

N-3,4,6,7-四氢-2*H*-取代嘧啶并[1,6-*c*]喹唑啉-2-烯胺类衍生物的合成及其体外抗肿瘤活性研究

李 唯^{1,2}, 周 峰^{2,3}, 陈婉清¹, 周有骏^{2*}

1. 福建省医学科学研究院 福建省医学测试重点实验室, 福建 福州 350001

2. 第二军医大学 药学院 药物化学教研室, 上海 200433

3. 上海医药工业研究院 创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 200040

摘要: 目的 合成 *N*-3,4,6,7-四氢-2*H*-取代嘧啶并[1,6-*c*]喹唑啉-2-烯胺类衍生物, 并对其体外抗肿瘤活性研究。方法 以 4,6-二氯嘧啶和 6-氨基-1,4-苯并二氧杂环为起始原料, 经过氨化、Suzuki 偶联、缩合反应和环合反应合成一系列 *N*-3,4,6,7-四氢-2*H*-取代嘧啶并[1,6-*c*]喹唑啉-2-烯胺类化合物, 并采用 MTT 法对其体外抗肿瘤活性进行研究。结果 设计并合成了 18 个目标化合物, 结构经 ¹H-NMR 和 MS 确证。活性测试结果显示多个目标化合物抗肿瘤活性与阳性对照药索拉非尼相近。结论 发现了一类全新结构的骨架分子, 目标化合物具有较强的抗肿瘤活性, 为新型抗肿瘤化合物的设计与合成提供思路。

关键词: 4,6-二氯嘧啶; 6-氨基-1,4-苯并二氧杂环; 抗肿瘤活性

中图分类号: R914.2; R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2016)07-1171-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.07.002

Synthesis of *N*-3,4,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrimido [1,6-*c*]quinazolin -2-imine derivatives and their antitumor activities *in vitro*

LI Wei^{1,2}, ZHOU Feng^{2,3}, CHEN Wan-qing¹, ZHOU you-jun²

1. Fujian Provincial Key Laboratory of Medical Analysis, Fujian Academy of Medical Sciences, Fuzhou 350001, China

2. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

3. State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China

Abstract: Objective To synthesize *N*-3,4,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrimido[1,6-*c*]quinazolin-2-imine derivatives, and to investigate their antitumor activities *in vitro*. **Methods** 2,6-Dichloropyrimidine and 6-amino-1,4-benzodioxole were used as starting materials to synthesize a series of 3,4,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrimido[1,6-*c*]quinazolin-2-imine derivatives through amination, Suzuki couple reaction, condensation, and cyclization reaction. The antitumor activities *in vitro* were determined by MTT assay. **Results** Eighteen target compounds were designed and synthesized, and their chemical structures were confirmed by ¹H-NMR and MS. Antitumor activities test showed that some target compounds have as the same antitumor activities as sorafenib. **Conclusion** A novel skeleton molecular are discovered, and the targeted compounds have good antitumor activities, which offer new mentality to design and synthesize novel antitumor compounds in the future.

Key words: 2,6-dichloropyrimidine; 6-amino-1,4-benzodioxole; antitumor activity

结肠癌是在西欧和北美的发达国家中最常见的恶性肿瘤, 而且在中国也属于 9 个常见的恶性肿瘤之一。在过去的 30 年中, 结肠癌在包括我国在内的大多数国家的发病率呈明显的上升趋势。结肠癌的发病率在中国所有肿瘤发病率中排名第 5 位, 而且

上升趋势明显^[1]。肺癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 且发病率和死亡率逐年上升, 80% 的肺癌在诊断后的 1 年内死亡, 其中非小细胞肺癌 (NSCLC) 占肺癌病例的 80%~85%^[2]。目前 NSCLC 的主要治疗方法包括手术、化疗、放疗和分子靶向^[3-4]等综合

收稿日期: 2017-05-24

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2016J01352); 福建省省属公益类科研院所基本科研专项 (2015R1031-1); 福建省医学科学研究院青年科研课题 (201401)

