

3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑衍生物 HIF-1 抑制剂的设计、合成与构效关系研究

刘瑶, 李珊, 裘旒, 胡永洲, 曹戟, 盛荣* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 目的 设计、合成 3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑类缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)抑制剂。方法 以化合物 **8** 为先导, 将吡唑基替换为 1,2,3-三氮唑基, 并对噁二唑和苯环取代基等进行改造, 获得全新的 3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑衍生物。结果 所合成的大部分化合物均显示出较优的 HIF-1 抑制活性, 化合物 **10n** 活性最强, IC₅₀ 值为 0.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其作用机制是抑制 HIF-1 α 蛋白表达, 且能显著抑制 SKOV3 细胞的侵袭和迁移。结论 设计、合成的 3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑类衍生物是全新的 HIF-1 抑制剂, 显示出抑制肿瘤迁移的效应。

关键词: 缺氧诱导因子-1; 抑制剂; 3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑衍生物; 构效关系; 肿瘤转移

中图分类号: R914.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)05-0573-11

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.05.001

引用本文: 刘瑶, 李珊, 裘旒, 等. 3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑衍生物 HIF-1 抑制剂的设计、合成与构效关系研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(5): 573-583.

Design, Synthesis and Structure-activity Relationship Study of 3-Aryl-5-triazolyl-oxadiazole Derivatives as Hypoxia-inducible Factor-1 Inhibitors

LIU Yao, LI Shan, QIU Ni, HU Yongzhou, CAO Ji, SHENG Rong* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To design and synthesize a series of 3-aryl-5-triazolyl-oxadiazole derivatives as hypoxia-inducible factor 1(HIF-1) inhibitors. **METHODS** Taking compound **8** as the guide, the pyrazolyl group was replaced with 1,2,3-triazole group, and the oxadiazole and benzene ring substituents were modified to obtain a novel series of 3-aryl-5-triazole group oxadiazole derivatives. **RESULTS** Most of these newly designed compounds showed good HIF-1 inhibitory activities and compound **10n** was the most potent inhibitor with IC₅₀ value of 0.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Its mechanism of action was to inhibit the expression of HIF-1 α protein, and could significantly inhibit the invasion and migration of SKOV3 cells. **CONCLUSION** The series of 3-aryl-5-triazolyl-oxadiazole derivatives are new HIF-1 inhibitors, showing the effect of inhibiting tumor migration.

KEYWORDS: HIF-1; inhibitor; 3-aryl-5-triazolyl-oxadiazoles derivatives; structure-activity relationship; tumor metastasis

肿瘤细胞的迅速增殖和肿瘤内部新生血管的紊乱, 使得低氧环境成为绝大多数实体瘤特征之一^[1]。在低氧条件下, 肿瘤细胞会产生一系列的生理学改变, 如激活抗凋亡信号通路, 促使肿瘤细胞侵袭和迁移等。缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)是细胞适应低氧环境的关键调节因子, 在细胞适应低氧环境中起核心作用^[2]。

HIF-1 是由对氧敏感的功能亚基 HIF-1 α 和结构亚基 HIF-1 β 组成的异源二聚蛋白。在缺氧条件下, HIF-1 α 蛋白在胞浆内聚积, 然后转位至核内

与 HIF-1 β 亚基形成二聚体 HIF-1, 在共转录因子的作用下与靶基因上的缺氧反应元件(hypoxia responsible element, HRE)结合而发挥其转录活性, 调控有关肿瘤血管生成、糖类代谢、细胞存活、pH 调节、细胞迁移等上百种靶基因的表达^[2], 并能促使肿瘤细胞对放疗和化疗产生耐受性^[3]。因此, 靶向 HIF-1 的低氧抗肿瘤策略已经成为当前抗肿瘤药物研究的热点^[4-7]。

目前, 已经有多种结构类型的 HIF-1 抑制剂被报道, 分别作用在 HIF-1 信号通路的各个靶点, 见

基金项目: 国家自然科学基金项目(21672187); 浙江省自然科学基金项目(LZ17H300002)

作者简介: 刘瑶, 女, 硕士 E-mail: liuyao0213@zju.edu.cn

*通信作者: 盛荣, 男, 博士, 副教授

E-mail: shengr@zju.edu.cn

图 1。如吡唑类衍生物 YC-1(图 1, 1), 它既能促进 HIF-1 α 的降解, 又能阻止 HIF-1 与 p300/CBP 的结合^[8]; 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抑制剂吉非替尼(图 1, 2)可抑制 HIF-1 α 蛋白的合成^[9]; 乙酰氨基苯甲酸类衍生物 LW6(图 1, 3)则能促进 HIF-1 α 蛋白的降解^[10]; 吡啶黄(图 1, 4)为 HIF-1 α /HIF- β 二聚化抑制剂^[11]; 吡唑类衍生物 BAY 87-2243(图 1, 5)是第 1 个进入临床 I 期试验的 HIF-1 抑制剂, 用于实体瘤治疗^[12]。前期, 课题组以 YC-1(1)和 BAY 87-2243(5)为先导, 设计合成了一系列苯基吡唑类衍生物(6), 大部分化合物均显示出良好的 HIF-1 抑制活性^[13], 尤其是化合物 7 显示良好的体内抑制肿瘤侵袭迁移的活性, 且优于阳性对照 YC-1。最近, 笔者以 3-芳基-5-苯基吡唑-1,2,4-噁二唑衍生物 8 为先导^[14], 设计合成了一系列 3-芳基-5-脲基吡唑-1,2,4-噁二唑类 HIF-1 抑制剂, 并显示出了良好的 HIF-1 抑制活性。

1,2,3-三氮唑是药物化学领域广泛应用的杂环片段, 其相对于吡唑环具有更高的偶极矩(5.2 D vs 1.88 D)^[15-16]。偶极矩与分子极性和分配系数 Log P 有关, 可以调整化合物的溶解性, 一般来说偶极矩值增大可适当降低脂溶性。因此, 本实验对先导物 8 的吡唑基团进行替换, 引入 R_1 取代 1,2,3-三氮唑环, 希望在保持活性的同时适当降低其脂溶性; 在确定 R_1 基团后, 进一步用 1,3,4-

噁二唑代替 1,2,4-噁二唑, 考察环上 N、O 原子位置的改变对 HIF-1 转录活性的影响, 同时对三氟甲氧基苯进行改造, 分别替换为呋喃、噻吩, 寻找最佳活性片段; 最后, 采用水溶性胺烷基片段代替 4-氯苄基, 进一步降低分子的脂溶性, 改善目标分子的类药性。通过结构优化, 共设计、合成 17 个 3-芳基-5-三氮唑基-噁二唑类目标分子(10a~10q)(图 2), 并开展体外 HIF-1 抑制活性测试。

1 化学合成

1.1 合成路线

1.1.1 目标分子 10a~10j 的合成 芳香氰化合物与羟胺缩合制得 N -羟基甲脒中间体 12a~h; 对氯苄氯与叠氮化钠反应得到中间体 14, 然后与丙炔酸甲酯发生[3+2]环加成制得中间体 15, 随后经碱性水解得到羧酸中间体 16, 后者与 12a 缩合得到目标分子 10a; 中间体 14 在苯硼酸催化下分别与 2-丁炔酸、2-戊炔酸反应制得 17a~b^[17], 经二氯亚砷氯代后与中间体 12a~h 缩合得到目标分子 10b~10j。合成路线见图 3。

