含三氟甲基的 2,4,6-三取代喹唑啉衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

汪正捷^{a,b} 戴洪林^{a,b} 司晓杰^{a,b} 高 潮^{a,b} 刘丽敏^{a,b}
 张路野^{a,b} 张 洋^{a,b} 宋亚丹^{a,b} 赵培荣^{a,b,c} 郑甲信^{a,b}
 可 钰^{*,a,b} 刘宏民^{*,a,b,c,d} 张秋荣^{*,a,b,d}

(^a 郑州大学药学院 郑州 450001)

(^b 郑州大学 新药研究与安全评价协同创新中心 郑州 450001)

(^c 郑州大学 食管癌防治国家重点实验室 郑州 450052)

(^d 郑州大学 教育部药物制备关键技术重点实验室 郑州 450001)

摘要 为了寻找高效低毒的抗肿瘤药物,设计并合成了一系列新型的含三氟甲基基团的 2,4,6-三取代喹唑啉衍生物,并采用噻唑蓝(MTT)比色法测定目标化合物对人前列腺癌细胞系(PC-3)、人乳腺癌细胞系(MCF-7)、人食管癌细胞系(Eca-109)、人胃癌细胞系(MGC-803)、人未分化胃癌细胞系(HGC-27)、人非小细胞肺癌细胞系(A549)和人非小细胞肺癌细胞系(H1975)的抗肿瘤活性。结果显示部分化合物表现出中度至强效的抗肿瘤活性,其中 *N*-(3-溴苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹唑啉-4-胺(**16l**)对 PC-3 细胞具有最好的抗肿瘤活性,IC₅₀ 值为(2.22±0.15) μmol/L,抗肿瘤活性明显优于阳性对照品吉非替尼。此外,化合物 **16l** 对 PC-3 细胞以浓度依赖与时间依赖的方式诱导其凋亡。

关键词 三氟甲基;喹唑啉;合成;抗肿瘤活性

Synthesis and Antitumor Activity of 2,4,6-Trisubstituted Novel Quinazoline Derivatives Containing Trifluoromethyl

Wang, Zhengjie^{a,b} Dai, Honglin^{a,b} Si, Xiaojie^{a,b} Gao, Chao^{a,b} Liu, Limin^{a,b}
 Zhang, Luye^{a,b} Zhang, Yang^{a,b} Song, Yadan^{a,b} Zhao, Peirong^{a,b,c}
 Zheng, Jiaxin^{a,b} Ke, Yu^{*,a,b} Liu, Hongmin^{*,a,b,c,d} Zhang, Qiurong^{*,a,b,d}

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

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

(^c State Key Laboratory of Esophageal Cancer Prevention & Treatment, Zhengzhou University, Zhengzhou, 450052)

(^d Key Laboratory of Advanced Drug Preparation Technologies, Ministry of Education of China, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

Abstract In order to find efficient and low toxicity antitumor drugs, a series of novel 2,4,6-trisubstituted quinazoline derivatives containing trifluoromethyl were synthesized and evaluated for their antitumor activities against human cancer cell lines (PC-3, MCF-7, Eca-109, MGC-803, HGC-27, A549, H1975) by using methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. Most of compounds exerted moderate to excellent antitumor activity against seven human cancer cells. Among them, *N*-(3-bromophenyl)-6-methoxy-2-((4-(trifluoromethyl)benzyl)thio)quinazolin-4-amine (**16l**) showed the best antitumor activity against PC-3 cancer cell line, with the IC₅₀ values of (2.22±0.15) μmol/L, which was better than the positive control of gefitinib. At the same time, and compound **16l** could dose-dependently and time-dependently induce PC-3 cells apoptosis.

Keywords trifluoromethyl; quinazoline; synthesis; antitumor activity

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

Received July 12, 2021; revised August 13, 2021; published online August 28, 2021.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. U1904163) and the National Key Research Program of Proteins (No. 2018YFE0195100) and the Opening Fund from State Key Laboratory of Esophageal Cancer Prevention & Treatment (No. K2020000X).

国家自然科学基金(No. U1904163)、国家蛋白质研究项目(No. 2018YFE0195100)、省部共建食管癌防治国家重点实验室资助的开放基金(No. K2020000X)资助项目。

如今,肿瘤仍然是世界上威胁人类健康最常见、最严重的疾病之一. 根据世界卫生组织(WHO)公布的数据,全球癌症死亡率持续上升^[1-3]. 目前,根据肿瘤的类型,临床有多种治疗方法,如手术治疗、化疗、放疗、免疫治疗和心理治疗等. 但由于化疗药物的选择性差、耐药性的发生和严重的副作用限制了其临床应用^[4-5]. 因此,研究和开发新型高效、低毒的抗肿瘤药物迫在眉睫.

喹唑啉衍生物是一类重要的含氮杂环化合物,具有抗疟^[6]、抗菌^[7-8]、抗炎^[9-10]、抗惊厥^[11]、抗高血压^[12]、抗糖尿病^[13]、抑制胆碱酯酶^[14-15]和抗肿瘤^[16-17]等多种药理特性. 近年来,许多喹唑啉类化合物已被美国食品药

品监督管理局(FDA)批准用于临床,包括吉非替尼(Gefitinib) (1)、拉帕替尼(Lapatinib) (2)、厄洛替尼(Erlotinib) (3)、阿法替尼(Afatinib) (4)等^[18](图 1).

