

· 论 文 ·

噁唑并[5,4-d]嘧啶类化合物的设计、合成及其抗肿瘤活性

李明涛[#], 徐丹[#], 薛文君, 尤启冬^{*}, 孙丽萍^{**}

(中国药科大学药学院药物化学教研室, 江苏省药物分子设计与成药性优化重点实验室, 南京 210009)

摘要 为了寻找具有更好抗肿瘤活性的化合物, 设计合成了一系列噁唑并[5,4-d]嘧啶类衍生物。以盐酸乙脒为起始原料, 合成了 13 个化合物 **8a~8m**; 目标化合物结构经 IR、¹H NMR、EI-MS 和元素分析确证; 采用 MTT 法先后对目标化合物进行了人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 的抗肿瘤血管生成抑制活性测试和 3 株肿瘤细胞 (A549、HepG2、U251) 的体外抗肿瘤活性测试; 结果表明, 化合物 **8c**、**8d**、**8g**、**8i** 和 **8l** 对 HUVEC 和 3 株不同肿瘤细胞表现出明显的增殖抑制活性; 化合物 **8l** 对 A549、HepG2 和 U251 的抑制活性略优于阳性对照药舒尼替尼, 值得进一步研究。

关键词 噁唑并[5,4-d]嘧啶类衍生物; 合成; 抗血管生成; 抗肿瘤活性

中图分类号 R914.5 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)04-0425-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170406

引用本文 李明涛, 徐丹, 薛文君, 等. 噁唑并[5,4-d]嘧啶类化合物的设计、合成及其抗肿瘤活性[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(4): 425-431.

Cite this article as: LI Mingtao, XU Dan, XUE Wenjun, *et al.* Design, synthesis and antitumor activities of oxazolo[5,4-d]pyrimidine derivatives [J]. *J China Pharm Univ*, 2017, 48(4): 425-431.

Design, synthesis and antitumor activities of oxazolo[5,4-d]pyrimidine derivatives

LI Mingtao[#], XU Dan[#], XUE Wenjun, YOU Qidong^{*}, SUN Liping^{**}

Jiangsu Key Laboratory of Drug Design & Optimization, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract A series of oxazolo[5,4-d]pyrimidine derivatives were designed and synthesized to discover novel compounds with antitumor activity. Compounds **8a-8m** were synthesized using acetamidine hydrochloride as the start material. The structures of synthesized compounds were confirmed by IR, ¹H NMR, EI-MS and elemental analysis. The antiangiogenesis activities of the synthesized compounds were determined by MTT in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC). The *in vitro* antitumor activities of the synthesized compounds were determined by MTT assay in A549, HepG2 and U251. Compounds **8c**, **8d**, **8g**, **8i** and **8l** were found to inhibit the proliferation of all the tested cell lines. Compound **8l** exhibited noteworthy activities in A549, HepG2 and U251 cell lines with IC₅₀ value lower than the positive reference sunitinib, suggesting that compound **8l** might be the promising antitumor agent for further investigation.

Key words oxazolo[5,4-d]pyrimidine derivatives; synthesis; anti-angiogenesis; antitumor activity

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20872181, No. 21172265)

[#]LI Mingtao and XU Dan contribute equally to this work

收稿日期 2017-03-22 **通信作者** * Tel: 025-83271351 E-mail: youqidong@gmail.com

** Tel: 025-83271445 E-mail: chslp@cpu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (No. 20872181, No. 21172265)

[#]李明涛和徐丹对本论文的贡献相同

嘧啶环是一类非常重要的含氮六元杂环,作为药物分子设计和合成的基本砌块早已引起人们的关注^[1]。作为嘌呤的生物电子等排体,嘧啶并五元芳杂环也成为了抗肿瘤活性研究的优势结构。诺华、雅培和葛兰素史克等制药公司相继报道了以吡咯并嘧啶、吡唑并嘧啶、噻吩并嘧啶和咪唑并嘧啶等嘧啶并五元芳杂环结构为母核的抗肿瘤活性小分子^[2-5](图1)。其中,以吡咯并嘧啶为母核的AEE788成功进入了临床研究阶段。

