



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114106000 A

(43) 申请公布日 2022.03.01

(21) 申请号 202111533536.6

(22) 申请日 2021.12.15

(71) 申请人 中国科学院新疆理化技术研究所
地址 830011 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市北京南路40号附1号

(72) 发明人 赵江瑜 郭红梅 聂礼飞
阿吉艾克拜尔·艾萨

(74) 专利代理机构 乌鲁木齐中科新兴专利事务
所(普通合伙) 65106

代理人 张莉

(51) Int. Cl.

C07D 487/14 (2006.01)

C07D 471/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书2页 说明书17页

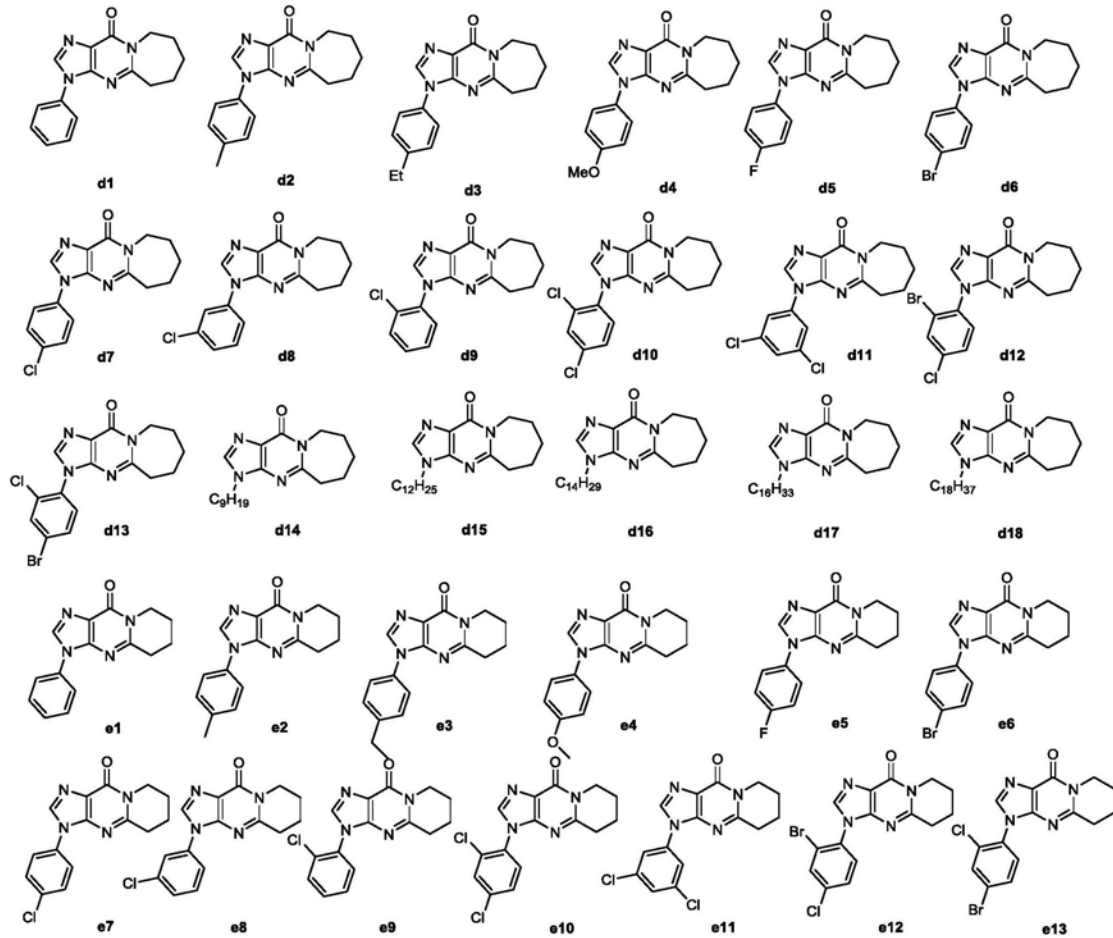
(54) 发明名称

一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物及
抗肿瘤用途

(57) 摘要

本发明涉及一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物及抗肿瘤用途。所述的化合物以氰基乙酸乙酯为初始原料,在乙酸水溶液中与亚硝酸钠反应得到氰基羟基亚氨基乙酸乙酯,接着在饱和碳酸氢钠溶液中用连二亚硫酸钠还原得到2-氨基-2-氰基乙酸乙酯,然后与适当的胺和原甲酸三乙脂反应得到3位上不同取代的4-氨基咪唑-5-羧酸乙酯,最后在三氯氧磷催化下,分别与 δ -戊内酰胺和 ϵ -己内酰胺反应得到缩合的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物(d1-d18和e1-e13),并分别考察了31个化合物对HT-29人结肠癌细胞、MCF-7乳腺癌细胞和HeLa人宫颈癌细胞的抑制作用。结果显示:以多西环素为阳性对照药,活性筛选结果表明:5个化合物对HT-29人结肠癌细胞有一定的抑制活性;4个化合物对MCF-7人乳腺癌细胞有一定的抑制活性;17个化合物对HeLa人宫颈癌细胞有一定的抑制活性。

1. 一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,其特征在于该类衍生物的结构为:



其中:

化合物d1为3-苯基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d2为3-(4-苯甲基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d3为3-(4-乙基苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d4为3-(4-甲氧苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d5为3-(4-氟苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮

化合物d6为3-(4-溴苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮

化合物d7为3-(4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d8为3-(3-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d9为3-(2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d10为3-(2,4-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d11为3-(3,5-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d12为3-(2-溴-4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d13为3-(4-溴-2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]咪唑-11-酮;

化合物d14为3-壬基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吲庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；
化合物d15为3-十二基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吲庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；
化合物d16为3-十四烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吲庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；
化合物d17为3-十六烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吲庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；
化合物d18为3-十八烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吲庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；
化合物e1为3-苯基-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e2为3-(对甲苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e3为3-(4-乙基苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e4为3-(4-甲氧苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e5为3-(4-氟苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e6为3-(4-溴苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e7为3-(4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e8为3-(3-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e9为3-(2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e10为3-(2,4-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e11为3-(3,5-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e12为3-(2-溴-4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮；
化合物e13为3-(4-溴-2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮。

2. 一种如权利要求1所述咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物中的d14,d15,d16,d17,d18在制备抗HT-29人结肠癌细胞中的用途。

3. 一种如权利要求1所述咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物中的d15,d16,d17,d18在制备抗MCF-7乳腺癌细胞中的用途。

