新型四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶酮衍生物的合成及其抗肿瘤活性陈 玉^a 柏 舜^a 贺红武^b 杨光忠^{*,c}^(a) 中南民族大学化学与材料科学学院 武汉 430074)^(b) 华中师范大学化学学院 武汉 430079)^(c) 中南民族大学药学院 武汉 430074)

摘要 以环己酮为原料, 利用 Gewald 反应合成了 6 个 3-烷基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮衍生物和 17 个 3-亚苄基胺基四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮衍生物, 通过 ¹H NMR、¹³C NMR、IR 和 MS 对所合成的化合物进行了结构表征, 并对所合成化合物进行了抗肿瘤活性的筛选. 结果表明 4 个化合物对人鼻咽癌细胞株(KB)和鼻咽鳞癌细胞株(CNE2)两种肿瘤细胞株表现出一定程度的抑制活性.

关键词 噻吩并[2,3-*d*]嘧啶酮衍生物; 抗肿瘤活性; Gewald 反应

Synthesis and Antitumor Activity Evaluation of Novel Tetrahydro-[4,5]benzothieno[2,3-*d*]pyrimidinone DerivativesChen, Yu^a Bai, Shun^a He, Hongwu^b Yang, Guangzhong^{*,c}^(a) College of Chemistry and Materials Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074)^(b) College of Chemistry, Central China Normal University, Wuhan 430079)^(c) College of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074)

Abstract Six 3-alkyl-5,6,7,8-tetrahydro[4,5]benzothieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one derivatives and seventeen 3-benzylideneaminotetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-one derivatives have been designed and synthesized via Gewald reaction under mild condition. The structures of synthesized compounds were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR, IR and MS. Their antitumor activities were evaluated against human nasopharyngeal carcinoma (KB) and human nasopharyngeal carcinoma (CNE2) cell lines *in vitro*. These results revealed that four tested compounds showed moderate antitumor activities.

Keywords thieno[2,3-*d*]pyrimidinone derivatives; antitumor activity; Gewald reaction

抗肿瘤药物在肿瘤的临床治疗中发挥着重要作用, 随着分子生物学、分子肿瘤学和分子药理学的迅速发展, 抗肿瘤药物的研究逐渐从传统的细胞毒药物向具有靶向作用分子和特异性分子机制的新型抗肿瘤药物发展. 近年来, 以表皮生长因子受体(EGFR)为靶点来开发抗肿瘤药物成为研究的热点之一. 表皮生长因子受体(EGFR)是一种受体酪氨酸激酶, 能激活并诱导癌细胞增殖、存活和迁移的信号路径, 从而导致各种癌症的发生. 自从 1994 年发现 4-苯胺基喹唑啉(PD153035)作为 EGFR 酪氨酸激酶的特异性抑制剂以来, 喹唑啉类化合物成为代表性的 EGFR 的抑制剂^[1], 但是喹唑啉环并非 EGFR 抑制剂所必须的. 研究发现苯环的生物电子等排

体和嘧啶环稠合后仍有较好的药理活性, 其中嘧啶骨架被广泛地研究, 如吡啶并[2,3-*d*]嘧啶类、吡啶并[4,3-*d*]嘧啶类、嘧啶并[5,4-*d*]嘧啶类、吡咯并[2,3-*d*]嘧啶类、吡唑并[3,4-*d*]嘧啶类等^[2~5]. 其中一些嘧啶类化合物已被开发成药物并上市, 如 Gefitinib (**1A**), erlotinib (**1B**) (Scheme 1)^[6]. 近年来研究发现四氢苯并[4,5]噻吩骨架是发展抗癌化合物的有价值药效团, 众多具有较好抗肿瘤活性的四氢苯并[4,5]噻吩类化合物被报道(如化合物 **1C**, Scheme 1)^[7~9]. 基于嘧啶药效团和四氢苯并[4,5]噻吩骨架表现出较好的抗肿瘤活性, 为了得到活性更好的抗肿瘤化合物, 拼合了嘧啶药效团和四氢苯并[4,5]噻吩骨架, 得到了四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶类化合

* E-mail: yanggz888@126.com

Received May 12, 2014; revised June 17, 2014; published online July 3, 2014.

Project supported by the Special Fund for Basic Scientific Research of Central Colleges, South-Central University for Nationalities (No. CZY13004).

中央高校基本科研业务费专项资金(No. CZY13004)资助项目.

物^[10,11], 而这类化合物也表现出了良好的抗肿瘤活性(如化合物 **1D**, Scheme 1)^[12]. 但是四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶做为抗肿瘤化合物的骨架并没有被广泛的研究, 尤其是针对嘧啶环上取代的研究甚少, 而该骨架展现的抗肿瘤活性值得做进一步研究. 另一方面, 我们研究发现在嘧啶类化合物中嘧啶环上的取代基对活性影响甚大, 并有研究表明取代基为脞展现的抗肿瘤活性优于其它基团, 这种脞类衍生物主要是通过抑制某些激酶而表现出良好的抗肿瘤活性^[13]. 因此, 我们拟设计、合成含有四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶活性基团的衍生物, 并在嘧啶环上引入脞衍生物(**6a~6q**). 为考察脞类衍生物对活性的影响, 我们也合成了嘧啶环上为烷基取代的化合物(**4a~4f**)作为对照.

