

新型 1,2,4-三唑三氮烯衍生物的合成及其生物活性

魏光璞 张茜 雷强 徐淼 张明千 龙跃*

(郑州大学化学与分子工程学院 郑州 450001)

摘要 以对氨基苯甲酸为原料, 经多步反应合成了 16 个未见文献报道的 1,2,4-三唑三氮烯衍生物. 利用 ^1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 对标题化合物的结构进行了表征. 衍生物的细胞毒活性测试结果表明, 2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6g**)、2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(2,4-二氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6h**)、2-[4-(3,3-甲基苯基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-苄基-1,2,4-三唑(**6i**)、2-[4-(3,3-甲基苯基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-甲氧基苄基)-1,2,4-三唑(**6j**)、2-[4-(3,3-甲基苯基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-甲氧基苄基)-1,2,4-三唑(**6l**)、2-[4-(3,3-甲基苯基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(2,4-二氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6p**)对膀胱癌细胞具有较好的抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 23.883, 5.512, 8.731, 8.077, 5.590 和 12.195 $\mu\text{mol/L}$, 化合物 **6h**, **6i**, **6j**, **6l** 对前列腺癌细胞具有较好的抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 13.690, 21.908, 10.772 和 4.827 $\mu\text{mol/L}$.

关键词 三氮烯; 1,2,4-三唑; 合成; 抗肿瘤

Synthesis and Biological Activities of Novel 1,2,4-Triazole Triazene Derivatives

Wei, Guangpu Zhang, Xi Lei, Qiang Xu, Miao Zhang, Mingqian Long, Yue*

(College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

Abstract Sixteen novel 1,2,4-triazole triazene derivatives were synthesized in multiple steps from the *p*-aminobenzoic acid. Their structures were confirmed by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS. All the target compounds were evaluated for their anti-cancer activity. Among them, 2-[4-(3,3-dimethyltriazol-1-yl)phenyl]-3-amino-4-*S*-(4-chlorobenzyl)-1,2,4-triazole (**6g**), 2-[4-(3,3-dimethyltriazol-1-yl)phenyl]-3-amino-4-*S*-(2,4-dichlorobenzyl)-1,2,4-triazole (**6h**), 2-[4-(3,3-methylbenzyltriazene-1-yl)phenyl]-3-amino-4-*S*-benzyl-1,2,4-triazole (**6i**), 2-[4-(3,3-methylbenzyltriazene-1-yl)phenyl]-3-amino-4-*S*-(4-methylbenzyl)-1,2,4-triazole (**6j**), 2-[4-(3,3-methylbenzyltriazene-1-yl)phenyl]-3-amino-4-*S*-(4-methoxybenzyl)-1,2,4-triazole (**6l**), 2-[4-(3,3-methylbenzyltriazene-1-yl)phenyl]-3-amino-4-*S*-(2,4-di-chlorobenzyl)-1,2,4-triazole (**6p**) exhibited good anti-cancer activity against J82 cells with the IC_{50} values of 23.883, 5.512, 8.731, 8.077, 5.590 and 12.195 $\mu\text{mol/L}$, respectively. And compounds **6h**, **6i**, **6j**, **6l** exhibited good anti-cancer activity against DU145 cells with the IC_{50} values of 13.690, 21.908, 10.772 and 4.827 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Keywords triazene; 1,2,4-triazole; synthesis; antitumor

1,2,4-三唑是含三个氮原子的五元芳香杂环化合物, 其独特的富电性结构使 1,2,4-三唑衍生物与生物系统中的酶和生物受体能够很容易结合, 因此表现出广泛的生物活性和药理活性, 如抗癌^[1]、抗菌^[2]、抗炎^[3]及抗病毒^[4]等. 近年来, 多个三唑类药物相继问世, 如抗癌药来曲唑、植物生长调节剂烯效唑、杀菌剂戊唑醇及抗真菌剂维丁唑等^[5-9].