4. 一种如权利要求1所述的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物中的d2,d6,d7,d10,d11,d15,d16,d17,d18,e1,e2,e6,e7,e10,e11,e12,e13在制备抗HeLa人宫颈癌细胞中的用途。

一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物及抗肿瘤用途

技术领域

[0001] 本发明涉及一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物及抗肿瘤用途,经体外活性筛选发现:5个化合物对HT-29人结肠癌细胞有一定的抑制活性;4个化合物对MCF-7人乳腺癌细胞有一定的抑制活性;17个化合物对HeLa人宫颈癌细胞有一定的抑制活性。

背景技术

[0002] 国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer)发布了GLOBOCAN2020,估计了最新的癌症发病率和死亡率,并指出了全球1930万新癌症病例和近1000万癌症死亡癌症的特征是不受控制的异常细胞生长,有时还会转移,它仍然是全球死亡的主要原因之一。然而,目前的治疗方法受副作用和耐药性的限制,因此寻找新的、更安全的抗癌药物至关重要。

[0003] 杂环化合物广泛应用于药物化学、农药料配位化学^[5]等领域。无数含有N-杂环的生物活性分子已经成为研究人员在药物化学中寻找有前途的先导化合物的重要目标。其中,嘌呤骨架是许多抗肿瘤药物的关键片段,例如,氟达拉滨、克拉屈滨、阿巴卡韦、阿昔洛韦、喷昔洛韦、恩替卡韦等。因此,寻找基于嘌呤骨架的抗肿瘤药物对研究人员来说仍然十分具有吸引力。而且,研究发现,许多具有生物活性的嘌呤及其类似物是通过在嘌呤骨架的N-1、C-2、N-3、C-6、N-7、C-8和N-9位置引入各种取代基而得到的。此外,杂环缩合嘌呤也是药物研究和开发的趋势和热点。

[0004] 由于嘌呤类化合物在抗肿瘤方面广泛的应用,寻找和探索合成新型的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物并研究其生物活性,将为抗肿瘤药物的研发提供一定的科学依据。

[0005] 本发明以常见试剂为起始原料,经四步反应合成了31个不同取代的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,活性筛选结果表明:5个化合物对HT-29人结肠癌细胞有一定的抑制活性;4个化合物对MCF-7人乳腺癌细胞有一定的抑制活性;17个化合物对HeLa人宫颈癌细胞有一定的抑制活性。

[0006] 参考文献:

[0007] [1]H.Sung,J.Ferlay,R.L.Siegel,M.Laversanne,I.Soerjomataram,A.Jemal,F.Bray,Global Cancer Statistics 2020:GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36Cancers in 185Countries,CA:A Cancer Journal for Clinicians,71(2021)209-249.

[0008] [2]A.M.Sajith,K.K.Abdul Khader,N.Joshi,M.N.Reddy,M.Syed Ali Padusha,H.P.Nagaswarupa,M.Nibin Joy,Y.D.Bodke,R.P.Karuvalam,R.Banerjee,A.Muralidharan,P.Rajendra,Design,synthesis and structure-activity relationship(SAR) studies of imidazo[4,5-b]pyridine derived purine isosteres and their potential as cytotoxic agents,European Journal of Medicinal Chemistry,89(2015)21-31.

[0009] [3]M.V.Bukhtiyarova,G.A.Bukhtiyarova,Reductive amination of levulinic acid or its derivatives to pyrrolidones over heterogeneous catalysts in the batch and continuous flow reactors:A review,Renew Sust Energy Rev,143(2021).

[0010] [4]Y.Liu,Z.Niu,G.Dai,Y.Chen,H.Li,L.Huang,X.Zhang,Y.Xu,Y.Zhao, Phenothiazine-based copolymer with redox functional backbones for organic battery cathode materials,Materials Today Energy,21(2021).

[0011] [5]A.Haque,R.Ilmi,I.J.Al-Busaidi,M.S.Khan,Coordination chemistry and application of mono-and oligopyridine-based macrocycles,Coordination Chemistry Reviews,350(2017) 320-339.

[0012] [6]A.Kowalska,K.Pluta,M.Latocha,Synthesis and anticancer activity of multisubstituted purines and xanthenes with one or two propynylthio and aminobutynylthio groups,Med Chem Res,27(2018) 1384-1395.

[0013] [7]W.Akhtar,M.F.Khan,G.Verma,M.Shaquiquzzaman,M.A.Rizvi,S.H.Mehdi, M.Akhter,M.M.Alam,Therapeutic evolution of benzimidazole derivatives in the last quinquennial period,European Journal of Medicinal Chemistry,126(2017) 705-753.