噻唑并[5,4-d]嘧啶也是一个重要的药效基

团,文献报道噻唑并嘧啶环类化合物具有抗菌、抗炎和抗腺苷酸激酶活性^[6-8]。为了进一步探究噻唑并嘧啶环类化合物的抗肿瘤活性,本课题以噻唑并[5,4-d]嘧啶为母核,应用拼合原理设计并合成了13个新化合物,并进行了人脐静脉内皮细胞HUVEC和3株肿瘤细胞的抗肿瘤活性研究。该系列化合物具有良好的抗肿瘤血管生成和体外抗肿瘤细胞增殖活性,其中化合物**8I**对3株肿瘤细胞的抑制活性略优于阳性对照药舒尼替尼(sunitinib)。

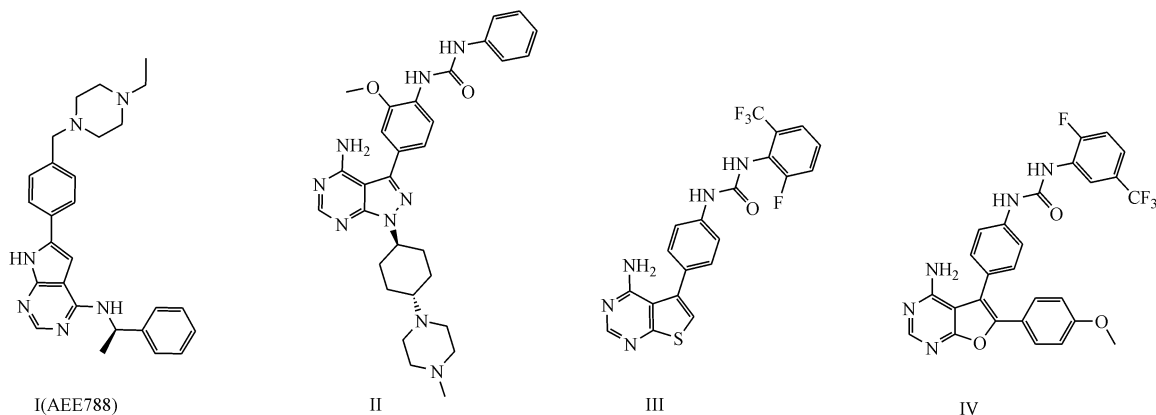
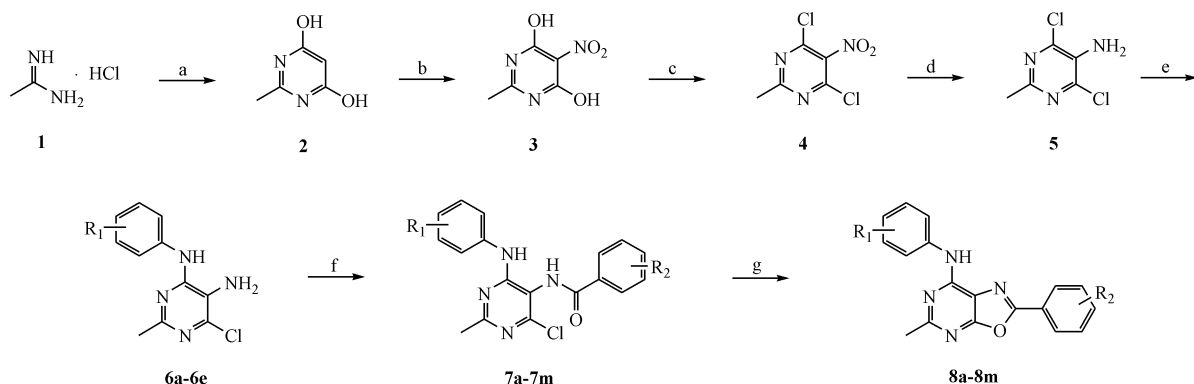


Figure 1 Structures of antitumor drugs with 6-5-bicyclic heterocycle scaffold

1 合成路线

盐酸乙脒(**1**)为起始原料,经环合、硝化、氯化、还原4步反应得到中间体4,6-二氯-5-氨基-2-甲基嘧啶(**5**),然后与取代的苯胺发生胺化反应

得到中间体**6a~6e**。中间体**6a~6e**与取代苯胺发生酰化反应得到中间体**7a~7m**,然后在CuI催化^[9]下发生分子内C-O偶联反应得到目标产物**8a~8m**。



