



论文

喹唑酮咪唑类化合物的设计、合成及其抗菌活性与靶向DNA研究

曹泉诚, 王辉, Tangadanchu Vijai Kumar Reddy, Gopala Lavanya, 蔡桂鑫*, 周成合*

西南大学化学化工学院, 生物有机与药物化学研究所, 重庆市高校应用化学重点实验室, 重庆 400715

*通讯作者, E-mail: gxcai@swu.edu.cn; zhouch@swu.edu.cn

收稿日期: 2017-02-17; 接受日期: 2017-03-20; 网络发表日期: 2017-06-29

国家自然科学基金(编号: 21372186, 21672173, 国际合作项目81650110529)、重庆市博士后特别基金(编号: Xm2016039)和北京分子科学国家实验室基金(编号: 20140130)资助项目

摘要 多药耐药菌的频繁出现已日益严重威胁人类健康, 开发结构新型的抗菌药物已成为全世界战胜耐药菌的重要课题. 本文设计合成了一系列具有抗微生物潜力的酰脲桥链的喹唑酮咪唑类新化合物, 其结构经核磁共振氢谱(^1H NMR)、核磁共振碳谱(^{13}C NMR)和高分辨质谱(HRMS)进行表征. 生物活性研究发现, 一些目标化合物具有较好的抗微生物活性, 特别是十八烷基衍生物**6h**和4-氟苄基取代的化合物**7i**, 抗痢疾杆菌和大肠杆菌DH52的活性是氯霉素的2.5~3.3倍, 抗黄曲霉菌活性是临床药物氟康唑的28和8.4倍. 用紫外-可见光谱法进行了高活性化合物**7i**靶向DNA的初步研究, 发现咪唑衍生物**7i**可嵌入小牛胸腺DNA形成**7i**-DNA超分子络合物, 从而阻断DNA复制, 展现出较好的抗细菌活性. 分子模拟研究表明, 活性分子**7i**与DNA碱基通过氢键结合. 该类化合物作为新型抗真菌黄曲霉菌专一特效药及新型抗细菌药值得深入研究.

关键词 喹唑酮, 抗细菌, 抗真菌, 咪唑, 酰脲, 分子对接, DNA

1 引言

全世界多药耐药菌的迅速出现已对人类健康构成严重威胁. 开发新型抗菌药物是战胜日益频发的细菌耐药性的重要方法^[1-3], 这已成为全世界药物化学家的重要任务, 也成为我国2016年14个部门联合印发的国家行动: 《遏制细菌耐药国家行动计划(2016~2020年)》. 目前, 新药的开发主要集中在对已有临床药物进行修饰, 从而降低交叉耐药性, 或对临床上已经证实的靶点进行探索以发现新的化学物质, 或开发全新结构化合物并探索新靶点. 迄今已成功地开发了许多新

型抗菌药物^[4-7]. 喹诺酮是人工合成的广谱抗菌药, 广泛用于治疗由革兰阳性及革兰阴性菌引起的感染. 普遍认为, 喹诺酮与细菌的拓扑异构酶II主要通过水-金属离子桥发生相互作用, 从而抑制DNA复制, 导致细菌细胞死亡. 不幸的是, 日益严重的细菌耐药性使喹诺酮类药物的临床使用越来越有限^[8]. 这大大地推动着新的喹诺酮药物的设计开发^[9-11], 特别是对喹诺酮结构类似物的探索已成为十分活跃的研究领域^[12,13]. 喹唑酮是一类重要的杂环化合物, 含有苯并嘧啶酮骨架, 结构上与含有苯并吡啶酮框架的临床药物喹诺酮类似, 且已被报道具有广泛的生物活性, 包括抗细菌、

引用格式: 曹泉诚, 王辉, Tangadanchu Vijai Kumar Reddy, Gopala Lavanya, 蔡桂鑫, 周成合. 喹唑酮咪唑类化合物的设计、合成及其抗菌活性与靶向DNA研究. 中国科学: 化学, 2017, 47: 844-858
Cao Q, Wang H, Tangadanchu VKR, Gopala L, Cai G, Zhou C. Design and synthesis of quinazolinone imidazoles and their antibacterial and DNA-targeting investigation. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 844-858, doi: [10.1360/N032017-00026](https://doi.org/10.1360/N032017-00026)

抗真菌、抗疟疾等^[14], 近些年来许多工作集中在唑啉酮类抗菌药的研发^[15-17].

唑啉类化合物具有特殊的含氮芳杂环结构^[18-21], 可通过非共价键力与无机物和/或有机物形成超分子络合物^[22-24], 表现出广泛的生物活性^[25,26]. 因此, 唑啉类化合物的合成^[27,28]和医药应用^[29]开发受到广泛关注. 作为一种特殊的唑啉类化合物, 咪唑在药物化学中发挥着重要作用, 特别是在医药领域具有潜在的应用^[30]. 咪唑环的引入在一定程度上可以改善药物的水溶性, 这是因为咪唑上的氮原子可以形成氢键^[31-33]. 此外, 酰肼官能团广泛存在于许多天然及合成的生物活性化合物中, 如抗癌药物katorazone和DNA转甲基酶抑制剂psammaphin G. 通常地, 酰肼类药物通过与金属或酶形成络合物来改善其生物活性^[34], 这与唑啉酮类药物作用方式类似^[35,36].

基于以上考虑, 我们将唑啉酮与咪唑通过酰肼键桥链在一起, 得到新型唑啉酮类类似物(图1), 这类新结构分子或许表现更强的生物活性以及更宽的抗菌谱. 氯原子在抗菌药物如氯霉素(chloramphenicol)中起着

积极作用, 因而在咪唑和唑啉酮上引入了氯原子. 我们在目标分子中引入不同的烷基及芳基来调节理化性质, 考察了其对生物活性的影响. 对合成的目标化合物进行抗微生物, 包括耐药菌在内的革兰阴性细菌、革兰阳性细菌及真菌的活性测试. 研究了高活性化合物与小牛胸腺DNA的相互作用, 以初步探讨其抗微生物作用机制^[37]. 通过分子对接探究了活性目标分子与DNA的作用方式.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

熔点测量使用X-6型熔点测试仪(北京福凯仪器有限公司, 中国), 温度未校正. 薄层色谱(TLC)分析使用预制硅胶板. 核磁共振氢谱(¹H NMR)和核磁共振碳谱(¹³C NMR)数据由Bruker AV 600核磁共振仪(德国)测定, 四甲基硅烷(TMS)做内标. 核磁数据中Im表示咪唑(imidazole), 化学位移用ppm表示, 耦合常数(J)用Hz作单位, 用字母s、d、t、m分别表示单峰、双峰、三重峰、多重峰. 质谱数据由LCMS-2010A及高分辨质谱仪(Water公司, 美国)测定. 所有药品试剂均为市售未经纯化.

2.2 化合物2~7的合成

2.2.1 化合物2的合成

将2-氨基-4-氯苯甲酸(8.579 g, 0.050 mol)和醋酸甲脒(5.671 g, 0.055 mol)加入到250 mL圆底烧瓶中, 用100 mL乙二醇甲醚作溶剂, 在130℃回流18 h. 反应结束后TLC跟踪, 展开剂: 石油醚/乙酸乙酯=1:1, 减压蒸馏除去溶剂, 所得固体用浓度为0.01 mol/L的氨水洗3次, 干燥后得到淡黄色固体(7.765 g), 产率为85.99%, 熔点为254~255℃.

2.2.2 化合物3的合成

将化合物2 (1.806 g, 0.01 mol)、碳酸钾(1.656 g, 0.012 mol)和氯乙酸乙酯(2.451 g, 0.02 mol)加入100 mL圆底烧瓶中, 用30 mL丙酮作溶剂, 室温下搅拌6 h. 反应结束后, 体系倒入碎冰中, 用盐酸(0.01 mol/L)酸化. 析出的固体经抽滤、水洗、乙醇重结晶后, 得到白色固体(2.232 g), 产率为83.69%, 熔点为144~146℃.

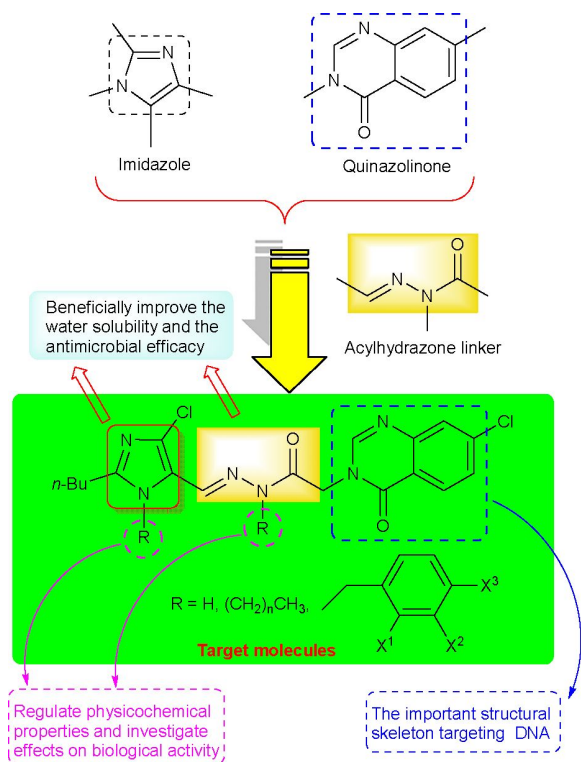


图1 酰肼桥链的唑啉酮咪唑类新化合物的设计(网络版彩图)

2.2.3 化合物4的合成

将化合物3 (2.667 g, 0.01 mol)和水合肼(25 mL)充分混匀, 室温条件下搅拌4 h. 反应结束后, 将体系倒入碎冰中, 将析出的固体过滤、水洗、干燥后得白色固体(2.305 g), 产率为91.23%, 熔点为171~173℃.

