

## 含噻唑结构的 2,4,6-三取代喹唑啉衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

戴洪林<sup>a,b</sup> 司晓杰<sup>a,b</sup> 池玲玲<sup>a,b</sup> 王浩<sup>a,b</sup> 高潮<sup>a,b</sup>  
汪正捷<sup>a,b</sup> 刘丽敏<sup>a,b</sup> 马家婕<sup>a,b</sup> 于富强<sup>a,b</sup>  
刘宏民<sup>\*,a,b,c,d</sup> 可钰<sup>\*,a,b,c,d</sup> 张秋荣<sup>\*,a,b,c,d</sup>

(<sup>a</sup> 郑州大学药学院 郑州 45001)

(<sup>b</sup> 新药创制与药物安全性评价河南省协同创新中心 郑州 450001)

(<sup>c</sup> 省部共建食管癌防治国家重点实验室 郑州 450052)

(<sup>d</sup> 教育部药物制备关键技术重点实验室 郑州 450001)

**摘要** 设计合成了一系列含有噻唑结构的 2,4,6-三取代喹唑啉衍生物,并测定了他们对 PC-3(人前列腺癌细胞系)、H1975(人肺癌癌细胞系)、MGC-803(人胃癌癌细胞系)和 A549(人非小细胞肺癌癌细胞系)四种人肿瘤细胞的抗增殖活性。其中,3-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基喹唑啉-4-基)氨基)苯甲腈(**14i**)是抗 MGC-803 细胞增殖活性最好的化合物,IC<sub>50</sub> 为(4.54±0.32) μmol/L, 优于阳性对照 5-氟尿嘧啶(5-FU) [(8.14±0.68) μmol/L], 其作用机理实验显示化合物 **14i** 具有抑制 MGC-803 细胞克隆增殖和迁移,以及可诱导细胞凋亡的作用,并且可以将 MGC-803 细胞周期阻滞在 DNA 合成后期/有丝分裂期(G2/M)。这些结果表明,化合物 **14i** 可作为一种潜在的抗肿瘤药物。

**关键词** 噻唑; 喹唑啉; 抗肿瘤活性; 合成

## Synthesis and Antitumor Activity Evaluation of 2,4,6-Trisubstituted Quinazoline Derivatives Containing Thiazole Structure

Dai, Honglin<sup>a,b</sup> Si, Xiaojie<sup>a,b</sup> Chi, Lingling<sup>a,b</sup> Wang, Hao<sup>a,b</sup> Gao, Chao<sup>a,b</sup>  
Wang, Zhengjie<sup>a,b</sup> Liu, Limin<sup>a,b</sup> Ma, Jiajie<sup>a,b</sup> Yu, Fuqiang<sup>a,b</sup>  
Liu, Hongmin<sup>\*,a,b,c,d</sup> Ke, Yu<sup>\*,a,b,c,d</sup> Zhang, Qiurong<sup>\*,a,b,c,d</sup>

(<sup>a</sup> School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

(<sup>b</sup> Collaborative Innovation Center of New Drug Research and Safety Evaluation, Zhengzhou 450001)

(<sup>c</sup> Key Laboratory of Advanced Drug Preparation Technologies, Ministry of Education, Zhengzhou 450001)

(<sup>d</sup> State Key Laboratory of Esophageal Cancer Prevention & Treatment, Zhengzhou 450052)

**Abstract** A series of 2,4,6-trisubstituted quinazoline derivatives containing thiazole group were designed and synthesized, and their antiproliferative activities against human tumor cell lines (PC-3, H1975, MGC-803 and A549) were determined. 3-((2-((2-chlorothiazol-5-yl)methyl)thio)-6-methoxyquinazolin-4-yl)amino)benzonitrile (**14i**) was identified as the most potent compound in antiproliferation against MGC-803 cells, with the value was (4.54±0.32) μmol/L, which was better than the positive control 5-fluorouracil (5-FU) [(8.14±0.68) μmol/L]. Further mechanistic studies showed that compound **14i** could inhibit the clonal proliferation and migration of MGC-803 cells. In addition, compound **14i** could induce apoptosis of MGC-803 cells and arrest the cell cycle at late period of DNA synthesis/mitotic phase (G2/M) phase. These results indicated that compound **14i** could as a potential antitumor drug.

**Keywords** thiazole; quinazoline; antitumor activity; synthesis

迄今为止,癌症是全球人类死亡的主要原因之一,严重威胁着人类的生命安全<sup>[1]</sup>。化疗自引入癌症治疗以

来,已成功用于治疗多种癌症,但由于大多数化疗药物具有较大的副作用和较差的选择性,从而限制了其临床

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

Received May 18, 2022; revised June 28, 2022; published online July 5, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. U1904163).

国家自然科学基金(No. U1904163)资助项目。

应用<sup>[2]</sup>. 因此, 寻找安全有效的新型抗肿瘤药物具有重要意义.

喹唑啉是一种重要的含氮杂环化合物, 广泛存在于多种生物碱和有机分子中, 具有广泛的药理活性, 如抗肿瘤、抗疟疾、抗菌、抗惊厥、抗结核和抗高血压等<sup>[3-9]</sup>. 例如, 抗高血压药物曲马唑啉(**1**)<sup>[10]</sup>和抗疟疾药物硝喹(**2**)<sup>[11]</sup>(图 1). 另外在抗肿瘤方面, 吉非替尼(**3**)和厄洛替尼(**4**)<sup>[12-13]</sup>(图 1)已被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于治疗转移性非小细胞肺癌.

此外, 噻唑是一种优良的药效团, 在药物化学中具有多种应用, 噻唑与其他药效团的杂交是获得新型高效抗癌药物的重要途径<sup>[14-18]</sup>. 例如抗乳腺癌药物阿培利司(**5**)和用于治疗白血病的达沙替尼(**6**)<sup>[19-20]</sup>. 同时在新型药物研发中噻唑可以作为药效团或酰胺等基团的生物电子等排体起着至关重要的作用, 或者作为药物结构的一部分影响其理化性质和药代动力学性质<sup>[21-25]</sup>. 另外, 在噻唑环上引入氯原子可以适度降低化合物分子的极性, 改善其  $\log P$  值, 使其更具有成药性. 因此, 在文献调研的基础上, 结合活性基团拼合原理将噻唑基团引入喹唑啉骨架. 此外, 在喹唑啉的 4 位引入不同取代的苯胺, 探索不同取代基的电子效应或空间效应对化合物抗肿瘤活性的影响, 以期能够获得抗肿瘤活性较好的化合物.

## 1 结果与讨论

### 1.1 目标化合物的合成

目标化合物 **14a~14w** 的制备如 Scheme 1 所示. 首先化合物 **7** 与过量的氯化亚砷反应得到化合物 **8**. 接着化合物 **8** 在冰浴条件下与浓氨水缩合得到化合物 **9**. 以

$V_{\text{无水乙醇}}:V_{\text{水}}=4:1$  作为溶剂, 化合物 **9** 经铁粉还原得到化合物 **10**. 以含氢氧化钾的无水乙醇溶液为溶剂, 化合物 **10** 与二硫化碳通过一步环化反应制得化合物 **11**, 之后化合物 **11** 再与 2-氯-5-氯甲基噻唑反应得到化合物 **12**. 化合物 **12** 经三氯氧磷氯化后得到化合物 **13**, 最后化合物 **13** 与不同取代的苯胺反应得到化合物 **14a~14w**. 所有目标化合物的结构均经  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR 和高分辨率质谱(HRMS)确证.