三氮烯类化合物是指一类含有 $\text{N}=\text{N}-\text{N}$ 结构的化合物, 又称重氮氨基化合物, 由于重氮氨基结构的特殊性, 因而在许多领域有着广泛的应用, 如用作显色剂、催化剂、官能团转化和构建新颖的杂环等^[10-15]. 三氮烯类化合物作为抗癌药物很早就应用于临床研究中, 但目前用于临床治疗的只有替莫唑胺(TMZ)和达卡巴嗪(DTIC), 主要用于黑色素瘤、霍奇金淋巴瘤以及软组织

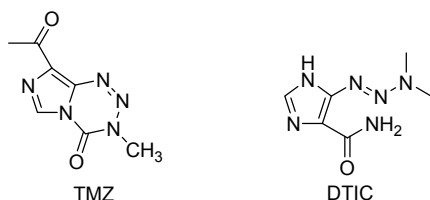
* Corresponding author. longyue@zzu.edu.cn

Received February 7, 2018; revised March 31, 2018; published online May 17, 2018.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. J1210060), the Science and Technology Planning Project of Henan Province (No. 0624420031) and the Basic Research Development Program of Henan Province (No. 022463001).

国家自然科学基金(No. J1210060)、河南省科技攻关计划(No. 0624420031)及河南省基础研究基金(No. 022463001)资助项目.

肉瘤等疾病的治疗. 近年来随着研究的不断深入, 人们发现其还具有多种生物活性, 如抗菌、抗病毒、抗肿瘤等^[16-18]. 与其他烷基化剂一样, 三氮烯类药物也会带来疲劳、便秘、呕吐和头痛等毒副作用.



为了设计一类新型具有抗癌活性的三氮烯类化合物及开发出三氮烯类药物新的抗癌活性, 根据生物活性叠加原理, 将具有广泛生物活性的 1,2,4-三唑环结构与三氮烯结构单元有机衔接在一起, 以期得到对多种肿瘤细胞有较强抑制作用, 并具有类药性质的新型三氮烯类化合物.

1 结果与讨论

1.1 合成及反应条件优化

以对氨基苯甲酸为原料, 依次经过酯化、重氮化反应, 与二甲胺偶联, 得到三氮烯基苯甲酸. 随后经过胍解、成盐、关环, 再与取代苄氯发生亲核取代合成了 16 个目标产物(Scheme 1).

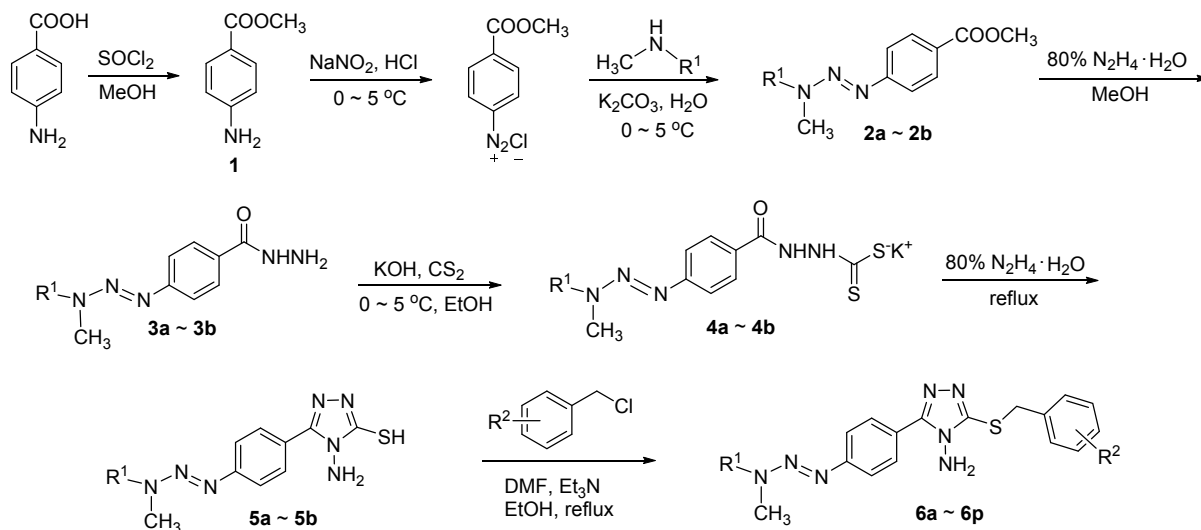
在合成三氮烯结构部分时, 我们对课题组之前的合成路线进行调整^[19,20], 即将对氨基苯甲酸先酯化再重氮

