

2-甲硫基-4-芳胺喹唑啉衍生物的合成及抗肿瘤活性评价

孟祥川^a 栗娜^{a,b} 李二冬^{a,b} 常通航^a 刘梦^a 柳晴怡^a
袁文娟^a 张晴晴^a 张钰^a 周智玉^a 宋攀攀^{a,b}
刘宏民^{*,a,b} 张秋荣^{*,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 为了寻求高效的新型抗肿瘤药物,设计并合成了一系列新型 2-甲硫基-4-芳胺喹唑啉衍生物,对这些化合物在人类四种癌细胞 MGC-803(人胃癌细胞)、PC-3(人前列腺癌细胞)、HGC-27(人胃癌细胞)和 A549(人非小细胞肺癌细胞)进行抗肿瘤活性评价。结果显示部分化合物具有较好的抗肿瘤活性,其中 *N*-(4-氟苯基)-2-(甲硫基)喹唑啉-4-胺(**9c**)和 *N*-(4-甲基苯基)-2-(甲硫基)喹唑啉-4-胺(**9m**)显示出较高的抗肿瘤活性,IC₅₀ 值分别为 0.18 和 0.68 μmol·L⁻¹。

关键词 喹唑啉衍生物; 合成; 抗肿瘤活性; 评价

Synthesis and Antitumor Activities Evaluation of 2-Methylthio-4-arylamine Quinazoline Derivatives

Meng, Xiangchuan^a Li, Na^{a,b} Li, Erdong^{a,b} Chang, Tonghang^a Liu, Meng^a
Liu, Qingyi^a Yuan, Wenjuan^a Zhang, Qingqing^a Zhang, Yu^a Zhou, Zhiyu^a
Song, Panpan^{a,b} Liu, Hongmin^{*,a,b} Zhang, Qiorong^{*,a,b}

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

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

Abstract In order to find the efficient and novel antitumor drugs, a series of 2-methylthio-4-arylamine quinazoline derivatives were designed and synthesized. The target compounds were evaluated for antitumor activity *in vitro* on four human cancer cell lines initially including MGC-803, PC-3, HGC-27 and A549. The results showed that some compounds had good antitumor activities, especially *N*-(4-fluorophenyl)-2-(methylthio)quinazolin-4-amine (**9c**) and 2-(methylthio)-*N*-(*p*-tolyl)-quinazolin-4-amine (**9m**), with IC₅₀ values of 0.18 and 0.68 μmol·L⁻¹, respectively.

Keywords quinazoline derivatives; synthesis; antitumor activity; evaluation

癌症是危及人类健康和生命的最常见、最严重的疾病之一,由于各种因素,其已经成为导致人类死亡的“第二大杀手”,依靠现有的治疗手段无法将癌症完全治愈,癌症的高发病率也使得寻找更有效的抗癌药物变得更加紧迫。目前临床使用的抗肿瘤化学治疗药物均有不同程度的毒副作用。因此,研究与开发更高效、更安全的抗肿瘤药物分子具有深远的意义^[1,2]。

喹唑啉环是一个优势的骨架结构,具有喹唑啉环的化合物可以与多种生物大分子结合,产生广泛的生物和药理活性,如抗菌^[3]、抗真菌^[4]、抗炎^[5]和抗肿瘤活性^[6,7]。研究发现,在乳腺癌、卵巢癌、结肠癌等癌细胞中均有表皮生长因子(EGF)过度表达的现象^[8]。通过对这一现象的研究,吉非替尼(Gefitinib) (**1**)成为第一个被批准的表皮生长因子受体酪氨酸激酶的抑制剂(EGFR-TKI),

* Corresponding authors. E-mail: liuhm@zzu.edu.cn; zqr409@yeah.net

Received May 4, 2018; revised June 20, 2018; published online July 5, 2018.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81430085), the Technology Department Project of Henan Province (Nos. 182300410321, 182102310249) and the Students' Platform for Innovation and Entrepreneurship Training Program of Zhengzhou University (No. 2017-cxcy563).