作者简介: 李 唯, 男, 研究方向为抗肿瘤药物的合成。Tel: (0591)87544545 E-mail: 258291562@qq.com

*通信作者 周有骏, 教授, 博士生导师, 研究方向为抗肿瘤药物的设计与合成。Tel: (021)81871231 E-mail: zhouyoujun2005@aliyun.com

性治疗。大多数 NSCLC 患者就诊时已属晚期, 失去了手术机会, 化疗成为最主要的抗肿瘤治疗。

本课题组前期合成的 *N*-3,4,6,7-四氢-2*H*-取代嘧啶并[1,6-*c*]喹唑啉-2-烯胺类化合物是新的杂环骨架类型。初步的生物活性研究表明这类型化合物有抑制肿瘤细胞的活性, 是一类很有开发价值的抗肿瘤先导化合物^[5]。本研究选用结肠癌细胞 HCT116 和非小细胞肺癌细胞 A549, 重点考察该骨架 6 位上引入不同取代芳香基团对其抗肿瘤活性的影响。

1 仪器与试剂

85-1 型磁力搅拌器 (上海志威电器有限公司); KE-20-5 型旋转蒸发仪 (上海予华仪器设备有限公司); SHB-III 型循环水式多用真空泵 (巩义市英峪华科仪器厂); Bruker DRX-300 型核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); Agilent 6120 型液-质联用仪 (美国 Agilent 公司); 5% CO₂ 细胞培养箱 (Heal Force 公司); Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪

(Thermo Scientific)。

4,6-二氯嘧啶 (质量分数 98%, 上海书亚医药科技公司); 6-氨基-1,4-苯并二氧杂环 (质量分数 98%, 梯希爱化成工业发展有限公司)。人肺腺癌细胞 A549 和人结肠癌细胞 HCT116 由上海医药工业研究院药理研究室冻存和传代。二甲基亚砜 (DMSO, Merck 公司); 噻唑蓝 (MTT, Sigma 公司); DMEM 培养基 (Sigma 公司); 阳性对照索拉非尼 (质量分数 98%, 百灵威科技有限公司); 其他所用试剂均为分析纯。

2 合成部分

以 4,6-二氯嘧啶和 6-氨基-1,4-苯并二氧杂环为起始原料, 经过氨化、Suzuki 偶联、缩合反应和环合反应合成一系列 *N*-3,4,6,7-四氢-2*H*-取代嘧啶并[1,6-*c*]喹唑啉-2-烯胺类化合物。以化合物 **4a** 的合成为例来介绍该类化合物的合成, 合成路线见图 1, **4b~4r** 的制备方法同化合物 **4a** 的制备方法。

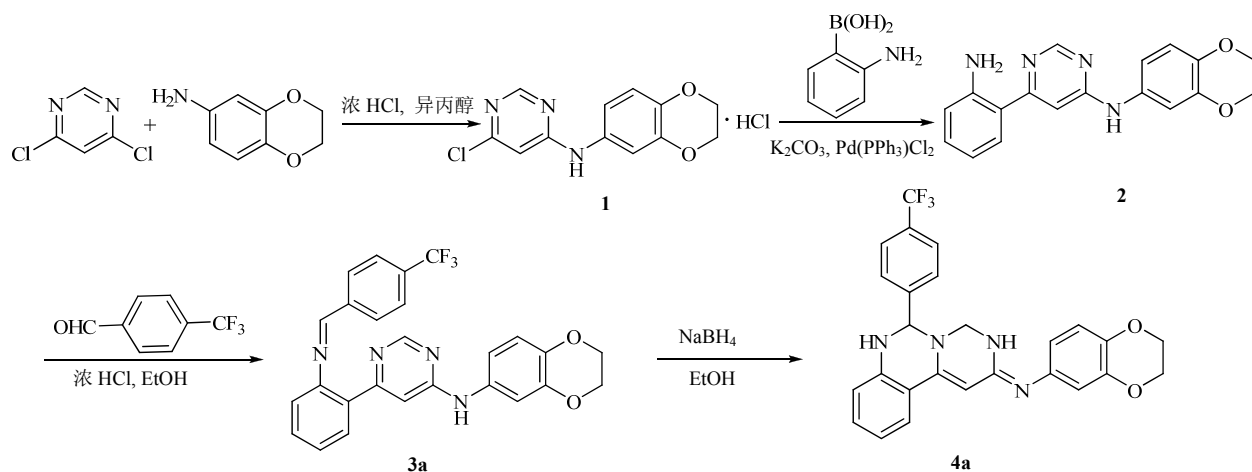


图 1 目标化合物 **4a** 的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compound **4a**

