2,4,6-三取代嘧啶衍生物的合成及体外抗肿瘤活性研究

宋攀攀^{a,b} 栗娜^{a,b} 崔飞^{a,b} 辛景超^{a,b} 张孝松^{a,b}
曹钦坡^{a,b} 王超杰^{a,b} 戴文杰^a 孟祥川^a 刘梦^a
常通航^a 柳晴怡^a 孙月红^a 可钰^{*,a,b}
张秋荣^{*,a,b} 刘宏民^{*,a,b}

(^a 郑州大学药学院 郑州 450001)

(^b 新药创制与药物安全性评价河南省协同创新中心 郑州 450001)

摘要 为了寻找更高效、更经济的抗肿瘤药物,以乙酰乙酸乙酯和苯甲酰乙酸乙酯为起始原料,经环合、取代、氯代等反应合成了一系列具有查尔酮官能团的 2,4,6-三取代嘧啶衍生物,共 40 个化合物。这些目标化合物的分子结构均经过 ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 确证,并利用 CCK-8 方法测试它们对 MGC-803 人胃癌细胞、HepG-2 人肝癌细胞、EC-109 人食管癌细胞和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞四种人类癌细胞系的抗肿瘤活性研究。其中 *N*-(3,4,5-三甲氧苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13u**)对 MGC-803 和 MDA-MB-231 细胞株抗肿瘤活性要优于对照品 5-氟尿嘧啶,其 IC₅₀ 值分别为 0.99 和 1.77 μmol·L⁻¹。

关键词 2,4,6-三取代嘧啶; 查尔酮; 抗肿瘤

Synthesis and Antitumor Activity Evaluation of 2,4,6-Trisubstituted Pyrimidine Derivatives

Song, Panpan^{a,b} Li, Na^{a,b} Cui, Fei^{a,b} Xin, Jingchao^{a,b} Zhang, Xiaosong^{a,b}
Cao, Qinpo^{a,b} Wang, Chaojie^{a,b} Dai, Wenjie^a Meng, Xiangchuan^a
Liu, Meng^a Chang, Tonghang^a Liu, Qingyi^a Sun, Yuehong^a
Ke, Yu^{*,a,b} Zhang, Qirong^{*,a,b} Liu, Hongmin^{*,a,b}

(^a School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

(^b Collaborative Innovation Center of New Drug Research and Safety Evaluation, Zhengzhou 450001)

Abstract With the aim of obtaining potential antitumor candidates with more efficiency and more economic value, 40 2,4,6-trisubstituted pyrimidine derivatives bearing chalcone moiety were synthesized via cyclization, chlorination, substitution with benzoylacetate and ethylacetoacetate as the starting materials. The structures of target products were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. 2,4,6-Trisubstituted pyrimidine derivatives bearing chalcone moiety were evaluated for anti-cancer activity on four human cancer cell lines including EC-109, MGC-803, HepG-2 and MDA-MB-231 by CCK-8 (cell counting Kit-8) assay. Among them, (*E*)-1-(4-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)methyl)thio)-6-methylpyrimidin-4-yl)amino)-phenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one (**13u**) were more cytotoxic against MGC-803 and MDA-MB-231 cell lines, with IC₅₀ values of 0.99 and 1.77 μmol·L⁻¹, respectively.

Keywords 2,4,6-trisubstituted pyrimidine; chalcone; antitumor

根据由世界卫生组织下属的官方癌症机构国际癌症研究中心(IARC)编撰最新版的《世界癌症报告》预测,

全球癌症病例将呈现迅猛增长态势,将由 2012 年的 1400 万人,逐年递增至 2025 年的 1900 万人,到 2035

* Corresponding authors. E-mail: ky@zzu.edu.cn; zqr406@sina.com; liuhm@zzu.edu.cn

Received May 8, 2017; revised May 23, 2017; published online June 7, 2017.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81430085) and the Research Project of Science and Technology Bureau of Zhengzhou City (No.141PQYJS554).

国家自然科学基金(No. 81430085)和郑州市科技局科研(No. 141PQYJS554)资助项目。

年将达到 2400 万人. 2015 年, 美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准了 45 种新药, 其中 14 例 (31.11%) 用于治疗癌症^[1]. 嘧啶杂环类化合物广泛地存在于自然界生物体内, 参与不同的生命活动, 是一种特别重要的生物内源物质, 对生物体的生命活动起到重要作用. 通常具有嘧啶环结构单元的化合物分子都具有广泛的生物和药理活性, 例如具有抗肿瘤作用的 5-氟尿嘧啶, 具有抗人类免疫缺陷病毒 (HIV) 的齐多夫定、具有抗病毒作用的碘苷、具有抗菌作用的美替普林和溴莫普林、具有抗甲状腺的丙硫氧嘧啶以及具有镇静和抗惊厥作用的苯巴比妥等^[2,3]. 因此, 嘧啶作为药物分子设计和合成的基本砌块已引起人们的广泛关注, 目前仍是新药分子设计、合成与生物活性研究中的一个十分活跃的领域. 许多论文报道, 嘧啶衍生物具有良好的抗癌活性^[4~7]. 1957 年, Duschinsky 等^[8]首次合成了第一代氟化嘧啶药物 5-氟尿嘧啶(1), 这对于肿瘤化疗治疗具有划时代的意义, 是现代癌症化疗的重要里程碑. 1967 年, 人类首次合成了可以口服的非肿瘤选择性药物替加氟(2). 1992 年肿瘤内激活的靶向性口服药物氟尿苷(3)和卡培他滨(4)等都已经成功上市(图 1)^[9,10].

图 1 嘧啶类抗肿瘤药物的结构式
Figure 1 Structures of pyrimidines antitumor

另一方面, 查尔酮(5)是由烯酮连接的两个芳环构成, 其结构的特殊性导致其具有柔性, 从而能与不同的生物受体结合, 也正是基于这个原因以及其本身的生物活性, 无数的科研工作者将之应用于各类药物的研究中, 得到了意想不到的成效, 尤其在抗肿瘤、抗疟疾、抗 HIV、抗菌、食用等方面得到了令人惊喜的研究成果与进展^[11~14]. Sharma 等^[15]设计合成了一系列吡啶基查尔酮类衍生物, 并对其体外抗肿瘤活性进行评价, 活性较好的化合物 6 和化合物 7 (图 2) 对 PaCa-2 癌细胞系的 IC₅₀ 值分别为 0.03 和 0.09 $\mu\text{mol/L}$, 且具有良好的选择

性, 被认为是最具有潜力的抗癌药物. 鉴于此, 我们根据生物活性亚结构拼接原理, 以嘧啶环为基本母核, 设计并合成了一系列具有查尔酮官能团的 2,4,6-三取代嘧啶衍生物 (Scheme 1), 并通过有效的合成途径将取代基 R¹ 引入到 C-6 位, R² 引入到 C-4 位, 进一步在体外评价了其对人类癌细胞系 MGC-803 人胃癌细胞系、HepG-2 人肝癌细胞系、EC-109 人食管癌细胞系和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞系的细胞毒性.