化. 反应中氯化亚砷先与甲醇反应产生 HCl, 催化对氨基苯甲酸与甲醇发生酯化反应, 反应 4 h 结束. 将所得的酯制成重氮盐, 向二甲胺水溶液中滴加重氮盐时, 观察到分层现象, 经检验目标产物在吸取的上层液内, 调节乙腈和水体积比, 发现当两者体积比为 1:1 时, 滴加重氮盐时直接有黄色固体即目标产物的析出, 继续反应 1.5 h 后, 结束反应, 抽滤即可得到化合物 **2**, 总产率为 74.14%, 与我们课题组之前合成三氮烯结构部分的路线相比, 产率提高为原来的近 2 倍, 大幅缩短了反应时间, 且催化剂较便宜, 后处理简单.

1.2 化合物的抗肿瘤活性

我们以典型的三氮烯类药物达卡巴嗪(DTIC)作对照, 测试了 1,2,4-三唑三氮烯类化合物 **6a~6p** 对人膀胱癌细胞(J82)和人前列腺癌细胞(DU145)的抑制作用, 其 IC₅₀ 值见表 1.

抗癌活性结果可以看出, 化合物 **6g**, **6h**, **6i**, **6j**, **6l**, **6p** 对人膀胱癌 J82 细胞具有较好的抑制作用. 化合物 **6h**, **6i**, **6j** 和 **6l** 对人前列腺癌 DU145 细胞具有较好的抑制作用, 其中 **6h** 的抑制作用最强. 对比化合物 **6i**, **6j** 和 **6l**, 发现与硫醚键一端相连的苯环上对位取代基的供电性越强, 该化合物对人前列腺癌 DU145 细胞的抗癌活性越好. 当目标产物中三氮烯基上的一个甲基被苄基替换后, 系列化合物对人前列腺癌 DU145 细胞的抑制作用普遍有所增强, 但在化合物 **6h** 的结构中, 三氮烯基连接的是两个甲基, 且与硫醚键一端相连的苯环上的对位



2a, 3a, 4a, 5a: R¹=CH₃; **2b, 3b, 4b, 5b:** R¹=C₆H₅CH₂

6a: R¹=CH₃, R²=H; **6g:** R¹=CH₃, R²=4-Cl; **6m:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=4-F; **6b:** R¹=CH₃, R²=4-CH₃; **6h:** R¹=CH₃, R²=2,4-Cl; **6n:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=3-Cl; **6c:** R¹=CH₃, R²=3-OCH₃; **6i:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=H; **6o:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=4-Cl; **6d:** R¹=CH₃, R²=4-OCH₃; **6j:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=4-CH₃; **6p:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=2,4-Cl; **6e:** R¹=CH₃, R²=4-F; **6k:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=3-OCH₃; **6f:** R¹=CH₃, R²=3-Cl; **6l:** R¹=C₆H₅CH₂, R²=4-OCH₃

图式 1 目标化合物 **6a~6p** 的合成
Scheme 1 Synthesis of the target compounds **6a~6p**

表1 目标化合物的体外抗肿瘤活性[IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]
Table 1 Anticancer activity of target compounds [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]

Compd.	J82	DU145
6a	>30	>30
6b	>30	>30
6c	>30	>30
6d	>30	>30
6e	>30	>30
6f	>30	>30
6g	23.883±1.482	>30
6h	5.512±0.313	13.690±2.715
6i	8.731±0.636	21.908±3.942
6j	8.077±0.161	10.772±4.634
6k	>30	>30
6l	5.590±0.853	4.827±3.053
6m	>30	>30
6n	>30	>30
6o	>30	>30
6p	12.195±2.722	>30
DTIC	0.818±0.064	0.671±0.018

和邻位是两个氯原子, 最终活性的大小是受多种取代基共同作用的影响, 所以目标产物取代基的改变在整体上对人前列腺癌 DU145 细胞的抑制活性的影响并没有表现出一定的规律性。

