物作用24h后，在1μM的浓度下，除了化合物8外，其余化合物对PDHA1S293和S232位点的磷酸化都有较好的抑制作用。当浓度调整为0.3μM时，化合物19、21仍然有较好抑制，尤以化合物21效果最好。

实施例38化合物19、21对A549细胞活性氧ROS的影响

1、实验方法

处于对数生长期的细胞按合适密度接种至6孔培养板，每孔2ml，贴壁后，加入不同浓度的化合物或DMSO作用24h。吸去细胞培养液，用预冷的PBS洗涤贴壁细胞2次，吸净PBS后，加入0.25％Trypsin-EDTA消化细胞，加入含血清培液终止，将细胞转移到1.5ml EP管中，4℃，300g离心5min，弃上清。按照1:1000用无血清培液稀释DCFH-DA(碧云天生物技术有限公司)，使终浓度为10μM。DCFH-DA本身没有荧光，可以自由穿过细胞膜，进入细胞后，被细胞内的酯酶水解成DCFH，而DCFH不能自由通过细胞膜，从而留在了细胞内。细胞内的活性氧可以氧化无荧光的DCFH变成有荧光的DCF。检测DCF的水平就可以知道细胞内的活性氧水平。用DCFH-DA稀释液将细胞沉淀重新混悬，吹打均匀，37℃细胞培养箱内孵育30分钟。每隔10min颠倒混匀一次，使探针和细胞充分接触。用无血清细胞培养液洗涤细胞两次，以充分去除未被细胞装载的DCFH-DA。用流式细胞仪进行实验并分析。

2、实验结果

结果如图2所示，化合物21在1、3、10μM浓度下，均可显著增加A549细胞内活性氧水平，并具浓度依赖性。

化合物19在5-10μM时能增加细胞内活性氧水平。

实施例39化合物19、21对细胞外乳酸释放的影响

1、实验方法

处于对数生长期的细胞按合适密度接种至Seahorse XF 96细胞培养板(融合度为80％-90％)，每孔100μL体系，待细胞贴壁后，加入处理(化合物)作用一定时间(24h以内)，每种作用设三个复孔以上。提前一天将一次性固态传感器盒中加入XF Calibrant Solution 200μL/孔，放入无CO<sub>2</sub>，37℃的预工作站中，过夜水化。

Seahorse XF 96主机和程序都要提前开启，过夜以稳定系统(温度湿度等)。配置代谢检测液(由于检测的就是O<sub>2</sub>和H<sup>+</sup>浓度变化，所以检测液是无缓冲体系，检测液成分为XF Base Medium Minimal DMEM+25mM葡萄糖+2mM丙酮酸)。待处理结束后，小心地吸去孔中培液，用代谢检测液洗涤一次，弃去(为充分去除第一步未吸尽的培液)，加入200μL的代谢检测液。将换代代谢检测液的Seahorse XF 96细胞培养板放入无CO<sub>2</sub>，37℃的预工作站中1h，以平衡检测体系。编辑检测程序，并将过夜水化完成的一次性固态传感器盒放入主机，进行系统校正。校正完成后，将Seahorse XF 96细胞培养板放入主机按预设的程序进行检测。

2、实验结果

结果如图3所示，化合物19和化合物21在1、3、10μM浓度下均可降低A549细胞外乳酸释放水平，并具浓度依赖性。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

Patent Citations (2)

1/28/23, 9:01 PMCN107922366A - 丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用 - Google Patents

Publication number	Priority date	Publication date	Assignee	Title
JPH0363258A *	1989-08-02	1991-03-19	Kuraray Co Ltd	Hepatic disease preventive and therapeutic agent with bis(aminothiocarbonyl)disulfide compound as active ingredient
CN106518809A *	2015-09-15	2017-03-22	中国科学院上海药物研究所	丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用
Family To Family Citations				
* Cited by examiner, † Cited by third party				

Non-Patent Citations (6)

