

N-苯基-4-三氟甲基-2-氨基喹唑啉衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

代兴^{1,2,3}, 程莎^{1,2}, 陈明秀^{1,2}, 余佳^{1,2}, 骆衡^{1,2}, 徐广灿^{1,2*}, 徐必学^{1,2*} (1. 贵州医科大学, 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550014; 2. 贵州省天然产物研究中心, 贵阳 550014; 3. 贵州医科大学药学院, 贵阳 561113)

摘要: **目的** 发现新型高效低毒的2-芳氨基喹唑啉类抗肿瘤目标化合物。 **方法** 以邻硝基苯甲醛和6-硝基萘醛为原料, 通过亲核加成、氧化、还原、环合、氯代、偶联等反应, 合成了16个N-苯基-4-三氟甲基-2-氨基喹唑啉衍生物, 并通过核磁共振(NMR)和质谱(MS)对其进行结构表征; 采用噻唑蓝(MTT)法评价了目标化合物对前列腺癌细胞(PC3、LNCaP)、人慢性髓系白血病细胞(K562)和宫颈癌细胞(HeLa)4种肿瘤细胞株的生长抑制活性, 并对高活性化合物**8b**作了靶点预测。 **结果** 活性测试结果显示, 化合物**8b**和**8c**都显示出良好的抗增殖活性, 特别是化合物**8b**, 对PC3、LNCaP和K562细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)分别为5.51、4.51和8.49 μmol·L⁻¹; 分子对接结果显示, 莫洛尼小鼠白血病病毒前病毒整合酶1(provirus integration in maloney murine leukemia virus kinase-1, PIM-1)蛋白可能是**8b**的潜在作用靶点。 **结论** 含哌嗪结构的芳氨基喹唑啉化合物**8b**值得深入研究。

关键词: 芳氨基喹唑啉; 合成; 抗肿瘤活性; 噻唑蓝法; 三氟甲基

doi: 10.11669/cpj.2024.15.003 中图分类号: R914 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)15-1375-09

Synthesis and Antitumor Activity of N-Phenyl-4-(Trifluoromethyl)-Quinazoline-2-Amine Derivatives

DAI Xing^{1,2,3}, CHENG Sha^{1,2}, CHEN Mingxiu^{1,2}, YU Jia^{1,2}, LUO Heng^{1,2}, XU Guangcan^{1,2*}, XU Bixue^{1,2*} (1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China; 2. Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550014, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 561113, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To find new arylaminoquinazoline-based antitumor target compounds with high efficacy and low toxicity. **METHODS** A series of N-phenyl-4-(trifluoromethyl) quinazoline-2-amine derivatives were synthesized starting from 2-nitrobenzaldehyde or 6-nitroveratraldehyde by a combination of nucleophilic addition, oxidation, reduction, cyclization, chlorination, and coupling reactions. The structures of the target compounds were characterized using NMR and MS. Their antitumor activities *in vitro* were then evaluated against four human cancer cell lines (PC3, LNCaP, K562, and HeLa) using MTT assay. The target prediction of active compound **8b** was performed. **RESULTS** Compounds **8b** and **8c** exhibited promising anti-proliferative properties, particularly compound **8b**, which exhibited excellent antitumor activity against PC3, LNCaP, and K562 with IC₅₀ values of 5.51, 4.51 and 8.49 μmol·L⁻¹, respectively. Molecular docking experiment demonstrated that PIM-1 is the potential target of **8b**. **CONCLUSION** The piperazine ring containing compound **8b** exhibits the strongest antitumor activity, which is worthy of further study.

KEY WORDS: arylaminoquinazoline; synthesis; antitumor activity; MTT assay; trifluoromethyl

国际癌症研究机构(IARC)发布最新统计报告显示:2022年全球新发癌症病例约2 000万例,癌症死亡人数约为970万。预计到2050年,全球新增癌症病例将达到3 500万例,较2022年增幅达77%^[1]。目前,化学药物治疗仍是针对恶性肿瘤治疗的主要手段^[2]。然而,随着治疗周期的延长,现有药物多会产生获得性耐药^[3]和毒副作用^[4]等缺

陷。因此,研究开发高效低毒的新型抗肿瘤药物意义重大。

喹唑啉及其衍生物具有如抗疟^[5]、抗炎^[6]、抗高血压^[7]和抗肿瘤^[8]等多种药理活性,因其独特的理化性质和多样化的生物活性,在药物分子设计中备受关注^[9]。喹唑啉母核作为药物开发的优势骨架结构,在抗肿瘤药物研究领域备受青睐。目前,已

基金项目: 国家自然科学基金培育项目资助(21NSFCP42);贵州省高层次创新型人才培养计划项目资助(黔科合平台人才[2016]5678);贵州省教育厅高等学校科学研究项目资助(黔教技[2022]184号)

作者简介: 代兴,男,硕士研究生 研究方向:药物化学 * **通讯作者:** 徐广灿,男,博士,助理研究员 研究方向:药物设计与合成
Tel: (0851)83807713; 徐必学,男,博士,研究员,博士生导师 研究方向:药物化学与新药研究 Tel: (0851)83807713

有多个以喹唑啉为核心骨架的抗肿瘤药物上市销售^[10],如:吉非替尼(gefitinib)、埃罗替尼(erlotinib)和拉帕替尼(lapatinib)等^[11-13](图1)。此外,在药物分子中引入氟原子或含氟基团可提高其代谢稳定性和亲脂性,从而延长药物在体内的作用时间和增强对组织的穿透能力^[14]。在美国食品药品监督管理局(FDA)2023年新批准的55种小

分子药物中,含氟药物分子有12种,分别被用于治疗多种疾病,可见含氟小分子在药物设计和发现过程中占据着重要地位^[15]。三氟甲基(-CF₃)作为一类常见的含氟基团,其在抗肿瘤药物分子设计中得到了广泛的应用^[16],如尼罗替尼(nilotinib)、瑞戈菲尼(regorafenib)和氟马替尼(flumatinib)等^[17-19](图1)。

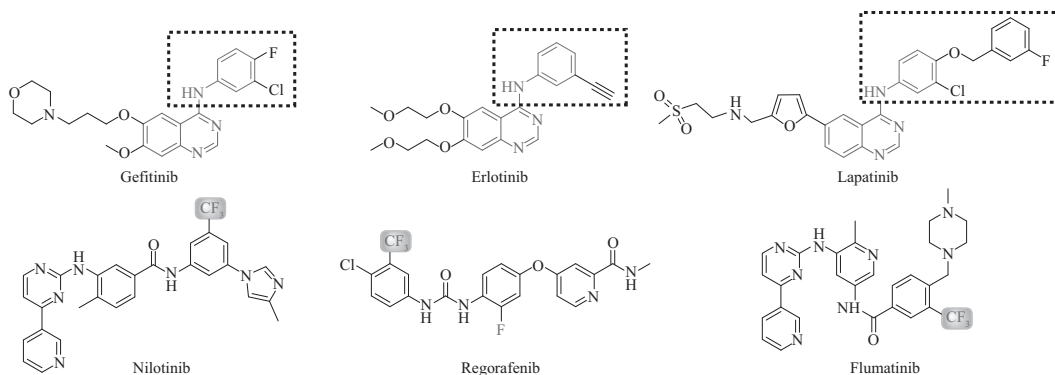


图1 含喹唑啉骨架结构和含三氟甲基的抗肿瘤药物

Fig. 1 Antitumor drugs with quinazoline skeleton or containing trifluoromethyl group