Scheme 1

本文以环己酮为原料, 利用 Gewald 反应, 合成一系列噻吩[2,3-*d*]嘧啶类衍生物, 主要考察嘧啶环上 3 位取代基对抗肿瘤活性的影响: (1)以环己酮、硫粉与氰乙酸乙酯为原料制得中间体 2-氨基-4,5,6,7-四氢苯并[4,5]

噻吩-3-甲酸乙酯(**2**), 再与原甲酸三乙酯反应生成中间体 **3**, 最后与相应的伯胺反应制得 6 个未见文献报道的目标化合物 3-烷基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4a~4f**); (2) 中间体 **3** 与水合肼反应得到 3-氨基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**5**), 然后再与不同的芳香醛在醋酸催化下反应得到 17 个未见文献报道的四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶酮并芳香醛类席夫碱衍生物 **6a~6q**. 合成路线如 Scheme 2 所示.

1 结果与讨论

1.1 合成方法

我们以简便易得的环己酮为原料, 利用 Gewald 反应来制备中间体 2-氨基-4,5,6,7-四氢苯并[4,5]噻吩-3-甲酸乙酯(**2**), 反应的温度越高, 反应的时间越长, 最终得到的反应液的颜色也越深。由于晶体吸附有反应液的颜色, 晶体过滤时需用水或者乙醇洗涤, 否则晶体为红色, 影响产物的纯度。

中间体 **2** 与原甲酸三乙酯在醋酸酐催化下生成乙氧基亚甲胺中间体 **3**, 该反应过程中原甲酸三乙酯既是反应物又是反应溶剂, 增加它的量有助于产率的提高, 但催化剂醋酸酐不可过量, 否则收率下降甚至无法生成乙氧基亚甲胺中间体, 因过量的醋酸酐直接与中间体 **2** 反应生成了副产物 **7** (Scheme 3). 白色晶体. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 11.25 (s, 1H, NH), 4.30 (q, $J=6.8$ Hz, 2H, CH_2), 2.71~2.75 (m, 2H, CH_2), 2.60~2.63 (m, 2H, CH_2), 2.24 (s, 3H, CH_3), 1.76~1.78 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.36 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH_3).

中间体 **3** 可直接用于下一步反应, 以无水乙醇作溶剂, 在 40 °C 可直接与伯胺环化得到较高收率的目标产

Scheme 2

Scheme 3

物. 该反应过程中, 提高反应温度和延长反应时间, 均未能提高产率, 故以 40 °C 和 8 h 反应为佳. 由于反应步骤相对较少, 相应的副产物也少, 故分离过程比较简单, 用乙醇重结晶或用硅胶柱层析分离即可获得较纯的产物.

1.2 结构表征

所合成的化合物都经 ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, MS 分析确证. 在红外光谱中, 嘧啶环上的羰基由于共轭效应的影响, 在 $1656\sim 1665\text{ cm}^{-1}$ 区域内出现强的伸缩振动吸收峰; 在化合物 **4a**~**4f** 的核磁共振氢谱中, 嘧啶环上 $\text{N}=\text{CH}$ 均以单峰的形式出现在低场, 其化学位移值在 δ_{H} 7.82~7.94, 在核磁共振碳谱中, 羰基碳的信号在 δ_{C} 161.5~162.0, 嘧啶环上 $\text{N}=\text{CH}$ 的信号 δ_{C} 142.6~146.3, 噻吩环上的四个季碳信号分别出现在 δ_{C} 122.4~122.8, 131.3~131.7, 133.9~134.2 和 157.5~158.1, 六元环上的四个亚甲基碳的信号分别出现在 δ_{C} 22.2, 22.9, 25.2 和 25.7 附近. 在化合物 **6a**~**6q** 的核磁共振氢谱中, 在低场区域出现两个特征的单峰信号, 分别为嘧啶环上 $\text{N}=\text{CH}$ 信号, 其化学位移值在 δ_{H} 8.10~8.75, 另一个单峰信号为亚苄基胺基 $\text{N}=\text{CH}$ 信号, 其化学位移值在 δ_{H} 8.86~10.00, 在化合物 **6g** 的核磁共振氢谱中, 嘧啶环上 $\text{N}=\text{CH}$ 以单峰的形式出现在 δ_{H} 8.12, 亚苄基烯丙基胺基中的 $\text{N}=\text{CH}$ 信号以双峰的形式出现在 δ_{H} 9.22 (d, $J=9.6\text{ Hz}$, 1H), 另外还出现一对反式双键的信号在 δ_{H} 7.17 (d, $J=16\text{ Hz}$, 1H) 和 6.99 (dd, $J=16, 9.2\text{ Hz}$, 1H). 以化合物 **6j** 为例进行核磁共振碳谱的解析, 羰基碳的信号在 δ_{C} 160.3, 嘧啶环上 $\text{N}=\text{CH}$ 的信号在 δ_{C} 145.2, 亚苄基胺基 $\text{N}=\text{CH}$ 信号在 δ_{C} 162.1, 由于该化合物含有 F 原子, F 的强电负性使连在 F 原子上的碳原子的化学位移向低场移动, 同时 F 对该碳原子偶合, 使其在 δ 165.1 裂分为双峰, 偶合常数达到 252.2 Hz, F 对其邻位和间位的碳原子也产生偶合, 使其在 δ 116.1 和 130.6 处分别裂分为双峰, 偶合常数分别为 22.0 和 8.9 Hz.