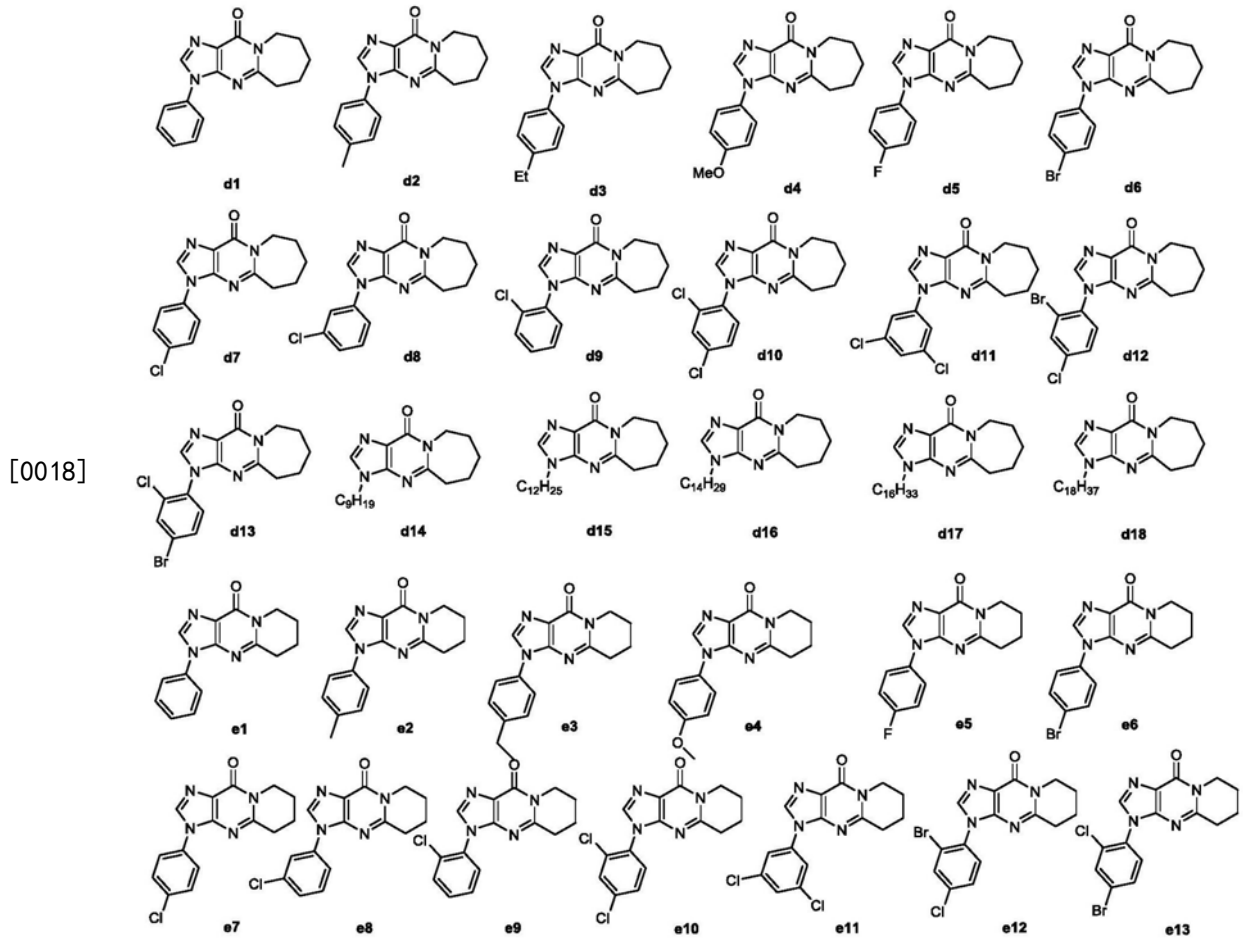
[0014] [8]A.Y.Hassan,M.T.Sarg,A.H.Bayoumi,F.G.A.Kalaf,Design,Synthesis,and Anticancer Activity of Novel Fused Purine Analogues,Journal of Heterocyclic Chemistry,54(2017) 3458-3470.

[0015] 本发明在国内外有关专利、文献综合分析的基础上,合成了咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,并研究了这些化合物对HT-29人结肠癌细胞、MCF-7乳腺癌细胞和HeLa人宫颈癌细胞的抑制活性,以供后期发现抑制肿瘤细胞生长效果越好、毒性更低以及靶点明确的抗肿瘤活性的候选药物。

发明内容

[0016] 本发明的目的在于,提供一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物及抗肿瘤用途,该类化合物以氰基乙酸乙酯为初始原料,在乙酸水溶液中与亚硝酸钠反应得到氰基羟基亚氨基乙酸乙酯,接着在饱和碳酸氢钠溶液用连二亚硫酸钠还原得到2-氨基-2-氰基乙酸乙酯,然后与胺和原甲酸三乙酯反应得到3位上不同取代的4-氨基咪唑-5-羧酸乙酯,最后在三氯氧磷催化下,分别与 δ -戊内酰胺和 ϵ -己内酰胺反应得到缩合的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物(d1-d18和e1-e13);并考察了31个化合物对人结肠癌细胞(HT-29)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和人宫颈癌细胞(HeLa)的抑制活性。结果显示:5个化合物对HT-29人结肠癌有一定的抑制活性;4个化合物对MCF-7人乳腺癌细胞有一定的抑制活性;17个化合物对HeLa人宫颈癌细胞有一定的抑制活性。

[0017] 本发明所述的一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,其特征在于该类衍生物的结构为:



[0019] 其中：

[0020] 化合物d1为3-苯基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0021] 化合物d2为3-(4-苯甲基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0022] 化合物d3为3-(4-乙基苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0023] 化合物d4为3-(4-甲氧苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0024] 化合物d5为3-(4-氟苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮

[0025] 化合物d6为3-(4-溴苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮

[0026] 化合物d7为3-(4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0027] 化合物d8为3-(3-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0028] 化合物d9为3-(2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0029] 化合物d10为3-(2,4-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮；

[0030] 化合物d11为3-(3,5-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-

11-酮；

[0031] 化合物d12为3-(2-溴-4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0032] 化合物d13为3-(4-溴-2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0033] 化合物d14为3-壬基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0034] 化合物d15为3-十二基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0035] 化合物d16为3-十四烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0036] 化合物d17为3-十六烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0037] 化合物d18为3-十八烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘧啶-11-酮；

[0038] 化合物e1为3-苯基-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0039] 化合物e2为3-(对甲苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0040] 化合物e3为3-(4-乙基苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0041] 化合物e4为3-(4-甲氧苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0042] 化合物e5为3-(4-氟苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0043] 化合物e6为3-(4-溴苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0044] 化合物e7为3-(4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0045] 化合物e8为3-(3-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0046] 化合物e9为3-(2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0047] 化合物e10为3-(2,4-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0048] 化合物e11为3-(3,5-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0049] 化合物e12为3-(2-溴-4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮；

[0050] 化合物e13为3-(4-溴-2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘧啶-10(3H)-酮。

[0051] 所述咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物中的d14,d15,d16,d17,d18在制备抗HT-29人结肠癌细胞中的用途。

[0052] 所述咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物中的d15,d16,d17,d18在制备抗MCF-7乳腺癌细胞中的用途。

[0053] 所述咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物中的d2,d6,d7,d10,d11,d15,d16,d17,d18,e1,e2,e6,e7,e10,e11,e12,e13在制备抗HeLa人宫颈癌细胞中的用途。

[0054] 本发明所述的一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物的制备方法,按下列步骤进行:

[0055] 化合物2-氰基-2-(羟基亚氨基)乙酸乙酯(A)的制备:

[0056] a、在温度0℃下,将氰基乙酸乙酯10.6mL,0.1mol和浓度为45%的乙酸水溶液45mL搅拌10min,缓慢分3次添加亚硝酸钠21.0g,0.3mol,室温下反应5h,减压除去溶剂,干燥得黄色固体A;

[0057] 化合物2-氨基-2-氰基乙酸乙酯(B)的制备:

[0058] b、将步骤a得到的黄色固体A10g,0.07mmol溶于60mL水,缓慢添加30mL饱和碳酸氢钠溶液,温度20℃下,半小时内将34g连二亚硫酸钠分3次添加,反应2h后,用二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥有机相,减压除去溶剂,得黄色油状物B;