经文献调研发现,在喹唑啉母核4-位引入不同的取代芳胺片段是该类药物常见的结构修饰策略(图1),而在喹唑啉母核2-位引入常见芳胺药效团的研究鲜有报道^[20]。因此,本实验以喹唑啉母核为基础,在其2-位引入常见芳胺活性片段,并在4-位引入三氟甲基以克服其潜在的氧化代谢问题^[21](图2),合成16个新型*N*-苯基-4-三氟甲基-2-氨基喹唑啉衍生物,并对其进行体外抗肿瘤活性测试、初步构效关系分析以及作用靶点预测,为此类化合物的深入研究提供参考。

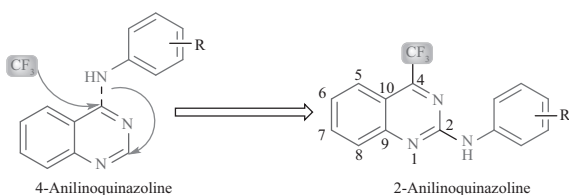


图2 *N*-苯基-4-(三氟甲基)-2-氨基喹唑啉衍生物的设计

Fig. 2 Design of *N*-phenyl-4-(trifluoromethyl) quinazoline-2-amine derivatives

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Bruker Avance NEO 600 MHz 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司),氘代二甲亚砜(DMSO-*d*₆)或氘代

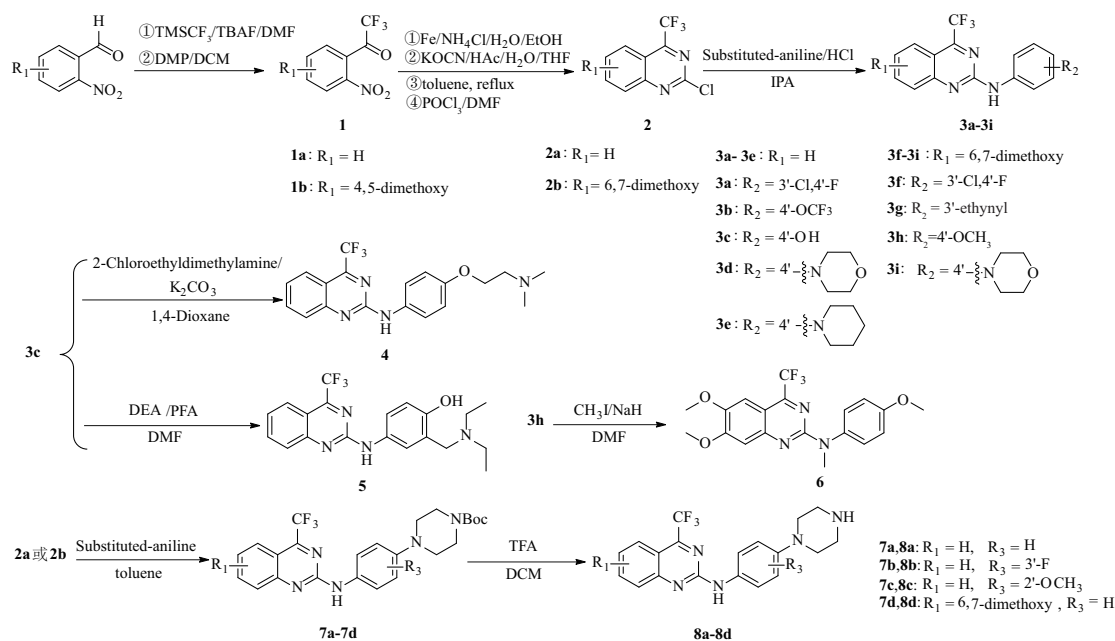
氯仿(CDCl₃)为溶剂,四甲基硅烷为内标;RY-1 型熔点仪(天津市分析仪器厂);噻唑蓝(MTT,德国 Sigma 公司);前列腺癌细胞(PC3、LNCaP)、人慢性髓系白血病细胞(K562)、宫颈癌细胞(HeLa)(贵州省天然产物研究中心);邻硝基苯甲醛(99%)、三氟甲基三甲基硅烷(TMSCF₃)(98%),所用试剂均为分析纯或化学纯。

1.2 目标化合物的合成

合成路线见图3,以邻硝基苯甲醛(或6-硝基萘醛)为原料,依次经亲核加成反应和戴斯-马丁氧化反应得中间体1a(或中间体1b);随后,依次通过还原、环合、脱水、氯代等反应得关键中间体2a(或中间体2b);将2a(或2b)与相应的芳胺衍生物偶联即得目标化合物3a~3i和中间体7a~7d;再以含酚羟基的化合物3c为原料,经烷基化或曼尼希反应,分别得目标化合物4和5;化合物3h经甲基化反应即得目标化合物6;最后,在三氟乙酸条件下,中间体7a~7d经*N*-叔丁氧羰基(*N*-Boc)脱保护反应即得目标化合物8a~8d。

1.2.1 中间体1a和1b的合成(以1a为例)

①取邻硝基苯甲醛(10.0 g, 66.1 mmol)于反应瓶中,加入无水*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF, 100 mL)溶解。0 °C 搅拌下缓慢滴加 TMSCF₃ (165.4 mmol, 24.5 mL)和四丁基氟化铵(TBAF, 1.0 mol · L⁻¹的



TMSCF₃ - 三氟甲基三甲硅烷; TBAF - 四丁基氟化铵; DMF - *N,N*-二甲基甲酰胺; DMP - 戴斯-马丁氧化剂; DCM - 二氯甲烷; THF - 四氢呋喃; IPA - 异丙醇; DEA - 二乙胺; PFA - 多聚甲醛; TFA - 三氟乙酸。

TMSCF₃ - (trifluoromethyl) trimethylsilane; TBAF - tetrabutylammonium fluoride; DMF - *N,N*-dimethylformamide; DMP - Dess-Martin periodinane; DCM - dichloromethane; THF - tetrahydrofuran; IPA - isopropanol; DEA - diethylamine; PFA - paraformaldehyde; TFA - trifluoroacetic acid.

