新型嘌呤-8-酮衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

张自鹏 杨新颖 方浩*

(山东大学药学院 济南 250012)

摘要 以 2,4-二氯-5-硝基嘧啶为起始原料, 通过多步反应制备了一系列新型嘌呤-8-酮衍生物, 并经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 结构确认. 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定了目标化合物的体外抗肿瘤细胞增殖活性, 结果表明: 部分目标化合物具有较好的抗肿瘤细胞增殖活性, 其中四个化合物抑制人子宫颈癌细胞(Hela)、人急性淋巴细胞白血病细胞(MOLT-4)和白血病细胞(K562)的活性相当或优于阳性对照药 *R*-Roscovitine.

关键词 嘌呤衍生物; 抗肿瘤; 合成

Synthesis and Antiproliferative Activity of Novel Purin-8-one Derivatives

Zhang, Zipeng Yang, Xinying Fang, Hao*

(School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Ji'nan 250012)

Abstract A series of novel purin-8-one derivatives were prepared with the starting materials of 2,4-dichloro-5-nitropyrimidine and followed by multi-step reactions. The structures of all target compounds were identified by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS. The preliminary biological evaluations were performed using thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) method to test their antiproliferative activities against some tumor cell lines. The results suggested that some compounds exhibited good anti-proliferative activities against tumor cell lines. Especially, four compounds showed similar or better inhibitory activities against Hela, MOLT-4 and K562 tumor cell lines compared with *R*-roscovitine.

Keywords purine derivatives; antitumor; synthesis

嘌呤是一种广泛存在于自然界中的氮杂环类物质, 许多重要生物分子都含有嘌呤环结构^[1,2]. 嘌呤类物质可参与有机体的核酸合成、能量转移以及多种生理过程^[3,4]. 无论是自然存在还是人工合成的嘌呤类物质都被发现有着广泛的生物活性, 已有许多报道证实了嘌呤类物质可用于治疗各种疾病. 当然, 嘌呤骨架的研究也在抗肿瘤药物中获得了很大的成功, 如奈拉滨^[5]、替莫唑胺^[6]、巯嘌呤^[7]、Idelalisib^[8]和 *R*-Roscovitine^[9]等均具有较好的抗肿瘤作用.

本课题组在前期嘌呤类抗肿瘤活性化合物的研究中发现^[10,11], 嘌呤环 C(2)位引入取代芳胺有利于提高活性, C(6)位以苄胺或环己基甲胺等取代对活性的提高影响很小; 而 N(9)位引入异丙基和环戊基等基团活性较好. 为进一步提高先导化合物的抑制肿瘤细胞增殖的效果, 我们在保留 C(2)位不同取代芳胺结构的基础上, 去

除对活性影响不大的 C(6)取代基团, 尝试在 N(7)位引入不同的片段(包括含有氢键受体或供体、疏水性或含 π 电子的结构), 以期增加目标化合物与靶组织的结合力. 对于 N(9)位的改造, 除了保留异丙基和环戊基以外, 还考察了其他环状取代基以便分析立体效应对活性的影响. 最后根据生物电子等排原理, 将嘌呤母核替换为嘌呤-8-酮骨架, 设计、合成了一系列结构新颖目标化合物. 具体合成路线见 Scheme 1.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

参考文献[12]方法合成中间体 **4a~4e**: 以 2,4-二氯-5-硝基嘧啶为起始原料, 与不同取代伯胺(R^1NH_2)反应后制得硝基嘧啶胺类中间体 **2a~2e**, 该中间体经二氯亚锡还原得到中间体 **3a~3e**, 再与氯甲酸苯酯发生缩

* Corresponding author. E-mail: haofangcn@sdu.edu.cn

Received November 23, 2016; revised January 3, 2017; published online February 8, 2017.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21672127).

国家自然科学基金面上(No. 21672127)资助项目.

Reagents and conditions: (a) DIPEA, EtOAc, 0 °C~r.t., 6 h; (b) SnCl₂, EtOAc, 50~60 °C, 2 h; (c) Phenyl chloroformate, NaHCO₃, EtOAc, H₂O, 0 °C~r.t., 1 h, then 70 °C, 2 h; (d) TsOH, *n*-Butanol, microwave, 70 °C, 30 min (or reflux, 15~20 h); (e) K₂CO₃, DMF, r.t., 3 h; (f) HCl, EtOAc, r.t., overnight

图式 1 目标化合物的合成

Scheme 1 Synthetic route of the target compounds

合和环合反应后生成嘌呤中间体 **4a~4e**。随后分别与不同取代苯胺经过芳香亲核取代反应即可制得目标化合物 **5a~5j**。所得目标化合物 **5a~5j** 与卤代物(R³-X)反应后制得目标化合物 **6a~6r**。目标化合物 **7a** 和 **7b** 的制备是以 **5j** 和 **6r** 为原料, 在酸性条件下脱除 Boc 保护基后得到。所有目标化合物均经 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 结构确认。