1.3 生物活性

根据文献报道和我们课题组以前的研究结果发现这类化合物对人鼻咽癌细胞株(KB)和鼻咽鳞癌细胞株(CNE2)肿瘤细胞的抑制活性明显强于其他肿瘤细胞, 如肺腺癌细胞(GLC-82)、胃癌细胞株(MGC-803)等^[14~16]. 所以本文仍采用 MTT 法对所合成化合物 **4a**~**4f** 和 **6a**~**6q** 对 KB 和 CNE2 细胞株的抗肿瘤活性进行筛选. 目标化合物的体外抗肿瘤活性筛选数据见表 1. 筛选结果表明: R 基团为烷基取代的对照组合物 **4a**~**4e** 对 KB 和 CNE2 两种肿瘤细胞活性明显地低于胺类衍生物 **6a**~**6q**. 化合物 **4a**~**4e** 对 KB 和 CNE2 两种肿瘤细胞活性没

表 1 化合物 **4a**~**4f**, **6a**~**6q** 和对照药品 5-氟尿嘧啶(5-FU)的体外抗肿瘤活性数据

Table 1 *In vitro* antitumor activities of compounds **4a**~**4f**, **6a**~**6q** and 5-FU

Compd.	R	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	
		KB	CNE2
4a		> 50	> 50
4b		> 50	> 50
4c		> 50	> 50
4d		> 50	> 50
4e		> 50	> 50
4f		19.42	> 50
6a		> 50	> 50
6b		> 50	> 50
6c		> 50	> 50
6d		> 50	> 50
6e		> 50	> 50
6f		> 50	> 50
6g		29.23	13.96
6h		37.18	46.85
6i		> 50	> 50
6j		> 50	> 50

续表

Compd.	R	IC ₅₀ /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	
		KB	CNE2
6k		>50	>50
6l		16.79	27.95
6m		18.16	>50
6n		>50	>50
6o		>50	>50
6p		>50	>50
6q		>50	>50
5-FU	—	9.85	17.2

^aIC₅₀: 半数抑制浓度.

有表现出明显的抑制活性(IC₅₀>50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 当 3 位取代基引入极性基团如羟基时, 化合物 **4f** 对 KB 细胞表现出中等的抑制活性(IC₅₀=19.42 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). 化合物 **6a** 和 **6b** 对两种肿瘤细胞都没有表现出明显的生物活性, 当苯环的 2 位和 4 位分别引入羟基时, 如化合物 **6l** 对 KB 和 CNE2 两种肿瘤细胞株表现出一定的抑制作用, 其 IC₅₀ 值分别为 16.79 和 27.95 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 苯环上羟基个数的增加有利于提高该类化合物的抗肿瘤活性. 化合物 **6g** 和 **6h** 对两种肿瘤细胞也表现出一定的抑制作用, **6g** 对 CNE2 细胞株表现出了最强的抑制作用, 其 IC₅₀ 值为 13.96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并强于对照药物 5-FU. 3 位杂环结构的引入和延伸双键的个数, 有利于抗肿瘤活性的增加, 其余化合物并没有表现出明显的抗肿瘤活性, 进一步构效关系的研究, 有待于以后获得更多的结构类似物和生物活性的数据后进行.

2 结论

本文利用 Gewald 反应合成了 23 个新型的四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶酮衍生物, 并对所合成的化合物

进行了结构表征以及抗肿瘤活性评价. 部分四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶的衍生物展现出较好的抗增殖活性, 其中化合物 **6l** 对 KB 细胞株表现出了最强的抑制作用, 其 IC₅₀ 值为 16.79 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; **6g** 对 CNE2 细胞株表现出了最强的抑制作用, 其 IC₅₀ 值为 13.96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 这些衍生物嘧啶环上的取代基对活性影响较大, 胺类衍生物取代的活性较烷基取代好. 这些研究成果有利于探索新的具有应用价值的新型化学抗肿瘤化合物, 为设计新的抗肿瘤药物积累数据和经验.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

红外光谱用 NE×US 470 型傅里叶红外光谱仪测定(KBr 压片); ¹H NMR、¹³C NMR 用 BrukerAM-400Hz 型核磁共振光谱仪(以 TMS 为内标, CDCl₃ 或 DMSO-*d*₆ 为溶剂); 质谱用 Finnigan LCQ-Deca 和 Water/Micromass Q-ToF-UltimaTR 型质谱仪; 熔点用 X-5 显微熔点测定仪(控温型)测定(温度未经校正); 柱层析硅胶[200~300 目(青岛海洋化工厂)]; 硅胶薄层板(GF254, 武汉药科新技术开发有限公司).

甲苯用金属钠干燥, 吗啡啉、氰乙酸乙酯、硫粉、原甲酸三乙酯、芳香醛、乙醇、石油醚、乙酸乙酯为分析纯, 各种伯胺和水合肼为化学纯.