2.2.4 化合物5的合成

将化合物4 (2.527 g, 0.01 mol)和2-丁基-5-氯-4-甲酰基咪唑(1.866 g, 0.01 mol)在30 mL乙醇中回流搅拌8 h. 反应结束后, 将体系温度降至室温, 将析出的固体过滤后, 在乙醇中重结晶两次, 得到白色固体 (3.564 g). 产率为84.60%, 熔点为156~158℃.

2.2.5 化合物6a~6h的合成

将化合物5 (315 mg, 0.75 mmol)和碳酸钾(258 mg, 1.9 mmol)与不同取代的溴代烷烃(2.0 mmol)在30 mL丙酮中回流搅拌过夜. 反应体系除去溶剂后得到固体, 加入水(20 mL), 之后用二氯甲烷萃取(20 mL $\times$ 3), 将有机相合并, 用无水硫酸钠干燥, 除去溶剂后用柱层析分离(展开剂: 石油醚/乙酸乙酯=5:1~2:1).

(1) 化合物6a的合成

白色固体 **6a** (413.510 mg)经原料 **5** 和 1-溴丁烷按照上述方法合成. 产率为77.51%, 熔点为116~118℃. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.99 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.81 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.73 (s, 1H, N=CH of amide), 7.45 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.13 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 4.26 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, Im-1-CH₃(CH₂)₂CH₂), 4.02 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of amide), 2.68 (t, $J=7.6\text{ Hz}$, 2H, Im-2-CH₃(CH₂)₂CH₂), 1.78~1.77 (m, 4H, Im-1-CH₃CH₂CH₂CH₂ and CH₃CH₂CH₂CH₂ of amide), 1.63~1.59 (m, 2H, Im-2-CH₃CH₂CH₂CH₂), 1.46~1.35 (m, 6H, Im-1,2-CH₃CH₂(CH₂)₂ and CH₃CH₂(CH₂)₂ of amide), 0.97 (m, 9H, Im-1,2-CH₃(CH₂)₃ and CH₃(CH₂)₃ of amide) ppm; ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166.67 (CH₂C=O), 160.57 (quinazolinone C=O), 151.22, 149.27, 147.99, 140.63, 135.04, 130.90, 128.29, 127.85, 127.18, 120.48, 120.00, 47.26, 45.47, 40.65, 32.68, 29.78, 27.63, 26.66, 22.46, 20.10, 19.96, 13.79, 13.71, 13.58 ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₂₆H₃₄Cl₂N₆O₂ [M+H]⁺: 533.2199; 实测:

533.2195.

(2) 化合物6b的合成

白色固体 **6b** (413.747 mg)经原料 **5** 和 1-溴戊烷按照上述方法合成. 产率为73.68%, 熔点为50~52℃. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.99 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.73 (s, 1H, N=CH of amide), 7.45 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.13 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 4.25 (t, $J=7.6\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₃CH₂ of Im), 4.00 (m, 2H, t, $J=7.5\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₃CH₂ of amide), 2.69 (t, $J=9\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, CH₃(CH₂)₂CH₂CH₂ of Im and amide), 1.63 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.44 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 1.37~1.29 (m, 8H, CH₃(CH₂)₂(CH₂)₂ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.4\text{ Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₅ of Im), 0.91 (t, $J=6.9\text{ Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₄ of amide), 0.87 (t, $J=7.1\text{ Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 166.64 (CH₂C=O), 160.49 (quinazolinone C=O), 151.27, 149.23, 147.98, 140.64, 134.98, 130.89, 128.30, 127.89, 127.18, 120.46, 120.00, 47.32, 45.69, 40.91, 30.36, 29.80, 28.95, 28.82, 26.66, 25.20, 22.47, 22.16, 13.87, 13.84, 13.73 ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₂₈H₃₈Cl₂N₆O₂ [M+Na]⁺: 583.2331; 实测: 583.2336.

(3) 化合物6c的合成

白色固体 **6c** (413.747 mg)经原料 **5** 和 1-溴己烷按照上述方法合成. 产率为69.08%, 熔点为82~84℃. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.22 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.98 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.74 (s, 1H, N=CH of amide), 7.45 (d, $J=8.5\text{ Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.12 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 4.24 (t, $J=7.6\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₄CH₂ of Im), 4.00 (t, $J=7.5\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₄CH₂ of amide), 2.68 (t, $J=9\text{ Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, CH₃(CH₂)₃CH₂CH₂ of Im and amide), 1.62 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.44 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 1.37~1.24 (m, 12H, CH₃(CH₂)₃(CH₂)₂ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₅ of Im), 0.88 (m, 3H, CH₃(CH₂)₅ of amide), 0.82 (m, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166.64 (CH₂C=O), 160.46 (quinazolinone C=O), 151.25, 149.26, 147.98,

140.61, 135.01, 130.89, 128.27, 127.84, 127.19, 120.47, 120.00, 47.30, 45.72, 40.92, 31.51, 31.23, 30.65, 29.79, 26.66, 26.47, 26.44, 25.48, 22.50, 22.48, 22.41, 13.87, 13.80, 13.71 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $C_{30}H_{42}Cl_2N_6O_2$ $[M+H]^+$: 589.2825; 实测: 599.2820.

(4) 化合物 **6d** 的合成

白色固体 **6d** (400.672 mg) 经原料 **5** 和 1-溴庚烷按照上述方法合成. 产率为 64.87%, 熔点为 104~106°C. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.22 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.98 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.73 (s, 1H, $N=CH$ of amide), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.12 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 4.24 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_5CH_2$ of Im), 4.00 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_5CH_2$ of amide), 2.68 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, $CH_3(CH_2)_4CH_2CH_2$ of Im and amide), 1.62 (m, 2H, $CH_3CH_2CH_2CH_2$ of Im), 1.44 (m, 2H, $CH_3CH_2(CH_2)_2$ of Im), 1.36~1.16 (m, 16H, $CH_3(CH_2)_4(CH_2)_2$ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_6$ of Im), 0.87 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_6$ of amide), 0.80 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.62 ($CH_2C=O$), 160.47 (quinazolinone $C=O$), 151.26, 149.27, 147.96, 140.63, 135.04, 130.89, 128.28, 127.87, 127.20, 120.48, 120.00, 47.30, 45.74, 40.93, 31.68, 31.60, 30.70, 29.81, 29.07, 28.75, 26.80, 26.77, 26.67, 25.53, 22.50, 22.48, 13.97, 13.90, 13.74 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $C_{32}H_{46}Cl_2N_6O_2$ $[M+H]^+$: 617.3138; 实测: 617.3140.

(5) 化合物 **6e** 的合成

白色固体 **6e** (408.990 mg) 经原料 **5** 和 1-溴辛烷按照上述方法合成. 产率为 63.34%, 熔点为 99~101°C. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.22 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.98 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.74 (s, 1H, $N=CH$ of amide), 7.46 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.12 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 4.24 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_6CH_2$ of Im), 4.00 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_6CH_2$ of amide), 2.68 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, $CH_3(CH_2)_5CH_2CH_2$ of Im and amide), 1.62 (m, 2H, $CH_3CH_2CH_2CH_2$ of Im), 1.44 (m, 2H, $CH_3CH_2(CH_2)_2$ of Im), 1.38~1.13 (m, 20H, $CH_3(CH_2)_5(CH_2)_2$ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_7$ of Im), 0.87 (t,

$J=6.9$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_7$ of amide), 0.79 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.63 ($CH_2C=O$), 160.45 (quinazolinone $C=O$), 151.25, 149.27, 147.97, 140.62, 135.01, 130.90, 128.27, 127.84, 127.19, 120.48, 120.01, 47.27, 45.74, 40.94, 31.68, 31.64, 30.70, 29.79, 29.37, 29.17, 29.05, 26.83, 26.82, 26.66, 25.54, 22.55, 22.50, 22.46, 13.98, 13.88, 13.71 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $C_{34}H_{50}Cl_2N_6O_2$ $[M+H]^+$: 645.3451; 实测: 645.3448.