表 1 化合物的结构

Table 1 The structure of the compounds

Compd.	R ¹	R ²	R ³
5a	<i>i</i> -Pr	OH	H
5b	<i>i</i> -Pr	OCH ₃	H
5c	Cyclopentyl	OCH ₃	H
5d	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	H
5e	Cyclopentyl	N(CH ₃) ₂	H
5f	Cy	N(CH ₃) ₂	H
5g	Cyclopropyl	N(CH ₃) ₂	H
5h	Ph	N(CH ₃) ₂	H
5i	<i>i</i> -Pr	Morpholino	H
5j	<i>i</i> -Pr	4-Boc-piperazin-1-yl	H
6a	<i>i</i> -Pr	OH	CH ₂ COOCH ₃
6b	<i>i</i> -Pr	OH	CH ₂ COCH ₃
6c	<i>i</i> -Pr	OCH ₃	CH ₂ COOCH ₃
6d	Cyclopentyl	OCH ₃	CH ₂ COOCH ₃
6e	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COOCH ₃
6f	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COCH ₃

续表

Compd.	R ¹	R ²	R ³
6g	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COOH
6h	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	Pr
6i	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	Allyl
6j	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	Propargyl
6k	<i>i</i> -Pr	N(CH ₃) ₂	Bn
6l	Cyclopentyl	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COOCH ₃
6m	Cy	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COOCH ₃
6n	Cyclopropyl	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COOCH ₃
6o	Ph	N(CH ₃) ₂	CH ₂ COOCH ₃
6p	<i>i</i> -Pr	Morpholino	CH ₂ COCH ₃
6q	<i>i</i> -Pr	Morpholino	CH ₂ COOH
6r	<i>i</i> -Pr	4-Boc-piperazin-1-yl	CH ₂ CH ₂ OH
7a	<i>i</i> -Pr	Piperazin-1-yl	H
7b	<i>i</i> -Pr	Piperazin-1-yl	CH ₂ CH ₂ OH

1.2 目标化合物的抗肿瘤细胞增殖活性

我们选用 Hela 和 HCT116 肿瘤细胞株, 应用四甲基偶氮唑盐(MTT)法测试了所有目标化合物在 50 μmol·L⁻¹ 浓度下对肿瘤细胞的抗增殖活性。该方法根据活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶可将黄色 MTT 还原为不溶于水的蓝紫色结晶甲臞为原理, 测定肿瘤细胞存活率, 也是抗肿瘤药物研究中表型筛选的重要方法^[12]。初筛测试结果(图 1)表明: 多数化合物对 HCT116 细胞株的抑制作用差, 对 Hela 细胞株的抑制作用较好; 分析目标化合物的结构与 Hela 细胞株的抑制活性可发现, 嘌呤-8-酮 N(7)位引入乙酸乙基片段(**6a**、**6c~6e** 和 **6l~6n**)、丙酮片段(**6b**、**6f** 和 **6p**)及乙酸片段(**6g** 和 **6q**)的活性较差, 而引入丙基(**6h**)、烯丙基(**6i**)、炔丙基(**6j**)及苄基(**6k**)

图1 在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下目标化合物对 HeLa、HCT116 细胞株的抑制作用
Figure 1 Inhibitions of all the target compounds to HeLa and HCT116 cell lines at $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

的活性明显提高;当嘌呤-8-酮的 N(9)位为环己基(**5f**)或苯基(**5h**和**6o**)取代时,化合物的活性较好;而苯环上引入羟基(**5a**)、Boc-哌嗪基(**5j**)或哌嗪基(**7a**和**7b**)时,化合物的活性也明显提高。

以母核为嘌呤类 II 期临床抗肿瘤药 *R*-Roscovitine 作为阳性对照,选择初筛抑制率大于 60%的目标化合物(**5a**、**5h**、**5j**、**6h**、**6i**和**6j**),测试其对 MOLT-4、HeLa、K562 和 HCT116 四株肿瘤细胞株的抗增殖活性(表 2)。结果表明,这 6 个目标化合物抑制 HeLa 肿瘤细胞株的活性($\text{IC}_{50} = 5 \sim 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)相当或优于阳性对照药 *R*-Roscovitine ($\text{IC}_{50} = 15.86 \pm 0.42 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$);化合物 **5h**、**6h**、**6i**和**6j**抑制 MOLT-4 肿瘤细胞株的活性($\text{IC}_{50} = 5 \sim 9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)优于阳性对照药 *R*-Roscovitine ($\text{IC}_{50} = 17.77 \pm 0.83 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$);化合物 **5h**、**6h**、**6i**和**6j**抑制 K562 肿瘤细胞株的活性($\text{IC}_{50} = 12 \sim 48 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)相当或优于阳性对照药 *R*-Roscovitine ($\text{IC}_{50} = 41.76 \pm 5.04$