2.1 6-氯-*N*-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英-6-基)嘧啶-4-胺 (**1**) 的合成

按照文献报道^[6]的方法, 将 4,6-二氯嘧啶 (2 g, 13.42 mmol) 和 2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英-6-胺 (1.4 g, 9.59 mmol) 投入到 20 mL 异丙醇中反应 2.5 h, 反应液滤过, 用少量异丙醇清洗滤饼得化合物 **1**。

2.2 6-(2-氨基苯基)-*N*-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英-6-基)嘧啶-4-胺 (**2**) 的合成

将 2-氨基苯硼酸 (1.9 g, 14 mmol)、化合物 **1** (3.0 g, 10 mmol)、K₂CO₃ (4.14 g, 30 mmol) 和 Pd(PPh₃)₄ (0.35 g, 5 mol) 加入到 1,4-二氧六环

(30 mL) 和水 (15 mL) 的混合溶液中, 氮气保护下, 回流反应 2.5 h。在反应液中加入 15 mL 水, 醋酸乙酯萃取 3 次。萃取液用饱和氯化钠水溶液洗, 无水硫酸钠干燥, 滤过, 减压除去有机溶剂得粗品, 石油醚-醋酸乙酯 (1:1) 洗脱, 柱色谱分离得黄色固体 (2.9 g), 收率 91%, mp 192~196 °C。ESI-MS *m/z*: 321.13 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.38 (s, 1H, pyrimidine-CH), 8.61 (d, *J*=1.1 Hz, 1H, pyrimidine-CH), 7.41 (dd, *J*=7.9、1.5 Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, *J*=2.5 Hz, 1H, ArH), 7.12 (ddd, *J*=8.5、7.1、1.6 Hz, 1H, ArH), 7.02 (dd,

$J=8.7$ 、 2.5 Hz, 1H, ArH), 6.95 (d, $J=1.1$ Hz, 1H, ArH), 6.82 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 6.75 (dd, $J=8.2$ 、 1.2 Hz, 1H, ArH), 6.61 (ddd, $J=8.1$ 、 7.1 、 1.2 Hz, 1H, ArH), 6.56 (s, 2H, NH₂), 4.26~4.20 (m, 4H, CH₂)。

2.3 *N*-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英-6-基)-6-((4-(三氟甲基)苯亚甲基)氨基)苯基)嘧啶-4-胺 (3a) 的合成

将 4-(三氟甲基)苯甲醛 (0.19 g, 1.09 mmol) 和化合物 2 (250 mg, 0.78 mmol) 悬浮于 5 mL 乙醇中, 搅拌。往混悬液中滴加浓盐酸 (0.2 mL), 室温搅拌过夜, 滤过, 用少量乙醇洗涤, 抽干, 滤饼于 50 °C 下鼓风干燥, 得黄色固体。所得固体悬浮于 MeOH 中, 滴加 NaOH 水溶液, 使席夫碱脱盐酸盐。将固体滤过, 用少量 MeOH 洗涤, 得白色固体 (294.9 mg), 收率 79.3%, mp 218~221 °C。ESI-MS m/z : 477.15 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.38 (s, 1H, pyrimidine-CH), 8.74 (s, 1H, ArH), 8.63 (d, $J=0.8$ Hz, 1H, pyrimidine-CH), 8.08 (d, $J=8$ Hz, 2H, ArH), 7.91 (dd, $J=8$ 、 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.87 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, ArH), 7.53 (td, $J=7.6$ 、 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.41 (td, $J=7.6$ 、 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.24 (dd, $J=8$ 、 0.8 Hz, 1H, ArH), 7.11 (s, 1H, ArH), 7.05 (d, $J=1.2$ Hz, 1H, ArH),

6.86 (d, $J=6.4$ Hz, 1H, ArH), 6.58 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 4.17~4.15 (m, 4H, CH₂)。