此外,许多研究表明,将三氟甲基引入杂环骨架可以增强化合物的代谢稳定性、生物利用度和抗增殖活性,同时,已有报道化合物 5~8^[19-22]对肿瘤细胞具有优越的抗增殖作用,且均含有三氟甲基基团.

受上述研究结果的启发,利用拼合原理将三氟甲基基团引入含喹唑啉骨架的分子中,设计、合成了一系列新型的含三氟甲基的 2,4,6-三取代喹唑啉衍生物,并通过噻唑蓝(MTT)比色法测定其在体外的抗增殖活性.

图 1 4-氨基喹唑啉衍生物和含有三氟甲基的衍生物的结构式

Figure 1 Structures of some 4-aminoquinazoline derivatives and derivatives containing trifluoromethyl

Reagents and conditions: (i) POCl_3 , 65 °C; 2 h; (ii) $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0 °C; 15 min; (iii) Fe , NH_4Cl , 80 °C; 2 h; (iv) CS_2 , KOH , 85 °C; 48 h; (v) *p*-trifluoromethyl benzyl chloride, KOH , 1,4-dioxane, H_2O , 90 °C; 1 h; (vi) POCl_3 , 55 °C; 1 h; (vii) different anilines, *N,N*-dimethylformamide, 90 °C; 1 h

图式 1 化合物 16a~16w 的合成路线

Scheme 1 Synthesis of the target compounds 16a~16w

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

首先以市售的 5-甲氧基-2-硝基苯甲酸(**9**)和三氯氧磷为起始原料通过氯代反应得到化合物 **10**, 然后化合物 **10** 在冰浴条件下与浓氨水进行氨解反应合成化合物 **11**. 以 $V_{\text{无水乙醇}}:V_{\text{水}}=4:1$ 为溶剂, 化合物 **11** 经铁粉还原制得化合物 **12**, 以无水乙醇为溶剂, 在氢氧化钾存在的条件下, 化合物 **12** 与二硫化碳通过环合反应制备得到化合物 **13**, 进而与对三氟甲基苄氯在氢氧化钾水溶液中通过取代反应得到化合物 **14**. 化合物 **14** 进一步与三氯氧磷通过氯代反应得到化合物 **15**, 最后, 以 *N,N*-二甲基甲酰胺为溶剂, 碳酸钾作缚酸剂, 化合物 **15** 和不同取代的苯胺经亲核取代反应合成化合物 **16a~16w**. 目标化合物 **16a~16w** 的结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HRMS 表征.

1.2 目标化合物的生物活性

1.2.1 目标化合物 **16a~16w** 的抗增殖活性

为了探索目标化合物的抗增殖活性, 使用 MTT 比色法, 吉非替尼(Gefitinib)用作阳性对照. 对化合物

16a~16w 进行体外抗人 PC-3(前列腺癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)、Eca-109(人食管癌细胞)、MGC-803(人胃癌细胞)、HGC-27(人未分化胃癌细胞)、A549(人非小细胞肺癌细胞)和 H1975(人非小细胞肺癌细胞系细胞肺癌细胞系)的抗增殖活性实验, 结果如表 1 所示. 大多数化合物对 7 种人类癌细胞系表现出中等的抗增殖活性. 从化合物 **16b~16e**、**16j~16m** 和 **16r~16u** 的生物学数据可知, 当 R 被吸电子基团取代时, 间位取代的抗增殖活性优于邻位和对位, 表明吸电子基团取代在苯环上 3-位有利于抗增殖活性的提高. 当 R 为给电子基团时, 与 **16f~16h** 相比, **16n~16o** 和 **16v~16w** 具有更好的生物活性, 可以发现间位取代和对位取代的生物活性优于邻位取代. 其中, 化合物 **16l** 对 PC-3 细胞系的抗增殖活性最好, IC_{50} 值为 $(2.22 \pm 0.15) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 并且 **16l** 的抗增殖活性优于阳性对照吉非替尼.

1.2.2 化合物 **16l** 诱导 PC-3 细胞凋亡

肿瘤细胞的凋亡被认为是大多数抗癌药物杀死肿瘤细胞的主要方式. 为了更好地表征 **16l** 诱导肿瘤细胞凋亡的能力, 使用细胞凋亡检测试剂盒进行了双参数细胞荧光分析. 如图 2 所示, PC-3 细胞与化合物 **16l** 孵育

表 1 目标化合物 **16a~16w** 对七种癌细胞系的抗增殖活性^a
Table 1 Antiproliferative activities of target compounds **16a~16w** against seven cancer cell lines