### 1.2 目标化合物的生物活性

#### 1.2.1 目标化合物 **14a~14w** 的抗增殖活性

采用噻唑蓝(MTT)法测定了目标化合物 **14a~14w** 对 PC-3(人前列腺癌细胞系)、H1975(人非小细胞肺癌细胞系)、MGC-803(人胃癌细胞系)和 A549(人非小细胞肺癌细胞系)的体外抗增殖活性, 5-FU 作为阳性对照.  $\text{IC}_{50}$  值总结在表 1 中.

如表 1 所示, 在化合物 **14a~14w** 中, 发现化合物的抗增殖活性与 R 的电子效应有较大的关系, 当 R 为吸电子取代基时的抗增殖活性普遍优于给电子取代基. 此外, 还发现 R 的供电子能力越强, 化合物的抗增殖活性越弱. 例如当 R 为甲氧基或乙氧基时, 其抗增殖活性普遍弱于甲基或乙基取代; 当 R 为  $\text{CF}_3$  时, 对于四株肿瘤细胞的抗增殖活性总是对位取代优于间位取代. 另外, 从化合物 **14h~14j** 可以看出, 当 R 为 CN 时, 间位取代抗增殖活性优于对位和邻位. 在这一系列化合物中, 化合物 **14i** 对四株肿瘤细胞具有最好的抗增殖活性, 其中对 MGC-803 细胞的活性最优,  $\text{IC}_{50}$  为  $4.54\ \mu\text{mol/L}$ , 优于阳性对照 5-FU, 因此选择化合物 **14i** 和 MGC-803 优于阳性对照 5-FU, 因此选择化合物 **14i** 和 MGC-803 细胞系进行进一步研究.

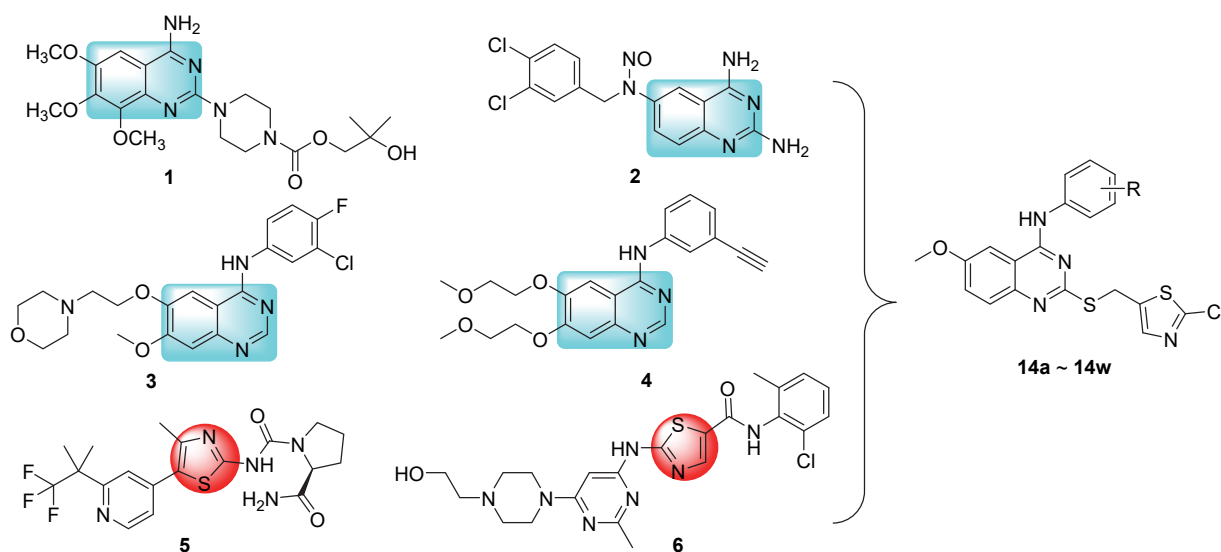
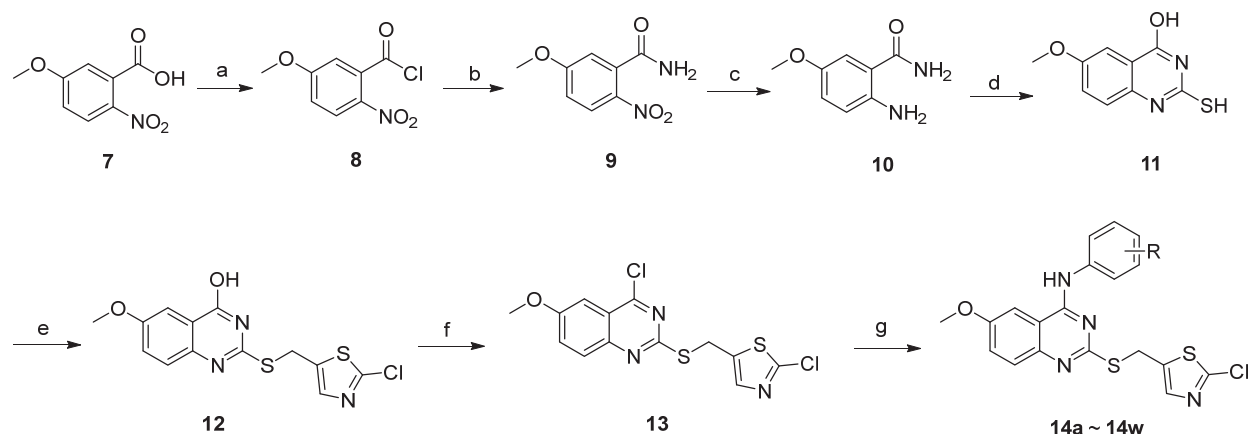