Scheme 1 Synthesis of oxazolo[5,4-d]pyrimidine derivatives **8a-8m**. Reagent and condition: (a) diethyl malonate, EtONa, EtOH, 85 °C, 4 h, 79%; (b) HNO₃ (fuming), AcOH, 5 h, 71%; (c) POCl₃, *N,N*-diethylaniline, reflux, 4 h, 72%; (d) Fe, concentrated HCl, MeOH/water (10:1), reflux, 3 h, 94%; (e) aniline, concentrated HCl, EtOH/H₂O (1:8), reflux, 79%-98%; (f) benzoyl chloride, pyridine, DCM, 49%-90%; (g) CuI, K₂CO₃, *N,N'*-Dimethylethylenediamine (DMEDA), toluene, reflux, 35%-88%

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

XT-4 熔点仪(北京泰克仪器有限公司),温度计未校正;Bruker AV-300 型核磁共振仪; CDCl_3 和 $\text{DMSO}-d_6$ 为溶剂,TMS 为内标;IR 采用 KBr 压片;GC-MS-QP2010 型质谱仪(日本岛津公司);Vario EL III 型元素分析仪(德国 Elementar 公司);柱色谱采用青岛海洋化工有限公司生产的 200~300 目硅胶;薄层色谱采用青岛海洋化工有限公司生产的 GF_{254} 薄层色谱硅胶。其他所用化学试剂均为市售分析纯或化学纯。人脐静脉内皮细胞 HUVEC、人肺癌细胞株 A549、人肝癌细胞株 HepG2、人神经胶质瘤细胞株 U251(上海中科院细胞库)。

2.2 化学合成

4,6-二羟基-2-甲基嘧啶(**2**) 将乙醇钠(10.2 g, 0.15 mol)溶解在无水乙醇 120 mL 中,随后向反应体系中加入盐酸乙脒(9.45 g, 0.1 mol)和丙二酸二乙酯(24 g, 0.12 mol),加热至 85 °C 反应 4 h。反应冷却后,加入水 120 mL 将沉淀溶解,随后逐滴加入浓盐酸(25 mL)使沉淀重新析出。抽滤,固体用乙醇(15 mL)和乙醚(15 mL)洗涤,真空干燥得到白色固体 **2**(9.92 g, 79%)。mp > 300 °C;EI-MS m/z 126[M]⁺。

2-甲基-5-硝基-4,6-嘧啶二醇(**3**) 在 10~15 °C 下,将化合物 **2**(9.37 g, 74.4 mmol)加入至发烟硝酸 20 mL 和乙酸 10 mL 中,加毕,室温搅拌反应 5 h。冷却至 0 °C,加入冰水 10 mL 稀释后继续搅拌 5 min。抽滤,固体用乙醇 10 mL 和乙醚 10 mL 洗涤,干燥得到粉红色固体 **3**(8.98 g, 71%)。mp > 300 °C;EI-MS m/z 171[M]⁺。

2-甲基-4,6-二氯-5-硝基嘧啶(**4**) 将 *N,N*-二乙基苯胺(10 mL)滴加到化合物 **3**(8.50 g, 50 mmol)和三氯氧磷 40 mL 中,加热至 115 °C 反应 4 h。冷却后,将反应液缓慢导入冰水中。抽滤,固体用冰水 10 mL 和乙醚 10 mL 洗涤,真空干燥得到棕色固体 **4**(7.45 g, 72%)。mp: 52~53 °C;EI-MS m/z 207[M]⁺。

2-甲基-4,6-二氯-5-氨基嘧啶(**5**) 将浓盐酸(0.3 mL)滴加到化合物 **4**(4.97 g, 24 mmol),铁粉(5.38 g, 96 mmol)和 MeOH-水(10:1)44 mL 中,加热至 85 °C 反应 3 h。冷却后,抽滤,将滤液减压浓

缩得到棕色固体 **5**(3.99 g, 94%)。mp: 70~71 °C;EI-MS m/z 177[M]⁺。

6-氯-2-甲基-*N*⁴-苯基嘧啶-4,5-二胺(**6a**) 将浓盐酸(0.5 mL)滴加到化合物 **5**(800 mg, 4.48 mmol),苯胺(510 mg, 5.44 mmol)和 EtOH-水(1:8)30 mL 中,加热回流反应 10 h,冷却至室温继续搅拌 10 h。抽滤,固体用水 10 mL 和正己烷 10 mL 冲洗,真空干燥后得到灰色固体 **6a**(850 mg, 81%)。EI-MS m/z 234[M]⁺。