Compound	R	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$						
		PC-3	MCF-7	Eca-109	MGC-803	HGC-27	A549	H1975
16a	H	24.66 ± 0.80	21.32 ± 0.52	25.35 ± 1.28	22.12 ± 1.10	28.51 ± 1.26	29.48 ± 0.77	24.92 ± 1.60
16b	2-F	17.13 ± 0.65	27.03 ± 1.25	24.53 ± 1.62	15.89 ± 0.82	16.40 ± 1.21	26.83 ± 1.17	26.80 ± 1.32
16c	2-Cl	22.27 ± 1.12	>50	>50	32.80 ± 1.65	>50	>50	24.41 ± 1.21
16d	2-Br	16.50 ± 0.53	22.03 ± 0.87	>50	17.07 ± 0.86	35.75 ± 1.55	16.49 ± 0.56	>50
16e	2-CF ₃	45.19 ± 1.24	44.22 ± 1.23	43.69 ± 1.55	35.94 ± 1.26	25.07 ± 1.39	45.51 ± 1.19	44.17 ± 1.62
16f	2-CH ₃	15.90 ± 1.08	26.23 ± 0.95	32.10 ± 1.85	21.09 ± 1.02	19.00 ± 1.27	39.83 ± 1.61	37.14 ± 1.66
16g	2-OCH ₃	36.99 ± 1.63	>50	>50	30.67 ± 1.75	20.09 ± 1.41	28.51 ± 0.45	23.24 ± 0.76
16h	2-OC ₂ H ₅	9.67 ± 0.68	43.55 ± 1.87	47.17 ± 1.81	40.33 ± 1.12	21.47 ± 1.33	29.13 ± 0.65	31.20 ± 1.81
16i	3-Cl-4-F	9.08 ± 0.52	18.90 ± 0.48	13.38 ± 0.32	15.13 ± 0.60	8.26 ± 0.91	18.34 ± 0.60	25.94 ± 0.97
16j	3-Cl	9.38 ± 0.55	18.29 ± 0.68	17.16 ± 0.68	20.66 ± 1.31	18.35 ± 1.26	27.17 ± 0.49	25.20 ± 0.77
16k	3,4-diCl	7.77 ± 0.46	16.00 ± 0.76	9.41 ± 0.22	10.36 ± 1.01	23.86 ± 0.83	26.09 ± 0.85	9.41 ± 0.22
16l	3-Br	2.22 ± 0.15	7.62 ± 0.77	6.21 ± 0.66	4.07 ± 0.79	7.55 ± 0.87	5.93 ± 0.25	8.45 ± 0.41
16m	3-CF ₃	3.11 ± 0.15	13.29 ± 0.40	16.30 ± 0.19	5.60 ± 0.29	6.06 ± 0.78	14.71 ± 0.86	21.13 ± 0.81
16n	3-CH ₃	7.06 ± 0.67	23.34 ± 0.62	26.65 ± 0.85	14.44 ± 0.75	9.59 ± 1.24	17.22 ± 0.21	24.78 ± 1.69
16o	3-OCH ₃	8.81 ± 0.59	26.55 ± 1.64	22.64 ± 1.41	10.84 ± 1.03	22.54 ± 1.33	30.05 ± 1.21	22.64 ± 1.41
16p	3-CN	6.24 ± 0.42	>50	29.23 ± 1.83	3.59 ± 0.55	20.36 ± 0.90	28.12 ± 1.02	29.23 ± 1.83
16q	3-NO ₂	3.25 ± 0.51	6.62 ± 0.81	10.00 ± 1.00	6.99 ± 0.84	22.69 ± 0.96	26.60 ± 1.07	10.00 ± 1.00
16r	4-F	7.02 ± 0.58	20.01 ± 0.94	10.28 ± 0.35	19.44 ± 1.28	17.39 ± 0.55	25.28 ± 0.95	10.28 ± 0.35
16s	4-Cl	7.22 ± 0.66	15.06 ± 0.66	15.88 ± 0.56	8.23 ± 0.91	25.75 ± 0.80	21.15 ± 1.35	15.88 ± 0.56
16t	4-Br	9.10 ± 0.40	17.50 ± 0.52	10.55 ± 0.47	17.66 ± 1.24	28.38 ± 0.88	28.95 ± 1.20	10.55 ± 0.47
16u	4-CF ₃	3.14 ± 0.41	14.39 ± 0.69	10.82 ± 0.96	11.37 ± 1.05	15.05 ± 0.50	14.75 ± 0.85	10.82 ± 0.96
16v	4-CH ₃	13.42 ± 0.47	21.50 ± 1.36	19.04 ± 0.83	25.47 ± 1.87	26.91 ± 1.40	29.77 ± 1.81	19.04 ± 0.83
16w	4-OCH ₃	6.55 ± 0.75	28.78 ± 1.29	28.87 ± 0.80	9.51 ± 0.97	30.10 ± 1.26	18.31 ± 0.46	28.87 ± 0.80
Gefitinib ^b	—	8.92 ± 0.41	8.15 ± 0.28	10.90 ± 0.81	8.19 ± 0.67	7.91 ± 0.22	6.26 ± 0.83	9.20 ± 0.76

^a IC_{50} : the concentration of compound required for cell activity to be suppressed by half; ^b used as a positive control.