3.2 实验方法

3.2.1 中间体 2-氨基-4,5,6,7-四氢苯并[4,5]噻吩-3-甲酸乙酯(**2**)的合成

在室温搅拌下, 将吗啡啉(50 mmol, 4.25 g)滴加到环己酮(10 mmol, 0.98 g)、氰乙酸乙酯(1.14g, 10 mmol)与硫粉(0.32 g, 10 mmol)在无水乙醇(40 mL)的混合物中, 将反应混合物在 60 °C 搅拌反应 12 h. 反应液浓缩后用乙醇重结晶, 得 2.2 g 棕浅黄色晶体中间体 **2**^[17], 产率 98%. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.03 (s, 2H, NH₂), 4.24 (q, *J*=7.0 Hz, 2H, CH₂), 2.68 (s, 2H, CH₂), 2.47 (s, 2H, CH₂), 1.71 (s, 4H, 2×CH₂), 1.31 (t, *J*=7.0 Hz, 3H, CH₃).

3.2.2 乙氧基亚甲胺中间体 **3** 的合成

将 0.45 g 中间体 **2** (2 mmol), 20 mL 原甲酸乙酯, 1.0 mL 醋酸酐加至 50 mL 反应瓶中, 加热回流反应 8 h. 冷却后减压蒸出过量的原甲酸三乙酯, 得棕红色油状中间体 **7**, 直接用于下步反应.

3.2.3 目标化合物 3-烷基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4a**~**4f**)的合成

将 0.56 g 中间体 **3** (2 mmol), 10 mL 无水乙醇加至 50 mL 反应瓶中, 再缓慢加入 3 mL 伯胺, 40 °C 下搅拌

反应, TLC 跟踪至原料点消失. 减压浓缩, 粗品用乙醇重结晶或用硅胶柱层析 [$V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 9 : 1$] 纯化得目标化合物 **4a~4f**.

3-正丁基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4a**): 黄色粉末, 产率 72%. m.p. 125.4~127.2 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.86 (s, 1H, CH pyrimidinone), 3.93 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, CH_2), 2.98~3.01 (m, 2H, CH_2), 2.73~2.75 (m, 2H, CH_2), 1.78~1.87 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.68~1.76 (m, 2H, CH_2), 1.36~1.41 (m, 2H, CH_2), 0.95 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.0, 157.8, 145.5, 134.0, 131.5, 122.8, 46.4, 31.5, 25.6, 25.2, 22.8, 22.2, 19.8, 13.6; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1562 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 263.1 (M+H) $^+$.

3-异丁基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4b**): 黄色粉末, 产率 41%. m.p. 129.4~131.5 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.82 (s, 1H, CH pyrimidinone), 3.74 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, CH_2), 2.99~3.02 (m, 2H, CH_2), 2.73~2.76 (m, 2H, CH_2), 2.12~2.22 (m, 1H, CH), 1.81~1.86 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 0.95 (d, $J=6.8$ Hz, 6H, $2\times\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.0, 158.0, 145.8, 134.0, 131.6, 122.8, 53.8, 28.0, 25.6, 25.2, 22.8, 22.2, 19.8, 19.8; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1562 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 263.1 (M+H) $^+$.

3-仲丁基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4c**): 黄色粉末, 产率 38%. m.p. 82.7~85.4 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.87 (s, 1H, CH pyrimidinone), 4.92~5.01 (m, 1H, CH), 3.00~3.03 (m, 2H, CH_2), 2.75~2.77 (m, 2H, CH_2), 1.76~1.89 (m, 6H, $3\times\text{CH}_2$), 1.41 (d, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 0.90 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.5, 157.8, 142.9, 133.9, 131.7, 122.4, 50.6, 29.3, 25.7, 25.2, 22.9, 22.3, 20.5, 10.7; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1562 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 263.1 (M+H) $^+$.

3-正丙基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4d**): 黄色粉末, 产率 67%. m.p. 155.3~156.1 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.87 (s, 1H, CH pyrimidinone), 3.91 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, CH_2), 2.99~3.02 (m, 2H, CH_2), 2.74~2.77 (m, 2H, CH_2), 1.74~1.83 (m, 6H, $3\times\text{CH}_2$), 0.97 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.0, 157.8, 145.5, 134.0, 131.6, 122.8, 48.1, 25.6, 25.2, 22.8, 22.8, 22.2, 11.1; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1562 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 249.1 (M+H) $^+$.

3-异丙基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4e**): 黄色粉末, 产率 53%. m.p. 146.5~147.2 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.94 (s, 1H, CH pyrimidi-

none), 5.12~5.23 (m, 1H, CH), 2.99~3.02 (m, 2H, CH_2), 2.74~2.76 (m, 2H, CH_2), 1.80~1.86 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 1.44 (d, $J=7.2$ Hz, 6H, $2\times\text{CH}_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.6, 157.5, 142.6, 133.9, 131.6, 122.4, 45.2, 25.6, 25.2, 22.9, 22.3, 22.3, 22.2; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1562 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 249.0 (M+H) $^+$.