(6) 化合物 **6f** 的合成

白色固体 **6f** (422.491 mg) 经原料 **5** 和 1-溴癸烷按照上述方法合成. 产率为 60.20%, 熔点为 83~85°C. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.22 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.99 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.74 (s, 1H, $N=CH$ of amide), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.12 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 4.24 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_8CH_2$ of Im), 4.00 (t, $J=7.5$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_8CH_2$ of amide), 2.68 (t, $J=7.8$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_2CH_2$ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, $CH_3(CH_2)_7CH_2CH_2$ of Im and amide), 1.62 (m, 2H, $CH_3CH_2CH_2CH_2$ of Im), 1.44 (m, 2H, $CH_3CH_2(CH_2)_2$ of Im), 1.36~1.12 (m, 28H, $CH_3(CH_2)_7(CH_2)_2$ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_9$ of Im), 0.87 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_9$ of amide), 0.83 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, $CH_3(CH_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.63 ($CH_2C=O$), 160.45 (quinazolinone $C=O$), 151.25, 149.27, 147.97, 140.62, 135.01, 130.90, 128.27, 127.84, 127.19, 120.48, 120.01, 47.27, 45.74, 40.94, 31.68, 31.64, 30.70, 29.79, 29.37, 29.17, 29.05, 26.83, 26.82, 26.66, 25.54, 22.55, 22.50, 22.46, 13.98, 13.88, 13.71 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $C_{38}H_{58}Cl_2N_6O_2$ $[M+H]^+$: 701.4077; 实测: 701.4073.

(7) 化合物 **6g** 的合成

白色固体 **6g** (442.842 mg) 经原料 **5** 和 1-溴代十二烷按照上述方法合成. 产率为 55.79%, 熔点为 66~68°C. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.22 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.98 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.74 (s, 1H, $N=CH$ of amide), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.12 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 4.24 (t, $J=9.0$ Hz, 2H, $CH_3(CH_2)_{10}CH_2$ of Im), 4.00

(t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2$ of amide), 2.68 (t, $J=6.0\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im and amide), 1.61 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.44 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of Im), 1.36~1.09 (m, 36H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9(\text{CH}_2)_2$ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ of Im), 0.88~0.86 (m, 6H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}$ of amide and $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 166.63 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.45 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 151.24, 149.27, 147.96, 140.63, 135.02, 130.89, 128.28, 127.85, 127.20, 120.48, 120.01, 47.28, 45.75, 40.94, 31.87, 31.84, 30.71, 29.80, 29.58, 29.51, 29.50, 29.45, 29.42, 29.29, 29.26, 29.09, 26.84, 26.65, 25.54, 22.63, 22.62, 22.47, 14.04, 13.72 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 757.4703; 实测: 757.4702.

(8) 化合物6h的合成

白色固体 **6h** (403.376mg) 经原料 **5** 和 1-溴代十八烷按照上述方法合成. 产率为43.55%, 熔点为71~73℃. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.22 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.99 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.80 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.74 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.46 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 5.12 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 4.24 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_2$ of Im), 4.00 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_2$ of amide), 2.68 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.81~1.76 (m, 4H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im and amide), 1.61 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.44 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of Im), 1.46~1.10 (m, 60H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}(\text{CH}_2)_2$ of Im and amide), 0.97 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}$ of Im), 0.89~0.87 (m, 6H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}$ of amide and $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 166.63 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.45 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 151.24, 149.27, 147.96, 140.63, 135.02, 130.89, 128.28, 127.85, 127.20, 120.48, 120.01, 47.28, 45.75, 40.94, 31.87, 31.84, 30.71, 29.80, 29.58, 29.51, 29.50, 29.45, 29.42, 29.29, 29.26, 29.09, 26.84, 26.65, 25.54, 22.63, 22.62, 22.47, 14.04, 13.72 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{54}\text{H}_{90}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 925.6581; 实测: 925.6582.

2.2.6 化合物7a~7l的合成

将化合物 **5** (315mg, 0.75mmol)、碳酸钾(258mg,

1.9mmol)与不同取代基的氯苄(2.0mmol), 在30mL丙酮中回流搅拌过夜. 反应体系除去溶剂后得到的固体中加入水(20mL), 之后用二氯甲烷萃取(20mL $\times$ 3), 将有机相合并, 用无水硫酸钠干燥, 除去溶剂后用柱层析分离(展开剂: 石油醚/乙酸乙酯=5:1~2:1).

(1) 化合物7a的合成

白色固体 **7a** (458.844mg) 经原料 **5** 和 苄基氯 按照上述方法合成. 产率为76.28%, 熔点为117~119℃. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.79 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.71 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.63 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.46 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.40~7.26 (m, 6H, Ar of amide and Im 3,4,5-*H*), 7.19 (d, $J=7.4\text{Hz}$, 2H, Ar of amide 2,6-*H*), 6.96 (d, $J=7.1\text{Hz}$, 2H, Ar of Im 2,6-*H*), 5.49 (s, 2H, ArCH_2 of amide), 5.16 (s, 2H, ArCH_2 of Im), 4.46 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 2.57 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.62 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.30 (m, $J=15.3, 7.3\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of Im), 0.83 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 162.64 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 155.66 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 147.18, 144.52, 143.03, 135.87, 131.18, 129.96, 129.11, 126.80, 124.40, 124.30, 123.51, 123.11, 123.09, 122.41, 122.23, 120.63, 116.12, 115.72, 43.84, 42.72, 40.66, 24.72, 21.77, 17.51, 8.78 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 601.1886; 实测: 601.1884.

(2) 化合物7b的合成

白色固体 **7b** (525.673mg) 经原料 **5** 和 邻氯氯苄 按照上述方法合成. 产率为78.41%, 熔点为175~177℃. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.74 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.73 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.56 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.47 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.39 (d, $J=6.3\text{Hz}$, 1H, Ar of amide 3-*H*), 7.36 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H, Ar of Im 3-*H*), 7.29~7.25 (m, 2H, Ar of amide and Im 5-*H*), 7.24~7.19 (m, 2H, Ar of amide and Im 4-*H*), 6.97 (d, $J=1.9\text{Hz}$, 1H, Ar of amide 6-*H*), 6.47 (d, $J=6.8\text{Hz}$, 1H, Ar of Im 6-*H*), 5.50 (s, 2H, ArCH_2 of amide), 5.26 (s, 2H, ArCH_2 of Im), 4.52 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 2.57 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.65 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.33 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of

Im), 0.86 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 167.45 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.26 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 152.07, 149.26, 147.70, 140.65, 135.26, 133.67, 132.68, 131.58, 131.44, 130.79, 129.88, 129.46, 129.29, 129.23, 128.33, 127.92, 127.88, 127.66, 127.17, 126.08, 120.78, 120.49, 47.72, 47.22, 42.40, 29.50, 26.41, 22.25, 13.60 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 691.0926; 实测: 691.0923.

(3) 化合物7c的合成

白色固体7c (479.482mg)经原料5和间氯氯苄按照上述方法合成. 产率为71.52%, 熔点为82~84°C. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.22 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.77 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.73 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.72 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.46 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.30~7.23 (m, 4H, Ar of amide and Im 4,5-*H*), 7.20 (s, 1H, Ar of amide 2-*H*), 7.08 (d, $J=7.0\text{Hz}$, 1H, Ar of amide 6-*H*), 7.00 (s, 1H, Ar of Im 2-*H*), 6.82 (d, $J=3.9\text{Hz}$, 1H, Ar of Im 6-*H*), 5.47 (s, 2H, ArCH_2 of amide), 5.14 (s, 2H, ArCH_2 of Im), 4.56 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 2.57 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.64 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.32 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of Im), 0.86 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 167.40 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.41 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 152.08, 149.26, 147.64, 140.72, 137.97, 135.88, 135.28, 135.22, 131.65, 130.51, 128.34, 128.24, 128.20, 127.95, 127.24, 127.11, 125.69, 125.05, 123.46, 120.55, 120.39, 48.06, 47.37, 44.91, 29.46, 26.54, 22.27, 13.58 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 669.1106; 实测: 669.1114.

(4) 化合物7d的合成

白色固体7d (507.304mg)经原料5和对氯氯苄按照上述方法合成. 产率为75.67%, 熔点为194~196°C. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.78 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.74 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.73 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.47 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.32~7.31 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H, Ar of amide 3,5-*H*), 7.31~7.30 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H, Ar of Im 3,5-*H*), 7.12 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H, Ar of amide 2,6-*H*), 6.90 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 2H, Ar of Im 2,6-*H*), 5.46 (s, 2H, ArCH_2 of amide), 5.13 (s, 2H, ArCH_2 of

Im), 4.56 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 2.56 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.63 (m, $J=14.8, 7.7\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.31 (m, $J=14.8, 7.3\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of Im), 0.85 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 167.38 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.42 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 152.07, 149.21, 147.66, 140.77, 135.14, 134.31, 134.02, 133.94, 132.26, 131.59, 129.40, 129.32, 128.38, 128.23, 128.00, 127.23, 126.77, 120.53, 120.36, 48.04, 47.26, 44.75, 29.46, 26.54, 22.28, 13.59 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 668.1028; 实测: 668.1030.