图3 *N*-苯基-4-(三氟甲基)-2-氨基喹唑啉衍生物的合成路线

Fig. 3 Synthetic route of *N*-phenyl-4-(trifluoromethyl)quinazoline-2-amine derivatives

四氢呋喃溶液, 33.1 mmol, 33.1 mL), 0 °C 搅拌至反应完全, 将反应液分散于乙酸乙酯和水中, 萃取, 有机相以饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩得 2-硝基- α, α, α -三氟苯乙酮粗品; ②取上一步所得粗品 (17.3 g, 66.2 mmol) 于反应瓶中, 以无水二氯甲烷 (DCM) (150.0 mL) 溶解完全, 加入戴斯-马丁氧化剂 (DMP, 42.1 g, 99.2 mmol), 室温搅拌至反应完全。将反应液分散于二氯甲烷和饱和碳酸氢钠水溶液中, 萃取, 有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩后经柱色谱纯化得黄色固体状 2-硝基- α, α, α -三氟苯乙酮 (中间体 **1a**), 两步总收率 64.7%。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.93 ~ 7.84 (m, 1H), 7.84 ~ 7.78 (m, 1H), 7.55 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H)。

参照中间体 **1a** 的合成方法, 以 6-硝基藜芦醛为起始原料合成得黄色固体状中间体 4,5-二甲氧基-2-硝基- α, α, α -三氟苯乙酮 (**1b**), 两步总收率 62.8%。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.72 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.03 (s, 3H), 4.02 (s, 3H)。

1.2.2 中间体 **2a** 和 **2b** 的合成 (以 **2a** 为例)

①取中间体 **1a** (8.5 g, 38.6 mmol) 于反应瓶中, 以水 (20.0 mL) 和乙醇 (100.0 mL) 溶解。室温搅拌下依

次加入铁粉 (6.5 g, 115.7 mmol) 和氯化铵 (12.4 g, 231.4 mmol), 氩气保护, 于 80 °C 下回流搅拌至反应完全。趁热将反应液用 300 ~ 400 目硅胶垫过滤, 滤饼用甲醇少量多次洗涤, 减压干燥即得 2-氨基- α, α, α -三氟苯乙酮粗品; ②取上一步所得粗品 (8.7 g, 38.6 mmol) 于反应瓶中, 依次加入乙酸 (66.2 mL, 1.2 mol)、水 (132.4 mL) 和四氢呋喃 (THF, 66.4 mL) 溶解后置于 50 °C 油浴中搅拌, 再加入用温水 (50 °C, 66.2 mL) 预先溶解的氰酸钾 (9.38 g, 1.2 mol) 溶液, 继续于 50 °C 搅拌至反应完全。将反应液分散至乙酸乙酯与饱和碳酸氢钠水溶液中, 萃取, 有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩得 4-羟基-4-三氟甲基-3,4-二氢喹唑啉-2(1*H*)-酮粗品; ③称取上一步所得粗品 (9.0 g, 38.6 mmol) 于反应瓶中, 甲苯 (200.0 mL) 溶解后于 130 °C 回流搅拌至反应完全, 待反应液冷却至室温后加入石油醚 (150.0 mL) 搅拌 10 min, 静置后抽滤, 滤饼减压干燥后得 4-三氟甲基-2-羟基喹唑啉粗品; ④称取上一步所得粗品 (2.0 g, 9.3 mmol) 于反应瓶中, 以无水 DMF (30.0 mL) 溶解, 室温搅拌下缓慢加入三氯氧磷 (2.6 mL, 28.0 mmol), 并于 90 °C 搅拌至反应完全, 待反应液冷却到室温后倒入冰水中淬灭, 加入乙酸乙酯萃取,

有机相以饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸镁干燥,减压浓缩后经柱色谱纯化得中间体4-三氟甲基-2-氯喹啉(2a):白色固体,4步总收率52.6%。¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ:8.27(d,*J*=8.5 Hz,1H),8.13(d,*J*=8.6 Hz,1H),8.09~8.04(m,1H),7.85~7.75(m,1H)。

参照中间体2a的合成方法,以中间体1b为起始原料合成中间体2b。6,7-二甲氧基-4-三氟甲基-2-氯喹啉(中间体2b):淡黄色固体,4步总收率45.4%。¹H-NMR(600 MHz,DMSO-*d*₆) δ:7.34(s,1H),7.32(s,1H),4.07(s,3H),4.05(s,3H)。

1.2.3 目标化合物3a~3i的合成(以3a为例)

取中间体2a(100.0 mg,429.9 μmol)、4-氟-3-氯苯胺(156.5 mg,1.1 mmol)于耐压反应管中,加入异丙醇(4.5 mL)溶解,氩气置换后于室温下加入盐酸(4 mol·L⁻¹的1,4-二氧六环溶液,0.3 mL,1.3 mmol),80℃下封管搅拌至反应完全,将反应液分散至乙酸乙酯与饱和碳酸氢钠水溶液,萃取,有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸镁干燥,减压浓缩后经柱色谱纯化得到目标化合物3a。参照此方法合成3b~3i。

N-(4-氟-3-氯苯基)-4-三氟甲基喹啉-2-胺(3a):绿色固体,收率85.0%,m.p. 133.5~134.9℃。¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ:8.10(dd,*J*=6.5,2.7 Hz,1H),8.05(d,*J*=8.4 Hz,1H),7.89~7.81(m,2H),7.56~7.50(m,1H),7.47~7.42(m,1H),7.38(s,1H),7.14(t,*J*=8.7 Hz,1H)。¹³C-NMR(151 MHz,CDCl₃) δ:156.58(q,*J*=34.9 Hz),154.73,154.35(d,*J*=244.9 Hz),153.56,136.08(d,*J*=3.1 Hz),135.30,127.35,125.29,124.99(q,*J*=2.7 Hz),121.42(d,*J*=18.4 Hz),121.23(q,*J*=277.8 Hz),120.88,118.84(d,*J*=6.7 Hz),116.95(d,*J*=22.3 Hz),115.97。¹⁹F-NMR(565 MHz,CDCl₃) δ:-65.08,-122.57。ESI-MS *m/z* 342.1[M+H]⁺。

N-(4-三氟甲氧基苯基)-4-三氟甲基喹啉-2-胺(3b):绿色固体,收率60.5%,m.p. 83.5~85.3℃。¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ:8.05(d,*J*=8.5 Hz,1H),7.89~7.81(m,4H),7.47(s,1H),7.44(ddd,*J*=8.3,6.0,2.0 Hz,1H),7.25(d,*J*=8.9 Hz,2H)。¹³C-NMR(151 MHz,CDCl₃) δ:156.37(q,*J*=34.8 Hz),155.00,153.80,144.50,137.91,135.40,127.47,125.35,124.80(q,*J*=2.8 Hz),123.82,122.02,121.98,120.74(q,

J=256.5 Hz),120.14,119.99,116.10。¹⁹F-NMR(565 MHz,CDCl₃) δ:-58.14,-65.08。ESI-MS *m/z* 374.2[M+H]⁺。

