

· 论著 ·

新型喹唑啉酮类化合物合成工艺研究

赵 蕾^{1,2}, 赵雪梅¹, 唐 辉¹, 吴 娟³ (1. 山东大学附属省立医院, 山东 济南 250021; 2. 山东大学齐鲁医院, 山东 济南 250012; 3. 成都军区总医院, 四川 成都 610083)

[摘要] 目的 优化取代喹唑啉酮类化合物的合成工艺, 重点考察温度、时间 2 个因素对关键中间体化合物合成的影响。方法 平行试验比较温度、时间和缩合剂催化酯键的氨解反应, 并对试验结果进行整体化分析; 采用正交设计的方差分析考察反应物、温度及时间对收率的影响。结果和结论 所得化合物的结构经过¹H NMR、MS 和¹³C NMR 等方法确证, 当反应温度为 30 ℃, 反应时间为 24 h, 缩合剂(DCC)与反应物的投料比为 1.5 : 1 时, 酯键氨解反应的收率最高(65.41%), 使得取代喹唑啉酮类化合物的合成路线更加符合工业生产的要求。体外抗真菌活性实验结果表明, 所测定的先导化合物对 5 种临床致病菌都具有潜在的抗真菌活性, 值得进一步研究。

[关键词] 喹唑啉酮类化合物; 合成; 正交设计; 方差分析

[中图分类号] O621.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)06-0529-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.06.013

Synthesis of substituted novel quinazolinone compounds

ZHAO Lei^{1,2}, ZHAO Xuemei¹, TANG Hui¹, WU Juan³ (1. Shandong Provincial Hospital affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China; 2. Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China; 3. Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

[Abstract] **Objective** To optimize the synthesis route of substituted quinazolinone and investigate the influence of temperature and time in the synthesis of key intermediates. **Methods** A parallel test was carried out to compare temperature, time and the ester bond ammonolysis of condensing agent, including the total analysis of experimental result. And orthogonal experimental design was used and the influence of temperature and time on the yield were investigated. **Results and Conclusion** The structure of the compound was confirmed by ¹H NMR, MS and ¹³C NMR. When the reaction temperature was 30 ℃, the reaction time was 24 h with the condensing agent (DCC) and the reactant ratio of 1.5 : 1, the yield of ester bond ammonolysis was higher. The optimal preparation procedure of quinazolinone compounds was more available for industrial production. *In vitro* antifungal activity test results showed that the lead compounds measured on five clinical pathogenic fungi have the potential antifungal activity, and are worth for further study.

[Key words] quinazolinone compound; synthesis; orthogonal design; analysis of variance

喹唑啉酮类化合物在医药和化工领域是一类具有优良生物活性和生理活性的中间体化合物, 该类化合物主要抑制表皮生长因子受体(EGFR)或其酪氨酸激酶(EGFR-TK)、血小板衍生生长因子受体(PDGFR)、神经生长因子受体(NGFR)和血管内皮生长因子受体(VEGFR)等受体的活性^[1,2], 广泛应用于抗真菌、抗肿瘤、抗病毒、抗疟疾等药物化学和

有机化学合成^[3,4]。由于喹唑啉酮类化合物具有特殊的结构与化学性质, 及研究者对其先导化合物的多作用靶点的研究, 对进一步探索针对不同原料与方法合成出更强生物活性的化合物具有重要意义^[5]。在研究喹唑啉酮类化合物作用靶点和生物活性的同时, 对该类化合物合成工艺新方法的探索也具有更深层次的意义^[6,7]。

本实验参考相关文献[8-10], 采用 2-氨基-5-甲基-苯甲酸、丙酸酐和胺类化合物为原料, 经多步反应生成相应的喹唑啉酮类抗真菌药物的衍生化合物。其中, 反应的温度和时间为关键因素, 从 2 个关键因素出发, 对该路线的工艺进行优化, 得到最优的工艺路线。