参照制备化合物 **6a** 的方法得到另外 4 个芳基氨基取代嘧啶中间体:6-氯-2-甲基-*N*⁴-(3-氯苯基)嘧啶-4,5-二胺(**6b**; 79%; EI-MS m/z 268[M]⁺), 6-氯-2-甲基-*N*⁴-(4-氯苯基)嘧啶-4,5-二胺(**6c**; 85%; EI-MS m/z 268[M]⁺), 6-氯-2-甲基-*N*⁴-(2,4-二氟苯基)嘧啶-4,5-二胺(**6d**; 98%; EI-MS m/z 270[M]⁺), 6-氯-2-甲基-*N*⁴-(4-三氟甲基苯基)嘧啶-4,5-二胺(**6e**; 93%; EI-MS m/z 302[M]⁺)。

N-[4-氯-2-甲基-6-(苯基氨基)嘧啶-5-基]苯甲酰胺(**7a**) 在 0 °C 和氮气保护条件下,将苯甲酰氯(113 mg, 0.8 mmol)滴加到化合物 **6a**(175 mg, 0.75 mmol)和吡啶(0.06 mL, 0.8 mmol)的无水 DCM 5 mL 溶液中,室温搅拌反应 3 h,抽滤,固体用水(2 × 10 mL)洗涤。真空干燥后,重结晶(DCM-hexanes, 1:3)得到白色固体 **7a**(210 mg, 83%)。¹H NMR(300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.87(1H, s, -NH-), 9.17(1H, s, -NHCO-), 8.07(2H, d, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.95(1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-NH), 7.50-7.66(4H, m, Ar-H), 7.34(2H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.08(1H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 2.44(3H, s, -CH₃)。

参照制备化合物 **7a** 的方法得到另外 12 个中间体 **7b**~**7m**。

5-甲基-*N*,2-二苯基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺(**8a**) 在氮气保护下,将碘化亚铜(6 mg, 0.03 mmol)加入到化合物 **7a**(200 mg, 0.59 mmol), *N,N'*-二甲基乙二胺(5 mg, 0.06 mmol, 0.05 mL)和碳酸钾(165 mg, 1.2 mmol)的甲苯(8 mL)溶液中,加热至 110 °C 回流反应 6 h。冷却,抽滤,将滤液减压浓缩,柱色谱分离,洗脱液为石油醚-二氯甲烷(1:2)得到 5-甲基-*N*,2-二苯基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺(**8a**)白色固体,161 mg,收率 90%。mp: 154~156 °C;IR (KBr, ν): 3 452, 3 392, 2 923,

2 852, 1 629, 707, 692 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.21 (1H, s, -NH-), 8.17 (2H, d, $J=7.5$ Hz, Ar-H), 7.94 (2H, d, $J=7.8$ Hz, Ar-H), 7.64 (3H, m, Ar-H), 7.37 (2H, t, $J=7.5$ Hz, Ar-H), 7.09 (1H, t, $J=7.8$ Hz, Ar-H), 2.57 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 302 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₄N₄O: C 71.51, H 4.67, N 18.53; Found C 71.25, H 4.86, N 18.86。

参照用制备化合物 **8a** 的类似方法得到目标化合物 **8b** ~ **8m**。

2-(3-氯苯基)-5-甲基-*N*-苯基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8b**) 白色固体, 116 mg, 收率 46%。mp: 174 ~ 176 °C; IR (KBr, ν): 3 510, 3 323, 3 067, 2 923, 1 628, 1 501, 1 431, 768, 721 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.17 (1H, s, Ar-H), 8.05 (1H, d, $J=7.5$ Hz, Ar-H), 7.53 (1H, s, -NH-), 7.46 (4H, m, Ar-H), 7.16 (1H, t, $J=7.5$ Hz, Ar-H), 2.73 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 336 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₃ClN₄O: C 64.19, H 3.89, N 16.64; Found C 64.08, H 3.93, N 16.37。

N,2-(3-氯苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8c**) 黄色固体, 200 mg, 收率 60%。mp: 197 ~ 198 °C; IR (KBr, ν): 3 433, 1 626, 1 412, 848, 743 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.40 (1H, s, -NH-), 8.12 (3H, m, Ar-H), 7.91 (1H, d, $J=8.1$ Hz, Ar-H), 7.70 (2H, m, Ar-H), 7.37 (1H, t, $J=8.1$ Hz, Ar-H), 7.13 (1H, d, $J=6.9$ Hz, Ar-H), 2.60 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 370 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₂Cl₂N₄O: C 58.24, H 3.26, N 15.09; Found C 57.87, H 3.63, N 15.17。