图2 (A)用不同浓度的化合物 **16l** 处理 PC-3 细胞 48 h、(B)用不同浓度的化合物 **16l** 处理 PC-3 细胞 72 h、(C) PC-3 细胞 48 h 凋亡细胞定量分析、(D) PC-3 细胞 72h 凋亡细胞定量分析(与对照组相比, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$)

Figure 2 (A) PC-3 cells treated with different concentrations of compound **16l** for 48 h, (B) PC-3 cells treated with different concentrations of compound **16l** for 72 h, (C) quantitative analysis of apoptosis cells of PC-3 for 48 h, and (D) quantitative analysis of apoptosis cells of PC-3 for 72 h (compared with the control group, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$)

48 h 后凋亡细胞的百分比 3.91% 增加到 21.87%, 在相同浓度下与化合物 **16l** 孵育 72 h 后, 凋亡细胞的百分比从 6.85% 增加到 26.64%。结果表明化合物 **16l** 能够以浓度依赖和时间依赖的方式诱导细胞凋亡。

2 结论

为了寻找新型高效、低毒的抗肿瘤化合物, 本课题组设计合成了一系列含三氟甲基的 2,4,6-三取代喹唑啉衍生物, 并使用 MTT 测定了目标化合物 **16a**~**16w** 对 7 种人类癌细胞: PC-3(前列腺癌细胞)、MCF-7(人乳腺癌细胞)、Eca-109(人食管癌细胞)、MGC-803(人胃癌细胞)、HGC-27(人未分化胃癌细胞)、A549(人非小细胞肺癌细胞)和 H1975(人非小细胞肺癌细胞系细胞肺癌细胞系)的抗增殖活性。其中化合物 **16l** 对 PC-3 细胞系抗增殖活性要优于阳性对照吉非替尼, 其 IC_{50} 值为 $(2.22 \pm 0.15) \mu\text{mol/L}$ 。同时, 化合物 **16l** 能够以浓度依赖和时间依赖的方式诱导 PC-3 细胞凋亡。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

试剂和溶剂均为商业来源, 无需进一步纯化即可使用。柱层析在 200~300 目硅胶(青岛海阳化工, 中国)上进行。在 0.25 mm 硅胶板(GF254)上的薄层色谱上监测反应。熔点是在 X-5 微熔点仪上测定的; ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱分别在 Bruker 400 MHz 和 101 MHz 光谱仪上记录; 高分辨质谱(HRMS)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。

3.2 实验方法

3.2.1 化合物 **10**~**15** 合成

根据文献的方法合成了化合物 **10**~**15**^[23-25], 表征数据与文献一致。

3.2.2 目标化合物 **16a**~**16w** 的合成

将化合物 **15** (2.60 mmol)、碳酸钾(3.38 mmol)和不

同取代的苯胺(2.86 mmol)溶于 4 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中, 90 °C 反应 1 h, 薄层层析(TLC)监测反应完成后, 经萃取、浓缩和柱色谱分离得目标化合物 **16a~16w**。

6-甲氧基-*N*-苯基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16a**): 淡黄色固体, 产率 93.4%. m.p. 146.1~146.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.79 (s, 1H), 7.89 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.73 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.64~7.56 (m, 5H), 7.48~7.39 (m, 3H), 7.17 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 4.45 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.6, 156.6, 154.4, 153.1, 152.5, 147.3, 146.9, 141.9, 135.1, 134.0, 126.1 (q, *J*=4.0 Hz), 125.6, 123.9, 119.5, 107.3, 104.6, 100.7, 55.9, 31.1. HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₁₉F₃N₃OS [M+H]⁺ 442.1201, found 442.1192.

N-(2-氟苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16b**): 淡黄色固体, 产率 79.8%. m.p. 98.2~98.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.88 (s, 1H), 7.85 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.61 (d, *J*=9.1 Hz, 1H), 7.58~7.55 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.46 (dd, *J*=9.1, 2.7 Hz, 1H), 7.39 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.38~7.34 (m, 2H), 7.33~7.28 (m, 1H), 4.30 (s, 2H), 3.92 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.6, 158.2 (d, *J*=248.5 Hz), 157.5, 156.5, 145.8, 144.2, 129.5, 128.6, 127.9, 127.8 (d, *J*=7.1 Hz), 127.4, 127.0, 125.6, 124.8 (q, *J*=4.0 Hz), 124.7, 124.4 (d, *J*=4.0 Hz), 115.9 (d, *J*=20.2 Hz), 113.0, 102.6, 55.9, 33.2. HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₁₈F₄N₃OS [M+H]⁺ 460.1107, found 460.1099.

N-(2-氯苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16c**): 淡黄色固体, 产率 78.7%. m.p. 130.6~131.3 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.93 (s, 1H), 7.86 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.65 (dd, *J*=8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.61~7.56 (m, 2H), 7.53 (d, *J*=8.1 Hz, 2H), 7.48~7.44 (m, 2H), 7.38 (td, *J*=7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.33 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 4.24 (s, 2H), 3.91 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.6, 157.8, 156.5, 145.8, 144.3, 135.7, 131.2, 129.9, 129.8, 129.4, 128.2, 127.8, 127.7, 127.3, 127.0, 125.6, 124.8 (q, *J*=4.0 Hz), 112.9, 102.6, 55.8, 33.1. HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₁₈ClF₃N₃OS [M+H]⁺ 476.0811, found 476.0799.

N-(2-溴苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16d**): 淡黄色固体, 产率 82.7%. m.p. 165.3~165.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.89 (s, 1H), 8.37~8.32 (m, 1H), 7.89 (dd, *J*=8.0, 1.4 Hz, 1H), 7.82 (dd, *J*=9.1, 1.4 Hz, 1H), 7.67~7.64 (m, 2H), 7.60 (td, *J*=7.5, 1.4 Hz, 1H), 7.51 (d, *J*=8.1 Hz, 2H), 7.41 (td, *J*=7.6, 1.9 Hz, 1H), 7.07 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 4.26 (s, 2H),

3.97 (d, *J*=4.8 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 161.6, 158.0, 157.8, 142.5, 135.9, 133.2, 130.0, 129.8, 129.3, 128.6, 127.7, 127.4, 126.7, 125.5, 125.0 (q, *J*=4.0 Hz), 122.8, 121.8, 112.2, 104.7, 56.5, 32.9. HRMS (ESI) calcd for C₂₃H₁₈BrF₃N₃OS [M+H]⁺ 520.0306, found 520.0299.