国家自然科学基金(No. 81430085)、河南省科技厅项目(Nos. 182300410321, 182102310249)和郑州大学大学生创新创业训练计划(No. 2017cxcy563)资助项目。

用来治疗晚期非小细胞肺癌的喹唑啉衍生物^[9,10]。随着研究的深入, 研究者们开发出了卡奈替尼(Canertinib) (2)^[11]、达克替尼(Dacomitinib) (3)^[12]、阿法替尼(Afatinib) (4)^[13]等第二代不可逆的表皮生长因子受体抑制剂, 这也说明了喹唑啉环作为抗肿瘤药物分子母核的实用性。

另外, 根据文献报道, Al-Rashood 等^[14]设计并合成了一系列 C-2 位具有巯基或硫醚官能团的喹唑啉类衍生物, 实验证明巯基或硫醚等官能团有助于提高抗肿瘤活性。基于以上研究, 我们以喹唑啉环为母核, 设计了一系列新型 2-甲巯基-4-芳胺喹唑啉衍生物, 通过有效的合成途径在母核 C-2 位的巯基上引入甲基, C-4 位引入接有取代基 R 的芳胺。

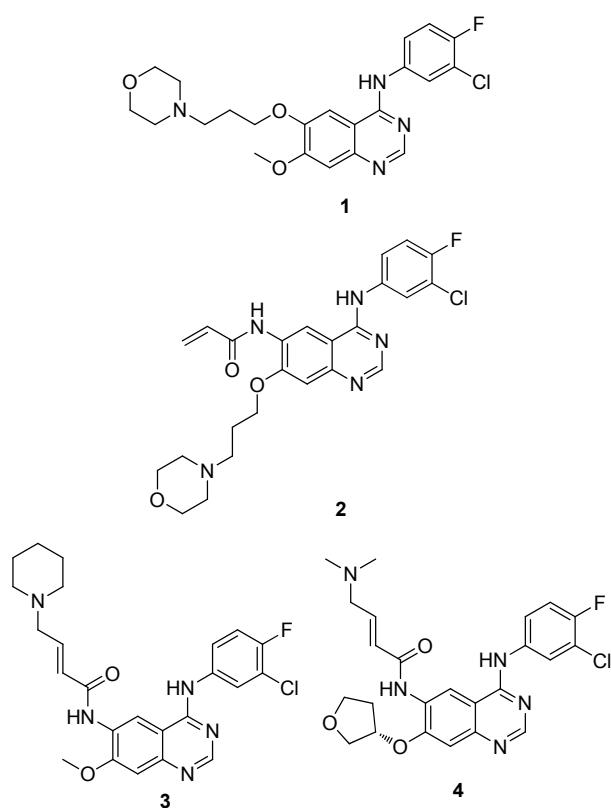


图 1 喹唑啉类抗肿瘤药物的结构式

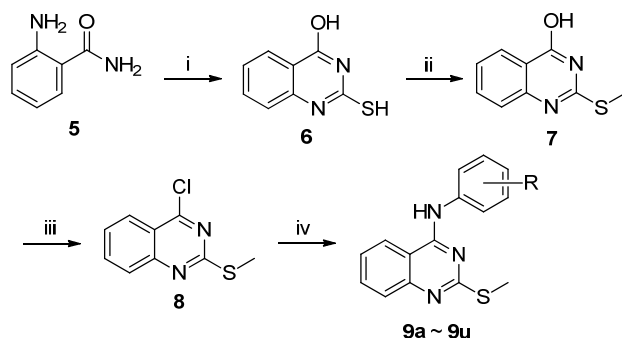
Figure 1 Structures of quinazoline derivatives

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

目标化合物的合成路线如 Scheme 1 所示, 以邻氨基苯甲酰胺(5)和二硫化碳为起始原料, 以无水乙醇为溶剂, 在氢氧化钾存在的条件下, 通过环合反应制备得到化合物 6, 进而与碘甲烷在氢氧化钾水溶液中通过取代反应得到化合物 7。7 进一步与三氯氧磷通过氯代反应得到化合物 8, 化合物 8 与一系列取代的苯胺在异丙醇的存在下进行氨解反应得到化合物 9a~9u, 并且化合

物 9a~9u 的分子结构均经过 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 进行确证。



Reagents and conditions: (i) carbon disulfide, KOH, EtOH, 90 °C, 5 h; (ii) iodomethane, KOH, H₂O, 50 °C, 3 h; (iii) POCl₃, 90 °C, 1 h; (iv) different aniline, isopropanol, 90 °C, 1.5 h.