图 2 查尔酮类衍生物的结构式
Figure 2 Structures of chalcone derivatives

图式 1 2,4,6-三取代嘧啶衍生物的合成路线
Scheme 1 Synthesis of 2,4,6-trisubstituted pyrimidine

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

目标化合物以乙酰乙酸乙酯或苯甲酰基乙酸乙酯

为起始原料经四步反应获得. 合成路线如 Scheme 1 所示, 我们以苯甲酰乙酸乙酯(**8a**)或乙酰乙酸乙酯(**8b**)和硫脲为起始原料, 以无水乙醇为溶剂, 在氢氧化钾存在条件下, 85 °C回流 5 h 发生环合反应, 以较高的产率合成了化合物 **9a** 和 **9b**, 进而以水和 1,4-二氧六环为混合溶剂, 将 **9a** 和 **9b** 与 2-氯亚甲基-1*H*-苯并[*d*]咪唑缩合得到化合物 **10a**, **10b**. 随后以 POCl₃ 和 PCl₃ 作为氯代试剂, 化合物 **10a**, **10b** 发生氯代反应, 得到化合物 **11a**,

11b^[16,17]. 然后将高活化中间体 **11a** 和 **11b** 与不同取代的查尔酮反应, 分别得到化合物 **12a~12o** 和 **13a~13y**.

1.2 化合物的生物活性分析

采用 CCK-8^[18]比色法考察 40 个目标化合物对体外培养的四种癌细胞 MGC-803 人胃癌细胞、HepG-2 人肝癌细胞、EC-109 人食管癌细胞和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞生长的抑制作用(表 1).

表 1 化合物 **12a~12o** 和 **13a~13y** 的抗肿瘤活性[IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]^a
Table 1 Antitumor activity [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)] of target compounds **12a~12o** and **13a~13y**

Compd.	R ¹	R ²	MGC-803	HepG-2	EC-109	MDA-MB-231
12a	Ph	H	>100	33.90±1.60	36.66±1.02	>100
12b	Ph	2-F	>100	>100	>100	>100
12c	Ph	3-F	>100	>100	>100	>100
12d	Ph	4-F	>100	20.39±1.67	55.37±1.65	>100
12e	Ph	3,4-F ₂	>100	>100	>100	10.89±0.22
12f	Ph	3,5-F ₂	21.67±0.87	27.69±0.63	18.70±0.94	4.11±0.34
12g	Ph	4-Cl	>100	>100	23.00±1.24	19.90±1.13
12h	Ph	3,5-Cl ₂	24.82±1.32	9.75±1.81	20.67±1.26	6.45±0.65
12i	Ph	2-Br	65.83±1.65	76.35±1.85	>100	16.90±0.64
12j	Ph	3-Br	>100	44.50±1.36	>100	>100
12k	Ph	4-Br	>100	>100	>100	>100
12l	Ph	3,5-(OCH ₃) ₂	>100	>100	>100	>100
12m	Ph	4-HO	>100	>100	>100	>100
12n	Ph	3-NO ₂	>100	>100	>100	>100
12o	Ph	2-Thienyl	>100	>100	>100	45.86±1.54
13a	CH ₃	H	>100	>100	>100	>100
13b	CH ₃	2-F	40.12±1.36	31.46±1.14	44.50±0.90	19.99±0.65
13c	CH ₃	3-F	5.45±1.85	20.67±1.38	19.24±1.35	8.86±1.27
13d	CH ₃	4-F	7.01±0.09	9.92±0.36	10.87±0.99	9.99±0.86
13e	CH ₃	3,4-F ₂	13.42±0.50	13.41±0.52	19.80±1.20	15.00±0.71
13f	CH ₃	3,5-F ₂	7.15±1.43	8.37±0.97	14.41±0.94	2.63±0.46
13g	CH ₃	4-Cl	>100	>100	>100	33.08±0.58
13h	CH ₃	2,4-Cl ₂	9.85±0.96	33.33±0.33	40.29±0.69	8.68±0.08
13i	CH ₃	2,5-Cl ₂	>100	82.59±0.62	>100	31.03±0.55
13j	CH ₃	3,5-Cl ₂	25.45±1.11	>100	>100	>100
13k	CH ₃	2-Br	19.14±1.11	6.80±1.05	25.90±1.22	2.83±0.88
13l	CH ₃	3-Br	20.64±0.79	4.89±1.21	22.72±0.93	10.67±0.66
13m	CH ₃	4-Br	3.19±0.07	10.05±0.06	11.99±1.19	12.46±0.66
13n	CH ₃	2-F-4-Br	7.61±1.24	28.53±1.74	17.04±1.26	17.50±1.03
13o	CH ₃	4-F-3-Br	2.90±1.36	15.94±1.35	23.17±1.37	6.69±0.76
13p	CH ₃	4-CH ₃	14.60±1.13	24.19±0.80	33.11±1.19	17.94±0.87
13q	CH ₃	4-CH(CH ₃) ₂	41.71±1.07	35.54±1.23	50.21±1.36	48.73±0.12
13r	CH ₃	4-C(CH ₃) ₃	15.95±1.84	36.41±1.88	25.00±0.83	10.91±0.08
13s	CH ₃	3-HO	13.67±0.23	18.66±0.91	20.76±1.05	6.77±0.84
13t	CH ₃	2,3-(OCH ₃) ₂	10.62±0.95	18.33±1.31	58.80±1.52	25.85±1.43
13u	CH ₃	3,4,5-(OCH ₃) ₃	0.99±0.19	21.19±0.86	20.43±1.04	1.77±0.27
13v	CH ₃	4-OH-3-OCH ₃	37.88±1.40	>100	>100	>100
13w	CH ₃	3-NO ₂	1.43±0.15	2.20±0.38	16.71±0.51	3.02±0.21
13x	CH ₃	2-Thienyl	4.05±0.51	5.27±0.88	12.80±0.64	1.05±0.14
13y	CH ₃	2-Furyl	3.49±0.69	13.05±0.85	23.67±1.30	2.14±0.21
5-Fu ^b			7.96±0.87	10.36±0.28	16.64±1.12	6.58±0.38

^a Antitumor activity was assayed by exposure for 72 h to substances and expressed as concentration required to inhibit tumor cell proliferation by 50% (IC₅₀). Dates are presented as the means±SDs of three independent experiments. ^b Positive control.