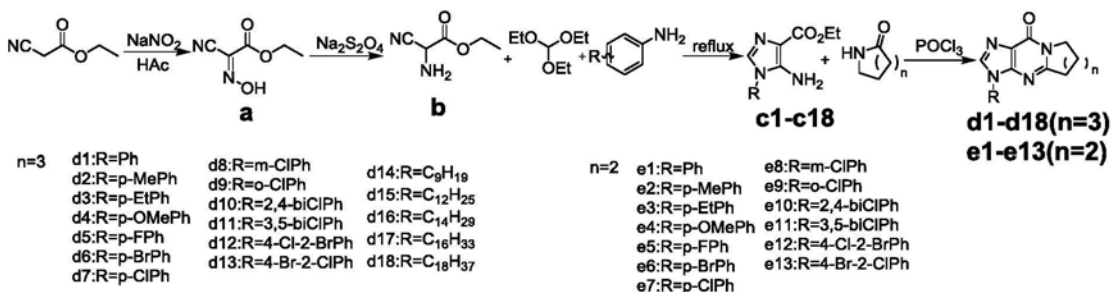
[0059] 化合物3位不同取代的5-氨基-1H-咪唑-4-羧酸乙酯(C)的制备:

[0060] c、将步骤b得到的黄色油状物B4.72g,0.037mmol和原乙酸三乙酯6.76g,0.046mmol在30mL乙腈中加热回流1h,冷却至室温后,添加胺,搅拌过夜,过滤除去溶剂得到3位不同取代的5-氨基-1H-咪唑-4-羧酸乙酯C;

[0061] 咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物d1-d18和e1-e13的制备:

[0062] d、将步骤c得到的150mg c1-c18和1.2eq内酰胺溶于5mL 1,4-二氧六环中,滴加1.2eq无水三氯氧磷,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯进行洗脱,干燥,得到3位不同取代的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物d1-d18和e1-e13。

[0063] 本发明所述的一种咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,是以氰基乙酸乙酯为初始原料,经过两步还原得到2-氨基-2-氰基乙酸乙酯,然后再得到相应的咪唑环,接着在三氯氧磷催化下和内酰胺反应得到缩合的新型咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,合成路线如下:



[0065] 通过本发明所述方法获得的31个不同取代的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物,并考察了31个化合物对人结肠癌细胞(HT-29)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和人宫颈癌细胞(HeLa)的抑制活性。结果显示:85个化合物d14,d15,d16,d17,d1对HT-29人结肠癌有一定的抑制活性;4个化合物d15,d16,d17,d18对MCF-7人乳腺癌细胞有一定的抑制活性;17个化合物d2,d6,d7,d10,d11,d15,d16,d17,d18,e1,e2,e6,e7,e10,e11,e12,e13对HeLa人宫颈癌细胞有一定的抑制活性。

具体实施方式

[0066] 依据实施例对本发明进一步说明,但本发明不仅限于这些实施例;

[0067] 试剂:所有试剂均为市售的分析纯。

[0068] 实施例1

[0069] 化合物A的制备:

[0070] 在温度0℃下,将氰基乙酸乙酯10.6mL,0.1mol和浓度45%的乙酸水溶液45mL搅拌10min,一个半小时内分3次添加亚硝酸钠21.0g,0.3mol,室温下反应5h,减压除去溶剂,干燥得黄色固体A。

[0071] 实施例2

[0072] 化合物B的制备:

[0073] 将实施例1得到的黄色固体A10g,0.07mmol溶于60mL水,缓慢添加30mL饱和碳酸氢钠溶液,温度20℃下,半小时内将34g连二亚硫酸钠分3次添加,反应2h后,用二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥有机相,减压除去溶剂,得黄色油状物B。

[0074] 实施例3

[0075] 化合物C的制备:

[0076] 将实施例2得到的黄色油状物B4.72g, 0.037mmol和原乙酸三乙酯6.76g, 0.046mmol在30mL乙腈中加热回流1h,冷却至室温后,添加胺,搅拌过夜,过滤得到固体C为:

[0077] 化合物c1为5-氨基-1-苯基-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0078] 化合物c2为5-氨基-1-(对甲苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0079] 化合物c3为5-氨基-1-(对乙苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0080] 化合物c4为5-氨基-1-(对甲氧基苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0081] 化合物c5为5-氨基-1-(对氟苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0082] 化合物c6为5-氨基-1-(对溴苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0083] 化合物c7为5-氨基-1-(对氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0084] 化合物c8为5-氨基-1-(间氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0085] 化合物c9为5-氨基-1-(邻氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0086] 化合物c10为5-氨基-1-(2,4-二氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0087] 化合物c11为5-氨基-1-(3,5-二氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0088] 化合物c12为5-氨基-1-(4-氯-2-溴苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0089] 化合物c13为5-氨基-1-(4-溴-2-氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯;

[0090] 化合物c14为5-氨基-1-壬基咪唑-4-羧酸乙酯;

[0091] 化合物c15为5-氨基-1-十二烷基咪唑-4-羧酸乙酯;

[0092] 化合物c16为5-氨基-1-十四烷基咪唑-4-羧酸乙酯;

[0093] 化合物c17为5-氨基-1-十六烷基咪唑-4-羧酸乙酯;

[0094] 化合物c18为5-氨基-1-十八烷基咪唑-4-羧酸乙酯。

[0095] 实施例4

[0096] 化合物3-苯基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11(5H)-酮(d1)的制备:

[0097] 将实施例3得到的5-氨基-1-苯基-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c1 150mg, 0.65mmol和 ϵ -己内酰胺88.1mg, 0.78mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷119.43mg, 0.78mmol,温度100°C加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物d1为3-苯基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11(5H)-酮(d1),产率24.8%,淡黄色固体,熔点153-154°C;

[0098] $^1\text{H NMR}$ (600MHz, CDCl_3) δ 7.95 (s, 1H), 7.64 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 2H), 7.55 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 7.44 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 1H), 4.49-4.41 (m, 2H), 3.10-3.04 (m, 2H), 1.86-1.78 (m, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 281.1397, found 281.1392.

[0099] 实施例5

[0100] 化合物3-(4-苯甲基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d2)的制备:

[0101] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对甲苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c2 150mg, 0.61mmol和 ϵ -己内酰胺83.0mg, 0.73mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷112.60mg, 0.73mmol,温度100°C回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗

脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-苯甲基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d2),产率28.7%,淡黄色固体,熔点154-155℃;

[0102] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.92 (s, 1H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.34 (d, $J=8.1\text{Hz}$, 3H), 4.49-4.43 (m, 2H), 3.06 (d, $J=9.6\text{Hz}$, 2H), 2.43 (s, 3H), 1.82 (d, $J=9.5\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 295.1553, found 295.1550.