图式 1 2-甲巯基-4-芳胺喹唑啉衍生物的合成路线

Scheme 2 Synthesis of 2-methylthio-4-arylamine quinazoline derivatives

1.2 化合物的生物活性分析

利用噻唑蓝(MTT)法^[15~18]评估了上述目标化合物对 MGC-803(人胃癌细胞)、PC-3(人前列腺癌细胞)、HGC-27(人胃癌细胞)和 A549(人非小细胞肺癌细胞)四种人类癌细胞的抗肿瘤活性, 并以 5-氟尿嘧啶和吉非替尼作为阳性对照。

根据表 1 中的数据, 大部分化合物对 HGC-27、PC-3 和 A549 的细胞生长无明显抑制作用, 对 MGC-803 则表现出了良好的抑制活性, 表明化合物具有良好的选择性。对于 MGC-803 细胞系, 当喹唑啉环上 4 位引入不同取代基时, 其抗肿瘤活性有明显改变, 说明 4 位的改造对化合物抗肿瘤活性的表达产生一定影响。化合物 9a~9c 的抗肿瘤活性优于化合物 9k~9m, 说明苯胺上有吸电子基团时要比给电子基团更有利于化合物抗肿瘤活性的表达; 化合物 9c 的抗肿瘤活性优于化合物 9f 和 9i, 说明在 F、Cl、Br 主族元素中苯胺上 4 位为 F 原子取代时更有利于化合物抗肿瘤活性的表达; 化合物 9a~9c 或化合物 9n~9p, 苯胺上对位取代、间位取代和邻位取代的抗肿瘤活性依次递减, 三者的空间位阻效应依次递增, 说明对位取代更利于化合物抗肿瘤活性的表达, 以及空间位阻效应对化合物抗肿瘤活性的表达也有一定的影响; 化合物 9m 的抗肿瘤活性优于化合物 9r, 说明苯胺上小体积的取代基团要比大体积的取代基团更有利于化合物抗肿瘤活性的表达。总的来说, 我们从体外抗肿瘤活性评价结果中发现, 化合物 9b~9c、9e~9f、9h~9j、9m、9o~9p 和 9t~9u 对 MGC-803 细胞系的抗肿瘤活性要优于阳性对照 5-氟尿嘧啶和吉非替尼, 其中化合物 9c 和 9m 的 IC₅₀ 值分别为 0.18 和 0.68

表 1 化合物 6~8 和 9a~9u 的抗肿瘤活性^a

Table 1 Antitumor activity of target compounds 6~8 and 9a~9u

Compd.	R	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)			
		MGC-803	HGC-27	PC-3	A549
6	—	>100	>100	>100	>100
7	—	>100	>100	>100	>100
8	—	>100	>100	>100	>100
9a	2-F	78.52±1.90	61.16±1.79	43.47±1.64	92.92±1.97
9b	3-F	2.63±0.42	23.59±1.37	17.40±1.24	64.53±1.81
9c	4-F	0.18±0.03	60.28±1.78	28.34±1.45	85.36±1.93
9d	2-Cl	>100	>100	37.93±1.58	>100
9e	3-Cl	1.98±0.29	16.50±1.22	12.43±1.09	50.98±1.71
9f	4-Cl	2.49±0.40	25.20±1.40	18.11±1.26	25.01±1.40
9g	2-Br	>100	>100	7.34±0.87	>100
9h	3-Br	6.10±0.79	16.15±1.21	16.56±1.22	42.84±1.63
9i	4-Br	2.65±0.47	13.77±1.14	17.35±1.24	>100
9j	3-Cl-4-F	4.06±0.61	>100	8.95±0.95	56.44±1.75
9k	2-CH ₃	66.13±1.82	62.74±1.80	35.00±1.54	>100
9l	3-CH ₃	47.55±1.68	68.43±1.84	19.94±1.30	>100
9m	4-CH ₃	0.68±0.08	>100	>100	84.80±1.93
9n	2-OCH ₃	>100	>100	61.04±1.79	>100
9o	3-OCH ₃	3.49±0.54	32.05±1.51	21.53±1.33	77.88±1.89
9p	4-OCH ₃	2.97±0.51	20.23±1.31	12.51±1.10	17.53±1.24
9q	3-CH ₂ CH ₃	38.43±1.59	25.35±1.40	27.67±1.44	21.88±1.34
9r	4-CH ₂ CH ₃	47.30±1.68	52.01±1.72	17.99±1.26	67.77±1.83
9s	2-OCH ₂ CH ₃	>100	>100	23.30±1.37	>100
9t	4-OCH ₂ CH ₃	1.73±0.24	48.17±1.68	12.38±1.09	>100
9u	3,4,5-3OCH ₃	1.03±0.14	20.14±1.30	86.26±1.94	29.08±1.46
5-Fu ^b	—	8.23±0.47	7.66±0.79	6.42±0.60	4.70±0.57
吉非替尼 ^b	—	8.82±0.64	12.45±0.87	7.99±0.54	9.28±1.00

^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). Data are presented as the means ± SDs of three independent experiments. ^b Positive control.