Title
GHALI BRAHEMI ET AL.: "Exploring the Structural Requirements for Inhibition of the Ubiquitin E3 Ligase Breast Cancer Associated Protein 2 (BCA2) as a Treatment for Breast Cancer", 《J. MED. CHEM.》 *
KELLY COFFEY ET AL.: "Characterisation of a Tip60 Specific Inhibitor, NU9056, in Prostate Cancer", 《PLOS ONE》 *
NAND LAL ET AL.: "Role of disulfide linkage in action of bis(dialkylaminethiocarbonyl) disulfides as potent double-Edged microbicidal spermicide: Design, synthesis and biology", 《EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY》 *
RHUSHIKESH A. KULKARNI ET AL.: "Thiuram Disulfides as Pseudo-irreversible Inhibitors of Lymphoid Tyrosine Phosphatase", 《CHEMMEDCHEM》 *
WENYI SUN ET AL.: "JX06 Selectively Inhibits Pyruvate Dehydrogenase Kinase PDK1 by a Covalent Cysteine Modification", 《CANCER RES.》 *
孟冬等: "药用二硫化二苯并噻唑的质量控制", 《药用二硫化二苯并噻唑的质量控制》 *
* Cited by examiner, † Cited by third party

Cited By (2)

Publication number	Priority date	Publication date	Assignee	Title
Family To Family Citations				
JOP20190024A1	2016-08-26	2019-02-19	Gilead Sciences Inc	مركبات بيروليزين بها استبدال واستخداماتها
US10836769B2	2018-02-26	2020-11-17	Gilead Sciences, Inc.	Substituted pyrrolizine compounds and uses thereof
* Cited by examiner, † Cited by third party, ‡ Family to family citation				

Similar Documents

Publication	Publication Date	Title
CN106967005B	2019-07-16	一种能抑制ido的化合物、其制备方法及其用途
CN110494141A	2019-11-22	含有被取代的多环性吡啶酮衍生物及其前药的药物组合物
CN108697715A	2018-10-23	包含帽依赖性核酸内切酶抑制剂及抗流感药的组合的流感治疗用药物
RU2477281C2	2013-03-10	Азотсодержащие гетероциклические соединения
CN103974955B	2018-06-19	噻啉并-哒嗪酮化合物及其用途
CN1953968B	2012-10-10	噻唑化合物及其用途
CN105153142B	2018-01-19	香豆素母核的咪唑衍生物及抗肿瘤活性
CN106831824A	2017-06-13	含萘啶酮结构的吡咯并吡啶类化合物及其应用
CN106083704B	2018-07-27	3,5-(E)-二芳亚甲基-N-环丙基哌啶-4-酮类化合物作为Hsp90抑制剂的应用
CN109384782A	2019-02-26	取代五元并六元杂环类化合物、其制备方法、药物组合及其用途
CN106518809A	2017-03-22	丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用
CN107922366A	2018-04-17	丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用
CN108069954B	2018-11-23	含no供体的噻唑啉酮化合物
EP3564242B1	2022-03-23	Compound for selectively inhibiting kinase and use thereof
JP6291066B2	2018-03-14	ナフチル尿素誘導体およびその医療適用
CN106565763B	2017-12-15	pH敏感的轴向取代硅酞菁配合物及其制备方法和在医药上的应用

1/28/23, 9:01 PM

CN107922366A - 丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用 - Google Patents

<a href="#">JP2021509399A</a>	2021-03-25	インドールアミン-2, 3-ジオキシゲナーゼ阻害剤およびその調製方法と使用
<a href="#">CN109456279A</a>	2019-03-12	噻唑氨基苯甲酰胺乙酸酯衍生物及其用途
<a href="#">CN108164520A</a>	2018-06-15	缺氧抑制剂与抗肿瘤药物的偶联化合物及其制备和应用
<a href="#">CN107108656B</a>	2019-11-05	N-取代-3,5-二取代苯甲酰胺类化合物及其制备方法和应用
<a href="#">CN101553476A</a>	2009-10-07	作为有丝分裂驱动蛋白抑制剂的 二唑和噻二唑衍生物及其使用方法
Tafesse et al.	2021	Study on the interaction of 1, 5-diaryl pyrrole derivatives with α-glucosidase; synthesis, molecular docking, and kinetic study
<a href="#">CN103254203B</a>	2016-05-11	五元脲环并香豆素衍生物或其可药用盐及用途
<a href="#">CN104211682B</a>	2017-06-06	吡啶类化合物及其用途
<a href="#">CN108358864A</a>	2018-08-03	一种2-酰基-5-苯基噁唑类微管蛋白抑制剂的制备方法及应用

