

学校代号 10532

学 号 B1311S0028

分 类 号 _____

密 级 _____



湖南大学
HUNAN UNIVERSITY

博士学位论文

胡椒基修饰的噻唑类化合物的合成与 生物活性研究

学位申请人姓名 伍智林

培 养 单 位 化学化工学院

导师姓名及职称 胡艾希 教授

学 科 专 业 化学工程与技术

研 究 方 向 药物设计与合成

论 文 提 交 日期 2016 年 04 月

学校代号: 10532

学 号: B1311S0028

密 级:

湖南大学博士学位论文

胡椒基修饰的噻唑类化合物的合成与生物活性研究

学位申请人姓名: 伍智林

导师姓名及职称: 胡艾希 教授

培 养 单 位: 化学化工学院

专 业 名 称: 化学工程与技术

论文提交日期: 2016 年 04 月

论文答辩日期: 2016 年 06 月

答辩委员会主席: 向建南 教授

Synthesis and biological activities study of piperonyl-modified
thiazole derivatives

by

WU ZHILIN

B.E. (Hunan University) 2011

A thesis submitted in partial satisfaction of the

Requirements for the degree of

Doctor of Engineering

in

Chemical Engineering and Technology

in the

Graduate School

of

Hunan University

Supervisor

Professor HU Aixi

June, 2016

摘要

选择以 2-氨基噻唑为母核, 利用活性叠加原理, 在噻唑环 5-位引入具有抗癌和杀菌活性的活性基团胡椒基, 并对 2-位氨基进行合理修饰, 以司替戊醇合成工艺中的中间体 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮 (A) 为原料, 经过多步反应合成了噻唑酰胺 (E、G、H)、芳氨基噻唑 (J) 和苄亚氨基噻唑 (K) 等 3 大类 (5 个小类) 新化合物。对化合物 E、G、H 和 J 进行了抗肿瘤活性测试, 对化合物 K 进行了杀菌活性测试。具体研究内容和结果如下:

(1) 司替戊醇的合成工艺

对抗癫痫药司替戊醇的合成工艺进行了优化, 采用 Vilsmeier 反应合成关键中间体胡椒醛, 以 DMF/POCl₃ 为 Vilsmeier 试剂, 并采用单因素试验法, 对反应条件进行了优化。采用 Meerwein-Ponndorf 还原法, 选择异丙醇铝/异丙醇体系, 将 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮选择性还原为司替戊醇, 收率为 95%。

(2) N-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)酰胺 (E、G、H) 的合成与抗肿瘤活性

以 2-氨基噻唑为母核, 在其 5-位引入胡椒基, 对 2-位氨基进行结构修饰, 分别引入苯甲酰基、2-氨基乙酰基和 3-氨基丙酰基等活性基团, 设计合成了 3 类 N-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)酰胺 (即化合物 E、G 和 H)。MTT 法体外抗肿瘤活性测试结果显示, 化合物 E8 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 为 $7.7 \pm 2.3 \mu\text{M}$, 活性优于阳性对照物 5-FU; 化合物 G2、G6 和 G9 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 值分别为 $11.7 \pm 1.1 \mu\text{M}$ 、 $7.0 \pm 3.2 \mu\text{M}$ 和 $6.4 \pm 2.2 \mu\text{M}$, 化合物 G2 对 A549 细胞的 IC₅₀ 值分别为 $4.6 \pm 2.4 \mu\text{M}$, 活性优于阳性对照物; 化合物 H10 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 为 $13.8 \pm 1.6 \mu\text{M}$, 活性与阳性对照物相当。选择活性优秀的化合物 G2, 进一步利用 AO/EB 双染和流式细胞术分析此类化合物对细胞的诱导凋亡作用, 发现该化合物能诱导细胞凋亡, 并能阻滞细胞有丝分裂于 G1 期。

(3) 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑 (J) 的合成与抗肿瘤活性

将噻唑环 2-位氨基改造为芳氨基, 设计合成了一系列 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑 (J)。对化合物 J31 进行了 X 射线单晶衍射, 确认化合物的结构和晶体构型。体外抗肿瘤活性测试显示, 多数化合物表现出很好的体外抗肿瘤活性, 其中化合物 J7 对 A549 和 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 分别为 $2.06 \pm 0.09 \mu\text{M}$ 和 $3.00 \pm 0.25 \mu\text{M}$, 化合物 J27 对 HeLa 和 A549 细胞的 IC₅₀ 分别为 $2.07 \pm 0.88 \mu\text{M}$ 和 $3.52 \pm 0.49 \mu\text{M}$, 化合物 J30 对 3 种肿瘤细胞的 IC₅₀ 分别为 $4.79 \pm 0.86 \mu\text{M}$ 、 $5.13 \pm 0.62 \mu\text{M}$ 和 $4.71 \pm 0.47 \mu\text{M}$, 明显优于阳性对照。以化合物 J24 为代表, 利用 AO/EB 双染、Hoechst 33342 单染和流式细胞术探讨此类化合物的抗肿瘤作用机制, 发现该化合物能诱导细胞凋亡, 并能阻滞细胞有丝分裂于 S 期和 G2/M 期。

(4) 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑 (K) 的合成与杀菌活性

将噻唑环 2-位氨基改造为苄亚氨基, 设计合成了一系列 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚

氨基噻唑 (**K**) 并测试了其杀菌活性。离体杀菌活性测试结果显示, 化合物 **K19** 对晚疫病菌、稻瘟病菌和小麦壳针孢菌 3 种供试病菌的 ED_{50} 值分别为 $0.601 \pm 0.9 \text{ mg/L}$ 、 $1.75 \pm 0.7 \text{ mg/L}$ 和 $0.975 \pm 0.6 \text{ mg/L}$, 优于相应的阳性对照物。活体杀菌活性测试结果显示, 在 100 mg/L 浓度下, 化合物 **K19** 对晚疫病菌具有较好的叶盘防治效果, 对西红柿植株的叶盘防效为 83%; 在 600 mg/L 浓度下, 化合物 **K4** 对灰霉病菌有良好的整株防治效果, 其对辣椒植株的防效为 90%。

关键词: 胡椒环; 司替戊醇; 2-氨基噻唑; 抗肿瘤活性; 杀菌活性; 晶体结构; 合成

Abstract

2-Aminothiazole, a moiety possessing a variety of biological and pharmacological activities, was selected as the nucleus for structural modification according to association principle. Piperonyl, an active group from many natural products, was introduced to the 5-position of thiazole ring, and reasonable modification of the 2-position amino group was performed to give thiazole amides (**E**, **G**, **H**), aromatic amino-thiazole (**J**) and thiazole Schiff base (**K**) start from the intermediate (*E*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-yl)-4,4-dimethylpent-1-en-3-one (**A**). Compounds **E**, **G**, **H** and **J** were designed as antitumor agents and compounds **K** were designed as fungicides.

(1) Optimization of the synthetic process of Stiripentol

The synthetic process of Stiripentol, an antiepileptic drug, was optimized. The key intermediate piperonal was prepared via Vilsmeier reaction. The reaction condition was optimized by single factor experiment method. Stiripentol was synthesized via Meerwein-Ponndorf reduction method in an Al(isopropanol)₃/isopropanol system with a high yield of 95%.

(2) Synthesis and antitumor activities of *N*-(5-piperonyl-4-(*tert*-butyl)thiazol-2-yl) amides (E**, **G**, **H**)**

2-Aminothiazole was selected as the nucleus, in which was introduced piperonyl, a natural product active group, on the 5-position. At the same time, a series of reasonable structural modification 2-position amino were conducted by the introduction of active groups such as benzoyl, 2-amino-acetyl and 3-amino-propionyl, resulting three types of *N*-(5-piperonyl-4-(*tert*-butyl)thiazol-2-yl) amides (Compounds **E**, **G** and **H**) as anticancer agents. The toxicities of the target compounds against HeLa, A549 and MCF-7 cell lines were screened by MTT method. Compound **E8** showed potent antitumor activity against HeLa cell lines with an IC₅₀ of 7.7 ± 2.3 μM, better than 5-FU. Compounds **G2**, **G6** and **G9** showed potent inhibitory activities against HeLa cell lines with IC₅₀ values of 11.7 ± 1.1 μM, 7.0 ± 3.2 μM and 6.4 ± 2.2 μM respectively, while compound **G2** showed good inhibitory activity against A549 cell lines with an IC₅₀ value of 4.6 ± 2.4 μM, all better than 5-FU. Compound **H10** showed about the same inhibitory activity against HeLa cell lines with an IC₅₀ value of 13.8 ± 1.6 μM. Compound **G2** was selected for further analysis of the apoptosis induced by such compounds using AO/EB double staining and flow cytometry. The results indicated that compound **G2** could suppresses the growth of HeLa cells by inducing apoptosis and causing cell-cycle arrest at G1 phase.

(3) Synthesis and antitumor activities of *N*-aryl-5-piperonyl-4-(*tert*-butyl)thiazol-2-amines (J)

The amino on 2-position of thiazole ring was replaced with arylaminos to design and synthesize a series of *N*-aryl-5-piperonyl-4-(*tert*-butyl)thiazol-2-amines. The crystal structure of compound **J31** was determined by X-ray diffraction. All the synthesized compounds were tested their toxicities against HeLa, A549 and MCF-7 cell lines *in vitro*. The results revealed that most of the tested compounds showed potent inhibitory activities against the three cancer cell lines, such as compound **J7** (IC_{50} : $2.06 \pm 0.09 \mu\text{M}$ for A549 and $3.00 \pm 0.25 \mu\text{M}$ for MCF-7), **J27** (IC_{50} : $2.07 \pm 0.88 \mu\text{M}$ for HeLa and $3.52 \pm 0.49 \mu\text{M}$ for A549) and **J30** (IC_{50} : $4.79 \pm 0.86 \mu\text{M}$ for HeLa, $5.13 \pm 0.62 \mu\text{M}$ for A549 and $4.71 \pm 0.47 \mu\text{M}$ for MCF-7), significantly better than the 5-FU. Compound **J24** was selected as a representative for further studies of the anti-tumor mechanism using AO/EB double staining, Hoechst 33342, and cell cycle and apoptosis analysis by flow cytometry. The result illustrated that compound **J24** could inhibit the proliferation of HeLa cells by inducing apoptosis and causing cell-cycle arrest at G2/M and S phase.

(4) Synthesis and fungicidal activities of 5-piperonyl-4-(*tert*-butyl)-*N*-benzylidenethiazol-2-amines (K)

A series of 5-piperonyl-4-(*tert*-butyl)-*N*-benzylidenethiazol-2-amines were designed and synthesized. All the target compounds were tested for their fungicidal activities *in vitro* against *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Pyricularia oryzae* and *Septoria tritici*, and then the compounds with good *in vitro* activities were further tested for the fungicidal activities *in vivo* against *Botrytis cinerea*, *Erysiphe graminis f. sp. Tritici*, *Phakopsora pachyrhizi*, *Phytophthora infestans*, *Puccinia recondita* and *Septoria tritici*, including both leaf disk and whole plant. The ED_{50} values of compound **K19** against *Phytophthora infestans*, *Pyricularia oryzae* and *Septoria tritici* were $0.601 \pm 0.9 \text{ mg/L}$, $1.75 \pm 0.7 \text{ mg/L}$ and $0.975 \pm 0.6 \text{ mg/L}$ respectively, better than the corresponding positive controls. Compound **K19** and **K4** also showed good fungicida activity *in vivo*. The control effect against *Phytophthora infestans* was 83% (leaf disc) in tomato leaf area after treated with compound **K19** at the concentration of 100 mg/L. The control effect against *Botrytis cinerea* was 90% (whole plant) in green pepper plant dealt with compound **K4** (600 mg/L).

Key Words: Piperonyl; Stiripentol; 2-Aminothiazole; Antitumor activity; Fungicidal activity Crystal structure; Synthesis

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 胡椒环类化合物在抗癌药物中的应用	2
1.2 胡椒环类化合物在杀菌药物中的应用	7
1.3 课题的选择与研究内容	9
1.3.1 课题的选择	10
1.3.2 研究内容	10
第 2 章 司替戊醇的合成工艺	12
2.1 引言	12
2.2 实验部分	15
2.2.1 仪器与试剂	15
2.3 结果与讨论	17
2.3.1 Vilsmeier-Hack 反应	17
2.3.2 Aldol 缩合反应	18
2.3.3 还原反应	19
2.4 本章小结	19
第 3 章 <i>N</i>-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)酰胺的合成与抗肿瘤活性	20
3.1 引言	20
3.2 实验部分	25
3.2.1 仪器与试剂	25
3.2.2 <i>N</i> -(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)苯甲酰胺的合成	26
3.2.3 <i>N</i> -(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)脂肪酰胺 (F) 的合成	34
3.2.4 <i>N</i> -(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氨基乙酰胺 (G) 的合成	37
3.2.5 <i>N</i> -(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氨基丙酰胺 (H) 的合成	41
3.2.6 抗肿瘤活性实验	45
3.3 结果与讨论	47
3.3.1 合成实验	47
3.3.2 结构表征	51
3.3.3 抗肿瘤活性	53
3.4 本章小结	58
第 4 章 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑的合成与抗肿瘤活性	60
4.1 引言	60
4.2 实验部分	64

4.2.1 实验仪器与试剂.....	64
4.2.2 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑的合成.....	64
4.2.3 抗肿瘤活性测试.....	75
4.3 结果与讨论.....	75
4.3.1 成环反应.....	75
4.3.2 结构表征.....	76
4.3.3 抗肿瘤活性.....	83
4.4 本章小结.....	88
第 5 章 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑的合成与杀菌活性	89
5.1 引言.....	89
5.2 实验部分.....	92
5.2.1 实验仪器与试剂.....	93
5.2.2 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑 (K) 的合成.....	93
5.2.3 杀菌活性测试.....	101
5.3 结果与讨论.....	102
5.3.1 合成实验.....	102
5.3.2 结构表征.....	103
5.3.3 杀菌活性.....	105
5.4 本章小结.....	108
结 论	110
参考文献	112
附录A：攻读博士期间发表的相关论文	126
附录B：部分化合物谱图	128

第1章 绪论

胡椒环 (Benzodioxole), 学名 1,2-亚甲二氧基苯, 又叫苯并二茂或苯并二氧杂环戊烯, 可由儿茶酚经环合而得到。胡椒环是一种重要的有机合成中间体, 在香料、医药及农药等领域有着广泛的应用。研究表明, 含胡椒环结构的化合物具有广泛的生物活性和生物功能, 如抗癌、抗菌、抗寄生虫^[1]、抗炎^[2]、抗痉挛^[3,4]、镇痛^[5]等, 此外, 还对细胞色素P450^[6]、乙酰胆碱酯酶^[7]、络氨酸激酶^[8]和拓扑异构酶^[9]等具有抑制活性。

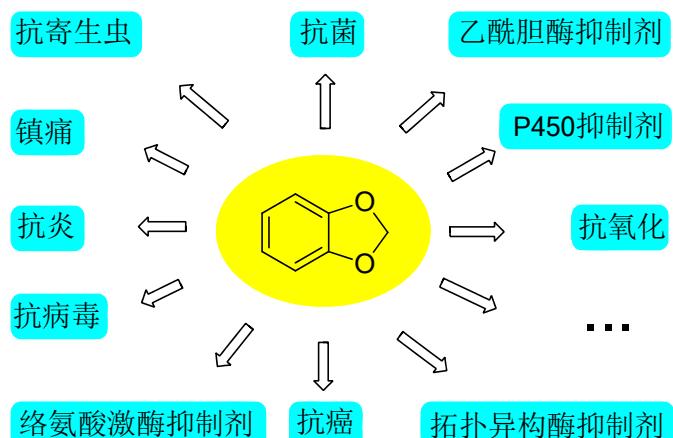
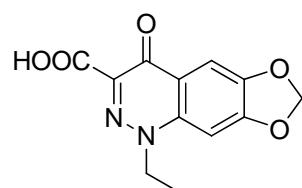
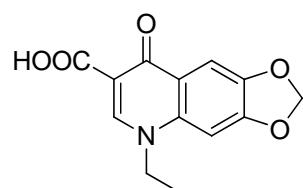


图 1.1 胡椒环衍生物的生物活性

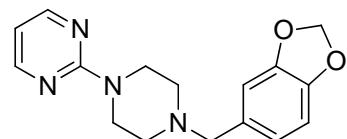
在医药领域, 多个含胡椒环结构的药物被应用于临床治疗。如第一代喹诺酮类抗菌药物西诺沙星 (Cinoxacin) 和恶喹酸 (Oxolinic acid)^[10]、血管扩张药毗贝地尔 (Piribedil)^[11]、抗癫痫药物司替戊醇 (Stiripentol)^[12]和伊来西胺 (Ilepcimide)^[13,14]、平滑肌解痉药非诺维林 (Fenoverine)^[15,16]、抑郁症和强迫症治疗药物帕罗西汀 (Paroxetine)^[17,18]、治疗男性功能障碍药物他达那非 (Tadalafil)^[19]、治疗胃酸过多药物尼培替丁 (Niperotidine)^[20,21]等。



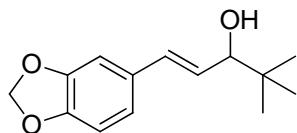
西诺沙星



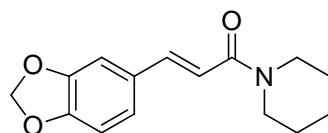
恶喹酸



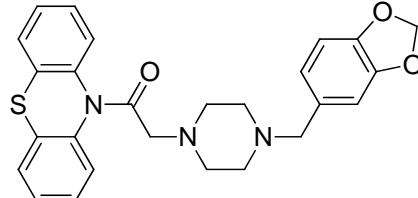
毗贝地尔



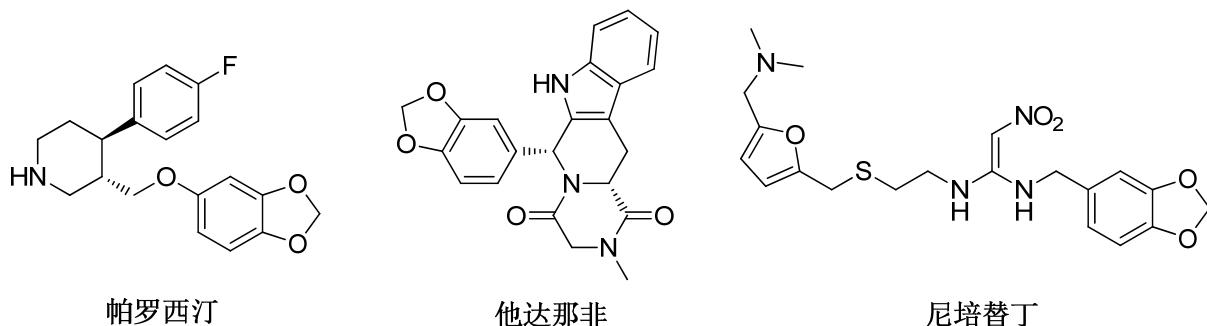
司替戊醇



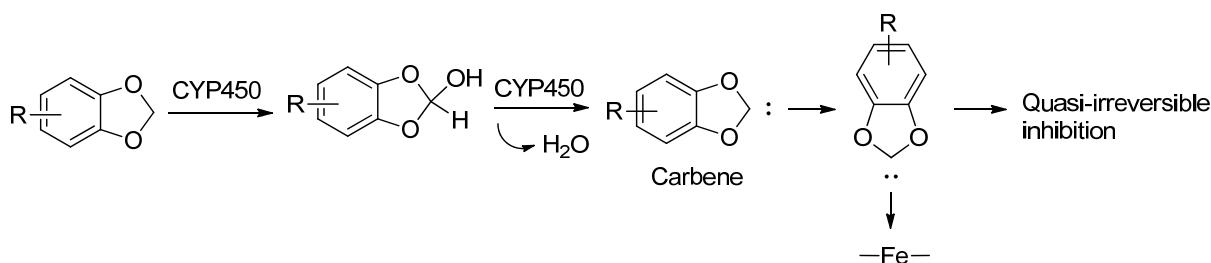
伊来西胺



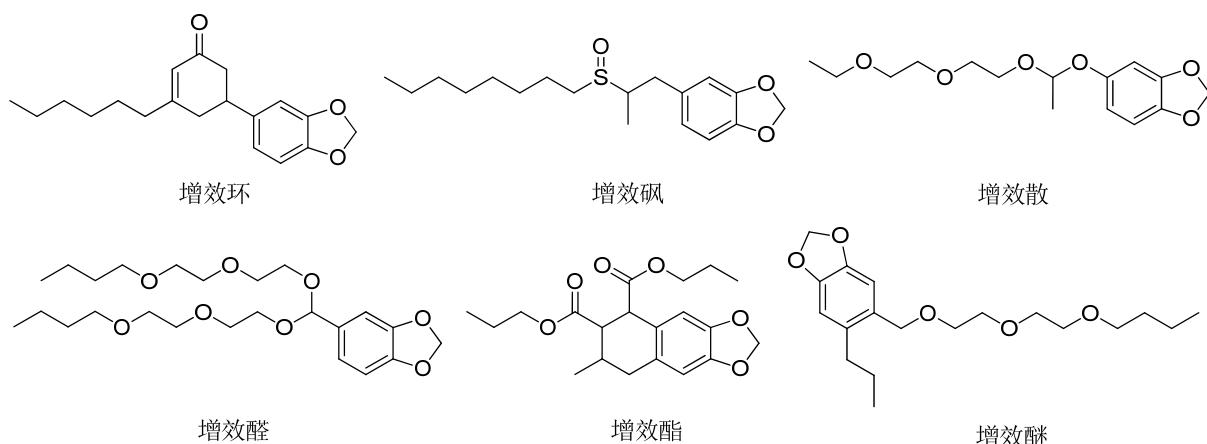
非诺维林



Taxak 等^[22]研究发现,很多含胡椒环的药物在作用机制上有一个共同特点,即二氧亚甲基形成卡宾,与血红素亚铁离子形成复合物,抑制细胞色素 P450。司替戊醇、帕罗西汀、他达那非和尼培替丁等药物均存在这一作用机制。细胞色素 P450 为一类亚铁血红素—硫醇盐蛋白的超家族,参与内源性物质和包括 70~80%的临床药物、环境化合物在内的外源性物质的代谢^[23]。



在农药领域,胡椒环主要存在于各种农药增效剂,包括增效环、增效砜、增效酯、增效醛、增效特、增效散、增效醚等。增效剂本身并无活性,但是当其与相应的农药联合使用的时候,就能显著改善农药的浸湿、分散、滞留及渗透性能,利于药液在叶面表面的展开与粘附,减少气流对农药喷雾的影响,避免或降低其对附近敏感农作物的误伤,还能缓解光线对农药制剂中有效成分的分解,延长农药的药效时间^[24],达到减少用量,降低成本,保护生态环境的目的^[25,26]。其作用机理主要是增强农药对靶标的穿透力,抑制或弱化靶标(害虫、杂草、病菌等)对农药活性的解毒防药害作用,延缓药剂在防治对象内的代谢速度,从而增加生物防效。好的增效剂不仅能数倍、数十倍提高农药的防治效果,还可延缓抗性产生,延长来之不易的农药品种的生命期^[27]。



1.1 胡椒环类化合物在抗癌药物中的应用

在医学上，癌症是指起源于上皮组织的恶性肿瘤，是恶性肿瘤中最常见的一类，而起源于间叶组织的恶性肿瘤统称为肉瘤，还有少数恶性肿瘤不按上述原则命名，如肾母细胞瘤、恶性畸胎瘤等。一般人们所说的“癌症”习惯上泛指所有恶性肿瘤。癌症是目前人类面临的最难治愈和致死率最高的疾病之一，据统计，每年死于癌症的人数仅次于心血管疾病。根据世界卫生组织（WHO）2015年发布的《World Cancer Report 2014》的数据统计，2012年全球新增癌症病例近1400万，因癌症死亡超过820万，其中中国分别占21.8%和26.9%^[28]。

中国医学科学院肿瘤医院、国家癌症中心赫捷院士、全国肿瘤登记中心主任陈万青教授等在CA: A Cancer Journal for Clinicians杂志上发表了《Cancer Statistics in China, 2015》，展示我国最新的癌症发病率、死亡率和生存率预计值及主要癌症的变化趋势。数据显示，我国癌症新增人数和死亡人数呈现逐年递增的趋势（图1.2）^[29]。

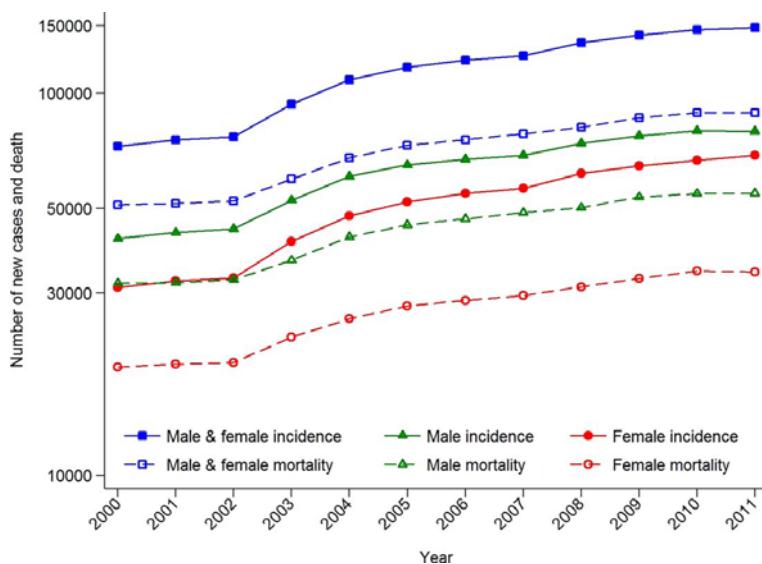


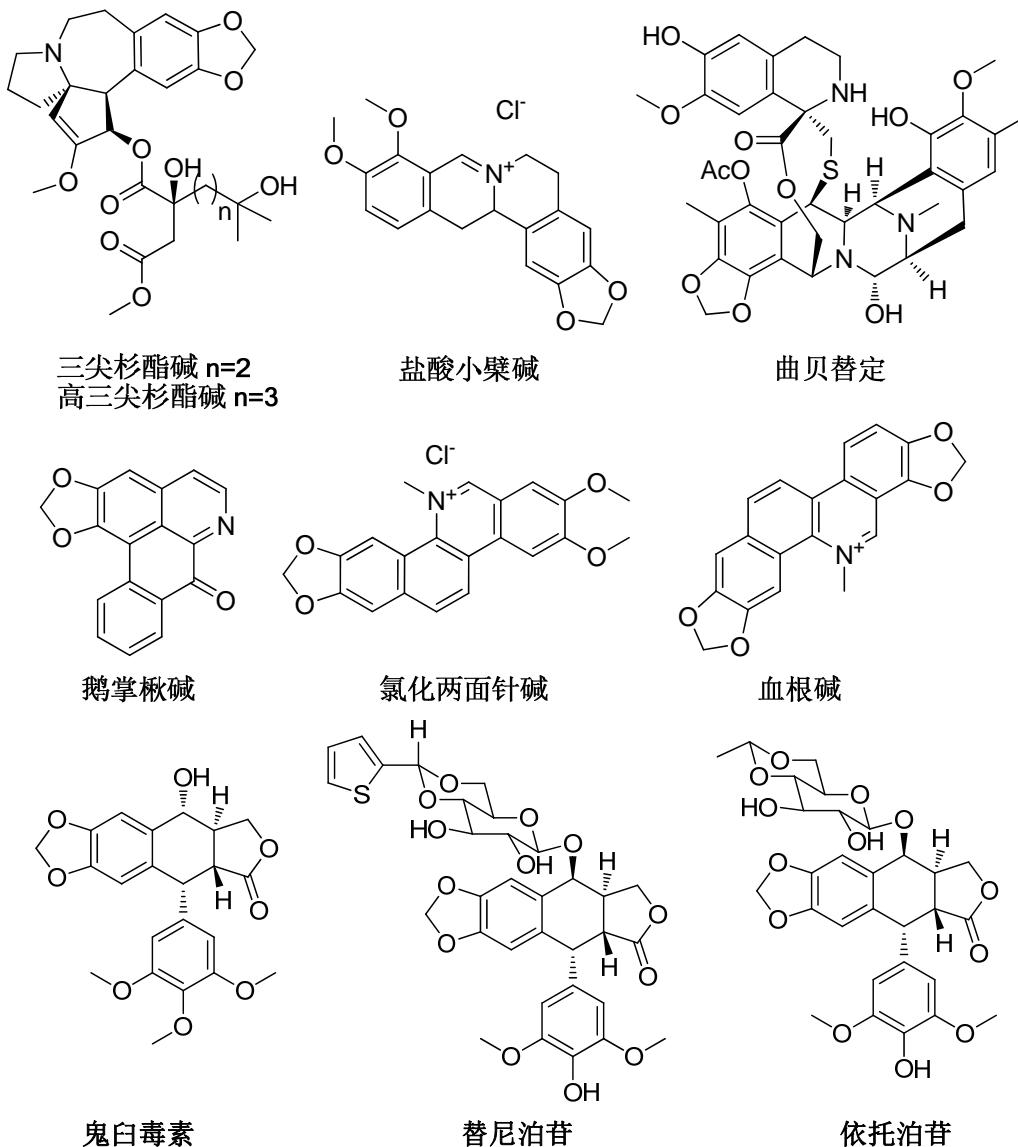
图1.2 我国近年来癌症新增患者与死亡人数变化曲线

在人类身上，目前已知的癌症超过100种^[30]。癌症的诱发因素多种多样，其中90~95%由于环境因素引起，如吸烟、饮食（肥胖）、感染、辐射等，还有5~10%的因素由遗传基因决定^[31]。肿瘤细胞所处的微环境在癌症中扮演着重要角色，但是相关机理至今尚未完全明确，最新研究表明，细胞竞争在癌症中发挥了关键作用，一方面，人体自身会消灭受损细胞，另一方面，癌变前细胞会认为周围细胞“异常”，因而发出信号将其消灭，从而促进癌变进程^[32]。

随着人们对癌症生物学进程的了解不断深入，癌症的治疗方法也在不断改进。肿瘤切除手术的最早记录出现在古埃及，激素疗法出现在1896年，化疗出现在1899年，到了20世纪，科学家们又相继发现了化疗、免疫疗法和最新的靶向治疗^[33]。由于癌症的多样性与个体差异性，其治疗方法不存在简单的“一刀切”模式，对于个体而言，治疗方法的选择取决于肿瘤的位置与发展阶段以及患者的身体状况。

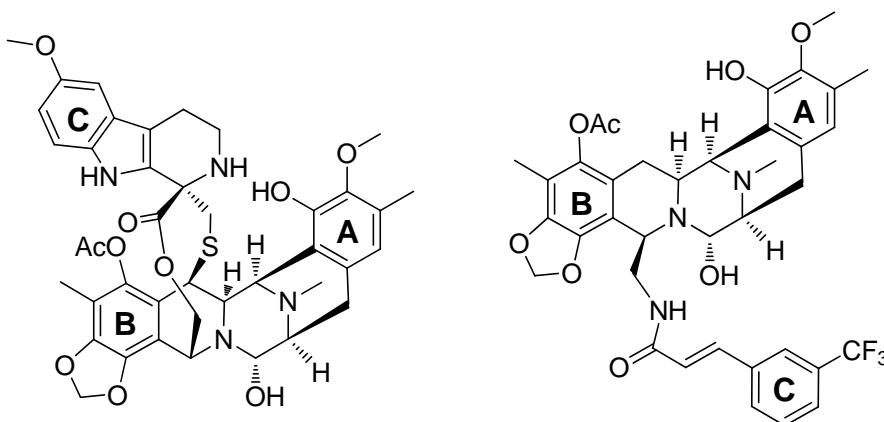
天然产物是抗肿瘤药物开发的一个主要来源^[34,35]，据统计，在众多抗肿瘤药物中，有2/3来源于天然产物^[36]。其中紫杉醇、喜树碱类、鬼臼毒素类、长春碱类、埃坡霉素

类等在肿瘤的治疗过程中扮演着非常重要的角色。胡椒环结构广泛存在于三尖杉酯碱 (Harringtonine)^[37]、高三尖杉酯碱 (Homoharringtonine)^[38,39]、鹅掌楸碱 (Liriodenine)^[40,41]、氯化两面针碱 (Nitidine chloride)^[42,43]、血根碱 (Sanguinarine)^[44]、盐酸小檗碱 (Berberine hydrochloride)^[45]和曲贝替定 (Trabectedin)^[46,47]、鬼臼毒素 (Podophyllotoxin)^[48,49]及其类似物替尼泊昔 (Teniposide)^[50]和依托泊昔 (Etoposide)^[51]等多种具有抗癌活性的天然产物结构中, 其中曲贝替定来源于海洋生物被囊动物红树海鞘 (*Ecteinascidia turbinata*), 其他化合物均为植物生物碱。



近年来, 胡椒环衍生物在抗肿瘤领域受到了广泛的关注, 研究者们或是对天然产物分子进行简单的结构改造, 或是将胡椒环结构引入到新骨架中。一大批具有优秀抗肿瘤活性的胡椒环衍生物相继被发现和报道。

PM01183 (Lurbinectedin) 和 PM00104 (Zalapsis) 均是半合成的生物碱, 属于曲贝替定类似物^[52], 通过对曲贝替尼的 C 环部分进行改造而得到。目前二者均处于 I 临床试验阶段, 其中 PM01183 用于治疗实体瘤^[53], PM00104 用于治疗实体瘤和淋巴瘤^[54]。



PM01183

PM00104

Rajalekshmi 等^[55]对荜澄茄素 (cubebin, **1-1a**) 结构中的四氢呋喃环进行改造, 得到一系列新化合物, 并测试了其抗癌活性, 其中活性较好的化合物 **1-1b** 和 **1-1c** 的活性数据列入表 1.1 中, 可以看出, 经过改造后, 化合物 **1-1b** 对除 K562 细胞之外的其他 4 种供试细胞的抑制活性均有所增强, 化合物 **1-1c** 对 A549、K562 和 SiHa 细胞的抑制活性有所增强。