μmol·L⁻¹.

2 结论

设计并合成了 21 个 2-甲硫基-4-芳胺喹唑啉衍生物, 其中 18 个目标化合物未见相关文献报道, 化合物 9f、9m 和 9p 的合成已见文献报道, 制备方法与本文不同, 抗肿瘤活性评价未见相关文献报道^[19,20]. 利用 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 对化合物的分子结构进行了确证, 并评价了其对于 MGC-803(人胃癌细胞)、PC-3(人前列腺癌细胞)、HGC-27(人胃癌细胞)和 A549(人非小细胞肺癌细胞)四种人类癌细胞的体外抗肿瘤活性, 结果表明, 部分化合物具有良好的抗肿瘤活性, 其中化合物 9c 和 9m 显示出较高的抗肿瘤活性, 对 MGC-803 细胞的细胞毒性优于对照品 5-氟尿嘧啶和吉非替尼, 其 IC₅₀ 值分别为 0.18 和 0.68 μmol·L⁻¹.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

¹H NMR、¹³C 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-ToF Micro 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; 三氯氧磷: 江苏常余化工有限公司; 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; *N,N*-二甲基甲酰胺: 广东光华科技股份有限公司; 二硫化碳: 河南九洲化工贸易有限公司. 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 2-巯基喹唑啉-4-醇(6)的合成

化合物 6 按照文献[21]的方法制备, 表征数据与文献一致.

3.2.2 2-(甲硫基)喹唑啉-4-醇(7)的合成

化合物 7 按照文献[22, 23]的方法制备, 表征数据与文献一致.

3.2.3 4-氯-2-(甲硫基)喹啉(8)的合成

化合物 **8** 按照文献[22, 23]的方法制备, 表征数据与文献一致。

3.2.4 目标化合物 **9a~9u** 的合成

将化合物 **8** (0.140 g, 0.665 mmol) 溶于 4 mL 异丙醇中, 完全溶解后, 将不同取代的苯胺(0.631 mmol)加入上述体系中, 加热至 90 °C, 通过薄层色谱法监测反应, 待反应完成后, 冷却, 过滤, 经真空干燥得到目标化合物 **9a~9u**。

N-(2-氟苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9a**): 白色粉末状固体, 产率 20.0%. m.p. 145.6~146.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.89 (s, 1H), 8.40 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.84~7.76 (m, 1H), 7.68~7.62 (m, 1H), 7.57 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.54~7.48 (m, 1H), 7.34 (td, *J*=6.8, 4.1 Hz, 2H), 7.30~7.25 (m, 1H), 2.39 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.75, 157.69, 150.26, 133.47, 128.29, 127.46, 126.28, 124.87, 124.34, 124.30, 123.28, 116.00, 115.80, 112.64, 13.24; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃FN₃S [M+H]⁺ 286.0814, found 286.0815.

N-(3-氟苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9b**): 白色粉末状固体, 产率 90.4%. m.p. 149.2~151.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.75 (s, 1H), 8.98 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.99 (t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.86 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.83~7.76 (m, 1H), 7.70 (dd, *J*=5.6, 4.4 Hz, 2H), 7.51 (dd, *J*=15.0, 8.2 Hz, 1H), 7.15 (td, *J*=8.4, 2.2 Hz, 1H), 2.59 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 165.63, 162.86, 160.45, 157.25, 138.48, 135.82, 130.08, 129.99, 126.78, 125.08, 120.23, 111.68, 111.51, 111.26, 13.43; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃FN₃S [M+H]⁺ 286.0814, found 286.0815.

N-(4-氟苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9c**): 白色粉末状固体, 产率 90.8%. m.p. 146.7~147.4 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.95 (s, 1H), 9.01 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.99 (dd, *J*=11.4, 4.0 Hz, 1H), 7.89~7.81 (m, 3H), 7.67 (t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.36~7.30 (m, 2H), 2.53 (d, *J*=5.3 Hz, 4H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 165.34, 161.21, 158.79, 157.18, 135.88, 132.82, 132.80, 126.91, 126.83, 125.21, 118.49, 115.31, 115.09, 111.43, 13.40; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃FN₃S [M+H]⁺ 286.0814, found 286.0815.