Priority And Related Applications

Applications Claiming Priority (1) ▲

Application	Filing date	Title
<a href="#">PCT/CN2016/077137</a>	2016-03-23	丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用

Legal Events ▲

Date	Code	Title	Description
2018-04-17	PB01	Publication	
2018-04-17	PB01	Publication	
2018-05-11	SE01	Entry into force of request for substantive examination	
2018-05-11	SE01	Entry into force of request for substantive examination	
2021-05-28	WD01	Invention patent application deemed withdrawn after publication	<b>Application publication date:</b> 20180417
2021-05-28	WD01	Invention patent application deemed withdrawn after publication	

Concepts ▲

machine-extracted

[Download](#) [Filter table](#) ▼

Name	Image	Sections	Count	Query match
■ Oxidoreductases		title,claims,abstract,description	29	0.000
■ Oxidoreductases		title,claims,abstract,description	29	0.000
■ phosphotransferase inhibitor		title,abstract,description	3	0.000
■ compounds		claims,abstract,description	207	0.000
■ salts		claims,abstract,description	30	0.000
■ sodium chloride		claims,abstract,description	30	0.000
■ Phosphotransferases		claims,abstract,description	29	0.000
■ Phosphotransferases		claims,abstract,description	29	0.000
■ pharmaceutical composition		claims,abstract,description	17	0.000
■ effects		claims,abstract,description	16	0.000
■ heteroatoms		claims,description	52	0.000
■ hydroxy, acetyl group		claims,description	48	0.000
■ sulfur		claims,description	40	0.000
■ carbon		claims,description	29	0.000
■ Ammonium persulfate		claims,description	28	0.000
■ methanol		claims,description	27	0.000

1/28/23, 9:01 PM CN107922366A - 丙酮酸脱氢酶激酶抑制剂及其应用 - Google Patents				
hydrogen	claims,description	22	0.000	
hydrogen	claims,description	22	0.000	
carbon bisulphide	claims,description	20	0.000	
preparation method	claims,description	19	0.000	
mixture	claims,description	18	0.000	
chemical reaction reagent	claims,description	17	0.000	
aryl group	claims,description	15	0.000	
HCl	claims,description	14	0.000	
ammonium persulfate	claims,description	14	0.000	
hydrogen	claims,description	14	0.000	
hydroxy group	claims,description	14	0.000	
nitrogen	claims,description	14	0.000	
optical	claims,description	14	0.000	
oxygen	claims,description	14	0.000	
Sodium nitrite	claims,description	12	0.000	
Sodium periodate	claims,description	12	0.000	
heterocyclic group	claims,description	12	0.000	
hydrogen peroxide	claims,description	12	0.000	
substituent group	claims,description	12	0.000	
carbocyclic group	claims,description	11	0.000	
drug	claims,description	11	0.000	
substitution reaction	claims,description	10	0.000	
carbon atoms	claims,description	9	0.000	
separation method	claims,description	9	0.000	
halogen	claims,description	8	0.000	
halogens	claims,description	8	0.000	
hydrogen	claims,description	8	0.000	
organic solvent	claims,description	8	0.000	
drugs	claims,description	7	0.000	
nitrogen atoms	claims,description	6	0.000	
sodium nitrite	claims,description	6	0.000	
(C6-C10) heteroaryl group	claims,description	5	0.000	
dihydrogen sulfide	claims,description	5	0.000	
modification	claims,description	5	0.000	
modification reaction	claims,description	5	0.000	
sulfur atoms	claims,description	5	0.000	
drug carrier	claims,description	3	0.000	
solvent	claims,description	3	0.000	
therapeutic	claims,description	2	0.000	
anti-tumor	abstract,description	5	0.000	
suppression	abstract	1	0.000	
<a href="#">Show all concepts from the description section</a>				