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$);但这六个化合物对 HCT116 肿瘤细胞株的抑制活性($\text{IC}_{50} > 39 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)则不如阳性对照药 *R*-Roscovitine ($\text{IC}_{50} = 17.16 \pm 3.77 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。分析它们对不同肿瘤细胞株的抗增殖作用可知,它们对于 MOLT-4 和 HeLa 肿瘤细胞株的抑制作用优于其它两株肿瘤细胞株 K562 和 HCT116。分析它们的结构可知,在嘌呤-8-酮的 N(9)位引入苯基(**5h**),在 N(7)位引入丙基(**6h**)、烯丙基(**6i**)或炔丙基(**6j**)可显著提高化合物的抗肿瘤活性。

2 结论

通过对本课题组前期发现的嘌呤类抗肿瘤先导化合物进行了新的结构改造,引入嘌呤-8-酮作为母核结构,设计、合成了 30 个结构全新的目标化合物。所有目标化合物均经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 结构确认。在活性评价中,有多个化合物在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对

表2 代表化合物的体外抗增殖活性
Table 2 Antiproliferative activities of representative compounds

Compd.	$\text{IC}_{50}^a/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$			
	MOLT-4	HeLa	K562	HCT116
5a	54.29 ± 5.34	10.88 ± 1.81	>80	>50
5h	7.66 ± 0.84	5.43 ± 1.22	11.85 ± 2.45	>50
5j	56.52 ± 4.22	11.74 ± 1.72	>80	>50
6h	8.94 ± 2.14	15.20 ± 1.37	18.03 ± 4.12	39.38 ± 10.01
6i	8.25 ± 1.63	19.55 ± 1.14	23.51 ± 1.52	>50
6j	5.26 ± 1.27	18.79 ± 1.47	47.81 ± 5.32	>50
<i>R</i> -Roscovitine	17.77 ± 0.83	15.86 ± 0.42	41.76 ± 5.04	17.16 ± 3.77

^a 三次测定取平均值。

Hela 细胞株有明显抑制作用. 其中活性目标化合物 **5h**、**6h**、**6i** 和 **6j** 抑制 Hela、MOLT-4 和 K562 肿瘤细胞株的活性相当或优于阳性对照药 *R-Roscovitin*. 上述结果为今后研究新型嘌呤类抗肿瘤药物提供了新的思路.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

RY-1 型熔点仪(天津天光光学仪器分公司); Bruker-300MHz 和 Bruker-400MHz 核磁共振波谱仪; Agilent 6520 型高分辨电喷雾电离质谱仪; Thermo Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪; Thermo Forma3111 型二氧化碳恒温培养箱; Olympus CKX31 双目倒置显微镜.

合成实验中所用的试剂均为市售的分析纯或化学纯试剂, 纯度为 97%~99%, 未经纯化直接使用. 人急性淋巴母细胞白血病细胞 MOLT-4、人宫颈癌细胞 Hela、白血病细胞 K562、人结肠癌细胞 HCT116 和改良型 RPMI1640 培养基(美国 Hyclone 公司); 10% (体积分数)胎牛血清(美国 Hyclone 公司); 2.5 g·L⁻¹ 胰蛋白酶(美国 Gibco 公司); 阳性对照药 *R-Roscovitin* 购自 MedChemExpress (MCE)中国分公司.

3.2 化合物的合成

3.2.1 中间体 **3a**~**3e** 的合成

中间体 **3a**~**3e** 参考相关文献[13]制得.

*N*⁴-异丙基-2-氯嘧啶-4,5-二胺(**3a**): 紫色固体, 产率 84%. m.p. 93~95 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.58 (s, 1H), 5.03 (d, *J*=6.8 Hz, 1H), 4.38~4.27 (m, 1H), 3.01 (br s, 2H), 1.26 (d, *J*=6.5 Hz, 6H).

*N*⁴-环戊基-2-氯嘧啶-4,5-二胺(**3b**): 紫色固体, 产率 95%. m.p. 126~128 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.36 (s, 1H), 6.65 (d, *J*=6.6 Hz, 1H), 4.94 (s, 2H), 4.29~4.19 (m, 1H), 2.02~1.91 (m, 2H), 1.75~1.63 (m, 2H), 1.63~1.51 (m, 2H), 1.51~1.39 (m, 2H).

*N*⁴-环己基-2-氯嘧啶-4,5-二胺(**3c**): 淡紫色固体, 产率 98%. m.p. 142~144 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.37 (s, 1H), 6.59 (d, *J*=7.4 Hz, 1H), 4.65 (br s, 2H), 3.90~3.76 (m, 1H), 1.97~1.85 (m, 2H), 1.79~1.69 (m, 2H), 1.66~1.56 (m, 1H), 1.40~1.10 (m, 5H).

*N*⁴-环丙基-2-氯嘧啶-4,5-二胺(**3d**): 深紫色粘稠液体, 粗品, 直接用于下一步反应.