[基金项目] 山东省自然科学基金(No. ZR2012HQ026); 成都军区总医院 2015 年院管课题

[作者简介] 赵 蕾, 硕士研究生。研究方向: 中药新制剂与临床药学。Tel: (0531) 68776465; E-mail: 165703687@qq.com

[通讯作者] 唐 辉, 博士。研究方向: 新药研究与药物质量安全研究。Tel: (0531) 68776449; E-mail: tanghui111@163.com

1 合成部分

2-乙基-6-甲基-3-戊基-3H-喹唑啉-4-酮的合成方法见图1。

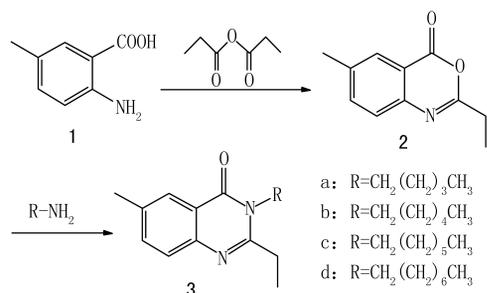


图1 2-乙基-6-甲基-3-戊基-3H-喹唑啉-4-酮的合成路线

2 实验部分

2.1 仪器和试剂 DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器;JB-3型定时恒温磁力搅拌器;减压浓缩旋转蒸发仪;隔膜真空泵;电热恒温干燥箱;电子天平;玻璃仪器气流烘干箱;旋转蒸发仪;硅胶GF254板;所有试剂均为分析纯。

2.2 实验步骤

2.2.1 2-乙基-6-甲基-苯丙[1,3] 嗪-4-酮的合成^[8] 取2-氨基-5-甲基-苯甲酸(6.0 g, 0.04 mol)与丙酸酐40 ml,加热搅拌回流5 h,停止反应,放冷至室温后,于冰箱内(4℃)放置过夜,滤集析出的白色片状晶体,得粗品。用无水乙醇重结晶得淡黄色化合物2, 4.66 g,产率61.6%, mp 100.0~100.5℃(文献值:99.1~99.9℃)。

2.2.2 2-乙基-6-甲基-3-戊基-3H-喹唑啉-4-酮(3a)的合成 取化合物2(1.5 g, 0.008 mol)与正戊胺(0.6 ml, 0.005 3 mol)反应,投料比为1.5:1,加入缩合剂N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)0.25 g,在溶剂N,N-二甲基甲酰胺中常温搅拌反应12 h,用薄层板检测反应完全后,显示为淡黄色澄清溶液,停止反应,用减压旋转蒸发仪除去溶剂,得粗品化合物^[9,10]。无水乙醇重结晶,得白色固体1.338 g,产率65.41%, mp 158.4~158.8℃; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃, ppm) δ 1.106(t, 3H), 1.112(t, 3H), 1.453~1.684(m, 6H), 1.742(q, 2H), 2.875(s, 3H), 3.757(m, 2H), 7.615(d, H), 7.651(d, H), 8.006(s, H); MS(ESI) m/z: 259.4[M+1]; ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃, ppm) δ 176.85, 172.50, 152.23, 144.51, 141.23, 137.39, 130.79, 50.26, 37.51, 37.41, 33.45, 30.47, 28.38, 22.67, 13.25。

同法,用化合物2分别与正己胺、正庚胺、正辛胺反应,制备3b、3c、3d。

2.2.3 2-乙基-6-甲基-3-己基-3H-喹唑啉-4-酮(3b)的合成 白色固体,产率60.34%, mp 163.9~164.1℃; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃, ppm) δ 1.121(t, 3H), 1.231(t, 3H), 1.523~1.754(m, 8H), 1.872(q, 2H), 2.943(s, 3H), 3.872(m, 2H), 7.750(d, H), 7.795(d, H), 8.238(s, H); MS(ESI) m/z: 273.5[M+1]; ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃, ppm) δ 178.59, 174.53, 154.12, 147.01, 143.09, 139.62, 133.12, 52.40, 40.11, 39.23, 35.74, 32.67, 30.05, 25.12, 15.65。