1.1.2 目标分子 10k~10q 的合成 以中间体 17a 为原料, 经酯化、肼解得到酰肼中间体 19, 后者与相应的取代羧酸缩合制得目标分子 10k~10n^[18]; 化合物 10n 经钨催化脱苄基得到中间体 20, 经 1,3-溴氯丙烷烷基化得到中间体 21, 最后分别与吗啉、 N -甲基哌嗪、4-羟基哌嗪反应制得目标分子 10o~10q。合成路线见图 4。

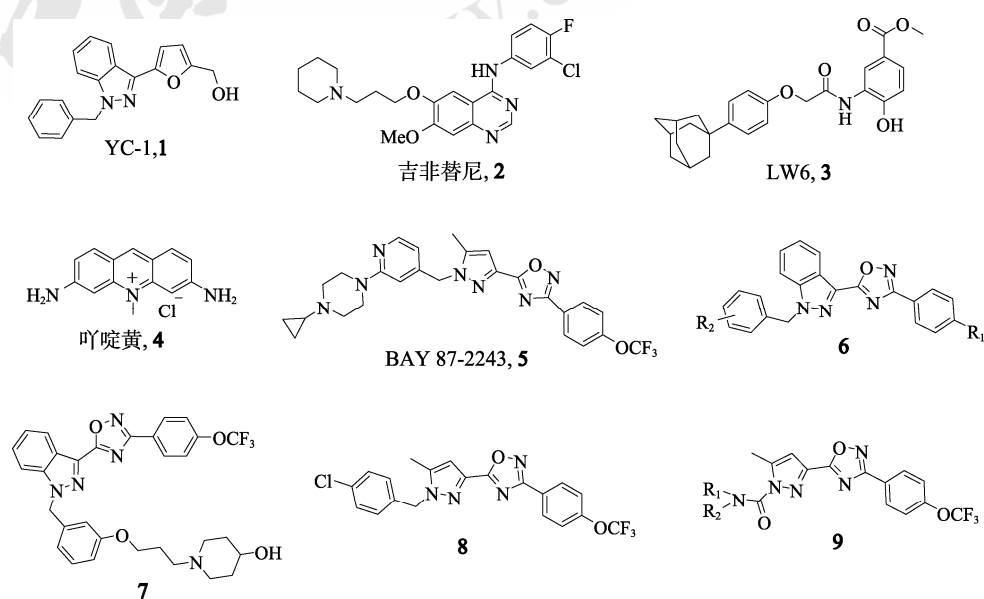


图 1 HIF-1 抑制剂的结构

Fig. 1 Structures of HIF-1 inhibitors

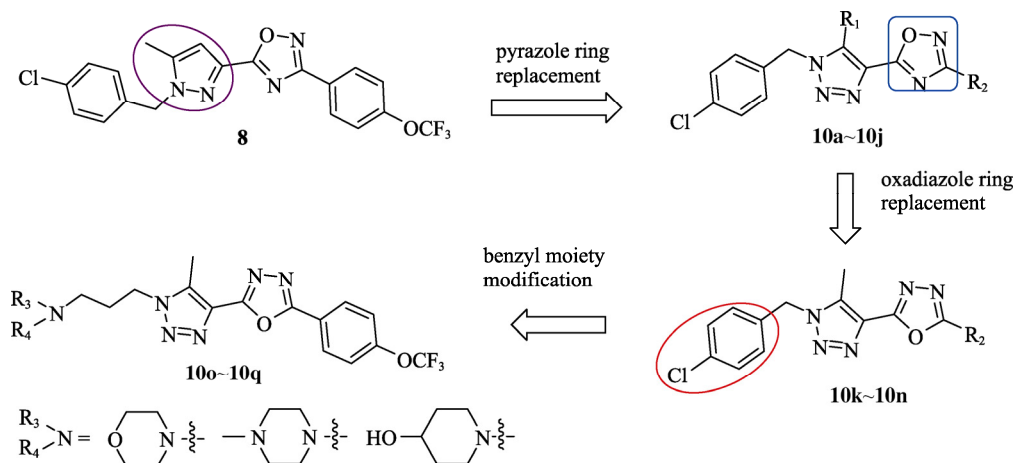


图2 目标化合物设计思路
Fig. 2 Design of target compounds

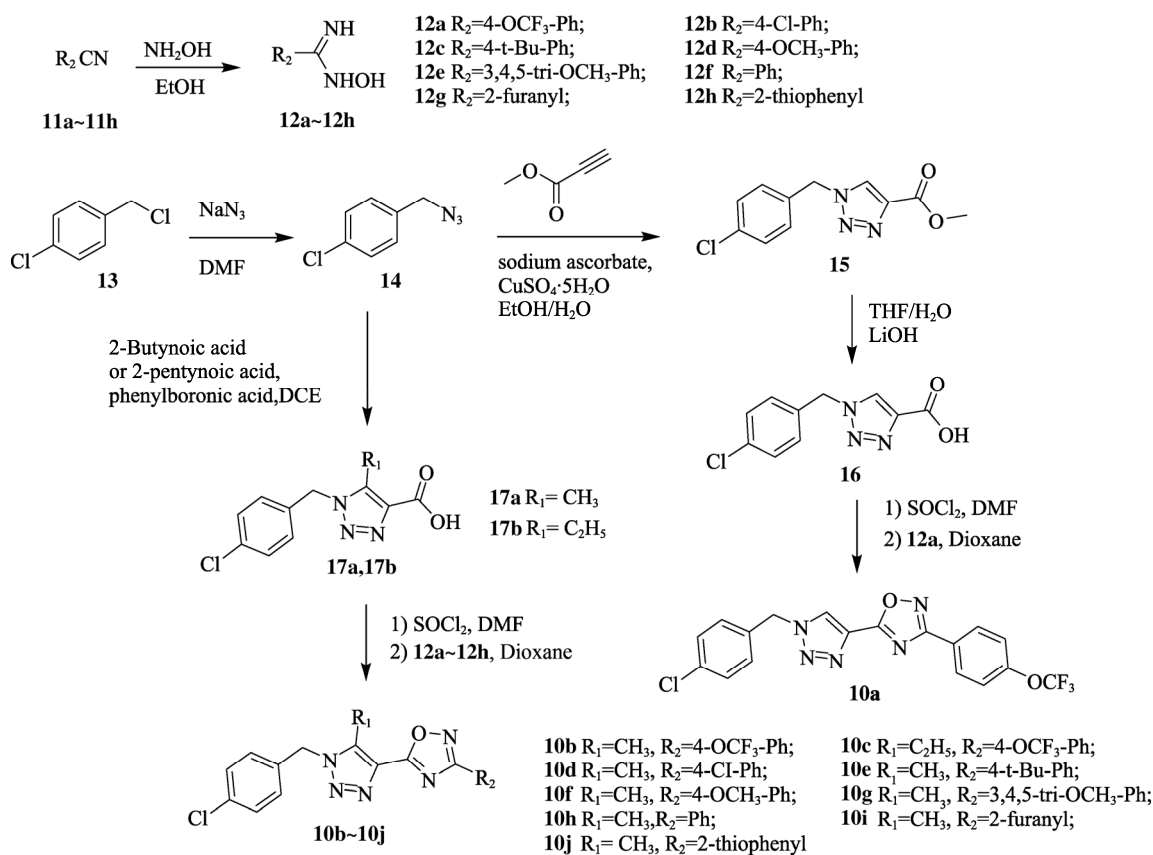


图3 目标化合物 10a-10j 的合成路线
Fig. 3 Synthetic route of compounds 10a-10j

1.2 仪器与材料

Bruker AVIII 500 NMR 型超导核磁共振仪(德国 Bruker); Esquire-LC-00075 液质联用仪(德国 Bruker); Agilent 6224 TOF LC/MS 液质联用仪(美国 Agilent); B-540 型熔点仪(瑞士 Buchi); Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent), 色谱柱: COSMOSIL Packed Column 5C₁₈-MS-II(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长