2 结论

以对氨基苯甲酸为原料, 依次经过酯化、重氮化反应, 与二甲胺偶联, 得到三氮烯基苯甲酸。随后经过肼解、成盐、关环, 再与取代苄氯发生亲核取代合成了 16 个新型 2-取代芳基-3-氨基-4-*S*-取代苄基-1,2,4-三唑类化合物。抗肿瘤活性测试结果表明化合物 **6g**, **6h**, **6i**, **6j**, **6l**, **6p** 对膀胱癌细胞具有较好的抑制作用, 化合物 **6h**, **6i**, **6j** 和 **6l** 对前列腺癌细胞具有较好的抑制作用, 但是整体来说所合成化合物的 IC₅₀ 与 DTIC 相比仍然有不小的差距。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker DRX 600 MHz 超导核磁共振仪(TMS 为内标, DMSO-*d*₆ 为溶剂); 德国 Bruker 公司 Vector 22 傅里叶变换红外光谱仪, KBr 压片; 美国 Waters 公司 Q-TOF 高分辨质谱仪; 北京泰克仪器有限公司 X-24 型数字显微熔点仪(温度计未校正); 美国 Thermo Scientific 公司 Multiskan GO 酶标仪。所用试剂均为市售分析纯, 使用前按常规方法处理。实验所用的肿瘤细胞: 人膀胱癌细胞(J82)、人前列腺癌细胞(DU145)由郑州大学药学院提供。

3.2 化合物的合成

3.2.1 对氨基苯甲酸甲酯(**1**)的合成

化合物 **1** 的合成方法参考文献[21]。

3.2.2 4-取代芳基苯甲酸甲酯(**2**)的合成

化合物 **2** 的合成方法参考文献[15]。

3.2.2 4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯甲酰肼二硫代羧酸钾(**4**)的合成

化合物 **3** 合成方法参考文献[15]。将 13.14 mmol 化合物 **3**, 1.11 g (19.71 mmol) 氢氧化钾溶于 40 mL 无水乙醇中。冰浴条件下, 缓慢滴加 1.50 g (19.71 mmol) 二硫化碳, 溶液随着二硫化碳的加入逐渐由澄清变为黄色浑浊液, 20 min 滴加完毕。反应结束后, 抽滤, 用少量无水乙醇洗涤, 干燥, 得化合物 **4**。

3.2.3 2-取代芳基-3-氨基-4-巯基-1,2,4-三唑(**5**)的合成

在 100 mL 圆底烧瓶加入 11.73 mmol 化合物 **4** 和 20 mL 80%水合肼, 加热回流过夜, 薄膜色谱(TLC)监测反应。反应结束后, 冷却至室温, 得黄绿色液体, 倾倒入 100 mL 冰水中, 用 3 mol·L⁻¹ 盐酸调 pH 为 5~6, 有白色固体析出, 抽滤水洗, 并用乙醇/水重结晶, 得化合物 **5**。

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-巯基-1,2,4-三唑(**5a**): 白色固体, 收率 57.9%。m.p. 239~241 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.88 (s, 1H, SH), 8.04 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.46 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 5.80 (s, 2H, NH₂), 3.53 (s, 3H, NCH₃), 3.19 (s, 3H, NCH₃); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 167.20, 152.42, 149.70, 129.20, 128.35, 127.58, 122.51, 120.39, 43.45, 36.42. HRMS calcd for C₁₀H₁₄N₇S [M+H]⁺ 264.0915, found 264.0916.

2-[4-(3,3-甲基苯基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-巯基-1,2,4-三唑(**5b**): 白色固体, 收率 58.2%。m.p. 175~178 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 13.89 (s, 1H), 8.06 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.52 (d, *J*=6.7 Hz, 2H), 7.35 (dd, *J*=40.3, 5.7 Hz, 5H), 5.81 (s, 2H), 5.03 (s, 2H), 3.12 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 167.23, 152.33, 149.69, 137.24, 129.23, 129.36, 128.28, 128.15, 128.06, 126.83, 126.47, 125.88, 122.87, 120.65, 59.55, 35.09; HRMS calcd for C₁₆H₁₈N₇S [M+H]⁺ 340.1202, found 340.1204.