N-(4-羟基苯基)-4-三氟甲基喹啉-2-胺(3c):橙色固体,收率63.2%,m.p. 144.6~147.1℃。¹H-NMR(600 MHz,DMSO-*d*₆) δ:10.01(s,1H),9.18(s,1H),7.94(d,*J*=8.4 Hz,1H),7.92~7.85(m,1H),7.79~7.67(m,3H),7.48~7.39(m,1H),6.77(d,*J*=8.9 Hz,2H)。¹³C-NMR(151 MHz,DMSO-*d*₆) δ:155.87,154.54(q,*J*=33.7 Hz),154.05,153.44,135.96,131.87,127.07,124.86,124.01(q,*J*=3.0 Hz),121.59,120.99(q,*J*=278.0 Hz),115.52,114.78。¹⁹F-NMR(565 MHz,DMSO-*d*₆) δ:-65.17。ESI-MS *m/z* 306.1[M+H]⁺。

N-[4-(吗啉-4-基)苯基]-4-三氟甲基喹啉-2-胺(3d):黄色固体,收率71.4%,m.p. 107.6~109.3℃。¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ:8.01(d,*J*=8.2 Hz,1H),7.82~7.75(m,2H),7.71(d,*J*=9.0 Hz,2H),7.40~7.34(m,1H),7.32(s,1H),6.97(d,*J*=9.0 Hz,2H),3.91~3.87(m,4H),3.18~3.13(m,4H)。¹³C-NMR(151 MHz,CDCl₃) δ:156.14(q,*J*=34.6 Hz),155.52,154.14,147.68,135.09,132.06,127.30,124.59,124.74(q,*J*=2.9 Hz),121.12(q,*J*=277.8 Hz),120.72,116.73,115.77,67.10,50.16。¹⁹F-NMR(565 MHz,CDCl₃) δ:-65.14。ESI-MS *m/z* 375.2[M+H]⁺。

N-[4-(哌啶-1-基)苯基]-4-三氟甲基喹啉-2-胺(3e):红色固体,收率79.6%,m.p. 121.3~123.7℃。¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ:7.99(d,*J*=8.5 Hz,1H),7.81~7.74(m,2H),7.67(d,*J*=9.0 Hz,2H),7.38~7.32(m,1H),7.31(s,1H),6.99(d,*J*=9.0 Hz,2H),3.16~3.11(m,4H),1.77~1.70(m,4H),1.62~1.55(m,2H)。¹³C-NMR(151 MHz,CDCl₃) δ:155.94(q,*J*=34.6 Hz),155.58,154.19,148.80,135.02,131.29,127.30,124.58(q,*J*=2.9 Hz),124.44,121.01(q,*J*=277.9 Hz),120.66,117.51,115.70,51.50,26.05,24.39。¹⁹F-NMR(565 MHz,CDCl₃) δ:-65.15。ESI-MS *m/z* 373.3[M+H]⁺。

N-(4-氟-3-氯苯基)-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹啉-2-胺(3f):黄色固体,收率75.6%,m.p. 133.6~135.7℃。¹H-NMR(600 MHz,CDCl₃) δ:8.02(dd,*J*=6.5,2.7 Hz,1H),7.51~7.45(m,1H),7.28(s,1H),7.22(s,1H),7.13(s,1H),

7.11 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.07 (s, 3H), 4.00 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 157.4, 154.5, 153.7 (d, $J = 238.8$ Hz), 152.8 (q, $J = 34.4$ Hz), 152.0, 148.8, 136.1 (d, $J = 3.1$ Hz), 121.3 (q, $J = 277.3$ Hz), 121.0 (d, $J = 18.5$ Hz), 120.6, 118.3 (d, $J = 6.6$ Hz), 116.6 (d, $J = 22.2$ Hz), 111.4, 105.7, 101.7 (q, $J = 3.0$ Hz), 56.5, 56.1。 $^{19}\text{F-NMR}$ (565 MHz, CDCl_3) δ : -65.32, -123.31。ESI-MS m/z 402.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

N-(3-乙炔基苯基)-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹啉-2-胺 (**3g**): 黄色固体, 收率 67.7%, m. p. 124.3 ~ 127.7 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.08 (s, 1H), 8.08 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.34 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.12 ~ 7.08 (m, 2H), 4.16 (s, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.88 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 157.2, 154.7, 151.7, 151.2 (q, $J = 33.3$ Hz), 148.4, 140.6, 129.0, 124.9, 121.9, 121.4 (q, $J = 277.3$ Hz), 121.4, 119.2, 109.9, 105.7, 100.9 (q, $J = 3.4$ Hz), 83.9, 80.3, 56.3, 55.7。 $^{19}\text{F-NMR}$ (565 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : -64.07。ESI-MS m/z 374.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

N-(4-甲氧基苯基)-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹啉-2-胺 (**3h**): 黄色固体, 收率 86.0%, m. p. 131.2 ~ 132.8 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.66 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.93 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.82 (s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 157.1, 155.6, 155.4, 152.9 (q, $J = 34.1$ Hz), 152.5, 148.3, 132.8, 121.5 (q, $J = 277.4$ Hz), 120.9, 114.4, 111.0, 105.9, 101.9 (q, $J = 3.1$ Hz), 56.5, 56.2, 55.7。 $^{19}\text{F-NMR}$ (565 MHz, CDCl_3) δ : -65.35。ESI-MS m/z 380.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

N-[4-(吗啉-4-基)苯基]-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹啉-2-胺 (**3i**): 黄色固体, 收率 43.1%, m. p. 112.2 ~ 114.8 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.66 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.03 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.90 ~ 3.87 (m, 4H), 3.16 ~ 3.12 (m, 4H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 157.0, 155.3, 152.8 (q, $J = 34.2$ Hz), 152.4, 148.2, 147.2, 132.5, 121.4 (q, $J = 277.4$ Hz), 120.4, 116.7, 110.8, 105.8, 101.8 (q, $J = 3.2$ Hz),

67.0, 56.4, 56.1, 50.2。 $^{19}\text{F-NMR}$ (565 MHz, CDCl_3) δ : -65.35。ESI-MS m/z 435.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

1.2.4 目标化合物 **4** 的合成 取碳酸钾 (181.1 mg, 1.3 mmol)、2-甲基氨基氯乙烷盐酸盐 (94.4 mg, 655.2 μmol) 于反应管中, 加入 1,4-二氧六环 (2.5 mL) 和水 (0.5 mL) 溶解, 在室温预先搅拌后加入化合物 **3c** (100.0 mg, 327.59 μmol), 氩气置换后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌至反应完全, 将反应液分散至乙酸乙酯与水溶液中, 萃取, 有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩后经柱色谱纯化得到目标化合物 **4**。