254 nm, 柱温 25 °C。实验所用试剂和溶剂均为市售并直接使用。

1.3 合成方法

1.3.1 4-三氟甲氧基-N-羟基苯甲脒(12a)的合成 150 mL 圆底烧瓶中加入 4-三氟甲氧基苯甲脒 4.0 g(21 mmol), 乙醇 100 mL, 羟胺水溶液(50%) 20 mL, 升温回流 2 小时后冷却至室温, 减压回收溶剂, 得到白色固体 4.48 g, 产率 97%; 熔点:

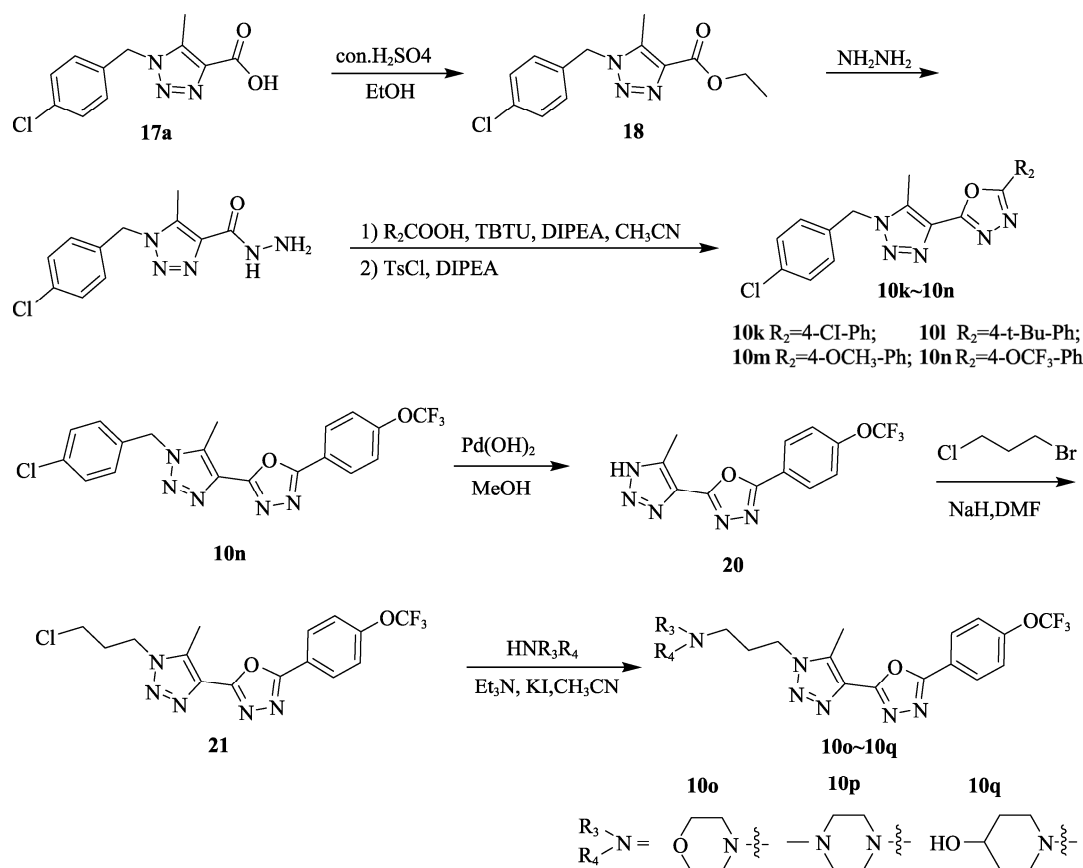


图4 目标化合物 10k~10q 的合成路线

Fig. 4 Synthetic route of compounds 10k~10q

107.3~108.8 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9.76(s, 1H), 7.79(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.38(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.90(s, 2H); ESI-MS: $m/z=221$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.2 4-氯-N-羟基苯甲脒(12b)的合成 方法同 12a, 由 4-氯苯甲脒代替 4-三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 2.89 g, 产率 81%; 熔点: 133~134 °C (文献值 134~135 °C^[19]); ESI-MS: $m/z=171$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.3 4-叔丁基-N-羟基苯甲脒(12c)的合成 方法同 12a, 由 4-叔丁基苯甲脒代替 4-三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 2.94 g, 产率 73%; 熔点: 147~149 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.57(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.43(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 4.90(brs, 2H), 1.33(s, 9H); ESI-MS: $m/z=193$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.4 4-甲氧基-N-羟基苯甲脒(12d)的合成 方法同 12a, 由 4-甲氧基苯甲脒代替 4-三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 2.27 g, 产率 65%; 熔点: 119~120 °C (文献值 121 °C^[20]); ESI-MS: $m/z=167$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.5 3,4,5-三甲氧基-N-羟基苯甲脒(12e)的合成 方法同 12a, 由 3,4,5-三甲氧基苯甲脒代替 4-

三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 3.97 g, 产率 84%; 熔点: 155~157 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9.56(s, 1H), 6.99(s, 2H), 5.82(s, 2H), 3.80(s, 6H), 3.67(s, 3H); ESI-MS: $m/z=227$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.6 N-羟基苯甲脒(12f)的合成 方法同 12a, 由苯甲脒代替 4-三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 2.08 g, 产率 73%; 熔点: 73~75 °C (文献值 80 °C^[19]); ESI-MS: $m/z=137$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.7 N-羟基呋喃-2-甲脒(12g)的合成 方法同 12a, 由 2-氰基呋喃代替 4-三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 1.16 g, 产率 44%; 熔点: 52~53 °C (文献值 57 °C^[20]); ESI-MS: $m/z=127$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.8 N-羟基噻吩-2-甲脒(12h)的合成 方法同 12a, 由 2-氰基噻吩代替 4-三氟甲氧基苯甲脒, 得到白色固体 2.18 g, 产率 73%; 熔点: 88~90 °C (文献值 90 °C^[19]); ESI-MS: $m/z=143$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1.3.9 1-叠氮甲基-4-氯苯(14)的合成 圆底烧瓶中加入 4-氯甲基氯苯 7.4 g(46 mmol), 叠氮化钠 15 g(230 mmol), DMF 30 mL。室温反应 4 h 后加入水(30 mL), 乙酸乙酯萃取(30 mL×3), 合并有机