3.2.4 2-取代芳基-3-氨基-4-*S*-取代苄基-1,2,4-三唑(**6**)的合成

在 100 mL 三颈瓶中加入 1.52 mmol 化合物 **5**, 3 mL *N,N*-二甲基甲酰胺, 3 mL 三乙胺, 10 mL 无水乙醇, 加热

回流。再向反应溶液中滴加 2.28 mmol 取代氯化苄, 20 min 内滴加完毕, 继续加热回流 4 h, TLC 监测反应。反应结束后, 减压除去溶剂, 用 100 mL 乙酸乙酯萃取, 无水硫酸镁干燥, 浓缩得粗产物, 再用乙醇重结晶即可得到纯净的目标产物。

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-苄基-1,2,4-三唑(**6a**): 白色固体, 收率 66.7%. m.p. 166~169 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.45 (dd, $J=5.1, 6.6$ Hz, 4H), 7.33 (t, $J=7.536$, 7.64 Hz, 2H), 7.27 (t, $J=7.3, 7.4$ Hz, 1H), 6.12 (s, 2H, NH₂), 4.44 (s, 2H, CH₂), 3.51 (s, 3H, NCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.38, 153.31, 151.83, 138.03, 129.53, 128.91, 128.90, 127.84, 123.80, 120.44, 43.08, 36.38, 35.55. HRMS calcd for C₁₇H₂₀N₇S [M+H]⁺ 354.1495, found 354.1496.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-甲基苄基)-1,2,4-三唑(**6b**): 淡黄色固体, 收率 64.6%. m.p. 237~240 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 6.11 (s, 2H, NH₂), 4.39 (s, 2H, CH₂), 3.52 (s, 3H, NCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃), 2.27 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.33, 153.35, 151.82, 137.06, 134.84, 129.47, 129.45, 128.89, 123.79, 120.44, 43.39, 36.44, 35.40, 21.19; HRMS calcd for C₁₈H₂₂N₇S [M+H]⁺ 368.1652, found 368.1655.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(3-甲氧基苄基)-1,2,4-三唑(**6c**): 褐色固体, 收率 63.0%. m.p. 143~147 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.24 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J=4.5$ Hz, 2H), 6.84 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 6.12 (s, 2H, NH₂), 4.40 (s, 2H, CH₂), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.52 (s, 3H, NCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 159.85, 154.39, 153.25, 151.99, 139.44, 129.99, 128.83, 123.79, 121.53, 120.54, 115.13, 113.31, 55.47, 43.31, 36.38, 35.58; HRMS calcd for C₁₈H₂₂N₇OS [M+H]⁺ 384.1609, found 384.1611.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-甲氧基苄基)-1,2,4-三唑(**6d**): 淡黄色固体, 收率 64.3%. m.p. 217~219 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 6.10 (s, 2H, NH₂), 4.38 (s, 2H, CH₂), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.51 (s, 3H, NCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 159.06, 154.30, 153.36, 151.81, 130.78, 129.71,

