新型 *N'*-芳基亚甲基-*N*-(4-取代苯甲酰氧基噻唑-2-基)取代苯甲酰肼的合成与生物活性

刘建超 刘勇军 贺红武*

(华中师范大学化学学院 武汉 430079)

摘要 利用生物活性亚结构拼接原理, 将活性酰肼亚结构与活性噻唑环亚结构进行拼接, 设计合成了 14 个新型 *N'*-芳基亚甲基-*N*-(4-取代苯甲酰氧基噻唑-2-基)取代苯甲酰肼衍生物. 所有目标化合物经 ^1H NMR、IR、质谱及元素分析等手段进行了表征, 部分化合物还经过 ^{13}C NMR 进行了确证. 抗肿瘤测试结果表明, 该系列化合物表现出明显的抗肿瘤活性, 其对人口腔上皮癌细胞株(KB)的抑制活性优于对鼻咽癌细胞株(CNE2)的抑制活性; 采用离体平皿法对目标化合物进行杀菌活性测试, 测试菌种为: 小麦赤霉菌、水稻纹枯霉菌、黄瓜灰霉菌、番茄早疫菌、烟草赤星菌和黄瓜炭疽菌. 结果表明, 在 1.0×10^{-4} g/mL 浓度下, 目标化合物对部分菌种表现中等抑菌活性.

关键词 噻唑; 酰肼; 抗肿瘤活性; 杀菌活性

Synthesis and Biological Evaluation of Novel *N'*-Arylmethylene-*N*-(4-benzoyloxy-thiazole-2-yl) Benzoylhydrazone Derivatives

Liu, Jianchao Liu, Yongjun He, Hongwu*

(College of Chemistry, Central China Normal University, Wuhan 430079)

Abstract 14 novel *N'*-arylmethylene-*N*-(4-benzoyloxy-thiazole-2-yl) benzoylhydrazone derivatives were designed and synthesized by incorporating the activated structural templates of thiazole and acylhydrazone. All the target compounds were characterized by ^1H NMR, IR, mass spectrometry and elemental analysis, and some of the compounds were confirmed by ^{13}C NMR. Anti-tumor test results showed that the hydrazone compounds showed significant anti-tumor activity. These compounds were more active against the KB cell lines than the CNE2 cell lines. All synthesized compounds were screened by plate method *in vitro* for their fungicidal activity against *Gibberella zeae*, *Thanatephorus cucumeris*, *Botrytis cinereapers*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternate*, and *Colletotrichum orbiculare*. In the 1.0×10^{-4} g/mL concentration, some tested compounds exhibited middle-inhibitory activity of funguses.

Keywords thiazole; acylhydrazone; anticancer; fungicide

噻唑类化合物的良好生物活性已在医药、农药方面得到广泛应用, 如抗艾滋病^[1]、糖尿病药物^[2], 杀菌剂^[3], 杀虫剂^[4]和潜在的除草剂^[5,6]等. 近来研究较多的还是其抗肿瘤活性, 2010 年 Hay 等^[7]报道, 在前期靶标筛选得到抑制肾癌细胞增殖活性较好的化合物 4-吡啶基-2-苯胺基噻唑(PAT), 其对肾细胞癌(RCC4) GI_{50} 为 $7 \mu\text{mol/L}$. 以该化合物作为先导, 进行系统结构优化, 发现化合物 **A** 具有更好的肾细胞癌抑制活性, 其对肾细胞癌 GI_{50} 为 $0.24 \mu\text{mol/L}$. 酰肼类化合物亦具有广泛的生物活

性^[8-10], 如 2010 年 Gülhan 等^[11]报道, 化合物 **B** 表现出很高的抗菌活性, 但对健康细胞的毒性很低, 表现较好的选择性. Huang 等^[12]报道酰肼类化合物 3-AP 及其类似物 TSC24 具有广谱有效抗肿瘤活性, 对结肠癌细胞株、胃癌细胞株、白血病细胞株等的 IC_{50} 值均在 $1 \mu\text{mol/L}$ 以内.

本课题组曾经以 3-(2-氯-4-三氟甲基苯氧基)苯甲酸为起始原料, 经酰氯化, 再与乙醇反应成酯, 然后和水合肼反应, 最后与芳香醛缩合, 合成了具有一定杀菌和

* E-mail: he1208@mail.ccnu.edu.cn; liujc@mail.ccnu.edu.cn

Received August 29, 2014; revised October 30, 2014; published online November 5, 2014.