N-(2-氯苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9d**): 白色粉末状固体, 产率 47.0%. m.p. 127.5~128.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.92 (s, 1H), 8.41 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.80 (t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.69~7.56 (m, 3H), 7.55~7.31 (m, 3H), 3.35 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-

*d*₆) δ: 166.74, 157.87, 150.28, 135.53, 133.45, 130.85, 129.67, 129.54, 127.86, 127.53, 126.28, 124.85, 123.21, 112.59, 13.23; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃ClN₃S [M+H]⁺ 302.0519, found 302.0519.

N-(3-氯苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9e**): 白色粉末状固体, 产率 96.7%. m.p. 128.3~129.7 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.75 (s, 1H), 8.95 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 8.00 (dt, *J*=14.9, 4.7 Hz, 2H), 7.87~7.77 (m, 2H), 7.67 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.50 (t, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.35 (dd, *J*=8.0, 1.2 Hz, 1H), 2.58 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 165.52, 157.22, 138.20, 135.91, 132.57, 130.05, 126.84, 125.82, 125.18, 124.17, 122.87, 119.05, 118.91, 111.60, 13.46; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃ClN₃S [M+H]⁺ 302.0519, found 302.0516.

N-(4-氯苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9f**): 白色粉末状固体, 产率 88.7%. m.p. 129.7~130.5 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.53 (s, 1H), 8.86 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.97 (t, *J*=7.7 Hz, 2H), 7.85 (dd, *J*=9.4, 2.5 Hz, 3H), 7.70~7.65 (m, 2H), 7.55~7.52 (m, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 165.70, 157.16, 146.39, 135.91, 135.64, 129.91, 128.70, 128.52, 128.44, 126.65, 125.94, 124.82, 119.81, 111.80, 13.49; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃ClN₃S [M+H]⁺ 302.0519, found 302.0516.

N-(2-溴苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9g**): 白色粉末状固体, 产率 79.4%. m.p. 132.5~133.3 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.57 (s, 1H), 9.94 (s, 1H), 8.41 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 8.08~8.00 (m, 1H), 7.79~7.75 (m, 2H), 7.63 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.42 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.32~7.26 (m, 1H), 2.36 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.72, 161.08, 157.86, 137.02, 134.54, 133.46, 132.81, 129.88, 128.17, 125.99, 125.52, 124.84, 123.20, 121.99, 12.69; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃BrN₃S [M+H]⁺ 346.0014, found 346.0014.

N-(3-溴苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9h**): 白色粉末状固体, 产率 94.0%. m.p. 136.7~137.6 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.79 (s, 1H), 8.97 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 8.18 (t, *J*=1.8 Hz, 1H), 7.98 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.85 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.70~7.66 (m, 1H), 7.50 (dd, *J*=6.7, 5.4 Hz, 1H), 7.45 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 2.59 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 165.55, 157.20, 138.37, 135.86, 130.56, 130.35, 128.63, 126.93, 126.81, 125.10, 123.14, 121.27, 120.87, 111.64, 13.49; HRMS (ESI) calcd for C₁₅H₁₃BrN₃S [M+H]⁺ 346.0014, found 346.0015.

N-(4-溴苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9i**): 白色粉末状固体, 产率 95.2%. m.p. 133.8~134.6 °C; ¹H NMR

(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.35 (s, 1H), 8.79 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.97 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.78 (dd, $J=8.2, 6.2$ Hz, 3H), 7.68 (dd, $J=7.4, 5.3$ Hz, 3H), 2.56 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.80, 163.57, 159.82, 157.09, 137.58, 136.60, 136.12, 135.52, 134.24, 131.38, 126.58, 126.06, 124.63, 111.92, 13.51; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{BrN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 346.0014, found 346.0016.

N-(3-氯-4-氟苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9j**): 白色粉末状固体, 产率 96.7%. m.p. 157.1~157.9 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.77 (s, 1H), 8.93 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 8.21~8.11 (m, 1H), 7.98 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.67 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.53 (t, $J=9.0$ Hz, 1H), 2.54 (d, $J=24.2$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.65, 157.26, 153.66, 135.81, 134.06, 126.77, 126.33, 124.98, 119.58, 119.01, 118.82, 116.75, 116.53, 111.63, 13.45; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{ClFN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 320.0424, found 320.0422.