图 1 2,4,6-取代喹唑啉衍生物的设计

Figure 1 Design rationale of 2,4,6-substituted quinazoline derivatives



图式 1 2,4,6-三取代嘧啶类化合物的合成

Scheme 1 Synthesis of 2,4,6-substituted pyrimidine derivatives

表 1 目标化合物 14a~14w 体外抗增殖活性数据

Table 1 *In vitro* antiproliferative activity data of compounds 14a~14w

| Compd.            | R                          | $\text{IC}_{50}^a/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$ |                  |                  |                  |
|-------------------|----------------------------|------------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                   |                            | PC-3                                                 | H1975            | MGC-803          | A549             |
| 14a               | H                          | $43.33 \pm 1.64$                                     | $35.57 \pm 1.55$ | >50              | $25.23 \pm 1.04$ |
| 14b               | 2-F                        | $18.37 \pm 1.26$                                     | >50              | $12.16 \pm 1.09$ | $23.72 \pm 1.38$ |
| 14c               | 3-F                        | $12.24 \pm 1.09$                                     | $46.54 \pm 1.67$ | $14.06 \pm 1.15$ | $29.27 \pm 1.47$ |
| 14d               | 4-F                        | $34.95 \pm 1.54$                                     | $31.20 \pm 1.49$ | $13.60 \pm 1.13$ | $23.02 \pm 1.36$ |
| 14e               | 2-Cl                       | $47.87 \pm 1.68$                                     | >50              | >50              | >50              |
| 14f               | 3-Cl                       | $32.87 \pm 1.52$                                     | $35.39 \pm 1.55$ | $10.77 \pm 1.03$ | $15.58 \pm 1.19$ |
| 14g               | 4-Cl                       | $22.78 \pm 1.36$                                     | $34.60 \pm 1.54$ | $16.24 \pm 1.21$ | $20.90 \pm 1.32$ |
| 14h               | 2-CN                       | $13.42 \pm 1.08$                                     | $20.42 \pm 0.95$ | $13.93 \pm 1.38$ | $19.07 \pm 1.19$ |
| 14i               | 3-CN                       | $7.95 \pm 0.63$                                      | $14.82 \pm 0.82$ | $4.54 \pm 0.32$  | $9.22 \pm 0.57$  |
| 14j               | 4-CN                       | $10.94 \pm 1.13$                                     | $17.06 \pm 0.89$ | $8.38 \pm 1.22$  | $10.29 \pm 1.42$ |
| 14k               | 3- $\text{CF}_3$           | $25.03 \pm 1.40$                                     | $24.44 \pm 1.39$ | $25.89 \pm 1.41$ | $19.28 \pm 1.29$ |
| 14l               | 4- $\text{CF}_3$           | $17.42 \pm 1.24$                                     | $16.47 \pm 1.22$ | $11.87 \pm 1.08$ | $15.88 \pm 1.20$ |
| 14m               | 2- $\text{CH}_3$           | $43.64 \pm 1.64$                                     | $16.05 \pm 1.21$ | >50              | $26.78 \pm 1.43$ |
| 14n               | 3- $\text{CH}_3$           | $15.99 \pm 1.20$                                     | $35.83 \pm 1.55$ | $41.38 \pm 1.62$ | $41.41 \pm 1.62$ |
| 14o               | 4- $\text{CH}_3$           | >50                                                  | $41.93 \pm 1.62$ | >50              | >50              |
| 14p               | 2- $\text{OCH}_3$          | >50                                                  | >50              | >50              | >50              |
| 14q               | 3- $\text{OCH}_3$          | >50                                                  | $37.45 \pm 1.57$ | >50              | >50              |
| 14r               | 4- $\text{OCH}_3$          | >50                                                  | >50              | >50              | >50              |
| 14s               | 2- $\text{C}_2\text{H}_5$  | $24.84 \pm 1.40$                                     | $16.66 \pm 1.22$ | >50              | $41.00 \pm 1.61$ |
| 14t               | 4- $\text{C}_2\text{H}_5$  | >50                                                  | $34.77 \pm 1.54$ | >50              | >50              |
| 14u               | 2- $\text{OC}_2\text{H}_5$ | >50                                                  | >50              | >50              | >50              |
| 14v               | 4- $\text{OC}_2\text{H}_5$ | >50                                                  | >50              | >50              | >50              |
| 14w               | 3- $\text{NHCOCHCH}_2$     | $29.86 \pm 1.48$                                     | $48.26 \pm 1.68$ | $17.14 \pm 1.23$ | $27.82 \pm 1.44$ |
| 5-FU <sup>b</sup> | —                          | $6.89 \pm 0.65$                                      | $9.22 \pm 0.76$  | $8.14 \pm 0.68$  | $10.53 \pm 1.03$ |

<sup>a</sup>  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{mol/L}$ ): the concentration of compound required for cell activity to be suppressed by half; <sup>b</sup> 5-FU: positive control.

## 1.2.2 化合物 14i 抑制 MGC-803 细胞集落形成和迁移

为了进一步评估化合物 14i 对 MGC-803 细胞的抗

增殖能力及其抑制 MGC-803 细胞迁移的能力, 进行了细胞克隆形成实验和 transwell 实验. 如图 2 (A 和 B) 所示, 与空白对照相比, 经化合物 14i (0, 2, 4 和 8  $\mu\text{mol/L}$ )

处理后的 MGC-803 细胞集落减少并且变小, 并且当化合物 **14i** 的浓度为  $8 \mu\text{mol/L}$  时几乎完全消失. 此外, 如图 2 (C 和 D) 所示, 与对照组相比, 用化合物 **14i** ( $2, 4$  和  $8 \mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞  $24 \text{ h}$  后, MGC-803 细胞的迁移数逐渐减少. 综上所述, 化合物 **14i** 能以浓度依赖性的方式抑制 MGC-803 细胞的集落形成和迁移.

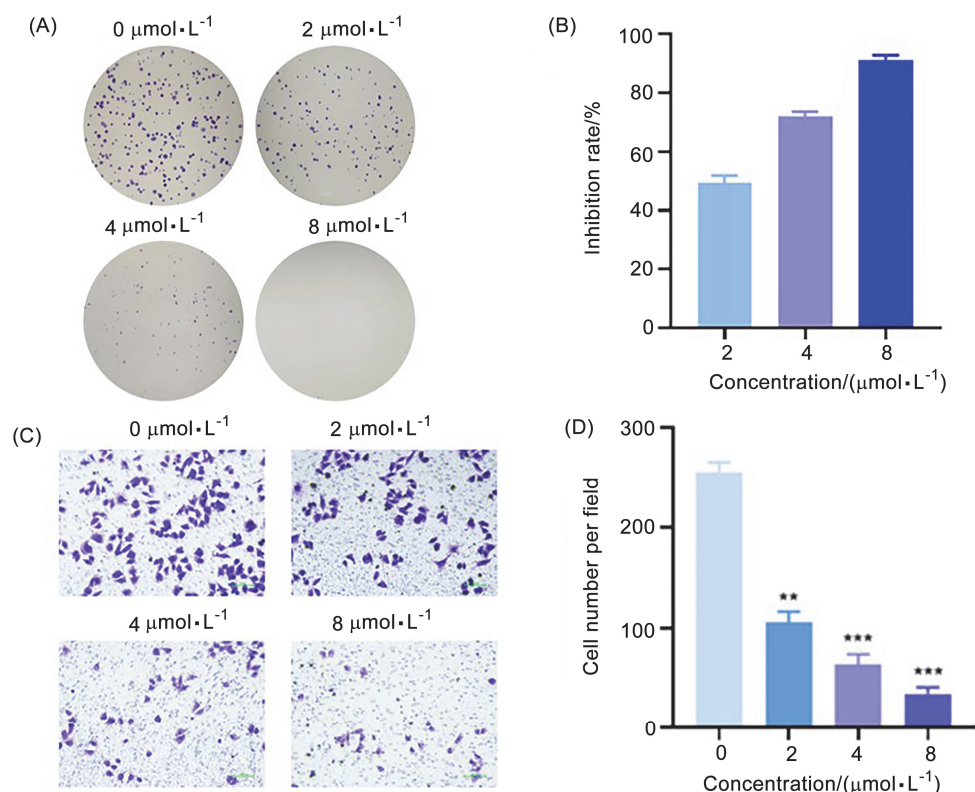
### 1.2.3 化合物 **14i** 诱导 MGC-803 细胞凋亡

大多数抗癌药物可以通过诱导细胞凋亡杀死肿瘤细胞, 因此诱导细胞凋亡被认为是杀死肿瘤细胞的主要机制之一. 因此, 通过 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染色实验观察 MGC-803 细胞的形态变化. 结果如图 3 所

示, 用不同浓度的化合物 **14i** ( $0, 1, 2$  和  $4 \mu\text{mol/L}$ ) 处理 MGC-803 细胞  $48 \text{ h}$  后, 细胞核破碎、染色质凝聚的细胞逐渐增多. 接下来, 进行了 Annexin V-FITC/PI 双染实验, 并通过流式细胞仪进一步检测了化合物 **14i** 诱导 MGC-803 细胞凋亡的能力. 如图 4 (A 和 B) 所示, 随着化合物 **14i** ( $0, 2, 4$  和  $8 \mu\text{mol/L}$ ) 浓度增加, MGC-803 细胞凋亡的百分比在逐渐增加(分别为  $15.98\%$ ,  $36.50\%$  和  $44.50\%$ ). 这些结果表明化合物 **14i** 可以浓度依赖性的方式诱导 MGC-803 细胞凋亡.