目标化合物 *N*-{4-[2-(二甲基氨基)乙氧基]苯基}-4-三氟甲基喹啉-2-胺 (**4**): 黄色固体, 收率 40.8%, m. p. 112.0 ~ 114.5 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.82 ~ 7.74 (m, 2H), 7.69 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.39 ~ 7.33 (m, 1H), 6.96 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 4.10 (t, $J = 5.7$ Hz, 3H), 2.77 (t, $J = 5.7$ Hz, 3H), 2.37 (s, 6H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 156.15 (q, $J = 34.4$ Hz), 155.52, 155.12, 154.09, 135.08, 132.43, 127.31, 124.72 (q, $J = 3.0$ Hz), 124.60, 121.11 (q, $J = 277.9$ Hz), 121.00, 115.77, 115.16, 66.45, 58.44, 45.99。 $^{19}\text{F-NMR}$ (565 MHz, CDCl_3) δ : -65.13。ESI-MS m/z 377.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。

1.2.5 目标化合物 **5** 的合成 取化合物 **3c** (50.0 mg, 163.8 μmol)、多聚甲醛 (22.13 mg, 245.7 μmol) 于反应管中, 加入 DMF (2.0 mL) 溶解, 氩气置换后注入二乙胺 (18.6 μL , 180.17 μmol), 60 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌至反应完全, 将反应液分散至乙酸乙酯与水溶液中, 萃取, 有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥, 减压浓缩后经柱色谱纯化得到目标化合物 **5**。

目标化合物 *N*-{3-[(二乙基氨基)甲基]-4-羟基苯基}-4-三氟甲基喹啉-2-胺 (**5**): 橙色固体, 收率 43.3%, m. p. 132.6 ~ 134.7 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.99 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 7.50 (dd, $J = 8.6, 2.5$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.38 ~ 7.32 (m, 1H), 7.32 ~ 7.27 (m, 1H), 6.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 3.81 (s, 2H), 2.66 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H), 1.13 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ : 156.13 (q, $J = 34.7$ Hz), 155.67, 154.70, 154.14, 135.06, 130.52, 127.21, 124.73 (q, $J = 2.7$ Hz), 124.46, 122.49, 121.11 (q, $J = 277.9$ Hz), 120.45,

120.37, 116.41, 115.68, 57.23, 46.49, 11.34。¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃) δ: -65.17。ESI-MS *m/z* 391.2 [M + H]⁺。

1.2.6 目标化合物**6**的合成 取化合物**3h** (88.0 mg, 231.9 μmol)于反应瓶中,加入DMF 3.0 mL溶解,氩气置换,冰浴条件下缓慢加入NaH(60%分散于矿物油中)65.8 mg(463.9 μmol),最后加入碘甲烷29.0 μL(463.9 μmol),室温搅拌至反应完全,将反应液分散至乙酸乙酯与水溶液中,萃取,有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸镁干燥,减压浓缩后经柱色谱纯化得到目标化合物**6**。

目标化合物 *N*-甲基-*N*-(4-甲氧基苯基)-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹唑啉-2-胺(**6**):黄色固体,收率80.7%, *m. p.* 126.2 ~ 128.7 °C。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ:7.30 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.16 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.62 (s, 3H)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ:157.9, 157.3, 156.8, 152.9, 152.4 (q, *J* = 33.9 Hz), 147.8, 138.5, 127.5, 121.7 (q, *J* = 277.3 Hz), 114.2, 110.0, 105.8, 101.8 (q, *J* = 3.1 Hz), 56.4, 56.1, 55.6, 39.0。¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃) δ:65.39。ESI-MS *m/z* 394.2 [M + H]⁺。

1.2.7 中间体**7a**~**7d**的合成(以**7a**为例) 取中间体**2a** (100.0 mg, 429.9 μmol)、4-(4'-氨基苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(298.1 mg, 1.1 mmol)于耐压反应管中,加入甲苯(4 mL)溶解,氩气置换后于室温下加入乙酸(98.4 μL, 1.7 mmol), 110 °C下封管搅拌至反应完全,将反应液分散至乙酸乙酯与饱和碳酸氢钠水溶液中,萃取,有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸镁干燥,减压浓缩后经柱色谱纯化得到化合物**7a**。参照此方法合成**7b**(以**2a**为原料)、**7c**(以**2a**为原料)和**7d**(以**2b**为原料)。

N-[4-(4-Boc-哌嗪-1-基)苯基]-4-三氟甲基喹唑啉-2-胺(**7a**):绿色固体,收率85.0%。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ:8.00 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.80 ~ 7.77 (m, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.40 ~ 7.33 (m, 2H), 6.98 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.60 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 3.11 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 1.50 (s, 9H)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ:156.13 (q, *J* = 34.7 Hz), 155.49, 154.89, 154.12, 147.63, 135.09, 132.31, 127.30, 124.73 (q, *J* = 2.8 Hz), 124.61, 121.11 (q, *J* = 277.8 Hz), 120.65, 117.69, 115.77, 80.03, 50.24, 28.58。¹⁹F-NMR (565 MHz,

CDCl₃) δ: -65.13。

N-[4-(4-Boc-哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基]-4-三氟甲基喹唑啉-2-胺(**7b**):橙色固体,收率60.5%。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ:8.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 14.3, 2.5 Hz, 1H), 7.86 ~ 7.79 (m, 2H), 7.46 ~ 7.39 (m, 2H), 7.32 ~ 7.27 (m, 1H), 6.98 ~ 6.92 (m, 1H), 3.61 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 3.01 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 1.49 (s, 9H)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ:156.23 (q, *J* = 34.7 Hz), 155.88 (d, *J* = 245.1 Hz), 155.02, 154.92, 153.87, 135.50 (d, *J* = 9.3 Hz), 135.29, 134.79 (d, *J* = 11.0 Hz), 127.43, 125.08, 124.75 (q, *J* = 2.9 Hz), 121.05 (q, *J* = 277.9 Hz), 119.66 (d, *J* = 4.2 Hz), 115.94, 114.83 (d, *J* = 3.3 Hz), 108.06 (d, *J* = 26.3 Hz), 80.00, 51.04, 29.83, 28.59。¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃) δ: -65.10, -120.94。

N-[4-(4-Boc-哌嗪-1-基)-3-氟苯基]-4-三氟甲基喹唑啉-2-胺(**7c**):红色固体,收率63.2%。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ:8.66 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.83 ~ 7.74 (m, 2H), 7.38 ~ 7.32 (m, 1H), 6.62 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.61 (t, *J* = 5.0 Hz, 4H), 3.11 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 1.50 (s, 9H)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ:155.95 (q, *J* = 34.7 Hz), 155.31, 154.88, 154.14, 149.12, 147.57, 134.96, 127.32, 124.71 (q, *J* = 3.0 Hz), 124.46, 122.69, 121.15 (q, *J* = 278.0 Hz), 119.45, 115.67, 108.86, 101.19, 80.04, 55.83, 50.65, 29.83, 28.58。¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃) δ: -65.11。