层,依次用水、饱和 NaCl 洗涤,无水 Na₂SO₄干燥,减压回收溶剂,得到无色油状物 7.07 g,产率 92%;ESI-MS: $m/z=168$ [M+H]⁺。粗产物未经进一步纯化投入下一步。

1.3.10 1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4 甲酸甲酯(**15**)的合成 圆底烧瓶中加入中间体 **14** 3.17 g (19 mmol),丙炔酸甲酯 2 mL(22 mmol),乙醇 8 mL,N₂保护下室温搅拌。称取抗坏血酸钠 372 mg (1.9 mmol)和 CuSO₄·5H₂O 47 mg(0.19 mmol),溶解于 4 mL 水中,混匀后加入圆底瓶中,升温至 40~50 °C 反应 3 h。冷却至室温,减压回收溶剂,残留物用二氯甲烷萃取(20 mL×3),合并有机层,饱和 NaCl 洗涤,有机层经无水 Na₂SO₄干燥后减压浓缩,粗品用乙酸乙酯重结晶得到白色固体 3.96 g,产率 83%;¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 7.98(s, 1H), 7.38(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.24(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.55(s, 2H), 3.93(s, 3H); ESI-MS: $m/z=252$ [M+H]⁺。

1.3.11 1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4 甲酸(**16**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **15** 1.46 g (7.1 mmol),四氢呋喃 10 mL,水 5 mL,氢氧化锂 450 mg(10 mmol),室温条件下反应半小时,减压除去有机溶剂,加入 1 mol·L⁻¹ HCl 调节 pH 至 2.0,析出白色固体,抽滤,冰水洗涤,减压干燥得到白色固体 1.35 g,产率 80%;ESI-MS: $m/z=236$ [H]⁻。粗产物未经进一步纯化投入下一步。

1.3.12 5-(1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(4-三氟甲氧基苯基)-1,2,4-噁二唑(**10a**)的合成 圆底烧瓶中加入中间体 **16** 200 mg (0.84 mmol),二氯亚砷 0.5 mL 和 DMF 0.5 mL,回流反应 2 h,冷却后减压除去二氯亚砷,加入 *N*-羟基-4-三氟甲氧基苯甲脒 **12a** 190 mg(0.84 mmol)和二氧六环 5 mL,升温至回流反应 1.5 h。冷却至室温,减压回收溶剂,残留物用二氯甲烷萃取,合并有机层,依次用水、饱和 NaCl 洗涤,无水 Na₂SO₄干燥,减压蒸除溶剂后,粗产物经硅胶柱层析纯化,得白色固体 120 mg,产率 34%;熔点: 161~162 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.21(d, $J=9.0$ Hz, 2H), 8.20(s, 1H), 7.42(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.35(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.31(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.65(s, 2H); HRMS-ESI: m/z C₁₈H₁₂ClF₃N₅O₂[M+H]⁺ 理论计算值 422.062 6, 实测值 422.062 8; HPLC: $t_R=7.425$ min, 99.0%。

1.3.13 5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4 甲酸(**17a**)的合成 圆底烧瓶中加入 2-丁炔酸 914 mg(10.8 mmol),苯硼酸 260 mg(2.2 mmol),1,2-二氯乙烷 50 mL,室温下搅拌半小时,然后加入中间体 **14** 2 g (12 mmol),回流反应 20 h。冷却至室温,析出白色固体,抽滤,粗产物经硅胶柱层析纯化,得到白色固体 1.03 g,产率 38%; ¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13.02(s, 1H), 7.44(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.24(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.63(s, 2H), 2.44(s, 3H); ESI-MS: $m/z=50$ [M-H]⁻。

1.3.14 5-乙基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4 甲酸(**17b**)的合成 方法同 **17a**,由 2-戊炔酸代替 2-丁炔酸,得到白色固体 1.02 g,产率 32%; ¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13.07(s, 1H), 7.39(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.18(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.62(s, 2H), 2.86(q, 2H), 1.06(t, $J=7.5$ Hz, 3H); ESI-MS: $m/z=264$ [M-H]⁻。

1.3.15 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(4-三氟甲氧基苯基)-1,2,4-噁二唑(**10b**)的合成 方法同 **10a**,由中间体 **17a**代替中间体 **16**,得到白色固体 139 mg,产率 38%;熔点: 164~166 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.23(d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.37(s, 1H), 7.35(s, 2H), 7.33(s, 1H), 7.19(d, $J=8.0$ Hz, 2H), 5.59(s, 2H), 2.63(s, 3H); HRMS-ESI m/z C₁₉H₁₄ClF₃N₅O₂[M+H]⁺理论计算值 436.078 3, 实测值 436.078 6; HPLC: $t_R=7.686$ min, 97.5%。

1.3.16 5-(5-乙基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(4-三氟甲氧基苯基)-1,2,4-噁二唑(**10c**)的合成 方法同 **10a**,由中间体 **17b**代替中间体 **16**,得到白色固体 143 mg,产率 38%;熔点: 109~111 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.23(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.37(m, 4H), 7.20(d, $J=8.5$ Hz, 2H), 5.60(s, 2H), 3.10(q, 3H), 1.15(t, $J=7.5$ Hz, 3H); HRMS-ESI m/z C₂₀H₁₆ClF₃N₅O₂[M+H]⁺理论计算值 450.093 9, 实测值 450.094 5; HPLC: $t_R=7.976$ min, 99.5%。

1.3.17 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(4-氯苯基)-1,2,4-噁二唑(**10d**)的合成 方法同 **10b**,由 4-氯-*N*-羟基苯甲脒 **12b**代替 **12a**,得到白色固体 133 mg,产率 41%;熔点: 197~199 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.12(d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.48(d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.37(d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.18(d, $J=7.5$ Hz, 2H), 5.59(s, 2H), 2.63(s,

3H); HRMS-ESI m/z $C_{18}H_{14}Cl_2N_5O[M+H]^+$ 理论计算值 386.057 0, 实测值 386.057 2; HPLC: t_R =7.983 min, 96.8%。

1.3.18 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(4-叔丁基苯基)-1,2,4-噁二唑(**10e**)的合成方法同 **10b**, 由 4-叔丁基-*N*-羟基苯甲脒 **12c** 代替 **12a**, 得到白色固体 113 mg, 产率 33%; 熔点: 143~145 °C; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.11(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.52(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.36(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.18(d, J =8.5 Hz, 2H), 5.58(s, 2H), 2.63(s, 3H), 1.36(s, 9H); HRMS-ESI m/z $C_{22}H_{23}ClN_5O[M+H]^+$ 理论计算值 408.158 6, 实测值 408.158 8; HPLC: t_R =8.715 min, 98.3%。

1.3.19 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(4-甲氧基苯基)-1,2,4-噁二唑(**10f**)的合成方法同 **10b**, 由 4-甲氧基-*N*-羟基苯甲脒 **12d** 代替 **12a**, 得到白色固体 93 mg, 产率 29%; 熔点: 130~132 °C; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.12(d, J =9.0 Hz, 2H), 7.36(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.18(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.01(d, J =9.0 Hz, 2H), 5.58(s, 2H), 3.88(s, 3H), 2.63(s, 3H); HRMS-ESI m/z $C_{19}H_{17}ClN_5O_2[M+H]^+$ 理论计算值 382.106 5, 实测值 382.106 7; HPLC: t_R =7.280 min, 96.9%。