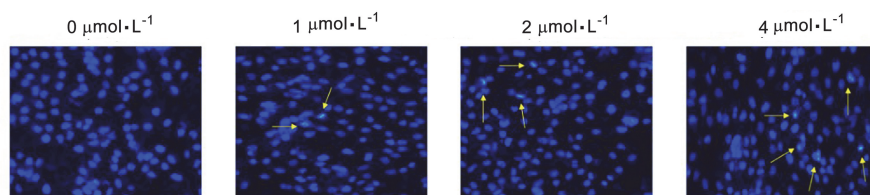
### 1.2.4 化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞周期的影响

许多抗肿瘤药物可以通过诱导细胞周期停滞来抑



**图 2** (A) 化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞集落形成的影响; (B) 统计直方图表示集落形成抑制率(与对照组相比,  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.001$ ); (C) 化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞迁移和侵袭的影响; (D) 统计直方图表示细胞数(与对照组相比,  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.001$ )

**Figure 2** (A) Effects of compounds **14i** on the colony formation for MGC-803 cells; (B) statistic histogram indicated the colony formation inhibition rate (compared with the control group,  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.001$ ); (C) effects of compounds **14i** on the migration and invasion for MGC-803 cells; (D) statistic histogram display the number of cells (compared with the control group,  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.001$ )



**图 3** 化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞核形态的影响(图中的箭头表示细胞核皱缩或破裂的细胞)

**Figure 3** Effect of compound **14i** on nuclear morphology for MGC-803 cells (the arrows in the figure display the cells whose nuclei have shrunk or broken)

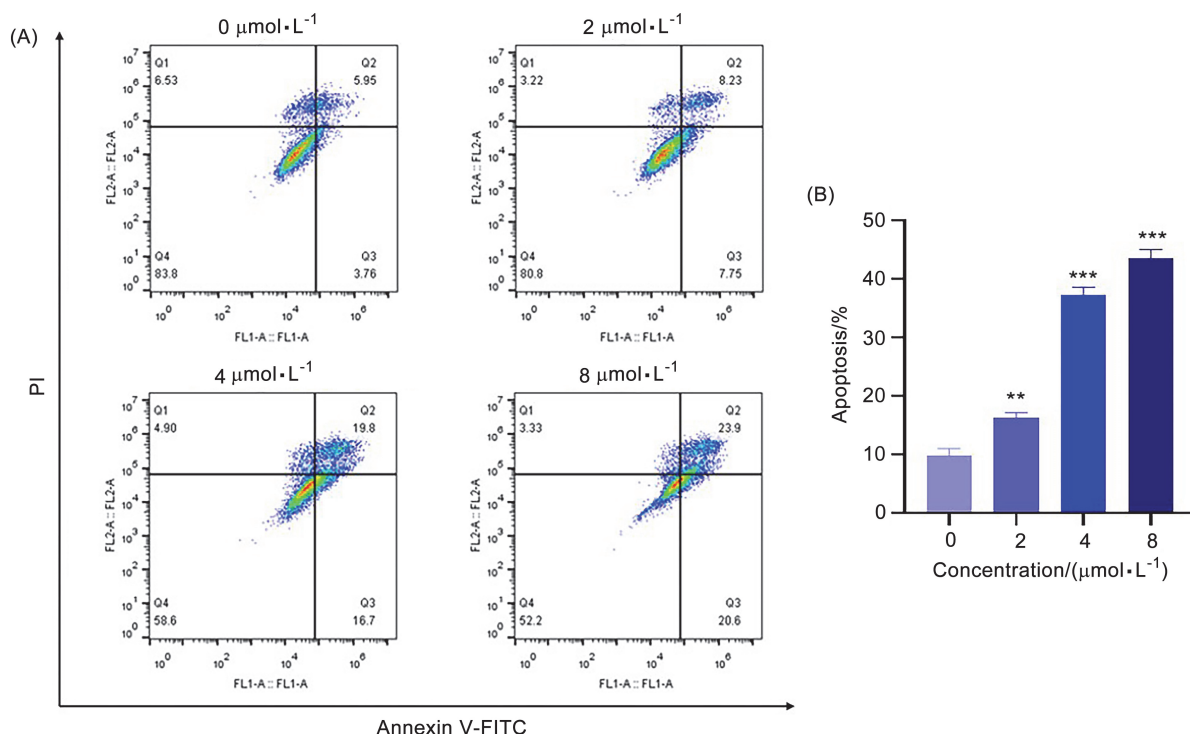


图4 (A)化合物 **14i** 与 MGC-803 细胞共同孵育 48 h 对凋亡的影响; (B)统计直方图表示凋亡细胞的百分比(与对照组相比,  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.001$ ).

**Figure 4** (A) The effect on cellular apoptosis after MGC-803 cells were incubated with compound **14i** for 48 h; (B) statistic histogram indicated the percentages of apoptotic cells (Compared with the control group,  $**P < 0.05$ ,  $***P < 0.001$ )

制细胞增殖. 因此, 进行了细胞周期实验分析了化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞周期的影响. 如图 5 所示, 与对照组相比, MGC-803 细胞与含不同浓度化合物 **14i** (4, 8 和

12  $\mu\text{mol/L}$ )的培养基共孵育 24 h 后, G2/M 期细胞的百分比从 13.10%增加到 26.37%. 以上结果表明, 化合物 **14i** 可以将 MGC-803 细胞阻滞在 G2/M 期.

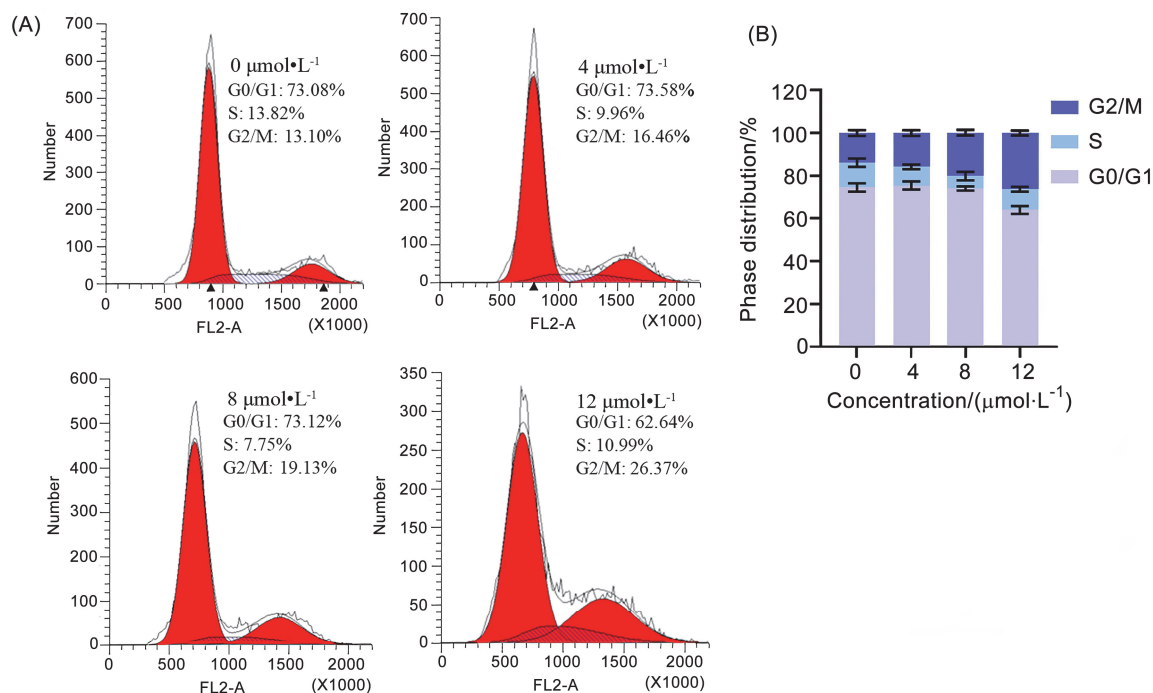


图5 (A)化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞周期的影响; (B)统计直方图表示细胞周期分布