从表1中的数据可以得出, 化合物 **12a~12o** 中绝大多数对这四种肿瘤细胞都不具有抑制活性, 遂将 R^1 上的苯基取代基(**12a~12o**)改造为甲基取代基(**13a~13y**)期待得到活性更好的化合物. 由化合物 **12a~12o** 和 **13a~13y** 的生物活性结果可以看出, **13a~13y** 大多数化合物对以上四种癌细胞系均有良好的抑制活性, 尤其是对于 MGC-803, MDA-MB-231 这两个癌细胞株活性更佳. 通过对比, 影响此类化合物生物活性的重要因素除了查尔酮结构中 B 环上的取代基之外, 嘧啶环上 6 位取代基对其活性影响特别大, 是决定其生物活性尤其是抗肿瘤活性的关键因素. 当 $R^1 = \text{CH}_3$ 时的生物活性明显优于 $R^1 = \text{Ph}$ 时的生物活性, 说明嘧啶环上 6 位小体积的给电子取代基团更有利于化合物抗肿瘤活性的表达. 当 $R^1 = \text{CH}_3$ 时, (1)比较化合物 **13a** 与其他化合物, 发现查尔酮结构 B 环上没有取代基时无活性, 存在取代基有利于其活性的提高; (2)比较化合物 **13p**, **13q**, **13r** 和 **13m**, **13d**, 发现当查尔酮 B 环的对位为吸电子基团的卤素时, 更有利于化合物抗肿瘤活性的表达; (3)分别比较 **13d**, **13f** 与之对应的 **13g**, **13j**, 发现同为吸电子基团取代, F 原子活性要较 Cl 原子取代时高; (4)比较 **13h** 和 **13i**, **13j**, 同为查尔酮 B 环二氯取代, 氯原子在邻对位时活性优于在邻位、间位或全在间位的化合物; (5)化合物 **13d** 和 **13m** 的抗肿瘤活性优于 **13b**, **13c** 和 **13k**, **13l**, 说明同为吸电子卤素单取代时, 取代基处于对位时要优于邻位和间位; (6)以化合物 **13x**, **13y** 作为尝试, 将查尔酮的 B 环变成 2-噻吩环或 2-呋喃环, 发现这种 5 元杂环对于抗肿瘤活性是有利的. 由体外抗肿瘤活性评价实验结果发现, 其中化合物 **13f**, **13u**, **13w**, **13x** 对上述四种癌细胞的抑制作用均优于或接近阳性对照 5-氟尿嘧啶. 其中化合物 **13x**, 对以上四种细胞的 IC_{50} 值分别为 4.05, 5.27, 12.80 和 $1.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 化合物 **13u** 对 MGC-803 和 MDA-MB-231 细胞株的 IC_{50} 值分别为 0.99 和 $1.77 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

2 结论

设计并制备具有查尔酮官能团的 2,4,6-三取代嘧啶衍生物, 利用核磁共振氢谱、核磁共振碳谱和高分辨质谱等技术证实了目标化合物的结构. 运用 CCK-8 比色法测定了目标化合物对人类四种癌细胞 MGC-803 人胃癌细胞、HepG2 人肝癌细胞、EC-109 人食管癌细胞和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的抗肿瘤活性, 其中化合物 **13u** 对 MGC-803 和 MDA-MB-231 细胞株抗肿瘤活性要优于 5-氟尿嘧啶, 其 IC_{50} 值分别为 0.99 和 $1.77 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱使用瑞典 Bruker 公司 DPX-400 型超导核磁共振仪测定, TMS 为内标; 高分辨质谱使用美国 Waters-Micromass 公司 Q-TofMicro 高分辨四极杆-飞行时间串联质谱仪测定. 薄层硅胶: 中国青岛海洋化工集团公司, 柱层析硅胶: 上海五四化学试剂厂, 氯乙酰氯: 天津市密欧化学试剂有限公司, 氢氧化钾: 天津市化学试剂供销公司, 盐酸: 天津市永大化学试剂有限公司, 无水乙醇: 天津市化学试剂供销公司, 1,4-二氧六环: 西陇化工有限公司. 本实验分离纯化所用有机溶剂均为工业级, 经重新蒸馏后使用, 其他试剂均为市售分析纯, 必要时做常规处理.

3.2 实验方法

3.2.1 中间体的合成

化合物 **9a** 和 **9b** 按照文献[16, 17]的方法制备, 化合物 **9a** 和 **9b** 按照文献[16, 17]的方法制备, 化合物 **9a** 和 **9b** 按照文献[16, 17]的方法制备, 化合物 **15** 按照文献[16, 17]的方法制备.

3.2.2 目标化合物 **12** 的合成

将化合物 **11a** (0.212 g, 0.60 mmol) 和无取代的氨基查尔酮(0.110 g, 0.50 mmol) 分别溶解于 8 mL, 2 mL 热的无水乙醇中, 升温至 90°C , 将后者缓慢滴加入加热搅拌的前者体系中, 薄层色谱法监测反应, 待反应结束后停止反应, 冷却至室温后抽滤, 滤饼用分析纯的无水乙醇洗, 经真空干燥得黄色粉末状固体 *N*-(苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12a**), 0.157 g, 收率 64.5%. m.p. $178\sim 179^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.73 (s, 1H), 8.18 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.01 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.95~7.92 (m, 2H), 7.83 (dd, $J=5.1, 3.5$ Hz, 4H), 7.77~7.72 (m, 4H), 7.48 (dd, $J=5.5, 3.6$ Hz, 8H), 7.26 (s, 1H), 5.05 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 187.20, 167.74, 161.57, 160.63, 151.75, 144.01, 143.13, 135.64, 134.82, 131.36, 131.08, 131.03, 130.79, 130.44, 130.05, 129.94, 129.16, 128.90, 128.86, 128.81, 128.32, 128.30, 126.66, 126.43, 126.33, 126.03, 125.69, 121.99, 118.71, 113.72, 99.93, 26.34; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 540.1858, found 540.1859.

化合物 **12b~12o** 的制备方法及投料比同化合物 **12a**.

N-(2-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12b**): 黄色粉末状固体, 0.151 g, 产率 55.1%. m.p. $190\sim 191^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ : 10.78 (s, 1H), 8.19 (dd, $J=15.0$, 8.3 Hz, 3H), 8.05 (d, $J=15.7$ Hz, 1H), 7.87~7.82 (m, 5H), 7.74 (dd, $J=6.2$, 3.2 Hz, 2H), 7.48 (td, $J=7.3$, 4.1 Hz, 6H), 7.35 (dd, $J=13.1$, 5.7 Hz, 2H), 7.28 (s, 1H), 5.05 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 186.90, 167.68, 162.04, 161.53, 160.55, 159.55, 151.70, 144.14, 135.57, 134.14, 132.37, 130.99, 130.72, 129.95, 128.96, 128.80, 126.36, 125.63, 124.90, 123.99, 122.42, 122.31, 118.65, 116.09, 115.88, 113.66, 99.91, 26.28; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{FN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 558.1764, found 558.1762.

N-(3-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12c**): 黄色粉末状固体, 0.059 g, 产率 30.2%. m.p. 191~192 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.62 (s, 1H), 8.20 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.06 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J=8.4$ Hz, 3H), 7.77~7.70 (m, 4H), 7.56~7.43 (m, 5H), 7.31 (td, $J=8.5$, 2.3 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 5.02 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.02, 167.75, 163.65, 161.61, 161.23, 160.55, 151.74, 144.11, 141.57, 137.40, 137.32, 135.65, 131.12, 131.00, 130.79, 130.71, 130.00, 128.79, 126.36, 125.51, 125.44, 123.38, 118.63, 117.13, 116.92, 114.64, 114.42, 113.70, 99.88, 26.36; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 558.1764, found 558.1763.