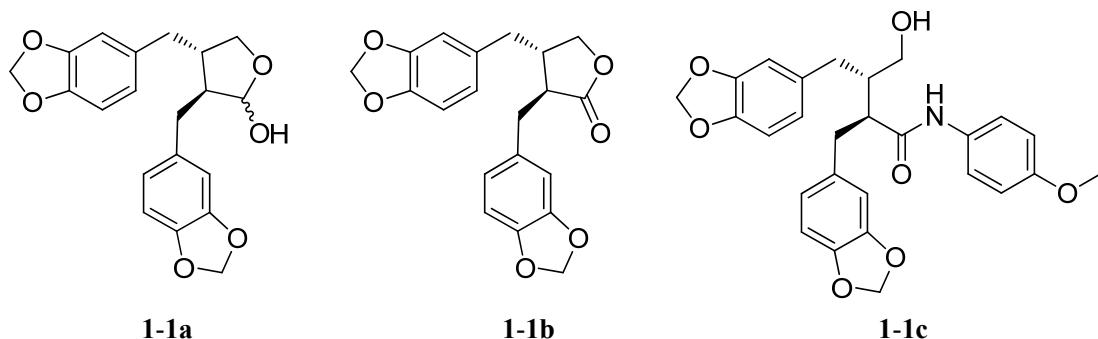
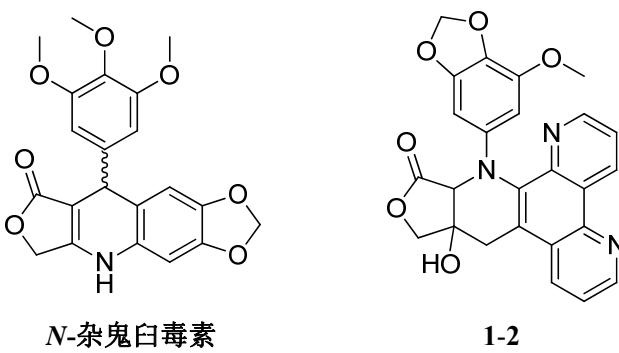


表 1.1 化合物 1-1 的抗肿瘤活性

化合物	IC ₅₀ (μM)				
	A549	K562	SiHa	KB	HT29
1-1a	8.30 ± 0.16	8.66 ± 0.43	>100	8.16 ± 0.41	45.2 ± 0.87
1-1b	7.86 ± 0.54	9.07 ± 0.41	68.4 ± 4.0	7.68 ± 0.53	35.7 ± 1.23
1-1c	6.61 ± 0.42	8.37 ± 0.19	91.50 ± 0.31	9.17 ± 0.26	51.1 ± 0.90

Kandil 等^[56]以微管蛋白为靶点, 合成了一系列 *N*-杂鬼臼毒素 (azapodo- phyllotoxin) 类似物, 其中化合物 **1-2** 对 MCF-7 和 22Rv1 细胞的 IC₅₀ 分别为 7.250 μM 和 4.002 μM, 接近阳性对照物依托泊苷。



N-杂鬼臼毒素

1-2

Guan 等^[57]合成了一系列鬼臼毒素类似物, 其中化合物 **1-3a**、**1-3b** 和 **1-3c** 的活性数据列入表 1.2 中。化合物 **1-3a**、**1-3b** 对 HeLa 细胞的抑制活性与阳性对照物相当, 对 A549、HCT-8 和 HepG2 细胞的抑制活性均优于 3 种阳性对照物 DDPT、5-FU 和 VP16; 化合物 **1-3c** 对 4 种供试细胞的抑制活性均优于 3 种阳性对照物。进一步实验表明, 该类化合物能抑制癌细胞转移, 诱导癌细胞凋亡, 阻滞细胞有丝分裂在 S 期和 G2/M 期。

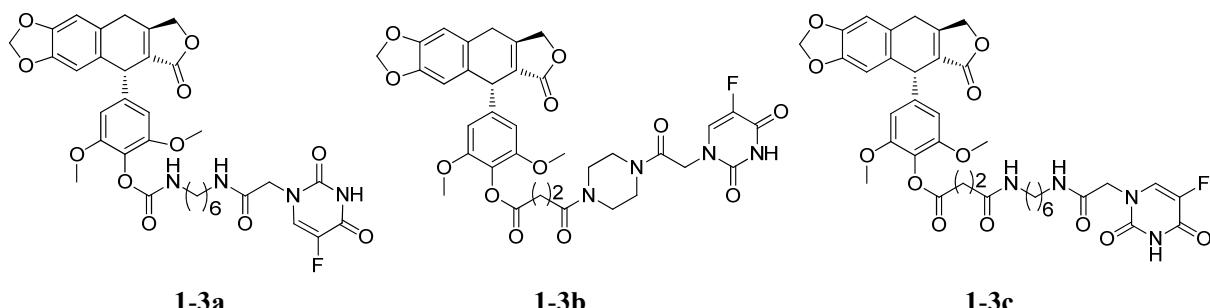


表 1.2 化合物 1-3 的抗肿瘤活性

化合物	IC ₅₀ (μM)			
	HeLa	A549	HCT-8	HepG2
1-3a	13.25 ± 1.13	0.14 ± 0.05	2.04 ± 0.53	7.68 ± 0.53
1-3b	14.98 ± 0.97	1.35 ± 0.52	9.01 ± 1.47	11.52 ± 1.13
1-3c	4.03 ± 0.35	0.27 ± 0.11	1.01 ± 0.13	0.45 ± 0.13

Rosenthal 等^[58]设计合成了一系列以 Clk 和 Dyrk 为靶点的抗癌化合物。其中, 多个化合物对 2 种激酶的 IC₅₀ 达到 nM 级别。活性最好的 5 个化合物 IC₅₀ 列入表 1.3 中。

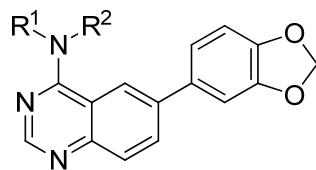
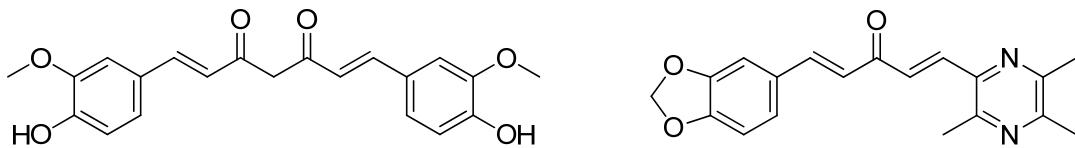
**1-4a~1-4e**

表 1.3 化合物 1-4 对 Clk 和 Dyrk 的抑制活性

化合物	R ¹	R ²	IC ₅₀ (nM)		
			Clk1	Clk4	Dyrk1A
1-4a	H		59	39	62
1-4b	CH ₃		11	12	31
1-4c	C ₂ H ₅		14	14	38
1-4d	H		69	35	35
1-4e	CH ₃		20	11	14

Ai 等^[59]将姜黄色素和川芎嗪分子杂交, 得到一系列硫氧还蛋白还原酶 (TrxR) 抑制剂, 其中化合物 **1-5** 对 A549 和 A549/DDP (顺铂耐药细胞) 的 IC₅₀ 分别为 4.50 ± 0.54

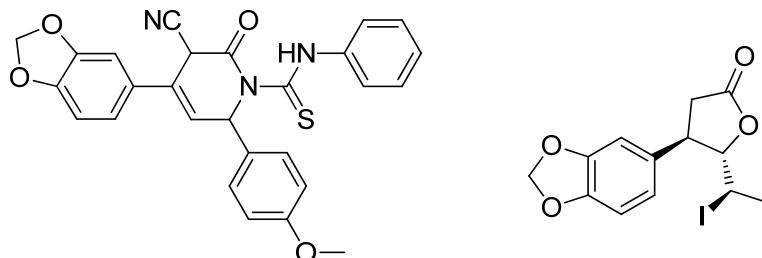
μM 和 $5.20 \pm 0.97 \mu\text{M}$, 均低于阳性对照物顺铂。



姜黄色素

1-5

Faidallah 等^[60]报道了一系列含胡椒环的吡啶类化合物, 其中化合物 1-6 对 3 种供试细胞 HT29、HepG2 和 MCF-7 的半数致死浓度 LC_{50} 分别为 $8.4 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $7.2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $9.7 \mu\text{g}/\text{mL}$, 前者优于阳性对照物阿霉素, 后两者与阳性对照物接近。



1-6

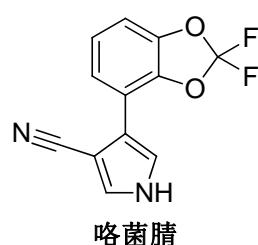
1-7

Gładkowski 等^[61]基于胡椒醛合成了一类含碘原子的手性内酯化合物, 其中化合物 1-7 对 3 种癌细胞 Jurkat、GL-1 和 CLBL-1 的 IC_{50} 分别为 5.29 ± 0.31 、 5.08 ± 0.41 和 $9.10 \pm 0.96 \mu\text{g}/\text{mL}$, 均优于阳性对照物卡铂。

1.2 胡椒环类化合物在杀菌药物中的应用

随着人口的持续增长, 人类对粮食的需求也越来越大。病虫害, 是影响粮食产量的主要因素^[62, 63]。据统计, 全球每年因病虫害损失粮食近 10 亿吨, 减产幅度达 20%~30%, 其中由病害造成水稻、小麦和玉米等主要粮食作物减产近 10%, 马铃薯甚至减产 20%以上。杀菌剂能很好的抑制各类植物病原体, 在保障全球粮食产量方面扮演着举足轻重的角色。

咯菌腈 (Fludioxonil) 属于苯吡咯类杀菌剂^[64], 用于种子处理, 可防治种子带菌及土壤传播的真菌病害。用于小麦、大麦、玉米、豌豆、油菜、水稻、蔬菜、葡萄、草坪、观赏作物叶面处理, 防治雪腐镰孢菌、小麦网腥黑腐菌、立枯病菌等, 对灰霉病有特效。其作用机理是通过抑制葡萄糖磷酰化有关的转移, 并抑制真菌菌丝体的生长, 最终导致病菌死亡。由于其作用机理独特, 因而与现有杀菌剂并无交互抗性。国际上杀菌剂抗性行动小组 FRAC 认为咯菌腈的作用机理是影响渗透压调节信号相关的组氨酸激酶的活性^[65]。



咯菌腈

徐玉芳等^[66]申请的中国专利公开了一系列基于胡椒环的小分子化合物，并测试了其在 100 mg/L 浓度下对水稻纹枯病、番茄细菌性斑点病、黄瓜枯萎病和番茄晚疫病的防治效果。优选化合物的活性数据列入表 1.4 中，其中化合物 **1-8a**、**1-8b** 和 **1-8d** 对番茄细菌性斑点病的防效超过阳性对照物叶枯唑（防效 68.55%），化合物 **1-8a**、**1-8c** 和 **1-8d** 对黄瓜枯萎病的防效超过阳性对照物甲基硫菌灵（防效 76.92%），**1-8a**、**1-8b** 和 **1-8c** 对番茄晚疫病的防治效果接近阳性对照物烯酰吗啉（防效 76.39）。

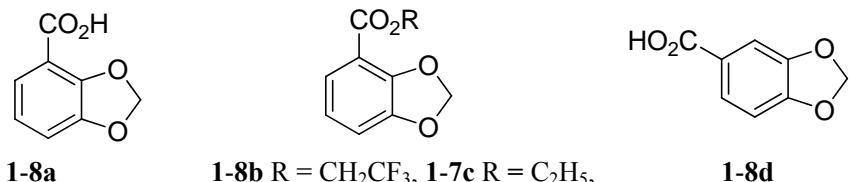
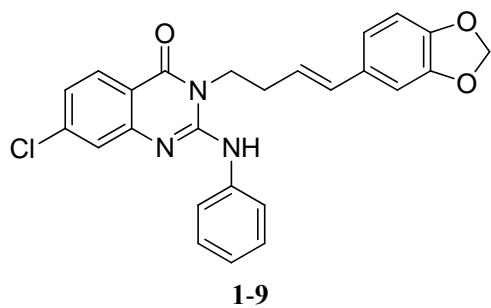


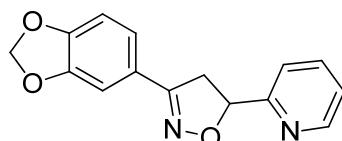
表 1-4 化合物 1-8 的抗菌活性

化合物	防效(%)		
	番茄细菌性斑点病	黄瓜枯萎病	番茄晚疫病
1-8a	100	89.74	60.42
1-8b	93.85	71.79	68.75
1-8c	38.46	87.18	61.81
1-8d	100	92.31	36.11

曾志刚等^[67]报道一系列喹唑啉酮席夫碱化合物，并测试了其在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下对棒孢菌 (*Corynespora cassiicola*)、香蕉炭疽病菌 (*Colletotrichum musae*)、芒果褐色蒂腐病菌 (*Phomopsis mangiferae*)、盘长孢状刺盘孢 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 和尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 的抑制活性，其中化合物 **1-9** 对芒果褐色蒂腐病菌的抑制率为 $53.17 \pm 0.24\%$ ，表现出一定的抑制活性。



宁国慧等^[68]报道了一类 3,5-二取代的异噁唑啉类衍生物，并测试了其在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下对黄瓜枯萎、花生褐斑、苹果轮纹、番茄早疫、小麦赤霉、马铃薯晚疫、辣椒疫霉、黄瓜灰霉、油菜菌核和水稻纹枯等多种病菌的抑制活性，其中化合物 **1-10** 对花生褐斑的抑制率为 100%，对辣椒疫霉、油菜菌核和水稻纹枯的抑制率分别为 95%、93.3% 和 95.7%，表现出良好的抗真菌活性。



1-10

刘长令等^[69]申请的中国发明专利公开了一类胡椒乙胺衍生物的制备方法及其农药活性,其中部分化合物表现出良好的抗真菌活性。在离体杀菌活性测试中,化合物 **1-11a** 和 **1-11d** 在 25 mg/L、8.3 mg/L 和 2.8 mg/L 3 个测试浓度下对稻瘟病菌的抑制率均为 100%,化合物 **1-11d** 在 0.9 mg/L 测试浓度下对稻瘟病菌的抑制率为 80%;化合物 **1-11c** 在 25 mg/L 浓度下对黄瓜霜霉病菌的抑制率为 80%。在活体保护实验中,化合物 **1-11b** 和 **1-11d** 对黄瓜霜霉病菌、玉米锈病菌和小麦白粉病菌表现出良好的防治效果(表 1.5)。

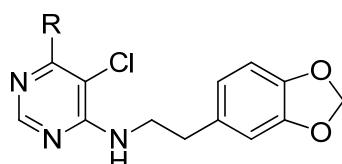
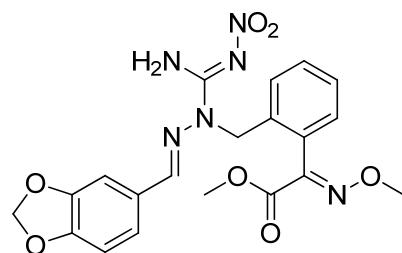
1-11[a: R = Cl, b: R = CH₃, c: R = C₂H₅, d: R = CHF₂]

表 1.5 化合物 1-11 的活体防治效果 (%)

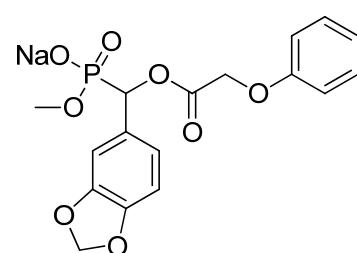
化合物	浓度 (mg/L)								
	黄瓜霜霉病菌			小麦白粉病菌			玉米锈病菌		
	100	50	25	100	25	6.25	100	25	6.25
1-11b	100	100	100	100	85	75	100	100	100
1-11d	100	100	100	100	100	100	100	98	30

覃兆海等^[70]申请的中国发明专利公开了一类含硝基缩氨基胍结构的甲氧亚胺基苯乙酸酯类化合物,并测试了其杀虫和杀菌活性。其中化合物 **1-12** 在 50 μg/mL 浓度下对黄瓜灰霉病菌的抑制率为 53.5%,略高于阳性对照物嘧菌酯的 51.1%。

王涛等^[71]报道了一类 *O*-烷基 α -(取代苯氧乙酰氧基)烃基膦酸盐及其生物活性,其中化合物 **1-13** 在 50 μg/g 的剂量下对黄瓜灰霉病菌和油菜菌核菌的抑制率分别为 99% 和 100%,显示出了良好的抑菌活性。



1-12



1-13

1.3 课题的选择与研究内容

1.3.1 课题的选择

2014 年, 抗肿瘤药物全球市场规模达 1000 亿美元, 预计到 2018 年, 抗癌药物的市场将达到 1470 亿美元, 复合增长率为 11.6%, 这意味着研发抗癌药可以获得巨大的利润。由于很多优秀的抗癌药物被国际大型制药公司垄断, 价格昂贵, 使得很多经济条件较差、尤其是发展中国家的贫困癌症患者望而却步。因此, 开发新型高效、毒副作用小的抗肿瘤药物是人类面临的一项重大课题。

为了保障粮食的质量与产量, 大量的杀菌剂被应用于作物病害的防治。2012 年, 全球农药市场销售额为 537.32 亿美元, 其中杀菌剂总销售额为 141.15 亿美元, 占农药销售总额的 26.3%。随着杀菌剂使用时间的延长, 很多病菌逐渐对其产生了耐药性, 一些杀菌剂因此而被淘汰。因此, 人类仍需不断研究和开发高效、低毒、环境友好型的新型杀菌剂, 以满足自身不断增长的粮食需求。

1.3.2 研究内容

拟对司替戊醇的合成工艺进行探讨与优化; 以 2-氨基噻唑结构为母核, 利用活性片段拼接原理, 引入高活性结构胡椒环, 拟设计合成 **E**、**G**、**H**、**J** 共 4 类抗肿瘤化合物和 1 类抗真菌化合物 **K**。合成路线如图 1.3 所示:

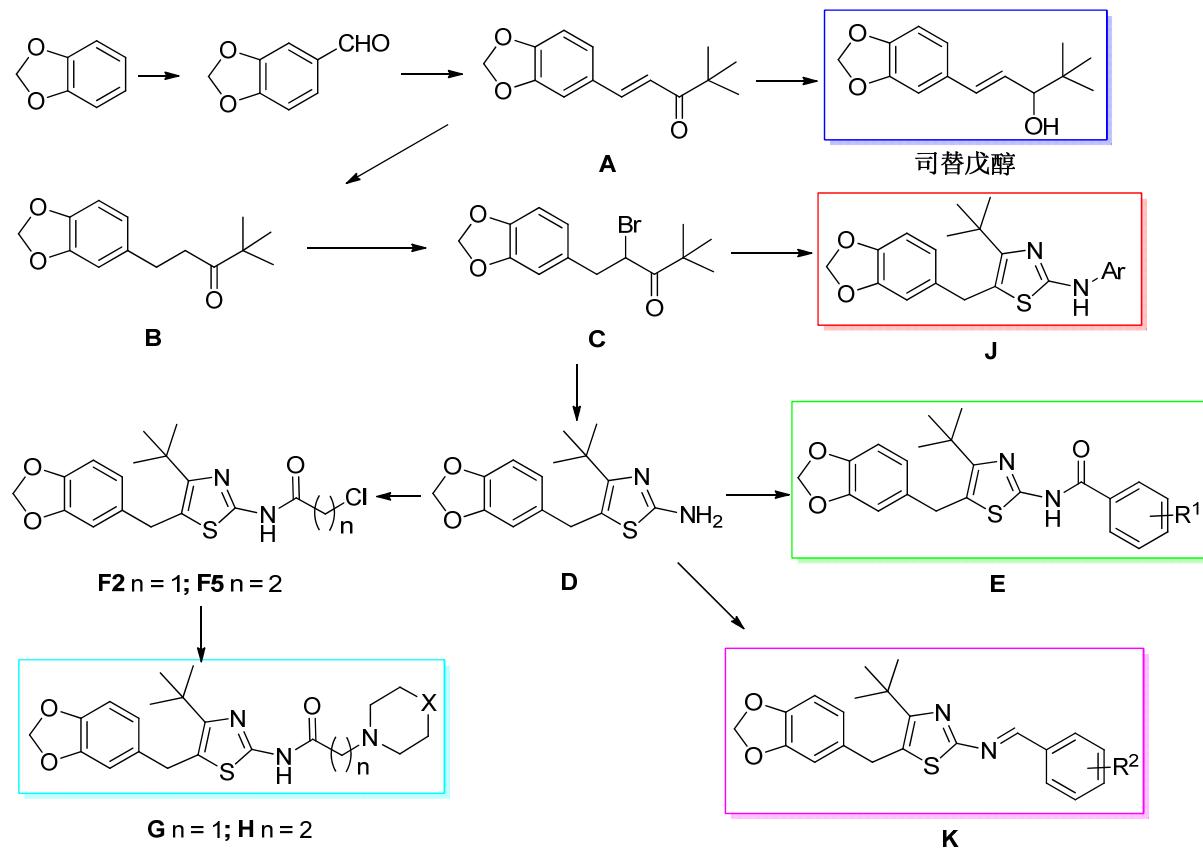


图 1.3 目标化合物的合成路线

以胡椒环为起始原料, 经过 Vilsmeier 甲酰化反应得到关键中间体胡椒醛, 再经过羟醛缩合反应得到中间体 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧基)-4-戊烯-3-酮 (**A**), 中间体 **A** 经过羰基还原得到司替戊醇, 经过碳碳双键还原, 并进一步溴代得到 2,2-二甲基-5-(3,4-亚

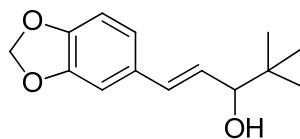
甲二氧苯基)-4-溴-3-戊酮 (**C**)、与硫脲环合得到关键中间体 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (**D**)，由中间体 **D** 经过苯甲酰化得到化合物 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)苯甲酰胺 (**E**)，经过氯乙酰化和氯丙酰化分别得到中间体 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)氯乙酰胺 (**F2**) 和 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氯丙酰胺 (**F5**)，再分别与二级胺反应得到化合物 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氨基乙酰胺 (**G**) 和 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氨基丙酰胺 (**H**)，中间体 **C** 与芳氨基噻唑反应得到 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑 (**J**)，中间体 **D** 与苯甲醛反应得到 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑 (**K**)。

对于目标化合物 **E**、**G**、**H** 和 **J**，拟采用 MTT 法，测试其对 3 种肿瘤细胞 HeLa、A549 和 MCF-7 的体外抑制活性，并利用细胞染色、流式细胞凋亡及周期分析等技术，对化合物的抗肿瘤机理进行了初步探讨；测试了化合物 **K** 的离体和活体抗菌活性。

第2章 司替戊醇的合成工艺

2.1 引言

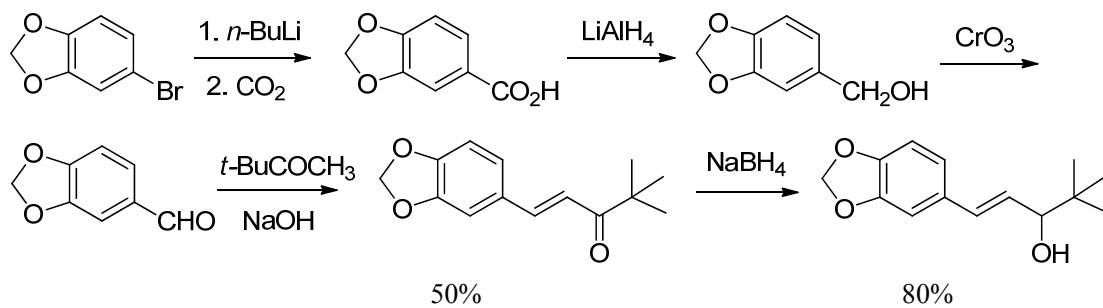
司替戊醇 (Stiripentol), 学名 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊醇, 是 2007 年上市的抗癫痫药物^[72]。司替戊醇是一种细胞色素 P450 的抑制剂, 可以抑制突触小体对甘氨酸和 γ 氨基丁酸的吸收^[73]。法国研究者报道, 在丙戊酸钠和氯巴占的基础上加用司替戊醇, 可以有效治疗严重肌阵挛性癫痫^[74]。但是也有学者对其作用机理提出质疑, 美国华盛顿大学的 Edwin Trevathan 博士认为, 这种联合用药难以确认是司替戊醇降低了患者的癫痫发作频率, 因为司替戊醇的作用机理是增加了其他药物 (如丙戊酸钠) 的血液浓度^[75]。



司替戊醇

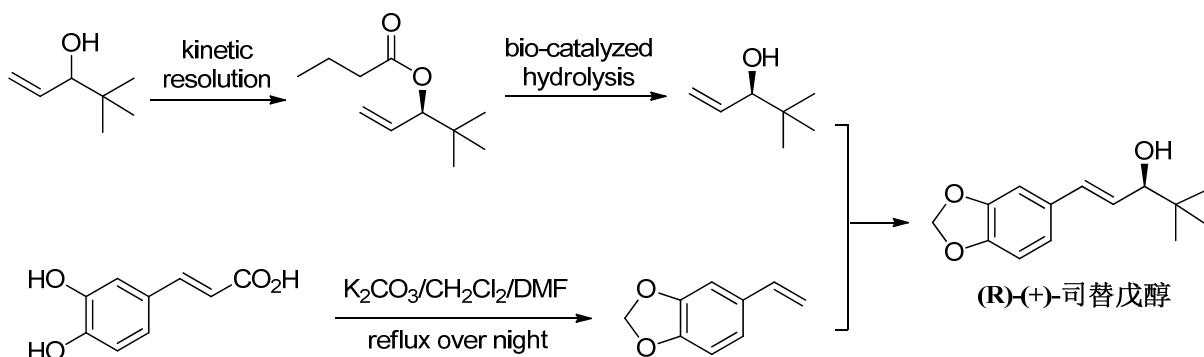
司替戊醇分子结构简单, 合成过程相对简单。目前, 合成司替戊醇最常用的方法是以胡椒醛为原料 (或中间体), 经过与频那酮在碱性条件下发生缩合反应得到 α , β -不饱和酮, 最后选择性还原羰基, 得到司替戊醇。

1992 年, Lepage 等^[76]报道了一种以溴代胡椒环为起始原料的合成方法。该方法中, 第一步反应是整个合成工艺路线中的关键步骤。反应中用到的危险品正丁基锂极易燃烧, -40°C 的超低反应温度对设备要求高, 这两个制约因素使其不能实现工业化生产。后 2 步反应的收率分别为 50% 和 80%。



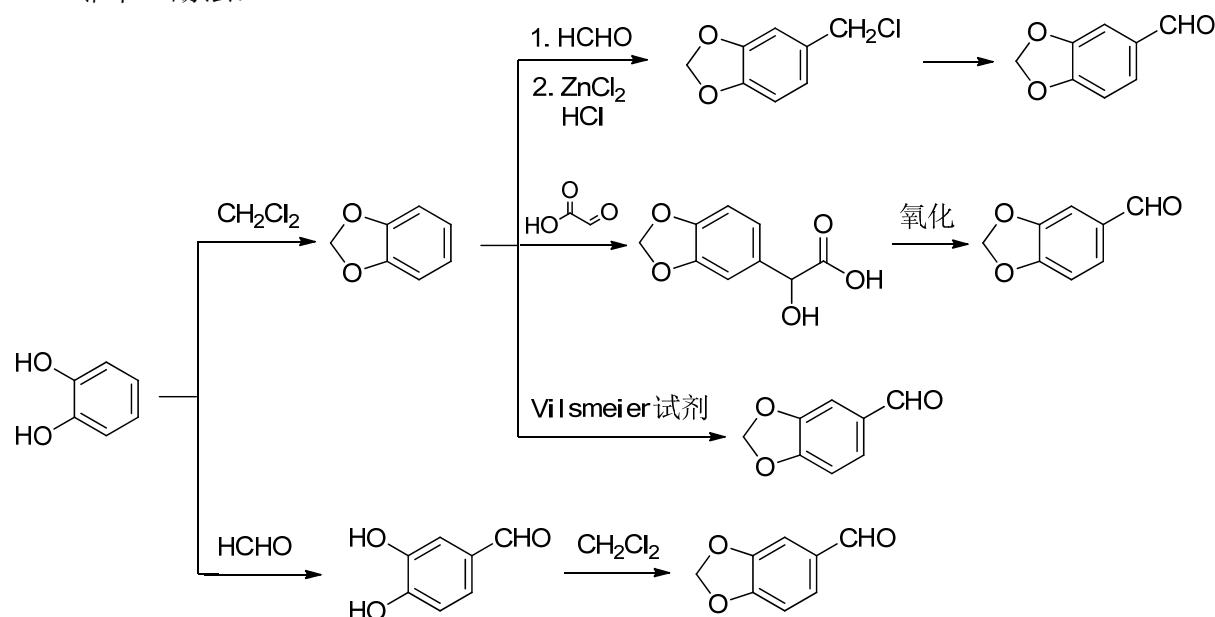
2011 年, 杜玉民等^[77]公开了一种司替戊醇的制备方法, 其特征在于在缩合反应中添加了冠醚、聚乙二醇和季铵盐等相转移催化剂, 当选择芳基三丁基氯化铵为相转移催化剂时, 最高收率为 92.1%。还原反应以乙醇为溶剂, NaBH_4 作为还原剂, 还原剂与原料摩尔比为 1:1, 采用分批加入的方式, 最终产物经乙醇重结晶得到, 收率为 93.7%。2012 年, Jacobsen 等^[78]报道了一种类似的方法, 在最后一步反应中, 以甲醇为溶剂, 分批加入 3 摩尔当量 NaBH_4 , 在室温下过夜反应, 收率为 79%。

司替戊醇分子中存在一个手性中心, 尽管上市的司替戊醇为外消旋体, 但不同构型之间的药代动力学与药效存在显著差异。2013 年, El-Behairy 等^[79]通过烯烃复分解反应得到单一构型的(*R*)-(+)司替戊醇, 收率为 15%, ee > 99%。



从研究者们报道的合成路线可以看出，合成司替戊醇的首选路线是胡椒醛法。胡椒醛又叫洋茉莉醛，存在于紫曼兰花、刺槐花、香桂树叶以及黄樟树等植物中，但是含量较少且过于分散，人工合成为其主要来源^[80]。目前，胡椒醛的生成方法主要有邻苯二酚法和黄樟油素异构氧化法等^[81]。其中，邻苯二酚法又衍生出多条不同的合成路线，而黄樟油素异构氧化法的研究重点集中在氧化剂的选择上。

邻苯二酚法：

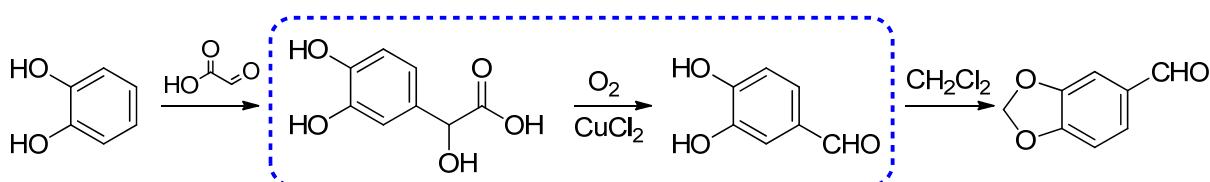


黄樟油素异构氧化法：

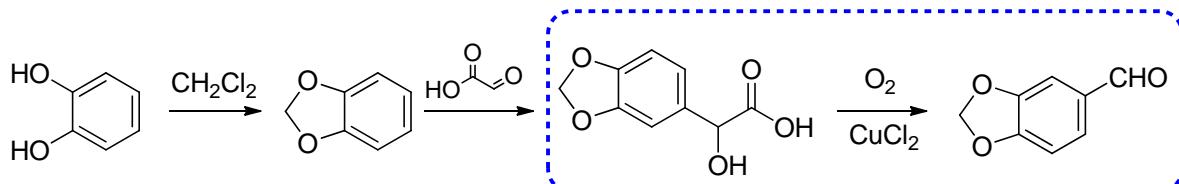


2000 年，来自意大利的 Bjørsvik 等^[82]以统计学模型和多元变量学模型 2 种试验方法，对从邻苯二酚出发合成胡椒醛的工艺进行了深入探讨。通过对路线 1 和路线 2 的比较，发现路线 2 的产率更高（90%以上），其中的关键在于氧化反应，3,4-二羟基苯基乙醇酸在发生氧化反应时由于羟基的存在容易发生副反应，而 3,4-亚甲二氧基乙醇酸发生氧化反应的选择性更高。

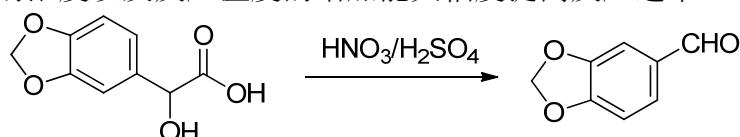
路线 1：



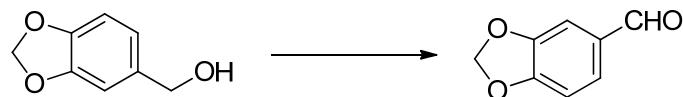
路线 2：



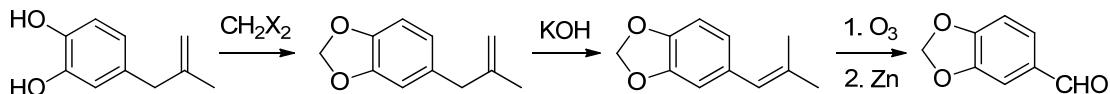
2009 年，Xi 等^[83]对稀硝酸与稀硫酸氧化 3,4-亚甲二氧苯基乙醇酸为胡椒醛的反应动力学进行了研究，发现该反应从亚硝酸钠开始，以硫酸为催化剂，在一定范围内，硝酸的浓度、原料的浓度以及反应温度的增加能大幅度提高反应速率。



2010 年 Lin^[84]等报道了一种采用邻碘酰基苯甲酸 (IBX) 在酸性条件下氧化胡椒醇而得到胡椒醛的方法，在 IBX 和乙酸用量均为 1.2 当量时，反应 2 h，收率可达 97%。2014 年，Bellardita 等^[85]发现了一种合成胡椒醛的绿色方法，在 TiO₂ 的悬浮液中，用光催化氧化胡椒醇而得到胡椒醛。该方法虽然绿色无污染，但是产率不高 (20%)。



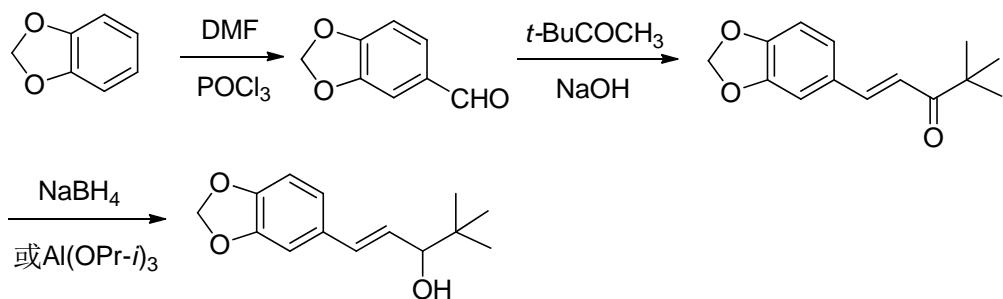
罗先福^[86]以呋喃酚生产工艺中的副产物 4-(2-甲基丙基)-1,2-苯二酚为原料，经过二卤代甲烷法，得到化合物 2-胡椒基丙烯，在碱性条件下发生异构化得到 2-甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)丙烯，最后臭氧化得到胡椒醛，最后一步反应收率为 73.8%。