[0103] 实施例6

[0104] 化合物3-(4-乙基苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d3)的制备:

[0105] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对乙苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c3 150mg, 0.58mmol和 ϵ -己内酰胺78.5mg, 0.69mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷106.5mg, 0.69mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-乙基苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d3),产率24.6%,棕黄色固体,熔点182-183℃;

[0106] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.92 (s, 1H), 7.53 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.36 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H), 4.49-4.42 (m, 2H), 3.09-3.04 (m, 2H), 2.73 (q, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 1.87-1.77 (m, 6H), 1.30 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 3H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 309.1710, found 309.1704.

[0107] 实施例7

[0108] 化合物3-(4-甲氧苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d4)的制备:

[0109] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对甲氧基苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c4 150mg, 0.57mmol和 ϵ -己内酰胺78.0mg, 0.69mmol溶解在溶5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷105.7mg, 0.69mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-甲氧苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d4),产率29.2%,黄色固体,熔点171-172℃;

[0110] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.66 (s, 1H), 7.58 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 2H), 7.07 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H), 4.44 (dd, $J=5.1, 2.0\text{Hz}$, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.06 (dd, $J=2.8, 1.8\text{Hz}$, 2H), 1.88-1.77 (m, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_2[\text{M}+\text{H}]^+$ 311.1503, found 311.1501.

[0111] 实施例8

[0112] 化合物3-(4-氟苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d5)的制备:

[0113] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对氟苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c5 150mg, 0.60mmol和 ϵ -己内酰胺81.7mg, 0.72mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷110.8mg, 0.72mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物d5为3-(4-氟苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d5),产率25.7%,黄色固体,熔点174-175℃;

[0114] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.91 (s, 1H), 7.64-7.58 (m, 2H), 7.25-7.21 (m, 2H), 4.46 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H), 3.09-3.04 (m, 2H), 1.88-1.77 (m, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{FN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 299.1303, found 299.1299.

[0115] 实施例9

[0116] 化合物3-(4-溴苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d6)的制备:

[0117] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对溴苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c6 150mg, 0.49mmol和 ϵ -己内酰胺65.9mg, 0.58mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷89.3mg, 0.58mmol, 温度100 $^\circ\text{C}$ 回流, TLC监测反应完全后, 除去溶剂, 柱层析分离, 采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱, 干燥, 得到化合物3-(4-溴苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d6), 产率25.6%, 棕黄色固体, 熔点:190-191 $^\circ\text{C}$;

[0118] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.91 (s, 1H), 7.68-7.63 (m, 2H), 7.55-7.51 (m, 2H), 4.47-4.41 (m, 2H), 3.08-3.02 (m, 2H), 1.85-1.76 (m, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{BrN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 359.0502, found 359.0498.

[0119] 实施例10

[0120] 化合物3-(4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d7)的制备:

[0121] 将实施例2得到的5-氨基-1-(对氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c7 150mg, 0.57mmol和 ϵ -己内酰胺76.8mg, 0.68mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷104.1mg, 0.68mmol, 温度100 $^\circ\text{C}$ 加热回流, TLC监测反应完全后, 除去溶剂, 柱层析分离, 采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱, 干燥, 得到化合物3-(4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d7), 产率26.4%, 黄色固体, 熔点191-192 $^\circ\text{C}$;

[0122] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.92 (s, 1H), 7.62-7.57 (m, 2H), 7.53-7.48 (m, 2H), 4.47-4.40 (m, 2H), 3.10-3.00 (m, 2H), 1.81 (ddt, $J=13.2, 8.2, 4.8\text{Hz}$, 7H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.1007, found 315.0990.

[0123] 实施例11

[0124] 化合物3-(3-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d8)的制备:

[0125] 将实施例3得到的5-氨基-1-(间氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c8 150mg, 0.57mmol和 ϵ -己内酰胺76.8mg, 0.68mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷104.1mg, 0.68mmol, 温度100 $^\circ\text{C}$ 回流, TLC监测反应完全后, 除去溶剂, 柱层析分离, 采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱, 干燥, 得到化合物3-(3-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d8), 产率29.6%, 黄色固体, 熔点209-210 $^\circ\text{C}$;

[0126] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.94 (s, 1H), 7.71 (t, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.55 (ddd, $J=8.0, 2.1, 1.2\text{Hz}$, 1H), 7.47 (t, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.43-7.39 (m, 1H), 4.48-4.41 (m, 2H), 3.12-3.03 (m, 2H), 1.89-1.75 (m, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.1007, found 315.1005.

[0127] 实施例12

[0128] 化合物3-(2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d9)的制备:

[0129] 将实施例3得到的5-氨基-1-(邻氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c9 150mg, 0.57mmol和ε-己内酰胺76.8mg, 0.68mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷104.1mg, 0.68mmol, 温度100℃回流, TLC监测反应完全后, 除去溶剂, 柱层析分离, 采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱, 干燥, 得到化合物3-(2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d9), 产率33.4%, 黄色固体, 熔点185-186℃;

[0130] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.81 (s, 1H), 7.62-7.58 (m, 1H), 7.48-7.44 (m, 3H), 4.49-4.41 (m, 2H), 3.04-2.97 (m, 2H), 1.80 (qq, $J=10.0, 5.6, 4.4\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.1007, found 315.0989.

[0131] 实施例13

[0132] 化合物3-(2,4-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d10)的制备:

[0133] 将实施例3得到的5-氨基-1-(2,4-二氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c10 150mg, 0.50mmol和ε-己内酰胺68.1mg, 0.60mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷92.3mg, 0.60mmol, 温度100℃加热回流, TLC监测反应完全后, 除去溶剂, 柱层析分离, 采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱, 干燥, 得到化合物3-(2,4-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d10), 产率27.3%, 淡黄色固体, 熔点176-177℃;

[0134] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.79 (s, 1H), 7.62 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.39 (m, 2H), 4.48-4.40 (m, 2H), 3.03-2.95 (m, 2H), 1.81 (tdd, $J=11.9, 9.4, 8.6, 5.0\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 349.0617, found 349.0618.

[0135] 实施例14

[0136] 化合物3-(3,5-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d11)的制备:

[0137] 将实施例3得到的5-氨基-1-(3,5-二氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c11 150mg, 0.50mmol和ε-己内酰胺68.1mg, 0.60mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷92.3mg, 0.60mmol, 温度100℃加热回流, TLC监测反应完全后, 除去溶剂, 柱层析分离, 采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱, 干燥, 得到化合物3-(3,5-二氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d11), 产率25.3%, 白色固体, 熔点: 229-330℃;

[0138] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.05 (s, 1H), 7.65 (d, $J=1.4\text{Hz}$, 2H), 7.42 (s, 1H), 4.46-4.41 (m, 2H), 3.11-3.06 (m, 2H), 1.84 (s, 4H), 1.81-1.76 (m, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 349.0617, found 349.0617.