N-(4-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12d**): 黄色粉末状固体, 0.072 g, 产率 42.1%. m.p. 196~197 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.75 (s, 1H), 8.18 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.02 (dd, $J=8.6$, 5.7 Hz, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.83 (dd, $J=5.1$, 3.5 Hz, 4H), 7.77~7.72 (m, 3H), 7.48 (td, $J=7.3$, 4.3 Hz, 5H), 7.33 (t, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 5.05 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.13, 167.76, 164.55, 162.07, 161.67, 160.62, 151.80, 143.99, 141.91, 135.68, 131.53, 131.37, 131.19, 131.10, 130.80, 129.95, 128.88, 126.43, 125.72, 121.91, 118.73, 116.02, 115.80, 113.74, 99.93, 26.34; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{FN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 558.1764, found 558.1763.

N-(3,4-二氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12e**): 黄色粉末状固体, 0.092 g, 产率 50.6%. m.p. 172~174 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.74 (s, 1H), 8.19 (t, $J=9.7$ Hz, 3H), 8.05 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J=7.4$, 4.3 Hz, 4H), 7.73 (t, $J=11.3$ Hz, 4H), 7.59~7.45 (m, 7H), 7.26 (s, 1H), 5.04 (d, $J=7.9$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 196.57, 167.79, 163.87, 161.65, 161.42, 161.29, 160.52,

151.75, 144.23, 140.39, 138.62, 135.65, 131.21, 130.97, 130.74, 130.10, 128.81, 126.36, 125.42, 124.64, 118.62, 113.73, 112.72, 111.76, 111.50, 105.31, 99.90, 25.23; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 576.1760, found 576.1671.

N-(3,5-二氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12f**): 黄色粉末状固体, 0.158 g, 产率 56.6%. m.p. 222~223 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.68 (s, 1H), 8.22 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.12 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.88~7.82 (m, 4H), 7.78~7.68 (m, 5H), 7.51~7.44 (m, 5H), 7.35 (dd, $J=10.3$, 8.1 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 5.03 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 186.89, 167.79, 163.87, 161.65, 161.42, 161.29, 160.52, 151.75, 144.23, 140.39, 138.62, 135.65, 131.21, 130.97, 130.74, 130.10, 128.81, 126.36, 125.42, 124.64, 118.62, 113.73, 112.72, 111.76, 111.50, 105.31, 99.90, 26.40; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 576.1760, found 576.1769.

N-(4-氯苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12g**): 黄色粉末状固体, 0.089 g, 收率 47.6%. m.p. 209~210 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.72 (s, 1H), 8.19 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.01 (dd, $J=20.4$, 12.1 Hz, 3H), 7.83 (d, $J=8.6$ Hz, 4H), 7.75~7.71 (m, 3H), 7.56 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.51~7.45 (m, 5H), 7.26 (s, 1H), 5.05 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.08, 167.73, 161.59, 160.62, 151.74, 144.09, 141.63, 135.64, 134.89, 133.81, 131.25, 130.79, 130.51, 129.98, 128.91, 128.86, 126.43, 125.70, 122.76, 118.71, 113.73, 99.94, 26.33; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{ClN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 574.1668, found 574.1667.

N-(3,5-二氯苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12h**): 黄色粉末状固体, 0.113 g, 产率 52.2%. m.p. 253~254 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.72 (s, 1H), 8.22 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.15 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J=1.6$ Hz, 2H), 7.88~7.82 (m, 5H), 7.73 (dd, $J=6.2$, 3.2 Hz, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.68~7.66 (m, 1H), 7.49~7.45 (m, 5H), 7.25 (s, 1H), 5.03 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 191.45, 186.89, 167.83, 161.72, 160.58, 151.84, 144.31, 139.96, 138.80, 138.59, 135.71, 134.60, 133.78, 131.19, 131.04, 130.80, 130.20, 129.22, 128.86, 127.56, 127.17, 126.43, 125.54, 124.88, 118.68, 113.80, 99.98, 26.44; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 608.1078, found 608.1077.

N-(2-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12i**): 黄色粉末状固体, 0.113 g, 产率 52.2%. m.p. 253~254 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.72 (s, 1H), 8.22 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.15 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J=1.6$ Hz, 2H), 7.88~7.82 (m, 5H), 7.73 (dd, $J=6.2$, 3.2 Hz, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.68~7.66 (m, 1H), 7.49~7.45 (m, 5H), 7.25 (s, 1H), 5.03 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 191.45, 186.89, 167.83, 161.72, 160.58, 151.84, 144.31, 139.96, 138.80, 138.59, 135.71, 134.60, 133.78, 131.19, 131.04, 130.80, 130.20, 129.22, 128.86, 127.56, 127.17, 126.43, 125.54, 124.88, 118.68, 113.80, 99.98, 26.44; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 608.1078, found 608.1077.

基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12i**): 黄色粉末状固体, 0.108 g, 产率 46.0%. m.p. 198~199 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.83 (s, 1H), 8.30~8.26 (m, 1H), 8.20 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.02 (d, $J=1.6$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 7.79~7.71 (m, 4H), 7.51~7.45 (m, 6H), 7.30 (s, 1H), 5.05 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 186.94, 167.76, 161.65, 160.62, 151.76, 144.25, 140.43, 135.65, 134.07, 133.27, 132.03, 131.03, 130.79, 130.10, 128.87, 128.75, 128.23, 126.44, 125.71, 125.31, 124.87, 118.72, 113.73, 99.98, 26.34; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{BrN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 618.0963, found 618.0966.

N-(3-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12j**): 黄色粉末状固体, 0.116 g, 产率 50.7%. m.p. 204~205 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.70 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.21 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J=7.7, 3.4$ Hz, 4H), 7.73 (dd, $J=6.0, 2.9$ Hz, 3H), 7.70~7.61 (m, 2H), 7.49~7.44 (m, 6H), 7.25 (s, 1H), 5.03 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 192.00, 187.03, 167.82, 161.69, 160.61, 151.82, 144.19, 141.36, 137.67, 137.35, 135.71, 132.87, 131.54, 131.19, 131.12, 130.92, 130.79, 130.73, 130.33, 130.09, 128.86, 128.17, 126.43, 125.56, 123.48, 122.40, 121.44, 118.68, 113.78, 99.95, 26.42; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{BrN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 618.0963, found 618.0963.

N-(4-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12k**): 黄色粉末状固体, 0.153 g, 产率 60.2%. m.p. 229~230 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.68 (s, 1H), 8.18 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.04 (d, $J=15.7$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.86~7.82 (m, 4H), 7.77~7.67 (m, 6H), 7.47 (dd, $J=6.3, 3.0$ Hz, 6H), 7.24 (s, 1H), 5.03 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 187.10, 167.83, 161.72, 160.60, 151.79, 144.08, 141.74, 135.73, 134.13, 131.85, 131.27, 131.14, 130.78, 130.70, 129.99, 128.86, 126.43, 125.56, 123.76, 122.80, 118.72, 113.78, 99.93, 26.43; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{BrN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 618.0963, found 618.0963.