2.2.4 2-乙基-6-甲基-3-庚基-3H-喹唑啉-4-酮(3c)的合成 白色固体,产率64.28%, mp 170.1~170.4℃; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃, ppm) δ 1.212(t, 3H), 1.298(t, 3H), 1.613~1.815(m, 10H), 1.905(q, 2H), 3.002(s, 3H), 3.902(m, 2H), 7.807(d, H), 7.887(d, H), 8.296(s, H); MS(ESI) m/z: 287.7[M+1]; ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃, ppm) δ 180.3, 176.23, 155.98, 148.76, 145.12, 140.32, 135.09, 53.99, 42.07, 40.89, 37.12, 34.46, 31.97, 27.32, 17.25。

2.2.5 2-乙基-6-甲基-3-辛基-3H-喹唑啉-4-酮(3d)的合成 白色固体,产率63.29%, mp 183.3~183.5℃; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃, ppm) δ 1.231(t, 3H), 1.325(t, 3H), 1.577~1.805(m, 12H), 1.901(q, 2H), 2.987(s, 3H), 3.916(m, 2H), 7.967(d, H), 7.934(d, H), 8.348(s, H); MS(ESI) m/z: 301.6[M+1]; ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃, ppm) δ 191.09, 178.03, 155.02, 149.32, 145.23, 143.02, 135.76, 55.08, 43.39, 45.53, 38.01, 35.12, 32.65, 27.42, 18.32。

3 正交试验设计的方差分析

化合物2经酯键氨解反应得到化合物3,该反应过程涉及反应温度和反应时间2个因素。本试验以反应温度(A)、反应时间(B)为影响因素,做正交试验设计的方差分析,按照正交表的设计安排9次反应,以化合物3的收率作为判断指标。考察A、B两因素对总体工艺的影响^[11]。研究因素水平列于表1。

根据试验结果(表2)和正交试验设计的方差分析(表3),判断影响反应结果中收率的因素,最优反应条件为:在30℃下反应24 h,反应条件A₂B₂的产率最高。

表1 正交试验设计的影响因素水平

水平	温度因素(A, t/°C)	时间因素(B, t/h)
1	10	18
2	30	24
3	50	30

表2 正交设计试验结果

No.	温度(t/°C)	时间(t/h)	收率(%)
1	1	1	27.43
2	1	2	47.98
3	1	3	40.17
4	2	1	37.84
5	2	2	65.41
6	2	3	53.72
7	3	1	41.13
8	3	2	57.44
9	3	3	51.62
K1	38.53	35.47	
K2	52.32	56.94	
K3	50.06	48.50	
R	13.80	21.48	

表3 正交试验设计方差分析

因素	温度	时间	误差
自由度(DF)	2	2	8
离均差平方和(SS)	328.550	702.435	1063.37
均方(MS)	164.275	351.218	132.921
F	1.236	2.642	

4 缩合剂 N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)的优化选择

在本实验的反应条件中,缩合剂与反应物的投料比也是影响收率的一个重要因素,合适的投料比能够大幅提高反应收率。本实验选用DCC为缩合剂,在30℃下反应24h,以化合物3的收率作为判断指标,考察DCC对总体反应收率的影响(表4)。

表4 缩合剂DCC与反应物的投料比对反应收率的影响

No.	缩合剂:反应物	收率(%)
1	0.5:1	23.19
2	1:1	48.39
3	1.5:1	65.41
4	2:1	51.87
5	3:1	46.41