N-(2-甲基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9k**): 白色粉末状固体, 产率 58.3%. m.p. 124.2~125.1 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.84 (s, 1H), 8.44 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.79 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.29 (ddd, $J=23.7, 15.2, 7.5$ Hz, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.21 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.77, 157.80, 149.67, 136.64, 134.74, 133.35, 130.39, 127.42, 126.46, 126.10, 125.85, 124.77, 123.33, 112.69, 18.00, 13.19; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.1065, found 282.1068.

N-(3-甲基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9l**): 白色粉末状固体, 产率 79.2%. m.p. 131.6~132.5 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.64 (s, 1H), 8.93 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.98 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.73~7.54 (m, 3H), 7.36 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 2.53 (d, $J=19.6$ Hz, 4H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.37, 157.05, 141.23, 137.78, 136.51, 135.77, 128.29, 126.95, 126.80, 125.02, 124.95, 121.59, 118.83, 111.58, 20.94, 13.34; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.1065, found 282.1066.

N-(4-甲基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9m**): 白色粉末状固体, 产率 91.1%. m.p. 122.8~123.5 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.59 (s, 1H), 8.88 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.97 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.72~7.64 (m, 3H), 7.28 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.39, 163.80, 156.98, 151.44, 141.16, 135.70, 134.04, 128.92, 126.76, 124.94, 124.36, 118.93, 111.62, 97.83,

20.65, 13.39; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.1065, found 282.1068.

N-(2-甲氧基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9n**): 白色粉末状固体, 产率 19.8%. m.p. 126.4~127.2 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.42 (s, 1H), 8.38 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.77 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.72~7.56 (m, 2H), 7.47 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.30~7.20 (m, 1H), 7.14 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 2.41 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.80, 157.56, 153.22, 150.14, 133.21, 126.79, 126.72, 126.57, 126.24, 124.69, 123.07, 120.15, 112.88, 111.81, 55.64, 13.31; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.1014, found 298.1013.

N-(3-甲氧基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9o**): 白色粉末状固体, 产率 77.5%. m.p. 126.2~127.0 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.57 (s, 1H), 8.92 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.05~7.91 (m, 1H), 7.85 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.68 (dd, $J=11.4, 4.0$ Hz, 1H), 7.49~7.33 (m, 3H), 6.93~6.83 (m, 1H), 3.80 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.49, 159.27, 157.16, 141.42, 137.84, 135.74, 129.25, 126.77, 124.98, 119.16, 116.66, 111.91, 111.68, 110.19, 55.29, 13.41; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.1014, found 298.1012.

N-(4-甲氧基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9p**): 白色粉末状固体, 产率 89.0%. m.p. 128.7~129.2 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.78 (s, 1H), 8.96 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.96 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.66 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.54 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.17, 157.52, 156.77, 140.42, 138.98, 135.72, 129.24, 126.80, 126.15, 126.02, 125.10, 118.33, 113.58, 111.47, 55.31, 13.39; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 298.1014, found 298.1015.

N-(3-乙基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9q**): 白色粉末状固体, 产率 89.7%. m.p. 142.5~143.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.55 (s, 1H), 8.93 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.97 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.71~7.58 (m, 3H), 7.38 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.29~7.10 (m, 2H), 2.65 (p, $J=7.5$ Hz, 2H), 1.19 (dt, $J=19.8, 5.8$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.47, 157.06, 144.11, 136.77, 135.56, 129.54, 128.37, 126.62, 125.64, 124.95, 123.73, 122.35, 121.71, 111.72, 28.13, 15.51, 13.35; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 296.1221, found 296.1220.

N-(4-乙基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9r**): 白色

粉末状固体, 产率 84.6%. m.p. 141.7~142.5 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.71 (s, 1H), 8.96 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.97 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.76~7.63 (m, 3H), 7.31 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 2.65 (q, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.56 (s, 3H), 1.21 (t, $J=7.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.33, 156.92, 142.00, 140.85, 138.97, 135.73, 134.21, 128.21, 127.65, 126.78, 125.10, 124.44, 118.66, 111.57, 27.72, 15.48, 13.40; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 296.1221, found 296.1219.