*N*⁴-苯基-2-氯嘧啶-4,5-二胺(**3e**): 黄色固体, 产率 20%. m.p. 136~137 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.63 (s, 1H), 7.74~7.58 (m, 3H), 7.36 (t, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.07 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 5.31 (s, 2H).

3.2.2 中间体 **4a**~**4e** 的合成

中间体 **4a**~**4e** 的合成参考相关文献[13].

9-异丙基-2-氯-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**4a**): 粉红色固体, 产率 46%. m.p. 244~246 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.56 (br s, 1H), 8.12 (s, 1H), 4.63~4.49 (m, 1H), 1.47 (d, *J*=6.9 Hz, 6H).

9-环戊基-2-氯-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**4b**): 粉色固体, 产率 51%. m.p. 242~244 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.60 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 4.77~4.62 (m, 1H), 2.16~2.04 (m, 2H), 1.97~1.85 (m, 4H), 1.69~1.57 (m, 2H).

9-环己基-2-氯-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**4c**): 灰白色固体, 产率 60%. m.p. >260 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.59 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 4.23~4.06 (m, 1H), 2.27~2.08 (m, 2H), 1.90~1.60 (m, 5H), 1.45~1.28 (m, 2H), 1.27~1.12 (m, 1H).

9-环丙基-2-氯-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**4d**): 紫色固体, 产率 28%. m.p. >250 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.54 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 2.95~2.88 (m, 1H), 1.06~0.94 (m, 4H).

9-苯基-2-氯-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**4e**): 淡红色固体, 产率 49%. m.p. >250 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.99 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.63~7.54 (m, 4H), 7.52~7.46 (m, 1H).

3.2.3 目标化合物 **5a**~**5j** 的合成

将中间体 **4a** (0.21 g, 1 mmol)、对氨基苯酚(0.16 g, 1.5 mmol)和对甲苯磺酸(0.52 g, 3 mmol)混合, 加入正丁醇 20 mL, 微波 170 °C 反应 30 min(或加热回流 15~20 h). 反应完成后, 反应液冷却至室温, 加入过量饱和 NaHCO₃(约 50 mL)剧烈搅拌 15 min 过滤, 滤饼通过柱层析纯化(也可用甲醇进行重结晶)得目标化合物 9-异丙基-2-(4-羟基苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**5a**), 白色固体 0.07 g, 产率 25%. m.p. 244~246 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.80 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.46 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 6.66 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 4.57~4.49 (m, 1H), 1.48 (d, *J*=6.9 Hz, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 155.6, 153.2, 152.1, 151.1, 134.1, 133.4, 120.7, 115.3, 114.7, 44.1, 20.2; HRMS (AP-ESI) calcd for C₁₄H₁₆N₅O₂ [M+H]⁺: 286.1299, found 286.1295.

以下化合物 **5b**~**5j** 的合成与 **5a** 的合成相同, 其中 **5j** 的后处理过程与 **5a** 的不同.

9-异丙基-2-(4-甲氧基苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**5b**): 白色固体, 产率 31%. m.p. 262~264 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.06 (s, 1H), 9.39 (s, 1H),

7.91 (s, 1H), 7.58 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.60~4.49 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 1.49 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 153.7, 153.3, 152.2, 151.0, 132.7, 130.2, 120.1, 114.0, 113.2, 54.6, 43.3, 19.1; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 300.14554, found 300.1454.

9-环戊基-2-(4-甲氧基苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5c**): 白色固体, 产率 64%. m.p. 259~260 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.87 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.60 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.84 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.73~4.61 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.26~2.13 (m, 2H), 2.00~1.83 (m, 4H), 1.69~1.55 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.4, 154.1, 153.4, 151.1, 134.9, 134.2, 120.3, 115.0, 114.1, 55.6, 52.3, 29.2, 24.9; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 326.1612, found 326.1607.

9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5d**): 白色固体, 产率 54%. m.p. 262~264 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.79 (s, 1H), 8.85 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 4.61~4.48 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.7, 153.2, 151.1, 146.2, 134.2, 132.0, 120.4, 114.6, 113.6, 44.1, 41.4, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 313.1771, found 313.1770.

9-环戊基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5e**): 黄绿色固体, 产率 23%. m.p. > 280 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.82 (s, 1H), 8.83 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.50 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.68 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.72~4.60 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 2.28~2.11 (m, 2H), 2.00~1.81 (m, 4H), 1.70~1.54 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.7, 153.4, 151.1, 146.2, 134.4, 131.9, 120.5, 114.6, 113.5, 52.3, 41.4, 29.2, 25.0; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 339.1928, found 339.1923.