6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)-*N*-(2-(三氟甲基)苯基)喹啉-4-胺(**16e**): 淡黄色固体, 产率 84.3%. m.p. 183.4~183.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.86 (s, 1H), 8.34 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.94 (dd, *J*=8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.91~7.84 (m, 2H), 7.69 (ddd, *J*=11.8, 9.1, 5.4 Hz, 3H), 7.50 (d, *J*=8.1 Hz, 2H), 7.05 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.98 (d, *J*=15.8 Hz, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 161.6, 159.2, 157.9, 142.2, 134.8, 133.7, 131.3, 128.9, 127.7, 127.4, 127.1 (q, *J*=4.0 Hz), 126.6, 125.5, 124.9 (q, *J*=4.0 Hz), 124.6, 122.8, 121.9, 121.3, 112.2, 104.7, 56.5, 32.8. HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₁₈F₆N₃OS [M+H]⁺ 510.1075, found 510.1068.

6-甲氧基-*N*-(邻甲苯基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16f**): 淡黄色固体, 产率 79.4%. m.p. 156.7~157.0 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.74 (s, 1H), 7.86 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.57 (d, *J*=9.1 Hz, 1H), 7.52 (d, *J*=8.1 Hz, 2H), 7.43 (dd, *J*=9.1, 2.7 Hz, 1H), 7.40~7.37 (m, 1H), 7.33 (dd, *J*=9.1, 1.8 Hz, 3H), 7.30~7.26 (m, 2H), 4.23 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.20 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.8, 157.7, 156.4, 145.6, 144.4, 136.8, 135.1, 130.5, 129.5, 127.8, 127.3, 127.0, 126.7, 126.3, 124.8 (q, *J*=4.0 Hz), 124.3, 122.9, 113.0, 102.8, 55.8, 33.1, 18.0. HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₂₁F₃N₃OS [M+H]⁺ 456.1357, found 456.1350.

6-甲氧基-*N*-(2-甲氧基苯基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16g**): 淡黄色固体, 产率 85.7%. m.p. 176.3~176.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.51 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.66 (d, *J*=9.1 Hz, 1H), 7.54~7.50 (m, 3H), 7.48 (dd, *J*=7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.38 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J*=15.3, 7.8 Hz, 3H), 7.09 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.80 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.0, 157.9, 157.1, 154.2, 143.4, 129.5, 128.3, 128.2, 127.5, 127.2, 125.8, 125.5, 125.4, 124.9 (q, *J*=4.0 Hz), 122.8, 120.4, 112.8, 112.1, 103.7, 56.2, 55.6, 33.0. HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₂₁F₃N₃O₂S [M+H]⁺ 472.1307, found 472.1299.

N-(2-乙氧基苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16h**): 淡黄色固体, 产率 76.8%. m.p. 160.0~160.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ:

9.70 (s, 1H), 7.85 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J=8.6, 3.7$ Hz, 3H), 7.55 (dd, $J=8.2, 4.4$ Hz, 4H), 7.43 (dd, $J=9.1, 2.5$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 4.41 (s, 2H), 4.03 (q, $J=6.9$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 1.33 (t, $J=6.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.6, 156.9, 156.4, 155.5, 145.5, 144.2, 131.3, 129.6, 129.0, 127.9, 127.4, 127.1, 125.6, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.1, 122.9, 114.2, 113.4, 102.8, 63.1, 55.9, 33.3, 14.6. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 486.1463, found 486.1455.

N-(3-氯-4-氟苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16i**): 淡黄色固体, 产率 89.7%. m.p. 103.4~103.9 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.85 (s, 1H), 8.08 (dd, $J=6.8, 2.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.74 (ddd, $J=9.0, 4.3, 2.7$ Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.63 (d, $J=2.9$ Hz, 4H), 7.50~7.42 (m, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.4, 156.6, 156.4, 154.8 (d, $J=244.4$ Hz), 145.7, 143.8, 136.0 (d, $J=3.0$ Hz), 129.6, 128.0, 127.5, 127.2, 125.6, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.5, 124.3, 123.0 (d, $J=7.1$ Hz), 118.9, 118.7, 116.4 (d, $J=22.2$ Hz), 113.3, 102.7, 55.9, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{ClF}_4\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 494.0717, found 494.0706.

N-(3-氯苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16j**): 淡黄色固体; 产率 81.9%; m.p. 83.5~84.0 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.83 (s, 1H), 7.98 (t, $J=1.9$ Hz, 1H), 7.87 (t, $J=3.6$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J=8.2, 1.1$ Hz, 1H), 7.67~7.62 (m, 5H), 7.48 (dd, $J=9.1, 2.6$ Hz, 1H), 7.43 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.20 (dd, $J=8.0, 1.2$ Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.94 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.4, 156.7, 156.6, 156.4, 145.7, 143.8, 140.3, 139.0, 132.7, 130.0, 129.6, 128.1, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.5, 123.5, 122.0, 120.8, 113.4, 102.8, 56.0, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 476.0811, found 476.0801.