(5) 化合物7e的合成

白色固体7e (517.736mg)经原料5和2,4-二氯氯苄按照上述方法合成. 产率为70.03%, 熔点为177~179°C. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.84 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.75 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.51 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.48 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.41 (s, 1H, Ar of amide 3-*H*), 7.39 (s, 1H, Ar of Im 3-*H*), 7.22~7.20 (m, 2H, Ar of amide and Im 5-*H*), 6.94 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H, Ar of amide 6-*H*), 6.36 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H, Ar of Im 6-*H*), 5.45 (s, 2H, ArCH_2 of amide), 5.21 (s, 2H, ArCH_2 of Im), 4.61 (s, 2H, quinazolinone- CH_2), 2.56 (t, $J=7.7\text{Hz}$, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$ of Im), 1.65 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ of Im), 1.34 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$ of Im), 0.87 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ of Im) ppm; ^{13}C NMR (150MHz, CDCl_3) δ : 167.50 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.23 (quinazolinone $\text{C}=\text{O}$), 152.12, 149.22, 147.56, 140.75, 135.52, 134.85, 134.55, 133.29, 132.13, 131.38, 129.65, 129.44, 129.42, 128.95, 128.28, 128.21, 128.12, 128.01, 127.21, 126.91, 120.45, 120.39, 47.56, 46.69, 41.90, 29.48, 26.40, 22.25, 13.60 ppm; HRMS (TOF) 计算值 $\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{Cl}_6\text{N}_6\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 737.0327; 实测: 737.0326.

(6) 化合物7f的合成

白色固体7f (509.012mg)经原料5和3,4-二氯氯苄按照上述方法合成. 产率为68.85%, 熔点为165~167°C. ^1H NMR (600MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.86 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.74 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.72 (s, 1H, $\text{N}=\text{CH}$ of amide), 7.48 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.43~7.41 (m, 2H, Ar of amide and Im 5-*H*), 7.32 (s,

1H, Ar of amide 2-*H*), 7.10 (s, 1H, Ar of Im 2-*H*), 7.04 (d, $J=9.8\text{Hz}$, 1H, Ar of amide 6-*H*), 6.78 (d, $J=8.2\text{Hz}$, 1H, Ar of Im 6-*H*), 5.46 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.13 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.61 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 2.57 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.66 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.33 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.87 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (150MHz, CDCl₃) δ : 167.42 (CH₂C=O), 160.38 (quinazolinone C=O), 152.21, 149.22, 147.57, 140.82, 135.99, 135.68, 134.00, 133.61, 133.51, 132.46, 132.39, 131.67, 131.24, 131.23, 129.06, 128.22, 128.04, 127.49, 127.27, 126.31, 124.63, 120.31, 47.58, 47.17, 44.33, 29.44, 26.56, 22.29, 13.60ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₂H₂₆Cl₆N₆O₂ [M+H]⁺: 737.0327; 实测: 737.0329.

(7) 化合物7g的合成

白色固体7g (442.302mg)经原料5和2-氟氯苄按照上述方法合成. 产率为69.38%, 熔点为133~135℃. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ : 8.23 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.77 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.74 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.73 (s, 1H, N=CH of amide), 7.47 (d, $J=10.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.32~7.28 (m, 2H, Ar of amide and Im 4-*H*), 7.12~7.04, 6.56 (m, 6H, Ar of amide and Im 3,5,6-*H*), 5.54 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.21 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.62 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 2.59 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.65 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.33 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.86 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (150MHz, CDCl₃) δ : 167.47 (CH₂C=O), 161.14 (quinazolinone C=O), 160.32, 159.51, 158.68, 152.10, 149.27, 147.70, 140.64, 135.23, 131.34, 129.88, 129.65, 129.09, 128.31, 127.90, 127.16, 126.57, 125.07, 123.38, 120.80, 120.70, 120.50, 115.57, 115.22, 47.45, 43.20, 38.36, 29.51, 26.43, 22.26, 13.57ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₂H₂₈Cl₂F₂N₆O₂ [M+H]⁺: 637.1697; 实测: 637.1694.

(8) 化合物7h的合成

白色固体7h (429.807mg)经原料5和3-氟氯苄按照上述方法合成. 产率为67.42%, 熔点为74~76℃. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ : 8.22 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.75 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.73 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.72 (s, 1H, N=CH of amide),

7.46 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.35~7.29 (m, 2H, Ar of amide and Im 5-*H*), 7.01~6.97, 6.89 (m, 4H, Ar of amide and Im 4, 6-*H*), 6.79 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H, Ar of amide 2-*H*), 6.64 (d, $J=9.2\text{Hz}$, 2H, Ar of Im 2-*H*), 5.50 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.17 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.60 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 2.57 (t, $J=9.0\text{Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.63 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.32 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.85 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (150MHz, CDCl₃) δ : 167.38 (CH₂C=O), 160.39 (quinazolinone C=O), 152.06, 149.23, 147.63, 140.72, 138.54, 136.31, 135.19, 131.67, 130.88, 128.25, 127.95, 127.21, 122.45, 121.06, 120.56, 120.40, 115.17, 115.03, 114.90, 113.96, 113.81, 112.68, 112.53, 48.11, 47.29, 44.96, 29.43, 26.52, 22.26, 13.56ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₂H₂₈Cl₂F₂N₆O₂ [M+H]⁺: 637.1697; 实测: 637.1696.

(9) 化合物7i的合成

白色固体7i (461.236mg)经原料5和4-氟氯苄按照上述方法合成. 产率为72.35%, 熔点为185~187℃. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ : 8.22 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.78 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.77 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.73 (s, 1H, N=CH of amide), 7.47 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.17 (m, 2H, Ar of amide and Im 4, 6-*H*), 7.05~7.01 (m, 4H, Ar of Im 2,3,5,6-*H*), 6.94 (m, 2H, Ar of amide 3,5-*H*), 5.47 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.14 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.63 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 2.56 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.62 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.30 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.85 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (150MHz, CDCl₃) δ : 167.38 (CH₂C=O), 163.15 (quinazolinone C=O), 161.47, 160.42, 152.03, 149.25, 147.65, 140.74, 135.07, 131.65, 131.50, 129.54, 128.78, 128.73, 128.22, 127.97, 127.23, 127.16, 127.11, 120.52, 120.39, 116.20, 116.05, 47.95, 47.28, 44.71, 29.44, 26.55, 22.33, 13.57ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₂H₂₈Cl₂F₂N₆O₂ [M+H]⁺: 637.1697; 实测: 637.1699.

(10) 化合物7j的合成

白色固体7j (437.098mg)经原料5和4-硝基氯苄按照上述方法合成. 产率为69.99%, 熔点为241~243℃. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ : 8.22~8.18 (m, 5H, quinazolinone 5-*H*, Ar of Im and amide), 7.91 (s, 1H, N=CH

of amide), 7.74 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.70 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.48 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.38 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, Ar of amide 2,6-*H*), 7.16 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, Ar of Im 2,6-*H*), 5.66 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.28 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.65 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 2.55 (t, $J=7.6$ Hz, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.64 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.30 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.85 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (151MHz, CDCl₃) δ : 167.44 (CH₂C=O), 160.25 (quinazolinone C=O), 152.44, 147.87, 147.80, 147.54, 142.75, 141.07, 141.01, 136.16, 131.79, 128.28, 128.22, 127.79, 127.12, 126.89, 126.28, 124.49, 124.45, 120.19, 120.12, 48.21, 46.72, 44.86, 29.39, 26.56, 22.26, 13.58ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₂H₂₈Cl₂N₈O₆ [M+H]⁺: 691.1587; 实测: 691.1586.

(11) 化合物7k的合成

白色固体7k (445.972mg)经原料5和4-甲基氯苄按照上述方法合成. 产率为69.09%, 熔点为166~168℃. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ : 8.23 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 5-*H*), 7.81 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.72 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.65 (s, 1H, N=CH of amide), 7.46 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.14 (d, $J=7.9$ Hz, 2H, Ar of amide 2,6-*H*), 7.11~7.08 (m, 4H, Ar of Im 2,3,5,6-*H*), 6.84 (d, $J=7.9$ Hz, 2H, Ar of amide 3,5-*H*), 5.43 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.11 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.49 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 2.57 (t, $J=7.6$ Hz, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 2.61~2.52 (m, 2H), 1.62 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 2.32 (s, 3H, Ar of amide 4-CH₃), 2.30 (s, 3H, Ar of Im 4-CH₃), 1.31 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.89 (t, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (151MHz, CDCl₃) δ : 167.39 (CH₂C=O), 160.38 (quinazolinone C=O), 151.86, 149.23, 147.81, 140.61, 137.71, 137.66, 134.51, 132.85, 131.49, 130.82, 129.80, 129.65, 128.26, 127.88, 127.14, 127.05, 125.35, 120.92, 120.48, 48.42, 47.54, 45.18, 29.48, 26.52, 22.29, 21.08, 20.97, 13.60ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₄H₃₄Cl₂N₆O₂ [M+H]⁺: 629.2199; 实测: 629.2200.