**Figure 5** (A) Effect of compound **14i** on cell cycle for MGC-803 cells; (B) statistic histogram display cell cycle distribution

## 2 结论

综上所述,合成了一系列含有噻唑结构的喹啉衍生物,大多数化合物对选定的肿瘤细胞系表现出良好的抗增殖活性。其中,化合物 **14i** 对 MGC-803 细胞系的抗增殖活性最好,优于阳性对照 5-氟尿嘧啶(5-FU)。此外,细胞克隆形成实验和 transwell 实验表明,化合物 **14i** 能够以浓度依赖性的方式抑制 MGC-803 细胞的增殖和迁移。同时,DAPI 染色实验、细胞周期实验和细胞凋亡实验表明,化合物 **14i** 可以将 MGC-803 细胞周期阻滞在 G2/M 期,并以浓度依赖性方式诱导细胞凋亡。

## 3 实验部分

### 3.1 仪器与试剂

熔点: X-5 微熔点仪;  $^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR: Bruker 光谱仪; 高分辨质谱(HRMS): 美国 Waters-Micromas 公司 Q-ToF Micro 高分辨四极杆-飞行时间串联质谱仪。胎牛血清(FBS)和胰蛋白酶购自碧云天生物技术有限公司。RPMI-1640, MTT 和 DAPI 染料溶液购自北京索莱宝生物科技有限公司。细胞周期检测试剂盒购自美仑生物科技有限公司。细胞凋亡检测试剂盒购自凯基生物技术股份有限公司。其他试剂均和溶剂均为分析级,无需进一步纯化即可使用。

### 3.2 实验方法

#### 3.2.1 MTT 实验

将处于对数生长期的细胞消化、离心并以 2000~3500 个细胞/孔接种在 96 孔板中。培养 24 h 后,将旧培养基弃去,然后加入不同浓度的含药培养基,每种化合物设置六个不同的浓度,每个浓度设置三个重复孔。并设置阳性对照组和空白对照组。培养 72 h 后,在避光条件下每孔加入 20  $\mu\text{L}$  MTT 溶液(5 mg/mL),与细胞孵育 4 h。然后弃去培养基,加入 150  $\mu\text{L}$  孔的 DMSO 溶解甲臞。测量 490 nm 处的吸光度,用 SPSS 21.0 计算  $\text{IC}_{50}$  值。

#### 3.2.2 细胞集落形成实验

将 MGC-803 细胞以 500 个每孔接种在 6 孔板中。24 h 后,向每个孔中加入不同浓度的含药培养基。当在六孔板底部形成可见的细胞集落时,丢弃旧培养基并用磷酸盐缓冲液(PBS)将 6 孔板洗涤两次。然后,将细胞用 4%多聚甲醛固定 15 min。接下来,加入 0.1%结晶紫染料并置于摇床上震荡 20 min。最后弃掉染料溶液,并用超纯水洗掉残余的染料,晾干后拍照。使用 Photoshop 2019 和 GraphPad Prism 8.4 处理结果。

#### 3.2.3 Transwell 实验

首先,将 500  $\mu\text{L}$  含有 20%胎牛血清的培养基添加到 transwell 板的下室。MGC-803 细胞以 6000~8000 个

每孔接种在 transwell 板的上室中。24 h 后,弃去旧培养基,用 4%多聚甲醛固定细胞 40 min。接下来,用 0.1%结晶紫染色溶液处理细胞,最后弃掉染料溶液,用 PBS 清洗,晾干后拍照。使用 Image J 和 GraphPad Prism 8.4 处理实验结果。

#### 3.2.4 DAPI 染色

将对数生长期的细胞消化、离心之后以适宜密度接种于 6 孔板中,培养 24 h,然后弃去旧培养基,加入不同浓度的含药培养基处理细胞 48 h。弃去旧培养基,用 PBS 清洗 2 次,加入 4%多聚甲醛固定细胞 15 min,移除固定液并再用 PBS 清洗 2 次,加入 DAPI 染液(10  $\mu\text{g/mL}$ )与细胞避光孵育 15 min,之后移除 DAPI 染液,并用 PBS 洗去残余染料,然后每孔加入 1 mL PBS,荧光显微镜拍照观察,使用 Photoshop 2019 处理实验结果。

#### 3.2.5 细胞凋亡实验

将细胞接种于 6 孔板中,培养 24 h。移除旧培养基,加入不同浓度的含药培养基处理细胞 48 h 或 72 h。然后用不含 EDTA 的胰酶消化细胞,收集细胞离心后倒掉上清液,加入 PBS 清洗细胞 2 次,然后每孔加入 500  $\mu\text{L}$  Binding Buffer 重悬细胞,接着再加入 5  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和 5  $\mu\text{L}$  PI,轻柔混匀,室温避光孵育 5~15 min。最后用流式细胞仪对样品进行检测,使用 Flow Jo 软件分析实验结果。

#### 3.2.6 细胞周期实验

将对数生长期的细胞接种于 6 孔板中,培养 24 h,然后移除旧培养基,用 PBS 清洗 2 次后,加入含药培养基处理细胞 24 h。然后将细胞消化、离心后加入预冷 PBS 重悬细胞,再将细胞离心,之后加入预冷的 75%乙醇固定细胞(4  $^{\circ}\text{C}$  放置 18~24 h)。将固定好的细胞离心后加入 1 mL 预冷 PBS 重悬细胞,再次离心并移除上清,以染色缓冲液:碘化丙啶 PI 染色液:RNase A=100:5:2 的比例混匀制成染色液,并按 500  $\mu\text{L}$ /管加入样品中,然后轻柔重悬细胞,37  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 0.5 h。最后用流式细胞仪对样品进行检测,使用 ModfitLT 5 软件分析实验结果。

#### 3.2.7 化合物 **8~13** 的合成

化合物 **8~13** 按照文献的方法合成<sup>[26-28]</sup>,表征数据与文献一致。

#### 3.2.8 化合物 **14a~14w** 的合成

将化合物 **13** (0.40 g, 1.12 mmol)、不同取代的苯胺(1.34 mmol)和碳酸钾(0.31 g, 2.23 mmol)溶于 5 mL  $N,N$ -二甲基甲酰胺中,并在 90  $^{\circ}\text{C}$  下反应 1 h。反应完成后,用乙酸乙酯萃取,柱层析纯化得到化合物 **14a~14w**。