N-[4-(4-Boc-哌嗪-1-基)苯基]-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹唑啉-2-胺(**7d**):红色固体,收率:89.0%。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ:7.66 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.60 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 3.09 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H), 1.49 (s, 9H)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ:157.1, 155.4, 154.9, 152.9 (q, *J* = 34.3 Hz), 152.5, 148.3, 147.3, 132.8, 121.5 (q, *J* = 277.3 Hz), 120.5, 117.8, 110.9, 105.9, 101.9 (q, *J* = 3.3 Hz), 80.0, 56.5, 56.2, 50.3, 28.6。¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃) δ: -65.35。

1.2.8 目标化合物**8a**~**8d**的合成(以**8a**为例) 称取中间体**7a** (100.0 mg, 211.2 μmol)于反应瓶中,加入无水DCM(2.0 mL)溶解,氩气置换后于

0 °C 搅拌下加入三氟乙酸(1.0 mL),搅拌至反应完全,将反应液分散至乙酸乙酯与饱和碳酸氢钠水溶液中,萃取,有机相依次以水、饱和氯化钠水溶液洗涤,无水硫酸镁干燥,减压浓缩后经柱色谱纯化得到目标化合物 **8a**。参照此方法合成 **8b**(以 **7b** 为原料)、**8c**(以 **7c** 为原料)和 **8d**(以 **7d** 为原料)。

N-[4-(哌嗪-1-基)苯基]-4-三氟甲基喹唑啉-2-胺(**8a**): 橙色固体, 收率 82.6%, m. p. 160.8 ~ 163.2 °C。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 ~ 7.74 (m, 2H), 7.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.38 ~ 7.33 (m, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.17 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.10 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H)。¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ: 156.23 (q, *J* = 32.2 Hz), 154.17, 147.93, 135.18, 135.10, 131.67, 127.30, 124.74 (q, *J* = 4.9 Hz), 121.12 (q, *J* = 279.0 Hz), 120.69, 118.01, 117.08, 115.75, 49.93, 30.34。¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃) δ: -65.16。ESI-MS *m/z* 374.2 [M + H]⁺。

N-[4-(哌嗪-1-基)-3-氟苯基]-4-三氟甲基喹唑啉-2-胺(**8b**): 黄色固体, 收率 73.5%, m. p. 151.3 ~ 152.9 °C。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.33 (s, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.96 ~ 7.89 (m, 2H), 7.83 ~ 7.78 (m, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.53 ~ 7.47 (m, 1H), 7.10 ~ 7.03 (m, 1H), 3.19 ~ 2.97 (m, 8H)。¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 154.92, 154.65 (q, *J* = 33.9 Hz), 154.60 (d, *J* = 242.5 Hz), 153.23, 135.72, 135.39 (d, *J* = 11.0 Hz), 134.21 (d, *J* = 8.9 Hz), 126.78, 125.09, 124.01 (q, *J* = 4.3 Hz), 120.93 (q, *J* = 278.0 Hz), 119.51 (d, *J* = 4.0 Hz), 115.12 (d, *J* = 3.0 Hz), 114.64, 107.21 (d, *J* = 25.7 Hz), 49.47, 44.23。¹⁹F-NMR (565 MHz, DMSO-*d*₆) δ: -64.03, -121.76。ESI-MS *m/z* 392.1 [M + H]⁺。

N-[4-(哌嗪-1-基)-2-甲氧基苯基]-4-三氟甲基喹唑啉-2-胺(**8c**): 橙色固体, 收率 82.3%, m. p. 154.7 ~ 156.6 °C。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.78 (s, 1H), 7.98 ~ 7.94 (m, 1H), 7.91 ~ 7.85 (m, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.49 ~ 7.43 (m, 1H), 6.75 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J* = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.42 ~ 3.36 (m, 4H), 3.29 ~ 3.25 (m, 4H)。¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 156.04, 154.62 (q, *J* = 34.8 Hz), 153.72, 152.11, 147.96, 135.56, 126.60, 124.54, 124.03 (q, *J* = 4.3 Hz), 123.63,

120.96 (q, *J* = 278.1 Hz), 120.62, 114.44, 107.38, 101.05, 55.82, 46.20, 42.87。¹⁹F-NMR (565 MHz, DMSO-*d*₆) δ: -64.17。ESI-MS *m/z* 404.1 [M + H]⁺。

N-[4-(哌嗪-1-基)苯基]-4-三氟甲基-6,7-二甲氧基喹唑啉-2-胺(**8d**): 黄色固体, 收率 83.8%, m. p. 162.7 ~ 164.6 °C。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.77 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.11 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.28 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.16 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H)。¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 157.5, 155.5, 152.4, 151.7 (q, *J* = 33.7 Hz), 148.3, 145.9, 133.8, 121.9 (q, *J* = 277.6 Hz), 120.5, 117.0, 109.9, 106.0, 101.5, 56.7, 56.1, 47.2, 43.5。¹⁹F-NMR (565 MHz, DMSO-*d*₆) δ: -64.14。ESI-MS *m/z* 434.2 [M + H]⁺。

1.3 抗肿瘤活性测试

将合成所得 16 个目标化合物和阳性对照药(紫杉醇)分别以 DMSO 完全溶解,以无血清的培养基稀释至浓度为 5 μmol · L⁻¹,采用 MTT 法测试目标化合物和阳性对照药待测液对 PC3、LNCaP、K562 和 HeLa 这 4 种肿瘤细胞株的体外增殖抑制活性。简要实验步骤为:①分别取上述 4 种处于对数生长期的肿瘤细胞株,接种于 96 孔板中,培养 24 h,随后每孔加入目标化合物或阳性对照药待测液 100 μL,每组设 3 个平行孔,在孵箱中继续培养 36 h;②再加入 20 μL 质量浓度为 5 mg · mL⁻¹ MTT 溶液继续培养 24 h,离心,弃掉上清液,加入 150 μL DMSO,避光、低速振荡至完全溶解;③在 570 nm 波长处用酶标仪测量光密度(OD)值,计算抑制率,结果见表 1。

根据以上初步筛选的抑制活性结果,选取体外抗肿瘤细胞增殖抑制活性大于 50% 的目标化合物(**8b** 和 **8c**)进行浓度梯度实验,并用 GraphPad Prism 软件进行半数抑制浓度(IC₅₀值,平行 3 次实验,取平均值)计算,结果见表 2。

1.4 潜在作用靶点预测

为探索该类化合物潜在的作用靶点,选取活性最好的化合物 **8b** 进行靶点预测,经 PharmMapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/check.html>)的靶点反向对接,显示其对莫洛尼小鼠白血病病毒前病毒整合激酶 1 (provirus integrationin maloney murine leukemia virus kinase-1, PIM-1) 打分最高,其可能是化合物 **8b** 抑制肿瘤细胞增殖的潜在靶标。进一步从蛋白数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载 PIM-1 晶体数据(编号:3BGP),将其与化合物

表 1 16 个 2-氨基喹唑啉类目标化合物在 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对 4 种肿瘤细胞的体外抗增殖活性。 $n=3, \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Antiproliferation activities of 16 target compounds at $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ against four cancer cell lines in this study. $n=3, \bar{x} \pm s$