由表4可以看出,当缩合剂DCC与反应物的投料比为1.5:1时,基本达到最大收率(65.41%)。

继续增大其原料摩尔比,由于产生较多的副产物,产物收率不升反降,后处理较为复杂,故缩合剂与反应物的投料比以1.5:1较为适宜。

5 抗真菌活性的测定

参照美国国家临床试验标准化委员会(NCCLS)提出的药敏试验方案,采用微量液基稀释法,测定先导化合物对5种常见致病真菌的体外抗真菌活性^[12,13]。

5.1 实验菌株 本实验测试菌株为5种常见的深部及浅表人体致病真菌,即白色念珠菌、新生隐球菌、烟曲霉菌、红毛癣菌、石膏样小孢子菌。

5.2 实验方法 采用RPMI1640培养基,测定药物的最低抑菌浓度(MIC)。被测定的先导化合物分别用DMSO溶解配成,以氟康唑作为对照药物。用刚制作完成的RPMI1640培养基溶液将所要测定的先导化合物稀释至以下质量浓度:64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25、0.125 μg/ml。分别接种于所要测定的实验菌株上,于37℃培养,观察白色念珠菌24h的生长情况;观察新生隐球菌72h的生长情况;其余菌株观察7d的生长情况。抗真菌活性见表5。

表5 先导化合物的体外抗真菌活性(ρ_B/μg·ml⁻¹)

化合物	R	白色念珠菌	新生隐球菌	烟曲霉菌	红毛癣菌	石膏样小孢子菌
3a	(CH ₂) ₄ CH ₃	>100	50	50	>100	>100
3b	(CH ₂) ₅ CH ₃	>100	>100	50	50	>100
3c	(CH ₂) ₆ CH ₃	>100	50	50	>100	>100
3d	(CH ₂) ₇ CH ₃	>100	50	>100	>100	>100
氟康唑		0.25	1	1	0.25	0.5

注:白色念珠菌 *Candida albicans*、新生隐球菌 *Cryptococcus neoformans*、烟曲霉菌 *Aspergillus fumigillus*、红毛癣菌 *Trichophyton rubrum*、石膏样小孢子菌 *Microsporium gypsum*

6 结果与讨论

本实验合成的4个化合物结构经过¹H NMR、MS和¹³C NMR等方法确证,所有目标化合物均未见文献报道。其中,反应原料2-氨基-5-甲基-苯甲酸廉价易得,且处理方法较为简便,反应终产物杂质少、易分离纯化。根据反应的最终实验结果,提出最佳反应条件:当反应温度为30℃,反应时间为24h,缩合剂DCC与反应物的投料比为1.5:1时,酯键氨解反应的收率最高,为65.41%。体外抗真菌活性实验结果表明,所测定的先导化合物对5种临床致病真菌均具有潜在的抗真菌活性,值得进一步研

究。本实验设计合成的 2-乙基-6-甲基-3-烷基-3H-喹唑啉-4-酮类化合物是一类全新结构的喹唑啉酮类化合物,为进一步研究喹唑啉酮类化合物的结构优化和构效关系奠定了基础,利于喹唑啉酮类化合物合成工艺的放大研究。

喹唑啉酮类化合物具有较为广泛的生物活性,利用喹唑啉酮类先导化合物进行结构修饰,不断优化该类化合物的合成工艺,继续深入研究其生物活性,将是此类化合物研究的重要方向。