N-(3,5-二甲氧基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12l**): 制备方法及投料比同上, 得黄色粉末状固体化合物(0.100 g, 43.1%). m.p. 207~208 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.69 (s, 1H), 8.15 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J=9.7$ Hz, 2H), 7.84 (t, $J=7.1$ Hz, 4H), 7.73 (dd, $J=6.1, 3.1$ Hz, 2H), 7.68 (dd, $J=6.5, 2.9$ Hz, 1H), 7.51~7.45 (m, 5H), 7.25 (s, 1H), 7.21~7.16 (m, 2H), 5.03 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 3.84 (d, $J=$

14.9 Hz, 6H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 187.28, 167.79, 161.66, 160.62, 152.75, 151.81, 148.17, 144.02, 137.10, 135.70, 131.39, 130.95, 130.77, 129.90, 128.85, 128.35, 126.42, 125.64, 124.31, 122.79, 119.08, 118.72, 114.82, 113.75, 99.92, 60.98, 60.26, 55.79, 26.39; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 600.2069, found 600.2068.

N-(4-羟基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12m**): 黄色粉末状固体, 0.080 g, 产率收率 37.5%. m.p. 182~183 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.73 (d, $J=3.7$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.87~7.72 (m, 9H), 7.67 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.53~7.44 (m, 6H), 7.27 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 5.04 (d, $J=6.7$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 196.29, 187.10, 167.73, 161.55, 160.64, 160.11, 151.76, 143.86, 143.67, 135.65, 131.80, 130.85, 130.78, 129.68, 129.45, 128.86, 126.43, 125.85, 125.71, 118.71, 118.60, 118.35, 115.84, 113.74, 99.84, 26.41, 26.29; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 556.1807, found 556.1808.

N-(3-硝基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12n**): 黄色粉末状固体, 0.105 g, 产率 44.9%. m.p. 194~195 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 10.63 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.39 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.30~8.27 (m, 1H), 8.25~8.21 (m, 3H), 8.19 (s, 1H), 7.92~7.80 (m, 7H), 7.79 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.76~7.72 (m, 3H), 7.53~7.43 (m, 7H), 7.22 (s, 1H), 5.02 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 186.92, 167.77, 161.63, 160.52, 151.76, 148.32, 144.22, 140.53, 136.67, 135.64, 134.93, 131.14, 130.98, 130.72, 130.25, 130.12, 128.79, 126.35, 125.47, 124.64, 124.44, 122.87, 118.61, 113.73, 99.89, 26.38; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 585.1709, found 585.1710.

N-(2-噻吩苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-苯基嘧啶-4-胺(**12o**): 黄色粉末状固体, 0.091 g, 产率 40.8%. m.p. 204~205 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.31 (s, 1H), 10.81 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 8.28 (d, $J=4.3$ Hz, 1H), 8.03 (t, $J=9.4$ Hz, 3H), 7.93 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J=8.1, 4.6$ Hz, 3H), 7.51 (d, $J=6.5$ Hz, 3H), 7.14 (t, $J=8.4$ Hz, 3H), 7.09 (s, 1H), 4.25 (s, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 186.67, 167.88, 161.75, 160.61, 151.85, 143.91, 139.87, 135.95, 135.74, 132.59, 131.32, 131.16, 130.80, 130.19, 129.75, 128.88, 128.70, 126.43, 125.58, 120.25, 118.76, 113.79, 99.91, 26.44; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{OS}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

546.1422, found 546.1423.

3.2.3 目标化合物 **13** 的合成

将化合物 **11b** (0.174 g, 0.60 mmol) 和无取代的氨基查尔酮 (0.157 g, 0.50 mmol) 分别溶解于 8 mL, 2 mL 无水乙醇中, 升温至 90 °C, 将后者缓慢滴加入加热搅拌的前者体系中, 薄层色谱法监测反应, 待反应结束后停止反应, 冷却至室温后抽滤, 滤饼用分析纯的无水乙醇洗涤, 真空干燥得黄色粉末状固体 *N*-(苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13a**), 0.067 g, 收率 56.6%. m.p. 177~178 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.65 (s, 1H), 8.12 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 8.04~7.91 (m, 3H), 7.78~7.64 (m, 5H), 7.48 (t, *J*=4.7 Hz, 5H), 6.63 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.79, 166.24, 160.33, 151.09, 143.86, 143.25, 135.27, 132.67, 131.21, 131.00, 130.23, 129.41, 129.37, 126.16, 122.43, 120.21, 114.21, 103.02, 26.54, 21.99; HR-MS (ESI) calcd for C₂₈H₂₄N₅OS [M+H]⁺ 478.1701, found 478.1702.

化合物 **13b**~**13y** 的制备方法及投料比同化合物 **13a**.

N-(2-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13b**): 黄色粉末状固体, 0.120 g, 收率 48.4%. m.p. 178~179 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.81 (s, 1H), 8.21 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 8.06 (dd, *J*=25.3, 12.2 Hz, 2H), 7.87~7.79 (m, 1H), 7.75~7.63 (m, 4H), 7.61~7.43 (m, 4H), 7.35 (dd, *J*=13.1, 5.6 Hz, 2H), 6.65 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 2.27 (d, *J*=5.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.54, 166.79, 164.34, 162.62, 160.38, 160.12, 151.56, 143.94, 134.85, 133.11, 131.98, 131.22, 130.36, 129.55, 126.21, 125.51, 124.50, 122.92, 122.81, 119.79, 116.68, 116.46, 114.23, 103.21, 26.53, 22.79; HR-MS (ESI) calcd for C₂₈H₂₃FN₅OS [M+H]⁺ 496.1607, found 496.1607.

N-(3-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13c**): 黄色粉末状固体, 0.109 g, 收率 55.1%. m.p. 161~162 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.65 (s, 1H), 8.12 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 8.04~7.91 (m, 3H), 7.78~7.64 (m, 5H), 7.48 (t, *J*=4.7 Hz, 5H), 6.63 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.49, 166.58, 160.37, 151.31, 143.83, 141.06, 134.54, 133.76, 132.56, 132.09, 131.24, 130.42, 129.31, 128.74, 126.17, 125.82, 125.33, 119.95, 114.23, 103.16, 26.52, 22.48; HR-MS (ESI) calcd for C₂₈H₂₃FN₅OS [M+H]⁺ 496.1607, found 496.1608.

N-(4-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-

基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13d**): 黄色粉末状固体, 0.032 g, 收率 26.9%. m.p. 171~172 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.62 (s, 1H), 8.12 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 8.06~7.92 (m, 3H), 7.77~7.66 (m, 5H), 7.48 (dd, *J*=6.1, 3.2 Hz, 2H), 7.33 (t, *J*=8.8 Hz, 2H), 6.61 (d, *J*=5.7 Hz, 1H), 4.96 (s, 2H), 2.26 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.69, 166.26, 165.07, 162.59, 160.33, 151.09, 143.28, 142.60, 132.62, 131.98, 131.95, 131.76, 131.68, 131.21, 130.23, 126.16, 122.34, 120.17, 116.51, 116.29, 114.89, 114.21, 103.03, 55.86, 26.53, 22.03; HR-MS (ESI) calcd for C₂₈H₂₃FN₅OS [M+H]⁺ 496.1607, found 496.1605.