3-(2-羟基乙基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**4f**): 黄色粉末, 产率 46%. m.p. 138.9~141.1 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.92 (s, 1H, CH pyrimidinone), 4.09~4.11 (m, 2H, CH_2), 3.93~3.96 (m, 2H, CH_2), 2.90~2.93 (m, 2H, CH_2), 2.72~2.74 (m, 2H, CH_2), 1.82~1.84 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.0, 158.1, 146.3, 134.2, 131.3, 122.4, 60.7, 49.3, 25.5, 25.1, 22.8, 22.1; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1562 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 251.1 (M+H) $^+$.

3.2.4 中间体 3-氨基-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**5**)的合成

将中间体 **3** (1.43 g, 5 mmol), 30 mL 无水乙醇加入到 100 mL 的反应瓶中, 再缓慢加入 15 mL 水合肼, 回流反应, TLC 跟踪至原料点消失. 减压浓缩, 粗品用乙醇重结晶纯化得 2 g 中间体 **5**, 产率 98%. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.16 (s, 1H, CH pyrimidinone), 4.90 (s, 2H, NH_2), 2.93~2.96 (m, 2H, CH_2), 2.73~2.76 (m, 2H, CH_2), 1.80~1.86 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.0, 158.1, 146.0, 134.8, 131.1, 122.0, 25.4, 25.2, 22.8, 22.1; LC-MS m/z : 222.1 (M+H) $^+$.

3.2.5 目标化合物四氢苯并[4,5]噻吩[2,3-*d*]嘧啶酮并芳香醛类席夫碱衍生物 **6a~6q** 的合成

将中间体 **5** (1 mmol, 0.28 g), 20 mL 无水乙醇加入到 50 mL 的反应瓶中, 再加入相应的醛(1 mmol), 加热, 温度升至 45 °C 时, 加入 2 mL 醋酸, 回流反应, TLC 跟踪至原料点消失. 冷却, 过滤, 粗品用乙醇重结晶或用硅胶柱层析 [$V(\text{石油醚}) : V(\text{乙酸乙酯}) = 8 : 2$] 纯化得到目标产物 **6a~6q**.

3-(2-羟基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6a**): 白色粉末, 产率 78%. m.p. 230.6~232.4 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.37 (s, 1H, N=CH), 8.10 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.42 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.35 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.04 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.97 (t, $J=8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 3.03~3.05 (m, 2H, CH_2), 2.79~2.81 (m, 2H, CH_2), 1.86~1.91 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 168.4, 160.5, 159.9, 155.4, 143.4, 135.3, 134.2, 133.3, 132.2, 123.2, 119.8, 117.5, 116.5, 25.6, 25.2, 22.8, 22.2; IR (KBr) ν : 1660 (C=O), 1575 (C=C) cm^{-1} ;

LC-MS m/z : 236.0 ($M+H$)⁺.

3-(4-羟基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6b**): 白色粉末, 产率 65%. m.p. 254.6~257.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.42 (s, 1H, OH), 8.86 (s, 1H, N=CH), 8.39 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.74 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 6.91 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 2.83~2.88 (m, 2H, CH₂), 2.72~2.77 (m, 2H, CH₂), 1.77~1.80 (m, 4H, 2 $\times$ CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 167.4, 161.7, 160.1, 154.4, 144.4, 133.5, 131.2, 131.0 (2 $\times$ C), 123.2, 122.3, 116.0 (2 $\times$ C), 25.4, 24.6, 22.4, 21.8; IR (KBr) ν : 1658 (C=O), 1573 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 326.0 ($M+H$)⁺.

3-(4-硝基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6c**): 黄色粉末, 产率 48%. m.p. 227.9~231.4 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 10.00 (s, 1H, N=CH), 8.32 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 8.39 (s, 1H, CH pyrimidinone), 8.01 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 3.02~3.04 (m, 2H, CH₂), 2.79~2.81 (m, 2H, CH₂), 1.87~1.89 (m, 4H, CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 160.2, 158.8, 156.9, 149.6, 145.7, 139.2, 135.4, 132.2, 129.1 (2 $\times$ C), 124.1 (2 $\times$ C), 123.2, 25.7, 25.3, 22.7, 22.1; IR (KBr) ν : 1663 (C=O), 1575 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 355.0 ($M+H$)⁺.

3-(4-甲氧基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6d**): 白色粉末, 产率 55%. m.p. 172.6~174.4 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.36 (s, 1H, N=CH), 8.43 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.81 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 6.97 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.01~3.06 (m, 2H, CH₂), 2.77~2.79 (m, 2H, CH₂), 1.85~1.90 (m, 4H, CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 163.7, 163.0, 160.5, 156.2, 144.9, 134.4, 132.1, 130.4 (2 $\times$ C), 125.7, 123.3, 114.4 (2 $\times$ C), 55.3, 25.7, 25.2, 22.8, 22.2; IR (KBr) ν : 1655 (C=O), 1572 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 340.0.

3-(4-溴苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6e**): 黄色粉末, 产率 49%. m.p. 205.2~207.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.63 (s, 1H, N=CH), 8.19 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.70 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.59 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 3.02~3.05 (m, 2H, CH₂), 2.78~2.80 (m, 2H, CH₂), 1.87~1.90 (m, 4H, 2 $\times$ CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 161.5, 160.3, 156.5, 145.3, 134.8, 132.2 (2 $\times$ C), 132.1 (2 $\times$ C), 129.7 (2 $\times$ C), 126.7, 123.3, 25.6, 25.2, 22.8, 22.2; IR (KBr) ν : 1658 (C=O), 1573 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 388.0 ($M+H$)⁺.