9-环己基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5f**): 黄绿色固体, 产率 56%. m.p. > 250 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.82 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.54 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.20~4.05 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 2.39~2.25 (m, 2H), 1.91~1.79 (m, 2H), 1.77~1.64 (m, 3H), 1.43~1.28 (m, 2H), 1.28~1.16 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.5, 153.4, 151.2, 146.1, 134.3, 132.0, 120.4, 114.8, 113.5, 51.6, 41.4, 29.7, 25.9, 25.5; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$:

353.2084, found 353.2091.

9-环丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5g**): 黄绿色固体, 产率 42%. m.p. > 250 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.73 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.57 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 2.93~2.86 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 1.11~1.05 (m, 2H), 1.01~0.92 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.9, 154.0, 152.2, 146.1, 134.0, 132.1, 120.3, 114.5, 113.6, 41.4, 22.5, 5.8; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 311.1615, found 311.1614.

9-苯基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5h**): 黄绿色固体, 产率 43%. m.p. > 250 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.10 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.65 (d, $J=7.4$ Hz, 2H), 7.55 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.49 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 2.80 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.0, 152.8, 151.4, 146.2, 134.9, 133.5, 131.8, 129.3, 128.1, 127.0, 120.5, 114.9, 113.5, 41.4; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 347.1615, found 347.1610.

9-异丙基-2-(4-吗啉基苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**5i**): 白色固体, 产率 42%. m.p. > 270 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.83 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.59 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.61~4.48 (m, 1H), 3.86~3.62 (m, 4H), 3.14~2.91 (m, 4H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.4, 153.2, 151.1, 146.0, 134.3, 134.2, 119.8, 116.2, 114.8, 66.7, 49.9, 44.1, 20.2; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 355.1877, found 355.1871.

4-(4-((9-异丙基-8-氧亚基-8,9-二氢-7H-嘌呤-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(**5j**)的合成: 按上述步骤反应完成后, 蒸除溶液. 加入 20 mL 二氯甲烷, 将含 BOC-酸酐(0.44 g, 2 mmol)的二氯甲烷溶液 10 mL 缓慢滴入, 室温搅拌 1 h. 之后蒸除溶剂, 通过柱层析纯化后即得目标产物 **5j**, 白色固体, 产率 32%. m.p. 241~243 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.84 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.59 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.61~4.49 (m, 1H), 3.52~3.38 (m, 4H), 3.04~2.93 (m, 4H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H), 1.42 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.4, 154.3, 153.2, 151.1, 145.8, 134.7, 134.1, 119.7, 117.3, 114.9, 79.4, 50.0, 44.1, 28.5, 20.2; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 454.2561, found 454.2563.

3.2.4 目标化合物 **6a**~**6r** 的合成

将化合物 **5a** (0.29 g, 1 mmol) 溶于 20 mL 二甲基甲酰胺中, 向其中加入 K_2CO_3 (0.28 g, 2 mmol). 室温条件下, 向反应瓶中缓慢滴加含 2-溴乙酸甲酯 (0.18 g, 1.2 mmol) 的二甲基甲酰胺 10 mL, 反应 3~4 h. 反应完毕, 向体系中加入约 120 mL 水, 析出固体, 过滤. 滤饼通过柱层析纯化后即得 2-(9-异丙基-2-(4-羟基苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7H-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6a**), 黄色固体 0.17 g, 产率 48%. m.p. 188~190 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.03 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.46 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.68 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.63~4.52 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.9, 156.1, 152.4, 152.3, 150.0, 134.8, 133.1, 120.9, 115.7, 115.3, 52.8, 44.9, 42.4, 20.2; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{17}H_{20}N_5O_4$ $[M+H]^+$: 358.1510, found 358.1510.

以下化合物 **6b**~**6r** 的合成与 **6a** 的合成相同, 其中 **6g** 和 **6q** 的后处理过程与 **6a** 的不同. 合成中所用的卤代物 R^3X 的种类不同, 其中制备目标化合物 **6b**、**6f**、**6p** 用氯代物, 合成目标化合物 **6c**~**6e**、**6g**、**6i**~**6o**、**6q**、**6r** 使用的为溴代物, **6h** 的制备则用碘代物.

7-(2-氧亚基丙基)-9-异丙基-2-(4-羟基苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**6b**): 白色固体, 产率 36%. m.p. 130~133 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.00 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.46 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.67 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 4.77 (s, 2H), 4.63~4.51 (m, 1H), 2.22 (s, 3H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 202.7, 156.0, 152.4, 152.2, 149.9, 134.6, 133.2, 120.8, 116.0, 115.3, 50.5, 44.8, 27.4, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{17}H_{20}N_5O_3$ $[M+H]^+$: 342.1561, found 342.1569.

2-(9-异丙基-2-(4-甲氧基苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7H-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6c**): 淡黄色固体, 产率 46%. m.p. 128~130 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.18 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.62 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.86 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.71 (s, 2H), 4.66~4.54 (m, 1H), 3.76~3.66 (m, 6H), 1.51 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.9, 155.9, 154.2, 152.4, 150.0, 134.8, 134.7, 120.3, 115.9, 114.2, 55.6, 52.8, 44.9, 42.4, 20.2; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{18}H_{22}N_5O_4$ $[M+H]^+$: 372.1666, found 372.1661.