128.89, 123.84, 120.43, 114.31, 55.55, 43.38, 36.37, 35.25; HRMS calcd for C₁₈H₂₂N₇OS [M+H]⁺ 384.1609, found 384.1611.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-氟基苄基)-1,2,4-三唑(**6e**): 淡黄色固体, 收率 65.2%. m.p. 224~226 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.51 (dd, $J=8.1, 5.8$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.16 (t, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.14 (s, 2H, NH₂), 4.43 (s, 2H, CH₂), 3.52 (s, 3H, NCH₃), 3.18 (s, 2H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.70, 161.09, 154.41, 153.21, 151.83, 134.47, 134.45, 131.57, 131.52, 128.88, 123.77, 120.44, 115.71, 115.57, 43.99, 36.40, 34.57; HRMS calcd for C₁₇H₁₉FN₇S [M+H]⁺ 372.1401, found 372.1403.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(3-氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6f**): 淡黄色固体, 收率 67.9%. m.p. 169~170 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.50~7.40 (m, 3H), 7.40~7.27 (m, 2H), 6.16 (s, 1H, NH₂), 4.44 (s, 2H, CH₂), 3.52 (s, 3H, NCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.50, 153.09, 151.85, 140.97, 133.34, 130.68, 129.32, 128.89, 128.25, 127.72, 123.73, 120.45, 43.38, 36.36, 34.54; HRMS calcd for C₁₇H₁₉ClN₇S [M+H]⁺ 388.1106, found 388.1106.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6g**): 淡黄色固体, 收率 68.3%. m.p. 224~225 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.00 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.46 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 6.15 (s, 2H, NH₂), 4.44 (s, 2H, CH₂), 3.53 (s, 3H, NCH₃), 3.18 (s, 3H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.44, 153.10, 151.84, 137.41, 132.40, 131.39, 128.88, 128.81, 123.47, 120.44, 43.38, 36.40, 34.56; HRMS calcd for C₁₇H₁₉ClN₇S [M+H]⁺ 388.1106, found 388.1106.

2-[4-(3,3-二甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(2,4-二氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6h**): 褐色固体, 收率 64.2%. m.p. 212~214 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.99 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.65 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.43~7.36 (m, 1H), 6.17 (s, 2H, NH₂), 4.49 (s, 2H, CH₂), 3.52 (s, 3H, NCH₃), 3.18 (s, 3H, NCH₃); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.60, 152.62, 151.87, 134.77, 134.73, 133.50, 133.16, 129.38, 128.90, 127.86, 123.68, 120.45, 43.43, 36.38, 32.82; HRMS calcd for C₁₇H₁₈Cl₂-N₇S [M+H]⁺ 422.0716, found 422.0716.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-苄基-1,2,4-三唑(**6i**): 白色固体, 收率 64.5%. m.p. 132~135 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.04 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 7.61~7.51 (m, 2H), 7.48 (d, $J=6.5$ Hz, 2H), 7.44~7.24 (m, 8H), 6.15 (s, 2H, NH_2), 5.03 (s, 2H, NCH_2), 4.46 (s, 2H, SCH_2), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.38, 153.39, 151.75, 138.03, 137.36, 129.54, 129.21, 128.96, 128.92, 128.33, 128.23, 127.85, 124.14, 120.71, 59.49, 35.55, 35.05; HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 430.1804, found 430.1802.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-甲基苄基)-1,2,4-三唑(**6j**): 白色固体, 收率 69.5%. m.p. 146~149 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.02 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 7.45~7.25 (m, 7H), 7.13 (d, $J=7.7$ Hz, 2H), 6.12 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.40 (s, 2H, SCH_2), 3.11 (s, 3H, NCH_3), 2.27 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.32, 153.40, 151.72, 137.34, 137.06, 134.85, 129.48, 129.46, 129.20, 128.95, 128.33, 128.22, 124.18, 120.69, 59.49, 35.44, 35.08, 21.20; HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 444.1971, found 444.1974.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(3-甲氧基苄基)-1,2,4-三唑(**6k**): 淡黄色固体, 收率 66.2%. m.p. 127~129 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.35 (dd, $J=40.1$, 6.8 Hz, 5H), 7.24 (dd, $J=10.1$, 6.0 Hz, 1H), 7.03 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 6.94~6.77 (m, 1H), 6.13 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.41 (s, 2H, SCH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 159.70, 154.37, 153.31, 151.75, 139.51, 137.33, 129.99, 129.20, 128.96, 128.33, 128.22, 124.15, 121.17, 120.70, 115.14, 113.32, 59.49, 55.52, 35.61, 35.04; HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{ON}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 460.1914, found 460.1917.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-甲氧基苄基)-1,2,4-三唑(**6l**): 白色固体, 收率 66.3%. m.p. 131~134 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 7.31 (d, $J=7.1$ Hz, 3H), 6.89 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 6.12 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.39 (s, 2H, SCH_2), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 159.07, 154.29, 153.40, 151.73, 137.35, 130.78, 129.71, 129.20, 128.96, 128.33, 128.21, 124.19, 120.69, 114.32, 59.49, 55.55, 35.25, 35.04; HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{ON}_7\text{S}$ $[\text{M}+$