[0139] 实施例15

[0140] 化合物3-(2-溴-4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d12)的制备:

[0141] 将实施例3得到的5-氨基-1-(4-氯-2-溴苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c12 150mg,

0.44mmol和 ϵ -己内酰胺59.3mg,0.52mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷80.5mg,0.52mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(2-溴-4-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d12),产率34.6%,黄色固体,熔点161-162℃;

[0142] ^1HMR (400MHz, CDCl_3) δ 7.79 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 7.48 (dd, $J=8.5, 2.2\text{Hz}$, 1H), 7.39 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.49-4.42 (m, 2H), 3.03-2.96 (m, 2H), 1.79 (qd, $J=10.6, 7.4, 5.5\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{BrClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 393.0112 found 393.0112.

[0143] 实施例16

[0144] 化合物3-(4-溴-2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d13)的制备:

[0145] 将实施例3得到的5-氨基-1-(4-溴-2-氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c13 150mg,0.44mmol和 ϵ -己内酰胺59.3mg,0.52mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷80.5mg,0.52mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-溴-2-氯苯基)-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d13),产率28.0%,黄色固体,熔点160-161℃;

[0146] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.79 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 2H), 7.48 (dd, $J=8.5, 2.2\text{Hz}$, 1H), 7.39 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.49-4.42 (m, 2H), 3.03-2.96 (m, 2H), 1.79 (qd, $J=10.6, 7.4, 5.5\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{BrClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 393.0112, found 393.0110.

[0147] 实施例17

[0148] 化合物3-壬基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d14)的制备:

[0149] 将实施例3得到的5-氨基-1-壬基咪唑-4-羧酸乙酯c14 150mg,0.53mmol和 ϵ -己内酰胺72.4mg,0.64mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷98.1mg,0.64mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-壬基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d14),产率22.3%,黄色固体,熔点99-100℃;

[0150] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.62 (s, 1H), 4.40-4.31 (m, 2H), 4.03 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.04-2.97 (m, 2H), 1.84-1.74 (m, 6H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.26 (s, 4H), 1.20 (d, $J=14.6\text{Hz}$, 8H), 0.81 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 331.2492, found 331.2489.

[0151] 实施例18

[0152] 化合物3-十二基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡啶庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d15)的制备:

[0153] 将实施例3得到的为5-氨基-1-十二烷基咪唑-4-羧酸乙酯c15 150mg,0.46mmol和 ϵ -己内酰胺63.0mg,0.56mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷85.4mg,0.56mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-十二基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-

吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d15),产率28.4%,淡黄色固体,熔点94-95℃;

[0154] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.63 (s, 1H), 4.43-4.35 (m, 2H), 4.06 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.06-2.99 (m, 2H), 1.79 (tq, $J=9.7, 5.8, 4.4\text{Hz}$, 8H), 1.25 (d, $J=29.0\text{Hz}$, 18H), 0.84 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 373.2962, found 373.2959.

[0155] 实施例19

[0156] 化合物3-十四烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d16)的制备:

[0157] 将实施例3得到的5-氨基-1-十四烷基咪唑-4-羧酸乙酯c16 98.5mg, 0.4mmol和 ϵ -己内酰胺57.9mg, 0.51mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷78.6mg, 0.51mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-十四烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d16),产率26.1%,白色固体,熔点94-95℃;

[0158] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.63 (s, 1H), 4.43-4.31 (m, 2H), 4.05 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.06-2.97 (m, 2H), 1.81 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 6H), 1.76-1.70 (m, 2H), 1.30-1.25 (m, 4H), 1.21 (s, 15H), 0.83 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 401.3275, found 401.3270.

[0159] 实施例20

[0160] 化合物3-十六烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d17)的制备:

[0161] 将实施例3得到的5-氨基-1-十六烷基咪唑-4-羧酸乙酯c17 150mg, 0.40mmol和 ϵ -己内酰胺53.7mg, 0.47mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷72.8mg, 0.47mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,(采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-十六烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d17),产率32.4%,白色固体,熔点87-88℃;

[0162] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.65 (s, 1H), 4.44-4.38 (m, 2H), 4.07 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.07-3.02 (m, 2H), 1.86-1.79 (m, 6H), 1.78-1.73 (m, 2H), 1.31 (s, 4H), 1.23 (s, 20H), 0.86 (t, $J=6.8\text{Hz}$, 3H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 429.3588, found 429.3584.

[0163] 实施例21

[0164] 化合物3-十八烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d18)的制备:

[0165] 将实施例3得到的5-氨基-1-十八烷基咪唑-4-羧酸乙酯c18 150mg, 0.37mmol和 ϵ -己内酰胺50.0mg, 0.44mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷67.8mg, 0.44mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物为3-十八烷基-3,5,6,7,8,9-六氢-11H-吡庚英并[1,2-a]嘌呤-11-酮(d18),产率23.7%,黄色固体,熔点94-95℃;

[0166] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.66 (s, 1H), 4.42 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 4.08 (t, $J=7.2\text{Hz}$, 2H), 3.08-3.04 (m, 2H), 1.85-1.80 (m, 6H), 1.24 (s, 35H), 0.87 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 4H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{49}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 457.3901, found 457.3895.

[0167] 实施例22

[0168] 化合物3-苯基-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e1)的制备:

[0169] 将实施例3得到的5-氨基-1-苯基-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c1 150mg, 0.65mmol和 δ -戊内酰胺77.2mg, 0.78mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷119.4mg, 0.78mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物为3-苯基-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e1),产率22.2%,棕黄色固体,熔点170-171℃;

[0170] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.97 (s, 1H), 7.61 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 7.52 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 2H), 7.41 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 1H), 4.12 (t, $J=6.1\text{Hz}$, 2H), 2.95 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 1.97 (p, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 1.89 (p, $J=6.1\text{Hz}$, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 267.1240, found 267.1240.