3-(3-羟基-4-甲氧基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6f**): 白色粉末, 产率 56%. m.p. 179.3~181.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.03 (s, 1H, N=CH), 8.11 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.43 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.19 (dd, $J=1.6, 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 6.83 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 2.91~2.96 (m, 2H, CH₂), 2.70~2.75 (m, 2H, CH₂), 1.78~1.82 (m, 4H, 2 $\times$ CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 164.9, 160.3, 156.0, 151.0, 146.3, 144.3, 134.8, 131.9, 125.6, 123.4, 123.1, 113.1, 110.5, 55.9, 25.6, 25.2, 22.7, 22.1; IR (KBr) ν : 1655 (C=O), 1570 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 356.0 ($M+H$)⁺.

3-(3-芳基烯丙基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6g**): 黄色粉末, 产率 53%. m.p. 199.7~202.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.22 (d, $J=9.6$ Hz, 1H, N=CH), 8.12 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.51 (dd, $J=1.6, 7.6$ Hz, 2H, Ar-H), 7.34~7.41 (m, 3H, Ar-H), 7.17 (d, $J=16$ Hz, 1H, CH=CH), 6.99 (dd, $J=9.2, 16$ Hz, 1H, CH=CH), 3.01~3.03 (m, 2H, CH₂), 2.75~2.77 (m, 2H, CH₂), 1.85~1.86 (m, 4H, 2 $\times$ CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 165.9, 160.3, 156.1, 145.8, 144.8, 135.1, 134.7, 132.1, 130.0, 129.1 (2 $\times$ C), 127.7 (2 $\times$ C), 124.3, 123.2, 25.7, 25.3, 22.8, 22.2; IR (KBr) ν : 1665 (C=O), 1571 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 336.0 ($M+H$)⁺.

3-(3-吡啶亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6h**): 黄色粉末, 产率 47%. m.p. 248.9~250.2 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.03 (s, 1H, NH indole), 9.00 (s, 1H, N=CH), 8.45 (s, 1H, CH pyrimidinone), 8.22 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 8.08 (s, 1H, CH indole), 7.53 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.27 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.21 (t, $J=7.4$ Hz, 1H, Ar-H), 2.89~2.91 (m, 2H, CH₂), 2.70~2.75 (m, 2H, CH₂), 1.74~1.77 (m, 4H, 2 $\times$ CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.0, 160.1, 154.7, 144.7, 137.3, 135.4, 133.3, 131.2, 124.2, 123.3, 122.4, 122.2, 121.5, 112.3, 110.3, 25.4, 24.7, 22.4, 21.8; IR (KBr) ν : 1659 (C=O), 1577 (C=C) cm⁻¹; LC-MS m/z : 349.0 ($M+H$)⁺.

3-(4-羟基-3-甲氧基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6i**): 白色粉末, 产率 40%. m.p. 208.1~210.7 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.24 (s, 1H, N=CH), 8.16 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.49 (d, $J=1.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.25 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 6.96 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.00~3.05 (m, 2H, CH₂), 2.77~2.80 (m, 2H, CH₂), 1.85~1.89 (m, 4H, 2 $\times$ CH₂); ¹³C NMR (100 MHz,

CDCl_3) δ : 164.5, 160.6, 156.2, 150.1, 147.3, 144.8, 134.6, 132.2, 125.4, 125.2, 123.4, 114.7, 109.0, 56.2, 25.7, 25.3, 22.9, 22.3; IR (KBr) ν : 1666 (C=O), 1563 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 356.0 (M+H) $^{+}$.

3-(4-氟苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6j**): 白色粉末, 产率 50%. m.p. 213.6~215.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.52 (s, 1H, N=CH), 8.43 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.80~7.84 (m, 2H, Ar-H), 7.10~7.15 (m, 2H, Ar-H), 2.97~3.00 (m, 2H, CH_2), 2.74~2.76 (m, 2H, CH_2), 1.81~1.86 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.1 (d, $^1J_{\text{CF}}=252.2$ Hz), 162.1, 160.3, 156.0, 145.2, 134.8, 132.0, 130.6 (d, $^3J_{\text{CF}}=8.9$ Hz, $2\times\text{C}$), 129.3, 123.2, 116.1 (d, $^2J_{\text{CF}}=22.0$ Hz, $2\times\text{C}$), 25.6, 25.2, 22.7, 22.2; IR (KBr) ν : 1660 (C=O), 1568 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 328.1 (M+H) $^{+}$.

3-(2-氯苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6k**): 黄色粉末, 产率 58%. m.p. 238.9~240.3 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 10.05 (s, 1H, N=CH), 8.19 (s, 1H, CH pyrimidinone), 8.12 (m, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.31~7.42 (m, 3H, Ar-H), 3.00~3.03 (m, 2H, CH_2), 2.74~2.76 (m, 2H, CH_2), 1.81~1.87 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 160.1, 159.6, 156.3, 145.4, 136.2, 134.8, 132.9, 132.2, 130.8, 130.0, 127.6, 127.1, 123.2, 25.7, 25.3, 22.8, 22.1; IR (KBr) ν : 1655 (C=O), 1570 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 344.0 (M+H) $^{+}$.