Compound	Inhibition rate/%			
	PC3	LNCaP	K562	HeLa
3a	15.07 ± 1.10	-9.27 ± 1.77	-3.08 ± 2.63	10.71 ± 2.24
3b	7.04 ± 1.26	-5.94 ± 3.58	8.23 ± 1.24	5.12 ± 1.04
3c	-7.87 ± 1.74	9.75 ± 0.45	20.80 ± 0.04	12.52 ± 2.45
3d	4.27 ± 0.16	11.52 ± 3.52	0.59 ± 2.37	-0.38 ± 2.12
3e	4.86 ± 2.91	-16.77 ± 17.9	-3.49 ± 2.02	-0.90 ± 2.24
3f	27.77 ± 3.95	50.75 ± 0.43	14.38 ± 3.59	-34.00 ± 0.90
3g	15.98 ± 0.93	17.18 ± 6.09	22.96 ± 0.53	20.97 ± 4.82
3h	9.51 ± 2.13	31.22 ± 3.50	33.43 ± 0.08	18.58 ± 2.44
3i	32.12 ± 1.86	18.35 ± 3.59	19.07 ± 3.91	20.21 ± 1.83
4	38.2 ± 2.10	33.77 ± 3.85	21.33 ± 3.54	10.36 ± 2.25
5	-39.50 ± 2.20	-20.24 ± 1.20	14.15 ± 1.87	-4.56 ± 1.45
6	9.40 ± 7.59	20.2 ± 2.50	26.00 ± 3.77	17.58 ± 2.01
8a	26.62 ± 1.08	30.43 ± 2.77	50.82 ± 1.49	47.47 ± 0.95
8b	80.49 ± 0.99	88.50 ± 0.75	71.02 ± 0.96	37.96 ± 2.68
8c	46.65 ± 2.44	92.12 ± 0.36	51.32 ± 1.19	66.54 ± 2.93
8d	-2.06 ± 3.4	10.47 ± 8.55	45.02 ± 2.42	-4.66 ± 1.24
Paclitaxel ¹⁾	50.12 ± 1.31	63.40 ± 0.21	54.32 ± 2.06	68.17 ± 2.21

注: ¹⁾ - 阳性对照。

Note: ¹⁾ - positive control.

表 2 化合物 **8b** 和 **8c** 对 4 种肿瘤细胞的增殖抑制活性。 $n=3, \bar{x} \pm s$

Tab. 2 Anti-proliferative activity of compounds **8b** and **8c** against four tumor cells. $n=3, \bar{x} \pm s$

Compound	IC ₅₀ /μmol · L ⁻¹			
	PC3	LNCaP	K562	HeLa
8b	5.51 ± 0.41	4.51 ± 0.64	8.49 ± 0.23	>10
8c	>10	6.91 ± 0.90	6.85 ± 0.11	6.03 ± 0.20
Paclitaxel ¹⁾	3.75 ± 0.25	2.20 ± 0.23	4.63 ± 0.36	1.17 ± 0.21

注: ¹⁾ - 阳性对照。

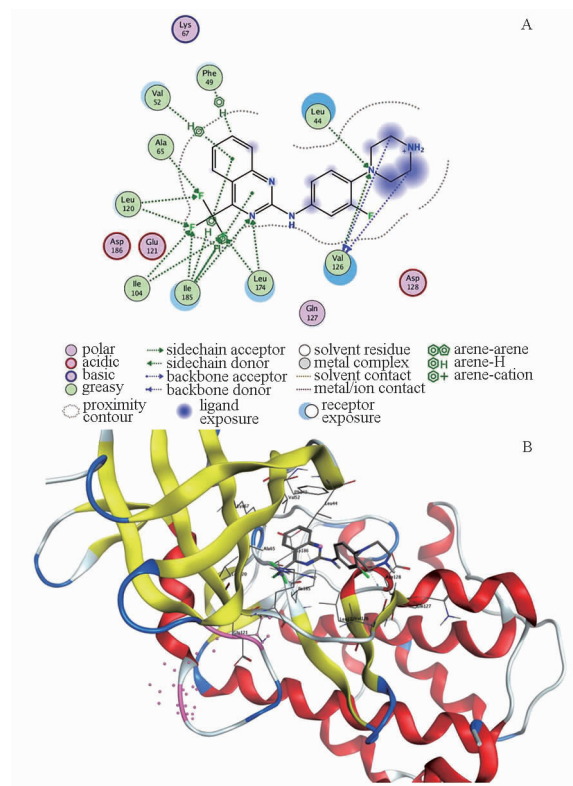
Note: ¹⁾ - positive control.

8b 进行分子对接。结果见图 4, 化合物 **8b** 与 PIM-1 蛋白有较强的相互作用, 结合能为 $-41.90 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。化合物 **8b** 的三氟甲基与氨基酸残基 Ala 65、Leu 120、Ile 104、Leu 174 和 Ile 185 存在氢键作用, 除此之外, 哌嗪与氨基酸残基 Leu 44 和 Val 126 也有类似的相互作用, 同时, 发现喹唑啉的苯环与氨基酸残基 Val 52、以及其嘧啶环与 Ile 185 有 π -H 相互作用。综上分析, PIM-1 蛋白可能是化合物 **8b** 的潜在作用靶点。

2 结果与讨论

2.1 合成部分

本实验以邻硝基苯甲醛和 6-硝基藜芦醛为原料, 通过亲核加成、氧化、还原、环合、氯代和偶联等



A - 二维结合模式; B - 三维结合模式。

A - the 2D binding pattern; B - the 3D binding pattern.

图 4 化合物 **8b** 与 PIM-1 (编号:3BGP) 的分子对接

Fig. 4 Molecular docking studies of compound **8b** with PIM-1

化合物 **8b** 与 PIM-1 (编号:3BGP) 的分子对接反应, 共设计合成了 16 个结构新颖的 *N*-苯基-4-三氟甲基-2-氨基喹唑啉类化合物, 并通过核磁共振和质谱对其进行结构确证。本合成路线的起始原料便宜易得, 且部分中间体的制备仅需简单的溶剂法处理而无须色谱纯化即可用于下一步反应, 操作简便, 反应收率较高。在中间体 **2a** 和 **2b** 与不同取代芳胺进行偶联过程中, 当采用盐酸/异丙醇反应体系时, 大部分取代芳胺均能反应完全并获得较好的产品收率 (化合物 **3a** ~ **3h** 的合成, 收率 60.0% ~ 85.0%)。但当与 *N*-Boc 保护的哌嗪苯胺偶联时, 反应进行不彻底, 目标化合物产率较低 (**7c** 收率仅为 37.3%)。因此, 为提高该类化合物 (**7a** ~ **7d**) 的收率, 本实验又优选出了乙酸/甲苯体系, 其应用在化合物 **7a** ~ **7d** 合成收率分别可提升至 85.0%、60.5%、63.2% 和 89.0%。