2-(9-环戊基-2-(4-甲氧基苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7H-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6d**): 白色固体, 产率 74%. m.p. 175~177 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.15 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.60 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.85 (d,

$J=9.1$ Hz, 2H), 4.77~4.65 (m, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 2.26~2.10 (m, 2H), 2.00~1.86 (m, 4H), 1.70~1.56 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.9, 155.9, 154.3, 152.6, 150.0, 134.9, 134.6, 120.5, 116.0, 114.1, 55.6, 53.0, 52.8, 42.5, 29.3, 24.9; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{20}H_{24}N_5O_4$ $[M+H]^+$: 398.1823, found 398.1824.

2-(9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7H-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6e**): 白色固体, 产率 49%. m.p. 130~132 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.99 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.52 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.69 (s, 2H), 4.64~4.53 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.83 (s, 6H), 1.51 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.9, 156.2, 152.4, 150.1, 146.3, 134.9, 131.7, 120.5, 115.6, 113.6, 52.8, 44.9, 42.4, 41.3, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{19}H_{25}N_6O_3$ $[M+H]^+$: 385.1983, found 385.1975.

7-(2-氧亚基丙基)-9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**6f**): 淡黄色固体, 产率 34%. m.p. 166~168 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.96 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 4.77 (s, 2H), 4.63~4.52 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 2.21 (s, 3H), 1.51 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 202.6, 156.0, 152.5, 150.0, 146.2, 134.7, 131.8, 120.4, 115.9, 113.6, 50.5, 44.8, 41.3, 27.4, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{19}H_{25}N_6O_2$ $[M+H]^+$: 369.2034, found 369.2035.

2-(9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7H-嘌呤-7-基)乙酸(**6g**): 按上述步骤反应完后, 向反应体系中加入 5 mol/L 氢氧化钠 4 mL, 室温搅拌 3~4 h. 向体系中加入水 80 mL, 再用 6 mol/L 盐酸调 pH=5~6, 析出固体, 过滤, 滤饼通过柱层析纯化即得目标化合物. 黄色固体, 产率 63%. m.p. 244~246 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.17 (br s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.52 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 6.71 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 4.68~4.44 (m, 3H), 2.83 (s, 6H), 1.51 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.8, 156.0, 152.5, 150.0, 146.2, 134.7, 131.9, 120.5, 115.8, 113.6, 44.8, 42.5, 41.3, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $C_{18}H_{23}N_6O_3$ $[M+H]^+$: 371.1826, found 371.1857.

7-丙基-9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(**6h**): 白色固体, 产率 62%. m.p. 114~116 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.93 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.53 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 4.65~4.51 (m, 1H), 3.73 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 2.83 (s, 6H), 1.73~1.60 (m, 2H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H), 0.86

(t, $J=7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 155.9, 152.3, 150.0, 146.2, 134.1, 131.9, 120.4, 115.7, 113.6, 44.7, 42.6, 41.3, 21.7, 20.3, 11.5; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 355.2241, found 355.2228.

7-烯丙基-9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**6i**): 淡黄色固体, 产率 62%. m.p. 140~142 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.97 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.54 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.98~5.83 (m, 1H), 5.26~5.13 (m, 2H), 4.66~4.53 (m, 1H), 4.40 (d, $J=5.3$ Hz, 2H), 2.82 (s, 6H), 1.51 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 156.0, 152.0, 150.1, 146.2, 134.3, 132.8, 131.8, 120.4, 117.9, 115.4, 113.5, 44.8, 43.2, 41.3, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 353.2084, found 353.2082.

7-炔丙基-9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**6j**): 淡黄色固体, 产率 61%. m.p. 144~146 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.01 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.52 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.65 (d, $J=2.4$ Hz, 2H), 4.62~4.53 (m, 1H), 3.40 (t, $J=2.4$ Hz, 1H), 2.83 (s, 6H), 1.50 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 156.2, 151.6, 150.2, 146.3, 134.6, 131.6, 120.6, 114.6, 113.5, 78.3, 76.0, 44.9, 41.3, 30.6, 20.2; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 351.1928, found 351.1932.

7-苄基-9-异丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**6k**): 白色固体, 产率 55%. m.p. 150~152 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.95 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.50 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.41~7.23 (m, 5H), 6.69 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 4.98 (s, 2H), 4.65~4.56 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 1.52 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 156.1, 152.4, 150.2, 146.3, 137.0, 134.3, 131.7, 129.2, 128.1, 128.1, 120.5, 115.3, 113.5, 44.9, 44.4, 41.3, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 403.2241, found 403.2239.