$\text{H}]^+$ 460.1914, found 460.1917.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-氟基苄基)-1,2,4-三唑(**6m**): 白色固体, 收率 64.5%. m.p. 168~170 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.52 (dd, $J=8.4$, 5.7 Hz, 4H), 7.35 (dd, $J=39.9$, 6.8 Hz, 5H), 7.16 (t, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.16 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.44 (s, 2H, SCH_2), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.71, 161.10, 154.40, 153.28, 151.75, 137.33, 134.47, 134.45, 131.58, 131.53, 129.20, 128.95, 128.33, 128.22, 124.12, 120.70, 115.72, 115.58, 59.54, 35.04, 34.59; HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{FN}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448.1716, found 448.1718.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(3-氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6n**): 白色固体, 收率 65.3%. m.p. 133~134 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.62~7.48 (m, 3H), 7.44 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 7.42~7.22 (m, 7H), 6.17 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.45 (s, 2H, SCH_2), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.49, 153.16, 151.77, 140.97, 137.32, 133.35, 130.68, 129.33, 129.0, 128.96, 128.33, 128.25, 127.73, 124.08, 120.71, 59.50, 35.04, 34.56; HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClN}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 464.1419, found 464.1419.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(4-氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6o**): 白色固体, 收率 66.5%. m.p. 174~176 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.51 (dd, $J=15.0$, 8.1 Hz, 4H), 7.39 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 7.31 (d, $J=7.3$ Hz, 3H), 6.16 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.44 (s, 2H, SCH_2), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.44, 153.18, 151.76, 137.40, 137.34, 132.42, 131.40, 129.20, 128.95, 128.82, 128.33, 128.22, 124.10, 120.71, 59.49, 35.04, 34.57; HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClN}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 464.1419, found 464.1419.

2-[4-(3,3-甲基苯甲基三氮烯-1-基)苯基]-3-氨基-4-*S*-(2,4-二氯基苄基)-1,2,4-三唑(**6p**): 淡黄色固体, 收率 69.7%. m.p. 151~153 °C; ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.02 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.64 (dd, $J=14.4$, 5.2 Hz, 2H), 7.52 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 7.44~7.35 (m, 3H), 7.31 (d, $J=7.3$ Hz, 3H), 6.19 (s, 2H, NH_2), 5.02 (s, 2H, NCH_2), 4.50 (s, 2H, SCH_2), 3.12 (s, 3H, NCH_3); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.58, 152.70, 151.78, 137.33, 134.77, 134.74, 133.51, 133.17, 129.38, 129.20, 128.96, 128.32, 128.22, 127.86, 124.03, 120.70, 59.32, 35.05,

32.82; HRMS calcd for $C_{23}H_{23}ClN_7S$ $[M+H]^+$ 498.1031, found 498.1034.

3.3 抗肿瘤活性测试

测试所用的肿瘤细胞: 人膀胱癌细胞(J82)和人前列腺癌细胞(DU145)由郑州大学药学院提供。将肿瘤细胞培养于改良的 RPMI-1640 培养基。肿瘤细胞补加 1 mmol/L 谷氨酸盐, 质量分数 10% 胎牛血清, 在体积分数 5% CO_2 , 37 $^{\circ}C$ 的孵箱中培养。培养一段时间, 计数后, 配成一定浓度的细胞混悬液。将细胞按 100 μL /孔接种于 96 孔板中培养。24 h 后, 将不同浓度的药物均匀混入 200 μL 培养基中, 并分别加入各孔。培养 48 h 后向每孔中加入 5 g/L 的噻唑蓝(MTT)溶液 20 μL 。4 h 后弃去培养液, 每孔加入 100 μL 二甲基亚砜(DMSO)溶解蓝紫色的甲瓚颗粒, 用酶标仪测其吸光度值(A , $\lambda=490$ nm), 结果以复孔 A 的均值表示。对所得数值处理, 分别计算出对照组和各个加药组的平均值、标准差和加药组的存活率。做存活率的柱状图观察不同浓度药物作用结果的梯度情况, 最后用 SPSS 软件进行线性回归求出每个药物的 IC_{50} 。