1.3.20 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1,2,4-噁二唑(**10g**)的合成方法同 **10b**, 由 3,4,5-三甲氧基-*N*-羟基苯甲脒 **12e** 代替 **12a**, 得到白色固体 96 mg, 产率 26%; 熔点: 119~120 °C; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.42(s, 2H), 7.37(d, J =8.0 Hz, 2H), 7.18(d, J =8.0 Hz, 2H), 5.59(s, 2H), 3.95(s, 6H), 3.91(s, 3H), 2.63(s, 3H); HRMS-ESI m/z $C_{21}H_{21}ClN_5O_4[M+H]^+$ 理论计算值 442.127 7, 实测值 442.127 7; HPLC: t_R =6.994 min, 99.8%。

1.3.21 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-苯基-1,2,4-噁二唑(**10h**)的合成方法同 **10b**, 由 *N*-羟基苯甲脒 **12f** 代替 **12a**, 得到白色固体 103 mg, 产率 35%; 熔点: 176~178 °C; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.18(dd, J_1 =7.5 Hz, J_2 =1.5 Hz, 2H), 7.51(d, J =7.5 Hz, 2H), 7.36(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.18(d, J =8.5 Hz, 2H), 5.58(s, 2H), 2.64(s, 3H); HRMS-ESI m/z $C_{18}H_{15}ClN_5O[M+H]^+$ 理论计算值 352.096 0, 实测值 352.096 1; HPLC: t_R =7.307 min, 97.2%。

1.3.22 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(2-呋喃)-1,2,4-噁二唑(**10i**)的合成方法同 **10b**, 由 *N*-羟基-2-呋喃甲脒 **12g** 代替 **12a**, 得到白色固体 72 mg, 产率 25%; 熔点: 176~179 °C; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.63(s, 1H), 7.36(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.23(d, J =3.0 Hz, 1H), 7.17(d, J =8.5 Hz, 2H), 6.59(q, 1H), 5.58(s, 2H), 2.61(s, 3H); HRMS-ESI m/z $C_{16}H_{13}ClN_5O_2[M+H]^+$ 理论计算值 342.075 2, 实测值 342.075 5; HPLC: t_R =6.693 min, 99.4%。

1.3.23 5-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-3-(2-噻吩基)-1,2,4-噁二唑(**10j**)的合成方法同 **10b**, 由 *N*-羟基-2-噻吩甲脒 **12h** 代替 **12a**, 得到白色固体 93 mg, 产率 31%; 熔点: 184~185 °C; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.89(dd, J_1 =4.0 Hz, J_2 =1.5 Hz, 1H), 7.53(dd, J_1 =5.0 Hz, J_2 =1.0 Hz, 1H), 7.36(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.18(m, 3H), 5.58(s, 2H), 2.62(s, 3H); HRMS-ESI m/z $C_{16}H_{13}ClN_5OS[M+H]^+$ 理论计算值 358.052 4, 实测值 358.052 7; HPLC: t_R =7.022 min, 95.6%。

1.3.24 5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-甲酸乙酯(**18**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **17a** 300 mg(1.2 mmol), 乙醇 10 mL, 滴加浓硫酸 0.5 mL, 回流反应过夜。冷却至室温, 减压回收溶剂, 残留物用二氯甲烷萃取(15 mL×3), 合并有机层, 依次用水、饱和 NaCl 溶液洗涤, 无水 $NaSO_4$ 干燥, 浓缩得到白色固体 320 mg, 产率 96%; 1H -NMR(500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.33(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.11(d, J =8.5 Hz, 2H), 5.50(s, 2H), 4.42(q, 2H), 2.45(s, 3H), 1.43(t, J =6.0 Hz, 3H); ESI-MS: m/z =280[$M+H$] $^+$ 。

1.3.25 5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-甲酰肼(**19**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **18** 150 mg(0.54 mmol), 85%水合肼 3 mL, 回流反应 2 h。冷却至室温, 白色固体析出, 抽滤, 水洗, 干燥得到白色固体 120 mg, 产率 84%; 1H -NMR(500 MHz, $DMSO-d_6$): δ 9.59(s, 1H), 7.44(d, J =8.5 Hz, 2H), 7.22(d, J =8.5 Hz, 2H), 5.62(s, 2H), 4.40(s, 2H), 2.44(s, 3H); ESI-MS: m/z =266[$M+H$] $^+$ 。

1.3.26 2-(5-甲基-1-(4-氯苯甲基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-氯苯基)-1,3,4-噁二唑(**10k**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **19** 100 mg(0.38 mmol), 对氯苯

甲酸 60 mg(0.38 mmol), DIPEA 0.2 mL (1.14 mmol), *O*-苯并三氮唑-*N,N,N',N'*-四甲基脲四氟硼酸 (TBTU) 133 mg(0.414 mmol), 无水乙腈 5 mL, 室温下反应 1 h, 然后加入 DIPEA 0.14 mL (0.76 mmol), 对甲苯磺酰氯 217 mg(1.14 mmol), 继续室温反应 5 h。减压回收溶剂, 残留物用二氯甲烷萃取, 合并有机层, 依次用水、饱和 NaCl 溶液洗涤, 无水 NaSO₄ 干燥, 减压蒸干溶剂, 粗产物经硅胶柱层析纯化, 得到白色固体 60 mg, 产率 41%; 熔点: 183~184 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.13(d, *J*=9.0 Hz, 2H), 7.52(d, *J*=9.0 Hz, 2H), 7.36(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.18(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 5.57(s, 2H), 2.62(s, 3H); HRMS-ESI *m/z* C₁₈H₁₄Cl₂N₅O[M+H]⁺ 理论计算值 386.057 0, 实测值 386.057 4; HPLC: *t_R*=7.395 min, 99.3%。

1.3.27 2-(5-甲基-1-(4-氯苯基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-叔丁基苯基)-1,3,4-噁二唑(**10l**)的合成 方法同 **10k**, 由 4-叔丁基苯甲酸代替对氯苯甲酸, 得到白色固体 105 mg, 产率 68%; 熔点: 141~143 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.12(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.55(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.36(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.18(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 5.57(s, 2H), 2.62(s, 3H), 1.36(s, 9H); HRMS-ESI *m/z* C₂₂H₂₃ClN₅O[M+H]⁺ 理论计算值 408.158 6, 实测值 408.159 2; HPLC: *t_R*=7.973 min, 96.6%。

1.3.28 2-(5-甲基-1-(4-氯苯基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**10m**)的合成 方法同 **10k**, 由 4-甲氧基苯甲酸代替对氯苯甲酸, 得到白色固体 75 mg, 产率 52%; 熔点: 192~194 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.13(d, *J*=9.0 Hz, 2H), 7.36(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.18(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.04(d, *J*=9.0 Hz, 2H), 5.57(s, 2H), 3.89(s, 3H), 2.62(s, 3H); HRMS-ESI *m/z* C₁₉H₁₇ClN₅O₂[M+H]⁺ 理论计算值 382.106 5, 实测值 382.106 9; HPLC: *t_R*=6.961 min, 95.1%。