(12) 化合物7l的合成

白色固体7l (437.297mg)经原料5和4-甲氧基氯苄按照上述方法合成. 产率为71.50%, 熔点为128~130℃. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ : 8.23 (d, $J=8.5$ Hz, 1H,

quinazolinone 5-*H*), 7.83 (s, 1H, quinazolinone 2-*H*), 7.73 (s, 1H, quinazolinone 8-*H*), 7.71 (s, 1H, N=CH of amide), 7.46 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, quinazolinone 6-*H*), 7.13 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, Ar of amide 2,6-*H*), 6.88~6.82 (m, 4H, Ar of Im 2,3,5,6-*H*), 6.82 (d, $J=8.7$ Hz, 2H, Ar of amide 3,5-*H*), 5.41 (s, 2H, ArCH₂ of amide), 5.10 (s, 2H, ArCH₂ of Im), 4.57 (s, 2H, quinazolinone-CH₂), 3.79 (s, 3H, Ar of amide 4-CH₃), 3.74 (s, 3H, Ar of Im 4-CH₃), 2.57 (t, 2H, $J=7.6$ Hz, 2H, CH₃(CH₂)₂CH₂ of Im), 1.62 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂ of Im), 1.31 (m, 2H, CH₃CH₂(CH₂)₂ of Im), 0.85 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, CH₃(CH₂)₃ of Im) ppm; ¹³C NMR (151MHz, CDCl₃) δ : 167.39 (CH₂C=O), 160.42 (quinazolinone C=O), 151.84, 149.27, 147.83, 140.60, 134.51, 131.53, 128.45, 128.24, 127.86, 127.68, 127.17, 126.66, 125.82, 120.80, 120.48, 114.57, 114.42, 55.27, 48.10, 47.56, 44.84, 29.67, 29.49, 26.56, 22.30, 13.61ppm; HRMS (TOF) 计算值 C₃₄H₃₄Cl₂N₆O₄ [M+H]⁺: 661.2097; 实测: 661.2098.

2.3 体外抗细菌抗真菌活性测试

所有合成的化合物进行的体外抗微生物活性均采用美国临床实验室标准委员会(National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS)推荐的倍比稀释药敏法测试^[38], 测试的细菌菌株包括4种革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌 ATCC25923 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌N315 (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* N315)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、藤黄微球菌 ATCC4698 (*Micrococcus luteus* ATCC4698))和6种革兰阴性菌(变形杆菌 ATCC13315 (*Bacillus proteus* ATCC13315)、大肠杆菌 DH52 (*Escherichia coli* DH52)、大肠杆菌 JM109 (*Escherichia coli* JM109)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、痢疾杆菌(*Shigella dysenteriae*)、伤寒杆菌(*Bacillus typhi*)), 真菌菌株包括5种(白色念珠菌 ATCC10231 (*Candida albicans* ATCC10231)、酵母菌(*Candida mycoderma*)、假丝酵母菌 ATCC9950 (*Candida utilis* ATCC9950)、黄曲霉菌 ATCC204304 (*Aspergillus flavus* ATCC204304)、啤酒酵母菌 ATCC9763 (*Beer yeast* ATCC9763)). 以临床使用的氯霉素、诺氟沙星(norfloxacin)和氟康唑(fluconazole)作为阳性对照(见网络版补充材料).

2.4 ClogP值

药物的脂水分配系数(logP)对化合物在生命有机体中的吸收及转运对其生物活性有重要影响。其值(ClogP)通过ChemDraw Ultra 10.0计算。ClogP广泛用以预测目标化合物的生物活性,其绝对值越小可能具有更好的抗微生物活性。

2.5 高活性分子7i与小牛胸腺DNA相互作用实验

DNA是一种信息分子在所有已知的生命有机体的发展和功能表达当中发挥着遗传信息编码的重要作用,这使得它成为药物分子发现的重要靶点之一^[39,40],如抗微生物药物^[41,42]。高活性分子7i与小牛胸腺DNA相互作用的研究方法按照通用的实验步骤进行^[43,44]。

2.6 高活性分子7i与金黄色葡萄球菌DNA分子对接实验

高活性分子7i与金黄色葡萄球菌DNA相互作用分子模拟采用Autodock 4.2软件。使用45×45×45的网格,网格点大小为默认值0.375 Å。运用拉马克遗传算法(Lamarckian genetic algorithm, LGA)进行构象搜索^[15]。

3 结果与讨论

3.1 喹唑酮咪唑类化合物的合成

目标化合物6a~6h及7a~7l通过多步反应合成得

到,合成路线如图2所示。由市售的2-氨基-4-氯苯甲酸1与醋酸甲脒在乙二醇甲醚中进行环化反应得到喹唑酮2,产率为83%^[15]。化合物2进一步与氯乙酸乙酯在丙酮溶剂中,碳酸钾作碱的条件下反应得到酯类衍生物3,产率为80%。然后,化合物3与过量的水合肼发生缩合反应得到酰胺4,产率为89%。化合物4与2-正丁基-5-氯-4甲酰基咪唑在乙醇中脱水得到目标化合物5,产率为85%。化合物5再分别与卤代烷烃和卤苄反应得到目标化合物6a~6h和7a~7l,产率为40%~70%。所有新化合物经过¹H NMR、¹³C NMR谱及高分辨质谱表征。

3.2 体外抗微生物活性

将能够完全抑制微生物菌株生长的最低化合物浓度定义为最小抑制浓度(MIC, μmol/mL),其值由倍比稀释法在96微孔板中进行测试,以氯霉素、诺氟沙星和氟康唑作为参考药物。为排除溶剂二甲基亚砜(DMSO)对细菌生长产生的影响,将DMSO含量降低至1%,此外,96孔板中12号孔作为阳性对照不加药。所合成化合物的抗细菌以及抗真菌数据见表1和2。

3.2.1 喹唑酮类化合物抗细菌活性

从表1中可以看出,中间体2~4对测试菌株表现出较弱的活性。然而,与化合物2~4相比,酰胺桥链的目标化合物5、6a~6h及7a~7l表现出更好的抗细菌活性。这表明咪唑酰胺结构片段的引入可以改善其活性。在化合物5中引入烷基或芳烷基,对生物活性有明显的影

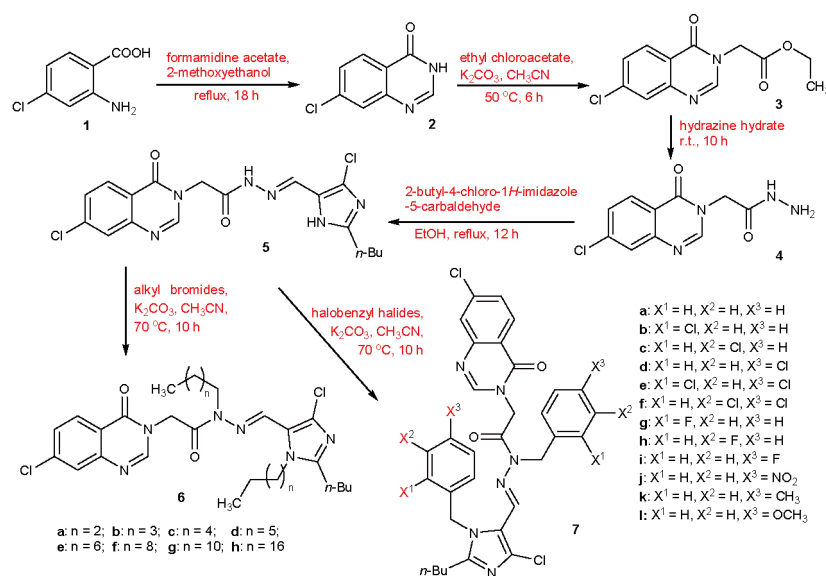


图2 酰胺桥链的喹唑酮咪唑类化合物的合成路线(网络版彩图)