Project supported by the National Program on Key Basic Research Project (973 Program, No. 2010CB126100), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21172090, 31000867) and the Program for Changjiang Scholars and Innovatives Research Team in University (No. IRT0953).

国家重点基础研究发展规划(973 计划, No. 2010CB126100)、国家自然科学基金(Nos. 21172090, 31000867)、教育部创新团队项目部分(No. IRT0953)资助项目.

除草活性的酰肼化合物^[13]。为进一步优化酰肼衍生物的结构与合成方法,本文应用生物活性亚结构拼接原理,将芳香醛与硫代氨基脲缩合后,在溴乙酸乙酯作用下关环,再经苯甲酰氯取代得到结构新颖的噻唑酰肼衍生物。初步研究了目标化合物的生物活性,主要侧重于抗肿瘤和杀菌活性的测试,并探讨化合物结构与生物活性的关系,为该类化合物进一步结构优化提供有价值的信息。目标化合物的合成路线见 Scheme 1。

Ar = phenyl; R = 2-Cl (**IIIa-1**), 3-Cl (**IIIa-2**), 4-Cl (**IIIa-3**), 2-F (**IIIa-4**), 4-F (**IIIa-5**), 4-CH₃ (**IIIa-6**)

Ar = 2-pyridyl; R = H (**IIIb-1**), 2-Cl (**IIIb-2**), 3-Cl (**IIIb-3**), 4-Cl (**IIIb-4**), 2-F (**IIIb-5**), 4-F (**IIIb-6**), 2-CH₃ (**IIIb-7**), 4-CH₃ (**IIIb-8**)

图式 1 目标化合物的合成

Scheme 1 Synthesis of target compounds

1 结果与讨论

1.1 合成部分

在合成噻唑烷酮中间体时,文献报道^[14]以醋酸钠作缚酸剂,乙醇作溶剂,加热回流反应 8~12 h,收率为 70%~85%。而本文在反应过程中不使用任何碱作缚酸剂,在 60 °C 恒温反应 6 h 即可完成反应,降低了反应温度,同时也缩短了反应时间。当原料为苯甲醛时,产物噻唑烷酮的水溶性较差,用 25% 的氨水中和后,

能析出大量沉淀,直接抽滤得纯度高的产品。而吡啶甲醛生成的噻唑烷酮水溶性较好,采用上述处理方法很难把杂质分离。为了更好地分离杂质,本文在反应结束后先脱除大部分溶剂,加入乙酸乙酯充分搅拌,然后抽滤,所得固体溶于水,再用 25% 的氨水中和,接着用 NaCl 进行盐析,这样得到的产品纯度和产率都较高。

1.2 结构表征

分析化合物的 ¹H NMR 数据,发现所合成的噻唑烷酮中间体的 SCH₂CO 亚甲基氢化学位移在 δ 3.5 附近,而且是单峰。而当与酰氯反应后, SCH₂CO 发生了烯醇化,生成了 SCH=CO,由噻唑烷酮转化成具有芳香性的噻唑环,此时的氢化学位移常常在 δ 7.0 附近,而且是细而高的单峰。在 δ 7.20~8.60 之间的多重峰是芳环上氢的吸收信号,氢原子个数与预期一致。目标化合物的红外光谱中,所有特征基团均有明显的吸收,在波数为 2920~3200 cm⁻¹ 之间有两个中等强度的 thiazole-H 及 Ar-H 的伸缩振动吸收峰。酯基的羰基(C=O)在波数为 1730~1760 cm⁻¹ 之间有一个很强的吸收峰,而酰胺的羰基(C=O)在波数为 1650~1680 cm⁻¹ 之间有一个很强的吸收峰,脲键的 C=N 吸收峰在 1580~1610 cm⁻¹ 区间有较强的吸收峰。苯环骨架伸缩振动在波数为 1500~1560 cm⁻¹ 之间有一个宽而强的吸收峰,噻唑环的骨架伸缩振动在 1236~1280 cm⁻¹ 之间有一至两个宽而强的吸收峰。质谱数据可以看出目标分子均有正常的分子离子峰,而且元素分析数据的理论值与计算值也符合得很好,其相对误差基本在 0.5% 范围内。