1.3.29 2-(5-甲基-1-(4-氯苯基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-三氟甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**10n**)的合成 方法同 **10k**, 由 4-三氟甲氧基苯甲酸代替对氯苯甲酸, 产率 53%; 熔点: 158~161 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.25(d, *J*=9.0 Hz, 2H), 7.38(t, *J*=9.0 Hz, 4H), 7.18(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.04(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 5.58(s, 2H), 2.63(s, 3H); HRMS-ESI *m/z* C₁₉H₁₄ClF₃N₅O₂[M+H]⁺理论

计算值 436.078 3, 实测值 436.079 1; HPLC: *t_R*=7.267 min, 98.5%。

1.3.30 2-(5-甲基-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-三氟甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**20**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **10n** 200 mg(0.46 mmol), 甲醇 10 mL, 氢氧化钡 30 mg(0.22 mmol), 体系在氢气保护下回流反应 4 h。冷却至室温, 抽滤除去固体, 减压旋干滤液, 残留物用乙酸乙酯萃取(15 mL×3), 合并有机层, 依次用水、饱和 NaCl 溶液洗涤, 无水 NaSO₄ 干燥, 浓缩后得到的粗产物经硅胶柱层析纯化, 得到白色固体 160 mg, 产率 92%; ¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.22(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.65(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 2.62(s, 3H); ESI-MS: *m/z*=312[M+H]⁺。

1.3.31 2-(5-甲基-1-(3-氯烷基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-三氟甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**21**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **20** 1.0 g(3.2 mmol), 无水二氯甲烷 35 mL, NaH 385 mg(16 mmol), 冰浴条件下搅拌 0.5 h, 加入 1,3-溴氯丙烷 380 mg(2.4 mmol), 室温下反应 5 h。减压回收溶剂, 残留物用乙酸乙酯萃取, 合并有机层, 依次用水、饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 浓缩, 粗产物经硅胶柱层析纯化, 得到白色固体 297 mg, 产率 32%; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.25(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.38(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 4.56(t, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.60(t, *J*=5.5 Hz, 2H), 2.78(s, 3H), 2.50(m, 2H); ESI-MS: *m/z*=388[M+H]⁺。

1.3.32 2-(5-甲基-1-(3-吗啉基丙基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-三氟甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**10o**)的合成 圆底烧瓶中加入化合物 **21** 35 mg (0.09 mmol), 吗啉 2 μL(0.36 mmol), 三乙胺 70 μL (0.45 mmol), 催化量碘化钾, 无水乙腈 5 mL, 回流反应过夜。冷却至室温, 减压旋干溶剂, 残留物用二氯甲烷萃取(15 mL×3), 合并有机层, 依次用水、饱和 NaCl 溶液洗涤, 无水 NaSO₄ 干燥, 浓缩, 粗产物经硅胶柱层析纯化, 得到白色固体 32 mg, 产率 81%; 熔点: 139~141 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.23(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.37(d, *J*=8.0 Hz, 2H), 4.44(t, *J*=7.0 Hz, 2H), 3.70(t, *J*=4.5 Hz, 4H), 2.76(s, 3H), 2.48-2.36(m, 6H), 2.07(t, *J*=3.0 Hz, 2H); HRMS-ESI *m/z* C₁₉H₂₂F₃N₆O₃ [M+H]⁺ 理论计算值 439.170 0, 实测值 439.186 8; HPLC: *t_R*=6.599 min, 96.9%。

1.3.33 2-(5-甲基-1-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-三氟甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**10p**)的合成 方法同 **10o**, 由 *N*-甲基哌嗪代替吗啉, 得到白色固体 37 mg, 产率 91%; 熔点: 94~97 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.22 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.38 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 4.55 (t, *J*=7.0 Hz, 2H), 2.96 (bs, 4H), 2.68 (s, 4H), 2.56 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.34 (t, *J*=7.0 Hz, 2H), 2.16 (m, 2H); HRMS-ESI *m/z* C₂₀H₂₅F₃N₇O₂[M+H]⁺ 理论计算值 452.201 6, 实测值 452.213 1; HPLC: *t*_R=6.204 min, 98.5%。

1.3.34 2-(5-甲基-1-(3-(4-羟基哌啶-1-基)丙基)-1*H*-1,2,3-三氮唑-4-基)-5-(4-三氟甲氧基苯基)-1,3,4-噁二唑(**10q**)的合成 方法同 **10o**, 由 4-羟基哌啶代替吗啉, 得到白色固体 38 mg, 产率 93%; 熔点: 174~176 °C; ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃): δ 8.26(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.40(d, *J*=8.5 Hz, 2H), 4.52 (t, *J*=3.5 Hz, 2H), 3.78(s, 1H), 3.31-3.05(m, 4H), 2.93~2.80(m, 2H), 2.95~2.78(m, 1H), 2.61(s, 3H), 2.56~2.41(m, 2H), 2.21~2.10(m, 2H), 1.93~1.76(m, 2H); HRMS-ESI *m/z* C₂₀H₂₄F₃N₆O₃[M+H]⁺ 理论计算值 453.185 6, 实测值 453.195 0; HPLC: *t*_R=5.633 min, 97.7%。

2 生物活性

2.1 荧光素酶报告基因试验

稳定转染 HRE-luciferase 质粒的 HCT116 细胞接种于 96 孔板, 每孔 6 000 个细胞, 加入不含血清的完全培养基, 放在含 5%CO₂ 和 20%O₂ 的常氧培养箱中培养过夜。待细胞贴壁后, 加入梯度浓度的受试化合物在常氧培养箱中继续培养 1 h, 转至含 5%CO₂ 和 1%O₂ 的低氧培养箱中培养 1 d, 采用 HIF-luciferase 法测定药物抑制细胞增殖能力。酶标仪检测各孔 Luc 值; 记录结果; 按下列公式计算抑制率及相应的 IC₅₀ 值: 抑制率(%)=(对照组数值-实验组数值)/对照组数值×100%。

2.2 划痕试验

将对数生长期的 SKOV3 细胞消化后, 吹打成单细胞悬液, 接种于 24 孔培养, 每孔 2×10⁵ 个细胞, 每孔加入含 10%血清的完全培养基, 放在含 5%CO₂ 和 20%O₂ 的常氧培养箱中培养过夜。待细胞贴壁后, 弃去培养基, 每孔加入含 0%血清的完全培养基, 放在常氧培养箱中培养过夜。每孔细胞均进行划痕处理, 弃去培养基, 每孔加入含 3%血

清的完全培养基, 分别加入 10 μmol·L⁻¹ 和 30 μmol·L⁻¹ 受试化合物, 放在常氧培养箱中培养 1 h, 再放入含 5%CO₂ 和 1%O₂ 的培养箱中培养 16 h, 评价候选化合物对细胞迁移能力的抑制作用。