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **5a~5b**, **6a~6p** 的 1H NMR、 ^{13}C NMR 图谱。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载

References

- [1] Kumar, D.; Narayanam, M. K.; Chang, K. H.; Shah, K. *Chem. Biol. Drug Des.* **2011**, 77, 182.
- [2] Sumangala, V.; Poojary, B.; Chidananda, N.; Arulmoli, T.; Shenoy, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 54, 59.
- [3] Al-Omar, M. A.; Al-Abdullah, E. S.; Shehata, I. A.; Habib, E. E.; Ibrahim, T. M.; El-Emam, A. A. *Molecules* **2010**, 15, 2526.
- [4] Abdel-Wahab, B. F.; Abdel-Latif, E.; Mohamed, H. A.; Awad, G. E. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 52, 263.
- [5] Li, Y. C.; Cheng, J. R.; Zheng, J. Y. *Chin. J. Pestic.* **1993**, 32, 11 (in Chinese). (李煜昶, 成俊然, 郑健禹, 农药, **1993**, 32, 11.)
- [6] Li, Y. C. *Chin. J. Pestic.* **1993**, 32, 20 (in Chinese). (李煜昶, 农药, **1993**, 32, 20.)
- [7] Haria, M.; Bryson, H. M.; Goa, K. L. *Drugs* **1996**, 50, 658.
- [8] Casali, A.; Sega, F. M.; Casali, M.; Giuntini, T.; Cappellini, G. C.; Terzoli, E. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2000**, 19, 17.
- [9] Goa, K. L.; Barradell, L. B. *Drugs* **1996**, 51, 585.
- [10] Stefan, B.; Stefan, D.; Frank, L.; Nicholas, E. L.; Emma, L. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 1849.
- [11] Koji, T.; Mohammad, A. A.; Naoyuki, H.; Johan, W.; Hiroshi, S.; Yoshitsugu, S.; Hayato, F.; Satoshi, S.; Mitsuhiro, A. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 6366.
- [12] Zhang, X. H.; Chen, W. B. *Asian J. Chem.* **2013**, 25, 9805.
- [13] Chu, J.; Xie, X.-H.; Yang, S. R.; Zhan, S. Z. *Inorg. Chim. Acta* **2014**, 410, 191.
- [14] Zhu, C. S.; Chen, W. B. *Asian J. Chem.* **2013**, 25, 7409.
- [15] Sun, H.; Wang, C. M.; Yang, Y. F.; Chen, P.; Wu, Y. D.; Zhang, X. H.; Huang, Y. J. *Org. Chem.* **2014**, 79, 11863.
- [16] Monteiro, A. S.; Almeida, J.; Cabral, G.; Severino, P.; Videira, P. A.; Sousa, A.; Nunes, R.; Pereira, J. D.; Francisco, A. P.; Perry, M. J.; Mendes, E. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 70, 1.
- [17] Cappoen, D.; Vajs, J.; Uythethofken, C.; Kosmrlj, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 77, 193.
- [18] Rodenko, B.; Wanner, M. J.; Alkhalidi, A. A. M.; Ebiloma, G. U.; Barnes, R. L.; Kaiser, M.; Brun, R.; Mcculloch, R.; Koomen, G. J.; Koning, H. P. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, 59, 708.
- [19] Lei, Q.; Zhang, S. Y.; Liu, M. L.; Li, J.; Zhang, X.; Long, Y. *Mol. Diversity* **2017**, 21, 957.
- [20] Lei, Q.; Qin, S. S.; Feng, C. N.; Li, P. P.; Zhang, X.; Long, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, 36, 406 (in Chinese). (雷强, 秦上尚, 冯翠宁, 李佩佩, 张茜, 龙跃, 有机化学, **2016**, 36, 406.)
- [21] Yang, S. H. *Chem. Intermed.* **2008**, (4), 20 (in Chinese). (杨双花, 化工中间体, **2008**, (4), 20.)

(Lu, Y.)