N-(2-乙氧基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9s**): 白色粉末状固体, 产率 59.8%. m.p. 124.8~125.7 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.57 (s, 1H), 8.04 (dd, $J=7.9$, 1.2 Hz, 1H), 7.76 (ddd, $J=8.5$, 7.2, 1.6 Hz, 1H), 7.54 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.45~7.38 (m, 1H), 3.34 (s, 1H), 2.61~2.49 (m, 5H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 166.78, 157.36, 152.35, 150.13, 133.17, 128.21, 127.12, 126.36, 126.28, 124.75, 122.93, 120.14, 117.69, 112.89, 63.84, 14.59, 13.31; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 312.1171, found 312.1173.

N-(4-乙氧基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9t**): 白色粉末状固体, 产率 98.9%. m.p. 126.4~127.1 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.64 (s, 1H), 8.88 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.96 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=8.9$ Hz, 3H), 7.02 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.06 (q, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.54 (s, 3H), 1.35 (t, $J=7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.27, 156.83, 156.78, 140.92, 135.67, 129.66, 129.18, 126.77, 125.97, 124.94, 119.16, 118.70, 114.09, 111.55, 63.25, 14.61, 13.38; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 312.1171, found 312.1173.

N-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-(甲硫基)喹啉-4-胺(**9u**): 白色粉末状固体, 产率 20.7%. m.p. 128.3~129.1 °C; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.47 (s, 1H), 8.91 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 7.98 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.67 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.21 (s, 2H), 3.81 (s, 6H), 3.71 (s, 3H), 2.62 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.51, 156.97, 152.50, 149.23, 141.42, 135.80, 135.68, 132.53, 126.74, 124.88, 119.16, 118.93, 111.68, 102.42, 60.18, 56.06, 13.41; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 358.1225, found 358.1228.

3.2.5 抗肿瘤细胞毒活性实验

实验方法: 取对数生长期的细胞, 消化计数后, 以 4×10^3 个/孔的细胞密度接种至 96 孔板中, 每孔 100 μL

培养基, 在 37 °C 孵育 24 h 后, 弃去培养基, 加入提前用培养基稀释好的样品, 即将待测样品以 100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.5625、0.78125 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 浓度加入 96 孔板中, 每个浓度设 6 个复孔, 另设空白对照组及阴性对照组, 培养 72 h 后, 每孔加入 20 μL MTT 溶液进行染色, 继续培养 4 h 后, 吸去液体, 加入 150 μL 的二甲基亚砜, 振荡均匀, 酶标仪 490 nm 处检测吸光度值, 通过 SPSS16.0 统计软件计算得出 IC_{50} 值。

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **9a~9u** 的核磁共振氢谱、碳谱。这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载

References

- [1] Sangthong, S.; Krusong, K.; Ngamrojanavanich, N.; Vilaivan, T.; Puthong, S.; Chandchawan, S.; Muangsins, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4813.
- [2] 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.
- [3] Van Horn, K. S.; Burda, W. N.; Fleeman, R.; Shaw, L. N.; Manetsch, R. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 3075.
- [4] Liu, F.; Huang, Y. J. *Pestic. Biochem. Phys.* **2011**, *101*, 248.
- [5] Alafeefy, A. M.; Kadi, A. A.; Al-Deeb, O. A.; El-Tahir, K. E. H.; Al-Jaber, N. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4947.
- [6] Wu, J. W.; Chen, W. T.; Xia, G. X.; Zhang, J.; Shao, J. A.; Tan, B. Q.; Zhang, Z. Z.; Yu, W. W.; Weng, Q. J.; Liu, H. Y.; Hu, M.; Deng, H. L.; Hao, Y.; Shen, J. K.; Yu, Y. P. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 974.
- [7] Zhang, Y. L.; Chen, L.; Xu, H. J.; Li, X. B.; Zhao, L. J.; Wang, W.; Li, B. L.; Zhang, X. Q. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *147*, 77.
- [8] Siegel, R.; Naishadham, D.; Jemal, A. *CA Cancer J. Clin.* **2013**, *67*, 11.
- [9] Cui, G.; Cui, M.; Li, Y.; Liang, Y.; Li, W.; Guo, H.; Zha, S. *Med. Oncol.* **2015**, *32*, 570.
- [10] Mathew, M. P.; Tan, E.; Saeui, C. T.; Bovonratwet, P.; Liu, L.; Bhattacharya, R.; Yarema, K. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1223.
- [11] Smaill, J. B.; Showalter, H. D. H.; Zhou, H.; Bridges, A. J.; McNamara, D. J.; Fry, D. W.; Nelson, J. M.; Sherwood, V.; Vincent, P. W.; Roberts, B. J.; Elliott, W. L.; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 429.
- [12] Engelman, J. A.; Zejnullahu, F.; Gale, C.-M.; Lifshits, E.; Gonzales, A. J.; Shimamura, T.; Zhao, F.; Vincent, P. W.; Naumov, G. N.; Bradner, J. E.; Althaus, I. W.; Gandhi, L.; Shapiro, G. I.; Nelson, J. M.; Heymach, J. V.; Meyerson, M.; Wong, K. K.; Janne, P. A. *Cancer Res.* **2007**, *67*, 11924.
- [13] Li, D.; Ambrogio, L.; Shimamura, T.; Kubo, S.; Takahashi, M.; Chiriac, L. R.; Padera, R. F.; Shapiro, G. I.; Baum, A.; Himmelsbach, F.; Rettig, W. J.; Meyerson, M.; Solca, F.; Greulich, H.; Wong, K. K. *Oncogene* **2008**, *27*, 4702.
- [14] Al-Rashood, S. T.; Aboldahab, I. A.; Nagi, M. N.; Abouzeid, L. A.; Abdel-Aziz, A. A. M.; Abdel-Hamide, S. G.; Youssef, K. M.; Al-Obaid, A. M.; El-Subbagh, H. I. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8608.
- [15] Shao, K. P.; Zhang, X. Y.; 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.
- [16] Wang, C.; Cao, Q.; Yang, H.; Song, P.; Xue, D.; Cui, F.; Gu, Y.; Zhang, X.; Tian, Y.; Zhang, Q.; Liu, H. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, *36*, 1626 (in Chinese).