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基- $N$ -苯基喹

唑啉-4-胺(**14a**): 白色固体, 产率 82.3%. m.p. 169.4~169.7 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.86 (s, 1H), 7.93 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 7.76~7.71 (m, 2H), 7.67 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.42 (t,  $J=7.9$  Hz, 2H), 7.17 (t,  $J=7.4$  Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.95 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.1, 156.9, 156.7, 149.6, 145.3, 140.1, 139.7, 138.6, 128.5, 127.8, 124.5, 124.3, 123.1, 113.6, 103.1, 56.0, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  415.0454, found 415.0435.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(2-氟苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14b**): 白色固体, 产率 67.2%. m.p. 132.9~133.6 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.97 (s, 1H), 7.90 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 7.67 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.58 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 7.51 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.39~7.32 (m, 2H), 7.29 (td,  $J=6.9, 6.1, 2.7$  Hz, 1H), 4.44 (s, 2H), 3.94 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.8 (d,  $J=244.1$  Hz), 158.7, 158.2, 157.2, 156.2, 150.1, 146.0, 140.7, 140.1, 129.0, 128.3 (d,  $J=7.1$  Hz), 126.4, 125.4, 125.0 (d,  $J=4$  Hz), 116.6 (d,  $J=20.1$  Hz), 113.7, 103.3, 56.40, 26.7. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClFN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  433.0360, found 433.0355.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(3-氟苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14c**): 白色固体, 产率 77.9%. m.p. 138.7~139.2 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.92 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.77 (dt,  $J=11.7, 2.3$  Hz, 1H), 7.71 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.59 (d,  $J=6.8$  Hz, 2H), 7.53 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.45 (td,  $J=8.2, 6.8$  Hz, 1H), 6.99 (td,  $J=8.4, 2.6$  Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 3.96 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 163.13 (d,  $J=242.3$  Hz), 161.9, 156.8, 156.6, 149.7, 145.4, 140.6, 140.5, 139.9, 130.0 (d,  $J=7.5$  Hz), 127.9, 124.6, 118.3 (d,  $J=2.5$  Hz), 113.6, 110.58 (d,  $J=21.1$  Hz), 109.5 (d,  $J=25.8$  Hz), 103.1, 56.0, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClFN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  433.0360, found 433.0353.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(4-氟苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14d**): 白色固体, 产率 81.5%. m.p. 168.6~169.4 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.92 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 7.78~7.71 (m, 2H), 7.66 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.48 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.29~7.21 (m, 2H), 4.51 (s, 2H), 3.94 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.1, 160.0 (d,  $J=244.4$  Hz), 156.9, 156.7, 149.6, 145.3, 140.1, 139.7, 134.9 (d,  $J=3.0$  Hz), 127.8, 125.1 (d,  $J=8.5$  Hz), 124.5, 115.2 (d,  $J=22.5$  Hz), 113.5, 103.1, 56.0, 26.3. HRMS (ESI) calcd for

$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClFN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  433.0360, found 433.0346.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(2-氯苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14e**): 白色固体, 产率 75.3%. m.p. 145.1~145.4 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.00 (s, 1H), 7.91 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 7.60 (ddd,  $J=7.7, 6.6, 1.5$  Hz, 2H), 7.50 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.46~7.39 (m, 2H), 7.34 (td,  $J=7.7, 1.6$  Hz, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.93 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.3, 157.9, 156.7, 149.6, 145.5, 140.2, 139.5, 135.5, 131.1, 129.8, 129.8, 128.1, 127.8, 127.6, 124.8, 113.1, 102.8, 55.9, 26.1. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  449.0044, found 449.0053.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(3-氯苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14f**): 白色固体, 产率 79.6%. m.p. 147.8~148.1 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.93 (s, 1H), 7.96 (t,  $J=2.1$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.76 (dd,  $J=8.1, 2.0$  Hz, 1H), 7.70 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.52 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.44 (t,  $J=8.1$  Hz, 1H), 7.21 (dd,  $J=7.9, 2.1$  Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 3.95 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 161.9, 156.8, 156.6, 149.7, 145.4, 142.8, 140.2, 139.9, 132.7, 130.1, 127.9, 124.7, 123.7, 122.2, 120.9, 113.5, 103.0, 56.0, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  449.0044, found 449.0057.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(4-氯苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14g**): 白色固体, 产率 85.1%. m.p. 161.0~161.5 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.89 (s, 1H), 7.90 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.82~7.75 (m, 2H), 7.69 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.51 (dd,  $J=9.0, 2.7$  Hz, 1H), 7.49~7.45 (m, 2H), 4.54 (s, 2H), 3.95 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.0, 156.7, 156.7, 149.7, 145.3, 142.7, 139.9, 139.8, 137.6, 128.4, 127.9, 124.5, 124.4, 113.5, 103.0, 56.0, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  449.0044, found 449.0056.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基噻唑啉-4-基)胺)苯甲腈(**14h**): 白色固体, 产率 77.5%. m.p. 177.8~178.4 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.36 (s, 1H), 7.96~7.88 (m, 2H), 7.84~7.78 (m, 1H), 7.68 (dd,  $J=18.7, 8.6$  Hz, 2H), 7.55 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.50~7.42 (m, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.95 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.1, 157.6, 156.8, 149.6, 145.7, 140.9, 140.0, 139.6, 134.0, 133.3, 127.9, 127.7, 126.7, 125.2, 117.1, 113.1, 110.3, 102.7, 56.0, 26.2. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClN}_5\text{OS}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  440.0407, found 440.0391.

3-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基噻唑啉-4-基)胺)苯甲腈(**14i**): 白色固体, 产率 85.3%. m.p. 200.0~200.3 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.01 (s, 1H), 8.27 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 8.09 (dt,  $J=7.6$ , 2.1 Hz, 1H), 7.89 (d,  $J=2.6$  Hz, 1H), 7.71 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 7.66~7.58 (m, 3H), 7.54 (dd,  $J=9.1$ , 2.5 Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 3.96 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 161.9, 156.8, 156.6, 149.7, 145.5, 139.9, 139.8, 139.6, 129.9, 127.9, 127.4, 127.1, 125.5, 124.8, 118.6, 113.5, 111.3, 102.9, 56.0, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClN}_5\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  440.0407, found 440.0389.

4-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基噻唑啉-4-基)胺)苯甲腈(**14j**): 白色固体, 产率 84.7%. m.p. 200.0~200.3 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.06 (s, 1H), 8.06~8.00 (m, 2H), 7.92 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.89~7.85 (m, 2H), 7.74 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.62 (d,  $J=5.0$  Hz, 1H), 7.56 (dd,  $J=9.1$ , 2.6 Hz, 1H), 4.58 (s, 2H), 3.96 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 161.8, 156.9, 156.4, 149.7, 145.6, 143.3, 140.0, 139.7, 132.8, 128.0, 124.9, 122.0, 119.0, 113.75, 105.2, 103.1, 56.0, 26.4. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClN}_5\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  440.0407, found 440.0397.

2-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(3-(三氟甲基)苯基)噻唑啉-4-基)胺(**14k**): 白色固体, 产率 77.3%. m.p. 158.7~159.2 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.05 (s, 1H), 8.24 (t,  $J=2.0$  Hz, 1H), 8.10 (dd,  $J=8.0$ , 2.1 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.71 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.65 (t,  $J=8.0$  Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.56~7.48 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.97 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 161.9, 156.8, 156.7, 149.7, 145.5, 139.8, 139.8, 139.6, 129.6, 129.1 (d,  $J=32.0$  Hz), 127.9, 126.1, 124.7, 122.8 (d,  $J=273.2$  Hz), 120.23 (q,  $J=4$  Hz), 118.7(q,  $J=4$  Hz), 113.5, 103.0, 56.0, 26.2. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  483.0328, found 483.0312.