对各种合成方法进行总结发现，合成工艺的最后一步，即酮的还原，研究者们选择的还原剂基本都是 NaBH₄，而还原剂用量、反应时间与收率等各不相同。事实上， α ， β -不饱和醛或酮的还原方法主要有 3 种：第 1 种方法是以金属氢化物（如四氢铝锂和硼氢化钠等），该方法成本高，催化剂不能重复利用；第 2 种方法是利用活泼金属（如钠、镁、铝等）还原，该方法有可能发生双分子还原，形成邻二醇，且活泼金属不易保存；第 3 种为醇铝法（如异丙醇铝），该方法为 Meerwein-Ponndorf 反应，可以选择性还原羰基为醇，反应条件温和，还原剂廉价易得，且可循环使用，具备工业化生产前景^[87]。

本章以胡椒环为起始原料，采用 Vilsmeier 甲酰化法合成胡椒醛，并对其合成条件进行优化。胡椒醛与频那酮经过缩合反应得到中间体 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-

烯-3-戊酮，最后采用 Meerwein-Ponndorf 反应选择性把中间体 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮还原为司替戊醇。



2.2 实验部分

2.2.1 仪器与试剂

主要实验仪器如表 2.1 所示，主要试剂与原料如表 2.2 所示：

表 2.1 主要实验仪器

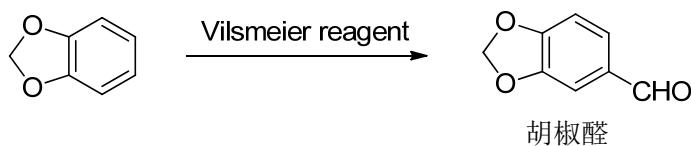
仪器设备	生产厂家	备注
DF-101Z 恒温加热磁力搅拌器	郑州长城科工贸有限公司	
ZF-2 型三用紫外显色仪	上海市安亭电子仪器厂	
SHB-III 型循环水式多用真空泵	郑州长城科工贸有限公司	
101 型电热鼓风干燥箱	上海精宏实验设备有限公司	
RY-1 熔点测定仪	天津市天分仪器厂	未校正
R1002 型旋转蒸发仪	郑州长城科工贸有限公司	
电子天平	上海台衡仪器仪表有限公司	
INOVA 400NB NMR 核磁共振仪	美国 Varian 公司	TMS 为内标

表 2.2 主要试剂与原料

试剂与原料	规格	生产厂家
胡椒环	工业品	湖南化工研究院
三氯氧磷	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
氯化亚砜	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
<i>N</i> -甲基甲酰苯胺	分析纯	武汉长成试剂
DMF	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
频那酮	分析纯	湖南化工研究院
异丙醇铝	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
异丙醇	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
硼氢化钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
氢氧化钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

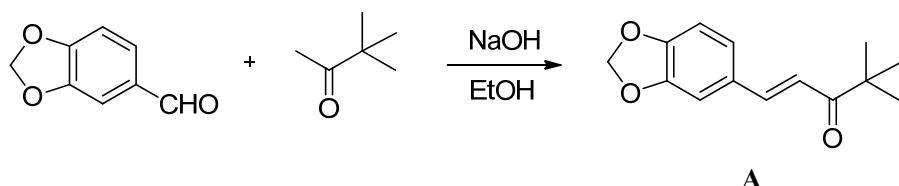
注：其他常用溶剂均为市售分析纯

2.2.2 胡椒醛的合成



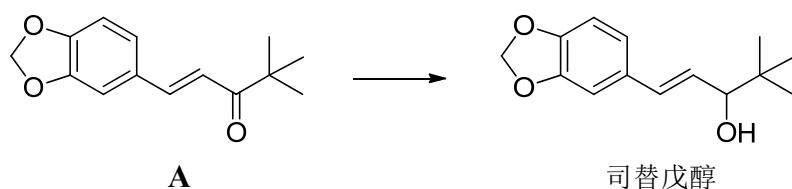
12.00 g (0.164 mol) DMF, 冰浴, 搅拌下, 缓慢滴加 25.10 g (0.164 mol) POCl_3 , 滴毕继续搅拌 15 min, 滴加 10.00 g (0.082 mol) 胡椒醛, 滴完后缓慢升温至 85 °C 反应 24 h, 冷至室温, 倾入 200 mL 冰水中, 搅拌, 乙酸乙酯萃取 3 次, 饱和食盐水洗涤有机层 2 次, 收集有机层, 无水 Na_2SO_4 干燥, 旋干溶剂, 柱层析 ($V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 20 : 1$), 回收原料胡椒环, 得到目标化合物胡椒醛 6.30 g, 收率 51 %, 白色固体, m.p. 37~39 °C [文献值^[88]: m.p. 35~37 °C]。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.08 (s, 2H, CH_2), 6.94 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.34 (d, $J_2 = 1.6$ Hz, 1H, C_6H_3 2-H), 7.41 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 9.82 (s, 1H, CHO)。

2.2.3 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮 (A) 的合成



2.14 g (14.3 mmol) 胡椒醛和 10 mL 无水乙醇, 冰浴下加入 0.30 g (7.5 mmol) NaOH 固体, 完全溶解后, 缓慢滴加 2.00 g (20 mmol) 频那酮, 升温至 40 °C 反应 6 h; 旋蒸掉部分溶剂, 放入冰箱冷冻, 析出黄色固体, 抽滤, 滤饼用 95% 乙醇洗涤, 收集滤饼, 干燥得到黄色固体 2.90 g, 收率 92%, m.p. 95.5~97.5 °C [文献值^[18]: m.p. 93.7~95.1 °C], ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.22 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 6.01 (s, 2H, CH_2), 6.82 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 6.96 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, COCH), 7.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 7.09 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 7.60 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, CH)。

2.2.4 司替戊醇的合成



(1) 硼氢化钠还原法

7.56 g (0.2 mol) NaBH_4 、23.23 g (0.1 mol) 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-戊烯-3-酮和 200 mL 乙醇, 室温搅拌 12 h。加入 80 mL 饱和氯化铵溶液, 用乙酸乙酯萃取, 旋蒸回收乙酸乙酯; 用乙醇结晶得到司替戊醇白色固体, 收率 75%。m.p. 73~74 °C。[文献值^[89]: m.p. 74.7~75.5 °C]; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.96 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 1.56 (s, 1H, OH), 3.90 (dd, $J = 7.6, 3.6$ Hz, 1H, OCH), 6.12 (dd, $J = 16, 7.6$ Hz, CH),

6.48 (d, $J = 16$ Hz, 1H, PhCH), 6.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.82 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.94 (s, 1H, C₆H₃ 2-H)。

(2) Meerwein-Ponndorf-Verley 还原法

23.23 g (0.10 mol) 化合物 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮 (**A**)、10.21 g (0.05 mol) 异丙醇铝和 100 mL 异丙醇, 搅拌回流 5 h, 用稀盐酸酸化, 水洗至中性, 减压蒸馏回收有机溶剂, 残渣用乙醇重结晶, 得到白色固体 22.26 g, 收率 95.0%。

2.3 结果与讨论

2.3.1 Vilsmeier-Hack 反应

Vilsmeier-Hack 反应是有机化学反应中应用极为广泛的一个反应, Vilsmeier 试剂是由取代酰胺与卤化试剂组成的复合试剂, 以 DMF 和 POCl₃ 的组合最为常用。常用的酰胺除了 DMF 之外, 还有 MFA (*N*-甲基甲酰苯胺), 常用的卤化物有 POCl₃、SOCl₂、PCl₅、PCl₃ 或酸酐、金属卤化物等。采用 Vilsmeier 法对胡椒环进行甲酰化反应。首先, 在常用 Vilsmeier-Hack 反应条件, 即投料比为 n(胡椒环) : n(酰胺) : n(卤化物) = 1:1:1, 温度为 85 °C, 反应时间为 24 h 条件下, 考察了不同 Vilsmeier 试剂 (VR) 对反应的影响, 反应结果列入表 2.3 中。

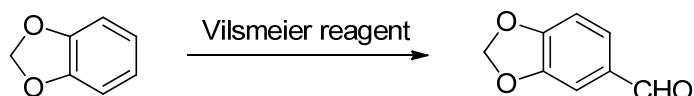


表 2.3 不同 VR 对反应的影响

编号	VR	TLC 观测情况	收率/%
1	DMF/POCl ₃	一个杂点	38
2	MFA/POCl ₃	一个杂点	46
3	DMF/SOCl ₂	很多杂点	—

从表 2.1 可以看出, 在 3 组反应中, Vilsmeier 试剂采用 MFA/POCl₃ 时, 反应收率最高, 为 46.1%, Vilsmeier 试剂为 DMF/POCl₃ 时, 收率为 37.5%, 而选择 DMF/SOCl₂ 为 Vilsmeier 试剂时, 反应过程中出现很多杂点, 且产物点很淡, 最终没有得到目标产物。考虑到 MFA 的价格比 DMF 高很多, 而收率优势并不明显, 因此选择 DMF/POCl₃ 作为 Vilsmeier 试剂, 对反应条件作进一步优化。

利用单因素优化试验, 考察投料比、反应温度以及反应时间对反应收率的影响, 试验结果列入表 2.4、2.5 和 2.6 中。

表 2.4 投料比对反应的影响

编号	n(胡椒环) : n(DMF) : n(POCl ₃)	收率/%
1	1:1:1	38
2	1:2:2	51

3	1:3:3	51
4	1:4:4	47

从表 2.4 可以看出, 投料比从 1:1:1 上升到 1:2:2 之后, 反应收率有明显提升, 而进一步增加 DMF 与 POCl_3 的比例, 产率反而有所下降, 可能是由于过量的 DMF 和 POCl_3 增加了后处理的难度, 造成了收率的损失。因此, 该反应的最佳投料比为 $n(\text{胡椒环}) : n(\text{DMF}) : n(\text{POCl}_3) = 1:2:2$ 。

表 2.5 温度对反应的影响

编号	反应温度/°C	TLC 观测情况	收率/%
1	75	一个杂点	31
2	80	一个杂点	43
3	85	一个杂点	51
4	90	出现多个杂点	44

从表 2.5 可以看出, 在 75~80°C, 反应较慢, 还有较多原料没反应完; 85°C 时, 还剩少量原料没有反应完; 而当反应温度上升到 90°C, 反应过程中开始出现副产物, 收率反而下降。因此, 85°C 为最佳反应温度。

表 2.6 反应时间对反应的影响

编号	反应时间/h	收率/%
1	16	34
2	20	38
3	24	51
4	28	46

从表 2.6 可以看出, 当反应时间为 24 h 时, 收率最高, 继续延长反应时间, 出现副反应, 收率反而下降。根据以上试验结果, 得出该反应的最佳条件为: 以 DMF/ POCl_3 为 Vilsmeier 试剂、投料比为 $n(\text{胡椒环}) : n(\text{DMF}) : n(\text{POCl}_3) = 1:2:2$ 、反应温度为 85°C、反应时间为 24 h。

2.3.2 Aldol 缩合反应

具有 α -H 的醛或酮, 在碱催化下生成碳负离子, 然后碳负离子作为亲核试剂对醛或酮进行亲核加成, 生成 β -羟基醛, β -羟基醛受热脱水生成 α - β 不饱和醛或酮。这个反应叫做 Aldol 缩合反应 (醇醛缩合)。

针对底物的特征, 考察了不同加料顺序对反应的影响。

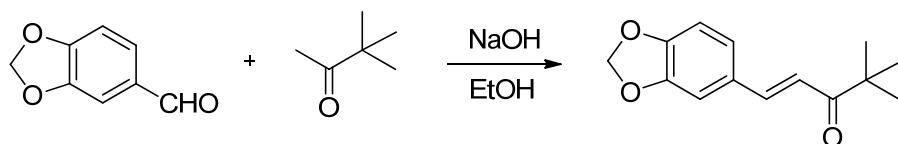


表 2.7 不同加料顺序对反应的影响

编号	加料顺序	反应时间/h	收率/%
1	胡椒醛→NaOH→频那酮	2	92
2	频那酮→NaOH→胡椒醛	4	84

从表 2.7 可以看出, 加料顺序对反应有显著影响, 若先加频那酮, 最后加胡椒醛, 因为频那酮羰基 α 位碳原子上有氢原子, 在碱性条件下可以形成碳负离子而发生自身分子间的缩合反应, 与胡椒醛形成竞争, 延长了反应时间, 导致反应收率降低。

2.3.3 还原反应

将羰基还原为羟基的方法有很多, 如金属氢化物 (NaBH_4 和 LiAlH_4) 还原法、金属 (Na 、 Al 、 Mg 等) 还原法以及金属有机化合物 (如异丙醇铝) 催化还原法等。选用 NaBH_4 和异丙醇铝将 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮 (A) 还原为司替戊醇, 反应结果列入表 2.8 中。

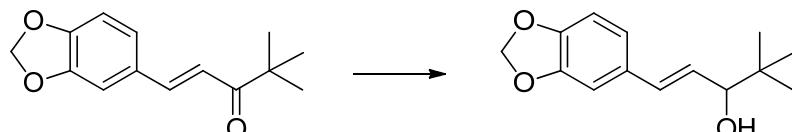


表 2.8 两种还原方法对比

编号	还原剂	溶剂及用量	反应温度/℃	反应时间/h	收率/%
1	硼氢化钠	乙醇 200 mL	室温	12	75
2	异丙醇铝	异丙醇 100 mL	回流	5	95

通过对两种还原方法的对比, 可以发现, 异丙醇铝还原法反应时间更短, 收率更高。在异丙醇铝法还原反应中, 异丙醇的羟基与 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮 (A) 的羰基进行了互换, 生成的丙酮被蒸出来, 使反应朝正反应方向进行, 而异丙醇铝在整个催化过程中处于一个循环状态。

2.4 本章小结

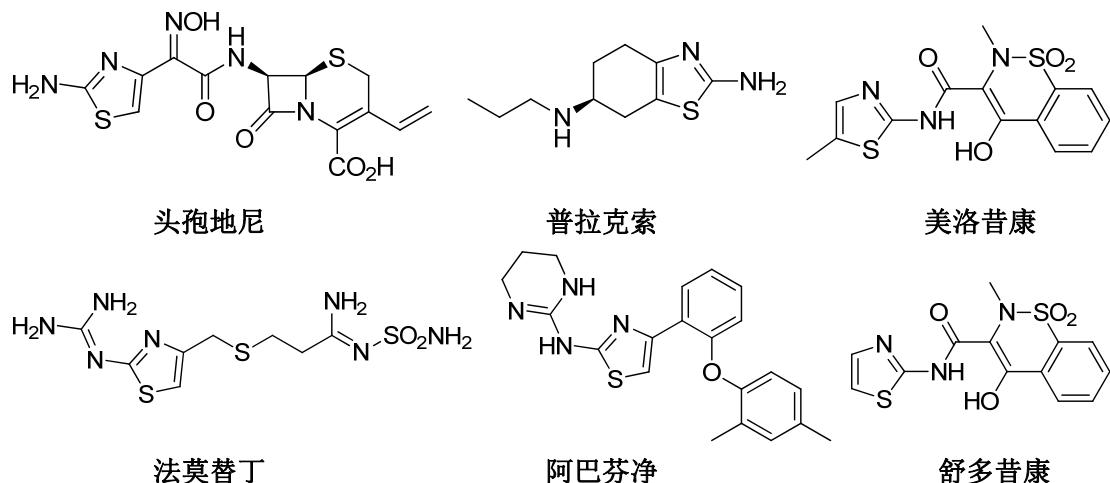
采用 Vilsmeier 反应, 通过单因素试验优化法, 对司替戊醇合成工艺中的关键中间体胡椒醛的合成工艺进行了探讨。得出最佳反应条件为 $n(\text{胡椒环}) : n(\text{DMF}) : n(\text{POCl}_3) = 1:2:2$ 、反应温度为 85°C 、反应时间为 24 h。

利用 Meerwein-Ponndorf 还原法, 选择异丙醇铝/异丙醇体系, 将 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮选择性还原为司替戊醇。条件温和, 收率高 (95%), 异丙醇铝可循环使用, 节约成本, 具有工业化生产前景。

第3章 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)酰胺的合成与抗肿瘤活性

3.1 引言

2-氨基噻唑是一个重要的化学骨架，广泛存在于各个领域的药物分子结构中。一些含有 2-氨基噻唑结构的药物已经成功上市，例如第三代广谱头孢类抗生素头孢地尼（Cefdinir）^[90]、多巴胺 D2 受体拮抗剂普拉克索（Pramipexole）^[91]、非甾体抗炎药美洛昔康（Meloxicam）^[92]和舒多昔康（Sudoxicam）^[93]、治疗胃及十二指肠溃疡的组胺 H2 受体拮抗剂法莫替丁（Famotidine）^[94]和治疗真菌性皮肤病的阿巴芬净（Abafungin）^[95]等^[96]。

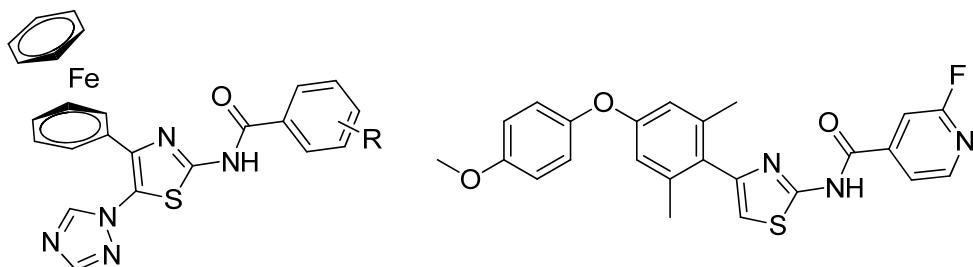


2-氨基噻唑的氨基具有很强的反应活性，是对其进行结构修饰与改造的主要切入点。近年来，研究者们对2-氨基噻唑母核进行了深入的探讨，发现了一大批具有优秀生物活性的新型分子结构。其中，对噻唑环上2-位氨基进行芳甲酰化，得到的芳甲酰胺类化合物具有良好的抗肿瘤活性。

Shao 等^[97]报道了一系列 *N*-[4-二茂铁基-5-(1,3,4-三唑-1-基)]苯甲酰胺类化合物, 其中化合物 **3-1a** 对在 10 μ M 浓度下对 3 种供试细胞 HL-60 (白血病细胞)、BGC-823 (胃癌细胞) 和 Hep-2 (喉癌细胞) 具有较好的抑制活性, 其抑制率分别为 81.40%、63.41% 和 53.11%; 化合物 **3-1b** 在 10 μ M 浓度下对白血病细胞 HL-60 的抑制率为 62.00%。

Lee 等^[98]报道了一系列 4-芳基-*N*-芳甲酰基噻唑类化合物，作为 Hec1/Nek2 抑制剂。其中化合物 **3-2** 表现出了很好的体外抑制活性，对 4 种供试细胞 HeLa、K562、MB468 和 MB231 的 IC_{50} 分别为 0.0427 μ M、0.0163 μ M、0.0400 μ M 和 0.0200 μ M。在 SD 大鼠中具有高静脉 AUC (area under curve, 血药浓度—时间曲线下的面积) (64.9 μ M h, 2.0 mg/kg)，同时，对进行了人类乳腺癌细胞 MDA-MB-231 异种移植的小鼠展现出了良好的体内抗癌活性 (相对肿瘤增殖率 T/C = 32%，20 mg/kg, IV)。此外，该化合物对正

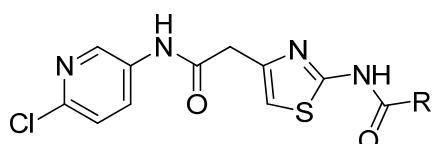
常细胞的影响很小,表明该化合物对癌细胞具有很好的选择性抑制作用,具有很好的发展前景。



3-1[a R = 3-OMe; b R = 4-OMe]

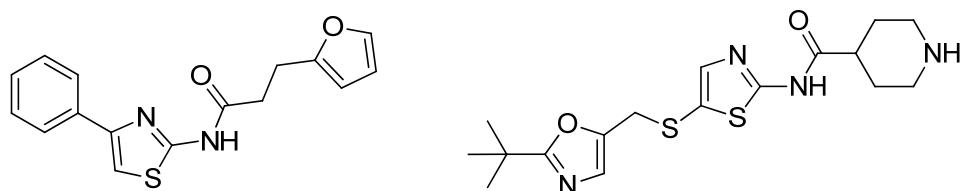
3-2

Liu 等^[99]报道了一类以血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 和磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K) 为靶点的抗癌化合物 3-3, 其中, 化合物 3-3a、3-3b 和 3-3c 对 MDA-MB-231 细胞的 IC_{50} 值分别为 $2.5 \mu\text{M}$ 、 $2.4 \mu\text{M}$ 和 $1.7 \mu\text{M}$, 均低于阳性对照物索拉菲尼 ($IC_{50} = 5.2 \mu\text{M}$) ; 化合物 3-3d 对 HepG2 细胞的 IC_{50} 值分别为 $24.7 \mu\text{M}$, 低于阳性对照物索拉菲尼的 $33.7 \mu\text{M}$ 。

3-3[a R = 2-ClC₆H₄; b R = 4-ClC₆H₄; c R = 2,4-Cl₂C₆H₃; d R = 3,4-Cl₂C₆H₃]

Li^[100]和 Kim^[101]等人研究发现, 化合物 3-4 对卵巢癌细胞 SKOV-3、人结直肠腺癌细胞 HCT15 和中枢神经系统肿瘤细胞 XF498 的 IC_{50} 值分别为 $0.0003 \mu\text{M}$ 、 $0.0038 \mu\text{M}$ 和 $0.0129 \mu\text{M}$, 低于阳性对照物阿霉素的 0.0516 、 0.0358 和 $0.0209 \mu\text{M}$ 。同时, 测试了该化合物对 TrkA (络氨酸激酶 A) 的抑制活性, 其 IC_{50} 值为 $0.013 \mu\text{M}$ 。

Misra 等^[102]发现化合物 BMS-387032(3-5)对卵巢癌细胞 A2780 的 IC_{50} 为 $0.095 \mu\text{M}$ 。药物代谢动力学实验显示, 该化合物的血浆半衰期在 $5\sim7 \text{ h}$ 之间, 与小鼠及人血浆蛋白结合律分别为 69% 和 63%。小鼠、大鼠和狗对该化合物的口服生物利用度分别为 100%、31% 和 28%。Vasiliou^[103]等研究发现该化合物对细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK2 具有选择性抑制活性, IC_{50} 值为 48 nM ; 后来进一步研究发现, 该化合物对 CDK7 和 CDK9 也具有抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 $0.062 \mu\text{M}$ 和 $0.004 \mu\text{M}$, 此外, 该化合物对 CDK6 具有相对较弱的抑制作用。目前, 该化合物已处于一期临床试验阶段, 可用于治疗晚期慢性淋巴细胞白血病和多发性骨髓瘤。

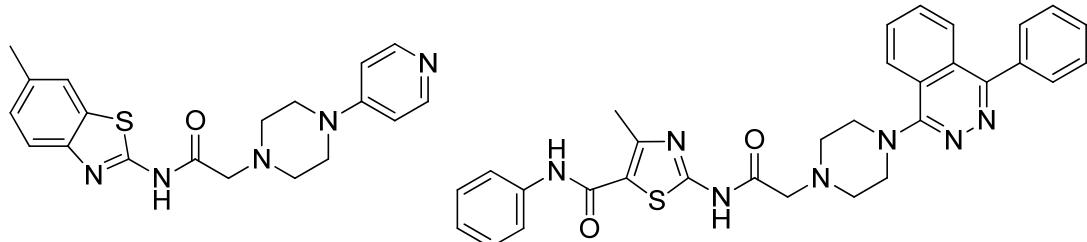


3-4

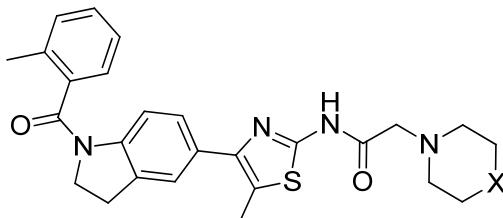
3-5

Gurdal 等^[104]报道的化合物 **3-6** 对人结肠癌细胞 HCT-116、人乳腺癌细胞 MCF-7 和人肝癌细胞 HUH-7 的 GI_{50} 分别为 $7.9 \mu\text{M}$ 、 $9.2 \mu\text{M}$ 和 $3.1 \mu\text{M}$ ，其中，对 HCT-116 和 HUH-7 的抑制活性优于阳性对照物 5-氟尿嘧啶（5-FU， GI_{50} 分别为 $30.66 \mu\text{M}$ 和 $18.67 \mu\text{M}$ ）。

Abou-Seri 等^[105]发现化合物 **3-7** 对血管内皮生长因子受体-2（VEGFR-2）激酶的 IC_{50} 为 $0.40 \pm 0.04 \mu\text{M}$ ，与阳性对照物瓦他拉尼（Vatalanib， $IC_{50} = 0.18 \pm 0.02 \mu\text{M}$ ）接近；细胞活性测试显示，该化合物对多种癌细胞的 GI_{50} 低于阳性对照物索拉菲尼（Sorafenib）。

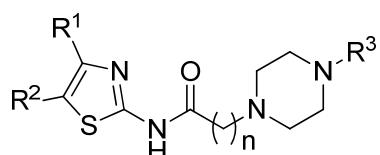
**3-6****3-7**

Biswal 等^[106]报道了一系列以核转录因子 Nrf2 为靶点的抗癌化合物，其中化合物 **3-8a** 和 **3-8c** 对人肺癌细胞 A549 和 H1437 的抑制活性评分为 B 级 ($5 \mu\text{M} < IC_{50} < 25 \mu\text{M}$)；化合物 **3-8b** 对 A549 和 H1437 细胞的抑制活性评分为 A 级 ($IC_{50} \leq 5 \mu\text{M}$)。

**3-8[a X = CH₂; b X = Nboc; c X = O]**

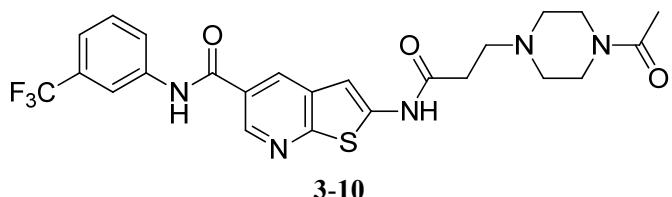
El-Messery^[107]和 Hassan^[108]等报道了一系列 2-氨基噻唑衍生物 **3-9**，并测试了其在浓度为 $10 \mu\text{M}$ 条件下对多种癌细胞的体外抑制活性。在乙酰胺衍生物（即 $n = 1$ ）中，化合物 **3-9a** 对白血病细胞 CCRF-CEM 和 SR 的抑制率分别为 75.5% 和 51.8%；化合物 **3-9b** 对白血病细胞 CCRF-CEM 的抑制率为 69.3%；化合物 **3-9c** 对结肠癌细胞 HCT-15 和肾癌细胞 UO-31 的抑制率分别为 54.6% 和 51.4%；化合物 **3-9d** 对非小细胞肺癌细胞 HOP-92 的抑制率为 60.2%；化合物 **3-9e** 对白血病细胞 K562、肾癌细胞 UO-31 和乳腺癌细胞 MDA-MB-468 的抑制率分别为 70.7%、54.6% 和 55.6%。

在丙酰胺（即 $n = 2$ ）衍生物中，化合物 **3-9f** 对白血病细胞 CCRF-CEM 的抑制率为 96.2%，化合物 **3-9g** 对肾癌细胞 UO-31 的抑制率为 54.0%，化合物 **3-9h** 对非小细胞肺癌细胞 HOP-92、对黑色素瘤细胞 SK-MEL-5、肾癌细胞 A498 和 UO-31 的抑制率分别为 59.6%、52.5%、67.5% 和 68.9%；化合物 **3-9i** 对白血病细胞 MOLT-4 的抑制率为 51.8%，对乳腺癌细胞 MDA-MB-468 的抑制率为 62.8%；化合物 **3-9j** 对结肠癌细胞 HT29 的抑制率为 80.4%，对黑色素瘤细胞 SK-MEL-5 和 UACC-62 的抑制率分别为 76.2% 和 71.6%。

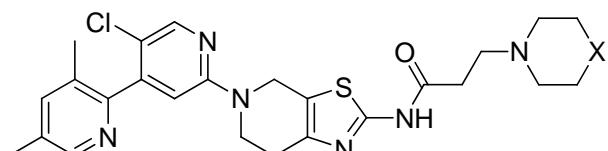


3-9 [a] n = 1, R¹ = H, R² = CH₃, R³ = CH₃; [b] n = 1, R¹ = H, R² = CH₃, R³ = C₆H₅; [c] n = 1, R¹ = C₆H₅, R² = H, R³ = C₆H₅; [d] n = 1, R¹ = 4-ClC₆H₄, R² = H, R³ = C₆H₅; [e] n = 1, R¹ = 4-BrC₆H₄, R² = H, R³ = C₆H₅; [f] n = 2, R¹ = CH₃, R² = CO₂Et, R³ = CH₃; [g] n = 2, R¹ = C₆H₅, R² = H, R³ = CH₃; [h] n = 2, R¹ = C₆H₅, R² = H, R³ = C₆H₅; [i] n = 2, R¹ = 4-ClC₆H₄, R² = H, R³ = CH₃; [j] n = 2, R¹ = 4-BrC₆H₄, R² = H, R³ = CH₃]

Choi^[109]等人研究发现化合物 **3-10** 对野生型(wild-type)致癌激酶(oncogenic kinase) Bcr-Abl 的 EC_{50} 为 5.21 μ M。

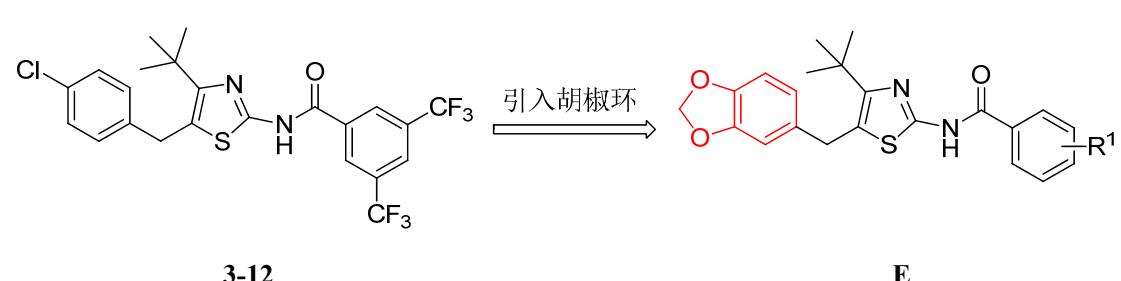


张小虎^[110]报道了一系列化合物刺猬信号通道拮抗剂 **3-11**，其中化合物 **3-11a** 和 **3-11b** 对表达 GRE-荧光素的 NIH3T3 细胞的 IC_{50} 分别为 134.3 nM 和 150.9 nM，与阳性对照物维莫德吉 (Vismodegib) 接近。

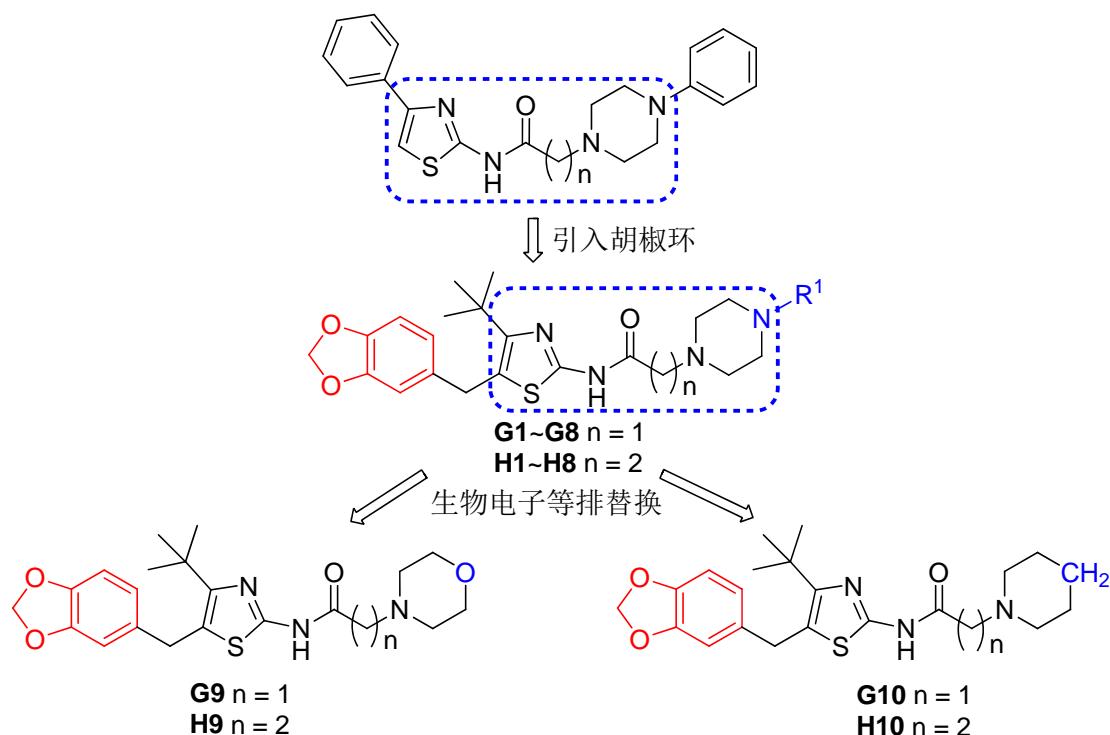


3-11[**a** X = O; **b** X = CH₂]