2.4 *N*-(2,3-二氢苯并[b][1,4]二噁英-6-基)-6-(4-(三氟甲基)苯基)-3,4,6,7-四氢-2H-嘧啶并[1,6-c]喹啉-2-烯胺 (4a) 的合成

50 mL 反应瓶中加入化合物 3 (336 mg, 0.7 mmol) 和无水乙醇 (6 mL), 搅拌 15 min。然后加入硼氢化钠 (40 mg, 1 mmol), 室温下搅拌 1 h, TLC 检测无反应物后, 将反应液用稀盐酸淬灭。加水, 用二氯甲烷萃取, 无水 Na₂SO₄ 干燥。蒸干溶液, 所得固体用氧化铝 (200~300 目) 柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (100:0→100:15) 洗脱, 浓缩后得淡黄色油状物 (235 mg), 收率 70%。

目标化合物 4a~4r 的母核结构见图 2, 波谱数据见表 1。

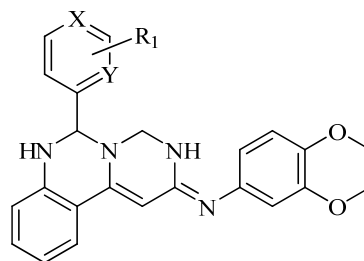


图 2 目标化合物 4a~4r 的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of target compounds 4a — 4r

表 1 目标化合物的结构数据

Table 1 Structure data of target compounds

编号	X	Y	R ₁	ESI m/z	核磁数据
4a	C	C	4-CF ₃	479.27	¹ H-NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ : 7.73 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, ArH), 7.63 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, ArH), 7.57 (s, 1H, ArH), 7.44 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.19 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 6.86 (dd, $J=9.6$ 、 7.6 Hz, 1H, ArH), 6.76 (ddd, $J=12.6$ 、 9.2 、 3.4 Hz, 4H, ArH), 5.75 (s, 1H, CH), 5.67 (s, 1H, CH), 4.61~4.50 (m, 2H, CH ₂), 4.17 (s, 4H, CH ₂)
4b	N	C	H	412.23	¹ H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 8.51 (d, $J=6.1$ Hz, 2H, ArH), 7.58 (s, 1H, ArH), 7.43 (d, $J=5.9$ Hz, 2H, ArH), 7.37 (dd, $J=11.3$ 、 4.2 Hz, 1H, ArH), 6.94 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 6.89 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, ArH), 6.87~6.82 (m, 2H, ArH), 6.80 (dd, $J=8.6$ 、 2.5 Hz, 1H, ArH), 6.08 (s, 1H, ArH), 5.80 (s, 1H, CH), 4.95 (s, 1H, CH), 4.79 (d, $J=10.7$ Hz, 1H, CH ₂), 4.28 (s, 4H, CH ₂), 3.35 (s, 1H, CH ₂)
4c	C	C	2,6-Cl	479.26	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ : 7.62 (s, 1H, ArH), 7.60 (d, $J=7.9$ Hz, 2H, ArH), 7.50 (dd, $J=8.6$ 、 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.27 (dd, $J=11.2$ 、 4.2 Hz, 1H, ArH), 6.88 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, ArH), 6.79 (s, 2H, ArH), 6.72 (dd, $J=8.6$ 、 2.5 Hz, 1H, ArH), 6.69 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, ArH), 6.66 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, ArH), 5.90 (s, 1H, CH), 4.46 (d, $J=10.4$ Hz, 1H, CH ₂), 4.22 (s, 4H, CH ₂), 4.10 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, CH ₂)