N-(3,4-二氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13e**): 黄色粉末状固体, 0.194 g, 收率 37.9%. m.p. 165~166 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.65 (s, 1H), 8.12 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 8.04~7.91 (m, 3H), 7.78~7.64 (m, 5H), 7.48 (t, *J*=4.7 Hz, 5H), 6.63 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.55, 166.40, 160.34, 151.17, 143.56, 142.73, 141.49, 133.29, 132.33, 131.22, 130.35, 130.20, 127.26, 126.16, 123.73, 121.36, 120.05, 118.52, 118.34, 117.61, 117.44, 103.07, 56.66, 26.52, 22.25; HR-MS (ESI) calcd for C₂₈H₂₂F₂N₅OS [M+H]⁺ 514.1513, found 514.1511.

N-(3,5-二氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13f**): 黄色粉末状固体, 0.194 g, 收率 37.9%. m.p. 182~183 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.73 (s, 1H), 8.14 (dd, *J*=14.4, 12.3 Hz, 3H), 7.95~7.66 (m, 7H), 7.48 (dd, *J*=6.2, 3.2 Hz, 2H), 7.41~7.30 (m, 1H), 6.64 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.54, 166.47, 164.42, 164.29, 161.98, 161.84, 160.34, 151.25, 143.78, 141.12, 139.13, 132.12, 131.21, 130.47, 129.17, 128.91, 126.16, 125.17, 119.98, 114.21, 112.38, 112.12, 105.90, 103.12, 26.52, 22.35; HR-MS (ESI) calcd for C₂₈H₂₂F₂N₅OS [M+H]⁺ 514.1513, found 514.1509.

N-(4-氯苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺 (**13g**): 黄色粉末状固体, 0.058 g, 收率 47.2%. m.p. 176~177 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.47 (s, 1H), 8.12 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.99 (dd, *J*=12.0, 9.9 Hz, 3H), 7.76~7.66 (m, 5H), 7.56 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.52~7.46 (m, 2H), 6.59 (s, 1H), 4.94 (s, 2H), 2.25 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 187.66, 166.16, 162.67, 160.30, 151.01, 143.26, 142.37, 135.45, 134.25, 132.60, 131.20, 131.07, 130.26, 129.42,

126.17, 123.18, 120.25, 114.20, 103.04, 26.54, 21.89; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{23}ClN_5OS$ $[M+H]^+$ 512.1312, found 512.1313.

N-(2,4-二氯苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13h**): 黄色粉末状固体, 0.120 g, 收率 54.8%. m.p. 169~170 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.74 (s, 1H), 8.36 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 8.11 (dd, $J=19.9, 12.1$ Hz, 3H), 7.96 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 7.82~7.65 (m, 5H), 7.58 (dd, $J=8.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J=6.1, 3.1$ Hz, 2H), 6.65 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.35, 166.49, 163.55, 160.34, 151.25, 143.82, 137.05, 135.96, 135.56, 132.05, 131.95, 131.22, 130.45, 130.37, 129.94, 128.42, 126.18, 125.73, 119.99, 114.23, 103.16, 26.52, 22.37; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{22}Cl_2N_5OS$ $[M+H]^+$ 546.0922, found 546.0921.

N-(2,5-二氯苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13i**): 黄色粉末状固体, 0.138 g, 收率 24.9%. m.p. 174~175 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.73 (s, 1H), 7.91 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.84 (d, $J=6.7$ Hz, 2H), 7.78~7.71 (m, 4H), 7.53~7.42 (m, 5H), 7.27 (s, 1H), 5.03 (s, 2H), 2.54 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 196.8, 168.2, 161.8, 161.1, 152.2, 144.3, 136.0, 131.3, 129.9, 129.3, 126.9, 126.2, 119.1, 114.2, 100.4, 26.9, 26.8; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{22}Cl_2N_5OS$ $[M+H]^+$ 554.2014, found 554.2014.

N-(3,5-二氯苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13j**): 黄色粉末状固体, 0.153 g, 收率 56.0%. m.p. 182~183 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.64 (s, 1H), 8.15 (dd, $J=12.1, 10.0$ Hz, 3H), 8.09 (d, $J=1.8$ Hz, 2H), 7.80~7.64 (m, 6H), 7.49 (dd, $J=6.2, 3.1$ Hz, 2H), 6.62 (s, 1H), 4.94 (d, $J=5.5$ Hz, 2H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.3, 161.8, 161.2, 159.5, 157.2, 153.6, 139.6, 136.8, 136.1, 131.0, 129.3, 127.0, 123.0, 122.6, 116.2, 115.9, 115.8, 115.0, 98.7, 28.4; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{22}Cl_2N_5OS$ $[M+H]^+$ 546.0922, found 546.0923.

N-(2-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13k**): 黄色粉末状固体, 0.070 g, 收率 31.4%. m.p. 170~171 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.65 (s, 1H), 8.12 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 8.04~7.91 (m, 3H), 7.78~7.64 (m, 5H), 7.48 (t, $J=4.7$ Hz, 5H), 6.63 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.66, 166.63, 164.21, 161.79, 160.38, 151.39, 143.79, 142.31, 137.92, 137.84, 132.21,

131.37, 131.24, 130.39, 126.17, 126.01, 123.93, 119.89, 117.73, 117.51, 115.27, 115.06, 114.23, 103.11, 26.51, 22.59; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{23}BrN_5OS$ $[M+H]^+$ 556.0806, found 556.0825.

N-(3-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13l**): 黄色粉末状固体, 0.103 g, 收率 46.1%. m.p. 169~170 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.58 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.14 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 8.05 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.79~7.58 (m, 6H), 7.55~7.41 (m, 3H), 6.61 (s, 1H), 4.94 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 2.26 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.59, 166.64, 160.38, 151.44, 143.83, 142.01, 137.82, 133.41, 132.19, 131.43, 131.32, 131.24, 130.43, 128.65, 126.19, 123.95, 122.89, 119.86, 114.24, 103.13, 26.50, 22.62; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{23}BrN_5OS$ $[M+H]^+$ 556.0806, found 556.0806.

N-(4-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13m**): 黄色粉末状固体, 0.110 g, 收率 89.1%. m.p. 180~181 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.60 (s, 1H), 8.12 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 8.02 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.79~7.65 (m, 6H), 7.48 (dd, $J=6.1, 3.2$ Hz, 2H), 6.62 (s, 1H), 4.96 (s, 3H), 2.26 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.66, 166.18, 164.03, 163.57, 162.90, 161.25, 160.31, 151.03, 143.29, 142.45, 134.58, 132.57, 132.34, 131.28, 131.20, 130.27, 126.17, 124.33, 123.23, 120.23, 114.21, 103.03, 56.48, 26.54, 21.93, 19.03; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{23}BrN_5OS$ $[M+H]^+$ 556.0806, found 556.0803.