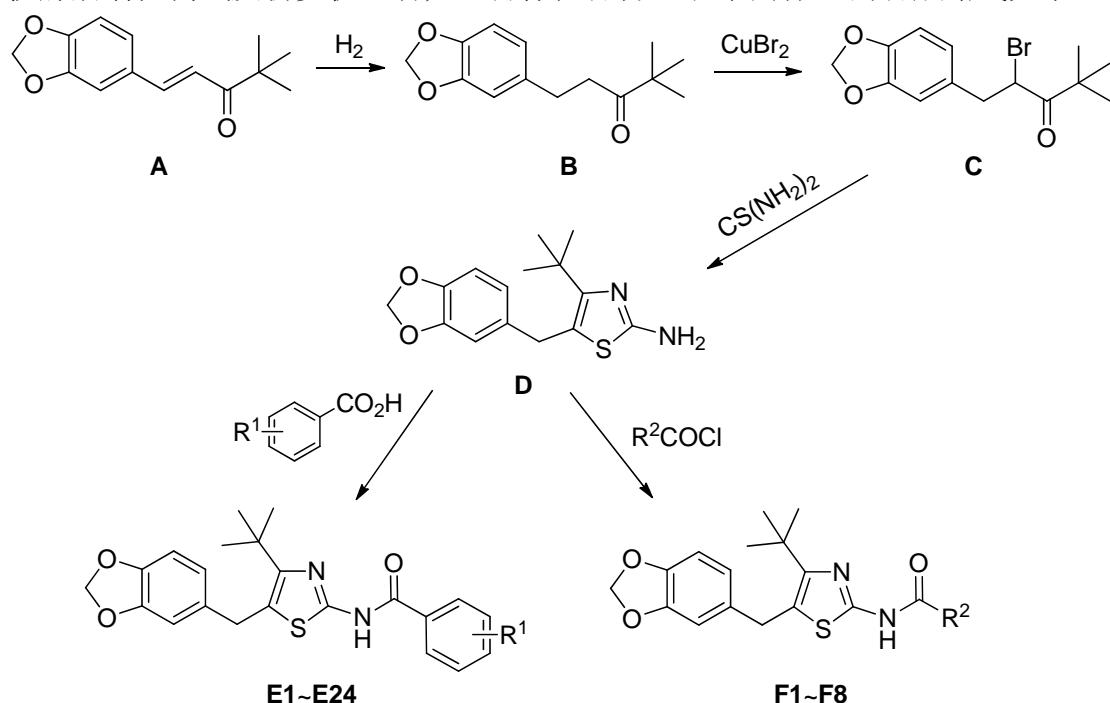
本文以化合物 **3-12** 为先导化合物, 保留噻唑酰胺活性母核, 利用生物电子等排原理, 将活性基团担架环引入到目标分子结构中, 得到一系列新化合物**E**。



以化合物 **3-9** 为先导化合物, 保留其 *N*-(噻唑-2-基)-2-(哌嗪-1-基)乙(丙)酰胺活性中心, 在其噻唑环 5-位引入活性基团胡椒基, 考察哌嗪 4-位不同取代基的影响, 得到化合物 **G1~G8**、**H1~H8**; 进一步利用生物电子等排体替代规则, 将哌嗪 4-位 NH 替换为 O 和 CH₂, 得到化合物 **G9**、**H9** 和 **G10**、**H10**, 将哌啶基开环, 并改变碳链的长度, 得到化合物 **G11~G14** 和 **H11~H14**。



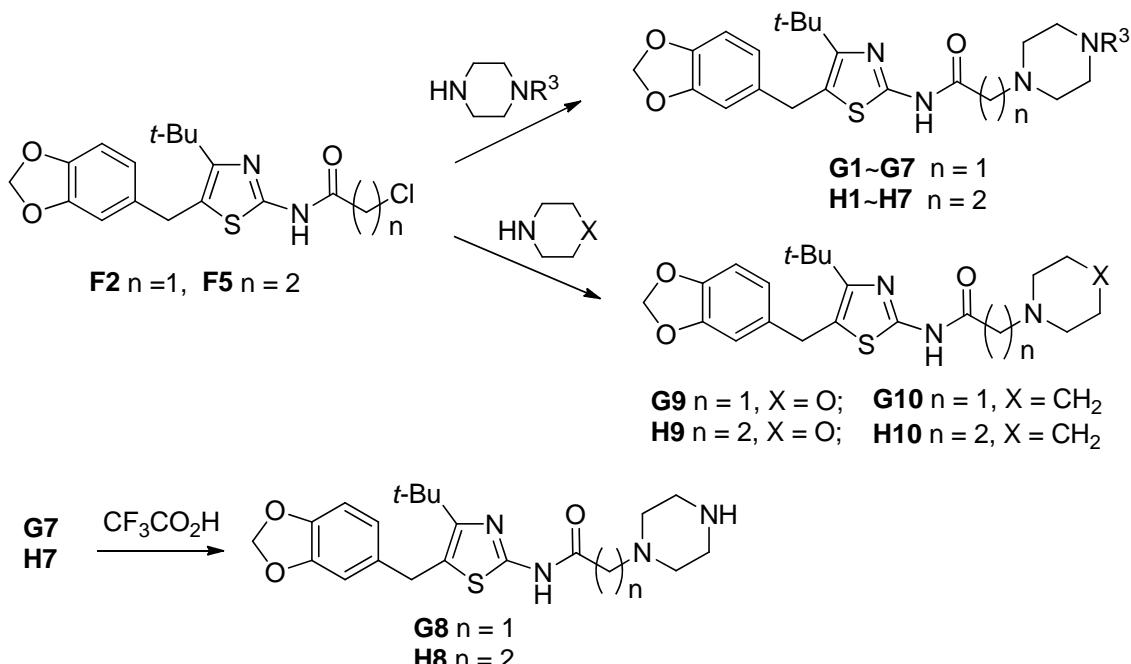
从 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-4-戊烯-3-酮 (**A**) 出发, 经过催化氢化得到 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-3-戊酮 (**B**) , 再经过 α 溴代反应得到 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-4-溴-3-戊酮 (**C**) , 化合物 **C** 与硫脲环合得到关键中间体 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (**D**) , 中间体 **D** 分别与不同苯甲酸及脂肪酰氯反应得到目标化合物 **E1~E24** 和中间体 **F1~F7**, 其中氯乙酰化产物 **F2** 进一步进行胺化反应, 得到目标化合物 **G1~G10**。3-氯丙酰化产物 **F5** 进一步胺化, 得到目标化合物 **H1~H10**。对合成的化合物进行了体外抗肿瘤活性测试及初步机理研究。目标化合物 **E** 和中间体 **F** 的合成路线如下:



E1: $R^1 = 2-CH_3-3-NO_2$; **E2:** $R^1 = 3-CH_3-4-NO_2$; **E3:** $R^1 = 4-CN$; **E4:** $R^1 = 2-CF_3$; **E5:** $R^1 = 4-CF_3$; **E6:** $R^1 = 3,5-(CF_3)_2$; **E7:** $R^1 = 3-NO_2$; **E8:** $R^1 = 3,5-(NO_2)_2$; **E9:** $R^1 = 2-OCH_3$; **E10:** $R^1 = 2-F$; **E11:** $R^1 = 3-F$; **E12:** R^1

= 4-F; **E13**: R¹ = 2,4-F₂; **E14**: R¹ = 2,6-F₂; **E15**: R¹ = 3,4-F₂; **E16**: R¹ = 2,4,5-F₃; **E17**: R¹ = 2-Cl; **E18**: R¹ = 4-Cl; **E19**: R¹ = 4-F-2-Cl; **E20**: R¹ = 2-F-4-Cl; **E21**: R¹ = 2-F-6-Cl; **E22**: R¹ = 2,4-Cl₂; **E23**: R¹ = 3,4-Cl₂; **E24**: R¹ = 2,6-Cl₂.

化合物 **G** 和 **H** 的合成路线如下：



G1、**H1**: R³ = CH₃; **G2**、**H2**: R³ = C₂H₅; **G3**、**H3**: R³ = C₆H₅; **G4**、**H4**: R³ = 4-OHC₆H₄; **G5**、**H5**: R³ = 2-CH₃OC₆H₄; **G6**、**H6**: R³ = CO₂C₂H₅; **G7**、**H7**: R³ = Boc

3.2 实验部分

3.2.1 仪器与试剂

主要仪器与设备同第2章 2.2.1 仪器与试剂，主要试剂与原料如表3.1所示：

表3.1 主要试剂与原料

试剂与原料	规格	生产厂家
溴化铜、Pd-C、硫脲	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
2-甲基-3-硝基苯甲酸、3-甲基-4-硝基苯甲酸、4-氰基苯甲酸、3,5-二(三氟甲基)苯甲酸、2-三氟甲基苯甲酸、4-三氟甲基苯甲酸、3-硝基苯甲酸、3,5-二硝基苯甲酸、2-甲氧基苯甲酸、2-氟苯甲酸、3-氟苯甲酸、4-氟苯甲酸、2,4-二氟苯甲酸、2,6-二氟苯甲酸、3,4-二氟苯甲酸、2,4,5-三氟苯甲酸、2-氯苯甲酸、4-氯苯甲酸、4-氟-2-氯苯甲酸、2-氟-4-氯苯甲酸、2-氟-6-氯苯甲酸、2,4-二氯苯甲酸、3,4-二氯苯甲酸、2,6-二氯苯甲酸	分析纯	上海鼎森化学科技有限公司

DCC、DMAP、氯化亚砜、三乙胺、乙酰氯、氯乙酰氯、3-氯丙酰氯 分析纯 国药集团化学试剂有限公司

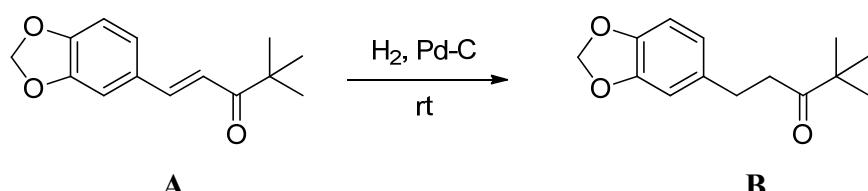
二氯乙酰氯、2-氯丙酰氯、2-溴丙酰氯、异丁酰氯、正丁酰氯

1-甲基哌嗪、1-乙基哌嗪、1-苯基哌嗪、1-(4-羟基苯基)哌嗪、1-(2-甲氧基苯基)哌嗪、1-乙氧羰基哌嗪、分析纯 成都格雷西亚化学技术有限公司
1-Boc 哌嗪、吗啉、哌啶

注：其他常用溶剂均为市售分析纯

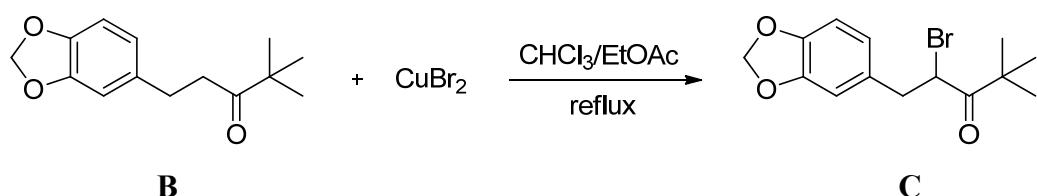
3.2.2 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)苯甲酰胺的合成

3.2.2.1 2,2-二甲基-5-(3,4-亚甲二氧基苯基)-3-戊酮 (B) 的合成



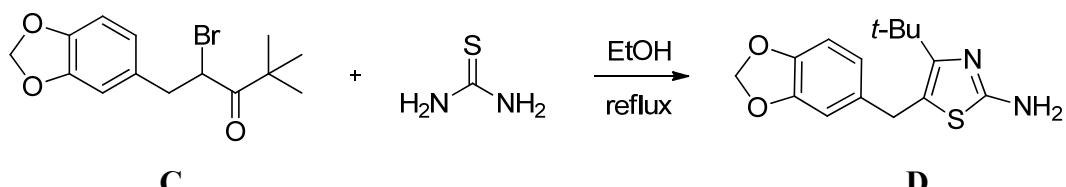
23.20 g (100 mmol) 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-4-戊烯-3-酮 (**A**) 溶于 200 mL 乙酸乙酯中, 加入催化当量的钯碳, 在 0.5 MPa 氢气中室温反应 4 h, 过滤回收钯碳 (可重复利用), 滤液经减压蒸馏除去溶剂, 干燥, 得到 22.30 g 无色液体 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-3-戊酮 (**B**), 收率为 95%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.11 (s, 9H, 3×CH₃), 2.74~2.81 (m, 4H, CH₂CH₂), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.63 (dd, J_1 = 8.0 Hz, J_2 = 1.6 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.65 (d, J = 1.6 Hz, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H)。

3.2.2.2 2,2-二甲基-5-(3,4-亚甲二氧苯基)-4-溴-3-戊酮 (C) 的合成



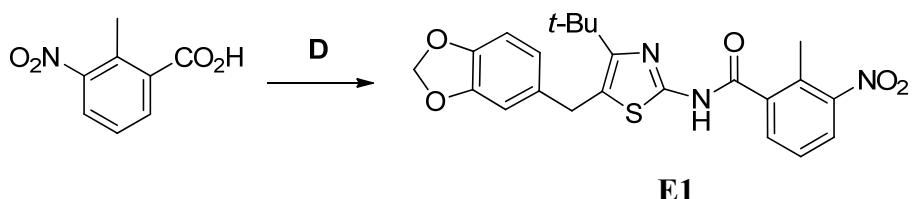
11.70 g (50 mmol) 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-3-戊酮 (**B**) , 75 mL 三氯甲烷和 75 mL 乙酸乙酯, 搅拌加热, 当温度上升至 60℃时, 分 3 批 (每次间隔 0.5 h) 加入 22.35 g (100 mmol) CuBr₂, 回流反应 4 h, 趁热过滤, 滤饼用乙酸乙酯洗涤, 取滤液, 稀盐酸洗涤至水相无绿色, 再水洗一次, 饱和食盐水洗一次, 收集有机层, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 旋干溶剂, 得到淡黄色油状液体 13.77 g, 收率 88%。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.02 (s, 9H, 3×CH₃), 3.07~3.62 (m, 2H, CH₂), 4.68~4.72 (m, 1H, BrCH), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.61 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.65 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.71 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H)。

3.2.2.3 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (D) 的合成



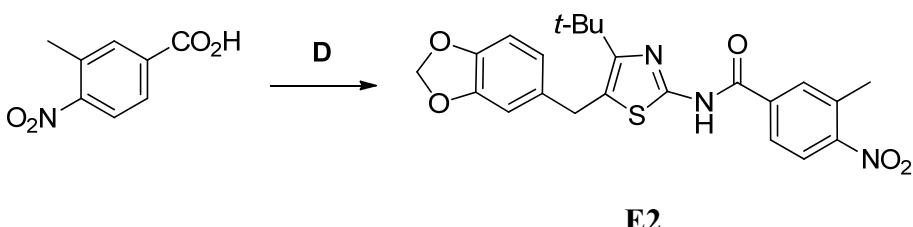
将 12.52 g (40 mmol) 2,2-二甲基-5-(3,4-亚甲二氧苯基)-4-溴-3-戊酮 (**C**)、3.04 g (40 mmol) 硫脲溶于 100 mL 乙醇, 回流反应 5 h, 直接滴加氨水, 反应液从黄色变为褐色, 至不再变色时停止滴加。继续搅拌 0.5 h。析出大量米黄色固体, 抽滤, 乙醇洗涤滤饼, 干燥, 得黄色固体 10.44 g, 收率 90%, m.p. 124~126°C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.34 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 4.05 (s, 2H, CH_2), 4.68 (s, 2H, NH_2), 5.94 (s, 2H, OCH_2O), 6.65 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.69 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H)。

3.2.2.4 N-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-甲基-3-硝基苯甲酰胺 (E1) 的合成

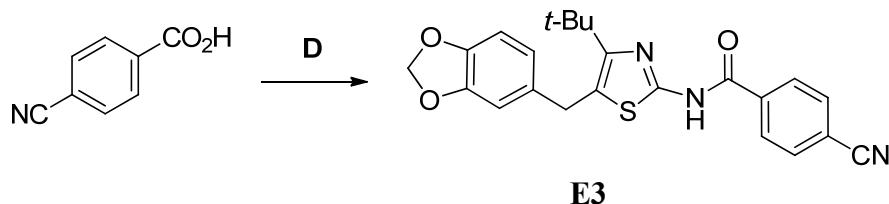


0.29 g (1 mmol) 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (**D**)、0.20 g (1.1 mmol) 2-甲基-3-硝基苯甲酸、0.21 g (1 mmol) *N,N'*-二环己基碳二亚胺 (DCC)、0.01 g (0.1 mmol) 4-二甲氨基吡啶 (DMAP) 溶于 25 mL 二氯甲烷, 室温反应 2 h, 过滤, 收集滤液, 柱层析 ($V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 8 : 1$) 分离, 得到白色固体 0.25 g, 收率 56%, m.p. 196~198°C。
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.39 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 2.59 (s, 3H, CH_3), 4.19 (s, 2H, CH_2), 5.95 (s, 2H, OCH_2O), 6.67~6.71 (m, 2H, C_6H_3), 6.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3), 7.45 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_3$ 5-H), 7.73 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_3$ 6-H), 7.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, $\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_3$ 4-H)。

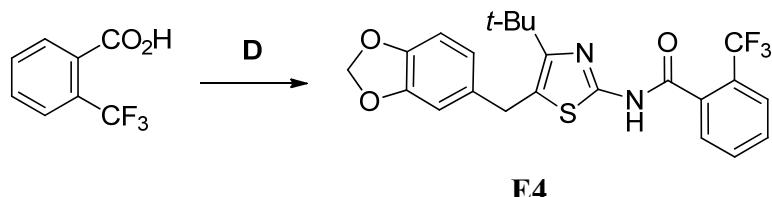
3.2.2.5 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-甲基-4-硝基苯甲酰胺 (E2) 的合成



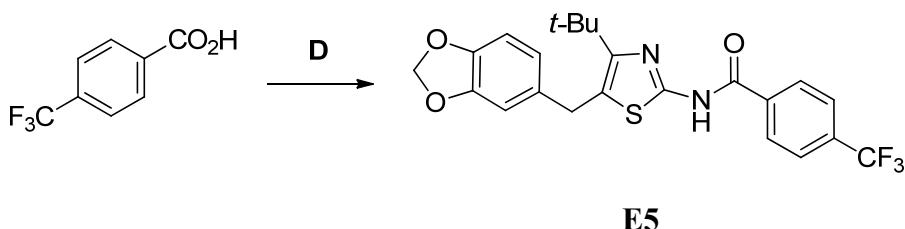
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.34 g, 收率 75%, m.p. 140~142℃。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 2.66 (s, 3H, CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.70 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.90 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, O₂NC₆H₃ 6-H), 7.94 (s, 1H, O₂NC₆H₃ 2-H), 8.05 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, O₂NC₆H₃ 5-H), 9.63 (s, 1H, NH)。

3.2.2.6 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-4-氰基苯甲酰胺 (E3) 的合成

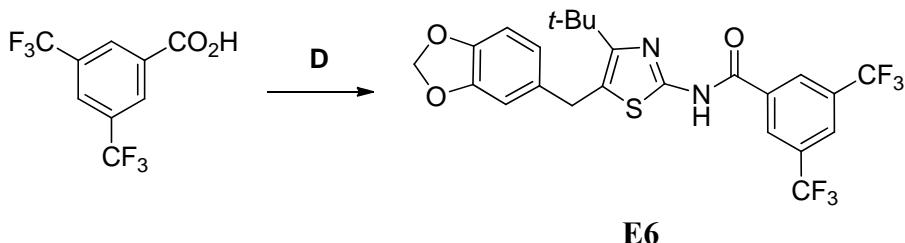
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到淡黄色固体 0.20 g, 收率 52%, m.p. 154~156°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.80 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 8.08 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H)。

3.2.2.7 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(三氟甲基)苯甲酰胺 (E4) 的合成

合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.28 g, 收率 61%, m.p. 110~112°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (s, 9H, 3×CH₃), 4.19 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.70 (m, 2H, C₆H₃), 6.77 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.59~7.69 (m, 3H, C₆H₄), 7.78 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₄)。

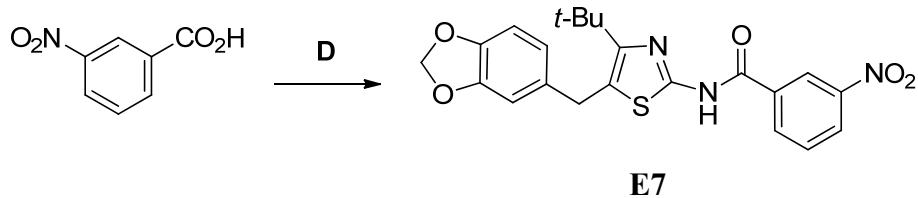
3.2.2.8 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-4-(三氟甲基)苯甲酰胺 (E5) 的合成

合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.22 g, 收率 48%, m.p. 130~132°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.39 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.76 (t, *J*=8.0 Hz, 2H, C₆H₄), 8.03 (dd, *J*=13.9, 8.0 Hz, 2H, C₆H₄), 9.72 (s, 1H, NH)。

3.2.2.9 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3,5-二(三氟甲基)苯甲酰胺 (E6) 的合成

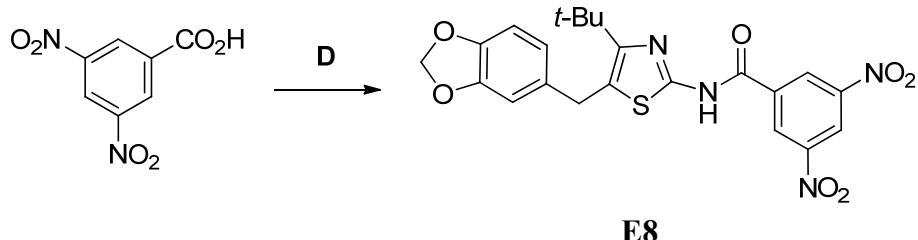
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.34 g, 收率 65%, m.p. 154~156°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.42 (s, 9H, 3×CH₃), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.76 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 8.04 (s, 1H, F₃CC₆H₄ 4-H), 8.49 (s, 2H, F₃CC₆H₄ 2,6-H), 9.83 (s, 1H, NH)。

3.2.2.10 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-硝基苯甲酰胺 (E7) 的合成



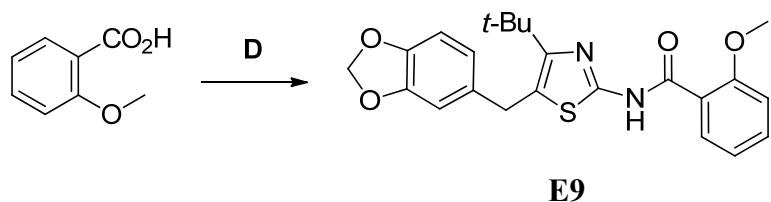
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到黄色固体 0.33 g, 收率 75%, m.p. 112~114°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.70 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 8.32 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 8.40~8.44 (m, 1H, C₆H₄), 8.83 (s, 1H, C₆H₄), 9.81 (s, 1H, NH)。

3.2.2.11 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3,5-二硝基苯甲酰胺 (E8) 的合成

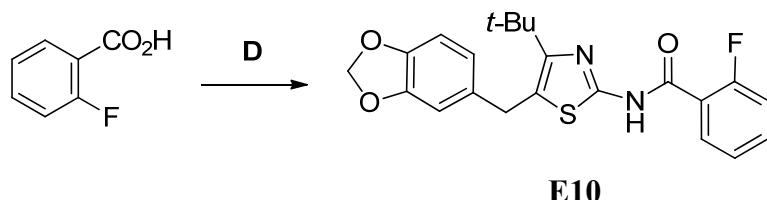


合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到黄色固体 0.22 g, 收率 45%, m.p. 155~157°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.50 (s, 9H, 3×CH₃), 4.13 (s, 2H, CH₂), 5.97 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.78 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 9.16 (s, 1H, C₆H₃), 9.34 (s, 2H, C₆H₃)。

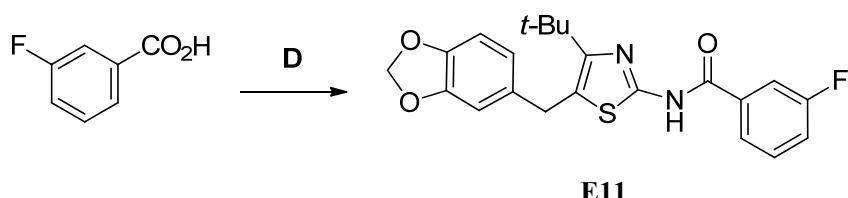
3.2.2.12 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-甲氧基苯甲酰胺 (E9) 的合成



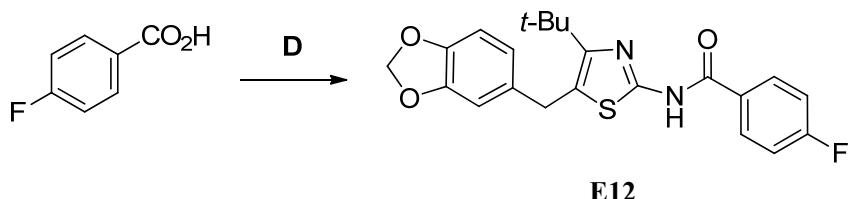
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.20 g, 收率 48%, m.p. 108~110°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.76 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.11 (t, 1H, *J*=8.0 Hz, C₆H₄), 7.23 (d, 1H, *J*=8.0 Hz, C₆H₄), 7.57 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 7.88 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, C₆H₄)。

3.2.2.13 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氟苯甲酰胺 (E10) 的合成

合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到米白色固体 0.23 g, 收率 56%, m.p. 117~119°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.72 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.21 (dd, *J* = 12.0, 8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 7.32 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 7.57 (dd, *J* = 12.0, 5.6 Hz, 1H, C₆H₄), 8.16 (td, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H, C₆H₄), 9.66 (s, 1H, NH)。

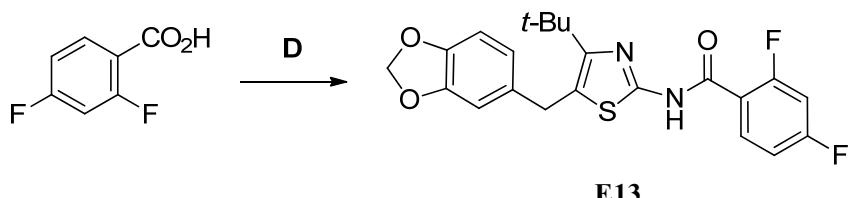
3.2.2.14 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氟苯甲酰胺 (E11) 的合成

合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.23 g, 收率 56%, m.p. 117~119°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.71~6.65 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.29 (td, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 7.48 (dd, 1H, C₆H₄ 4-H), 7.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 7.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄)。

3.2.2.15 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-4-氟苯甲酰胺 (E12) 的合成

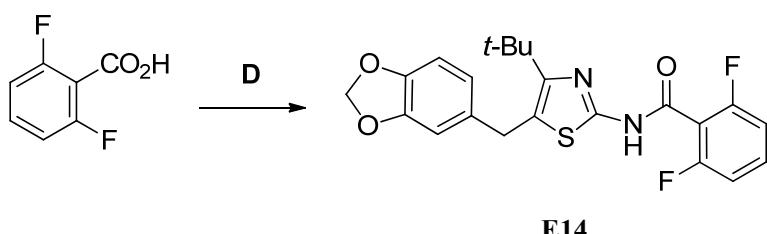
合成方法同 3.2.2.4, 反应 1 h, 得到白色固体 0.32 g, 收率 78%, m.p. 123~125°C。
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.37 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 6.00 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 6.78 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.87 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.35 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 8.13 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 9.54 (s, 1H)。

3.2.2.16 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2,4-二氟苯甲酰胺 (E13) 的合成



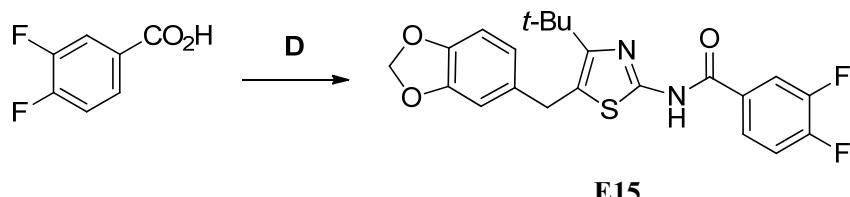
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.31 g, 收率 72%, m.p. 141~143°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.64~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 6.93~7.00 (m, 1H, FC₆H₃), 7.06 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, FC₆H₃), 8.16~8.22 (m, 1H, FC₆H₃), 9.55 (s, 1H, NH)。

3.2.2.17 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺 (E14) 的合成



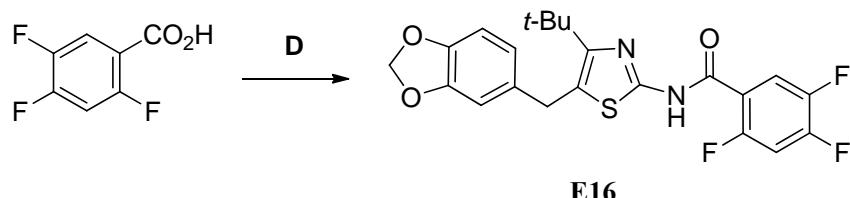
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.22 g, 收率 51%, m.p. 144~146°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.01 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, FC₆H₃ 3,5-H), 7.42~7.50 (m, 1H, FC₆H₃ 4-H), 9.25 (s, 1H, NH)。

3.2.2.18 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3,4-二氟苯甲酰胺 (E15) 的合成



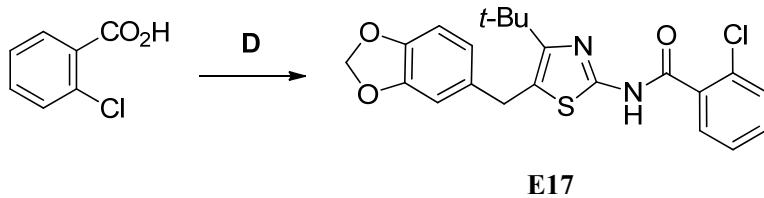
合成方法同 3.2.2.4, 反应 1 h, 得到米白色固体 0.33 g, 收率 77%, m.p. 134~136°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.28~7.33 (m, 1H, FC₆H₃), 7.73 (s, 1H, FC₆H₃), 7.83 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, FC₆H₃)。

3.2.2.19 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2,4,5-三氟苯甲酰胺 (E16) 的合成



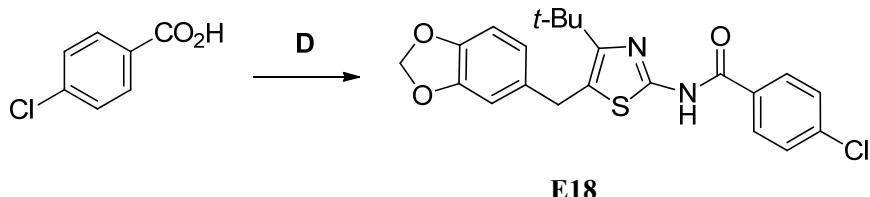
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.31 g, 收率 69%, m.p. 128~130°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.39 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.69 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.06~7.14 (m, 1H, C₆H₂), 8.00 (m, 1H, C₆H₂), 9.57 (s, 1H, NH)。

3.2.2.20 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氯苯甲酰胺 (E17) 的合成



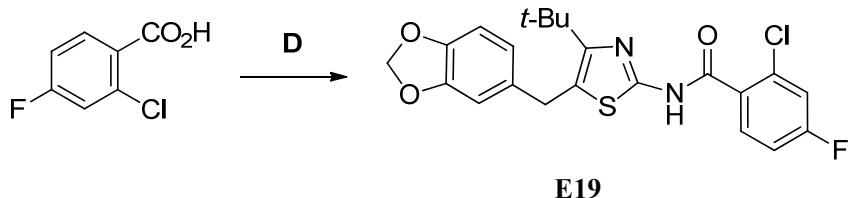
合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.38 g, 收率 89%, m.p. 135~137°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.42 (s, 9H, 3×CH₃), 4.19 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.76 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.33 (t, 1H, J = 8.0 Hz, C₆H₄), 7.38 (t, 1H, J = 8.0 Hz, C₆H₄), 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 7.93 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄)。

3.2.2.21 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-4-氯苯甲酰胺的 (E18) 合成



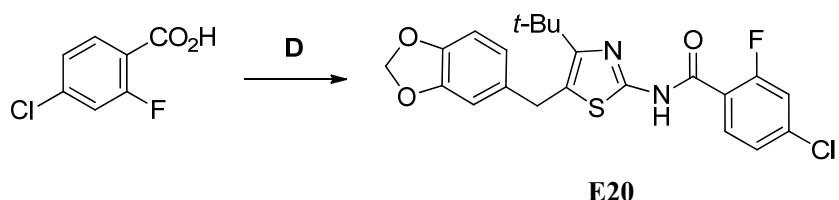
合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.26 g, 收率 61%, m.p. 134~136°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.72 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.45 (d, J = 6.8 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 7.78 (d, J = 6.8 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 9.42 (s, 1H, NH)。

3.2.2.22 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-4-氟-2-氯苯甲酰胺 (E19) 的合成



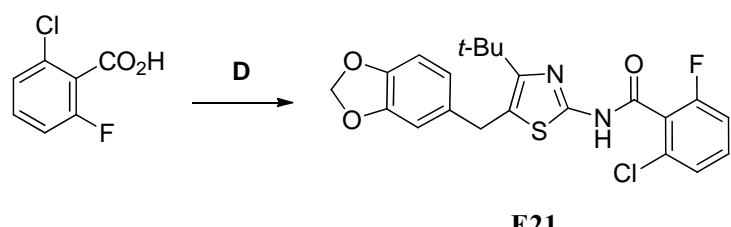
合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.30 g, 收率 67%, m.p. 122~125°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.11 (t, J = 8.0 Hz, 1H, FC₆H₃ 5-H), 7.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H, FC₆H₃ 6-H), 7.81~7.87 (m, 1H, FC₆H₃ 3-H)。

3.2.2.23 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氟-4-氯苯甲酰胺 (E20) 的合成



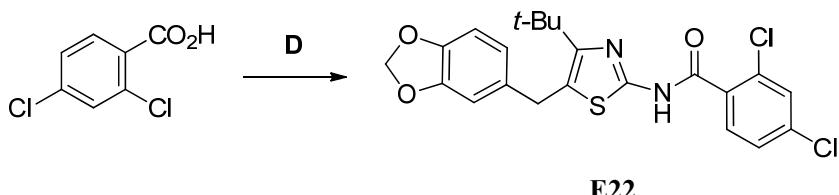
合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.22 g, 收率 49%, m.p. 142~144°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.24~7.28 (m, 1H, FC₆H₃), 7.32 (dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H, FC₆H₃), 8.11 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 9.56 (s, 1H, NH)。

3.2.2.24 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氟-6-氯苯甲酰胺 (E21) 的合成