N-(3,4-二氯苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16k**): 淡黄色固体, 产率 90.2%. m.p. 161.3~161.9 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.86 (s, 1H), 8.19 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 7.67~7.62 (m, 6H), 7.49 (dd, $J=9.1, 2.6$ Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.3, 156.7, 156.2, 145.8, 143.7, 139.0, 130.6, 130.2, 129.6, 128.1, 127.6, 127.2, 125.2, 125.1 (q, $J=4.0$ Hz), 124.6, 123.5, 122.1, 113.4, 102.7, 56.0, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 510.0421, found 510.0416.

N-(3-溴苯基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16l**): 淡黄色固体, 产率 89.6%. m.p. 185.6~186.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.89~11.58 (m, 1H), 8.38 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 8.07 (t, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.81~7.72 (m, 2H), 7.63~7.54 (m, 3H), 7.50 (dt, $J=8.0, 1.3$ Hz, 1H), 7.45~7.35 (m, 3H), 4.51 (s, 2H), 3.98 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.6, 157.7, 157.2, 142.1, 138.7, 130.5, 129.5, 128.7, 127.9, 127.6, 127.3, 126.3, 125.5, 125.1 (q, $J=4.0$ Hz), 123.7, 122.8, 121.1, 112.9, 104.7, 56.6, 33.3. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{BrF}_3\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 520.0306, found 520.0302.

6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)-*N*-(3-(三氟甲基)苄基)喹啉-4-胺(**16m**): 淡黄色固体, 产率 83.7%. m.p. 81.6~82.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.99 (s, 1H), 8.27 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 8.09 (dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 7.68~7.63 (m, 2H), 7.61 (s, 4H), 7.50 (dt, $J=8.6, 2.4$ Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 3.95 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.4, 156.7, 156.5, 145.8, 143.7, 139.7, 129.6, 129.4, 129.1, 128.1, 127.5, 127.2, 126.0, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.6, 122.9, 120.1, 118.7 (q, $J=4.0$ Hz), 113.4, 102.8, 56.0, 33.3. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{F}_6\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 510.1075, found 510.1071.

6-甲氧基-*N*-(间甲苯基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16n**): 淡黄色固体, 产率 80.8%. m.p. 130.0~131.0 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.75 (s, 1H), 7.90 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J=8.8, 2.9$ Hz, 3H), 7.59~7.53 (m, 4H), 7.45 (dd, $J=9.1, 2.6$ Hz, 1H), 7.29 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.30 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.6, 156.7, 156.5, 145.6, 144.1, 138.6, 137.6, 129.6, 128.3, 127.9, 127.5, 125.6, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.9, 124.3, 123.6, 120.2, 113.4, 102.8, 55.9, 33.3, 21.0. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 456.1357, found 456.1346.

6-甲氧基-*N*-(3-甲氧基苄基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16o**): 淡黄色固体, 产率 84.2%. m.p. 110.9~111.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.09 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.64 (d, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.50~7.45 (m, 2H), 7.33~7.29 (m, 2H), 6.79~6.76 (m, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.78 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.3, 159.4, 156.8, 156.8, 143.7, 139.6, 129.6, 129.2, 127.5, 127.2, 125.6, 125.0, 125.0 (q, $J=4.0$

Hz), 124.7, 122.9, 115.5, 113.4, 110.1, 109.0, 103.3, 55.1, 33.3. HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{21}F_3N_3O_2S$ $[M+H]^+$ 472.1307, found 472.1302.

3-((6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-基)氨基)苄腈(**16p**): 淡黄色固体, 产率 86.8%, m.p. 210.1~210.8 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.00 (s, 1H), 8.30 (q, $J=1.3$ Hz, 1H), 8.10 (dt, $J=6.7, 2.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 7.63 (s, 4H), 7.61~7.58 (m, 2H), 7.50 (dd, $J=9.1, 2.6$ Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.94 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.3, 156.7, 156.4, 145.8, 143.7, 139.8, 129.9, 129.6, 128.1, 127.5, 127.2, 127.0, 125.4, 125.1 (q, $J=4.0$ Hz), 124.7, 122.9, 118.6, 113.4, 111.3, 102.8, 56.0, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{18}F_3N_4OS$ $[M+H]^+$ 467.1153 found 467.1148.

6-甲氧基-*N*-(3-硝基苄基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16q**): 淡黄色固体, 产率 76.5%. m.p. 200.3~200.9 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.04 (s, 1H), 8.86 (t, $J=2.2$ Hz, 1H), 8.27 (ddd, $J=8.2, 2.2, 1.0$ Hz, 1H), 7.97 (ddd, $J=8.2, 2.3, 0.9$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 7.69~7.66 (m, 2H), 7.64 (d, $J=2.6$ Hz, 4H), 7.51 (dd, $J=9.1, 2.7$ Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.95 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.6, 162.0, 157.5, 149.1, 147.8, 143.3, 134.1, 129.3, 127.9, 127.6, 127.1, 126.8, 125.5, 125.2, 124.9 (q, $J=4.0$ Hz), 122.9, 121.4, 113.5, 101.4, 55.8, 33.5. HRMS (ESI) calcd for $C_{23}H_{18}F_3N_4O_3S$ $[M+H]^+$ 487.1052, found 487.1044.