表 1 化合物2~7抗细菌MIC值($\mu\text{mol/mL}$)^{a)}

Compound	Gram-Positive bacteria				Gram-Negative bacteria					
	<i>S. aureus</i>	MRSA	<i>B. subtilis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. proteus</i>	<i>E. coli</i> DH52	<i>E. coli</i> JM109	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>B. typhi</i>
2	1.42	>2.84	2.84	2.84	>2.84	>2.84	>2.84	>2.84	2.84	>2.84
3	0.96	>1.92	1.92	1.92	>1.92	>1.92	>1.92	>1.92	1.92	>1.92
4	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03
5	0.61	>1.22	0.61	0.15	0.61	0.61	0.30	0.30	0.61	0.30
6a	>0.96	0.48	0.96	0.48	0.12	0.06	0.96	0.96	0.96	0.48
6b	>0.91	0.23	0.91	0.46	>0.91	>0.91	>0.91	0.91	0.91	0.91
6c	0.87	0.87	0.87	0.87	>0.87	>0.87	0.87	0.87	0.43	0.87
6d	0.42	0.10	0.21	0.42	0.21	>0.83	0.21	0.83	0.83	0.83
6e	0.79	0.79	0.40	0.79	>0.79	>0.79	0.79	0.79	0.20	0.79
6f	>0.73	0.18	0.73	0.18	0.09	>0.73	0.36	0.36	0.73	0.73
6g	0.68	0.68	0.68	>0.68	0.68	>0.68	0.68	0.68	0.17	0.68
6h	0.28	0.14	0.07	0.14	0.14	0.28	0.28	0.28	0.02	0.28
7a	0.11	>0.85	>0.85	0.21	0.11	0.11	>0.85	>0.85	>0.85	>0.85
7b	>0.76	0.38	>0.76	0.10	>0.76	>0.76	0.10	0.38	0.19	>0.76
7c	0.19	>0.76	>0.76	>0.76	>0.76	0.19	0.38	0.38	>0.76	>0.76
7d	0.38	>0.76	>0.76	>0.76	>0.76	0.38	>0.76	>0.76	0.10	>0.76
7e	0.17	>0.69	0.35	>0.69	0.17	>0.69	0.09	>0.69	0.09	>0.69
7f	0.35	>0.69	0.17	0.09	>0.69	0.35	>0.69	>0.69	>0.69	>0.69
7g	0.10	>0.80	>0.80	>0.80	>0.80	0.05	>0.80	0.05	0.10	>0.80
7h	0.40	0.20	0.10	>0.80	>0.80	>0.80	0.05	0.10	0.10	0.05
7i	0.80	0.05	0.05	0.10	0.05	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05
7j	0.09	0.37	0.37	>0.74	>0.74	0.19	0.37	>0.74	0.74	0.37
7k	>0.81	0.81	>0.81	>0.81	0.20	0.81	0.41	>0.81	>0.81	0.81
7l	0.19	0.19	0.39	0.39	0.10	0.10	0.39	0.39	0.19	0.19
A ^{b)}	0.05	0.05	0.10	0.02	0.10	0.10	0.10	0.10	0.05	0.10
B ^{c)}	0.006	0.03	0.01	0.006	0.03	0.003	0.003	0.05	0.05	0.01

a) *S. aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC25923; MRSA, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* N315; *B. subtilis*, *Bacillus subtilis*; *M. luteus*, *Micrococcus luteus* ATCC4698; *B. proteus*, *Bacillus proteus* ATCC13315; *E. coli* DH52, *Escherichia coli* DH52; *E. coli* JM109, *Escherichia coli* JM109; *P. aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa*; *S. dysenteriae*, *Shigella dysenteriae*; *B. typhi*, *Bacillus typhi*; b) A=Chloramphenicol; c) B=Norfoxacin

响. 在烷基衍生物6系列中, 丁基取代的化合物6a抑制大肠杆菌DH52生长的活性、癸基取代的化合物6f抗变形杆菌ATCC13315生长的能力以及十八烷基取代的化合物6h抗枯草杆菌和痢疾杆菌的活性均强于临床药物氯霉素. 尤其是含有十八烷基的衍生物6h在抑制痢疾杆菌的生长中给出低的MIC值($0.02\mu\text{mol/mL}$), 其活性是临床药物氯霉素和诺氟沙星($\text{MIC}=0.05\mu\text{mol/mL}$)

的2.5倍, 作为专一抗痢疾杆菌的特效药值得深入研究.

对比烷基类化合物6, 芳烷基衍生物7系列相对给出更好的抗菌活性. 在苄基化合物7系列中, 大肠杆菌JM109对2-氯苄基化合物7b、枯草杆菌和绿脓杆菌对3-氟苄基衍生物7h、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌N315对4-氟苄基化合物7i、变形杆菌和大肠杆菌DH52对4-甲氧苄基衍生物7l与这些菌对参考药物氯霉素同样

表 2 ClogP值及化合物2~7抗真菌MIC值(μmol/mL)^{a)}

Compound	ClogP	Fungi				
		<i>C. albicans</i>	<i>C. mycoderma</i>	<i>C. utilis</i>	<i>A. flavus</i>	<i>B. yeast</i>
2	1.08	>2.84	>2.84	>2.84	>2.84	>2.84
3	2.09	>1.92	>1.92	>1.92	>1.92	>1.92
4	0.09	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03	>2.03
5	2.62	>1.22	>1.22	>1.22	>1.22	>1.22
6a	6.72	0.96	0.24	0.24	0.48	0.24
6b	7.78	>0.92	0.92	0.92	0.46	>0.92
6c	8.84	>0.87	0.22	0.87	0.87	>0.87
6d	9.90	0.10	0.05	0.10	0.10	0.05
6e	10.95	0.10	0.05	0.20	0.10	0.20
6f	13.07	0.18	0.09	0.36	0.18	0.18
6g	15.19	>0.68	0.68	>0.68	0.68	>0.68
6h	21.53	>0.55	>0.55	>0.55	0.03	>0.55
7a	6.70	0.43	0.43	>0.85	0.43	>0.85
7b	8.13	0.76	>0.76	0.38	0.38	0.19
7c	8.13	>0.76	0.38	>0.76	>0.76	0.76
7d	8.13	0.76	>0.76	0.19	0.38	>0.76
7e	9.55	0.69	>0.69	>0.69	0.35	>0.69
7f	9.31	0.02	0.35	>0.69	0.09	0.17
7g	6.99	0.10	0.80	>0.80	0.40	0.80
7h	6.99	>0.80	0.05	0.20	>0.80	0.05
7i	6.99	0.20	0.40	0.10	0.10	0.10
7j	6.19	0.19	0.74	0.19	0.74	>0.74
7k	7.70	>0.81	0.81	0.81	0.20	0.81
7l	6.54	0.39	0.39	0.19	0.77	0.19
C ^{b)}	0.58	0.003	0.01	0.03	0.84	0.05

a) *C. albicans*, *Candida albicans* ATCC10231; *Candida mycoderma*, *C. mycoderma*; *C. utilis*, *Candida utilis* ATCC9950; *A. flavus*, *Aspergillus flavus* ATCC204304; *B. yeast*, *Beer yeast* ATCC9763; b) C=Fluconazole

敏感. 2,4-二氯苄基衍生物7e抑制大肠杆菌JM109生长的活性、2-氟苄基化合物7g抗大肠杆菌DH52和绿脓杆菌生长的能力、3-氟苄基化合物7h抑制大肠杆菌JM109和伤寒杆菌的活性、4-氟苄基衍生物7i抗枯草杆菌、变形杆菌、大肠杆菌JM109、绿脓杆菌及伤寒杆菌生长的能力均强于临床药物氯霉素. 特别地, 含有4-氟苄基的化合物7i在抑制大肠杆菌DH52的生长中展示出低的MIC值(0.03 μmol/mL), 其活性是临床药物氯霉素(MIC=0.1 μmol/mL)的3.3倍. 此外, 4-氟苄基取代的化合物7i在抗痢疾杆菌的生长中也给出同样

低的MIC值(0.03 μmol/mL), 其活性为参考药物氯霉素和诺氟沙星(MIC=0.05 μmol/mL)的1.6倍, 作为潜在的广谱抗菌药值得深入研究.

3.2.2 喹唑酮类化合物抗真菌活性

表2显示出中间体2~4及酰脲桥链的喹唑酮咪唑化合物5给出较弱的抗真菌活性. 在酰脲桥链的目标化合物5中引入烷基和苄基后, 抗真菌活性普遍得到增强. 其中烷基取代的目标化合物比苄基取代的具有更好的抗真菌活性. 庚基取代的化合物6d和3-氟苄基

衍生物**7h**抗啤酒酵母菌的能力与参考药物氟康唑的(MIC=0.05 μ mol/mL)相当,大部分目标化合物对黄曲霉菌的抑制活性优于临床药物氟康唑,对其他真菌表现出较弱的活性.特别地,十八烷基取代的化合物**6h**和4-氟苄基取代的化合物**7i**在抑制黄曲霉菌生长中给出小的MIC值(0.03和0.10 μ mol/mL),其活性分别是临床药物氟康唑的28和8.4倍(MIC=0.84 μ mol/mL).化合物**6h**和**7i**可作为新型专一抗黄曲霉菌特效药值得深入研究.

3.2.3 高活性分子**7i**与小牛胸腺DNA相互作用

近些年,在合理地设计和构建新型高效药物的过程中,DNA作为一种治疗靶点正被越来越多地研究^[45~47].为探究可能的抗菌作用机制,本研究选取了廉价、易得而又有医药重要性的小牛胸腺DNA作为DNA模型.在体外通过紫外-可见光谱法从分子水平上研究活性分子**7i**与DNA结合行为,使用中性红作为光谱探针.

(1) 高活性分子**7i**存在条件下的DNA吸收光谱

吸收光谱是研究药物分子与DNA相互作用最重要的技术手段之一.减色效应和增色效应是反映DNA双螺旋构象是否发生改变的重要波谱特征.实验结果显示,高活性分子**7i**与DNA发生了相互作用.在260nm处,化合物**7i**的最大吸收峰随其浓度的增加而增加.并且随活性分子**7i**浓度增加,吸收曲线发生红移.当固定化合物**7i**浓度,**7i**-DNA络合物的吸收值高于活性分子**7i**与DNA吸收值之和,表明活性分子**7i**与DNA发生增色效应.固定DNA的浓度,紫外-可见光谱吸收值随着活性分子**7i**浓度增加而变大(图3).