2-(3-氯苯基)-*N*-(4-氯苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8d**) 黄色固体, 68 mg, 收率 47%。mp: 166 ~ 167 °C; IR (KBr, ν): 3 378, 2 919, 1 631, 1 595, 1 481, 1 091, 729 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.18 (1H, s, -NH-), 8.05 (1H, d, $J=7.2$ Hz, Ar-H), 7.80 (1H, d, $J=8.7$ Hz, Ar-H), 7.50 (3H, m, Ar-H), 7.37 (1H, d, $J=8.7$ Hz, Ar-H), 2.72 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 370 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₂Cl₂N₄O: C 58.24, H 3.26, N 15.09; Found C 58.04, H 3.50, N 14.87。

2-(3-氯苯基)-*N*-(2,4-二氟苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8e**) 浅黄色固体, 32 mg, 收

率 35%。mp: 164 ~ 166 °C; IR (KBr, ν): 3 428, 3 411, 1 625, 1 595, 1 522, 1 427, 1 281, 723 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.09 (2H, d, $J=8.1$ Hz, Ar-H), 7.70 (2H, d, $J=8.1$ Hz, Ar-H), 7.58 (1H, m, Ar-H), 7.37 (1H, t, $J=8.7$ Hz, Ar-H), 7.14 (1H, t, $J=8.4$ Hz, Ar-H), 2.46 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 372 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₁ClF₂N₄O: C 58.00, H 2.97, N 15.03; Found C 57.66, H 3.16, N 15.07。

2-(4-氯苯基)-5-甲基-*N*-苯基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8f**) 浅黄色固体, 170 mg, 收率 75%。mp: 172 ~ 174 °C; IR (KBr, ν): 3 393, 3 082, 1 628, 1 597, 1 487, 1 091, 690 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.11 (2H, d, $J=6.9$ Hz, Ar-H), 7.83 (2H, d, $J=7.5$ Hz, Ar-H), 7.52 (2H, d, $J=6.9$ Hz, Ar-H), 7.43 (2H, t, $J=5.4$ Hz, Ar-H), 7.16 (1H, t, $J=7.2$ Hz, Ar-H), 2.72 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 336 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₃ClN₄O: C 64.19, H 3.89, N 16.64; Found C 64.14, H 4.09, N 16.41。

N-(3-氯苯基)-2-(4-氯苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8g**) 白色固体, 225 mg, 收率 67%。mp: 196 ~ 198 °C; IR (KBr, ν): 3 387, 3 087, 1 626, 1 412, 1 092, 840, 743 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.10 (2H, d, $J=8.4$ Hz, Ar-H), 8.01 (1H, s, Ar-H), 7.64 (2H, d, $J=8.1$ Hz, Ar-H), 7.51 (2H, d, $J=8.4$ Hz, Ar-H), 7.29 (1H, t, $J=8.1$ Hz, Ar-H), 7.13 (1H, d, $J=7.8$ Hz, Ar-H), 2.74 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 370 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₂Cl₂N₄O: C 58.24, H 3.26, N 15.09; Found C 58.06, H 3.63, N 14.82。

N,2-(4-氯苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8h**) 浅黄色固体, 160 mg, 收率 72%。mp: 196 ~ 198 °C; IR (KBr, ν): 3 378, 2 920, 1 632, 1 595, 1 481, 1 411, 729 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.12 (2H, d, $J=6.6$ Hz, Ar-H), 7.78 (2H, d, $J=8.7$ Hz, Ar-H), 7.52 (2H, d, $J=6.6$ Hz, Ar-H), 7.37 (2H, d, $J=8.7$ Hz, Ar-H), 2.73 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 370 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₂Cl₂N₄O: C 58.24, H 3.26, N 15.09; Found C 57.79, H 3.62, N 14.59。

2-(4-氯苯基)-*N*-(2,4-二氟苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺 (**8i**) 黄棕色固体, 60 mg, 收

率 37%。mp: 166 ~ 168 °C; IR (KBr, ν): 3 428, 3 411, 1 625, 1 595, 1 522, 1 426, 1 281, 723 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.09 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 7.70 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 7.58 (1H, m, Ar-H), 7.37 (1H, t, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.14 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 2.46 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 372 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₁ClF₂N₄O: C 58.00, H 2.97, N 15.03; Found C 57.92, H 2.94, N 14.96。