2-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(4-(三氟甲基)苯基)噻唑啉-4-基)胺(**14l**): 白色固体, 产率 86.1%. m.p. 176.0~176.5 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.04 (s, 1H), 8.03 (d,  $J=8.5$  Hz, 2H), 7.94 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 7.78 (d,  $J=8.6$  Hz, 2H), 7.72 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.54 (dd,  $J=9.1$ , 2.6 Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.97 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 161.9, 156.8, 156.6, 149.7, 145.5, 142.5, 139.9, 139.8, 127.9, 125.6 (q,  $J=3.7$  Hz), 124.8, 123.6(d,  $J=32.1$  Hz), 123.0 (d,  $J=261.6$  Hz), 122.2, 113.6, 103.1, 56.0, 26.4. HRMS (ESI)

calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  483.0328, found 483.0313.

2-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(邻甲苯基)噻唑啉-4-基)胺(**14m**): 白色固体, 产率 84.5%. m.p. 121.2~121.4 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.83 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.65 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.49 (dd,  $J=9.1$ , 2.7 Hz, 1H), 7.41~7.34 (m, 3H), 7.29 (td,  $J=7.5$ , 1.9 Hz, 1H), 7.24 (td,  $J=7.3$ , 1.6 Hz, 1H), 4.39 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.23 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.4, 157.8, 156.6, 149.6, 145.2, 140.2, 139.6, 136.7, 134.9, 130.5, 127.7, 127.7, 126.6, 126.2, 124.4, 113.2, 103.0, 55.9, 26.2, 18.0. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  429.0611, found 429.0604.

2-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(间甲苯基)噻唑啉-4-基)胺(**14n**): 白色固体, 产率 87.8%. m.p. 125.9~126.2 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.81 (s, 1H), 7.93 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 7.60~7.52 (m, 3H), 7.49 (dd,  $J=9.0$ , 2.6 Hz, 1H), 7.30 (t,  $J=7.7$  Hz, 1H), 6.99 (d,  $J=7.5$  Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.33 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.1, 156.9, 156.7, 149.7, 145.4, 140.1, 139.7, 138.5, 137.7, 128.3, 127.8, 124.97, 124.5, 123.6, 120.2, 113.5, 103.0, 56.0, 26.3, 21.0. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  429.0611, found 429.0605.

2-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(对甲苯基)噻唑啉-4-基)胺(**14o**): 白色固体, 产率 84.1%. m.p. 175.3~175.9 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.80 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=2.8$  Hz, 1H), 7.66 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.60 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.48 (dd,  $J=9.0$ , 2.6 Hz, 1H), 7.22 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.94 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.7, 157.4, 157.1, 150.2, 145.8, 140.6, 140.2, 136.4, 133.9, 129.4, 128.3, 124.8, 123.7, 114.1, 103.5, 56.5, 26.8, 21.0. HRMS (ESI) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{OS}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  429.0611, found 429.0597.

2-((2-((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(2-甲氧基苯基)噻唑啉-4-基)胺(**14p**): 白色固体, 产率 79.5%. m.p. 129.6~130.1 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.63 (s, 1H), 7.90 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.62 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.47 (dt,  $J=9.1$ , 2.3 Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.27 (td,  $J=7.9$ , 1.7 Hz, 1H), 7.15 (dd,  $J=8.4$ , 1.3 Hz, 1H), 7.01 (td,  $J=7.5$ , 1.3 Hz, 1H), 4.38 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.81 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.3, 158.0, 156.5, 154.1, 149.6, 145.4, 140.4, 139.5, 128.1, 127.7, 127.3, 126.6, 124.5, 120.2, 113.4, 112.0, 103.0, 55.9, 55.5,

26.1. HRMS (ESI) calcd for  $C_{20}H_{18}ClN_4O_2S_2$   $[M+H]^+$  445.0560, found 445.0546.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(3-甲氧基苯基)噻唑啉-4-胺(**14q**): 白色固体, 产率 84.7%. m.p. 153.7~154.1 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.79 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.67 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.52~7.44 (m, 2H), 7.37~7.28 (m, 2H), 6.74 (dt,  $J=7.7, 2.0$  Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.76 (s, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.1, 159.4, 156.7, 156.7, 149.7, 145.3, 140.0, 139.8, 139.8, 129.2, 127.8, 124.4, 115.0, 113.6, 109.7, 108.6, 103.1, 56.0, 55.1, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $C_{20}H_{18}ClN_4O_2S_2$   $[M+H]^+$  445.0560, found 445.0545.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基-*N*-(4-甲氧基苯基)噻唑啉-4-胺(**14r**): 白色固体, 产率 89.2%. m.p. 156.7~157.1 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.79 (s, 1H), 7.90 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.67~7.58 (m, 3H), 7.53 (s, 1H), 7.47 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.03~6.97 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 3.94 (s, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.3, 157.0, 156.6, 156.2, 149.7, 145.2, 140.2, 139.7, 131.3, 127.7, 125.0, 124.3, 113.7, 113.5, 103.0, 55.9, 55.2, 26.3. HRMS (ESI) calcd for  $C_{20}H_{18}ClN_4O_2S_2$   $[M+H]^+$  445.0560, found 445.0543.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(2-乙基苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14s**): 白色固体, 产率 71.4%. m.p. 154.7~155.2 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.78 (s, 1H), 7.92 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 7.63 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.48 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.36 (dd,  $J=13.9, 5.8$  Hz, 3H), 7.31~7.27 (m, 2H), 4.37 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.61 (q,  $J=7.5$  Hz, 2H), 1.12 (t,  $J=7.5$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.5, 158.3, 156.6, 149.6, 145.3, 140.7, 140.3, 139.5, 136.0, 128.7, 128.3, 127.7, 127.0, 126.2, 124.4, 113.2, 103.0, 55.9, 26.1, 24.1, 14.1. HRMS (ESI) calcd for  $C_{21}H_{20}ClN_4OS_2$   $[M+H]^+$  443.0767, found 443.0746.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(4-乙基苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14t**): 白色固体, 产率 85.1%. m.p. 173.8~174.2 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.81 (s, 1H), 7.91 (d,  $J=2.7$  Hz, 1H), 7.68~7.60 (m, 3H), 7.53 (s, 1H), 7.48 (dd,  $J=9.1, 2.6$  Hz, 1H), 7.24 (d,  $J=8.3$  Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.60 (q,  $J=7.6$  Hz, 2H), 1.18 (t,  $J=7.6$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.2, 156.9, 156.6, 149.7, 145.3, 140.1, 139.9, 139.7, 136.1, 127.8, 127.7, 124.3, 123.3, 113.5, 103.0, 56.0, 27.7, 26.3, 15.6. HRMS (ESI) calcd for  $C_{21}H_{20}ClN_4OS_2$   $[M+H]^+$

$H]^+$  443.0767, found 443.0754.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(2-乙氧基苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14u**): 白色固体, 产率 80.5%. m.p. 151.9~152.3 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.57 (s, 1H), 7.86 (d,  $J=2.6$  Hz, 1H), 7.63 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.48 (ddd,  $J=11.8, 8.4, 2.0$  Hz, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.26~7.21 (m, 1H), 7.12 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 7.00 (t,  $J=7.6$  Hz, 1H), 4.41 (s, 2H), 4.06 (q,  $J=6.9$  Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.20 (t,  $J=7.0$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.3, 157.7, 156.5, 153.2, 149.6, 145.3, 140.4, 139.5, 127.7, 127.3, 127.0, 127.0, 124.4, 120.2, 113.4, 113.1, 102.8, 63.8, 55.8, 26.1, 14.6. HRMS (ESI) calcd for  $C_{21}H_{20}ClN_4O_2S_2$   $[M+H]^+$  459.0716, found 459.0698.