1.3 化合物的抗肿瘤活性

测试靶标: 人口腔上皮癌细胞株(KB); 鼻咽癌细胞株(CNE2)。测试方法为噻唑蓝(MTT)体外细胞毒测试法,测试结果见表 1。

表 1 化合物的抗肿瘤活性数据^a

Table 1 The anticancer activity of target compounds

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)		化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	
	KB	CNE2		KB	CNE2
IIIa-1	>50	>50	IIIb-1	5.01	10.1
IIIa-2	43.2	>50	IIIb-2	10.7	15.8
IIIa-3	36.0	>50	IIIb-3	5.64	16.4
IIIa-4	27.6	>50	IIIb-4	6.30	9.71
IIIa-5	23.7	>50	IIIb-5	5.63	12.7
IIIa-6	21.2	40.5	IIIb-7	16.0	20.9
5-FU	11.9	13.1	IIIb-8	33.1	45.9

^a本测试活性数据由中山大学肿瘤防治中心提供。

抗肿瘤活性测试表明, **IIIa** 系列化合物对 KB 的抑制活性明显高于对 CNE2 的抑制活性。当 R 为 4-CH₃ (**IIIa-6**) 对所测试的两种肿瘤细胞均有一定的抑制活性,其 IC₅₀ 值分别为 21.2, 40.5 μmol/L。R 为 2-F 时对 KB 的

抑制率高于 2-Cl 取代的目标化合物。IIIb 系列化合物与 IIIa 系列化合物相比, 抗肿瘤活性显著提高了, 说明当与 N=C 相连的芳环表现出很强的缺电子性质时能提高抗肿瘤活性。其中化合物 IIIb-4 (R 为 4-Cl) 表现出最好的抗肿瘤活性, 其对 KB, CNE2 的抑制值 IC_{50} 分别为 6.30, 9.71 $\mu\text{mol/L}$, 均比对照药 5-氟尿嘧啶的活性高。

1.4 化合物的杀菌活性

将目标化合物配制浓度为 1.0×10^{-4} g/mL 药液, 采用离体平皿测定法测试目标化合物的杀菌活性, 测试靶标为: 小麦赤霉菌(*Gibberella zeae*), 水稻纹枯霉菌(*Thanatephorus cucumeris*), 黄瓜灰霉菌(*Botrytis cinerea*), 番茄早疫菌(*Alternaria solani*), 烟草赤星菌(*Alternaria alternata*), 黄瓜炭疽(*Colletotrichum orbiculare*)。测试结果见表 2。

表 2 化合物的杀菌活性数据(抑制率%)^a

Table 2 The fungicidal activity of target compounds (inhibition rate/%)

化合物	小麦赤霉菌	水稻纹枯菌	黄瓜灰霉菌	番茄早疫菌	烟草赤星菌	黄瓜炭疽菌
IIIa-1	0	0	53	22	20	56
IIIa-2	0	0	21	0	0	48
IIIa-4	0	0	30	32	0	45
IIIa-5	0	0	21	0	0	29
IIIa-6	0	56	91	21	0	37
IIIb-1	49	28	53	49	39	37
IIIb-2	31	47	49	60	60	46
IIIb-3	0	24	32	27	25	34
IIIb-4	0	33	45	60	28	40
IIIb-5	38	0	49	23	32	31
IIIb-6	0	21	48	0	0	31
IIIb-7	0	61	45	29	32	34
IIIb-8	0	27	45	21	39	34
苯醚甲环唑	96	95	95	100	95	100
多菌灵	100	100	8	0	0	100
丙环唑	96	100	100	100	100	100
啉菌酯	29	0	0	43	20	100

^a 本测试活性数据由中国科学院上海有机化学研究所提供。

杀菌活性测试结果表明, 目标化合物对黄瓜灰霉病和黄瓜炭疽病有一定的防效, 对小麦赤霉病基本没有抑制活性。其中化合物 IIIa-6 (R 为 4-CH₃) 对黄瓜灰霉病的抑制率达 91%, 与对照药丙环唑等比较效果尚有较大差距。将 IIIb 系列活性结果与 IIIa 系列相比可以看出, Ar 为 2-吡啶基时, 能增加目标化合物抗病菌的种类, 但增幅不是很明显。