2-(4-甲氧基苯基)-5-甲基-*N*-苯基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺(**8j**) 浅黄色固体, 130 mg, 收率 86%。mp: 172 ~ 174 °C; IR (KBr, ν): 3 417, 2 923, 2 853, 1 631, 1 462, 1 257, 833 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.12 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, Ar-H), 7.83 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 7.55 (1H, s, -NH-), 7.40 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.14 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.02 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, Ar-H), 3.90 (3H, s, -OC H₃), 2.72 (s, 3H, -CH₃); EI-MS m/z 332 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₉H₁₆N₄O₂: C 68.66, H 4.85, N 16.86; Found C 68.45, H 5.11, N 16.79。

N-(4-氯苯基)-2-(4-甲氧基苯基)-5-甲基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺(**8k**) 黄色固体, 140 mg, 收率 88%。mp: 188 ~ 192 °C; IR (KBr, ν): 3 454, 2 922, 2 851, 1 631, 827 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.28 (1H, s, -NH-), 8.11 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.98 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.41 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.19 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 3.88 (3H, s, -OCH₃), 2.57 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 366 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₉H₁₅ClN₄O₂: C 62.21, H 4.12, N 15.27; Found C 62.51, H 3.90, N, 15.02。

2-(2,4-二氯苯基)-5-甲基-*N*-苯基噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺(**8l**) 白色固体, 77 mg, 收率 42%。mp: 166 ~ 167 °C; IR (KBr, ν): 3 454, 2 922, 2 851, 1 631, 805, 744 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.08 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.82 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 7.70 (1H, s, -NH-), 7.60 (1H, s, Ar-H), 7.42 (3H, m, Ar-H), 7.16 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 2.73 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 370 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₈H₁₂Cl₂N₄O: C 58.24, H 3.26, N 15.09; Found C 57.97, H 3.65, N 15.19。

2-(2,4-二氯苯基)-5-甲基-*N*-(4-三氟甲基苯基)噁唑并[5,4-d]嘧啶-7-胺(**8m**) 黄色固体, 110 mg, 收率 50%。mp: 167 ~ 168 °C; IR (KBr, ν): 3 411, 3 315, 2 346, 1 609, 1 324, 1 107, 1 067, 837 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.01 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar-H), 7.99 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.60 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 7.54 (1H, s, Ar-H), 7.37 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, Ar-H), 2.72 (3H, s, -CH₃); EI-MS m/z 438 [M]⁺; Anal. Calcd. for C₁₉H₁₁Cl₂F₃N₄O: C 51.96, H 2.52, N 12.76; Found C 51.53, H 2.69, N 12.87。

2.3 体外抗肿瘤活性

本研究采用 MTT 法对 13 个目标化合物进行了体外 HUVECs、A549、HepG2 和 U251 细胞增殖活性测试。选择上市药物舒尼替尼为阳性对照。

2.3.1 VEGF-HUVEC 细胞增殖抑制活性

根据参考文献方法^[10], 本研究选择 HUVEC 对 13 个目标化合物进行细胞增殖抑制活性测试, 采用 MTT 法评价目标化合物对肿瘤血管内皮细胞的增殖抑制能力, 以舒尼替尼为阳性对照药, 结果见表 1。

本研究所设计的 13 个目标化合物对 VEGF-HUVEC 有较好的抑制作用, 多数化合物对 HUVEC 的抑制 IC₅₀ 在 1 $\mu\text{mol/L}$ 以下, 化合物 **8c** 和 **8g** 的 IC₅₀ 达到 0.16 $\mu\text{mol/L}$, 略优于阳性对照药舒尼替尼。两苯环上 R₁ 和 R₂ 取代基的不同为活性带来一定影响。化合物 **8c** 和 **8g** 的抑制活性略优于舒尼替尼, 说明 R₁ 为 3-氯取代时化合物活性最佳。与化合物 **8a**, **8b** 和 **8l** 相比, 化合物 **8f** 和 **8j** 的抑制活性明显下降, 说明 R₁ 为氢时, R₂ 为 4-位单取代时对化合物活性不利。化合物 **8e** 与 **8i** 的抑制活性相差不多, 说明 R₁ 为 2,4-二氟取代时, R₂ 为 3 位和 4 位取代对活性影响较小。化合物 **8h** 与 **8k** 相比, 说明 R₁ 为 4-氯取代时, 将 R₂ 由 4-氯取代替换为 4-甲氧基取代后化合物活性明显提升。此系列化合物中 **8m** 抑制活性最差, 为 18.8 $\mu\text{mol/L}$, 将 R₂ 取代基均为 2,4-二氯的化合物 **8m** 与 **8l** 对比分析发现可能是由于在 R₁ 引入 4-三氟甲基造成的。