基于DNA结合化合物**7i**时吸收光谱的变化,式(1)可以用来计算结合常数(K):

$$\frac{A^0}{A-A^0} = \frac{\xi_c}{\xi_{D-C}-\xi_c} + \frac{\xi_c}{\xi_{D-C}-\xi_c} \times \frac{1}{K[Q]} \quad (1)$$

其中 A^0 和 A 分别代表260nm处DNA在无和有化合物**7i**条件下的吸收值. ξ_c 和 ξ_{D-C} 分别代表化合物**7i**和**7i**-DNA络合物的吸收常数. $A^0/(A-A^0)$ 比 $1/[$ 化合物**7i** $]$ 曲线通过吸收滴定数据和线性拟合构建,从而得到结合常数, $K=2.16 \times 10^4$ L/mol, $R=0.9994$, $SD=0.0047$ (其中 R 表示相关系数, SD 表示标准偏差) (图4).

(2) DNA与中性红相互作用吸收光谱

为进一步理解DNA与高活性化合物**7i**之间的相互

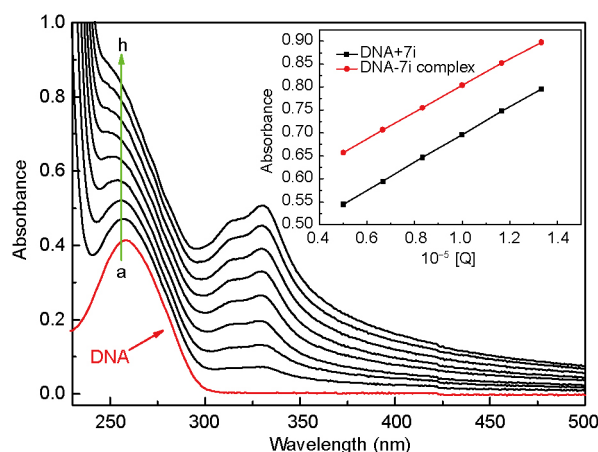


图3 在化合物**7i**不同浓度条件下的DNA紫外-可见光谱图(插图为pH 7.4, $T=290$ K, 260nm处**7i**-DNA络合物的吸收值与游离DNA及化合物**7i**的和与吸收值对应的曲线),其中DNA浓度为 5.95×10^{-5} mol/L. 曲线a~h分别指化合物**7i**浓度从0以 0.25×10^{-5} 增量增至 2.00×10^{-5} mol/L的曲线(网络版彩图)

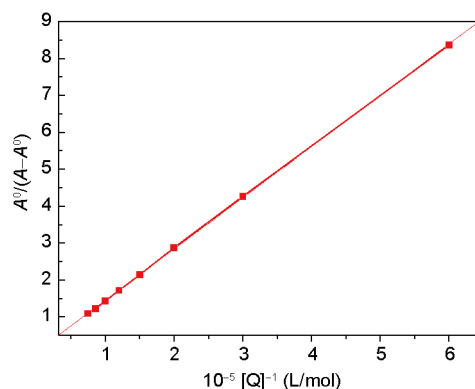


图4 $A^0/(A-A^0)$ 与 $1/[$ 化合物**7i** $]$ 曲线(网络版彩图)

作用模式,研究了活性分子**7i**竞争性相互作用的吸收光谱.中性红(neutral red)是一种结构呈平面的吩嗪染料,并且具有毒性低、稳定性高、易得等优点.近些年,通过分光光度法和电化学技术已经证明中性红以嵌入模式与DNA结合.因此,中性红用作光谱探针来研究高活性分子**7i**与DNA的作用模式.加入DNA时中性红的吸收光谱如图5所示.在460nm处,随着DNA浓度的增加,中性红的吸收峰逐渐降低,并且在530nm处形成了一个新的吸收带.这是因为形成了新的DNA-中性红络合物.在504nm处出现等吸收点可证明DNA-中性红复合物的形成.

(3) 高活性分子**7i**及中性红与DNA竞争性作用的

吸收光谱

图6展示了中性红及活性分子7i与DNA竞争性结合的吸收光谱。随着化合物7i浓度逐渐增加,在530nm处DNA-中性红络合物的最大吸收值明显降低。在350~600nm波长范围内随着化合物7i浓度增加,体系的光谱吸收值变小。在约460nm处观察到形成的吸收带的强度略有增加。与之前DNA-中性红复合物在460nm处吸光带(图5)相比,在图6中相同波长处表现出相反的过程。结果表明,化合物7i将DNA-中性红络合物中的中性红置换出来,从而嵌入到DNA双螺旋结构中。

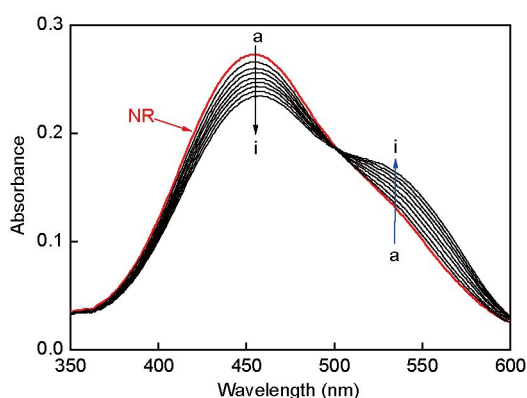


图5 DNA存在下中性红的紫外-可见吸收光谱。测试参数为pH 7.4, 25℃, 中性红浓度为 2×10^{-5} mol/L, 曲线a~i分别指DNA浓度从0以 0.48×10^{-5} 增量变至 3.81×10^{-5} mol/L (网络版彩图)

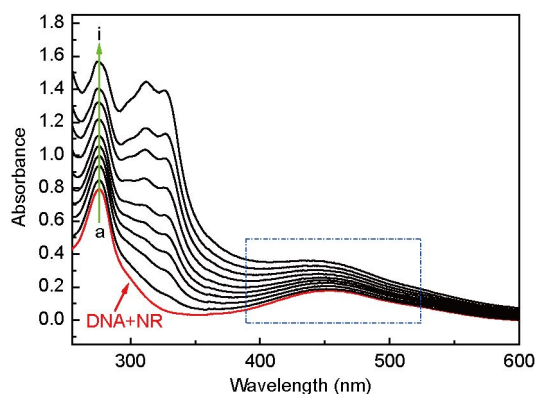


图6 高活性分子7i及中性红与DNA竞争性的紫外-可见吸收光谱。 $c(\text{DNA}) = 4.17 \times 10^{-5}$ mol/L, $c(\text{NR}) = 2 \times 10^{-5}$ mol/L, a~i分别指化合物7i浓度从0以 0.25×10^{-5} 增量增至 2.5×10^{-5} mol/L的曲线(网络版彩图)

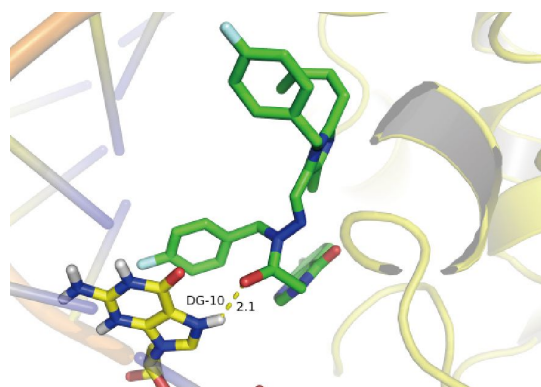


图7 化合物7i与金黄色葡萄球菌DNA相互作用分子模拟(网络版彩图)

3.2.4 高活性分子7i与金黄色葡萄球菌DNA分子对接

为了对观察到的抗菌活性数据作出合理的解释以更好地理解喹唑酮咪唑衍生物7i可能的抗菌作用机制,采用柔性受体-配体对接研究模型对化合物7i与金黄色葡萄球菌DNA分子进行对接(PDB编号为2XCS)^[48]。如图7所示,高活性分子7i以酰脲片段的氧原子通过氢键与金黄色葡萄球菌DNA碱基DG-10相互作用,两者间的距离为2.1 Å,结合能为-9.26 kJ/mol。以上分子对接研究表明,化合物7i可能通过氢键与金黄色葡萄球菌DNA发生相互作用,从而发挥较好的抗菌活性。

4 结论

通过简单高效的合成路线成功制备了一系列酰脲桥链的喹唑酮咪唑类新化合物。所有的新化合物通过 ^1H NMR、 ^{13}C NMR以及HRMS谱表征。生物活性评估表明,一些目标分子对某些测试菌株表现出较好的抑制活性,尤其是含有十八烷基的衍生物6h在抑制痢疾杆菌的生长中给出低的MIC值($0.02 \mu\text{mol/mL}$),其活性是临床药物氯霉素和诺氟沙星($\text{MIC} = 0.05 \mu\text{mol/mL}$)的2.5倍,4-氟苄基衍生物7i抗大肠杆菌DH52的活性($\text{MIC} = 0.03 \mu\text{mol/mL}$)是临床药物氯霉素($\text{MIC} = 0.1 \mu\text{mol/mL}$)的3.3倍。化合物6h和7i在抑制黄曲霉菌生长中给出小的MIC值(0.03和 $0.10 \mu\text{mol/mL}$),其活性分别是临床药物氟康唑的28和8.4倍($\text{MIC} = 0.84 \mu\text{mol/mL}$)。活性分子7i与小牛胸腺DNA的作用模式表明,它可嵌入到DNA中形成7i-DNA络合物,从而阻碍DNA复制展现较强的抗菌效果。此

外, 分子模拟表明咪唑衍生物**7i**通过酰胺上的氧原子与DNA碱基DG-10形成氢键. 该类化合物作为新型抗真菌黄曲霉菌专一特效药及新型抗细菌药值得深入研究.