2 结论

应用活性亚结构拼接原理, 设计合成了一系列新型

N'-芳基亚甲基-N-(4-取代苯甲酰氧基噻唑-2-基)取代苯甲酰胺衍生物。目标化合物的合成步骤为芳香醛与硫代氨基脲缩合、溴乙酸乙酯关环、苯甲酰氯取代, 原料简便易得, 反应条件温和, 收率良好, 而且目标化合物的骨架可变性大。初步生物活性测试结果显示, 部分化合物具有明显的抗肿瘤活性和一定的抑菌活性, 部分化合物对人口腔上皮癌细胞株(KB)和鼻咽癌细胞株(CNE2)的抑制值 IC_{50} 与对照药 5-氟尿嘧啶的数值接近, 甚至更低, 具备进一步研究的潜力。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

予华仪器厂 SHZ-D(III)型循环水式真空泵; BUCHI R-200 型旋转蒸发仪; Vario ELIII CHNSO 元素分析仪(ELEMENTAR 公司); 予华仪器有限责任公司 X-5 型显微熔点测定仪; NEXUS470 傅立叶红外光谱仪(型号 AVATAR360, NICOLET 公司)(KBr 压片); Varian NMR System 600 超导核磁共振谱仪(VARIAN 公司)(溶剂为 DMSO-*d*₆ 或 CDCl₃, 内标为 TMS), API2000LC/MS/MS 液相色谱/质谱/质谱联用仪(ABI 公司)。所用试剂均为化学纯或分析纯, 乙腈、三乙胺使用前经无水处理, 柱层析硅胶规格为(谱科)柱层析硅胶 200~300 目。

3.2 中间体的制备

中间体苯亚甲基硫代氨基脲(Ia)、吡啶亚甲基硫代氨基脲(IIb)及苯亚甲基-N-(4-噻唑烷酮-2-基)脲(IIa)的合成参见文献[14, 15]。

中间体吡啶亚甲基-N-(4-噻唑烷酮-2-基)脲(IIb)的合成: 150 mL 无水乙醇和 5.40 g Ia (30 mmol)先后加入 250 mL 单颈圆底烧瓶, 冰浴中充分冷却, 滴加 5.51 g (33 mmol)溴乙酸乙酯, 约 10 min 滴加完毕。缓慢升温至 60 °C, 反应 6 h, TLC 监测反应完毕。待反应液冷却至室温, 脱除 50% 的溶剂, 然后加入 50 mL 乙酸乙酯充分搅拌均匀, 抽滤, 适量乙酸乙酯洗涤滤饼, TLC 监测滤饼纯度。接着将滤饼溶于 50 mL 水中, 用冰水浴冷却, 用 25% 的氨水调节 pH 至 8~9。抽滤, 适量饱和食盐水洗涤滤饼, 再用 30 mL 乙酸乙酯洗涤滤饼, 烘干得到 IIb。黄色固体, 收率 60%。m.p. 213~215 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ : 3.44 (s, 2H, SCH₂CO), 7.28~8.54 (m, 4H, pyridin-H), 8.14 (s, 1H, =CH), 12.01 (br, 1H, NH)。

3.3 目标化合物的制备

2 mmol IIa、20 mL 无水乙腈、0.81 g (8 mmol)三乙胺先后加入 50 mL 单颈圆底烧瓶, 冰浴冷却, 缓慢滴加(取代)苯甲酰氯(4.5 mmol), 约 15 min 滴加完毕。待冰融

化并缓慢升至室温, 搅拌反应 36 h, TLC 监测反应完毕. 然后往反应瓶加入 10 mL 饱和食盐水, 转入分液漏斗, 水相用乙酸乙酯 30 mL 分两次萃取. 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 脱溶, 然后进行硅胶柱层析 [$V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 4$], 得目标产物 **IIIa-1**. 类似方法得到其他目标化合物.

N'-苯基亚甲基-*N*-[4-(2-氯苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-2-氯苯甲酰胺(**IIIa-1**): 淡黄色固体, 产率 62%. m.p. 108~110 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 7.18 (s, 1H, thiazole-H), 7.28~8.12 (m, 13H, ArH), 9.05 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3125, 2931, 1740, 1666, 1572, 1535, 1322, 1236, 1135, 1040 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 496 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 58.07, H 3.05, N 8.47; found C 58.21, H 3.01, N, 8.33.