续表1

编号	X	Y	R ₁	ESI <i>m/z</i>	核磁数据
4d	C	C	4-C(CH ₃) ₃	467.33	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 7.43 (d, <i>J</i> =3.7 Hz, 5H, ArH), 7.28 (s, 1H, ArH), 7.13 (t, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H, ArH), 7.07 (s, 1H, ArH), 6.87 (d, <i>J</i> =8.1 Hz, 1H, ArH), 6.76~6.63 (m, 3H, ArH), 5.58 (s, 1H, CH), 5.31 (s, 1H, CH), 4.35 (d, <i>J</i> =9.7 Hz, 1H, CH ₂), 4.26 (d, <i>J</i> =9.8 Hz, 1H, CH ₂), 4.14 (d, <i>J</i> =1.8 Hz, 4H, CH ₂), 1.26 (s, 9H, CH ₃)
4e	C	N	H	412.24	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 8.48 (d, <i>J</i> =4.8 Hz, 1H, ArH), 7.73 (t, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H, ArH), 7.34 (dd, <i>J</i> =7.8、4.3 Hz, 2H, ArH), 7.26 (t, <i>J</i> =6.1 Hz, 3H, ArH), 7.07 (t, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H, ArH), 6.82 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 1H, ArH), 6.64 (dd, <i>J</i> =16.4、8.4 Hz, 3H, ArH), 5.48 (s, 1H, CH), 5.41 (s, 1H, CH), 4.51 (d, <i>J</i> =9.9 Hz, 1H, CH ₂), 4.41 (d, <i>J</i> =9.9 Hz, 1H, CH ₂), 4.10 (d, <i>J</i> =3.1 Hz, 4H, CH ₂)
4f	C	C	4-CH ₃	425.31	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 7.89 (s, 1H, ArH), 7.46 (d, <i>J</i> =7.8 Hz, 1H, ArH), 7.36~7.22 (m, 3H, ArH), 7.16 (d, <i>J</i> =7.8 Hz, 2H, ArH), 6.97 (s, 1H, ArH), 6.86 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 3H, ArH), 6.72 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 1H, ArH), 5.87 (s, 1H, CH), 5.84 (s, 1H, CH), 4.61 (dd, <i>J</i> =41.2、10.5 Hz, 2H, CH ₂), 4.22 (s, 2H, CH ₂), 2.25 (s, 3H, CH ₃)
4g	C	C	H	411.22	¹ H-NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 7.98 (s, 1H, ArH), 7.48 (dd, <i>J</i> =24.6、7.7 Hz, 1H, ArH), 7.43 (d, <i>J</i> =7.4 Hz, 2H, ArH), 7.38 (s, 1H, ArH), 7.36 (d, <i>J</i> =7.7 Hz, 2H, ArH), 7.34~7.30 (m, 1H, ArH), 7.30~7.25 (m, 1H, ArH), 6.98 (d, <i>J</i> =1.9 Hz, 1H, ArH), 6.90~6.81 (m, 3H, ArH), 6.73 (t, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H, ArH), 5.95 (s, 1H, CH), 5.88 (s, 1H, CH), 4.73 (d, <i>J</i> =10.6 Hz, 1H, CH ₂), 4.58 (d, <i>J</i> =10.5 Hz, 1H, CH ₂), 4.23 (q, <i>J</i> =4.9 Hz, 4H, CH ₂)
4h	C	C	3,5-2OCH ₃	471.52	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 7.88 (s, 1H, ArH), 7.43 (d, <i>J</i> =7.8 Hz, 1H, ArH), 7.24 (t, <i>J</i> =7.2 Hz, 1H, ArH), 7.06 (s, 1H, ArH), 6.94~6.78 (m, 3H, ArH), 6.71 (t, <i>J</i> =7.1 Hz, 1H, ArH), 6.58 (s, 2H, ArH), 6.43 (s, 1H, ArH), 5.81 (s, 1H, CH), 5.76 (s, 1H, CH), 4.72 (d, <i>J</i> =10.2 Hz, 1H, CH ₂), 4.57 (d, <i>J</i> =10.3 Hz, 1H, CH ₂), 4.21 (s, 4H, CH ₂), 3.72 (d, 6H, OCH ₃)
4m	C	C	4-COOMe	469.33	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 8.11 (s, 1H, ArH), 7.93 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 2H, ArH), 7.54 (d, <i>J</i> =8.1 Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1H, ArH), 7.29 (t, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H, ArH), 6.99 (s, 1H, ArH), 6.93~6.83 (m, 3H, ArH), 6.75 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 1H, ArH), 6.11 (s, 1H, CH), 5.85 (s, 1H, CH), 4.85 (d, <i>J</i> =10.5 Hz, 1H, CH ₂), 4.63 (d, <i>J</i> =10.7 Hz, 1H, CH ₂), 4.23 (s, 4H, CH ₂), 3.85 (s, 3H, COOCH ₃)
4n	C	C	4-Cl	445.36	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 8.10 (s, 1H, ArH), 7.57~7.35 (m, 5H, ArH), 7.29 (t, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H, ArH), 6.96 (s, 1H, ArH), 6.92~6.78 (m, 3H, ArH), 6.74 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 1H, ArH), 6.04 (s, 1H, CH), 5.86 (s, 1H, CH), 4.71 (dd, <i>J</i> =62.2、10.8 Hz, 2H, CH ₂), 4.23 (s, 4H, CH ₂)
4o	C	C	4-Br	489.46	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 8.05 (s, 1H, ArH), 7.57 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, <i>J</i> =7.8 Hz, 1H, ArH), 7.41~7.22 (m, 3H, ArH), 6.97 (s, 1H, ArH), 6.93~6.80 (m, 3H, ArH), 6.75 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 1H, ArH), 6.01 (s, 1H, CH), 5.84 (s, 1H, CH), 4.70 (dd, <i>J</i> =57.9、10.5 Hz, 2H, CH ₂), 4.24 (s, 4H, CH ₂)