N-(4-氟苄基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16r**): 淡黄色固体, 产率 85.9%. m.p. 101.1~101.9 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.79 (s, 1H), 7.86 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 7.74~7.70 (m, 2H), 7.64~7.61 (m, 2H), 7.60~7.56 (m, 3H), 7.46 (dd, $J=9.1, 2.7$ Hz, 1H), 7.27~7.22 (m, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.5, 160.0 (d, $J=242.4$ Hz), 156.8, 156.5, 145.6, 144.0, 134.9 (d, $J=3.0$ Hz), 129.5, 127.9, 127.5, 127.2, 125.0 (d, $J=8.1$ Hz), 124.9 (q, $J=4.0$ Hz), 124.3, 115.2 (d, $J=22.2$ Hz), 113.3, 102.8, 55.9, 33.3. HRMS (ESI) calcd for $C_{23}H_{18}F_4N_3OS$ $[M+H]^+$ 460.1107, found 460.1097.

N-(4-氯苄基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16s**): 淡黄色固体, 产率 86.3%. m.p. 95.2~95.9 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.82 (s, 1H), 7.87 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.80~7.78 (m, 1H), 7.77 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.66~7.61 (m, 5H), 7.49~7.45 (m, 2H), 7.45~7.43 (m, 1H), 4.46 (s, 2H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR

(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.4, 156.6, 156.5, 145.7, 143.9, 137.7, 129.6, 128.3, 128.0, 127.7, 127.5, 127.2, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.3, 122.9, 113.4, 102.8, 55.9, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $C_{23}H_{18}ClF_3N_3OS$ $[M+H]^+$ 476.0811, found 476.0805.

N-(4-溴苄基)-6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16t**): 淡黄色固体, 产率 80.3%. m.p. 97.1~97.5 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.81 (s, 1H), 7.87 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.66~7.56 (m, 7H), 7.47 (dd, $J=9.0, 1.9$ Hz, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.94 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.4, 156.6, 156.4, 145.7, 143.9, 138.2, 131.2, 129.6, 128.0, 127.5, 125.6, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.6, 122.9, 115.8, 113.5, 102.8, 55.9, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $C_{23}H_{18}BrF_3N_3OS$ $[M+H]^+$ 520.0306, found 520.0298.

6-甲氧基-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)-*N*-(4-(三氟甲基)苄基)喹啉-4-胺(**16u**): 淡黄色固体, 产率 81.7%. m.p. 160.1~160.9 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.80 (s, 1H), 8.43 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.78 (dd, $J=13.6, 8.8$ Hz, 3H), 7.64~7.52 (m, 3H), 7.40 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 3.99 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.7, 157.7, 157.2, 142.0, 140.9, 129.3, 128.2, 127.8, 127.5, 127.2, 126.4, 125.6 (q, $J=4.0$ Hz), 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 122.7, 122.0, 120.0, 112.9, 104.8, 56.6, 33.4. HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{18}F_6N_3OS$ $[M+H]^+$ 510.1075, found 510.1069.

6-甲氧基-*N*-(对甲苯基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16v**): 淡黄色固体, 产率 85.4%. m.p. 99.3~100.2 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.72 (s, 1H), 7.88 (d, $J=2.6$ Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.59 (d, $J=6.6$ Hz, 4H), 7.57 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 7.44 (dd, $J=9.1, 2.6$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.6, 156.7, 156.5, 145.6, 144.1, 136.0, 133.3, 129.6, 128.9, 127.9, 127.4, 125.6, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.2, 123.2, 113.4, 102.8, 55.9, 33.3, 20.5. HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{21}F_3N_3OS$ $[M+H]^+$ 456.1357, found 456.1348.

6-甲氧基-*N*-(4-甲氧基苄基)-2-((4-(三氟甲基)苄基)硫代)喹啉-4-胺(**16w**): 淡黄色固体; 产率 82.6%. m.p. 144.3~145.2 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.95 (s, 1H), 7.92 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.61 (s, 2H), 7.58 (d, $J=7.4$ Hz, 3H), 7.52 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.45 (dd, $J=9.1, 2.4$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.42 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.77 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.5, 157.0, 156.6, 156.4, 144.0, 131.2, 129.6, 127.5,

127.2, 125.6, 125.2, 125.0 (q, $J=4.0$ Hz), 124.4, 122.9, 113.7, 113.3, 103.1, 56.0, 55.2, 33.3. HRMS (ESI) calcd for $C_{24}H_{21}F_3N_3O_2S$ $[M+H]^+$ 472.1307, found 472.1300.

3.3 抗肿瘤细胞毒活性实验

将处于对数生长期的细胞以每孔 3000~5000 个细胞接种在 96 孔板中. 细胞培养 24 h 后, 弃去培养基, 将不同浓度的化合物加入 96 孔板中, 每个浓度设 6 个复孔. 药物作用 72 h 后, 将 MTT (3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-2,5-二苯基溴化四唑, Solarbio) 以 0.5 mg/mL 的浓度添加到每个孔中. 在 37 °C 氧化碳培养箱中 4 h 后, 吸出培养基. 然后每孔加入 150 μ L DMSO 以溶解甲臞, 振荡均匀. 使用酶标仪在 490 nm 波长下测量吸光度. 采用 SPSS 16.0 软件计算抑制细胞生长 50% 所需的化合物浓度 (IC_{50}).