N-(2-氟-4-溴苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13n**): 黄色粉末状固体, 0.112 g, 收率 63.2%. m.p. 171~172 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.86 (d, $J=11.3$ Hz, 1H), 8.06 (dd, $J=31.4, 12.2$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.74~7.65 (m, 4H), 7.56 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.48 (ddd, $J=12.8, 6.1, 3.1$ Hz, 2H), 6.66 (d, $J=6.1$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 2.28 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.4, 165.8, 162.2, 161.2, 153.7, 144.3, 136.2, 131.3, 130.7, 130.1, 129.4, 126.9, 126.1, 123.8, 119.3, 115.9, 114.2, 100.2, 60.8, 27.1, 14.7; HR-MS (ESI) calcd for $C_{28}H_{22}BrFN_5OS$ $[M+H]^+$ 574.0712, found 574.0713.

N-(3-溴-4-氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13o**): 黄色粉末状固体, 0.289 g, 收率 58.5%. m.p. 179~180 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.01 (s, 1H), 8.42 (d, $J=6.7$ Hz, 1H), 8.13

(d, $J=8.6$ Hz, 2H), 8.02 (dd, $J=15.5$, 11.0 Hz, 2H), 7.75~7.66 (m, 5H), 7.51~7.44 (m, 3H), 6.70 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 2.51 (d, $J=1.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.03, 166.02, 163.20, 160.41, 159.87, 157.93, 150.81, 143.20, 140.61, 133.33, 131.78, 130.73, 130.61, 129.89, 129.28, 125.68, 123.18, 119.45, 117.24, 117.01, 113.73, 108.96, 108.75, 102.59, 26.45, 25.99, 21.95; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{BrFN}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 574.0712, found 574.0711.

N-(4-甲基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13p**): 黄色粉末状固体, 0.125 g, 收率 50.8%. m.p. 189~190 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.72 (s, 1H), 8.10 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.88 (dd, $J=39.0$, 11.8 Hz, 3H), 7.78~7.62 (m, 5H), 7.48 (dd, $J=6.1$, 3.1 Hz, 2H), 7.30 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 6.64 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.27 (d, $J=5.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.6, 166.00, 162.19, 160.29, 150.90, 143.95, 142.93, 141.05, 132.95, 132.54, 131.20, 130.12, 130.03, 129.41, 126.15, 121.34, 120.37, 114.20, 102.96, 99.99, 26.55, 21.58; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 492.1858, found 492.1856.

N-(4-异丙基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13q**): 黄色粉末状固体, 0.058 g, 收率 45.0%. m.p. 186~187 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.58 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.88~7.82 (m, 2H), 7.82~7.61 (m, 5H), 7.60~7.47 (m, 3H), 7.36 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J=6.3$ Hz, 1H), 4.95 (d, $J=10.6$ Hz, 2H), 4.86 (s, 1H), 2.26 (d, $J=3.2$ Hz, 3H), 2.10 (s, 1H), 1.92 (s, 3H), 1.24 (d, $J=6.9$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.75, 166.56, 160.37, 151.81, 151.34, 143.88, 143.46, 132.98, 132.55, 131.23, 130.19, 129.52, 127.40, 126.17, 121.46, 119.95, 114.22, 103.08, 33.90, 26.53, 24.11, 22.46; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 520.2171, found 520.2173.

N-(4-叔丁基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13r**): 黄色粉末状固体, 0.035 g, 收率 27.3%. m.p. 182~183 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.64 (s, 1H), 8.10 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.89 (dd, $J=27.1$, 12.0 Hz, 3H), 7.70 (ddd, $J=20.5$, 11.0, 5.5 Hz, 5H), 7.56~7.42 (m, 4H), 6.63 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.32 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 171.2, 171.1, 165.6, 161.6, 151.2, 150.8, 148.6, 139.1, 134.8, 132.6, 129.4, 128.0, 120.1, 113.6, 113.2, 36.2; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 534.2327,

found 534.2330.

N-(3-羟基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13s**): 黄色粉末状固体, 0.086 g, 收率 56.7%. m.p. 194~195 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.80 (s, 1H), 7.86 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.51 (dd, $J=6.1$, 3.2 Hz, 3H), 7.44 (dd, $J=12.2$, 5.3 Hz, 3H), 7.29~7.25 (m, 2H), 7.16 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.08 (dd, $J=9.7$, 5.0 Hz, 2H), 6.73 (dd, $J=7.9$, 2.0 Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 2.32 (d, $J=1.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.31, 165.96, 163.02, 159.88, 157.80, 150.83, 143.62, 142.92, 135.99, 132.09, 130.73, 129.84, 129.68, 129.28, 125.70, 121.72, 119.67, 119.57, 117.73, 115.31, 113.74, 102.55, 55.98, 26.01, 21.84, 18.52; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 494.1650, found 494.1650.

N-(2,3-二甲氧基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13t**): 黄色粉末状固体, 0.097 g, 收率 61.0%. m.p. 180~181 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.70 (s, 1H), 8.09 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.96 (q, $J=15.7$ Hz, 2H), 7.70 (ddd, $J=19.3$, 9.4, 6.0 Hz, 5H), 7.48 (dd, $J=6.2$, 3.2 Hz, 2H), 7.21~7.16 (m, 2H), 6.64 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.26 (d, $J=5.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.1, 161.9, 161.1, 153.7, 140.7, 136.1, 133.3, 131.3, 131.1, 130.3, 130.0, 129.9, 129.7, 129.2, 126.8, 125.9, 123.6, 123.2, 119.2, 116.2, 115.9, 114.1, 99.8, 26.9; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 538.1913, found 538.1915.

N-(3,4,5-三甲氧基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13u**): 黄色粉末状固体, 0.157 g, 收率 64.4%. m.p. 183~184 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.36 (s, 1H), 8.18 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J=10.9$, 8.1 Hz, 5H), 7.49 (dd, $J=6.0$, 3.0 Hz, 2H), 7.28 (s, 2H), 6.55 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 3.90 (s, 6H), 3.72 (s, 3H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.65, 166.92, 164.63, 160.41, 153.61, 151.58, 144.23, 144.02, 143.80, 143.46, 140.11, 132.27, 131.26, 130.89, 130.39, 126.16, 121.64, 119.58, 114.21, 107.01, 103.17, 60.61, 56.73, 26.54, 22.98; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 568.2018, found 568.2016.

N-(3-甲氧基-4-羟基二氟苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲硫基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13v**): 黄色粉末状固体, 0.074 g, 收率 28.2%. m.p. 179~180 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.70 (s, 1H), 8.09 (d, $J=8.8$ Hz,

2H), 7.96 (q, $J=15.7$ Hz, 2H), 7.70 (ddd, $J=19.3, 9.4, 6.0$ Hz, 5H), 7.48 (dd, $J=6.2, 3.2$ Hz, 2H), 7.21~7.16 (m, 2H), 6.64 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.26 (d, $J=5.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 196.82, 166.25, 162.95, 160.37, 151.14, 143.17, 132.06, 131.22, 130.68, 129.77, 126.20, 120.11, 114.26, 102.89, 99.99, 26.98, 26.45, 22.04; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 524.1756, found 524.1758.