[0171] 实施例23

[0172] 化合物3-(对甲苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e2)的制备:

[0173] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对甲苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c2 150mg, 0.61mmol和 δ -戊内酰胺72.8mg, 0.73mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷112.6mg, 0.73mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(对甲苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e2),产率28.7%,黄色固体,熔点179-180℃;

[0174] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.99 (s, 1H), 7.48 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 2H), 7.32 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 2H), 4.13 (t, $J=6.1\text{Hz}$, 2H), 2.95 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.41 (s, 3H), 1.97 (p, $J=6.0\text{Hz}$, 2H), 1.91 (q, $J=6.4\text{Hz}$, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 281.1397, found 281.1395.

[0175] 实施例24

[0176] 化合物3-(4-乙基苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e3)的制备:

[0177] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对乙苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c3 150mg, 0.58mmol和 δ -戊内酰胺68.8mg, 0.69mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷106.5mg, 0.69mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物为3-(4-乙基苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e3),产率27.2%,淡黄色固体,熔点180-181℃;

[0178] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.92 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 7.36 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H), 4.16 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 2.97 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.73 (q, $J=7.6\text{Hz}$, 2H), 1.96 (dq, $J=25.2, 6.8\text{Hz}$, 4H), 1.29 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 3H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 295.1553, found 295.1553.

[0179] 实施例25

[0180] 化合物3-(4-甲氧苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e4)的制备:

[0181] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对甲氧基苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c4 150mg, 0.57mmol和 δ -戊内酰胺68.3mg, 0.69mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷105.7mg, 0.69mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用

洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-甲氧苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e4),产率24.2%,黄色固体,熔点166-167℃;

[0182] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.08 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.9\text{Hz}$, 2H), 7.05 (d, $J=8.9\text{Hz}$, 2H), 4.15 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.97 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 1.99 (q, $J=6.4\text{Hz}$, 2H), 1.92 (q, $J=6.5\text{Hz}$, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 297.1346, found 297.1346.

[0183] 实施例26

[0184] 化合物e5 3-(4-氟苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e5)的制备:

[0185] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对氟苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c5 150mg, 0.60mmol和 δ -戊内酰胺71.6mg, 0.72mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷110.8mg, 0.72mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-氟苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e5),产率26.3%,白色固体,熔点170-171℃;

[0186] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.39 (s, 1H), 7.68 (dd, $J=8.8, 4.6\text{Hz}$, 2H), 7.28 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 4.15 (t, $J=6.1\text{Hz}$, 2H), 2.99 (t, $J=6.6\text{Hz}$, 2H), 2.03-1.97 (m, 2H), 1.94 (q, $J=6.3\text{Hz}$, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{FN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 285.1146, found 285.1145.

[0187] 实施例27

[0188] 化合物3-(4-溴苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e6)的制备:

[0189] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对溴苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c6 150mg, 0.49mmol和 δ -戊内酰胺57.7mg, 0.58mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷89.3mg, 0.58mmol,温度100℃回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-溴苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e6),产率22.3%,淡黄色固体,熔点171-172℃;

[0190] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.09 (s, 1H), 7.71-7.65 (m, 2H), 7.60-7.54 (m, 2H), 4.14 (t, $J=6.1\text{Hz}$, 2H), 2.97 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.00 (p, $J=5.8\text{Hz}$, 2H), 1.96-1.89 (m, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{BrN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 345.0346, found 345.0345.

[0191] 实施例28

[0192] 化合物3-(4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e7)的制备:

[0193] 将实施例3得到的5-氨基-1-(对氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c7 150mg, 0.57mmol和 δ -戊内酰胺67.3mg, 0.68mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷104.1mg, 0.68mmol,温度100℃加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e7),产率26.1%,黄色固体,熔点195-196℃;

[0194] $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.92 (s, 1H), 7.63-7.57 (m, 2H), 7.55-7.50 (m, 2H), 4.16 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 2.98 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 2.04-1.89 (m, 4H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 301.0851, found 301.0850.

[0195] 实施例29

[0196] 化合物3-(3-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e8)的制备:

[0197] 将实施例3得到的5-氨基-1-(间氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c8 150mg,

0.57mmol和 δ -戊内酰胺67.3mg,0.68mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷104.1mg,0.68mmol,温度100°C加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(3-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e8),产率27.3%,淡黄色固体,熔点195-196°C;

[0198] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.79 (s, 1H), 7.62 (d, $J=2.0\text{Hz}$, 1H), 7.46-7.39 (m, 2H), 4.48-4.40 (m, 2H), 3.03-2.95 (m, 2H), 1.81 (tdd, $J=11.9, 9.4, 8.6, 5.0\text{Hz}$, 6H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 315.1007, found 315.1005.

[0199] 实施例30

[0200] 化合物3-(2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e9)的制备:

[0201] 将实施例3得到的5-氨基-1-(邻氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c9 150mg, 0.57mmol和 δ -戊内酰胺67.3mg,0.68mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷104.1mg,0.68mmol,温度100°C回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e9),产率34.5%,黄色固体,熔点217-218°C;

[0202] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.87 (s, 1H), 7.62-7.59 (m, 1H), 7.51-7.44 (m, 3H), 4.15 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 2.92 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 1.99 (p, $J=6.8\text{Hz}$, 2H), 1.89 (p, $J=6.0\text{Hz}$, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 301.0851, found 301.0849.

[0203] 实施例31

[0204] 化合物3-(2,4-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e10)的制备:

[0205] 将实施例3得到的5-氨基-1-(2,4-二氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c10 150mg, 0.50mmol和 δ -戊内酰胺59.6mg,0.60mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,然后加入无水三氯氧磷92.3mg,0.60mmol,温度100°C加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(2,4-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e10),产率24.6%,淡黄色固体,熔点170-171°C;

[0206] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.85 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.46-7.40 (m, 2H), 4.13 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 2.90 (t, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 1.97 (q, $J=6.2\text{Hz}$, 2H), 1.89 (p, $J=6.5\text{Hz}$, 2H). HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}[\text{M}+\text{H}]^+$ 335.0461, found 335.0461.

[0207] 实施例32

[0208] 化合物3-(3,5-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e11)的制备:

[0209] 将实施例3得到的5-氨基-1-(3,5-二氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c11 150mg, 0.50mmol和 δ -戊内酰胺59.6mg,0.60mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,然后加入无水三氯氧磷92.3mg,0.60mmol,温度100°C加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(3,5-二氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e11),产率25.9%,白色固体,熔点241-242°C;

[0210] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.05 (s, 1H), 7.64 (d, $J=1.6\text{Hz}$, 2H), 7.42 (s, 1H), 4.14 (t, J

=6.1Hz, 2H), 3.00 (t, J=6.6Hz, 2H), 2.02-1.97 (m, 2H), 1.94 (q, J=6.6Hz, 2H). HRMS (ESI) calcd for $C_{15}H_{13}Cl_2N_4O[M+H]^+$ 335.0461, found 335.0458.