3.4 细胞凋亡实验

将 PC-3 细胞接种在 6 孔板中, 并用不同浓度 (0、0.5、1、2 μ mol/L) 的 **16l** 化合物处理 48 和 72 h. 然后收集细胞并重悬于含有 0.5 mg/mL Annexin V-FITC 和 0.5 mg/mL PI (碘化丙啶) 的结合缓冲液中, 然后将细胞在暗处孵育 40 min 之后, 用流式细胞仪 (Becton, Dickinson and Company, NJ) 分析样品, 并使用 Flow Jo 软件分析数据.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **16a**~**16w** 的 HRMS, 1H NMR, ^{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] Akhtar, J.; Khan, A. A.; Ali, Z.; Haider, R. S.; Yar, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 143.
- [2] Elmetwally, S. A.; Saied, K. F.; Eissa, I.; Elkaeed, E. B. *Bioorg. Chem.* **2019**, *88*, 102944.
- [3] Fouad, M. M.; El-Bendary, E. R.; Suddek, G. M.; Shehata, I. A.; El-Kerdawy, M. M. *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 587.
- [4] Arafa, R. K.; Nour, M. S.; El-Sayed, N. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 498.
- [5] Kerru, N.; Singh, P.; Koorbanally, N.; Raj, R.; Kumar, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *142*, 179.
- [6] Rojas Aguirre, Y.; Hernández Luis, F.; Mendoza Martínez, C.; Sotomayor, C. P.; Aguilar, L. F.; Villena, F.; Castillo, I.; Hernández, D. J.; Suwalsky, M. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1818*, 738.
- [7] Ji, Q.; Yang, D.; Wang, X.; Chen, C.; Deng, Q.; Ge, Z.; Yuan, L.; Yang, X.; Liao, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *22*, 3405.
- [8] Selvam, T. P.; Sivakumar, A.; Prabhu, P. P. *J. Pharm. BioAllied Sci.* **2014**, *6*, 278.
- [9] Rakesh, K. P.; Manukumar, H. M.; Gowda, D. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1072.
- [10] Hu, J.; Zhang, Y.; Dong, L.; Wang, Z.; Chen, L.; Liang, D.; Shi, D.; Shan, X.; Liang, G. *Chem. Biol. Drug Des.* **2015**, *85*, 672.
- [11] El-Azab, A. S.; Eltahir, K. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 327.
- [12] Magyar, K.; Deres, L.; Eros, K.; Bruszt, K.; Seress, L.; Hamar, J.; Hideg, K.; Balogh, A.; Gallyas, F., Jr.; Sumegi, B.; Toth, K.; Halmosi, R. *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, *1842*, 935.
- [13] Malamas, M. S.; Millen, J. J. *Med. Chem.* **1991**, *34*, 1492.
- [14] Galvez, J.; Polo, S.; Insuasty, B.; Gutierrez, M.; Caceres, D.; Alzate-Morales, J. H.; De-la-Torre, P.; Quiroga, J. *Comput. Biol. Chem.* **2018**, *74*, 218.
- [15] Li, E. D.; Lin, Q.; Meng, Y. Q.; Zhang, L. Y.; Song, P. P.; Li, N.; Xin, J. C.; Yang, P.; Bao, C. N.; Zhang, D. Q.; Zhang, Y.; Wang, J. K.; Zhang, Q. R.; Liu, H. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *172*, 36.
- [16] Mehndiratta, S.; Sapra, S.; Singh, G.; Singh, M.; Nepali, K. *Recent Pat. Anti-Cancer Drug Discovery* **2016**, *11*, 2.
- [17] Ravez, S.; Castillo-Aguilera, O.; Depreux, P.; Goossens, L. *Expert. Opin. Ther. Pat.* **2015**, *25*, 789.
- [18] Hei, Y. Y.; Shen, Y.; Wang, J.; Zhang, H.; Zhao, H. Y.; Xin, M.; Cao, Y. X.; Li, Y.; Zhang, S. Q. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 2173.
- [19] Teng, Y.; Li, X.; Ren, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 208.
- [20] Isanbor, C.; O'Hagan, D. J. *Fluorine Chem.* **2006**, *127*, 303.
- [21] Pissot, S. C.; Simic, O.; Renatus, M. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 14576.
- [22] Quancard, J.; Simic, O.; Pissot, S. C. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 14594.
- [23] Mishra, S. K.; Suryaprakash, N. *Chem. Phys. Lett.* **2015**, *639*, 254.
- [24] Wang, C.; Li, S.; Meng, Q.; Sun, X.; Li, H.; Shu, X.; Sun, H.; Liu, K.; Liu, Z.; Ma, X. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 4179.
- [25] Jian, Y.; Forbes, H. E.; Hulpia, F.; Risseuw, M. D. P.; Caljon, G.; Munier-Lehmann, H.; Boshoff, H. I. M.; Van Calenbergh, S. J. *Med. Chem.* **2021**, *64*, 440.
- [26] Qhobosheane, M. A.; Petzer, A.; Petzer, J. P.; Legoabe, L. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 5531.
- [27] Shi, L.; Wu, T. T.; Wang, Z.; Xue, J. Y.; Xu, Y. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4735.

(Lu, Y.)