续表 1

编号	X	Y	R ₁	ESI <i>m/z</i>	核磁数据
4p	C	C	3-OCH ₂ O-4	455.29	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 7.88 (s, 1H, ArH), 7.47 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1H, ArH), 7.31 (t, <i>J</i> =7.6 Hz, 1H, ArH), 7.05~6.65 (m, 8H, ArH), 6.00 (s, 2H, ArH), 5.89 (s, 1H, CH), 5.79 (s, 1H, CH), 4.63 (dd, <i>J</i> =45.0、10.7 Hz, 2H, CH ₂), 4.24 (s, 4H, CH ₂), 3.73(s, 2H, OCH ₂ O)
4q	C	C	4-OH	427.32	¹ H-NMR (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 8.41 (s, 1H, ArH), 7.89 (s, 1H, ArH), 7.48 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1H, ArH), 7.38~7.27 (m, 1H, ArH), 7.23 (d, <i>J</i> =8.6 Hz, 2H, ArH), 6.92 (d, <i>J</i> =8.6 Hz, 1H, ArH), 6.87 (s, 1H, ArH), 6.85 (d, <i>J</i> =2.6 Hz, 1H, ArH), 6.84~6.73 (m, 4H, ArH), 5.88 (s, 2H, CH), 4.57 (dd, <i>J</i> =56.8、10.6 Hz, 2H, CH ₂), 4.20 (s, 4H, CH ₂)
4r	C	C	3,4-2OCH ₃	471.34	¹ H-NMR (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 7.83 (s, 1H, ArH), 7.48 (d, <i>J</i> =8.2 Hz, 1H, ArH), 7.30 (t, <i>J</i> =7.7 Hz, 1H, ArH), 7.04 (s, 1H, ArH), 7.00~6.71 (m, 7H, ArH), 5.85 (s, 1H, CH), 5.77 (d, <i>J</i> =4.2 Hz, 1H, CH), 4.59 (dd, <i>J</i> =37.9、10.8 Hz, 2H, CH ₂), 4.24 (s, 4H, CH ₂), 3.75 (s, 3H, CH ₃), 3.74 (s, 3H, CH ₃)

3 抗肿瘤活性

样品 **4a**~**4r** 用 DMSO 溶解后, 加入磷酸缓冲液配成 1 000 μmol/L 的溶液或均匀的混悬液, 然后用含 DMSO 的磷酸缓冲液稀释为 100、10、1、0.1、0.01、0.001 μg/mL。96 孔板每孔加入 (4~10) × 10⁴ 个/mL 细胞悬液 100 μL, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱内。24 h 后, 加入样品液, 10 μL/孔, 设双复孔, 37 °C、5% CO₂ 作用 72 h。每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL, 作用 4 h 后加入溶解液, 100 μL/孔, 置培养箱内, 溶解后用全波长多功能酶标仪在 570 nm 波长测定每孔的吸光度 (*A*) 值, 用 Bliss 法计算半数抑制浓度 (IC₅₀) 值^[7]。见表 2。