2.3 免疫蛋白印迹试验

采用人结肠癌细胞株 HCT116, 将对数生长期的细胞消化后, 吹打成单细胞悬液, 接种于 6 孔培养板; 每孔 3×10⁵ 个细胞。每孔加入含 10%血清的完全培养基, 放在常氧培养箱中培养过夜。待细胞贴壁后, 加入 10 μmol·L⁻¹ 浓度的受试化合物, 并转至含 5%CO₂ 和 1%O₂ 的低氧培养箱中 24 h, 收集细胞。采用 Western blotting 测定化合物对细胞内 HIF-1α 蛋白的影响。

3 结果与讨论

3.1 HIF-1 抑制活性研究

通过构建稳转 HRE-luciferase 质粒的 HCT116-HRE 细胞模型, 采用荧光素酶报告基因实验评价化合物对 HCT116 细胞内 HIF-1 转录抑制活性的影响, 结果见图 5。

由图 5 可知, 1,2,3-三氮唑环上 5-位的取代基对活性有明显影响。当 5 位为甲基时, 化合物 **10b** 的 HIF-1 转录抑制活性最优, IC₅₀=4.83 μmol·L⁻¹, 而 5 位未取代或乙基取代的化合物 **10a**、**10c** 活性明显下降。而且, 上述分子与先导物 **8** 相比, 其 cLogP 值有所下降(4.48~4.98 vs 5.50), 有利于成药性的提升。

在保留 5-甲基-1,2,3-三氮唑的基础上, 进一步对噁二唑环及 R₂ 部分进行结构修饰和优化。结果表明, 1,3,4-噁二唑环衍生物活性优于 1,2,4-噁二唑环衍生物, 如 **10k**(IC₅₀=1.12 μmol·L⁻¹) 优于 **10d**(IC₅₀=9.69 μmol·L⁻¹), **10m**(IC₅₀=3.06 μmol·L⁻¹) 优于 **10f**(IC₅₀=8.12 μmol·L⁻¹), **10n**(IC₅₀=0.59 μmol·L⁻¹) 优于 **10b**(IC₅₀=4.83 μmol·L⁻¹)。另一方面, R₂ 部分的改变对活性影响明显, 4-三氟甲氧基苯基为最优基团, 当苯环取代基改变或者替换为五元杂环时, 化合物的 HIF-1 抑制活性明显下降。化合物 **10n** 的 HIF-1 抑制活性最强, IC₅₀ 为 0.59 μmol·L⁻¹, 在此基础上, 为进一步改善理化性质, 降低目标分子的 cLogP 值, 采用丙基为连接链, 并且在末端引入水溶性胺烷基, 设计合成了化合物 **10o~10q**, 其 HIF-1 抑制活性结果见图 6。

结果表明, 含有吗啉、*N*-甲基哌嗪、4-羟基哌啶等水溶性基团的目标分子仍然显示出较强的

HIF-1 转录抑制活性($IC_{50}=1.31\sim 1.68\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),说明末端胺基改变对于活性影响不明显,而其 $c\text{Log}P$ 值下降至 2.22~2.57,值得进一步研究。

3.2 划痕试验

侵袭和转移是恶性肿瘤最主要的生物学特征,HIF-1 可调控与细胞侵袭、转移相关的转化生长因子- α 和基质金属蛋白酶 2 等。因此,抑制 HIF-1 的转录活性,能有效抑制肿瘤细胞的迁移。选取

化合物 **10n** 开展划痕试验,考察其对肿瘤细胞 SKOV-3 侵袭转移能力的影响。

化合物 **10n** 在 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下与 SKOV3 肿瘤细胞共同孵育 16 h 后,其抗 SKOV3 细胞迁移效果见图 7。对照组培养 16 h 后,划痕损伤几乎被迁移细胞完全覆盖,说明模型正常;先导物 **8** 在 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可有效抑制划痕区细胞迁移,而化合物 **10n** 在 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时即可明

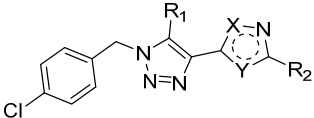
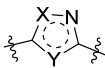
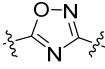
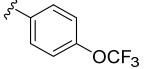
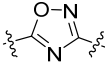
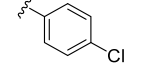
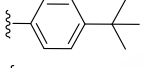
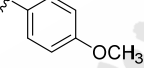
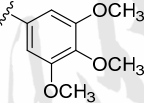
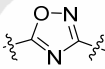
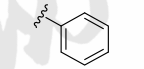
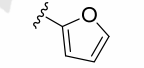
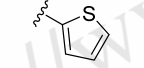
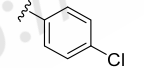
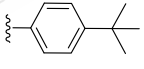
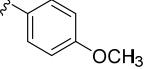
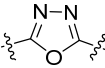
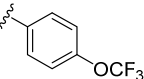
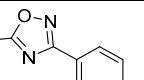
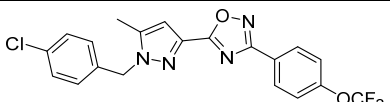
					
编号	R ₁	R ₂		HRE-Luc ^a $IC_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$c\text{Log}P^b$
10a	H			>10	4.48
10b	Me			4.83	4.80
10c	Et			9.37	4.98
10d	Me			9.69	4.86
10e	Me			>10	5.52
10f	Me			8.12	4.33
10g	Me			>10	3.29
10h	Me			>10	4.28
10i	Me			>10	3.30
10j	Me			>10	3.88
10k	Me			1.12	4.57
10l	Me			7.78	5.20
10m	Me			3.06	3.84
10n	Me			0.59	3.65
8				2.44	5.50

图 5 化合物 **10a~10n** 的 HIF-1 抑制活性

^a IC_{50} 值为 3 次实验的平均值; ^b由 ACD ADME Suite 5.0(ACD/Labs, Toronto, Canada)计算得到。

Fig. 5 HIF-1 inhibitory activity of compounds **10a~10n**

^aThe data are the mean values of three independent experiments; ^bcalculated by ACD ADME Suite 5.0 (ACD / Labs, Toronto, Canada).

编号	R ₃	HRE-Luc ^a IC ₅₀ / μmol·L ⁻¹	cLogP ^b
10o		1.42	2.57
10p		1.68	2.35
10q		1.31	2.22
10n	—	0.59	3.65

图6 化合物 10o~10q 的 HIF-1 抑制活性

^aIC₅₀ 值为 3 次实验的平均值; ^b由 ACD ADME Suite 5.0 (ACD/Labs, Toronto, Canada) 计算得到。

Fig. 6 HIF-1 inhibitory activity of compounds 10o~10q

^aThe data are the mean values of three independent experiments; ^bcalculated by ACD ADME Suite 5.0 (ACD / Labs, Toronto, Canada).