补充材料

本文的补充材料见网络版chemcn.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

参考文献

- Levin-Reisman I, Ronin I, Gefen O, Braniss I, Shores N, Balaban NQ. *Science*, 2017, 355: 826–830
- Gong HH, Addla D, Lv JS, Zhou CH. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16: 3303–3364
- 王艳, 周成合. 中国科学: 化学, 2011, 41: 1429–1456
- Brown ED, Wright GD. *Nature*, 2016, 529: 336–343
- 何世超, Ponmani J, Avula SR, 王宪龙, 张慧珍, 周成合. 中国科学: 化学, 2016, 46: 823–847
- Khan I, Ibrar A, Ahmed W, Saeed A. *Eur J Med Chem*, 2015, 90: 124–169
- 王辉, Ponmani J, Sangaraiah N, 孟江平, 周成合. 化学进展, 2015, 27: 704–743
- O'Connell KMG, Hodgkinson JT, Sore HF, Welch M, Salmond GPC, Spring DR. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 10706–10733
- Cui SF, Addla D, Zhou CH. *J Med Chem*, 2016, 59: 4488–4510
- Zhang L, Kumar KV, Geng RX, Zhou CH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 3699–3705
- Cheng Y, Avula SR, Gao WW, Addla D, Tangadanchu VKR, Zhang L, Lin JM, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2016, 124: 935–945
- Peng XM, Damu GLV, Zhou CH. *Curr Pharm Design*, 2013, 19: 3884–3930
- Khan I, Ibrar A, Abbas N, Saeed A. *Eur J Med Chem*, 2014, 76: 193–244
- Sharma PC, Kaur G, Pahwa R, Sharma A, Rajak H. *Curr Med Chem*, 2011, 18: 4786–4812
- Peng XM, Peng LP, Li S, Avula SR, Kannekanti VK, Zhang SL, Tam KY, Zhou CH. *Future Med Chem*, 2016, 8: 1927–1940
- Peng LP, Nagarajan S, Rasheed S, Zhou CH. *Med Chem Commun*, 2015, 6: 222–229
- Leivers AL, Tallant M, Shotwell JB, Dickerson S, Leivers MR, McDonald OB, Gobel J, Creech KL, Strum SL, Mathis A, Rogers S, Moore CB, Botyanszki J. *J Med Chem*, 2014, 57: 2091–2106
- Peng XM, Cai GX, Zhou CH. *Curr Top Med Chem*, 2013, 13: 1963–2010
- Zhou CH, Wang Y. *Curr Med Chem*, 2012, 19: 239–280
- 代玲玲, 崔胜峰, Damu GLV, 周成合. 有机化学, 2013, 33: 224–244
- 崔胜峰, 王艳, 吕敬松, Damu GLV, 周成合. 中国科学: 化学, 2012, 42: 1105–1131
- 程宇, 王辉, Dinesh A, 周成合. 有机化学, 2016, 36: 1–42
- Zhou CH, Gan LL, Zhang YY, Zhang FF, Wang GZ, Jin L, Geng RX. *Sci China Ser B-Chem*, 2009, 52: 415–458
- 周成合, 张飞飞, 甘淋玲, 张奕奕, 耿蓉霞. 中国科学: 化学, 2009, 39: 208–252
- Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. *Biochemistry*, 2014, 53: 1565–1574
- Boonlarppradab C, Suriyachadkun C, Supothina S, Laksanacharoen P. *J Antibiot*, 2016, 69: 459–463
- Lai TT, Xie D, Zhou CH, Cai GX. *J Org Chem*, 2016, 81: 8806–8815
- Wen J, Luo YL, Zhang HZ, Zhao HH, Zhou CH, Cai GX. *Chin Chem Lett*, 2016, 27: 391–394
- Jeyakkumar P, Zhang L, Avula SR, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2016, 122: 205–215
- Zhang L, Peng XM, Damu GLV, Geng RX, Zhou CH. *Med Res Rev*, 2014, 34: 340–437
- Wen SQ, Jeyakkumar P, Avula SR, Zhang L, Zhou CH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 2768–2773
- Zhang L, Kumar KV, Rasheed S, Geng RX, Zhou CH. *Chem Biol Drug Des*, 2015, 86: 648–655
- Addla D, Wen SQ, Gao WW, Maddili SK, Zhang L, Zhou CH. *Med Chem Commun*, 2016, 7: 1988–1994
- Bhalerao MB, Dhumal ST, Deshmukh AR, Nawale LU, Khedkar V, Sarkar D, Mane RA. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 288–294
- Cui SF, Peng LP, Zhang HZ, Rasheed S, Vijaya Kumar K, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2014, 86: 318–334
- Zhang L, Addla D, Ponmani J, Wang A, Xie D, Wang YN, Zhang SL, Geng RX, Cai GX, Li S, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2016, 111: 160–182
- Gao WW, Rasheed S, Tangadanchu VKR, Sun Y, Peng XM, Cheng Y, Zhang FX, Lin JM, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2017, 60: 769–785
- 王宪龙, 甘淋玲, 闫聪彦, 周成合. 中国科学: 化学, 2011, 41: 451–460

- 39 Smith SJ, Nemr CR, Kelley SO. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 1020–1028
- 40 Jeyakkumar P, Liu HB, Gopala L, Cheng Y, Peng XM, Geng RX, Zhou CH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27: 1737–1743
- 41 Yin BT, Yan CY, Peng XM, Zhang SL, Rasheed S, Geng RX, Zhou CH. *Eur J Med Chem*, 2014, 71: 148–159
- 42 Fang XJ, Jeyakkumar P, Avula SR, Zhou Q, Zhou CH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 2584–2588
- 43 Luo YL, Baathulaa K, Kannekanti VK, Zhou CH, Cai GX. *Sci China Chem*, 2015, 58: 483–494
- 44 Zhao J, Guo Y, Hu J, Yu H, Zhi S, Zhang J. *Polyhedron*, 2015, 102: 163–172
- 45 Damu GLV, Wang QP, Zhang HZ, Zhang YY, Lv JS, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2013, 56: 952–969
- 46 Herrera JM, Mendes F, Gama S, Santos I, Navarro Ranninger C, Cabrera S, Quiroga AG. *Inorg Chem*, 2014, 53: 12627–12634
- 47 Peng XM, Kumar KV, Damu GLV, Zhou CH. *Sci China Chem*, 2016, 59: 878–894
- 48 Ferreira LG, Oliva G, Andricopulo AD. *Future Med Chem*, 2015, 7: 753–764

Design and synthesis of quinazolinone imidazoles and their antibacterial and DNA-targeting investigation

Quancheng Cao, Hui Wang, Vijai Kumar Reddy Tangadanchu, Lavanya Gopala, Guixin Cai*, Chenghe Zhou*

Key Laboratory of Applied Chemistry of Chongqing Municipality, Institute of Bioorg & Med Chemistry, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China

*Corresponding authors (email: gxcai@swu.edu.cn; zhouch@swu.edu.cn)

Abstract: The rising emergence of multidrug-resistant bacteria is becoming an increasingly serious threat to human health, therefore the development of structurally novel drugs has been an important topic worldwide to overcome drug-resistant strains. In this work, a series of novel acylhydrazone-bridged quinazolinone imidazoles were designed, synthesized and characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS spectra. Bioactive assays showed that some target compounds exhibited significant antimicrobial potency. Especially, octadecyl derivative **6h** and 4-fluorobenzyl derivative **7i** showed 2.5–3.3 folds stronger activities against bacteria *S. dysenteriae* and *E. coli* DH52 than chloramphenicol, and 28 as well as 8.4 times higher efficacies toward fungus *A. flavus* than clinical drug fluconazole. The DNA-targeting preliminary exploration of highly active compound **7i** by UV-Vis spectroscopy revealed that imidazole derivative **7i** could intercalate into calf thymus DNA to form **7i**-DNA supramolecular complex and thus block DNA replication to exert powerful antibacterial activities. Molecular docking study displayed that the active molecule **7i** could form hydrogen bond with DNA base. This class of compounds as new type of specific anti-*A. flavus* and antibacterial drugs were worthy of being deeply investigated.

Keywords: quinazolinone, antibacterial, antifungal, imidazole, acylhydrazone, molecular docking, DNA

doi: [10.1360/N032017-00026](https://doi.org/10.1360/N032017-00026)