4 讨论

本研究共合成了 18 个骨架 6 位具有不同取代芳香基团的化合物, 其结构经 ¹H-NMR 和 MS 进行确证, 并对其体外肿瘤活性进行研究。作为一种新结构类型的化合物, 大部分目标化合物表现了不同程度的体外抗肿瘤活性。构效关系研究表明: (1) 4-嘧啶取代基和 2-嘧啶取代基 (化合物 **4b** 和 **4e**) 替代苯环 (化合物 **4g**) 后, 活性大幅降低; (2) 苯环 4 位引入亲脂性、大体积的基团有利于活性的提升: 4 位引入叔丁基 (化合物 **4d**) 抗肿瘤活性明显优于苯环上无取代 (化合物 **4g**); (3) 在 4 位引入亲水性基团羟基 (化合物 **4q**), 抗肿瘤活性大幅下降; (4) 当 3 和 4 位同时引入甲氧基时活性明显降低, 如 3,4-2OCH₃ 取代的化合物 **4r** 对所测的 A549、HCT116 两个细胞株的 IC₅₀ 均大于 10 μmol/L, 又如苯并[d]

表 2 目标化合物的抗肿瘤活性

Table 2 Anti-tumor activity of target compounds

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	
	A549 细胞	HCT116 细胞
4a	7.4	2.9
4b	48.5	45.4
4c	11.2	6.9
4d	2.2	1.1
4e	85.6	25.1
4f	3.7	2.7
4g	7.4	6.3
4h	5.4	5.8
4i	7.7	22.3
4j	7.2	9.4
4k	5.9	4.8
4l	6.9	12.5
4m	12.8	3.2
4n	5.6	6.7
4o	5.8	3.1
4p	11.1	21.1
4q	46.7	48.1
4r	42.4	54.7
索拉非尼	11.2	1.8

[1,3]二氧杂环戊烯取代的化合物 **4p**, 对 A549、HCT116 两个细胞株的 IC₅₀ 均大于 10 μmol/L。

综上所述, 本实验合成了 18 个 *N*-3,4,6,7-四氢-

6-取代嘧啶并[1,6-c]喹唑啉-2-烯胺类化合物, 并对其体外抗肿瘤活性进行研究, 大多表现出较好的抗肿瘤活性。其中以化合物 **4d** 的抗肿瘤活性最强, 其对肝癌 HCT116 细胞的生长抑制活性与阳性对照药索拉非尼相当, 对肺癌 A549 细胞的生长抑制活性还超过了阳性对照药物。在骨架 6 位苯环的 4 位引入疏水性大体积基团, 有利于活性的提高。该类型化合物的发现为新型抗肿瘤化合物的设计与合成提供思路。

参考文献

- [1] 郝炳富, 郝桂娟. 结肠癌的诊断新进展 [J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(4), 192-193.
- [2] 姚晓军, 刘伦旭. 肺癌的流行病学及治疗现状 [J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(8): 1982-1986.
- [3] 王以富, 穆 帅, 张晓军. ALK 阳性非小细胞肺癌靶向治疗药物研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(7): 1118-1124.
- [4] 徐晓燕, 陈 鹏. 作用于 Met 靶点的非小细胞肺癌治疗药物研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(4): 562-566.
- [5] Li W, Zhou X T, Chen Y, *et al.* Synthesis of antitumor 3,4,6,7-tetrahydro-2*H*-pyrimido [1,6-*c*] quinazolin-2-imine derivatives via reductive dearomatization-initiated intramolecular cyclization [J]. *Tetrahedron*, 2016, 72(23): 3185-3192.
- [6] Hartung C G, Backes A C, Felber B, *et al.* Efficient microwave-assisted synthesis of highly functionalized pyrimidine derivatives [J]. *Tetrahedron*, 2006, 62(43): 10055-10064.
- [7] Liu J, Zheng C H, Zhou Y J, *et al.* Synthesis and biological evaluation of 1-benzylidene-3,4-dihydronaphthafen-2-one as a new class of microtubule-targeting agents [J]. *J Med Chem*, 2012, 55(12): 5720-5733.