2-(9-环戊基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7*H*-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6l**): 白色固体, 产率 43%. m.p. 150~152 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.98 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.50 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.77~4.65 (m, 3H), 3.71 (s, 3H), 2.83 (s, 6H), 2.26~2.11 (m, 2H), 2.00~1.85 (m, 4H), 1.70~1.56 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 169.0, 156.2, 152.6, 150.0, 146.4, 135.0, 131.6, 120.7, 115.6, 113.5, 52.9, 52.8, 42.5, 41.3, 29.3, 25.0; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 411.2139, found

411.2133.

2-(9-环己基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7*H*-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6m**): 灰白色固体, 产率 40%. m.p. 150~152 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.99 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.53 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.69 (s, 2H), 4.22~4.10 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.83 (s, 6H), 2.38~2.24 (m, 2H), 1.91~1.80 (m, 2H), 1.78~1.66 (m, 3H), 1.44~1.30 (m, 2H), 1.29~1.16 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 168.9, 156.2, 152.5, 150.1, 146.3, 134.9, 131.7, 120.6, 115.6, 113.5, 52.8, 52.4, 42.5, 41.3, 29.8, 25.9, 25.4; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 425.2296, found 425.2299.

2-(9-环丙基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7*H*-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6n**): 白色固体, 产率 8%. m.p. 164~166 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.03 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.56 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.67 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.00~2.93 (m, 1H), 2.82 (s, 6H), 1.11~1.05 (m, 2H), 1.05~0.97 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 168.9, 156.4, 153.3, 151.1, 146.2, 134.7, 131.8, 120.5, 115.4, 113.6, 52.8, 42.4, 41.3, 22.8, 5.8; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 383.1826, found 383.1826.

2-(9-苯基-2-(4-(*N,N*-二甲氨基)苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二氢-7*H*-嘌呤-7-基)乙酸甲酯(**6o**): 黄色固体, 产率 71%. m.p. 170~172 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.05 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.67 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.58 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.52~7.41 (m, 3H), 6.65 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.80 (s, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.81 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 168.9, 156.5, 152.1, 150.2, 146.3, 135.6, 133.2, 131.5, 129.5, 128.5, 126.8, 120.6, 115.7, 113.5, 52.9, 42.7, 41.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 419.1826, found 419.1821.

7-(2-氧亚基丙基)-9-异丙基-2-(4-吗啉基苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮(**6p**): 白色固体, 产率 49%. m.p. 201~203 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.10 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.58 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 4.64~4.53 (m, 1H), 3.81~3.66 (m, 4H), 3.10~2.93 (m, 4H), 2.22 (s, 3H), 1.51 (d, $J=6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 202.6, 155.8, 152.5, 149.9, 146.1, 134.6, 134.2, 119.9, 116.2, 116.1, 66.7, 50.5, 49.9, 44.8, 27.4, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 411.2139, found 411.2140.

2-(9-异丙基-2-(4-吗啉基苯氨基)-8-氧亚基-8,9-二

氢-7*H*-嘌呤-7-基)乙酸(**6q**): 反应条件与化合物 **6g** 的相同。浅黄色固体, 产率 9%。m.p. > 260 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.14 (br s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.59 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 6.88 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 4.67~4.50 (m, 3H), 3.79~3.66 (m, 4H), 3.08~2.96 (m, 4H), 1.51 (d, *J*=6.9 Hz, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 169.8, 155.8, 152.5, 150.0, 146.1, 134.6, 134.1, 119.9, 116.2, 116.0, 66.7, 49.9, 44.9, 42.5, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for C₂₀H₂₅N₆O₄ [M + H]⁺: 413.1932, found 413.1928.

4-(4-((7-(2-羟乙基)-9-异丙基-8-氧亚基-8,9-二氢-7*H*-嘌呤-2-基)氨基)苯基)哌嗪-1-羧酸叔丁酯(**6r**): 白色固体, 产率 64.8%。m.p. 221~222 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.08 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.60 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 6.90 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 4.91 (t, *J*=5.6 Hz, 1H), 4.65~4.52 (m, 1H), 3.82 (t, *J*=5.2 Hz, 2H), 3.69~3.59 (m, 2H), 3.52~3.40 (m, 4H), 3.05~2.92 (m, 4H), 1.51 (d, *J*=6.9 Hz, 6H), 1.42 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 155.5, 154.3, 152.4, 149.9, 145.9, 134.6, 134.5, 119.7, 117.3, 116.6, 79.4, 59.4, 50.0, 44.6, 44.1, 28.5, 20.3; HRMS (AP-ESI) calcd for C₂₅H₃₆N₇O₄ [M + H]⁺: 498.2823, found 498.2828.