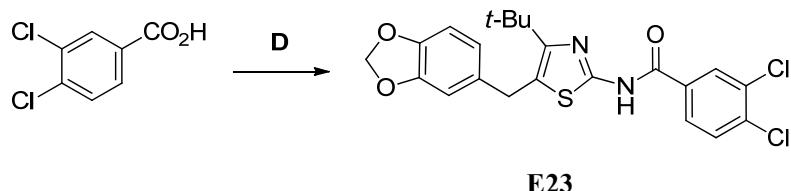
合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到米白色固体 0.23 g, 收率 52%, m.p. 154~156°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.36 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, C₆H₃), 6.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.08 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, FC₆H₃ 4-H), 7.27 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, FC₆H₃ 5-H), 7.35~7.42 (m, 1H, FC₆H₃ 3-H)。

3.2.2.25 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2,4-二氯苯甲酰胺 (E22) 的合成



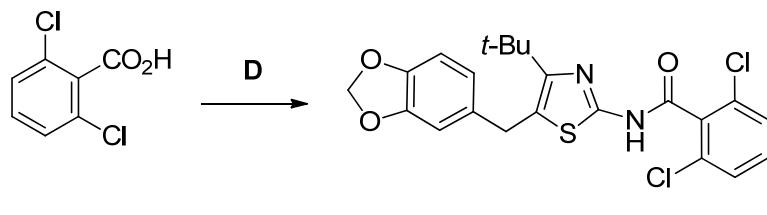
合成方法同 3.2.2.4, 反应 2 h, 得到白色固体 0.30 g, 收率 65%, m.p. 125~127°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.71 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.37 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.50 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, C₆H₃ 3-H), 7.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 9.56 (s, 1H, NH)。

3.2.2.26 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3,4-二氯苯甲酰胺 (E23) 的合成



合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.41 g, 收率 89%, m.p. 148~151°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 4.17 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.70 (m, 2H, C₆H₃), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.57 (dd, J = 8.0, 4.0 Hz, 1H, ClC₆H₃), 7.73~7.78 (m, 1H, ClC₆H₃), 8.03 (d, J = 4.0 Hz, 1H, ClC₆H₃), 9.57 (s, 1H, NH)。

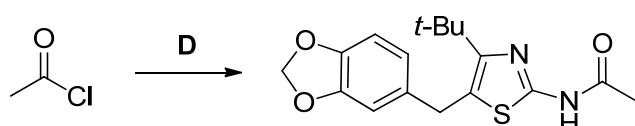
3.2.2.27 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2,6-二氯苯甲酰胺 (E24) 的合成



合成方法同 3.2.2.4, 反应 3 h, 得到白色固体 0.26 g, 收率 56%, m.p. 172~174°C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (s, 9H, 3×CH₃), 4.18 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.70 (m, 2H, C₆H₃), 6.76 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 7.29~7.38 (m, 3H, C₆H₃), 8.89 (s, 1H, NH)。

3.2.3 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)脂肪酰胺 (F) 的合成

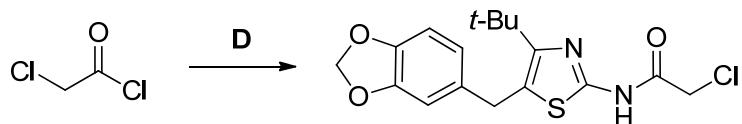
3.2.3.1 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)乙酰胺 (F1) 的合成



F1

0.45 g (1.55 mmol) 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (D)、0.17 g (1.7 mmol) 三乙胺溶于 15 mL 二氯甲烷中, 搅拌至固体完全溶解, 在冰浴下缓慢滴加 0.13 g (1.7 mmol) 乙酰氯的 5 mL 二氯甲烷溶液。TLC 跟踪反应进程, 0.5 h 反应完毕。反应液水洗 3 次, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 减压旋蒸除去溶剂二氯甲烷, 加入少量石油醚和乙酸乙酯混合液, 缓慢析出白色固体, 收集白色固体, 干燥, 得到目标化合物 0.38 g, 收率 76%, m.p. 185~187 °C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) , δ: 1.36 (s, 9H, 3×CH₃) , 2.20 (s, 3H, CH₃) , 4.14 (s, 2H, CH₂) , 5.94 (s, 2H, OCH₂O) , 6.64 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H) , 6.66 (s, 1H, C₆H₃ 2-H) , 6.73 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H) , 9.01 (s, 1H, NH)。
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 23.14, 30.81, 32.47, 35.51, 100.87, 108.15, 108.76, 121.18, 124.17, 134.16, 146.08, 147.69, 152.79, 152.96, 167.06。

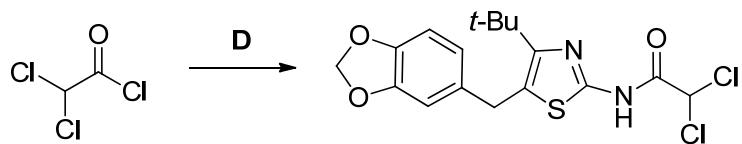
3.2.3.2 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)氯乙酰胺 (F2) 的合成



F2

合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 得到白色固体 0.45 g, 收率 82%, m.p. 127~129 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.38 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.15 (s, 2H, CH_2), 4.22 (s, 2H, ClCH_2), 5.94 (s, 2H, OCH_2O), 6.64 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.66 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.74 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 30.80, 32.54, 35.65, 41.91, 100.89, 108.18, 108.75, 121.20, 125.27, 134.03, 146.17, 147.74, 151.86, 153.48, 163.58。

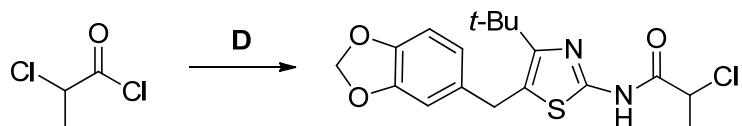
3.2.3.3 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)二氯乙酰胺 (F3) 的合成



F3

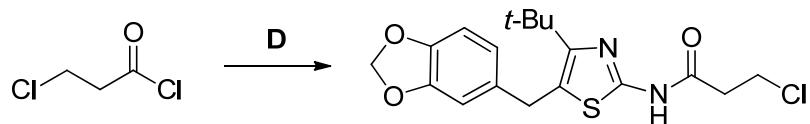
合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 后处理采用柱层析($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=10:1$)分离, 得到白色固体 0.24 g, 收率 40%, m.p. 125~127 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.40 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.15 (s, 2H, CH_2), 5.95 (s, 2H, OCH_2O), 6.09 (s, 1H, CH), 6.65 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.66 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.74 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 30.66, 32.68, 35.41, 66.08, 100.96, 108.26, 108.76, 121.29, 125.68, 133.51, 146.34, 147.83, 151.84, 154.18, 162.99。

3.2.3.4 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氯丙酰胺 (F4) 的合成

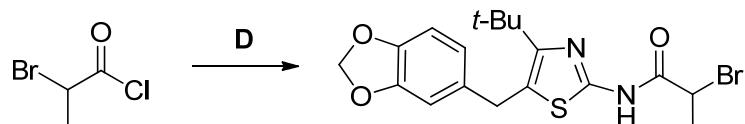


F4

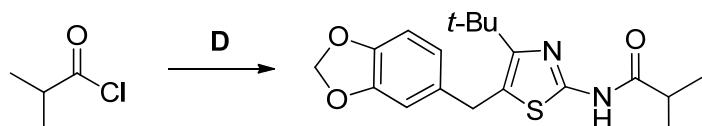
合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 后处理采用柱层析($V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=10:1$)分离, 得到白色固体 0.36 g, 收率 63%, m.p. 116~118 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.38 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 1.80 (d, $J=7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.15 (s, 2H, CH_2), 4.57 (q, $J=7.0$ Hz, 1H, CH), 5.94 (s, 2H, OCH_2O), 6.65 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.66 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.73 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 22.18, 30.80, 32.57, 35.63, 54.63, 100.90, 108.19, 108.78, 121.23, 125.19, 134.00, 146.16, 147.73, 152.30, 153.21, 167.00。

3.2.3.6 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氯丙酰胺 (**F5**) 的合成**F5**

合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 得到白色固体 0.50 g, 收率 85%, m.p. 143~145 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) , 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 2.85 (t, *J*= 6.3 Hz, CH₂), 3.84 (t, *J*= 6.3 Hz, CH₂), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 6.66 (s, 1H, C₆H₃), 6.73 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, C₆H₃)。 ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.78, 32.30, 35.57, 37.40, 39.87, 100.90, 108.18, 108.76, 121.21, 125.25, 134.02, 146.19, 147.75, 151.88, 153.49, 167.04。

3.2.3.6 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-溴丙酰胺 (**F6**) 的合成**F6**

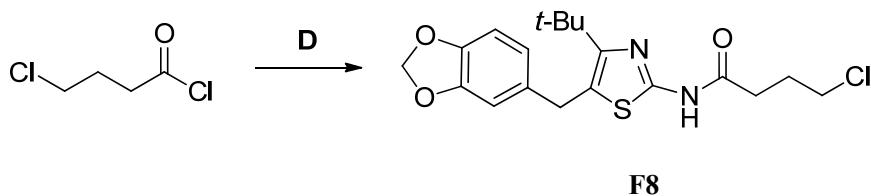
合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 得到白色固体 0.45 g, 收率 71%, m.p. 130~132 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) , δ: 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 1.93 (d, *J*= 7.0 Hz, 3H, CH₃), 4.15 (s, 2H, CH₂), 4.54 (q, *J*= 7.0 Hz, 1H, CH), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.66 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.73 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H)。 ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 22.14, 30.77, 32.59, 35.62, 42.59, 100.92, 108.21, 108.78, 121.25, 125.09, 133.89, 146.20, 147.75, 152.63, 153.23, 167.05。

3.2.3.7 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)异丁酰胺 (**F7**) 的合成**F7**

合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 得到白色固体 0.39 g, 收率 72%, m.p. 128~130 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 1.25 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2×CH₃), 1.39 (s, 9H, 3×CH₃), 2.63 (m, 1H, CH), 4.13 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.64 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.66 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.73 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H)。 ¹³C NMR

(100 MHz, CDCl_3) δ : 19.09, 30.74, 32.52, 35.38, 35.51, 45.73, 100.90, 108.20, 108.80, 121.27, 124.12, 133.86, 146.18, 147.73, 151.55, 154.15, 174.52。

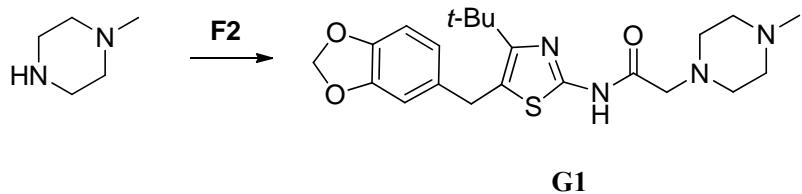
3.2.3.8 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-4-氯丁酰胺 (**F8**) 的合成



合成方法同 3.2.3.1, 反应 0.5 h, 后处理采用柱层析($V_{\text{石油醚}} : V_{\text{乙酸乙酯}} = 15 : 1$)分离, 得到淡黄色黏稠半固体 0.29 g, 收率 74%, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.39 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 2.17 (m, 2H, CH_2), 2.64 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 3.62 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.14 (s, 2H, OCH_2), 5.94 (s, 2H, CH_2), 6.64 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.66 (s, 1H, C_6H_3 C_6H_3 2-H), 6.74 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H)。

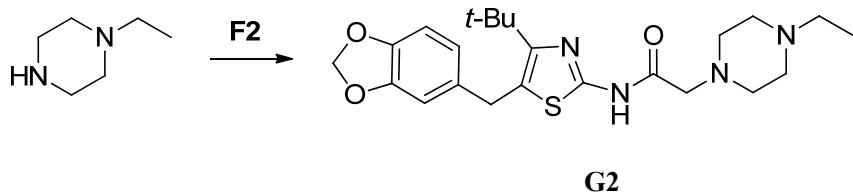
3.2.4 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氨基乙酰胺 (**G**) 的合成

3.2.4.1 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酰胺 (**G1**) 的合成



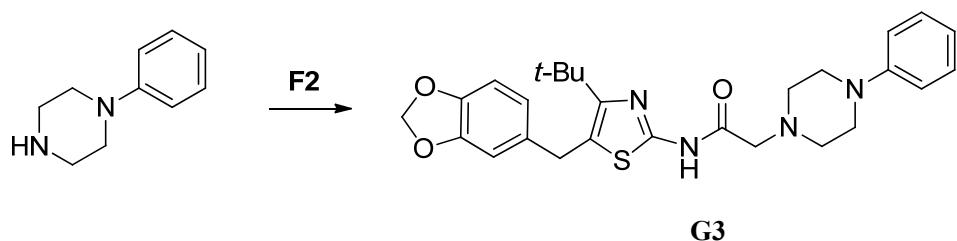
0.20 g (0.55 mmol) *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)氯乙酰胺 (**F2**), 0.083 g (0.83 mmol) 1-甲基哌嗪, 0.08 g (0.8 mmol) 三乙胺, 溶于 10 mL 四氢呋喃中, 室温搅拌 12 h, 反应液用 50 mL 乙酸乙酯稀释, 水洗一次, 饱和食盐水洗一次, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压蒸馏脱溶, 加入数滴石油醚, 析出固体, 抽滤, 干燥, 得到白色固体 0.21 g, 收率 89%, m.p. 171~173 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.37 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 2.35 (s, 3H, CH_3), 2.57~2.65 (m, 8H, 哌嗪环), 3.19 (s, 2H, COCH_2), 4.15 (s, 2H, CH_2), 5.93 (s, 2H, OCH_2O), 6.62~6.68 (m, 2H, C_6H_3), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3), 9.94 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 30.91, 32.55, 35.65, 45.82, 53.39, 54.76, 61.03, 100.89, 108.17, 108.80, 121.20, 124.28, 134.33, 146.09, 147.72, 152.49, 153.29, 168.04。

3.2.4.2 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-乙基哌嗪-1-基)乙酰胺 (**G2**) 的合成



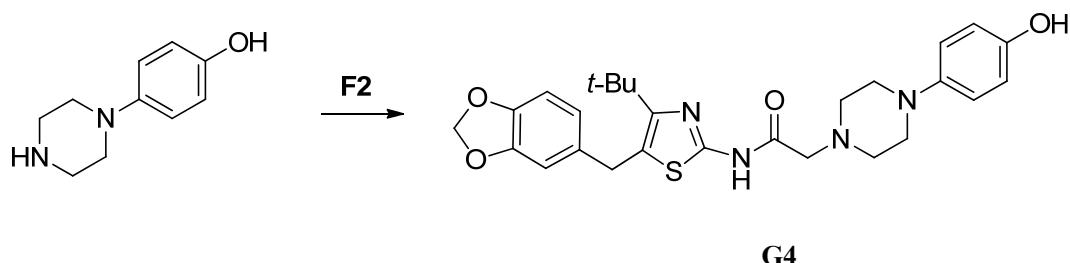
合成方法同 3.2.4.1, 反应 12 h, 得到白色固体 0.22 g, 收率 90%, m.p. 153~156 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.17 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃), 1.37 (s, 9H, 3×CH₃), 2.57~2.72 (m, 8H, 味嗪环), 3.21 (s, 2H, COCH₂), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.67 (m, 2H, C₆H₃), 6.72 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 9.91 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 11.66, 30.87, 32.49, 35.59, 52.12, 52.31, 53.14, 60.95, 100.85, 108.13, 108.75, 121.15, 124.26, 134.25, 146.05, 147.67, 152.46, 153.21, 167.94。

3.2.4.3 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-苯基味嗪-1-基)乙酰胺 (G3) 的合成



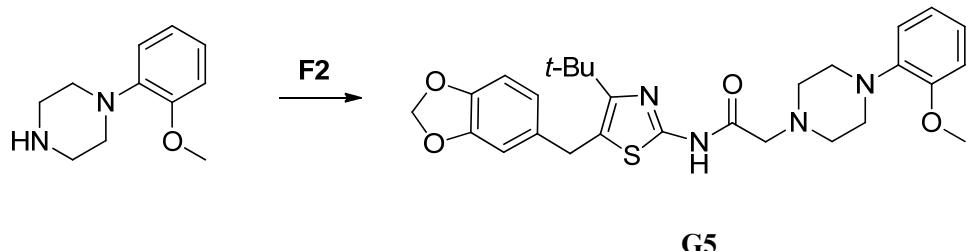
合成方法同 3.2.4.1, 反应 12 h, 得到白色固体 0.24 g, 收率 87%, m.p. 180~183 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.29 (s, 9H, 3×CH₃), 2.68~2.71 (m, 4H, 味嗪环 2,6-H), 3.18 (s, 2H, COCH₂), 3.20~3.23 (m, 4H, 味嗪环 3,5-H), 4.08 (s, 2H, CH₂), 5.86 (s, 2H, OCH₂O), 6.55~6.66 (m, 2H, C₆H₃), 6.66 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, C₆H₃), 6.82 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, C₆H₅ 4-H), 6.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, C₆H₃ 2,6-H), 7.22 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, C₆H₃ 3,5-H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 30.92, 32.58, 35.67, 49.16, 53.60, 61.17, 100.90, 108.18, 108.82, 116.26, 120.11, 121.22, 124.37, 129.15, 134.36, 146.12, 147.75, 150.94, 152.36, 153.43, 167.83。

3.2.4.4 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-(4-羟基苯基)味嗪-1-基)乙酰胺 (G4) 的合成



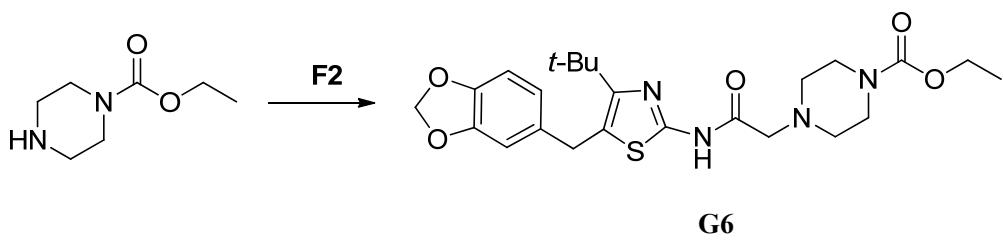
合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.20 g, 收率 72%, m.p. 198~200 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.39 (s, 9H, 3×CH₃), 2.83 (s, 4H, 味嗪环 2,6-H), 3.19 (s, 4H, 味嗪环 3,5-H), 3.25 (s, 2H, COCH₂), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.62~6.70 (m, 2H, C₆H₃), 6.73 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, C₆H₃), 6.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 3,5-H), 6.95 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 2,6-H)。

3.2.4.5 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-(2-乙氧基苯基)哌嗪-1-基)乙酰胺 (**G5**) 的合成



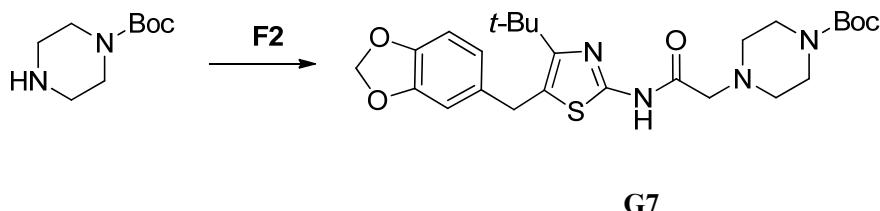
合成方法同 3.2.4.1, 反应 16 h, 得到白色固体 0.23 g, 收率 81%, m.p. 103~105 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 2.81 (s, 4H, 哌嗪环 2,6-H), 3.18 (s, 4H, 哌嗪环 3,5-H), 3.26 (s, 2H, COCH₂), 3.87 (s, 3H, CH₃), 4.16 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.62~6.70 (m, 2H, C₆H₃), 6.73 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, C₆H₃), 6.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 6.96~7.03 (m, 3H, C₆H₄)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 30.86, 30.93, 32.58, 35.68, 50.48, 53.87, 55.39, 61.26, 100.89, 108.18, 108.82, 111.26, 118.30, 120.99, 121.21, 123.21, 124.28, 134.37, 140.84, 146.12, 147.75, 152.22, 152.46, 153.37, 168.07。

3.2.4.6 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-乙氧羰基哌嗪-1-基)乙酰胺 (**G6**) 的合成



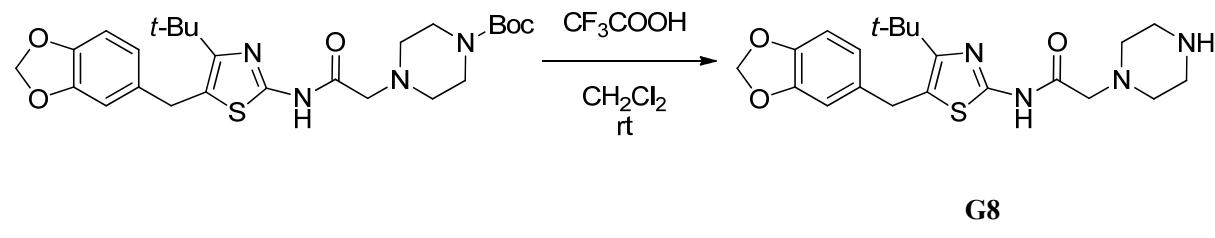
合成方法同 3.2.4.1, 反应 14 h, 得到白色固体 0.23 g, 收率 85%, m.p. 88~90 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 1.39 (s, 9H, 3×CH₃), 2.56 (s, 4H, 哌嗪环 2,6-H), 3.22 (s, 2H, COCH₂), 3.61 (s, 4H, 哌嗪环 3,5-H), 4.11~4.18 (m, 4H, OCH₂, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.64~6.66 (m, 2H, C₆H₃), 6.73 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 9.93 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.59, 30.84, 32.49, 35.59, 43.41, 53.20, 61.16, 61.48, 100.87, 108.16, 108.74, 121.17, 124.43, 134.09, 146.11, 147.71, 152.63, 155.31, 167.68。

3.2.4.7 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-叔丁基氧羰基哌嗪-1-基)乙酰胺 (**G7**) 的合成



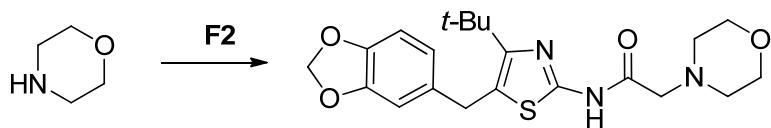
合成方法同 3.2.4.1, 反应 14 h, 得到白色固体 0.24 g, 收率 87%, m.p. 140~142 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 2.56 (s, 4H, 噻唑环 2,6-H), 3.24 (s, 2H, COCH₂), 3.59 (s, 4H, 噻唑环 3,5-H), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.65 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 10.00 (bs, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 28.35, 30.84, 32.52, 35.62, 43.18, 53.31, 61.15, 79.96, 100.94, 108.22, 108.78, 121.24, 124.45, 133.92, 146.21, 147.79, 152.21, 153.00, 154.56, 167.93。

3.2.4.8 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(哌嗪-1-基)乙酰胺 (**G8**) 的合成



0.24 g *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-叔丁基氧羰基哌嗪-1-基)乙酰胺和 10 mL 三氟乙酸, 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 室温搅拌 2 h, 加入适量饱和 NaHCO₃ 溶液, 中和三氟乙酸, 二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机相, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 脱溶, 得到白色固体 0.15 g, 收率 78%, m.p. 108~110 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.32 (s, 9H, 3×CH₃), 2.70 (s, 4H, 噻唑环 2,6-H), 3.05 (s, 4H, 噻唑环 3,5-H), 3.32 (s, 2H, COCH₂), 4.13 (s, 2H, CH₂), 5.99 (s, 2H, OCH₂O), 6.64 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.74 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.86 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 8.64 (s, 1H, NH), 11.78 (s, 1H, CONH)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 31.17, 32.01, 35.83, 43.38, 49.59, 59.72, 101.29, 108.61, 109.07, 121.59, 123.55, 135.04, 146.10, 147.71, 152.76, 152.92, 168.05。

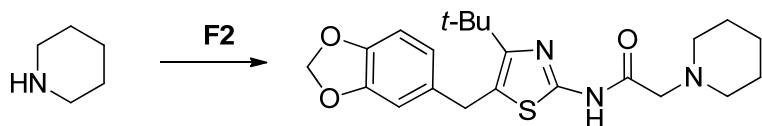
3.2.4.9 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(吗啉-1-基)乙酰胺 (**G9**) 的合成



G9

合成方法同 3.2.4.1, 反应 12 h, 得到白色固体 0.21 g, 收率 90%, m.p. 160~162 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 2.59~2.63 (m, 4H, 吗啉环 3,5-H), 3.21 (s, 2H, COCH₂), 3.83 (s, 4H, 吗啉环 2,6-H), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.64~6.66 (m, 2H, C₆H₃), 6.73 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 9.91 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 30.89, 32.55, 35.65, 53.83, 61.60, 66.70, 100.95, 108.24, 108.81, 121.26, 124.45, 134.08, 146.21, 147.79, 152.95, 167.89。

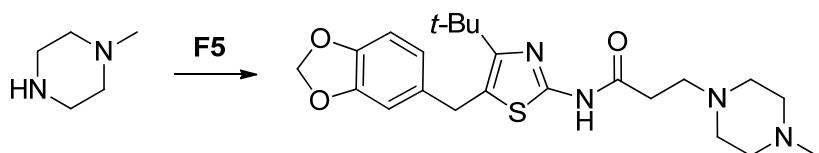
3.2.4.10 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(哌啶-1-基)乙酰胺 (**G10**) 的合成

**G10**

合成方法同 3.2.4.1, 反应 16 h, 得到白色固体 0.20 g, 收率 88%, m.p. 126~128 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.38 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 1.50 (s, 2H, 哌啶环 4-H), 1.70 (s, 4H, 哌啶环 3,5-H), 2.54 (s, 4H, 哌啶环 2,6-H), 3.15 (s, 2H, COCH_2), 4.15 (s, 2H, CH_2), 5.93 (s, 2H, OCH_2O), 6.63~6.67 (m, 2H, C_6H_3), 6.72 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3), 10.12 (bs, 1H, NH)。

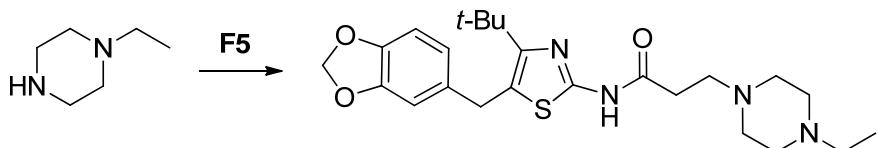
3.2.5 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氨基丙酰胺 (**H**) 的合成

3.2.5.1 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-甲基哌嗪-1-基)丙酰胺 (**H1**) 的合成

**H1**

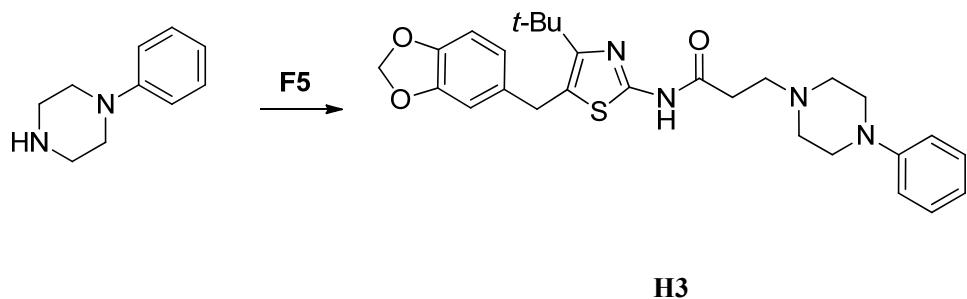
0.19 g (0.5 mmol) *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氯丙酰胺 (**F5**), 0.08 g (0.8 mmol) 1-甲基哌嗪, 0.08 g (0.8 mmol) 三乙胺, 溶于 10 mL 四氢呋喃中, 室温搅拌 24 h, 反应液用 50 mL 乙酸乙酯稀释, 水洗一次, 饱和食盐水洗一次, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压蒸馏脱溶, 加入数滴石油醚, 析出固体, 抽滤, 干燥, 得到白色固体 0.21 g, 收率 89%, m.p. 171~173 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.36 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 1.84 (bs, 4H, 哌嗪环), 2.38 (s, 3H, CH_3), 2.53 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H, COCH_2), 2.67 (bs, 4H, 哌嗪环), 2.76 (d, $J = 4.0$ Hz, 2H, CH_2), 4.14 (s, 2H, CH_2), 5.92 (s, 2H, OCH_2O), 6.63~6.68 (m, 2H, C_6H_3), 6.71 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3), 12.45 (s, 1H, NH)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 30.88, 31.13, 32.51, 35.61, 45.94, 51.92, 52.71, 54.93, 100.86, 108.12, 108.85, 121.18, 123.60, 134.65, 146.03, 147.70, 152.81, 153.43, 169.32。

3.2.5.2 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-乙基哌嗪-1-基)丙酰胺 (**H2**) 的合成

**H2**

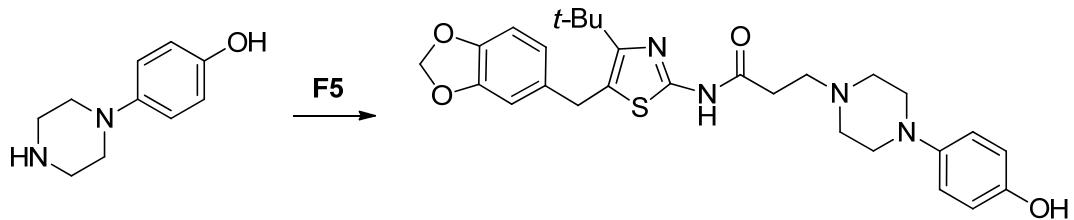
合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.20 g, 收率 89%, m.p. 148~150 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.16 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃), 1.35 (s, 9H, 3×CH₃), 1.68 (s, 4H, 喹嗪环 2,6-H), 2.52~2.55 (m, 4H, COCH₂, CH₂), 2.75~2.77 (m, 6H, 喹嗪环 3,5-H, CH₂), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.62~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 12.45 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 11.79, 30.92, 31.15, 32.55, 35.64, 51.98, 52.29, 52.59, 52.78, 100.90, 108.16, 108.89, 121.22, 123.61, 134.70, 146.06, 147.74, 152.86, 153.47, 169.42。

3.2.5.3 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-苯基哌嗪-1-基)丙酰胺 (H3) 的合成



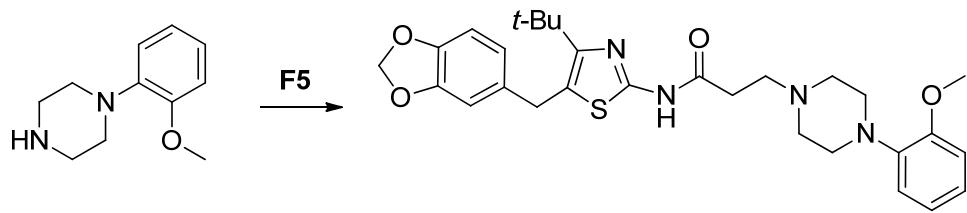
合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.21 g, 收率 84%, m.p. 170~172 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.31 (s, 9H, 3×CH₃), 2.58 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, COCH₂), 2.79~2.81 (m, 6H, CH₂, 喹嗪环 2,6-H), 3.34 (t, *J* = 4.0 Hz, 4H, 喹嗪环 3,5-H), 4.13 (s, 2H, CH₂), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.62~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, C₆H₃), 6.90 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₅ 4-H), 6.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, C₆H₅ 2,6-H), 7.30 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, C₆H₅ 3,5-H), 12.22 (s, 1H, NH)。

3.2.5.4 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-(4-羟基苯基)哌嗪-1-基)丙酰胺 (H4) 的合成

**H4**

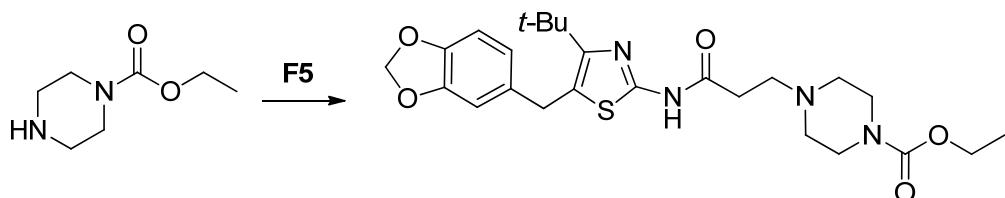
合成方法同 3.2.4.1, 反应 48 h, 得到白色固体 0.19 g, 收率 74%, m.p. 192~194 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (s, 9H, 3×CH₃), 2.58 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, COCH₂), 2.76~2.95 (m, 6H, CH₂, 喹嗪环 2,6-H), 3.25 (t, *J* = 4.0 Hz, 4H, 喹嗪环 3,5-H), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.62~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, C₆H₃), 6.90 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₅ 3,5-H), 6.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, C₆H₅ 2,6-H), 12.45 (s, 1H, NH)。

3.2.5.5 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-(2-甲氧基苯基)哌嗪-1-基)丙酰胺 (**H5**) 的合成



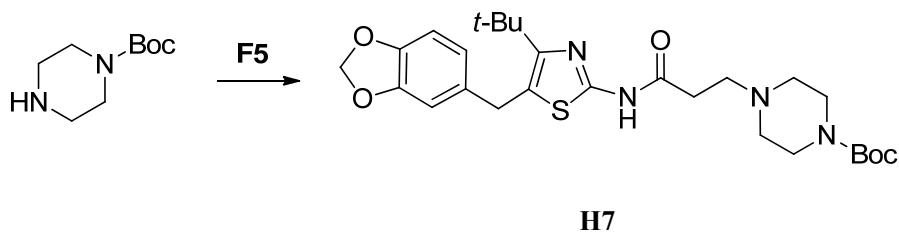
合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.23 g, 收率 85%, m.p. 145~147 °C。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.33 (s, 9H, 3×CH₃), 2.57 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, COCH₂), 2.75~2.94 (m, 6H, CH₂, 哌嗪环 2,6-H), 3.24 (s, 4H, 哌嗪环 3,5-H), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 6.89 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 6.93~7.06 (m, 3H, C₆H₄ 3,4,5-H), 12.56 (s, 1H, NH)。

3.2.5.6 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-乙氧羰基哌嗪-1-基)丙酰胺 (**H6**) 的合成