N'-苯基亚甲基-*N*-[4-(3-氯苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-3-氯苯甲酰胺(**IIIa-2**): 淡黄色固体, 产率 72%. m.p. 133~135 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 7.17 (s, 1H, thiazole-H), 7.37~8.12 (m, 13H, ArH), 8.87 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3159, 1742, 1669, 1574, 1526, 1323, 1277, 1248, 1160, 1076 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 496 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 58.07, H 3.05, N 8.47; found C 58.14, H 3.10, N 8.27.

N'-苯基亚甲基-*N*-[4-(4-氯苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-4-氯苯甲酰胺(**IIIa-3**): 黄色固体, 产率 50%. m.p. 170~172 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 7.17 (s, 1H, thiazole-H), 7.38~8.17 (m, 13H, ArH), 8.84 (s, 1H, =CH); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 150 MHz) δ : 176.0, 165.8, 162.6, 153.3, 148.7, 139.1, 135.9, 134.9, 131.7, 131.6, 131.4, 130.1, 129.0, 128.4, 127.9, 127.2, 126.5, 100.0; IR (KBr) ν : 2956, 1741, 1659, 1574, 1524, 1323, 1265, 1160, 1016 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 496 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 58.07, H 3.05, N 8.47; found C 57.98, H 3.07, N 8.12.

N'-苯基亚甲基-*N*-[4-(2-氟苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-2-氟苯甲酰胺(**IIIa-4**): 淡黄色固体, 产率 59%. m.p. 84~86 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 7.15 (s, 1H, thiazole-H), 7.17~8.16 (m, 13H, ArH), 9.05 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3128, 1747, 1677, 1582, 1538, 1324, 1243, 1146, 1049 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 464 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ (463.5): C 62.20, H 3.26, N 9.07; found C 62.46, H 3.09, N 8.89.

N'-苯基亚甲基-*N*-[4-(4-氟苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-4-氟苯甲酰胺(**IIIa-5**): 淡黄色固体, 产率 49%. m.p. 132~134 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 7.14 (s, 1H, thiazole-H), 7.19~8.26 (m, 13H, ArH), 8.84 (s, 1H,

=CH); IR (KBr) ν : 3167, 1746, 1670, 1602, 1523, 1321, 1238, 1154, 1081 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 464 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 62.20, H 3.26, N 9.07; found C 62.37, H 3.19, N 8.73.

N'-苯基亚甲基-*N*-[4-(4-甲基苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-4-甲基苯甲酰胺(**IIIa-6**): 淡黄色固体, 产率 46%. m.p. 140~143 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.44 (s, 3H, CH_3), 7.14 (s, 1H, thiazole-H), 7.24~8.12 (m, 13H, ArH), 8.81 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3150, 1740, 1669, 1573, 1522, 1262, 1242, 1153, 1075 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 456 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 68.55, H 4.65, N 9.22; found C 68.77, H 4.53, N 9.15.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-(4-苯甲酰氧基噻唑-2-基)-苯甲酰胺(**IIIb-1**): 棕色固体, 产率 42%. m.p. 137~139 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz) δ : 7.62 (s, 1H, thiazole-H), 7.23~7.86 (m, 10H, ArH), 7.66~8.62 (m, 4H, pyridin-H), 8.65 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3120, 1730, 1670, 1600, 1471, 1287, 1245, 1178, 1143, 1068 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 429 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: C 64.47, H 3.76, N 13.08; found C 64.92, H 3.90, N 12.97.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-(4-(2-氯苯甲酰氧基)噻唑-2-基)-2-氯苯甲酰胺(**IIIb-2**): 灰白色固体, 产率 53%. m.p. 124~126 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz) δ : 7.69 (s, 1H, thiazole-H), 7.27~7.74 (m, 8H, ArH), 7.45~8.61 (m, 4H, pyridin-H), 8.75 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3119, 1751, 1696, 1585, 1527, 1290, 1236, 1166, 1089 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 497 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: C 55.54, H 2.84, N 11.26; found C 55.91, H 3.01, N 11.21.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-[4-(3-氯苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-3-氯苯甲酰胺(**IIIb-3**): 灰黄色固体, 产率 38%. m.p. 121~122 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz) δ : 7.69 (s, 1H, thiazole-H), 7.27~7.74 (m, 8H, ArH), 7.43~8.60 (m, 4H, pyridin-H), 8.75 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3138, 2926, 1743, 1683, 1577, 1524, 1284, 1255, 1141, 1071 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 497 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: C 55.54, H 2.84, N 11.26; found C 56.01, H 2.70, N 10.87.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-[4-(4-氯苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-4-氯苯甲酰胺(**IIIb-4**): 淡黄色固体, 产率 42%. m.p. 152~154 °C; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz) δ : 7.69 (s, 1H, thiazole-H), 7.27~7.74 (m, 8H, ArH), 7.42~8.61 (m, 4H, pyridin-H), 8.75 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3165, 1744, 1673, 1590, 1524, 1259, 1177, 1152, 1088, 1015 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 497 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Anal. calcd for