- (王超杰, 曹钦坡, 杨慧, 宋攀攀, 薛登启, 崔飞, 顾一飞, 张孝松, 田亚楠, 张秋荣, 刘宏民, 有机化学, **2016**, *36*, 1626.)
- [17] Li, N.; Xin, J. C.; Ma, Q. S.; Li, E. D.; Meng, Y. Q.; Bao, C. N.; Yang, P.; Song, P. P.; Cui, F.; Cheng, P. J.; Gu, Y. F.; Zhao, P. R.; Ke, Y.; Liu, H. M.; Zhang, Q. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *38*, 665 (in Chinese).
(栗娜, 辛景超, 马启胜, 李二冬, 孟娅琪, 包崇男, 杨鹏, 宋攀攀, 崔飞, 陈鹏举, 顾一飞, 赵培荣, 可钰, 刘宏民, 张秋荣, 有机化学, **2018**, *38*, 665.)
- [18] Xin, J. C.; Li, N.; Ma, Q. S.; Li, E. D.; Meng, X. C.; Ke, Y.; Liu, H. M.; Zhang, Q. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, *32*, 451 (in Chinese).
(辛景超, 栗娜, 马启胜, 李二冬, 孟祥川, 可钰, 刘宏民, 张秋荣, 有机化学, **2018**, *32*, 451.)
- [19] Abdullaev, N. P.; Kayumov, K.; Shakhidoyatov, K. M. *Uzb. Khim. Zh.* **1997**, *2*, 29.
- [20] Kikelj, D. In *Science of Synthesis, Product Class 13: Quinazolines*, Vol. 16, Eds.: Yamamoto, Y.; Bellus, D.; Jacobsen, E. N.; Ley, S. V.; Noyori, R.; Regitz, M.; Reider, P. J.; Schaumann, E.; Shinkai, I.; Thimas, E. J.; Trost, B. M.; Thieme, Stuttgart, **2004**, p. 573.
- [21] Song, P. P.; Cui, F.; Li, N.; Xin, J. C.; Ma, Q. S.; Meng, X. C.; Wang, C. J.; Cao, Q. P.; Gu, Y. F.; Ke, Y.; Zhang, Q. R.; Liu, H. M. *Chin. J. Chem.* **2017**, *35*, 1633 (in Chinese).
(宋攀攀, 崔飞, 栗娜, 辛景超, 马启胜, 孟祥川, 王超杰, 曹钦坡, 顾一飞, 可钰, 刘宏民, 张秋荣, 有机化学, **2017**, *35*, 1633.)
- [22] 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.
- [23] 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.

(Li, L.; Fan, Y.)