3.2.5 目标化合物 **7a** 和 **7b** 的合成

向化合物 **5j** (0.45 g, 1 mmol) 中加入 HCl 的饱和乙酸乙酯溶液 10 mL, 密封, 室温搅拌过夜。反应完毕, 过滤即得目标产物 9-异丙基-2-(4-(哌嗪-1-基)苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮盐酸盐(**7a**), 白色固体 0.23 g, 产率 59%。m.p. > 260 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.50 (s, 1H), 10.27 (s, 1H), 9.23 (s, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.48 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 7.05 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 4.58~4.48 (m, 1H), 3.44~3.29 (m, 4H), 3.29~3.12 (m, 4H), 1.47 (d, *J*=6.9 Hz, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 155.0, 153.4, 150.8, 146.9, 130.4, 122.8, 122.1, 117.4, 115.5, 46.3, 45.3, 42.8, 20.0; HRMS (AP-ESI) calcd for C₁₈H₂₅CIN₇O [M + H]⁺: 354.2017, found 354.2041.

7-(2-羟乙基)-9-异丙基-2-(4-(哌嗪-1-基)苯氨基)-7,9-二氢-8*H*-嘌呤-8-酮盐酸盐(**7b**): 黄色固体, 产率 53.8%。m.p. > 260 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.20 (s, 1H), 9.44 (s, 2H), 8.20 (s, 1H), 7.50 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 7.05 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 4.62~4.54 (m, 1H), 3.92~3.77 (m, 2H), 3.73~3.57 (m, 2H), 3.43~3.31 (m, 4H), 3.30~3.10 (m, 4H), 1.49 (d, *J*=6.8 Hz, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 154.0, 153.4, 150.6, 147.8,

129.3, 124.0, 121.7, 117.5, 117.3, 58.8, 46.4, 46.2, 44.4, 43.1, 19.6; HRMS (AP-ESI) calcd for C₂₀H₂₉CIN₇O₂ [M + H]⁺: 398.2299, found 398.2290.

3.3 抗肿瘤活性实验

对 30 个目标化合物采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定它们的体外抗肿瘤细胞增殖活性。选取的肿瘤细胞株为 MOLT-4、Hela、K562 和 HCT116。

将处于对数生长期的肿瘤细胞, 用含 10%(体积分数)胎牛血清的 RPMI1640 培养液调整细胞数(MOLT-4 调整为 10⁵ cell·mL⁻¹ 的细胞悬液; K562 调整为 5×10⁴ cell·mL⁻¹ 的细胞悬液; 贴壁细胞 Hela 和 HCT116 先用 2.5 g·mL⁻¹ 的胰蛋白酶消化后调整为 4×10⁴ cell·mL⁻¹ 的细胞悬液), 接种于 96 孔培养板中, 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 6~8 h 后, 加入待测浓度目标化合物, 继续培养 48 h, 然后每孔加入 20 μL MTT (5 mg·mL⁻¹), 再培养 4 h 后弃去液体, 每孔加入 200 μL DMSO, 于 37 °C 恒温振荡 15 min, 检测 570 nm 波长处的 OD 值, 计算抑制率及 IC₅₀ 值。

辅助材料(Supporting Information) 所有化合物的 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 HRMS 谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Legrauerend, M.; Grierson, D. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3987.
- [2] Zhang, J.-Y.; Wang, Q.-L.; Hou, X.-H.; Liu, H.-M. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, *35*, 1022 (in Chinese). (张京玉, 王清龙, 侯学会, 刘宏民, *有机化学*, **2015**, *35*, 1022.)
- [3] Di Virgilio, F.; Adinolfi, E. *Oncogene* **2017**, *36*, 293.
- [4] Di Virgilio, F. *Cancer Res.* **2012**, *72*, 5441.
- [5] Pui, C. H.; Jeha, S.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 369.
- [6] Denny, B. J.; Wheelhouse, R. T.; Stevens, M. F. G.; Tsang, L. L. H.; Slack, J. A. *Biochemistry* **1994**, *33*, 9045.
- [7] Parker, W. B. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2880.
- [8] Sanford, D. S.; Wierda, W. G.; Burger, J. A.; Keating, M. J.; O'Brien, S. M. *Clin. Lymphoma, Myeloma Leuk.* **2015**, *15*, 385.
- [9] Asghar, U.; Witkiewicz, A. K.; Turner, N. C.; Knudsen, E. S. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2015**, *14*, 130.
- [10] Wang J.-H.; Wang, Q.-D.; Dun Y.-Y.; Fang, H. *Chem. J. Chin. Univ.* **2014**, *35*, 1189 (in Chinese). (王军华, 王泉德, 顿艳艳, 方浩, *高等学校化学学报*, **2014**, *35*, 1189.)
- [11] Wang, J.-H.; Wang, Q.-D.; Zhang, L.-R.; Fang, H. *Chin. J. Chem.* **2013**, *31*, 1181.
- [12] Zheng, W.; Thorne, N.; McKew, J. C. *Drug Discovery Today* **2013**, *18*, 1067.
- [13] Andrews, D. M.; Jones, C. D.; Simpson, I.; Ward, R. A. *WO 2009024824*, **2009** [*Chem. Abstr.* **2009**, *150*, 283068].

(Cheng, F.)