$C_{23}H_{14}Cl_2N_4O_3S$: C 55.54, H 2.84, N 11.26; found C 55.89, H 3.02, N 11.06.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-[4-(2-氟苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-2-氟苯甲酰胺(**IIIb-5**): 灰白色固体, 产率 51%. m.p. 120~123 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ : 7.70 (s, 1H, thiazole-H), 7.40~7.84 (m, 8H, ArH), 7.66~8.63 (m, 4H, pyridin-H), 8.73 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3144, 1749, 1679, 1612, 1581, 1516, 1284, 1242, 1132, 1067 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 464 $[M+H]^+$. Anal. calcd for $C_{23}H_{14}F_2N_4O_3S$: C 59.48, H 3.04, N 12.06; found C 59.87, H 3.20, N 12.02.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-[4-(4-氟苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-4-氟苯甲酰胺(**IIIb-6**): 灰白色固体, 产率 39%, m.p. 164~166 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ : 7.62 (s, 1H, thiazole-H), 7.37~7.95 (m, 8H, ArH), 7.63~8.60 (m, 4H, pyridin-H), 8.63 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3127, 1746, 1671, 1602, 1579, 1524, 1264, 1236, 1129, 1071 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 464 $[M+H]^+$. Anal. calcd for $C_{23}H_{14}F_2N_4O_3S$: C 59.48, H 3.04, N 12.06; found C 59.30, H 3.13, N 11.66.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-(4-(2-甲基苯甲酰氧基)噻唑-2-基)-2-甲基苯甲酰胺(**IIIb-7**): 灰白色固体, 产率 47%. m.p. 103~105 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ : 2.31 (s, 3H, CH_3), 2.54 (s, 3H, CH_3), 7.61 (s, 1H, thiazole-H), 7.31~7.63 (m, 8H, ArH), 7.50~8.59 (m, 4H, pyridin-H), 8.68 (s, 1H, =CH); IR (KBr) ν : 3138, 1735, 1679, 1604, 1579, 1522, 1284, 1239, 1134, 1073 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 456 $[M+H]^+$. Anal. calcd for $C_{25}H_{20}N_4O_3S$: C 65.77, H 4.42, N 12.27; found C 65.98, H 4.70, N 12.18.

N'-2-吡啶亚甲基-*N*-[4-(4-甲基苯甲酰氧基)噻唑-2-基]-4-甲基苯甲酰胺(**IIIb-8**): 灰白色固体, 产率 46%. m.p. 152~154 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ : 2.39 (s, 3H, CH_3), 2.42 (s, 3H, CH_3), 7.59 (s, 1H, thiazole-H), 7.34~7.76 (m, 8H, ArH), 7.46~8.63 (m, 4H, pyridin-H), 8.60 (s, 1H, =CH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ : 168.9, 163.2, 153.4, 151.7, 151.6, 149.6, 149.4, 144.8, 141.4, 136.8, 129.8, 129.6, 129.3, 128.0, 124.9, 124.6, 120.0, 105.2, 20.9, 20.7; IR (KBr) ν : 3116, 1738, 1668, 1609, 1580, 1539, 1287, 1255, 1213, 1178, 1153, 1064 cm^{-1} ; MS (ESI) m/z : 456 $[M+H]^+$. Anal. calcd for $C_{25}H_{20}N_4O_3S$: C 65.77, H 4.42, N 12.27; found C 66.25, H 4.33, N 12.14.