2.2 药理部分

采用 MTT 法测试所得目标化合物在 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下的体外抗肿瘤活性。结果显示 (表 1), 部分化合物对 PC3、LNCaP、K562 和 HeLa 这 4 种肿瘤细胞表现出较好的生长抑制作用; 其中, 化合物 **8b** 对 PC3、

LNCaP 和 K562 细胞的抑制活性分别为 80.49%、88.59% 和 71.02%，高于阳性对照紫杉醇；化合物 **8c** 对 PC3、K562 和 HeLa 细胞的抑制活性分别为 46.65%、51.32% 和 66.54%，与紫杉醇相当。化合物 **8b** 和 **8c** 对多个肿瘤细胞均表现出了较好的增殖抑制活性，IC₅₀ 值均小于 10 μmol · L⁻¹。

分析 16 个目标化合物的体外抗肿瘤活性测定结果与其结构特征，可得出该类化合物在抗肿瘤方面的初步构效关系：①比较化合物 **3c**、**4** 和 **5** 的抗肿瘤活性，可看出在 4'-位酚羟基上引入 *N,N*-二甲氨基乙基侧链时有利于提高其抗肿瘤活性（化合物 **4**）；而通过曼尼希反应在 3'-位引入二乙胺甲基所得目标化合物 **5** 较其原型化合物 **3c** 的活性降低；②在 4'-位引入哌嗪环基取代时，所得目标化合物 **8a** 较非哌嗪类化合物 **3d** 和 **3e** 的抗肿瘤活性有显著提高，且 6,7-位为氢取代的目标化合物 **8a** 较 6,7-二甲氧基取代的 **8d** 抗肿瘤活性更好；③比较化合物 **8a**、**8b** 和 **8c** 的活性可发现，在 2'-位引入甲氧基（**8c**）和 3'-位引入氟（**8b**）均对其抗肿瘤活性有所提高；④当 2-位氨基被甲基化后所得化合物 **6** 的活性与其非甲基化产物的活性无显著性差异。

3 结论

本实验共合成了 16 个 *N*-苯基-4-三氟甲基-2-氨基喹啉衍生物，并采用 MTT 法评价了目标化合物对 PC3、LNCaP、K562 和 HeLa 这 4 种肿瘤细胞的增殖抑制活性。结果表明，含 *N*-4-(哌嗪-1-基)苯氨基的喹啉-2-胺化合物 **8b** 和 **8c** 对 4 种肿瘤细胞均表现出较好的增殖抑制活性。此外，分子对接结果显示，PIM-1 蛋白可能是化合物 **8b** 的潜在作用靶点。该研究结果可为 *N*-苯基-4-三氟甲基-2-氨基喹啉衍生物在抗肿瘤方面的深入研究提供参考。

REFERENCES

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.

[2] SCHAUE D, MCBRIDE W H. Opportunities and challenges of radiotherapy for treating cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(9): 527-540.

[3] CHENG M, YU X, LU K, *et al.* Discovery of potent and selective epidermal growth factor receptor (EGFR) bifunctional small-molecule degraders [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(3): 1216-1232.

[4] JORDAN A M, BEGUM H, FAIRWEATHER E, *et al.* Anilinoquinazoline inhibitors of the RET kinase domain-elaboration of the 7-position [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(11): 2724-2729.

[5] ASHTON T D, NGO A, FAVUZZA P, *et al.* Property activity refinement of 2-anilino 4-amino substituted quinazolines as antimalarials with fast acting asexual parasite activity [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 117: 105359. DOI: 10.1016/j.bioorg.2021.105359.

[6] EL-FEKY S A, IMRAN M, NAYEEM N. Design, synthesis, and anti-inflammatory activity of novel quinazolines [J]. *Orient J Chem*, 2017, 33(2): 707-716.

[7] BANDURCO V T, WONG E M, LEVINE S D, *et al.* Antihypertensive pyrrolo[1, 2-c]quinazolines and pyrrolo[1, 2-c]quinazolinones [J]. *J Med Chem*, 1981, 24(12): 1455-1460.

[8] WANG L, LI P, LI B, *et al.* Design, synthesis, and antitumor activity of novel quinazoline derivatives [J]. *Molecules*, 2017, 22(10): 1624. DOI: 10.3390/molecules22101624.

[9] VIDYACHARAN S, ADHIKARI C, KRISHNA V S, *et al.* A robust synthesis of functionalized 2H-indazoles via solid state melt reaction (SSMR) and their anti-tubercular activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(7): 1593-1597.

[10] SHANG X F, MORRIS-NATSCHKE S L, LIU Y Q, *et al.* Biologically active quinoline and quinazoline alkaloids part I [J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(3): 775-828.

[11] CULY C R, FAULDS D. Gefitinib [J]. *Drugs*, 2002, 62(15): 2237-2248.

[12] PIPERDI B, PEREZ-SOLER R. Role of erlotinib in the treatment of non-small cell lung cancer: clinical outcomes in wild-type epidermal growth factor receptor patients [J]. *Drugs*, 2012, 72(Suppl. 1): 11-19.

[13] DHILLON S, WAGSTAFF A J. Lapatinib [J]. *Drugs*, 2007, 67(14): 2101-2108.

[14] MEANWELL N A. Fluorine and fluorinated motifs in the design and application of bioisosteres for drug design [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(14): 5822-5880.

[15] ALI S, BOLINGER A A, ZHOU J. Highlights on fluorine-containing drugs approved by U. S. FDA in 2023 [J]. *Curr Top Med Chem*, 2024, 24(10): 843-849.

[16] LIU L, WANG Z, GAO C, *et al.* Design, synthesis and antitumor activity evaluation of trifluoromethyl-substituted pyrimidine derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2021, 51: 128268. DOI: 10.1016/j.bmcl.2021.128268.

[17] ISANBOR C, O'HAGAN D. Fluorine in medicinal chemistry: a review of anti-cancer agents [J]. *J Fluor Chem*, 2006, 127(3): 303-319.

[18] PISSOT SOLDERMANN C, SIMIC O, RENATUS M, *et al.* Discovery of potent, highly selective, and *in vivo* efficacious, allosteric MALT1 inhibitors by iterative scaffold morphing [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(23): 14576-14593.

[19] QUANCARD J, SIMIC O, PISSOT SOLDERMANN C, *et al.* Optimization of the *in vivo* potency of pyrazolopyrimidine MALT1 protease inhibitors by reducing metabolism and increasing potency in whole blood [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(23): 14594-14608.

[20] LIU F, TANG B, LIU H, *et al.* 4-Anilinoquinazoline derivatives with epidermal growth factor receptor inhibitor activity [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, 16(12): 1652-1664.

[21] MANEVSKI N, KING L, PITT W R, *et al.* Metabolism by aldehyde oxidase: drug design and complementary approaches to challenges in drug discovery [J]. *J Med Chem*, 2019, 62(24): 10955-10994.

(收稿日期:2023-10-16)