2.3.2 A549、HepG2、U251 细胞增殖抑制活性

根据参考文献方法^[11], 本研究选择 A549, HepG2 和 U251 3 株肿瘤细胞对 13 个目标化合物进行细

胞增殖抑制活性测试,采用 MTT 法评价目标化合物对 3 株肿瘤细胞的增殖抑制能力,以舒尼替尼为阳性对照,结果见表 1。

Table 1 Antiproliferative activity of compound 8a~8m against HUVEC and tumor cells

Compd.	R ₁	R ₂	Antiproliferative activity [IC ₅₀ /(μmol/L)] ^a			
			HUVEC	A549	HepG2	U251
8a	H	H	0.33	19.9	6.2	6.5
8b	H	3-Cl	0.24	38.9	12.5	12.0
8c	3-Cl	3-Cl	0.16	17.1	6.8	7.5
8d	4-Cl	3-Cl	0.92	2.5	1.5	2.0
8e	2,4-diF	3-Cl	0.25	11.5	>50	10.2
8f	H	4-Cl	4.22	6.6	5.4	>50
8g	3-Cl	4-Cl	0.16	22.6	2.3	1.9
8h	4-Cl	4-Cl	4.58	6.9	6.5	10.8
8i	2,4-diF	4-Cl	0.92	2.6	2.0	2.1
8j	H	4-OCH ₃	2.08	8.0	13.9	11.6
8k	4-Cl	4-OCH ₃	0.24	18.5	17.8	19.2
8l	H	2,4-diCl	0.29	0.6	3.3	4.7
8m	4-CF ₃	2,4-diCl	18.8	6.5	19.9	18.2
Sunitinib			0.17	2.0	8.4	9.0

^aEach value represent the mean of three determinations

从对 3 株肿瘤细胞的数据分析,13 个化合物的抑制活性大多在 1×10^{-5} mol/L 或 1×10^{-6} mol/L 两个浓度区间,说明对肿瘤细胞有一定的细胞毒作用。其中,化合物 8d、8i 和 8l 对肿瘤细胞的抑制活性略优于或相当于舒尼替尼。该系列化合物对肿瘤细胞株的抑制活性构效关系与对 HUVEC 的抑制活性构效关系并不一致。化合物 8b、8e 和 8k 对 HUVEC 的抑制活性与舒尼替尼相当,但对 3 株肿瘤细胞株的活性却大幅下降,可能是由于该类化合物与舒尼替尼同为血管新生抑制剂,主要针对靶点为 VEGFR,而 3 株肿瘤细胞均非内皮细胞,VEGFR 分布并不丰富^[12]。此外,13 个化合物对 3 株肿瘤细胞株的抑制存在一定的选择性,对于 U251 和 HepG2 的抑制活性优于 A549,说明 U251 和 HepG2 细胞对此类化合物敏感性更高。

3 结 论

通过 MTT 法对设计的 13 个嘧啶并[5,4-d]嘧啶类化合物进行抗血管生成和抗肿瘤活性测定,初步构效关系分析表明,R₁ 为 3-氯取代时活性较好,在 R₁ 引入三氟甲基时活性明显下降。大部分化合物对人脐静脉内皮细胞和肿瘤细胞体外增殖表现出了较好的抑制活性,且化合物对不同肿瘤细胞表

现出了一定的抑制活性差异,对 HepG2 和 U251 细胞的抑制活性优于 A549 细胞。化合物 8l 的肿瘤细胞增殖抑制活性最佳,对肺癌细胞、肝癌细胞和神经胶质瘤细胞抑制活性较好,优于阳性对照药舒尼替尼,对人脐静脉内皮细胞的抑制活性略低于舒尼替尼,具有进一步研究的价值。

参 考 文 献

[1] Zhao PL, You WW, Duan AN. Research advances in antitumor activities of pyrimidine derivatives[J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2012, 47(5):580-587.

[2] Burchat AF, Calderwood DJ, Friedman MM, et al. Pyrazolo[3,4-d]pyrimidines containing an extended 3-substituent as potent inhibitors of Lck — a selectivity insight[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12(12):1687-1690.