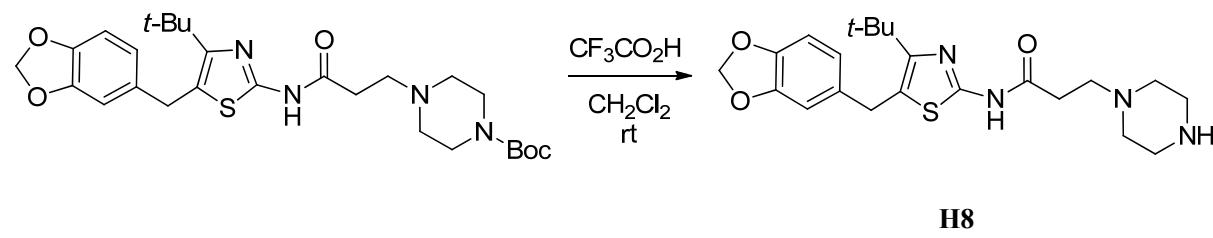
合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.20 g, 收率 80%, m.p. 140~142 °C,
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 1.34 (s, 9H, 3×CH₃), 2.50~2.64 (m, 6H, COCH₂, 哌嗪环 2,6-H), 2.75 (s, 2H, CH₂), 3.63 (s, 4H, 哌嗪环 3,5-H), 4.14~4.19 (m, 4H, CH₂, OCH₂), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.64~6.66 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 11.99 (s, 1H, NH)。
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 14.68, 30.92, 31.34, 32.56, 35.64, 43.59, 52.12, 53.20, 61.59, 100.91, 108.18, 108.88, 121.23, 123.80, 134.62, 146.10, 147.76, 152.70, 153.51, 155.36, 169.14。

3.2.5.7 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(4-叔丁基氧羰基哌嗪-1-基)丙酰胺 (**H7**) 的合成



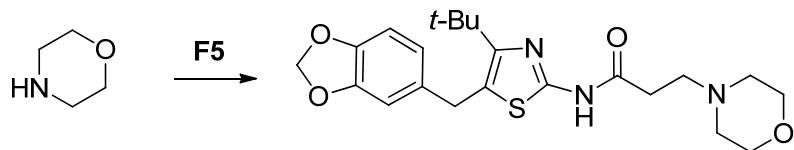
合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.23 g, 收率 87%, m.p. 130~133 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.34 (s, 9H, 3×CH₃), 1.48 (s, 9H, 3×CH₃), 2.55~2.56 (m, 6H, COCH₂, 噻唑环 2,6-H), 2.74 (t, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂), 3.58 (s, 4H, 噻唑环 3,5-H), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 12.05 (bs, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 28.43, 30.92, 31.32, 32.56, 32.70, 35.65, 52.19, 53.20, 80.05, 100.91, 108.18, 108.88, 121.23, 123.78, 134.63, 146.09, 147.76, 152.71, 153.51, 154.57, 169.22。

3.2.5.8 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(哌嗪-1-基)丙酰胺 (**H8**) 的合成



0.20 g *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-(4-叔丁基氧羰基哌嗪-1-基)-3-氯丙酰胺 (0.38 mmol) 和 10 mL 三氟乙酸, 溶于 10 mL 二氯甲烷中, 室温搅拌 2 h, 加入适量饱和 NaHCO₃ 溶液, 中和三氟乙酸, 二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机相, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 脱溶, 得到白色固体 0.12 g, 收率 74%, m.p. 108~110 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.36 (s, 9H, 3×CH₃), 2.71~2.93 (m, 6H, COCH₂, 噻唑环 2,6-H), 3.03 (s, 4H, 噻唑环 3,5-H), 3.28 (t, *J* = 4.0 Hz, 2H, CH₂), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 31.17, 32.01, 35.83, 43.38, 49.59, 59.72, 101.29, 108.61, 109.07, 121.59, 123.55, 135.04, 146.10, 147.71, 152.76, 152.92, 168.05。

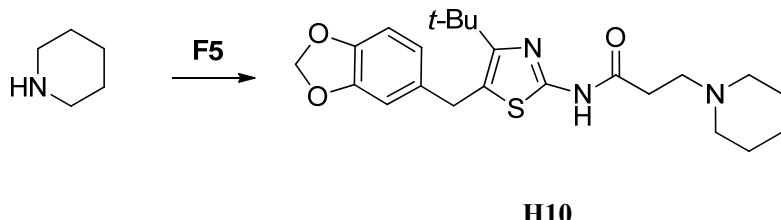
3.2.5.9 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(吗啉-1-基)丙酰胺 (**H9**) 的合成



H9

合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.19 g, 收率 88%, m.p. 102~104 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.35 (s, 9H, 3×CH₃), 2.58 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, COCH₂), 2.65 (m, 4H, 吗啉环 2,6-H), 2.77 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.86 (t, *J* = 4.1 Hz, 4H, 吗啉环 3,5-H), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.68 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 12.12 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 30.89, 32.55, 35.65, 53.83, 61.60, 66.70, 100.95, 108.24, 108.81, 121.26, 124.45, 134.08, 146.21, 147.79, 152.95, 167.89。

3.2.5.10 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-(哌啶-1-基)丙酰胺 (**H10**) 的合成



合成方法同 3.2.4.1, 反应 24 h, 得到白色固体 0.18 g, 收率 84%, m.p. 124~126 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.35 (s, 9H, 3×CH₃), 1.55 (s, 2H, 哌啶环 4-H), 1.70~1.78 (m, 4H, 哌啶环 3,5-H), 2.51 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H, CH₂), 2.56 (s, 4H, 哌啶环 2,6-H), 2.67 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H, COCH₂), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.92 (s, 2H, OCH₂O), 6.63~6.69 (m, 2H, C₆H₃), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃), 12.90 (bs, 1H, NH)。

3.2.6 抗肿瘤活性实验

3.2.6.1 实验仪器与试剂

试剂: 噻唑蓝(MTT)、RPMI 1640 培养液、新生牛血清、胎牛血清、青霉素-链霉素混合液(100×, penicillin-streptomycin Solution)(美国英杰生命技术公司); DMEM 高糖培养基(美国 Gibco 公司)、胰酶(美国 CMRESO 公司); 培养皿、96 孔培养板(美国英杰生命技术公司); 二甲亚砜(美国 Sigma 公司); 凋亡检测试剂盒(日本东仁化学有限公司), Annexin V, FITC 结合物, PI solution, 1×Annexin V Binding solution。

仪器: HFsafe-1500 型超净工作台、HF151UV 型 CO₂ 培养箱(上海力申科学仪器有限公司); TE300 倒置荧光显微镜 (ICCD 系统) (日本尼康公司); 超纯水制备仪(美国 Milli-Q 公司); NovoCyte 流式细胞分析仪 (美国 ACEA 公司); Multiskan MK3 型酶标仪(美国 Thermo 公司); TY1318 型双光子激光共聚焦显微镜 FV1000 (日本奥林巴斯公司); -80 °C 超低温冰箱(合肥中科美菱低温科技有限责任公司); TMQ-R 型高压灭菌锅(山东新华医疗器械股份有限公司); BD FACSCalibur 流式细胞分析仪 (美国 BD 公司); 5702R 型低温台式离心机和 5418 低温台式离心机(德国 Eppendorf 公司)。

细胞系: 宫颈癌细胞系 HeLa、非小细胞肺癌细胞系 A549 和乳腺癌细胞系 MCF-7 (中南大学湘雅医学院细胞库提供)。

3.2.6.2 抗肿瘤活性测试

采用 MTT 法测试所合成的目标化合物对 3 种肿瘤细胞的体外抑制活性。

(A) 试验方法

(1) 将对数期细胞制成均匀分散的单细胞悬液, 接种到 96 孔板中, 其中, A1 孔作为空白, 其余每孔 100 uL 单细胞悬液约 1000~10000 个细胞, 5%CO₂、37 °C 培养箱中孵育 48 h。

(2) 待测样品用 DMSO 溶解配成 20 mM 的母液置冰箱中保存, 用时用培基将样品母液分别稀释成不同终浓度。

(3) 将孵育 48 h 后的细胞分别除去上层培基, 第一孔空白, 第一列和第七列加培基作阴性对照, 其他分别加不同浓度样品 100 uL, 继续孵育 48 h。

(4) 除去上层培基及样品, 每孔加 40 uL 用 PBS 和培基配(1:1)制为 5 mg/ml 的 MTT 溶液, 孵育 2~3 h 后, 吸去每孔的 MTT 溶液, 加 150 uL DMSO 溶解, 充分震荡 10 min 使结晶充分溶解, 570 nm 波长下用酶标仪测定每孔吸光值。每组实验独立平行 3 次, 用 SPSS 计算细胞抑制率。

(B) 活性评价:

$$\text{细胞生长抑制率}(\%) = \frac{\text{药品处理组均值 } A_{570} - \text{空白对照组均值 } A_{570}}{\text{细胞对照组 } A_{570} - \text{空白对照组 } A_{570}} \times 100\%$$

运用 SPSS 软件进行分析, 样品浓度对数值与细胞抑制率线性回归, 计算化合物对各细胞的半数抑制浓度 IC₅₀ 值(均值±标准差)。

3.2.6.3 细胞凋亡测试

(A) 检测原理

细胞凋亡早期改变发生在细胞膜表面, 细胞膜上的磷脂酰丝氨酸(PS)从细胞膜内转移到细胞膜外, 使 PS 暴露在细胞膜外表面, PS 是一带负电荷的磷脂, 正常主要存在于细胞膜的内面, 在细胞发生凋亡时细胞膜上的这种磷脂分布的不对称性被破坏而使 PS 暴露在细胞膜外。Annexin V 是一种分子量为 35-36 kD 的 Ca²⁺依赖的磷脂结合蛋白, 最初发现是一种具有很强的抗凝血特性的血管蛋白, 与磷脂酰丝氨酸 (PS) 有高度亲和力, 它通过细胞外侧暴露的 PS 与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此, 该蛋白可充当一敏感的探针检测暴露在细胞膜表面的 PS。Propidium iodide (PI)是一种核酸染料, 不能通过正常完整的细胞膜, 而处于坏死或中晚期凋亡时的细胞细胞膜被破坏, 这时 PI 可穿过细胞膜并将其染成红色, 可以用来区分坏死细胞和正常细胞。因此, 将 AnnexinV 与 PI 联合使用, 可以将正常细胞与早期凋亡细胞、晚期凋亡细胞以及死细胞区分开来。

(B) 实验方法

(1) 细胞收集

将 1×10⁶ 个/mL 细胞接种到培养皿或者培养板中。在 5% CO₂ 培养箱中 37°C 预培养 24 h。加入适量浓度的凋亡诱导剂, 继续培养 24 h/48 h。去培养皿中的上清液(收集上清液)。用 PBS 洗细胞 2 次, 适量胰酶消化细胞, 适量培养基或者 PBS 将细胞悬液转移至离心管中, 1000 rpm 离心 3 min, 弃上清。加入 PBS 后 1000 rpm 离心 3 min, 弃上清, 重复此操作一次。加入预先配好的 1×Annexin V Binding solution, 制成终浓度为(1~5)×10⁶ Cells /mL 的细胞悬液, 向细胞悬液中加入 5 uL Annexin V-FITC 结合物, 再加入 5 uL 的 PI solution, 室温下避光培养 15 min, 1 h 内上机检测。

(2) 流式细胞仪分析

流式细胞仪激发光波长用 $Ex=488\text{nm}$, 发射波长 $Em=530\text{nm}$ 。Annexin V-FITC(绿色荧光)通过 FITC 通道(FL1)检测; PI(红色荧光)通过通道 FL3 检测。

3.2.6.4 细胞形态测试

(A) 实验原理

利用 Hoechst33342-PI 双染色法检测化合物对肿瘤细胞的形态及凋亡的影响。Hoechst33342 和 PI (碘化丙啶)是两种常用的 DNA 染料, 均可与细胞核 DNA(或 RNA)结合。Hoechst33342 可用激发波长为 352 nm 的紫外光激发, 发射出波长为 400~500 nm 的蓝色荧光。PI 的激发波长为 488 nm 的绿光, 可发射出波长 630 nm 左右的红色荧光; PI 不能透过正常的细胞膜, 当细胞在处于坏死或晚期凋亡时细胞膜被破坏、通透性改变, 这时细胞核可被 PI 着红色。Hoechst 则为膜通透性的荧光染料, 正常细胞和早期凋亡细胞均可被 Hoechst 染色, 但是正常细胞核的形态呈圆形, Hoechst 着色显淡兰色, 内有较深的兰色颗粒; 而凋亡的细胞核由于细胞质固缩而呈亮蓝色, 或呈分叶, 碎片状和边集化分布不均。

(B) 实验方法

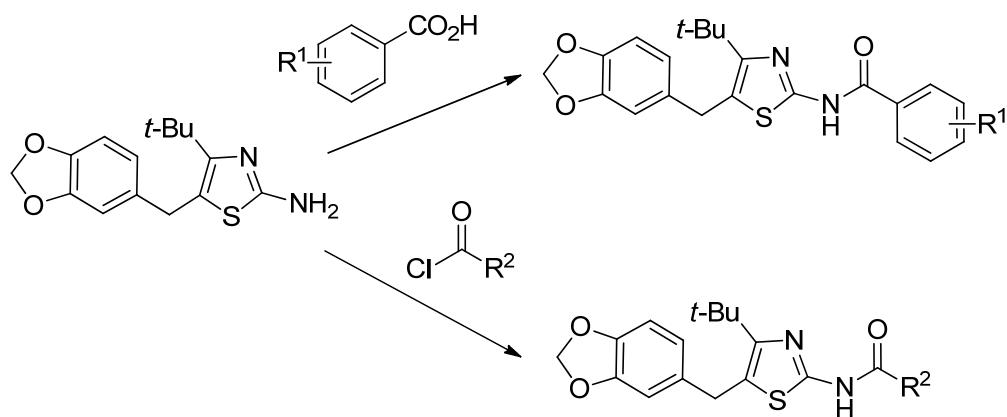
将生长至对数期的 HeLa 细胞加胰酶消化吹散后, 配成 1×10^6 个/mL 单细胞悬液, 2 mL 接种于培养皿中, 设置阴性对照组和化合物处理组, 待细胞铺满培养皿的 70% 面积, 空白对照组加 2 mL RPMI1640 培基, 处理组加入 2 mL 浓度为 100 μM 的化合物 A11, 继续孵育 24 h 后倒掉上层培基, 分别用 2 mL PBS 洗涤两次, 加入 40 μL Hoechst33342/PI 混合液(混合液比例: PI (40 \times)25 μL , Hoechst33342 (100 \times) 10 μL , PBS 65 μL)混匀, 37 °C 染色 15 min 后, 2 mL PBS 洗去染料, 置于 20 倍和 40 倍荧光显微镜下观察细胞的形态。分别用紫外和绿光激发, 拍照记录细胞形态。

3.3 结果与讨论

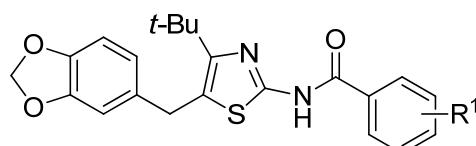
3.3.1 合成实验

3.3.1.1 酰化反应

胺类化合物的酰化反应可以由胺和羧酸酸或相应的酰氯反应来完成, 当酰化剂为羧酸时, 一般需要加入催化剂 DMAP 和偶联剂 DCC, 该反应具有反应条件温和, 副产物少, 操作简单等优点; 当以酰氯为酰化剂时, 一般需加入三乙胺等缚酸剂, 该反应的优点在于反应活性高, 反应时间短, 后处理简单。



苯甲酰化反应，采用羧酸与 DCC/DMAP 反应体系，在室温下，5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑（**D**）与取代苯甲醛在二氯甲烷中反应 1~3 h，生成一系列 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)苯甲酰胺（**E1~E24**），合成结果如表 3.2 所示：

表 3.2 化合物 **E** 的合成结果

化合物	R ¹	反应时间/h	性状	收率/%	熔点/℃
E1	2-CH ₃ -3-NO ₂	2	白色固体	56	196~198
E2	3-CH ₃ -4-NO ₂	2	淡黄色固体	75	140~142
E3	4-CN	2	淡黄色固体	52	154~156
E4	2-CF ₃	3	白色固体	61	110~112
E5	4-CF ₃	3	白色固体	48	130~132
E6	3,5-(CF ₃) ₂	2	白色固体	65	154~156
E7	3-NO ₂	2	黄色固体	75	112~114
E8	3,5-(NO ₂) ₂	2	黄色固体	45	155~157
E9	2-OCH ₃	2	白色固体	48	108~110
E10	2-F	3	淡黄色固体	56	117~119
E11	3-F	3	淡黄色固体	59	118~120
E12	4-F	1	淡黄色固体	78	123~125
E13	2,4-F ₂	2	白色固体	72	141~143
E14	2,6-F ₂	2	白色固体	51	144~146
E15	3,4-F ₂	1	白色固体	77	135~137
E16	2,4,5-F ₃	2	白色固体	82	128~130
E17	2-Cl	3	白色固体	61	135~136
E18	4-Cl	3	白色固体	89	134~136
E19	4-F-2-Cl	3	白色固体	67	122~124
E20	2-F-4-Cl	3	白色固体	49	141~144

E21	2-F-6-Cl	3	米白色固体	52	154~156
E22	2,4-Cl ₂	2	白色固体	81	125~127
E23	3,4-Cl ₂	3	白色固体	89	148~151
E24	2,6-Cl ₂	3	白色固体	56	172~174

从表 3.2 可以看出, 苯甲酰胺的收率在 41%~91% 之间。从取代基的影响来看, 苯甲酸苯环上含有供电子基团的化合物收率要低于含吸电子基团的化合物。另外, 邻位有取代基的化合物收率相对较低, 因为邻位取代基会增大空间位阻, 增加了反应位点的进攻难度。

脂肪酰化反应采用的是酰氯和三乙胺反应体系, 冰浴条件下, 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (**D**) 分别与短链脂肪酰氯反应得到 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基) 脂肪酰胺 (**F1~F8**), 合成结果列入表 3.3 中:

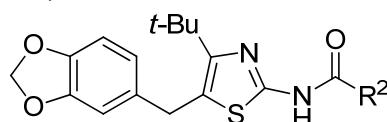


表 3.3 中间体 **F** 的合成结果

化合物	R ²	反应时间/h	性状	收率/%	熔点/°C
F1	CH ₃	0.5	白色固体	76	185~187
F2	CH ₂ Cl	0.5	白色固体	82	127~129
F3	CHCl ₂	0.5	白色固体	60	125~127
F4	CHClCH ₃	0.5	白色固体	63	116~118
F5	CH ₂ CH ₂ Cl	0.5	白色固体	75	143~145
F6	CHBrCH ₃	0.5	白色固体	71	130~132
F7	CH(CH ₃) ₂	0.5	白色固体	72	128~130
F8	(CH ₂) ₃ Cl	0.5	棕黄色液体	74	—

从表 3.3 可知, 脂肪酰胺化合物的收率处于 60%~82% 之间, 收率与取代基之间并没有呈现出明显的规律性, 可能是由于酰氯的活性足够高, 取代基对反应的影响被大大弱化。影响收率的主要因素是后处理, 化合物 **F1**、**F2**、**F5** 和 **F6** 是通过重结晶方式得到的, 收率的损失跟化合物在溶剂中的溶解度相关; 化合物 **F3**、**F4** 和 **F7** 均通过柱层析分离提纯而得到, 因为在采取与 **F1** 相同的后处理方法时, 并没有固体析出, 而硅胶柱对含有氨基噻唑基团的化合物吸附作用较强, 因而损失较大, 导致收率偏低。

3.3.1.2 胺化反应

胺化是指在有机化合物分子中引入氨基的过程。选择 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基) 氯乙酰胺 (**F2**) 和化合物 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氯丙酰胺 (**F5**), 用不同的胺取代其酰胺键碳原子上的氯原子, 从而引入氨基, 得到一系列 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氨基乙酰胺类化合物 (**G**) 和 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氨基丙酰胺类化合物 (**H**), 具体合成结果见表 3.4 和 3.5:

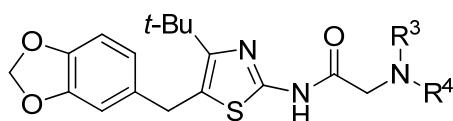


表 3.4 化合物 G 的合成结果

化合物	NR ³ R ⁴	反应时间/h	性状	收率/%	熔点/℃
G1	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ -	12	白色固体	81	171~173
G2	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{CH}_2$ -	12	白色固体	87	153~155
G3	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{C}_6\text{H}_4$ -	12	白色固体	85	180~183
G4	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ -	24	灰白色固体	78	198~200
G5	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{O}$ -	16	白色固体	72	103~105
G6	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2$ -	14	白色固体	85	88~90
G7	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}-\text{Boc}$ -	14	白色固体	86	140~142
G8	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NH}$ -	2	黄色固体	71	108~110
G9	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ -	12	米白色固体	78	160~162
G10	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ -	16	白色固体	84	126~128

合成结果显示, 各化合物的收率处于 75%~87% 之间。化合物 **G8** 由化合物 **G7** 脱去 Boc 保护基而得到, 由于 **G8** 极性较大, 水溶性较好, 因此在经过多次萃取之后, 依然有部分残留在水层, 导致收率偏低 (71%)。其他化合物中, 除吗啉取代的化合物 **G9** 收率在 80% 以下之外, 含哌啶和 *N*-取代哌嗪的化合物收率处于 81%~87% 之间, 整体差距较小。

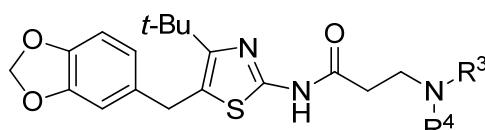
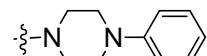
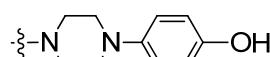
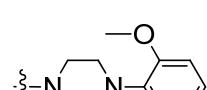
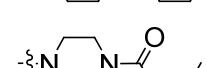
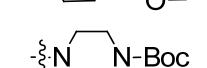
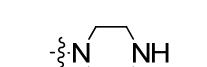
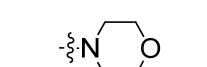
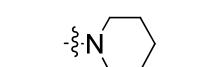


表 3.5 化合物 H 的合成结果

化合物	NR ³ R ⁴	反应时间/h	性状	收率/%	熔点/℃
H1	- $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ -	24	白色固体	85	139~141

H2		24	白色固体	89	148~150
H3		24	白色固体	84	170~172
H4		48	灰白色固体	74	192~194
H5		24	白色固体	85	145~147
H6		24	白色固体	80	140~142
H7		24	白色固体	87	130~133
H8		2	黄色固体	74	~
H9		24	白色固体	88	102~104
H10		24	白色固体	84	124~126

比较化合物 **H** 和 **G** 的反应合成结果可以发现, 化合物 **H** 的合成结果与化合物 **G** 类似, 二者收率及熔点与取代基的变化规律基本一致。对于相同取代基而言, 化合物 **H** 的熔点低于对应的化合物 **G**, 即随着化合物碳链的增长, 熔点降低。化合物 **H** 的反应时间比化合物 **G** 要长, 这可能与底物的活性有关, 当氯原子处于羰基的 α 位 (**F2**) 时, 反应活性较高, 而当氯原子处于羰基的 β 位 (**F5**) 时, 反应活性较低。

3.3.2 结构表征

3.3.2.1 ^1H NMR 分析

3 个系列目标化合物物 **E**、**G**、**H** 以及中间体 **D** 和 **F** 均经过核磁共振氢谱表征, 详细数据见 3.2 实验部分。现以化合物 **G1** 和 **H1** 为例, 对化合物进行氢谱解析, 谱图如图所示, 质子归属列入表 3.6 中。

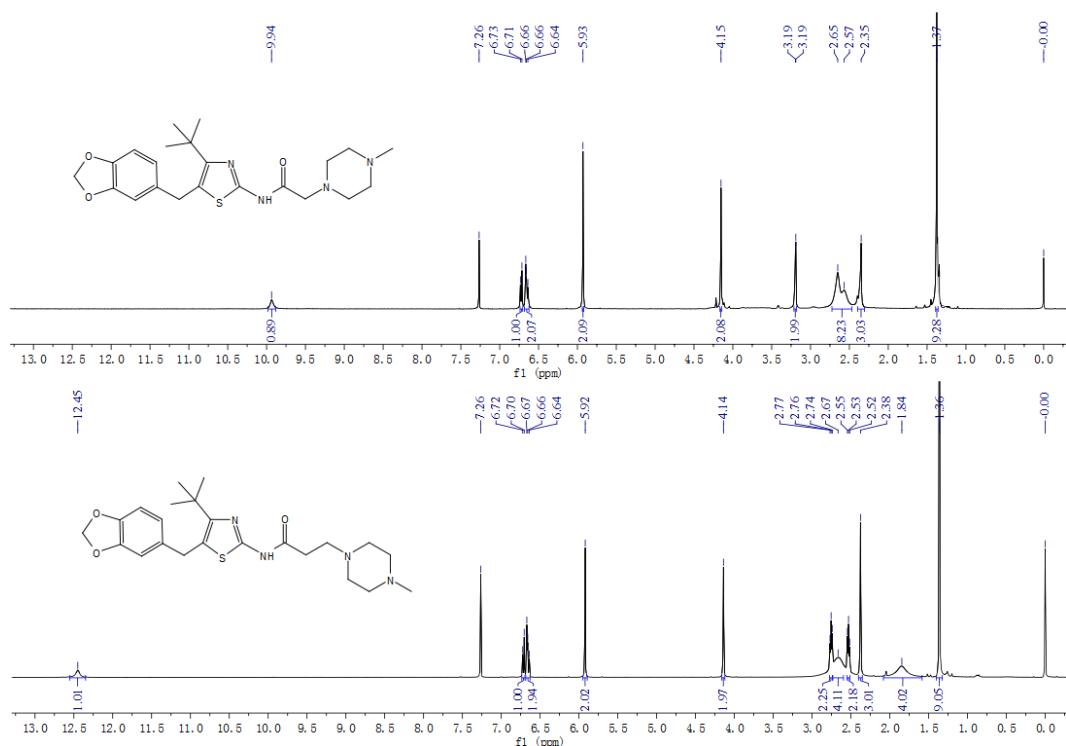


图 3.1 化合物 J1 和 J7 的氢谱图

表 3.6 化合物 J1 和 J7 的质子归属

G2	δ	H2	δ
3×CH ₃		3×CH ₃	1.36 (s)
CH ₃	2.35 (s)	CH ₃	2.38 (s)
哌嗪环	2.57~2.65 (m, 8H)	哌嗪环	1.84 (bs, 4H) 2.67 (bs, 4H)
COCH ₂	3.19 (s)	COCH ₂	2.53 (d, J = 4.0 Hz)
		CH ₂	2.76 (d, J = 4.0 Hz)
ArCH ₂	4.15 (s)	ArCH ₂	4.15 (s)
OCH ₂ O	5.93 (s)	OCH ₂ O	5.92 (s)
C ₆ H ₃	6.62~6.68 (m, 2H) 6.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H)	C ₆ H ₃	6.64~6.67 (m, 2H) 6.71 (d, J = 8.0 Hz, 1H)
CONH	9.94 (bs)	CONH	12.45 (bs)

从氢谱图可以看出, 化合物 **G1** 和 **H1** 哌嗪环上的 8 个氢并没有裂分, 可能是由于 3,5 位的 4 个氢与 2,6 位的 4 个氢所处化学环境相差很小, 且核磁共振仪的分辨率不够高, 所以裂分不明显。在化合物 **G1** 中, 哌嗪环上的 8 个氢出峰为两个宽单峰且部分重叠形成一个不规则的多峰, 而在化合物的氢谱图中, 两个宽单峰之间的距离有所增大。另外, 在化合物 **H1** 中, 酰基上的两个亚甲基互相耦合, 形成两组三峰, 与 **G1** 中的对应的亚甲基相比, 其化学位移减小, 因为增加一个亚甲基增大了其电子云密度, 屏蔽作用增强。

3.3.2.1 ¹³C NMR 分析

目标化合物物 **G** 和 **H** 均经过核磁共振碳谱表征, 详细数据见 3.2 实验部分。现以化合物 **G1** 和 **H1** 为例, 对化合物进行碳谱解析, 谱图如图所示, 质子归属列入表 3.7 中。

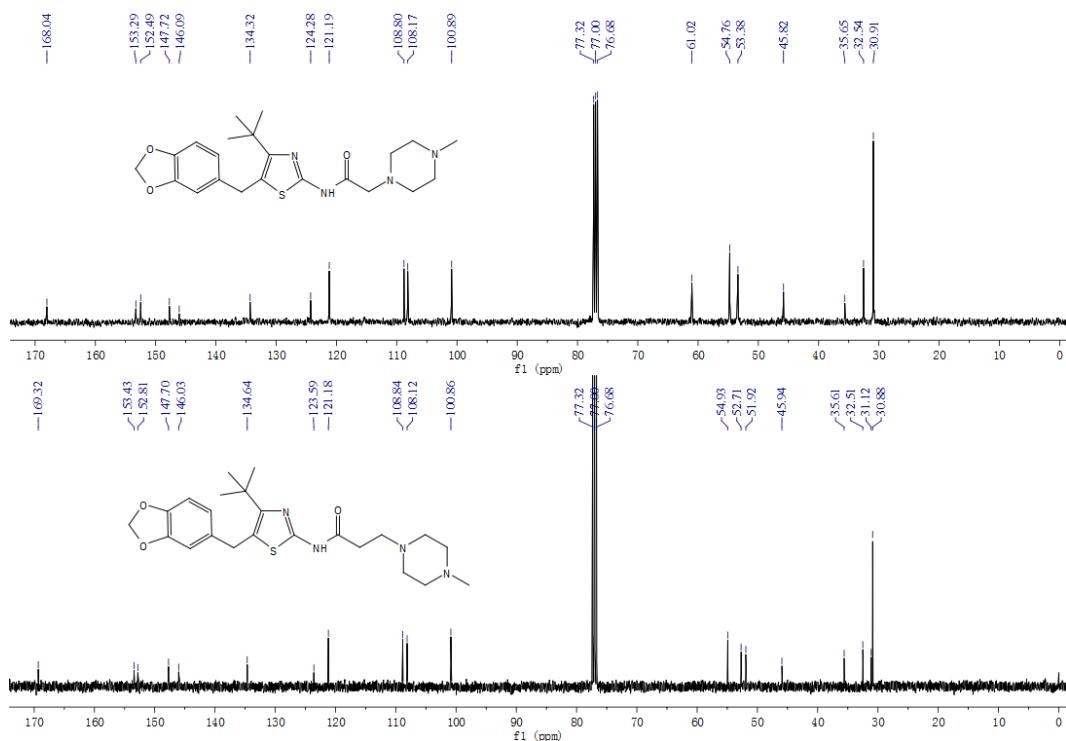


图3.2 化合物 **G1** 和 **H1** 的碳谱图

表 3.7 化合物 **G1** 和 **H1** 的碳原子归属

G1	δ	H1	δ
$3 \times \text{CH}_3$	30.91	$3 \times \text{CH}_3$	30.88
		CH_2	31.12
ArCH_2	32.50	ArCH_2	32.51
C	35.60	C	35.61
CH_3	45.77	CH_3	45.94
哌嗪环	53.34, 54.71	哌嗪环	51.92, 52.71
CH_2 (羰基 α 位)	60.98	CH_2 (羰基 α 位)	54.97
OCH_2O	100.84	OCH_2O	100.86
C_6H_3	108.17, 108.80, 121.19, 134.32, 147.72, 152.49	C_6H_3	108.12, 108.84, 121.18, 134.64, 147.70, 152.81
噻唑环	124.28, 146.09, 153.29	噻唑环	123.59, 146.03, 153.43
CO	168.04	CO	169.32

化合物 **G1** 和 **H1** 的羰基碳分别出峰在 168.04 和 169.32, 羰基 α 位的亚甲基碳出峰分别在 60.98 和 54.97, 化合物 **H1** 中酰基上的另一个亚甲基碳原子出峰在 31.12。二者结构相同部分的碳原子出峰位置相差不大。

3.3.3 抗肿瘤活性

3.3.3.1 体外抗肿瘤活性评价

采用 MTT 法测试了中间体 **D**、**F** 和 3 个系列目标化合物 **E**、**G**、**H** 对宫颈癌 (HeLa)、非小细胞肺癌 (A549) 及乳腺癌 (MCF-7) 3 种肿瘤细胞株的体外抑制活性, 选用 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 作为阳性对照物, 利用 SPSS 软件分别计算其半数抑制浓度 (IC_{50}) , 测试结果列入表 3.8、3.9、3.10 和 3.11 中:

表 3.8 化合物 **E** 的抗肿瘤活性

化合物	IC_{50} (μM)			化合物	IC_{50} (μM)		
	HeLa	A549	MCF-7		HeLa	A549	MCF-7
E1	95.5 \pm 9.2	> 500	> 200	E14	170.7 \pm 11.9	188.7 \pm 40.4	> 200
E2	> 200	> 200	> 200	E15	32.1 \pm 0.3	125.5 \pm 31.8	58.9 \pm 18.2
E3	43.1 \pm 7.7	121.1 \pm 6.9	97.9 \pm 1.4	E16	> 200	> 200	> 200
E4	> 200	> 200	> 200	E17	> 200	> 200	> 200
E5	187.7 \pm 7.4	186.0 \pm 17.3	165.7 \pm 10.1	E18	> 200	> 200	> 200
E6	> 200	> 200	> 200	E19	> 200	> 200	> 200
E7	> 200	> 200	> 200	E20	131.7 \pm 26.3	> 200	> 200
E8	7.7 \pm 2.3	80.6 \pm 18.8	> 200	E21	147.4 \pm 1.1	69.2 \pm 9.7	> 200
E9	> 200	164.5 \pm 21.0	> 200	E22	> 200	> 200	> 200
E10	> 200	> 200	> 200	E23	> 200	> 200	> 200
E11	95.9 \pm 0.1	194.6 \pm 18.4	> 200	E24	> 200	> 200	> 200
E12	163.9 \pm 33.5	> 200	> 200	D	52.8 \pm 5.6	126.4 \pm 8.2	80.3 \pm 1.2
E13	> 200	> 200	> 200	5-FU	56.5 \pm 3.4	26.0 \pm 6.0	79.3 \pm 5.1

从表 3.8 中可以看出, 中间体 **D** 对 HeLa 细胞的体外 IC_{50} 为 $52.8 \pm 5.6 \mu M$, 与阳性对照物 5-FU 相当, 而在其氨基上引入苯甲酰基之后, 大部分化合物活性变差, 其 IC_{50} 值上升到 $100 \mu M$ 以上; 化合物 **E3**、**E8** 和 **E15** 具有较好的抑制活性, 其 IC_{50} 分别为 43.1 ± 7.7 、 7.7 ± 2.3 和 $32.1 \pm 0.3 \mu M$, 低于阳性对照 5-FU。对于 A549 细胞, 化合物 **E3**、**E8** 和 **E15** 的 IC_{50} 值同样低于中间体 **D**, 但是均高于阳性对照物 5-FU, 说明此类化合物对 A549 细胞的抑制活性较差。而对于 MCF-7 细胞株, 只有化合物 **E15** 的 IC_{50} 值 (58.9 ± 18.2) 低于中间体 **D**, 同时也低于阳性对照物 5-FU ($IC_{50} = 79.3 \pm 5.1 \mu M$)。从取代基的角度考虑, 化合物 **E3**、**E8** 和 **E15** 分别含有强吸电子基团 4-CN、3,5-(NO₂)₂ 和 3,4-F₂, 表明吸电子基团有利于化合物抗肿瘤活性的增强。