2-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-*N*-(4-乙氧基苯基)-6-甲氧基噻唑啉-4-胺(**14v**): 白色固体, 产率 85.9%. m.p. 123.6~124.2 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 9.77 (s, 1H), 7.88 (d,  $J=2.2$  Hz, 1H), 7.64 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.47 (dd,  $J=9.0, 2.4$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H), 4.49 (s, 2H), 4.02 (q,  $J=6.9$  Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 1.32 (t,  $J=6.9$  Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 162.2, 157.0, 156.6, 155.5, 149.6, 145.2, 140.2, 139.7, 131.2, 127.7, 125.0, 124.3, 114.2, 113.5, 103.0, 63.1, 55.9, 26.3, 14.6. HRMS (ESI) calcd for  $C_{21}H_{20}ClN_4O_2S_2$   $[M+H]^+$  459.0716, found 459.0703.

*N*-(3-(((2-氯噻唑-5-基)甲基)硫代)-6-甲氧基噻唑啉-4-基)氨基)苯基)丙烯酰胺(**14w**): 白色固体, 产率 75.8%. m.p. 233.6~233.9 °C;  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.24 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.95 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 7.67 (d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 7.53~7.45 (m, 3H), 7.42~7.34 (m, 2H), 6.49 (dd,  $J=16.9, 10.1$  Hz, 1H), 6.30 (dd,  $J=17.0, 1.8$  Hz, 1H), 5.78 (dd,  $J=10.1, 1.8$  Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.95 (s, 3H);  $^{13}C$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 163.2, 162.2, 156.9, 156.7, 149.6, 145.5, 140.1, 139.7, 139.2, 138.9, 131.8, 128.7, 127.8, 126.9, 124.6, 118.6, 115.4, 114.4, 113.5, 103.0, 56.0, 26.2. HRMS (ESI) calcd for  $C_{22}H_{19}ClN_5O_2S_2$   $[M+H]^+$  484.0669, found 484.0652.

**辅助材料(Supporting Information)** 化合物 **14a**~**14w** 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] Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Goding Sauer, A.; Fedewa, S. A.; But-

- terly, L. F.; Anderson, J. C.; Cercek, A.; Smith, R. A.; Jemal, A. *CA Cancer J. Clin.* **2020**, *70*, 145.
- [2] Cheng, M.; Yu, X.; Lu, K.; Xie, L.; Wang, L.; Meng, F.; Han, X.; Chen, X.; Liu, J.; Xiong, Y.; Jin, J. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 1216.
- [3] Das, D.; Hong, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *170*, 55.
- [4] Gatadi, S.; Gour, J.; Shukla, M.; Kaul, G.; Das, S.; Dasgupta, A.; Malasala, S.; Borra, R. S.; Madhavi, Y. V.; Chopra, S.; Nanduri, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *157*, 1056.
- [5] Rakesh, K. P.; Manukumar, H. M.; Gowda, D. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1072.
- [6] Ugale, V. G.; Bari, S. B. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *80*, 447.
- [7] Verhaeghe, P.; Azas, N.; Gasquet, M.; Hutter, S.; Ducros, C.; Laget, M.; Rault, S.; Rathelot, P.; Vanelle, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 396.
- [8] Wan, Z.; Hu, D.; Li, P.; Xie, D.; Gan, X. *Molecules* **2015**, *20*, 11861.
- [9] Bansal, R.; Malhotra, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *211*, 113016.
- [10] Wilder, C. D. E.; Pavlaki, N.; Dursun, T.; Gyimah, P.; Caldwell-Dunn, E.; Ranieri, A.; Lewis, H. R.; Curtis, M. J. *Br. J. Pharmacol.* **2018**, *175*, 1669.
- [11] Zhang, J.; Zhang, S.; Wang, Y.; Xu, W.; Zhang, J.; Jiang, H.; Huang, F. *PLoS One* **2014**, *9*, e89473.
- [12] Landre, T.; Des Guetz, G.; Chouahnia, K.; Duchemann, B.; Assie, J. B.; Chouaid, C. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2020**, *146*, 3333.
- [13] Park, H.; Jung, H. Y.; Mah, S.; Hong, S. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2017**, *56*, 7634.
- [14] Ali, S. H.; Sayed, A. R. *Synth. Commun.* **2020**, *51*, 670.
- [15] Borcea, A. M.; Ionut, I.; Crisan, O.; Oniga, O. *Molecules* **2021**, *26*.
- [16] Sever, B.; Turkes, C.; Altintop, M. D.; Demir, Y.; Akalin Ciftci, G.; Beydemir, S. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2021**, *354*, e2100294.
- [17] Wan, Y.; Long, J.; Gao, H.; Tang, Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *210*, 112953.
- [18] Abdelhameed, A.; Liao, X.; McElroy, C. A.; Joice, A. C.; Rakotondraibe, L.; Li, J.; Slebodnick, C.; Guo, P.; Wilson, W. D.; Werbovetz, K. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 126725.
- [19] Kirstein, A. S.; Augustin, A.; Penke, M.; Cea, M.; Korner, A.; Kiess, W.; Garten, A. *Cancers (Basel)* **2019**, *11*.
- [20] Nguyen, T. B.; Sakata-Yanagimoto, M.; Fujisawa, M.; Nuhat, S. T.; Miyoshi, H.; Nannya, Y.; Hashimoto, K.; Fukumoto, K.; Bernard, O. A.; Kiyoki, Y.; Ishitsuka, K.; Momose, H.; Sukegawa, S.; Shinagawa, A.; Suyama, T.; Sato, Y.; Nishikii, H.; Obara, N.; Kusakabe, M.; Yanagimoto, S.; Ogawa, S.; Ohshima, K.; Chiba, S. *Cancer Res.* **2020**, *80*, 1875.
- [21] Arora, P.; Narang, R.; Nayak, S. K.; Singh, S. K.; Judge, V. *Med. Chem. Res.* **2016**, *25*, 1717.
- [22] Flores, E.; Muñoz-Osses, M.; Torrent, C.; Vázquez-Martínez, Y.; Gómez, A.; Cortez-San Martín, M.; Vega, A.; Martí, A. A.; Godoy, F.; Mascayano, C. *Organometallics* **2020**, *39*, 2672.
- [23] Petrou, A.; Fesatidou, M.; Geronikaki, A. *Molecules* **2021**, *26*.
- [24] Rouf, A.; Tanyeli, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 911.
- [25] Schädich, E.; Kryshchshyn-Dylevych, A.; Holota, S.; Polishchuk, P.; Dzubak, P.; Gurska, S.; Hajdych, M.; Lesyk, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127616.
- [26] Reddy, B.; Naidu, A.; Dubey, P. K. *Asian J. Chem.* **2013**, *25*, 2644.
- [27] Song, P.; Cui, F.; Li, N.; Xin, J.; Ma, Q.; Meng, X.; Wang, C.; Cao, Q.; Gu, Y.; Ke, Y.; Zhang, Q.; Liu, H. *Chin. J. Chem.* **2017**, *35*, 1633.
- [28] Wei, X. W.; Yuan, J. M.; Huang, W. Y.; Chen, N. Y.; Li, X. J.; Pan, C. X.; Mo, D. L.; Su, G. F. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *186*, 111851.

(Lu, Y.)