3.4 化合物的生物活性测试

采用离体平皿测定法测试目标化合物的杀菌活性, 具体方法参照文献[13]. 抗肿瘤活性用 MTT 体外细胞毒

测试法: 取对数生长期的人癌细胞制成 2×10^4 个细胞/mL 的细胞悬液, 按 0.19 mL/孔接种到 96 孔板中, 在 37 °C、5% CO_2 培养 24 h 后, 按 0.01 mL/孔加入不同浓度的样品溶液, 另设生理盐水对照孔, 每个浓度设 4 个平行孔, 加药后再培养 72 h, 培养结束前 3 h 按 0.01 mL/孔加入浓度为 10 mg/mL 的 MTT, 培养结束时吸出培养液, 每孔加 0.1 mL 的 DMSO, 于测量波长 540 nm、参比波长 655 nm 下测量 OD 值. 按下式计算细胞生长抑制率 (IR), 以简化概率单位法计算半数抑制浓度 (IC_{50}): $IR(\%) = [(1 - \text{加药组平均 OD 值}) / \text{对照组平均 OD 值}] \times 100\%$.

辅助材料(Supporting Information) 所有目标化合物的 1H NMR, 化合物 **IIIb-1**、**IIIb-3**、**IIIb-4** 的 IR 谱图和化合物 **IIIb-8** 的 ^{13}C NMR 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Dayam, R.; Sanchez, T.; Clement, O.; Shoemaker, R.; Sei, S.; Ne-amati, N. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 111.
- [2] Li, F. Y.; Zhu, Q. Z.; Zhang, Y.; Feng, Y.; Leng, Y.; Zhang, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3875.
- [3] Samir, B.; Wesam, K.; Ahmed, A. F. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 948.
- [4] Maienfisch, P.; Angst, M.; Brandl, F.; Fischer, W.; Hofer, D.; Kayser, H.; Kobel, W.; Rindlisbacher, A.; Senn, R.; Steinemann, A.; Widmer, H. *Pest Manage. Sci.* **2001**, *57*, 906.
- [5] Liu, J. C.; Liang, Y.; He, H. W. *Chin. Chem. Lett.* **2013**, *24*, 233.
- [6] Liu, J. C.; Liang, Y.; He, H. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 1945 (in Chinese).
(刘建超, 梁英, 贺红武, 有机化学, **2013**, *33*, 1945.)
- [7] Hay, M. P.; Turcotte, S.; Flanagan, J. U.; Bonnet, M.; Chan, D. A.; Sutphin, P. D.; Nguyen, P.; Giaccia, A. J.; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 787.
- [8] Sahar, M. A. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4113.
- [9] French, K.; Schrecengost, R. S.; Lee, B. D.; Kevin J.; French, K. J.; Schrecengost, R. S.; Lee, B. D.; Zhuang, Y.; Smith, S. N.; Eberly, J. L.; Yun, J. K.; Smith, C. D. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 5962.
- [10] Kumar, D.; Judge, V.; Narang, R.; Sangwan, S.; Clercq, E. D.; Balzarini, J.; Narasimhan, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2806.
- [11] Gülhan, T. Z.; Zafer, A. K.; Ahmet, Ö. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2085.
- [12] Huang, H.; Chen, Q.; Ku, X.; Meng, L.; Lin, L.; Wang, X.; Zhu, C.; Wang, Y.; Chen, Z.; Li, M.; Jiang, H.; Chen, K.; Ding J.; Liu, H. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3048.
- [13] Liu, J. C.; Cui, Z. P.; He, H. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1925 (in Chinese).
(刘建超, 崔泽平, 贺红武, 有机化学, **2012**, *32*, 1925.)
- [14] Lv, P. C.; Zhou, C. F.; Chen, J.; Liu, P. G.; Wang, K. R.; Mao, W. J.; Li, H. Q.; Yang, Y.; Xiong, J.; Zhu, H. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 314.
- [15] Leite, A. C. L.; Lima, R. S. D.; Moreira, D. R. D. M.; Cardoso, M. V. D. O.; Brito, A. C. G. D.; Santos, L. M. F. D.; Hernandez, M. Z.; Kiperstok, A. C.; Lima, R. S. D.; Soares, M. B. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3749.

(Zhao, X.)