从设计角度分析, 在所有测试化合物当中, 只有化合物 **E8** 对 HeLa 细胞的抑制活性明显优于先导化合物 **2-12** ($IC_{50} = 29 \mu M$), 其他化合物对 3 种供试肿瘤细胞株的抑制活性均弱于先导化合物, 说明胡椒环的引入并不能显著增强此类化合物的抗肿瘤活性。

表 3.9 中间体 F 的抗肿瘤活性

化合物	IC ₅₀ (μM)		
	HeLa	A549	MCF-7
F1	> 200	> 200	> 200
F2	33.7 ± 2.7	42.8 ± 3.7	61.6 ± 3.8
F3	32.6 ± 5.7	8.3 ± 1.8	44.4 ± 1.4
F4	34.1 ± 4.9	61.8 ± 6.6	71.9 ± 1.0
F5	34.0 ± 5.1	34.7 ± 6.7	62.4 ± 1.5
F6	37.2 ± 0.7	124.6 ± 5.8	85.9 ± 9.2
F7	> 200	> 200	> 200
F8	29.7 ± 1.1	67.7 ± 6.6	84.3 ± 2.3
5-FU	56.5 ± 3.4	26.0 ± 6.0	79.3 ± 5.1

从表 3.9 看出, 在氨基上引入脂肪酰基之后, 大部分化合物对测试细胞株的抑制活性有所增强, 其中, 化合物 **F3** 对 3 种测试细胞株的 IC₅₀ 值分别为 32.6±5.7 μM、8.3±1.8 μM 和 44.4±1.4 μM, 均低于中间体和阳性对照物 5-FU。另外, 化合物 **F3** 和 **F4** 对 HeLa 和 MCF-7 的 IC₅₀ 值低于阳性对照物, 化合物 **F6** 和 **F8** 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 值低于阳性对照物, 对 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值与阳性对照物接近。化合物 **F1** 和 **F7** 的对 3 种测试细胞的 IC₅₀ 值均在 100 μM 以上。通过构效关系分析发现, 脂肪酰基上含有卤原子的化合物要明显好于不含卤原子的化合物。

表 3.10 化合物 G 的抗肿瘤活性

化合物	IC ₅₀ (μM)		
	HeLa	A549	MCF-7
G1	53.9 ± 4.5	10.7 ± 0.1	95.8 ± 6.0
G2	11.7 ± 1.1	4.6 ± 2.4	36.2 ± 0.3
G3	> 200	160.2 ± 13.0	> 200
G4	52.0 ± 4.5	51.83 ± 4.16	58.8 ± 10.4
G5	> 200	> 200	> 200
G6	7.0 ± 3.2	25.4 ± 9.6	> 200
G7	106.6 ± 46.0	131.9 ± 16.3	> 200
G8	63.4 ± 11.3	27.0 ± 11.9	89.3 ± 4.7
G9	6.4 ± 2.2	66.6 ± 6.8	> 200
G10	31.3 ± 5.4	> 200	> 200
5-FU	56.5 ± 3.4	26.0 ± 6.0	79.3 ± 5.1

从表 3.10 中可以看出, 化合物 **G** 的整体活性相对于化合物 **F** 而言, 有了明显的提升。其中, 化合物 **G2** 对 3 种供试细胞的 IC_{50} 值分别为 $11.7 \pm 1.1 \mu\text{M}$ 、 $4.6 \pm 2.4 \mu\text{M}$ 和 $36.2 \pm 0.3 \mu\text{M}$, 比阳性对照物低 2~5 倍; 化合物 **G6** 和 **G9** 对 HeLa 细胞的 IC_{50} 值分别为 $7.0 \pm 3.2 \mu\text{M}$ 和 $6.4 \pm 2.2 \mu\text{M}$, 远低于阳性对照物 5-FU 的 $56.5 \pm 3.4 \mu\text{M}$ 。整体而言, 化合物对 HeLa 细胞的抑制活性最好, 而对 MCF-7 细胞的抑制活性最差, 说明此类化合物对癌细胞的抑制作用具有一定的选择性。从取代基的类别来考虑, 喹嗪系列 (**G1~G8**) 和吗啉 (**G9**) 取代的化合物具有相对更好的活性, *N*-Boc 喹嗪 (**G7**) 脱去 Boc 保护基后, 活性增强。

测试结果表明, 在酰胺键 α 位碳引入氨基, 有利于增强此类化合物对 HeLa 细胞和 A549 细胞的抑制活性。

表 3.11 化合物 **H** 的抗肿瘤活性

化合物	IC_{50} (μM)		
	HeLa	A549	MCF-7
H1	45.9 ± 1.01	66.3 ± 7.1	58.2 ± 5.2
H2	37.7 ± 0.7	51.2 ± 0.6	42.6 ± 0.7
H3	> 200	> 200	> 200
H4	95.1 ± 12.9	52.9 ± 4.5	61.3 ± 8.0
H5	199.6 ± 22.9	154.7 ± 1.8	> 200
H6	81.5 ± 2.1	> 200	> 200
H7	72.0 ± 2.4	56.6 ± 9.5	84.5 ± 1.0
H8	68.6 ± 1.7	62.7 ± 7.6	59.1 ± 3.6
H9	131.9 ± 8.4	79.5 ± 2.3	108.5 ± 0.2
H10	13.8 ± 1.6	25.7 ± 2.6	30.8 ± 5.6
5-FU	56.5 ± 3.4	26.0 ± 6.0	79.3 ± 5.1

从表 3.11 可以看出, 化合物 **H** 的整体抗肿瘤活性一般, 其中化合物 **H10** 对 3 种供试肿瘤细胞的 IC_{50} 分别为 13.8 ± 1.6 、 25.7 ± 2.6 和 $30.8 \pm 5.6 \mu\text{M}$, 均稍低于阳性对照物 5-FU。另外, 化合物 **H1** 和 **H2** 对 HeLa 细胞和 MCF-7 细胞的抑制活性与阳性对照物相当, 化合物 **H4** 和 **H8** 对 MCF-7 细胞的抑制活性与阳性对照物相当。除化合物 **H10** 外, 其他化合物的活性随取代基变化规律与化合物 **G** 基本一致。

而与中间体 **F5** 相比, 多数化合物的抗肿瘤活性反而有所下降。通过对化合物 **G** 和 **H** 的活性测试结果分析, 可以发现, 在酰胺键 α 位碳引入氨基比 β 位引入氨基更有利于增强化合物的抗肿瘤活性。对本章各类化合物的抗肿瘤活性进行汇总式构效关系分析如下图所示:

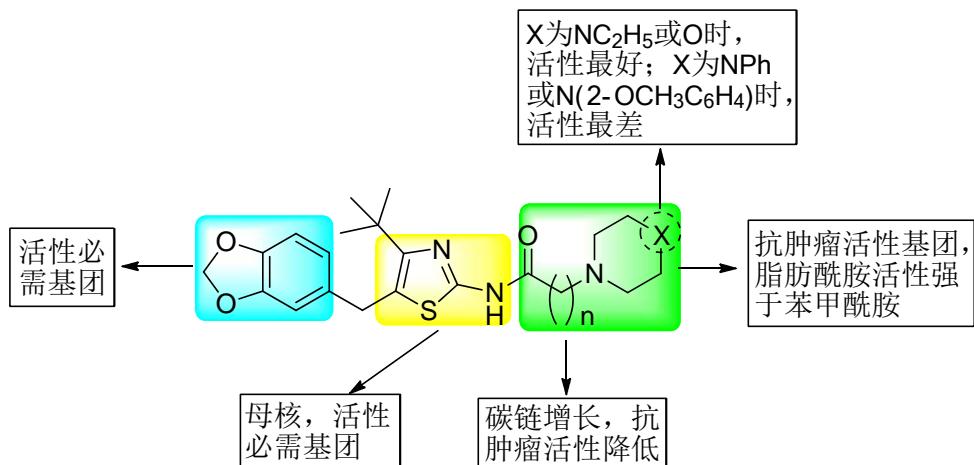
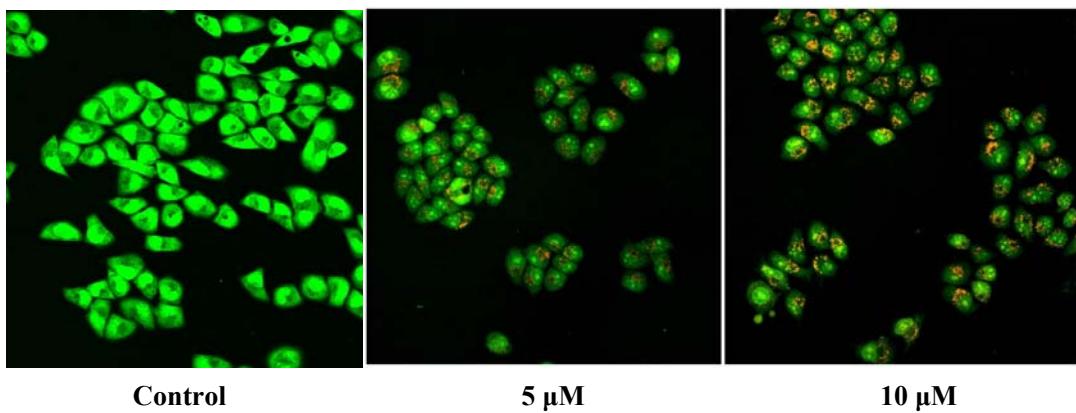


图 3.3 嘥唑酰胺类化合物构效关系

3.3.2.2 细胞形态观察

采用 AO/EB 双染的方法, 观察化合物对 HeLa 细胞形态的影响, 在 $5 \mu\text{M}$ 和 $10 \mu\text{M}$ 浓度下, 分别用化合物 **G2** 处理 HeLa 细胞 12 h 的双染结果如图 3.4 所示。

图 3.4 化合物 **G2** 处理 12 h 后的双染情况

吖啶橙 (AO) 能够进入细胞膜完整的细胞, 与细胞核 DNA 结合, 使之发出明亮的绿色荧光。而溴乙锭 (EB) 只能透过受损的细胞膜, 与细胞核 DNA 结合后发出橘红色荧光。凋亡的细胞呈现为染色增强、荧光更为明亮、均匀一致的圆状或固缩状、团块状结构。而非凋亡细胞核呈现荧光深浅不一的结构样特征。

从图 3.4 可以看出, 经过化合物 **G2** 处理 12 h 之后, 细胞出现了明显的凋亡状态。在空白对照组中, 细胞之间紧密相连, 细胞形态不均, 呈菱形或多边形, 细胞核没有被染色。而在实验组中, 可以很明显地看到凋亡细胞的特征, 即细胞之间逐渐隔开, 细胞变成椭圆形或圆形, 细胞膜破裂, 细胞质外溢, 细胞核被染成橙色, 且随着浓度的增大, 凋亡现象更加明显。

3.3.2.3 细胞周期分析

碘化丙啶(Propidium, 简称 PI)是一种双链 DNA 的荧光染料。碘化丙啶和双链 DNA 结合后可以产生荧光, 并且荧光强度和双链 DNA 的含量成正比。细胞内的 DNA 被碘

化丙啶染色后，可以用流式细胞仪对细胞进行 DNA 含量测定，然后根据 DNA 含量的分布情况，可以进行细胞周期和细胞凋亡分析。

利用流式细胞术测试了化合物 **G2** 在 5 μM 和 10 μM 浓度下，作用 HeLa 细胞 12 h 之后，细胞的周期情况，实验结果如图 3.5 所示：

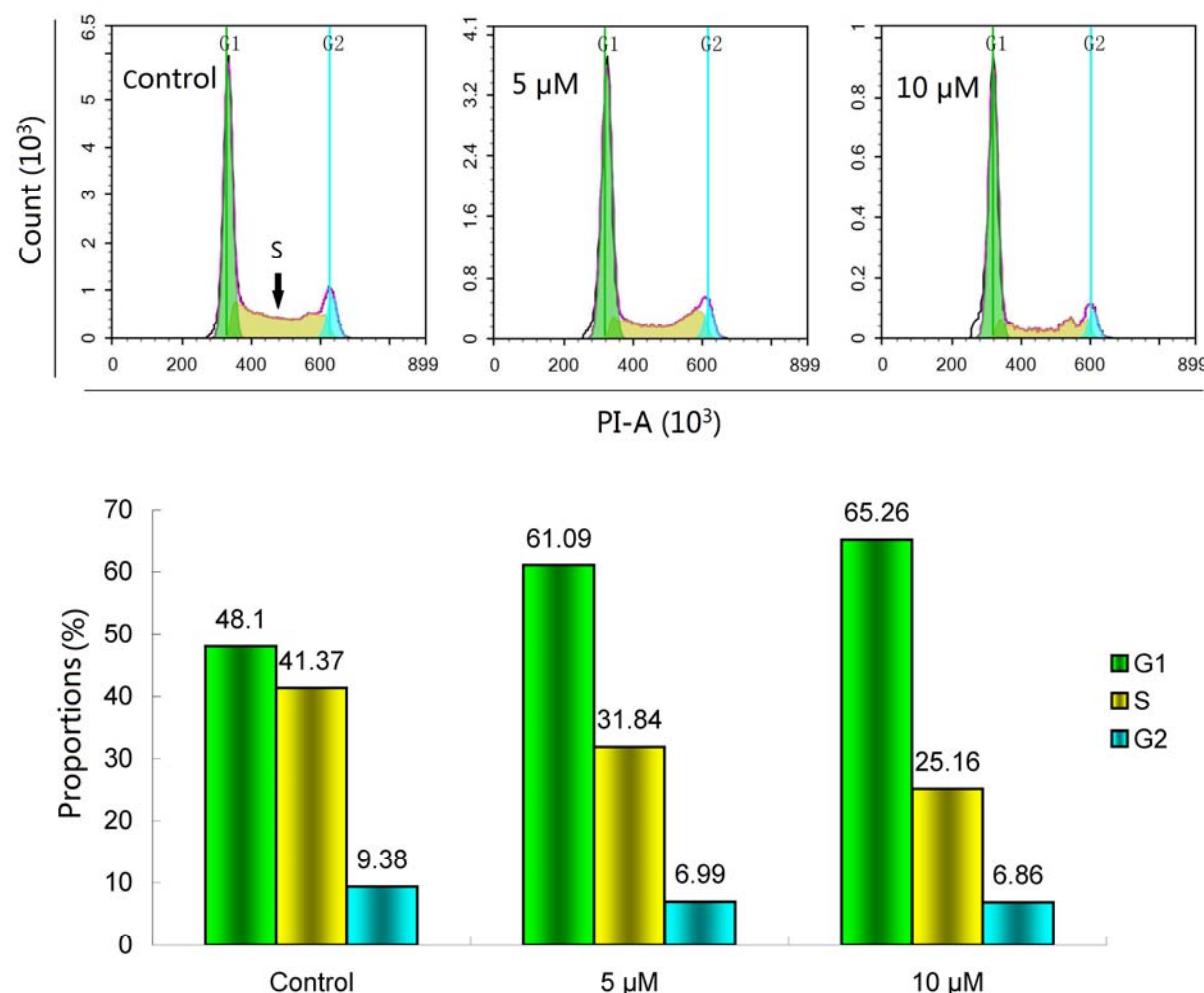


图 3.5 化合物 **G2** 对细胞周期的影响(12 h)

从细胞周期分析结果可以看出，化合物 **G2** 在测试浓度下，对 HeLa 细胞的有丝分裂周期产生了明显的阻滞作用。G1 期细胞的比例从空白对照组的 48.10% 上升到 5 μM 组的 61.09% 和 10 μM 组的 65.26%，而 S 期细胞比例则由 41.37% 下降到 31.84% 和 25.16%，G2 期细胞比例从 9.38% 下降到 6.99% 和 6.86%。从而表明，化合物 **G2** 可以有效地阻滞 HeLa 细胞的有丝分裂在 G1 期。

3.4 本章小结

(1) 设计合成了 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)苯甲酰胺类化合物 (**E**) 24 个、*N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-2-氨基乙酰胺类化合物 (**G**) 10 个和 *N*-(5-胡椒基-4-叔丁基噻唑-2-基)-3-氨基丙酰胺类化合物 (**H**) 10 个。

(2) 体外抗肿瘤活性测试, 在化合物 **E** 中, 化合物 **E8** ($IC_{50} = 7.7 \pm 2.3 \mu\text{M}$) 对 HeLa 细胞的抑制活性优于阳性对照物和先导化合物 **3-12**, 其他化合物的活性较差; 在中间体 **F** 中, 化合物 **F3** ($IC_{50} = 8.3 \pm 1.8 \mu\text{M}$) 对 A549 细胞的抑制活性优于阳性对照物; 在化合物 **G** 中, 化合 **G2** ($IC_{50} = 11.7 \pm 1.1 \mu\text{M}$)、**G6** ($IC_{50} = 7.0 \pm 3.2 \mu\text{M}$) 和 **G9** ($IC_{50} = 6.4 \pm 2.2 \mu\text{M}$) 对 HeLa 细胞的抑制活性明显优于阳性对照物, 化合物 **G1** ($IC_{50} = 10.7 \pm 0.1 \mu\text{M}$) 和 **G2** ($IC_{50} = 4.6 \pm 2.4 \mu\text{M}$) 对 A549 细胞的抑制活性明显优于阳性对照物, 能选择性抑制 HeLa 细胞和 A549 细胞; 在化合物 **H** 中, 化合物 **H10** 对 HeLa 细胞的 IC_{50} 为 $13.8 \pm 1.6 \mu\text{M}$, 优于阳性对照物。

构效关系分析, 并与相应的先导化合物进行比较发现, 胡椒环的引入并没有显著提高其抗肿瘤活性, 进一步优化: 苯甲酰基替换为脂肪酰基, 其抗肿瘤活性有所增强; 其中, 当脂肪酰基为 2-氨基乙酰基时, 化合物具有最好的体外抗肿瘤活性。

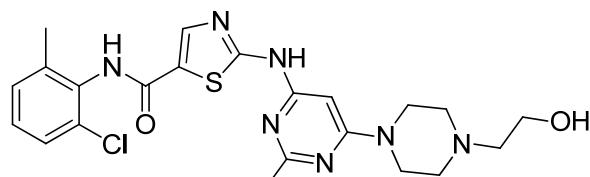
(3) 选择化合物 **G2**, 利用细胞双染、流式细胞周期等技术手段, 对该类化合物的抗肿瘤机制进行了初步探讨。结果表明, 该化合物通过诱导细胞凋亡来实现对癌细胞的抑制, 并能阻滞 HeLa 细胞的有丝分裂在 G1 期。

第4章 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑的合成与抗肿瘤活性

4.1 引言

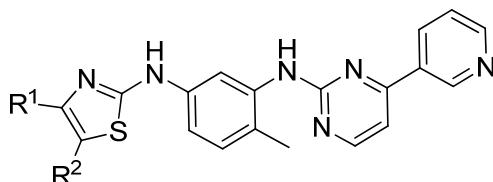
2-芳氨基噻唑类化合物具有广泛的生物活性，如抗结核^[112,113]、抗病毒^[114,115]、抗痉挛^[116]、抗菌^[117,118]、抗利什曼虫^[119]及抗朊病毒^[120]等。而2-芳氨基噻唑在抗癌药物中的应用更加广泛，针对不同靶点和细胞的药物分子层出不穷。近年来，2-氨基噻唑衍生物在抗癌领域的研究成为一个热点，一大批具有优秀抗癌活性的2-芳氨基噻唑衍生物被合成和报道。

达沙替尼（Dasatinib）^[121,122]是一个含有2-芳氨基噻唑活性结构的抗癌药物，该药于2009年5月经美国食品与药品管理局（FDA）正式批准上市，用于治疗各期慢性髓细胞白血病（CML）、对包括甲磺酸伊马替尼在内的治疗方案耐药或不能耐受的慢性髓细胞样白血病、费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病（Ph+ALL）和实体瘤患者的治疗。



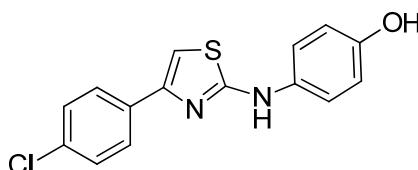
达沙替尼

Luo等^[123]以达沙替尼为先导化合物合成了一系列2-芳氨基噻唑化合物并测试了其对人白血病细胞K562和人乳腺癌细胞MCF-7的抑制活性，其中化合物**4-1a**、**4-1b**和**4-1c**对2种细胞的IC₅₀列入表4.1中。可以看出，化合物**4-1a**对MCF-7的抑制活性优于阳性对照物伊马替尼（IC₅₀=7.739 μM），化合物**4-1b**和**4-1c**对MCF-7的抑制活性与阳性对照物相当，该类化合物对K562细胞的抑制活性均弱于阳性对照物伊马替尼（IC₅₀=1.082 μM）。

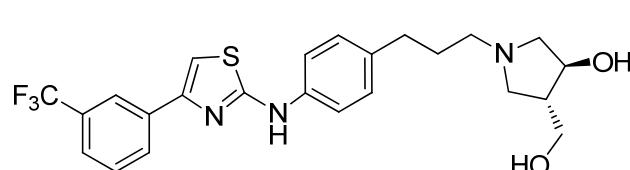
**4-1a~4-1c**表4.1 化合物**4-1**对K562和MCF-7的IC₅₀ (μM)

化合物	R ¹	R ²	K562	MCF-7
4-1a	CH ₃	CH ₂ CO ₂ Et	18.228	6.240
4-1b	CH ₂ CO ₂ Et	H	15.090	9.126
4-1c	CONH(3-FC ₆ H ₄)	H	17.345	9.579

SKI-II 是由 French 等^[124]经高通量筛选得到的鞘氨醇激酶 (SK) 抑制剂, 其对 SK1 和 SK2 的 IC_{50} 分别为 $16 \mu\text{M}$ 和 $7.9 \mu\text{M}$ 。SK 能调控发挥促凋亡的神经酰胺 (Cer) /鞘氨醇 (Sph) 与促存活的鞘氨醇 1-磷酸 (S1P) 之间的平衡, 是一个潜在的癌症治疗新靶点。在 SK 抑制剂的开发与设计中, SKI-II 是一个常用的先导化合物。Gustin 等^[125]以 SKI-II 为先导化合物, 设计合成了化合物 4-3, 其对 SK1 和 SK2 的 IC_{50} 分别为 20 nM 和 148 nM , 活性较 SKI-II 有明显提高, 且对 SK1 的选择性较强。

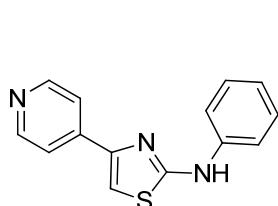


4-2 (SKI-II)

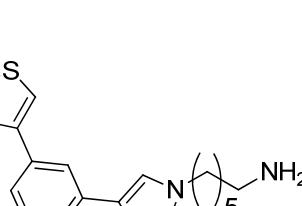


4-3

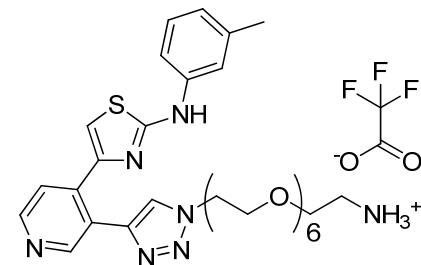
化合物 PAT (4-4) 能诱导细胞自噬性死亡, 选择性抑制 von Hippel-Lindau (VHL) 基因缺陷肾癌细胞的增殖, 对 RCC4 的 GI_{50} 为 $7 \mu\text{M}$ ^[126,127]。Bonnet 等^[128]以 PAT 为先导化合物, 设计合成了一系列肾癌细胞抑制剂。其中, 化合物 4-5a 对肾癌细胞 RCC4 和 RCC4/VHL 的 IC_{50} 分别为 $1.7 \mu\text{M}$ 和 $2.6 \mu\text{M}$, 4-5b 对肾癌细胞 RCC4 和 RCC4/VHL 的 IC_{50} 分别为 $2.9 \mu\text{M}$ 和 $3.9 \mu\text{M}$ 。



4-4 (PAT)

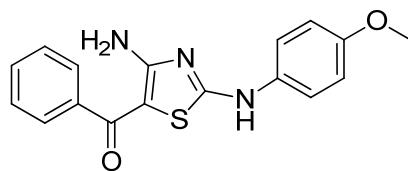


4-5a

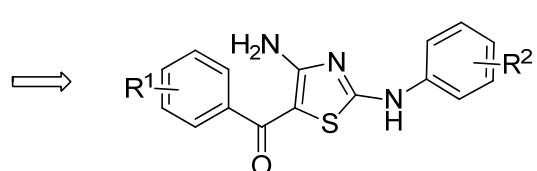


4-5b

DAT1 能作用于秋水仙碱结合位点, 通过破坏细胞纺锤体和染色体结构、抑制微管聚集来实现对细胞有丝分裂的阻滞作用, 对 HCT116 ($IC_{50} = 0.3 \pm 0.0947 \mu\text{M}$)、HeLa ($IC_{50} = 0.054 \pm 0.007 \mu\text{M}$)、A549 ($IC_{50} = 0.352 \pm 0.131 \mu\text{M}$)、CaSKi ($IC_{50} = 0.2 \pm 0.06 \mu\text{M}$) 和 SW620 ($IC_{50} = 0.2 \pm 0.06 \mu\text{M}$) 等多种癌细胞具有良好的抑制活性^[129]。Romagnoli 等^[130]以 DAT1 为先导化合物, 合成了一系列微管蛋白抑制剂, 其中化合物 4-7a 和 4-7b 对 3 种癌细胞株 FM3A、Molt4 和 CEM 的 IC_{50} 达到 nM 级(见表 4.2), 化合物 4-7a 对 FM3A 细胞的 IC_{50} 稍大于阳性对照物 CA-4, 对 Molt4 和 CEM 的 IC_{50} 低于阳性对照物 CA-4, 化合物 4-7b 对 3 种细胞株的抑制活性均强于阳性对照物 CA-4。进一步实验显示, 化合物 4-7a 和 4-7b 对微管蛋白的 IC_{50} 分别为 $1.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$ 和 $0.72 \pm 0.01 \mu\text{M}$, 前者与阳性对照物 CA-4 ($IC_{50} = 1.4 \pm 0.1 \mu\text{M}$) 相当, 后者优于阳性对照物 CA-4。



4-6 (DAT1)



4-7a~4-7b

表 4.2 化合物 4-7 对 FM3A、Molt4 和 CEM 的 IC_{50} (nM)

化合物	R ¹	R ²	FM3A	Molt4	CEM
4-7a	4-OCH ₃	3-OCH ₃	50 ± 26	4.0 ± 2.3	9.9 ± 1.8
4-7b	4-CH ₃	3,4,5-(OCH ₃) ₃	23 ± 10	6.0 ± 1.1	9.4 ± 3.6

Lu 等^[131,132]以化合物 SMART 为先导化合物, 在噻唑环 2-位引入氨基, 得到了微管蛋白抑制剂 **4-9a**、**4-9b**、**4-9c** 和 **4-9d**, 这 4 个化合物对黑色素瘤细胞 B16-F1、A375 和人前列腺癌细胞 DU 145、PC-3、LNCaP、PPC-1 表现出良好的抑制活性, 其 IC_{50} 处于 12~84 nM 之间 (表 4.3)。另外化合物 **4-9a**、**4-9b** 和 **4-9c** 对 OVCAR-8 和 p-糖蛋白过度表达的多药耐药性癌细胞株 NCI/ADR-RES 的 IC_{50} 分别为 46 ± 6 nM、28 nM、 44 ± 3 nM 和 27 nM、21 nM、 25 ± 6 nM, 耐药系数分别为 0.6、0.8 和 0.6, 远低于阳性对照物紫杉醇 (1333)、长春花碱 (149) 和秋水仙碱 (65)。

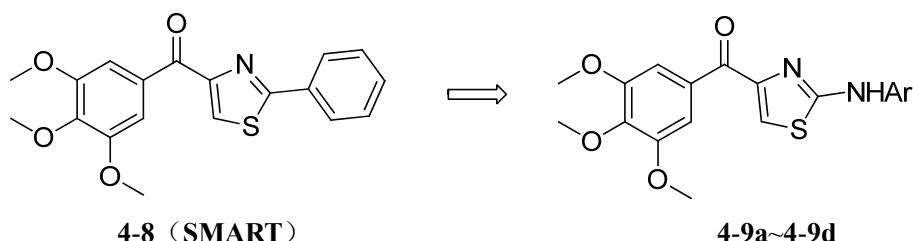
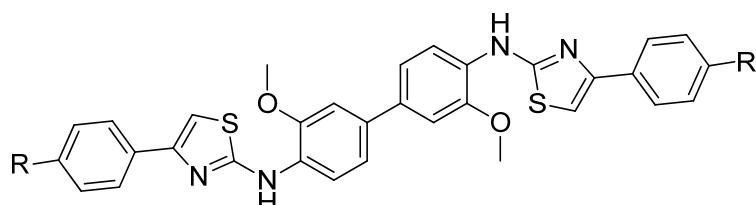


表 4.3 化合物 4-9 对多种癌细胞株的 IC_{50} (nM)

化合物	Ar	B16-F1	A375	DU 145	PC-3	LNCaP	PPC-1
4-9a	C ₆ H ₅	65 ± 12	45 ± 8	70 ± 4	57 ± 3	51 ± 1	54 ± 1
4-9b	4-CH ₃ C ₆ H ₄	—	—	35 ± 1	38 ± 2	35 ± 1	36 ± 1
4-9c	4-FC ₆ H ₄	—	—	63 ± 1	43 ± 1	41 ± 1	37 ± 1
4-9d		84 ± 16	25 ± 6	24 ± 5	12 ± 2	13 ± 4	15 ± 1

注：“—”表示未测。

Turan-Zitouni 等^[133]报道了一系列对称的芳氨基噻唑类化合物, 其中化合物 **4-10a** 对 A549 和 C6 细胞的 IC_{50} 分别为 37.3 ± 6.8 和 $11.3 \pm 1.2 \mu\text{g}/\text{mL}$, 化合物 **4-10b** 对 5RP7 细胞的 IC_{50} 为 $5.83 \pm 1.04 \mu\text{g}/\text{mL}$, 接近阳性对照物米托蒽醌。进一步实验发现, 化合物 **4-10a** 能抑制 A549 细胞 DNA 的合成。



4-10[a R = Br; b R = CH₃]

LIMK 属于丝氨酸激酶, 其家族成员主要有 LIMK1 和 LIMK2, 其中 LIMK1 主要参与癌细胞的侵袭迁移, 而 LIMK2 可能影响细胞周期^[134]。Charles 等^[135]报道了一系列 LIMK 抑制剂, 其中化合物 **4-11a** 和 **4-11b** 表现出良好的酶活性和细胞活性 (表 4.4)。Mardilovich 等^[136]对化合物 **4-11b** 的抗癌机制进行了更加深入的研究, 验证了 LIMK 对微管组织和细胞有丝分裂的影响。通过对 656 种癌细胞株、横纹肌肉瘤、成神经细胞瘤以

及肾肿瘤的筛选,验证了化合物 **4-11b** 对 2 种 LIMK 的抑制作用,该化合物很有可能成为一个以 LIMK 为靶点的抗癌药物。

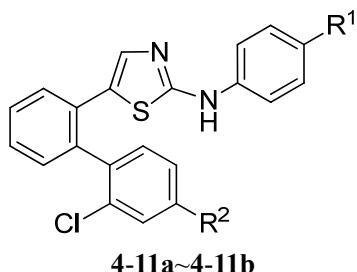
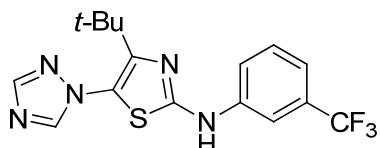


表 4.4 化合物 **4-11** 对 LIMK 和 ZR-75-1 细胞的抑制活性

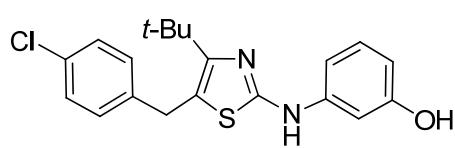
化合物	R ¹	R ²	酶活性/ nM		细胞活性/μM
			LIMK1	LIMK2	
4-11a	H	H	3	—	0.6
4-11b	OH	CH ₃	0.3	1	6.6

注:“—”表示未测。

叶姣等^[137]设计合成了一系列 4-叔丁基-5-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)-2-芳氨基噻唑类化合物,其中化合物 **4-12** 对 HeLa 细胞和 Bel7402 细胞的 IC₅₀ 分别为 9 μM 和 15 μM。彭俊梅等^[138]设计合成了一系列 5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑类化合物,其中化合物 **4-13** 对 A549 细胞和 Bel7402 细胞的 IC₅₀ 分别为 19 μM 和 21 μM。

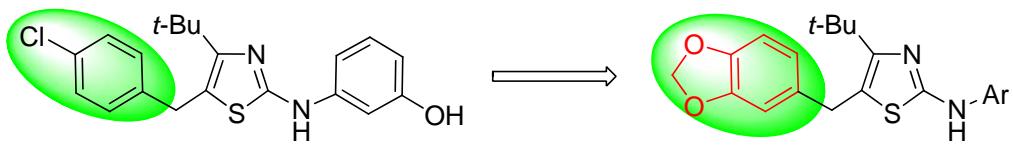


4-12



4-13

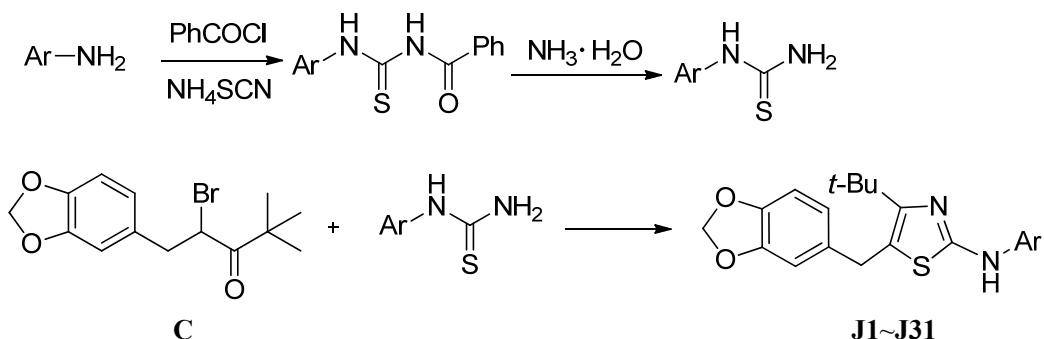
本文以化合物 **4-13** 为先导化合物,保留其 2-芳氨基噻唑活性中心,在噻唑环 5-位引入胡椒基,得到一类新的化合物 **J1~J31**。