【参考文献】

- [1] 刘刚,李晓燕.喹唑啉酮类化合物合成新方法研究进展[J].药学进展,2007,31(12):542-550.
- [2] 佟茂国.喹唑啉类化合物的合成及其抗肿瘤活性研究进展[J].广州化工,2012,40(3):17-19.
- [3] Chandrika P M, Yakaiah T, Gayatri G, *et al.* Click chemistry: studies on the synthesis of novel fluororous tagged triazol-4-yl substituted quinazoline derivatives and their biological evaluation-theoretical and experimental validation [J]. *Eur J Med Chem*, 2010, 45: 78-84.
- [4] El-Gazzar ABA, Youssef MM, Youssef AM S, *et al.* Design and synthesis of azolopyrimidoquinolines, pyrimidoquinazolines as anti-oxidant, anti-inflammatory and analgesic activities [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44: 609-624.
- [5] 李文举,欧阳贵平,张广龙.4-取代氨基喹唑啉类化合物的研究进展[J].精细化工中间体,2009,39(3):15-20.
- [6] Lee JY, Park YK, Seo SH, *et al.* 1,4-dioxane-fused 4-anilino-quinazoline as inhibitors of epidermal growth factor receptor kinase [J]. *Arch Pharm Res*, 2001, 334(11):357-360.
- [7] Lee JY, Lee YS, Park HK, *et al.* 4-(Phenylamino)-[1,4]dioxano[2,3-g]quinazoline derivatives and process for preparing the same: USA, 2003045537 [P]. 2003-03-06.
- [8] 宁微微,刘雪飞,张晓梦,等.新型喹唑啉酮类先导物的设计、合成及抑制人顶体酶活性研究[J].药实践杂志,2010,28(4):296-298,312.
- [9] Ioannis K, Abdelhakim E, Elisabeth S, *et al.* Rapid synthesis of 2,3-disubstituted-quinazolin-4-ones enhanced by microwave-assisted decomposition of formamide [J]. *Tetrahedron Lett*, 2007, 48: 6609.
- [10] 宋桂红,张珏,张晓梦,等.南德士抑制人精子顶体酶活性的实验研究[J].中华男科学杂志,2009,15(8):700.
- [11] 付丙月,唐辉,郑灿辉,等.四氢萘类化合物合成工艺研究[J].药实践杂志,2012,30(1):35-37.
- [12] NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard [S]. 2nd ed. Villanova: [s.n.], 2000.
- [13] 曹永兵,姜远英,王宁,等.微量液基稀释法测定化合物特苋康唑的体外抗真菌活性[J].中国抗生素杂志,2000,25, 183.
- [收稿日期] 2014-05-19 [修回日期] 2014-11-06
[本文编辑] 陈静
- (上接第 493 页)
- aptamers selectively enter and kill epithelial cancer cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(3): 866-876.
- [22] Do Kwon Y, Finzi A, Wu X, *et al.* Unliganded HIV-1 gp120 core structures assume the CD4-bound conformation with regulation by quaternary interactions and variable loops [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(15): 5663-5668.
- [23] Zhou J, Li H, Li S, *et al.* Novel dual inhibitory function aptamer-siRNA delivery system for HIV-1 therapy [J]. *Mol Ther*, 2008, 16(8): 1481-1489.
- [24] Reyes-Reyes EM, Teng Y, Bates PJ. A new paradigm for aptamer therapeutic AS1411 action: uptake by macropinocytosis and its stimulation by a nucleolin-dependent mechanism [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(21): 8617-8629.
- [25] Cao Z, Tong R, Mishra A, *et al.* Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48(35): 6494-6498.
- [26] 胡艳玲,史爱欣,傅得兴,等.哌加他尼钠的药理作用和临床评价[J].中国新药杂志,2007,16(7):573-576.
- [27] Nicholson BP, Schachat AP. A review of clinical trials of anti-VEGF agents for diabetic retinopathy [J]. *Graef Arch Clin Exp*, 2010, 248(7): 915-930.
- [28] Proske D, Gilch S, Wopfner F, *et al.* Prion-protein-specific aptamer reduces PrPSc formation [J]. *Chem Bio Chem*, 2002, 3(8): 717-725.
- [29] Jeon SH, Kayhan B, Ben-Yedidia T, *et al.* A DNA aptamer prevents influenza infection by blocking the receptor binding region of the viral hemagglutinin [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(46): 48410-48419.
- [30] Becker RC, Chan MY. REG-1, a regimen comprising RB-006, a Factor IXa antagonist, and its oligonucleotide active control agent RB-007 for the potential treatment of arterial thrombosis [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2009, 11(6): 707-715.
- [收稿日期] 2013-11-04 [修回日期] 2014-12-24
[本文编辑] 李睿旻