[3] Kim S, Schiff BA, Younes MN, et al. Treatment with NVP AEE788-a dual inhibitor of EGFR and VEGFR tyrosine kinase-inhibits anaplastic thyroid carcinoma growth[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(16):6100S-6101S.

[4] Dai Y, Guo Y, Frey RR, et al. Thienopyrimidine ureas as novel and potent multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2005, 48(19):6066-6083.

[5] Miyazaki Y, Matsunaga S, Tang J, et al. Novel 4-amino-furo[2,3-d]pyrimidines as Tie-2 and VEGFR2 dual inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(9):2203-2207.

[6] Miller DJ, Ravikumar K, Shen H, et al. Structure-based design and characterization of novel platforms for ricin and shiga toxin inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2002, 45(1):90-98.

- [7] Yildiz-Oren I, Yalcin I, Aki-Sener E, *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of new antimicrobial active multi substituted benzazoderivatives[J]. *Eur J Med Chem*, 2004, **39** (3): 291–298.
- [8] Bauser M, Delapierre G, Hauswlad M, *et al.* Discovery and optimization of 2-aryl oxazolo-pyrimidines as adenosine kinase inhibitors using liquid phase parallel synthesis[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, **14** (8): 1997–2000.
- [9] Xu D, Sun LP, You QD. Facile synthesis of 2,5,7-trisubstituted oxazolo[5,4-d]pyrimidines via copper-catalyzed intramolecular C-O bond formation[J]. *Tetrahedron*, 2012, **68** (22): 4248–4251.
- [10] Polverino A, Coxon A, Starnes C, *et al.* AMG 706, an oral, multitikinase inhibitor that selectively targets vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, and kit receptors, potently inhibits angiogenesis and induces regression in tumor xenografts[J]. *Cancer Res*, 2006, **66** (17): 8715–8721.
- [11] Mao ZW, Wan CP, Jiang Y, *et al.* Synthesis and anti-tumor activity *in vitro* of *N*-heterocycle substitutes benzofuranderivatives[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46** (1): 58–61.
- [12] Liang XW, Xu FM, Li XG, *et al.* VEGF signal system; the application of antiangiogenesis[J]. *Curr Med Chem*, 2014, **21** (7): 894–910.

· 校园信息 ·

中国药科大学药物化学学科位列全球第三

2017世界大学排名中心(CWUR)学科排行榜日前发布,中国药科大学药物化学学科位列全球第三位。意大利的佛罗伦萨大学(University of Florence)和比利时的鲁汶大学(Katholieke Universiteit Leuven)分列第一、第二位,意大利的那不勒斯菲里德里克第二大学(University of Naples Federico II)、美国的北卡罗来纳大学教堂山分校(The University of North Carolina at Chapel Hill)和哈佛大学(Harvard University)位列第四至第六位。

世界大学排名中心(CWUR)是全球唯一不依赖于调查问卷和学校提交的数据来排名的机构,它通过综合衡量大学的教育质量、学生的教育状况、教师的威望、研究成果、毕业校友就业情况以及大学所获专利等方面进行排名。此次学科排名是基于在顶级期刊上发表文章的数量,对全球领先的大学、涉及的227个学科进行排名。相关数据来源于Clarivate Analytics(原汤森路透旗下的知识产权和科技业务)。在全球药物化学学科排行榜中,中国药科大学以92.70分的好成绩位列全球第三,成为药物化学学科唯一进入前五强的亚洲高校,集中彰显了我校在药物化学学科强大的综合实力和影响力。

据悉,该排名源于2012年沙特阿拉伯对世界前100强大学的打分计划。之后,全世界各地的大学和媒体都争相报道该排名,主办方也收到了大量关于扩大该排名范围的请求。2014年,该排名扩展到了基于全世界26 000多个具有授予高等教育学位资格的教育机构的前1000名,使之成为针对全世界大学最大的学术排名榜单。

除此之外,中国药科大学的药理与毒理学、化学以及临床医学三个学科的ESI排名进入全球前1%,其中药理与毒理学全球排名第79位,已建成了完整的创新药物研发链。在国家“重大新药创制”科技专项中,中国药科大学所承担的项目数、所获经费数均居全国高校首位,成为国家新药研发的关键平台。此外,据2016版中国研究生教育分学科排名中的96个一级学科排行榜——中国科学评价研究中心(RCCSE)、武汉大学、中国教育质量评价中心发布的指标,2016-2017年中国药科大学的药学、临床药学、药理学、药物分析学、生药学、药物化学、药剂学等7个学科,均位列全国第一。