3-(2,4-二羟基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6l**): 白色粉末, 产率 32%. m.p. 231.7~233.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.64 (s, 1H, OH), 10.38 (s, 1H, OH), 8.99 (s, 1H, N=CH), 8.75 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.61 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.41 (dd, $J=2.2, 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 6.38 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 2.86~2.89 (m, 2H, CH_2), 2.71~2.74 (m, 2H, CH_2), 1.75~1.78 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.5, 163.3, 160.7, 160.1, 154.4, 144.3, 133.5, 131.2, 131.1, 122.2, 109.7, 108.6, 102.5, 25.4, 24.6, 22.4, 21.8; IR (KBr) ν : 1654 (C=O), 1567 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 342.0 (M+H) $^{+}$.

3-(2-硝基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6m**): 黄色粉末, 产率 51%. m.p. 225.6~227.4 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 10.14 (s, 1H, N=CH), 8.20 (s, 1H, CH pyrimidinone), 8.09~8.14 (m, 2H, Ar-H), 7.72~7.76 (m, 1H, Ar-H), 7.63~7.68 (m, 1H, Ar-H), 2.97~2.99 (m, 2H, CH_2), 2.72~2.77 (m, 2H, CH_2), 1.81~1.87 (m, 4H, CH_2); ^{13}C NMR (100 MHz,

CDCl_3) δ : 160.2, 159.3, 156.2, 148.7, 145.2, 135.1, 133.8, 132.2, 131.9, 129.4, 128.5, 124.8, 123.2, 25.6, 25.2, 22.7, 22.1; IR (KBr) ν : 1661 (C=O), 1570 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 355.1 (M+H) $^{+}$.

3-(4-氯苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6n**): 黄色粉末, 产率 55%. m.p. 196.7~198.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.63 (s, 1H, N=CH), 8.17 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.76 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.42 (d, $J=8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 3.02~3.04 (m, 2H, CH_2), 2.76~2.78 (m, 2H, CH_2), 1.86~1.87 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.4, 160.3, 156.4, 145.3, 138.2, 134.8, 132.1, 131.8, 129.6 ($2\times\text{C}$), 129.1 ($2\times\text{C}$), 123.2, 25.6, 25.2, 22.8, 22.2; IR (KBr) ν : 1656 (C=O), 1570 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 344.1 (M+H) $^{+}$.

3-(2-氟苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6o**): 白色粉末, 产率 66%. m.p. 209.8~211.5 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.83 (s, 1H, N=CH), 8.19 (s, 1H, CH pyrimidinone), 8.04~8.08 (m, 1H, Ar-H), 7.44~7.50 (m, 1H, Ar-H), 7.20~7.23 (m, 1H, Ar-H), 7.09~7.14 (m, 1H, Ar-H), 2.94~3.02 (m, 2H, CH_2), 2.74~2.76 (m, 2H, CH_2), 1.82~1.87 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.4 (d, $^1J_{\text{CF}}=254.1$ Hz), 160.2, 156.9 (d, $^3J_{\text{CF}}=5.7$ Hz), 156.2, 145.2, 134.8, 133.9 (d, $^3J_{\text{CF}}=8.6$ Hz), 132.1, 127.0 (d, $^4J_{\text{CF}}=1.7$ Hz), 124.5 (d, $^3J_{\text{CF}}=3.5$ Hz), 123.2, 121.0 (d, $^2J_{\text{CF}}=9.3$ Hz), 116.1 (d, $^2J_{\text{CF}}=20.8$ Hz), 25.7, 25.3, 22.8, 22.1; IR (KBr) ν : 1659 (C=O), 1572 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 328.0 (M+H) $^{+}$.

3-(4-甲基苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6p**): 白色粉末, 产率 62%. m.p. 202.5~205.1 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.49 (s, 1H, N=CH), 8.25 (s, 1H, CH pyrimidinone), 7.80 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 7.33 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar-H), 3.09~3.11 (m, 2H, CH_2), 2.83~2.86 (m, 2H, CH_2), 2.48 (s, 3H, CH_3), 1.91~1.96 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 164.2, 160.3, 156.3, 145.0, 142.9, 134.7, 132.0, 130.2, 129.6 ($2\times\text{C}$), 128.6 ($2\times\text{C}$), 123.2, 25.7, 25.2, 22.8, 22.2, 21.7; IR (KBr) ν : 1656 (C=O), 1566 (C=C) cm^{-1} ; LC-MS m/z : 324.0 (M+H) $^{+}$.

3-(2-溴苯亚甲基氨基)-5,6,7,8-四氢苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶-4-酮(**6q**): 黄色粉末, 产率 45%. m.p. 201.4~203.2 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 10.02 (s, 1H, N=CH), 8.13 (s, 1H, CH pyrimidinone), 8.12 (dd, $J=1.6, 8.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.62 (dd, $J=1.2, 8.0$ Hz, 1H,

Ar-H), 7.32~7.44 (m, 2H, Ar-H), 3.04~3.05 (m, 2H, CH₂), 2.76~2.78 (m, 2H, CH₂), 1.85~1.88 (m, 4H, 2×CH₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 162.0, 160.2, 156.3, 145.4, 134.8, 133.3, 133.1, 132.4, 132.2, 128.0, 127.7, 126.1, 123.3, 25.7, 25.3, 22.8, 22.2; IR (KBr) ν: 1660 (C=O), 1570 (C=C) cm⁻¹; LC-MS *m/z*: 388.0 (M+H)⁺.