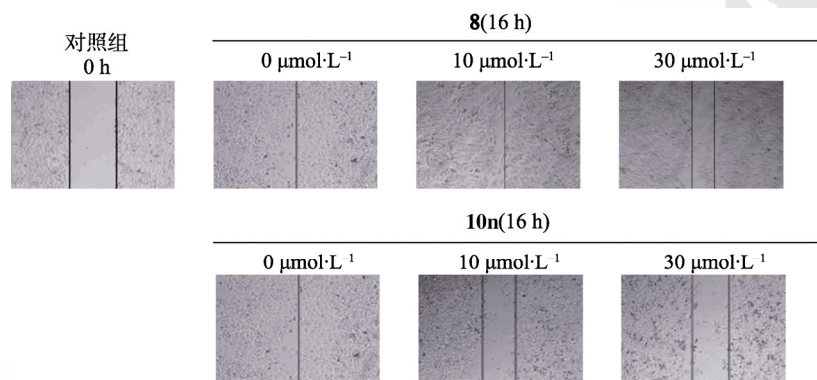


图7 化合物 10n 对 SKOV3 肿瘤细胞侵袭转移的影响

Fig. 7 Effect of compound 10n on SKOV3 cells invasion and metastasis

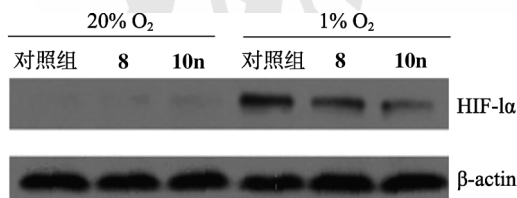


图8 化合物 10n(10 μmol·L⁻¹)对 HCT116 细胞内 HIF-1α 蛋白的影响

Fig. 8 Effect of compound 10n(10 μmol·L⁻¹) on HIF-1α in HCT116 cells

4 结论

本研究以吡唑-噁二唑衍生物 **8** 为先导, 设计、合成了一系列 3-芳基-5 三氮唑基-噁二唑类衍生物, 并进行构效关系讨论, 体外活性测试表明, 大部分化合物表现出明显的 HIF-1 转录抑制活性。其中, 化合物 **10n** 的 IC₅₀ 值为 0.59 μmol·L⁻¹, 优于先导物(IC₅₀=2.44 μmol·L⁻¹), 进一步的划痕试验证明, 化合物 **10n** 能够有效抑制人卵巢癌

显抑制划痕区肿瘤细胞的覆盖, 说明化合物 **10n** 对 SKOV3 肿瘤细胞的迁移有较高的抑制作用, 且优于先导物 **8**。

3.3 化合物 10n 对 HIF-1α 的抑制作用评价

HIF-1α 是 HIF-1 的功能亚基, 前期研究表明吡唑-1,2,4-噁二唑类衍生物能够抑制 HIF-1α 蛋白的生成^[12], 因此进一步测定化合物 **10n** 对 HIF-1α 的影响, 探究其作用机制。

低氧对照组(1%O₂)HCT116 细胞内 HIF-1α 蛋白水平比常氧对照组(20%O₂)显著增加。先导化合物 **8** 对 HIF-1α 蛋白有一定的下调作用, 化合物 **10n** 对 HIF-1α 蛋白下调作用优于化合物 **8**, 与上述的 HIF-1 抑制试验及划痕试验结果一致。结果见图 8。

SKOV3 细胞的侵袭和迁移; Western blotting 研究表明, 其通过下调 HIF-1α 蛋白发挥抑制作用, 为后续 HIF-1 抑制剂的研发提供一定的实验基础。

REFERENCES

- [1] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation[J]. Science, 2009, 324(5930): 1029-1033.
- [2] KEITH B, JOHNSON R S, SIMON M C. HIF1α and HIF2α: Sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(1): 9-22.
- [3] SCHÖNING J P, MONTEIRO M, GU W Y. Drug resistance and cancer stem cells: The shared but distinct roles of hypoxia-inducible factors HIF 1α and HIF 2α[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44(2): 153-161.
- [4] MASOUD G N, LI W. HIF-1α pathway: Role, regulation and intervention for cancer therapy[J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(5): 378-389.
- [5] LOCATELLI F, FISHBANE S, BLOCK G A, et al. Targeting hypoxia-inducible factors for the treatment of Anemia in

- chronic kidney disease patients[J]. *Am J Nephrol*, 2017, 45(3): 187-199.
- [6] SINGH D, ARORA R, KAUR P, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor and metabolic pathways: Possible targets of cancer[J]. *Cell Biosci*, 2017, 7(1): 1-9.
- [7] JAIN T, NIKOLOPOULOU E A, XU Q, et al. Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis[J]. *Pharmacol Ther*, 2018(183): 22-33.
- [8] LI S H, SHIN D H, CHUN Y S, et al. A novel mode of action of YC-1 in HIF inhibition: Stimulation of FIH-dependent p300 dissociation from HIF-1 α [J]. *Mol Cancer Ther* 2008, 7(12): 3729-3738.
- [9] RHO J K, CHOI Y J, LEE J K, et al. Gefitinib circumvents hypoxia-induced drug resistance by the modulation of HIF-1 α [J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(3): 801-807.
- [10] BOOVANAHALLI S K, JIN X J, JIN Y L, et al. Synthesis of (aryloxyacetyl amino)-isonicotinic/nicotinic acid analogues as potent hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(22): 6305-6310.
- [11] LEE K, ZHANG H, QIAN D Z, et al. Acriflavine inhibits HIF-1 dimerization, tumor growth, and vascularization[J]. *PNAS*, 2009, 106(42): 17910-17915.
- [12] ELLINGHAUS P, HEISLER I, UNTERSCHENMANN K, et al. BAY 87-2243, a highly potent and selective inhibitor of hypoxia-induced gene activation has antitumor activities by inhibition of mitochondrial complex I[J]. *Cancer Med*, 2013, 2(5): 611-624.
- [13] SHENG R, LI S, LIN G Y, et al. Novel potent HIF-1 inhibitors for the prevention of tumor metastasis: Discovery and optimization of 3-aryl-5-indazole-1,2,4-oxadiazole derivatives [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(100): 81817-81830.
- [14] STEPHEN B M H, PHILIP W, MANOJ P. Inhibitors of hypoxia inducible factor (hif) useful for treating hyper-proliferative disorders and diseases associated with angiogenesis: WO, 2008EP03681[P]. 2008-05-08.
- [15] BROWN R D, COLLIER B A W. Theoretical calculation of electric dipole moments for conjugated systems[J]. *Theor Chimica Acta*, 1967, 7(4): 259-282.
- [16] TRON G C, PIRALI T, BILLINGTON R A, et al. Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1, 3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes[J]. *Med Res Rev*, 2008, 28(2): 278-308.
- [17] ZHENG H, MCDONALD R, HALL D G. Boronic acid catalysis for mild and selective[3+2] dipolar cycloadditions to unsaturated carboxylic acids[J]. *Chemistry*, 2010, 16(18): 5454-5460.
- [18] STABILE P, LAMONICA A, RIBECAL A, et al. Mild and convenient one-pot synthesis of 1, 3, 4-oxadiazoles[J]. *Tetrahedron Lett*, 2010, 51(37): 4801-4805.
- [19] LACBAY C M, MENNI M, BERNATCHEZ J A, et al. Pharmacophore requirements for HIV-1 reverse transcriptase inhibitors that selectively "Freeze" the pre-translocated complex during the polymerization catalytic cycle[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(8): 1713-1726.
- [20] NARO Y, ANKENBRUCK N, THOMAS M, et al. Small molecule inhibition of MicroRNA miR-21 rescues chemosensitivity of renal-cell carcinoma to topotecan[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(14): 5900-5909.

收稿日期: 2021-05-17

(本文责编: 曹粤锋)