[0211] 实施例33

[0212] 化合物3-(2-溴-4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e12)的制备:

[0213] 将实施例3得到的5-氨基-1-(4-氯-2-溴苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c12 150mg, 0.44mmol和 δ -戊内酰胺52.0mg, 0.52mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷80.5mg, 0.52mmol,加热回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(2-溴-4-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e12),产率26.2%,白色固体,熔点163-164°C;

[0214] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.78 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.47 (dd, J=8.4, 2.2Hz, 1H), 7.37 (d, J=8.4Hz, 1H), 4.16-4.11 (m, 2H), 2.90 (t, J=6.7Hz, 2H), 1.98 (p, J=6.6, 6.1Hz, 2H), 1.89 (p, J=6.1Hz, 2H). HRMS (ESI) calcd for $C_{15}H_{13}BrClN_4O[M+H]^+$ 378.9956 found 378.9954.

[0215] 实施例34

[0216] 化合物3-(4-溴-2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e13)的制备:

[0217] 将实施例3得到的5-氨基-1-(4-溴-2-氯苯基)-1H-咪唑-4-羧酸乙酯c13 50mg, 0.44mmol)和 δ -戊内酰胺52.0mg, 0.52mmol溶解在5mL 1,4-二氧六环中,滴加无水三氯氧磷80.5mg, 0.52mmol,温度100°C回流,TLC监测反应完全后,除去溶剂,柱层析分离,采用洗脱剂体积比5:1-3:1的二氯甲烷:乙酸乙酯洗脱,干燥,得到化合物3-(4-溴-2-氯苯基)-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,2-a]嘌呤-10(3H)-酮(e13),产率26.1%,白色固体,熔点232-233°C;

[0218] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.93 (s, 1H), 7.84 (d, J=2.5Hz, 1H), 7.79 (d, J=8.6Hz, 1H), 7.46 (dd, J=8.6, 2.5Hz, 1H), 4.18-4.13 (m, 2H), 2.99 (t, J=6.7Hz, 2H), 2.04-1.90 (m, 4H). HRMS (ESI) calcd for $C_{15}H_{13}BrClN_4O[M+H]^+$ 378.9956, found 378.9953.

[0219] 实施例35

[0220] 将实施例4-34得到的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物的抗肿瘤活性筛选:

[0221] MTT法检测细胞存活率:

[0222] 实验过程:将生长在对数生长期的细胞,吸去培养基,磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗1次,胰酶消化,加Dulbecco's改良培养基(添加10%胎牛血清和1%双抗)终止,轻轻吹打,计数,以相应的细胞密度接种在96孔板中(100 μL /孔),过夜培养,加化合物(20 μL /孔),每一化合物设浓度梯度,每一浓度设3复孔, CO_2 温度37°C培养箱内培养48小时,吸弃旧培养基,加入MTT 100 μL ,再继续培养2h,温度37°C孵育2小时后,使用MB酶标仪测570nm处的光吸收值(OD);

[0223] 计算公式:

[0224] 细胞活力百分比% = (化合物OD-空白OD/对照组OD-空白OD) \times 100%

[0225] 细胞抑制率% = 1-细胞活力% = [1- (化合物OD-空白OD/对照组OD-空白OD)] \times 100%,用graphpad,经公式拟合得 IC_{50} ;

[0226] 样品处理:样品用二甲基亚砜(DMSO)溶解,低温保存,DMSO在最终体系中的浓度控

制在不影响检测活性的范围之内；

[0227] 数据处理及结果说明：初筛选择单浓度条件下，例如单体化合物浓度50 μ M；提取物50 μ g/ μ L，对样品的活性进行测试；对于在一定条件下表现出活性的样品，例如抑制率% (Inhibition) 大于50%，进一步测试活性剂量依赖关系，即IC₅₀值，通过样品活性对样品浓度进行非线性拟和得到，计算所用软件为Graphpad Prism 4；通常情况下，每个样品在测试中均设置复孔 (n \geq 3)，在结果中以标准偏差 (Standard Deviation, SD) 表示；

[0228] 表1三环化合物d1-d18和e1-e13抗肿瘤活性结果

化合物编号	HT-29	MCF-7	HeLa
	IC ₅₀ (μ M)		
d1	-	-	-
d2	-	-	21.17 \pm 0.97
d3	-	-	-
d4	-	-	-
d5	-	-	-
d6	-	-	10.10 \pm 0.56
d7	-	-	7.50 \pm 0.28
d8	-	-	-
d9	-	-	-
d10	-	-	17.14 \pm 0.78
d11	-	-	21.17 \pm 0.97
d12	-	-	-
d13	-	-	-
d14	44.32 \pm 5.07	-	-
d15	15.01 \pm 1.09	41.92 \pm 7.37	17.95 \pm 2.00
d16	12.55 \pm 0.19	22.98 \pm 2.81	19.77 \pm 3.73
d17	9.62 \pm 1.82	22.28 \pm 0.62	19.21 \pm 1.48
d18	3.28 \pm 0.57	7.13 \pm 0.27	14.24 \pm 0.41
e1	-	-	20.74 \pm 0.85
e2	-	-	51.85 \pm 2.69
e3	-	-	-
e4	-	-	-
e5	-	-	-
e6	-	-	14.47 \pm 0.69
e7	-	-	23.26 \pm 4.24
e8	-	-	-
e9	-	-	-
e10	-	-	12.32 \pm 0.54
e11	-	-	52.25 \pm 2.77
e12	-	-	42.55 \pm 1.22
e13	-	-	28.99 \pm 1.41
DOX	0.34 \pm 0.021	0.95 \pm 0.09	0.30 \pm 0.013

[0231] 从表中可以看出：本发明所述的咪唑并[4,5-d]嘧啶酮三环类衍生物d1-d18和e1-

e13中,化合物d14,d15,d16,d17,d18对HT-29人结肠癌细胞有一定的抑制活性,其中d18活性最好,IC₅₀为 $3.28 \pm 0.57 \mu\text{M}$;d15,d16,d17,d18对MCF-7乳腺癌细胞具有一定的活性,其中化合物d18活性最好,IC₅₀为 $7.13 \pm 0.27 \mu\text{M}$;化合物d2,d6,d7,d10,d11,d15,d16,d17,d18,e1,e2,e6,e7,e10,e11,e12,e13对HeLa人宫颈癌细胞有一定的抑制活性,其中d7的活性最好,IC₅₀为 $7.50 \pm 0.28 \mu\text{M}$ 。