3.2.5 抗肿瘤活性实验

取对数生长期的细胞调整浓度为 2×10⁴ 个/mL, 接种于 96 孔培养板中, 每孔 190 μL, 放置于 5% CO₂、37 °C 恒温培养箱中培养 24 h 后, 加入 10 μL 所测试的不同浓度的化合物, 72 h 后加入 5 mg/mL 的 MTT (20 μL/孔), 继续培养 3 h. 弃去培养上清, 然后加入 DMSO (100 μL/孔), 用酶标仪测定每孔在 570 nm 吸光度值, 以 5-氟尿嘧啶(5-FU)为阳性对照, 计算对肿瘤细胞抑制率.

辅助材料(Supporting information) 所合成的目标化合物的 NMR 和 MS 图谱. 这些材料可以免费从本刊网 (<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Zhang, Y.; Wang, P.-Y.; Hu, D.-Y.; Jin, L.-H.; Yang, S. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 444 (in Chinese). (张英, 王培义, 胡德禹, 金林红, 杨松, 有机化学, **2012**, 32, 444.)
- [2] Zhao, Y.; Quyang, G.-P.; Xu, W.-M.; Jin, L.-H.; Yuan, K. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30, 1093 (in Chinese). (赵云, 欧阳贵平, 徐维民, 金林红, 袁凯, 有机化学, **2010**, 30, 1093.)
- [3] Zhou, W.; Liu, X. F.; Tu, Z. C.; Zhang, L. W.; Ku, X.; Bai, F.; Zhao, Z. J.; Xu, Y. F.; Deng, K.; Li, H. L. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 7821.
- [4] Wu, C. H.; Coumar, M. S.; Chu, C. Y.; Lin, W. H.; Chen, Y. R.; Chen, C. T.; Shiao, H. Y.; Rafi, S.; Wang, S. Y.; Hsu, H.; Chen, C. H.; Chang, C. Y.; Chang, T. Y.; Lien, T. W.; Fang, M. Y.; Yeh, K. C.; Chen, C. P.; Yeh, T. K.; Hsieh, S. H.; Hsu, J. T. A.; Liao, C. C.; Chao, Y. S.; Hsieh, H. P. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 7316.
- [5] Rewcastle, G. W.; Murray, D. K.; Elliott, W. L.; Fry, D. W.; Howard, C. T.; Nelson, J. M.; Roberts, B. J.; Vincent, P. W.; Hollis Showalter, H. D.; Thomas Winters, R.; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 742.
- [6] Ciardiello, F.; Tortora, G. *N. Engl. J. Med.* **2008**, 358, 1160.
- [7] Abbas, S. E.; Abdel Gawad, N. M.; George, R. F.; Akar, Y. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 65, 195.
- [8] Aponte, J. C.; Vaisberg, A. J.; Castillo, D.; Conzalez, G.; Estevez, Y.; Arevalo, J.; Quiliano, M.; Zimic, M.; Verastegui, M.; Malaga, E.; Gilman, R. H.; Bustamante, J. M.; Tarleton, R. L.; Wang, Y. H.; Franzblau, S. G.; Pauli, G. F.; Sauvain, M.; Hammond, G. B. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 2880.
- [9] Wang, Y. D.; Johnson, S.; Powell, D.; McGinnis, J. P.; Miranda, M.; Rabindran, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 3763.
- [10] Adepu, R.; Kumar, K. S.; Sandra, S.; Rambabu, D.; Krishna, G. R.; Reddy, C. M.; Kandale, A.; Misra, P.; Pal, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 5127.
- [11] Jennings, L. D.; Kincaid, S. L.; Wang, Y. D.; Krishnamurthy, G.; Beyer, C. F.; McGinnis, J. P.; Miranda, M.; Discafani, C. M.; Rabindran, S. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 4731.
- [12] Lou, J. P.; Liu, Z.; Li, Y.; Zhou, M.; Zhang, Z. X.; Zheng, S.; Wang, R. X. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 6662.
- [13] Onnis, V.; Cocco, M. T.; Fadda, R.; Congiu, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 6158.
- [14] Ai, Y.; Liang, Y. J.; Liu, J. C.; He, H. W.; Chen, Y.; Tang, C.; Yang, G. Z.; Fu, L. W. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 47, 206.
- [15] Ren, Q. Y.; Liang, Y. J.; He, H. W.; Fu, L. W.; Gu, Y. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 6713.
- [16] Mo, W. Y.; Liang, Y. J.; Gu, Y. C.; Fu, L. W.; He, H. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 5977.
- [17] Sabnis, R. W.; Rangnekar, D. W.; Sonawane, N. D. *J. Heterocycl. Chem.* **1999**, 36, 333.

(Cheng, F.)