N-(3-硝基苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13w**): 黄色粉末状固体, 0.176 g, 收率 41.9%. m.p. 170~171 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.65 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.41 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 8.29 (dd, $J=8.2, 1.5$ Hz, 1H), 8.18 (dd, $J=12.2, 9.0$ Hz, 3H), 7.90~7.67 (m, 6H), 7.49 (dd, $J=6.2, 3.2$ Hz, 2H), 6.63 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 2.26 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 187.58, 166.65, 160.38, 151.43, 148.90, 143.94, 141.23, 137.20, 135.42, 132.07, 131.25, 130.84, 130.51, 126.19, 125.22, 125.05, 123.55, 119.87, 114.25, 103.12, 26.49, 22.62; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 523.1552, found 523.1551.

N-(2-噻吩苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13x**): 黄色粉末状固体, 0.082 g, 收率 33.9%. m.p. 190~191 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.73 (s, 1H), 8.02 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.90 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.73 (dd, $J=6.0, 3.2$ Hz, 3H), 7.64 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.49 (dd, $J=6.1, 3.2$ Hz, 2H), 6.65 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 2.27 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.50, 166.56, 160.37, 151.81, 151.34, 143.88, 143.46, 132.98, 132.55, 131.23, 130.19, 129.52, 127.40, 126.17, 121.46, 119.95, 114.22, 103.08, 33.90, 26.53, 24.11, 20.31; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{OS}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 484.1266, found 484.1266.

N-(2-呋喃苯乙烯基苯基酮)-2-(苯并咪唑-2-亚甲基)-6-甲基嘧啶-4-胺(**13y**): 黄色粉末状固体, 0.155 g, 收率 66.2%. m.p. 186~187 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.68 (s, 1H), 7.97 (dd, $J=5.2, 3.5$ Hz, 3H), 7.73 (dd, $J=6.2, 3.2$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.56 (s, 2H), 7.50 (dd, $J=6.2, 3.2$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 6.72 (dd, $J=3.4, 1.8$ Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 2.27 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 186.69, 165.99, 159.89, 151.26, 150.84, 146.09, 142.93, 131.98, 130.76, 129.88, 129.45, 125.73, 119.58, 118.65, 116.69, 113.76, 113.10, 102.55, 26.01, 21.83; HR-MS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 468.1494, found

468.1494.

3.2.4 抗肿瘤细胞毒活性实验

初步筛选: 取对数生长期的细胞, 消化、计数, 以 6000 个/孔的细胞密度接种至 96 孔板中, 每孔 100 μL , 培养 24 h 后, 弃去培养基, 加入提前用培养基稀释好的样品, 每个孔 200 μL (浓度梯度为 50 和 100 $\mu\text{g/mL}$), 每个浓度设 6 个复孔另设空白对照组及阴性对照组. 药物作用 72 h 后, 每孔加入 5 μL CCK-8 进行染色, 继续培养 4 h 后, 加入 150 μL 的二甲基亚砜, 振荡均匀, 酶标仪 450 nm 处检测吸光度值, 计算抑制率. 进一步筛选: 样品抑制率大于 50% 的样品进行半数抑制率(IC_{50})实验. 即将待测样品以 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125 $\mu\text{g/mL}$ 浓度加入 96 孔板中, 实验方法同上, 培养 72 h 后, 测 450 nm 时的吸光度值, 通过 SPSS16.0 统计软件计算得出 IC_{50} 值.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **12a**~**12o** 和 **13a**~**13y** 的 ^1H NMR 和 ^{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] For statistical information about cancer, see: U. S. Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/AboutFDA/ReportsManualsForms/Reports/ucm276385.htm>.
- [2] Sangthong, S.; Krusong, K.; Ngamrojanavanich, N.; Vilaivan, T.; Puthong, S.; Chandchawan, S.; Muangsins, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4813.
- [3] Cao, R. H.; Fan, W. X.; Guo, L.; Ma, Q.; Zhang, G. X.; Li, J. R.; Chen, X. M.; Ren, Z. H.; Qiu, L. Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *60*, 135.
- [4] Kamal, A.; Tamboli, J. R.; Nayak, V. L.; Adil, S. F.; Vishnuvardhan, M. V. P. S.; Ramakrishna, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3208.
- [5] Kamal, A.; Dastagiri, D.; Ramaiah, M. J.; Reddy, J. S.; Bharathi, E. V.; Reddy, M. K.; Sagar, M. V. P.; Reddy, T. L.; Pushpavalli, S. N. C. V. L.; Pal-Bhadra, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5817.
- [6] Hamid, M. K. A. E.; Mihovilovic, M. D.; El-Nassan, H. B. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *57*, 323.
- [7] Kassab, A. E.; Gedawy, E. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 224.
- [8] Duschinsky, R.; Plevin, E.; Heidelberger, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4559.
- [9] Pecchi, S.; Renhowe, P. A.; Taylor, C.; Kaufman, S.; Merritt, H.; Wiesmann, M.; Shoemaker, K. R.; Knapp, M.; Ornelas, E.; Hendrickson, T. F.; Fantl, W.; Voliva, C. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6895.
- [10] Keche, A. P.; Hatnapure, G. D.; Tale, R. H.; Rodge, A. H.; Birajdar, S. S.; Kamble, V. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3445.
- [11] Ni, L.; Meng, C. Q.; Sikorski, J. A. *Expert. Opin. Ther. Pat.* **2004**, *14*, 1669.
- [12] Dimmock, J. R.; Elias, D. W.; Beazely, M. A.; Kandepu, N. M. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 1125.
- [13] Domínguez, J. N.; León, C.; Rodrigues, J.; Gamboa, D. N.; Gut, J.; Rosenthal, P. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3654.
- [14] Gacche, R.; Dhole, N. A.; Kamble, S. G.; Bandgar, B. P. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2008**, *23*, 28.
- [15] Sharma, V.; Kumar, P.; Pathak, D. *J. Heterocycl. Chem.* **2010**, *47*, 491.
- [16] Shao, K. P.; Zhang, X. Yao.; Chen, P. J.; Xue, D. Q.; He, P.; Ma, L.

- Y.; Zheng, J. X.; Zhang, Q. R.; Liu, H. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 3877.
- [17] Chen, P. J.; Yang, A.; Gu, Y. F.; Zhang, X. S.; Shao, K. P.; Xue, D. Q.; He, P.; Jiang, T. F.; Zhang, Q. R.; Liu, H. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 2741.
- [18] Tominaga, H.; Ishiyama, M.; Ohseto, F.; Sasamoto, K.; Hamamoto, T.; Suzuki, K.; Watanabe, M. *Anal. Commun.* **1999**, *36*, 47.

(Zhao, C.)