4-13

J

以苯胺为起始原料,经过 2 步反应得到 32 个中间体芳基硫脲,芳基硫脲分别与中间体 2,2-二甲基-5-(3,4-亚甲二氧基)-4-溴-3-戊酮 (**C**) 反应,得到目标化合物 **J** 共 32 个。对合成的目标化合物进行核磁共振 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 结构表征,对化合物 **J31** 进行 X 射线单晶衍射,进一步确证其结构。利用经典 MTT 法测试目标化合物对 HeLa、A549 和 MCF-7 三种细胞的抑制活性,并采用细胞单染、双染、流式细胞周期与凋亡分析,探讨化合物的抗癌机理。目标化合物的合成路线如下:



J1: Ar = C₆H₅; **J2:** Ar = 2-CH₃C₆H₄; **J3:** Ar = 3-CH₃C₆H₄; **J4:** Ar = 2-FC₆H₄; **J5:** Ar = 4-FC₆H₄; **J6:** Ar = 2-ClC₆H₄; **J7:** Ar = 3-ClC₆H₄; **J8:** Ar = 4-ClC₆H₄; **J9:** Ar = 2-BrC₆H₄; **J10:** Ar = 3-BrC₆H₄; **J11:** Ar = 4-BrC₆H₄; **J12:** Ar = 3-CF₃C₆H₄; **J13:** Ar = 4-CF₃C₆H₄; **J14:** Ar = 4-OCH₃C₆H₄; **J15:** Ar = 2-NO₂C₆H₄; **J16:** Ar = 4-NO₂C₆H₄; **J17:** Ar = 4-CO₂EtC₆H₄; **J18:** Ar = 2,4-(CH₃)₂C₆H₃; **J19:** Ar = 2,6-(CH₃)₂C₆H₃; **J20:** Ar = 3,4-(CH₃)₂C₆H₃; **J21:** Ar = 2,3-Cl₂C₆H₃; **J22:** Ar = 3,4-Cl₂C₆H₃; **J23:** Ar = 3,5-Cl₂C₆H₃; **J24:** Ar = 4-F-3-ClC₆H₃; **J25:** Ar = 4-NO₂-2-FC₆H₃; **J26:** Ar = 4-NO₂-2-ClC₆H₃; **J27:** Ar = 3,5-(CF₃)₂C₆H₃; **J28:** Ar = 2,6-Br₂-4-OCF₃C₆H₂; **J29:** Ar = 萘-2-基; **J30:** Ar = 吡啶-2-基; **J31:** Ar = 2-甲基喹啉-8-基。

4.2 实验部分

4.2.1 实验仪器与试剂

主要仪器见第 2 章 2.2.1, 主要试剂与原料如表 4.5 所示:

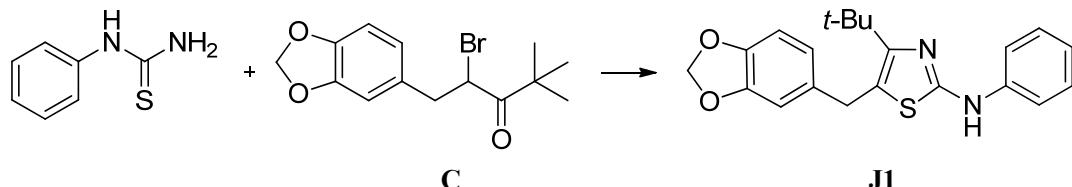
表 4.5 主要试剂与原料

试剂与原料	规格	生产厂家
苯胺、2-甲基苯胺、3-甲基苯胺、2-氟苯胺、2-氯苯胺、3-氯苯胺、4-氯苯胺、2-溴苯胺、3-溴苯胺、4-溴苯胺 3-三氟甲基苯胺、4-三氟甲基苯胺、3,5-二(三氟甲基)苯胺、4-甲氧基苯胺、4-乙氧羰基苯胺、2-萘胺、2-硝基苯胺、4-硝基苯胺、2,4-二甲基苯胺、2,6-二甲基苯胺、3,4-二甲基苯胺、2,3-二氯苯胺、3,4-二氯苯胺、3,5-二氯苯胺、4-氟-3-氯苯胺、4-硝基-2-氟苯胺、4-硝基-2-氯苯胺、2-甲基-8-氨基喹啉	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
2,6-二溴-4-三氟甲氧基苯胺、2-氨基吡啶	工业品	湖南化工研究院
苯甲酰氯、盐酸、硫氰酸铵	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

注：其他常用溶剂均为市售分析纯

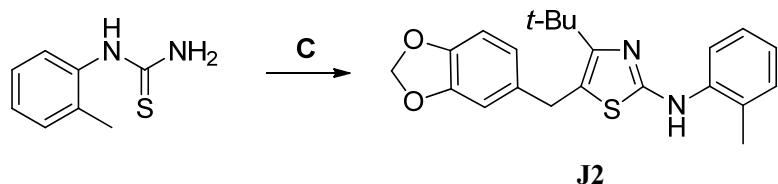
4.2.2 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑的合成

4.2.2.1 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苯氨基噻唑 (J1) 的合成



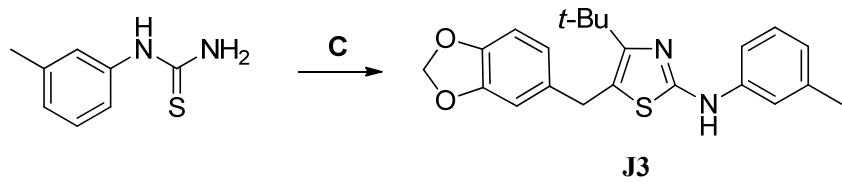
0.63 g (2 mmol) 2,2-二甲基-5-(3,4-亚甲二氧基)-4-溴-3-戊酮 (**C**)、0.30 g (2 mmol) 苯基硫脲, 溶于 15 mL 丙酮中, 回流反应 8 h, 用氨水调节 pH = 7, 柱层析得黄色油状物, 收率 82%, 将产物溶于适量乙醚中, 在搅拌下通入干燥 HCl 气体, 得到白色固体, m.p. 139~141°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.08 (s, 2H, CH_2), 5.95 (s, 2H, OCH_2O), 6.65 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.67 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.09 (t, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_5 4-H), 7.27 (d, J = 8.0 Hz, C_6H_5 2,6-H), 7.33 (t, J = 8.0 Hz, C_6H_5 3,5-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 30.29, 31.50, 35.44, 101.20, 108.53, 108.91, 118.19, 119.72, 121.50, 124.47, 129.82, 133.73, 139.44, 146.18, 147.65, 162.58。

4.2.2.2 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-甲基苯氨基)噻唑(J2)的合成



合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 61%, m.p. 99~101°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 2.34 (s, 3H, CH_3), 4.06 (s, 2H, CH_2), 5.94 (s, 2H, OCH_2O), 6.64~6.67 (m, 2H, C_6H_3 6,2-H), 6.74 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.08 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_4), 7.17~7.21 (m, 3H, C_6H_4)。 ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 21.44, 30.56, 31.59, 35.56, 101.18, 108.50, 108.86, 115.57, 117.90, 119.13, 121.40, 123.99, 129.46, 134.18, 138.95, 140.01, 146.13, 147.67, 161.51。

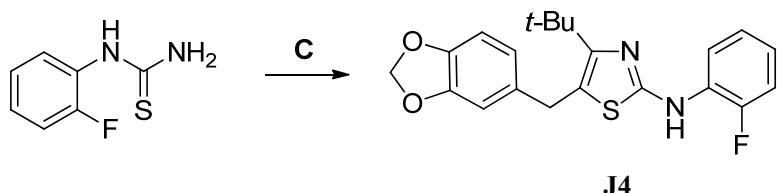
4.2.2.3 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3-甲基苯氨基)噻唑(J3)的合成



合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色油状物, 收率 66%, 通入干燥 HCl 气体得到白色固体, m.p. 155~157°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 2.33 (s, 3H, CH_3), 4.08 (s, 2H, CH_2), 5.96 (s, 2H, OCH_2O), 6.64~6.67 (m, 2H, C_6H_3 6,2-H), 6.75 (d, J = 8.0 Hz, C_6H_3 5-H), 6.91 (d, J = 7.6 Hz, 1H, C_6H_4 4-H), 7.07 (d, J = 7.6 Hz, 1H, C_6H_4 6-H), 7.08 (s, 1H, C_6H_4 2-H), 7.22 (t, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_4 5-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 30.99, 32.60, 35.98, 100.92, 108.16, 108.70, 114.71, 117.76,

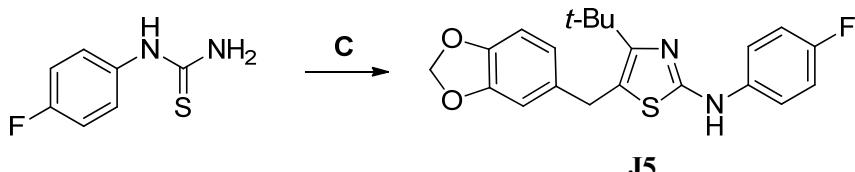
120.04, 121.05, 121.50, 124.54, 129.18, 134.58, 146.16, 147.77, 150.30, 153.80, 158.23。

4.2.2.4 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-氟苯氨基)噻唑(**J4**)的合成



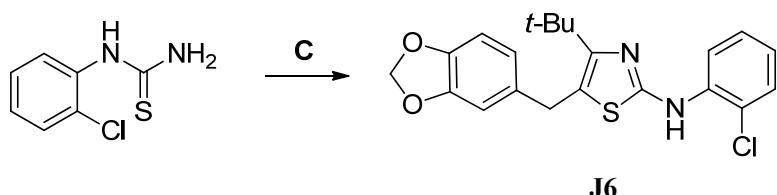
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 70%, m.p. 110~111°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.42 (s, 9H, 3×CH₃), 4.12 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.70 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.90~6.95 (m, 1H, C₆H₄), 7.05~7.13 (m, 2H, C₆H₄), 8.02~8.05 (m, 1H, C₆H₄)。 ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.99, 32.60, 35.98, 100.92, 108.16, 108.70, 114.71, 117.76, 120.04, 121.05, 121.50, 124.54, 129.18, 134.58, 146.16, 147.77, 151.50, 154.90, 158.23。

4.2.2.5 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-氟苯氨基)噻唑(**J5**)的合成

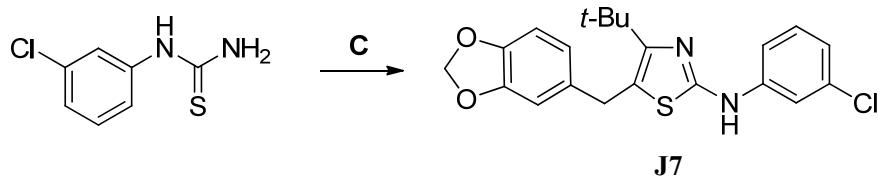


合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 57%, m.p. 122~124°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.53 (s, 9H, 3×CH₃), 4.04 (s, 2H, CH₂), 5.98 (s, 2H, OCH₂O), 6.61~6.63 (m, 2H, C₆H₃ 6,2-H), 6.78 (d, *J* = 8.0 Hz, C₆H₃ 5-H), 7.09 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 7.23~7.26 (m, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 13.63 (s, 1H, NH)。 ¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ: 30.43, 31.75, 35.65, 101.49, 108.81, 109.17, 116.88, 118.47, 121.81, 123.12, 129.18, 133.76, 135.88, 146.49, 147.92, 153.25, 159.58。

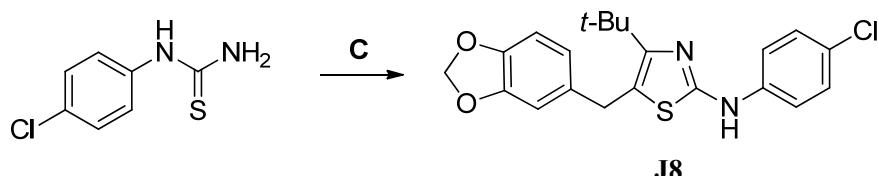
4.2.2.6 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-氯苯氨基)噻唑(**J6**)的合成



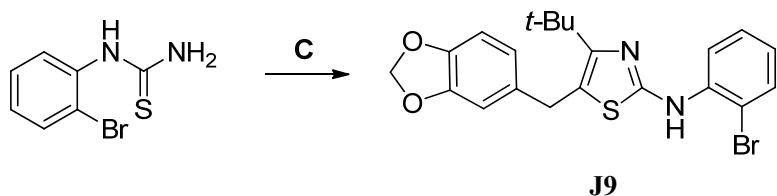
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 53%, m.p. 108~110°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.44 (s, 9H, 3×CH₃), 4.11 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.65~6.69 (m, 2H, C₆H₃ 6,2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, C₆H₃ 5-H), 6.97~7.14 (m, 4H, C₆H₄), 7.99 (s, 1H, NH)。 ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 31.10, 31.77, 35.92, 101.10, 108.43, 108.77, 115.03, 115.22, 119.46, 121.24, 121.58, 124.74, 129.61, 135.14, 145.91, 147.57, 150.39, 153.66, 158.64。

4.2.2.7 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3-氯苯氨基)噻唑(**J7**)的合成

0.63 g (2 mmol) 2,2-二甲基-5-(3,4-亚甲二氧基)-4-溴-3-戊酮、0.37 g (2 mmol) 3-氯苯基硫脲，溶于 15 mL 乙醇中，回流反应 8 h，用氨水调节 pH = 7，蒸去部分溶剂，冷冻析晶，过滤，干燥，得淡黄色固体，收率 52%，m.p. 105~106°C；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.42 (s, 9H, 3×CH₃), 4.11 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 7.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 4-H), 7.22 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 7.43 (s, 1H, C₆H₄ 2-H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 30.79, 31.56, 35.73, 38.97, 39.18, 39.39, 39.60, 39.81, 40.02, 40.23, 100.94, 108.26, 108.59, 115.22, 116.29, 119.10, 120.40, 121.07, 130.49, 133.37, 134.75, 142.66, 145.77, 147.40, 153.25, 158.36。

4.2.2.8 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-氯苯氨基)噻唑 (**J8**) 的合成

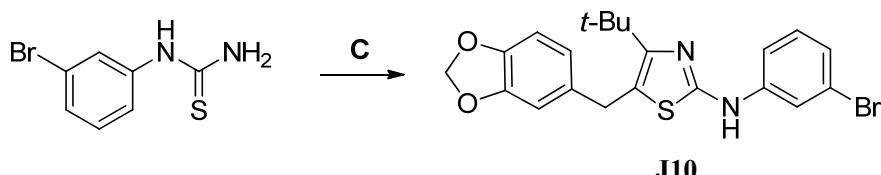
合成方法同 4.2.2.7，反应 7 h，得到黄色固体，收率 75%，m.p. 121~123°C；¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.10 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.23~7.28 (m, 4H, C₆H₄)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.98, 32.64, 35.92, 100.96, 108.20, 108.70, 118.55, 119.58, 121.07, 126.93, 129.21, 134.49, 139.15, 146.21, 147.81, 159.09。

4.2.2.9 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-溴苯氨基)噻唑(**J9**)的合成

合成方法同 4.2.2.7，反应 6 h，得红棕色固体，收率 55%，m.p. 83~84°C；¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 1.33 (s, 9H, 3×CH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂), 5.98 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.77 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, C₆H₄ 4-H), 7.33 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 7.58 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 8.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 3-H), 9.04 (s, 1H,

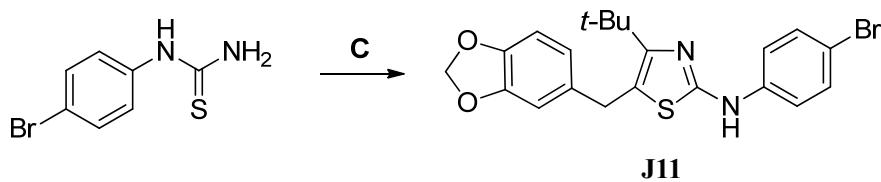
NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 31.00, 32.69, 36.03, 100.97, 108.21, 108.75, 117.72, 117.81, 120.55, 121.13, 122.61, 128.44, 132.51, 134.51, 138.29, 146.25, 147.83, 158.34。

4.2.2.10 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3-溴苯氨基)噻唑(**J10**)的合成



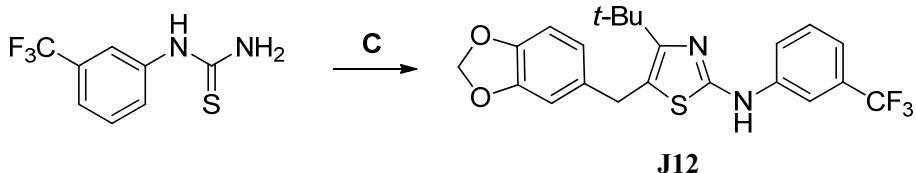
合成方法同 4.2.2.1, 反应 6 h, 得到黄色固体, 收率 59%, m.p. 102~104°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.11 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.12~7.23 (m, 3H, C₆H₄ 4,5,6-H), 7.60 (s, 1H, C₆H₄ 2-H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 30.95, 31.72, 35.89, 101.13, 108.45, 108.79, 115.79, 119.25, 119.41, 121.27, 122.14, 123.52, 130.99, 134.90, 142.90, 145.97, 147.59, 154.29, 158.65。

4.2.2.11 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-溴苯氨基)噻唑(**J11**)的合成

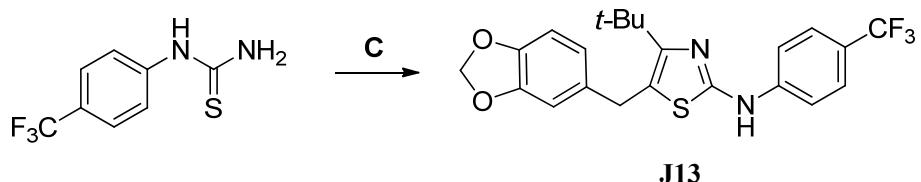


合成方法同 4.2.2.1, 反应 6 h, 得到黄色固体, 收率 52%, m.p. 118~120°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.10 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.22 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 7.40 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 31.00, 32.66, 35.94, 100.96, 108.20, 108.71, 114.14, 118.80, 119.73, 121.08, 132.11, 134.55, 139.72, 146.20, 147.81, 158.82。

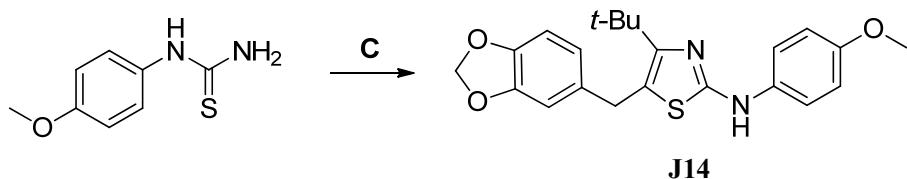
4.2.2.12 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3-三氟甲基苯氨基)噻唑(**J12**)的合成



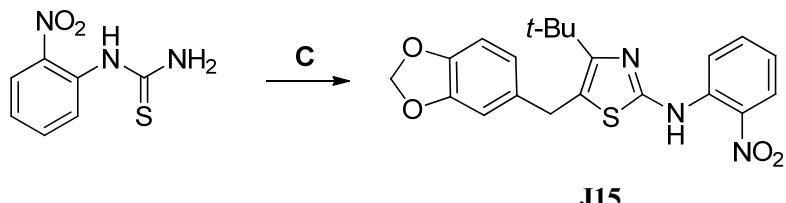
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 59%, m.p. 90~92°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.42 (s, 9H, 3×CH₃), 4.11 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.24 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 7.39 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 7.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 4-H), 7.83 (s, 1H, C₆H₄ 2-H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 30.94, 31.74, 35.89, 101.12, 108.44, 108.78, 112.90, 116.96, 119.50, 120.31, 121.25, 124.57, 129.64, 130.07, 134.97, 142.17, 145.96, 147.59, 153.60, 158.41。

4.2.2.13 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-三氟甲基苯氨基)噻唑(**J13**)的合成

合成方法同 4.2.2.1, 反应 6 h, 得到黄色固体, 收率 75%, m.p. 96~98°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.43 (s, 9H, 3×CH₃), 4.12 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.42 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 7.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 30.99, 31.77, 35.90, 101.13, 108.45, 108.80, 116.59, 119.83, 120.84, 121.29, 124.91, 126.49, 134.87, 144.70, 145.99, 147.61, 153.30, 158.37。

4.2.2.14 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-甲氧基苯氨基)噻唑(**J14**)的合成

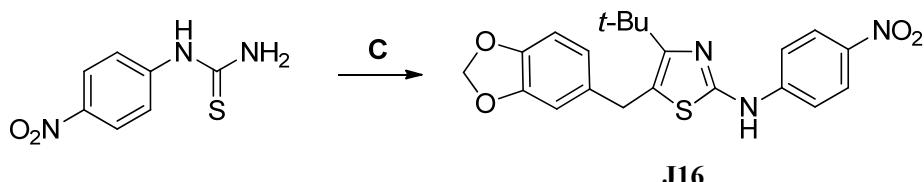
合成方法同 4.2.2.7, 反应 8 h, 得黄色固体, 收率 47%, m.p. 147~149°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.34 (s, 9H, 3×CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 4.05 (s, 2H, CH₂), 5.98 (s, 2H, OCH₂O), 6.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.75 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 7.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 9.48 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 30.38, 31.77, 35.60, 55.87, 101.50, 108.84, 109.23, 114.41, 115.39, 117.99, 121.88, 123.76, 125.93, 132.26, 133.69, 146.52, 147.93, 157.57。

4.2.2.15 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-硝基苯氨基)噻唑(**J15**)的合成

合成方法同 4.2.2.7, 反应 6 h, 得红棕色固体, 收率 57%, m.p. 103~104°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.44 (s, 9H, 3×CH₃), 4.15 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, C₆H₄ 4-H), 7.60 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 8.23 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 8.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, C₆H₄ 3-H), 10.52 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.99, 32.69, 36.15, 101.01, 108.24, 108.74, 118.94, 119.85, 121.17, 123.57, 126.10, 133.55, 134.30, 136.24, 138.41, 146.33, 147.86,

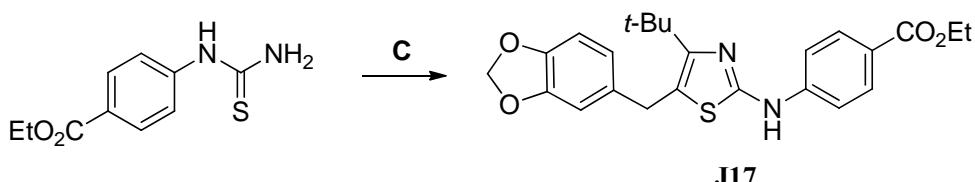
155.67, 156.31。

4.2.2.16 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-硝基苯氨基)噻唑(**J16**)的合成



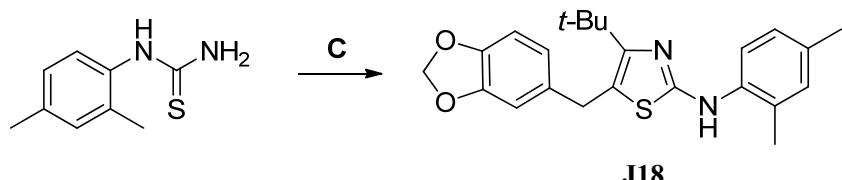
合成方法同 4.2.2.7, 反应 5 h, 得红棕色固体, 收率 58%, m.p. 161~163°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.43 (s, 9H, 3×CH₃), 4.14 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.66~6.69 (m, 2H, C₆H₃ 6,2-H), 6.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.48 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 8.20 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 30.95, 32.68, 36.06, 101.05, 108.30, 108.71, 115.68, 121.17, 122.17, 125.72, 134.14, 141.39, 145.92, 146.38, 147.90, 156.84。

4.2.2.17 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-乙氧羰基苯氨基)噻唑(**J17**)的合成

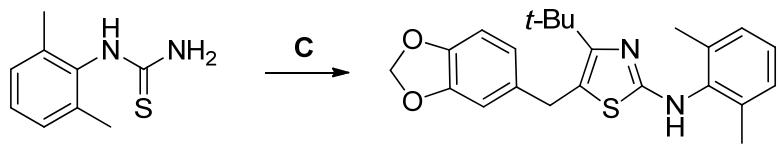


合成方法同 4.2.2.7, 反应 6 h, 得米白色固体, 收率 76%, m.p. 177~180°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.38 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃), 1.44 (s, 9H, 3×CH₃), 4.12 (s, 2H, CH₂), 4.35 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 8.01 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 14.37, 30.95, 32.66, 35.94, 60.65, 101.00, 108.26, 108.72, 115.76, 120.63, 121.14, 123.53, 131.22, 134.28, 144.13, 146.30, 147.86, 157.95, 166.19。

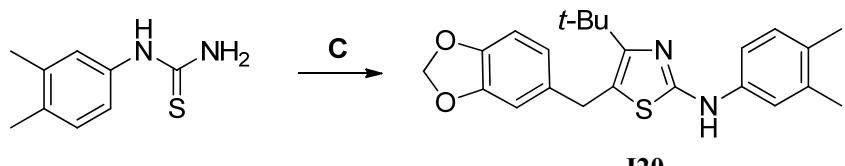
4.2.2.18 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2,4-二甲基苯氨基)噻唑(**J18**)的合成



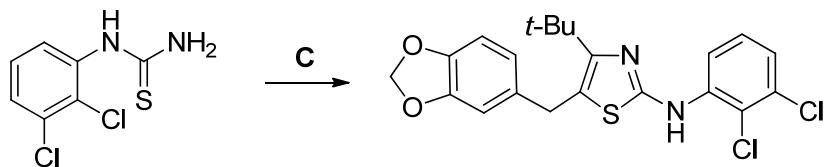
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色油状物, 收率 67%, 通入干燥 HCl 气体得到白色固体, m.p. 175~177°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 2.20 (s, 3H, CH₃), 2.23 (s, 3H, CH₃), 4.09 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.68 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.00~7.07 (m, 3H, NC₆H₃)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 19.40, 20.09, 30.38, 31.76, 35.60, 101.54, 108.87, 109.25, 118.13, 118.72, 121.89, 122.47, 131.08, 133.69, 136.88, 138.37, 146.56, 147.98。

4.2.2.19 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2,6-二甲基苯氨基)噻唑(**J19**)的合成**J19**

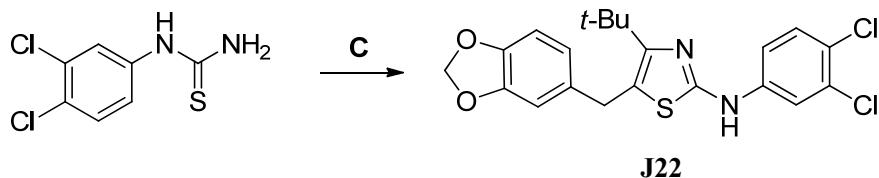
合成方法同 4.2.2.7, 反应 8 h, 得到米白色固体, 收率 62%, m.p. 155~157°C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.37 (s, 9H, 3×CH₃), 2.30 (s, 6H, 2×CH₃), 4.00 (s, 2H, CH₂), 5.91 (s, 2H, OCH₂O), 6.40 (s, 1H, NH), 6.58 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.62 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.09~7.12 (m, 3H, NC₆H₃)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 18.33, 31.06, 32.77, 35.76, 100.83, 108.06, 108.64, 118.15, 120.94, 127.37, 128.72, 134.89, 136.65, 137.87, 145.92, 147.64, 155.13, 165.15。

4.2.2.20 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3,4-二甲基苯氨基)噻唑(**J20**)的合成**J20**

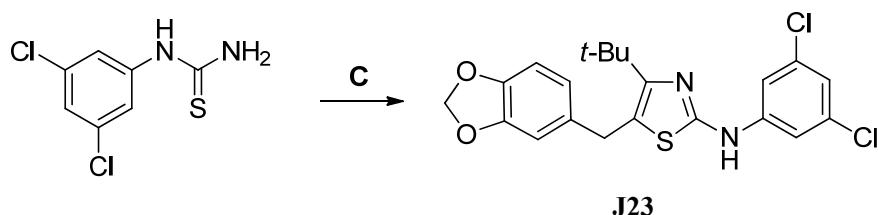
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色油状物, 收率 71%, 通入干燥 HCl 气体得到白色固体, m.p. 188~190°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.43 (s, 9H, 3×CH₃), 2.21 (s, 3H, CH₃), 2.23 (s, 3H, CH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.64 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.67 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.01 (d, *J* = 8.0 Hz, NC₆H₃), 7.04 (s, 1H, NC₆H₃ 2-H), 7.07 (d, *J* = 8.0 Hz, NC₆H₃)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 19.20, 20.01, 30.48, 31.71, 35.60, 101.36, 101.47, 108.70, 109.06, 118.01, 120.39, 121.65, 130.76, 134.01, 137.54, 137.88, 146.33, 146.94, 147.82, 153.17, 163.38。

4.2.2.21 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2,3-二氯苯氨基)噻唑(**J21**)的合成**J21**

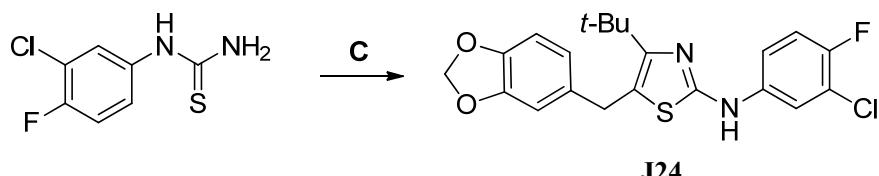
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色油状物, 收率 64%, 通入干燥 HCl 气体得到白色固体, m.p. 159~161°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.42 (s, 9H, 3×CH₃), 4.13 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.68~6.70 (m, 2H, C₆H₃ 6,2-H), 6.76 (d, *J* = 8.0 Hz, C₆H₃ 5-H), 7.07 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, ClC₆H₃ 4-H), 7.18 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, ClC₆H₃ 5-H), 7.36 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, ClC₆H₃ 6-H), 8.16 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 30.85, 31.91, 35.93, 101.44, 108.78, 109.17, 120.18, 120.86, 121.73, 122.05, 125.11, 129.05, 132.66, 134.52, 139.20, 146.35, 147.87, 150.39, 160.77。

4.2.2.22 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3,4-二氯苯氨基)噻唑(**J22**)的合成

合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 69%, m.p. 124~126°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.11 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.68 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 1.55 (dd, *J*₁ = 8.4 Hz, *J*₂ = 2.8 Hz, ClC₆H₃ 6-H), 7.33 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ClC₆H₃ 5-H), 7.63 (d, *J* = 2.8 Hz, ClC₆H₃ 2-H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.96, 32.57, 35.97, 100.97, 108.20, 108.65, 116.34, 118.61, 120.33, 121.04, 124.57, 130.56, 132.82, 134.41, 140.07, 146.18, 147.77, 158.12。

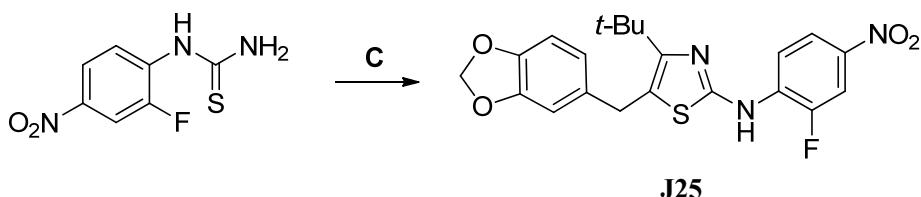
4.2.2.23 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3,5-二氯苯氨基)噻唑(**J23**)的合成

合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 65%, m.p. 99~101°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.12 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.66 (dd, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 1.6 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.69 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.96 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H, ClC₆H₃ 4-H), 7.34 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H, ClC₆H₃ 2,6-H)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.91, 32.51, 35.95, 100.95, 108.19, 108.62, 115.08, 120.65, 121.02, 121.47, 134.27, 135.27, 142.24, 146.16, 147.75, 154.73, 157.77。

4.2.2.24 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-氟-3-氯苯氨基)噻唑(**J24**)的合成

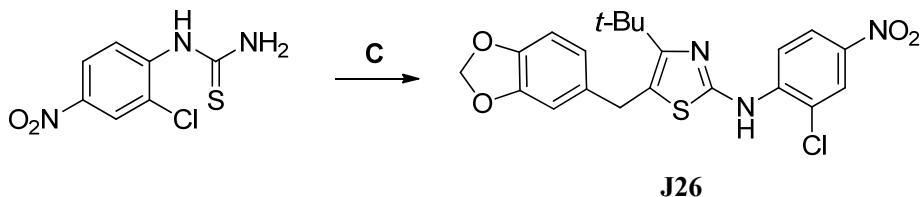
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 78%, m.p. 100~102°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.51 (s, 9H, 3×CH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂), 5.98 (s, 2H, OCH₂O), 6.62~6.64 (m, 2H, C₆H₃ 6,2-H), 6.78 (d, *J* = 8.0 Hz, C₆H₃ 5-H), 7.15~7.17 (m, 2H, FC₆H₃), 7.39 (d, *J* = 8.0 Hz, FC₆H₃)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 31.02, 31.95, 36.04, 101.43, 108.74, 109.06, 117.68, 118.34, 119.46, 119.82, 120.00, 121.59, 134.83, 138.39, 146.30, 147.88, 151.57, 152.98, 160.06。

4.2.2.25 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-硝基-2-氟苯氨基)噻唑(**J25**)的合成



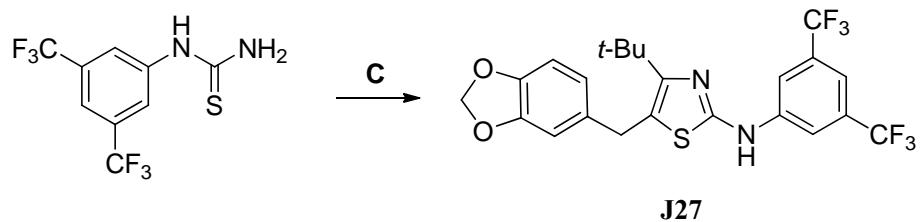
合成方法同 4.2.2.7, 反应 8 h, 得黄色固体, 收率 72%, m.p. 147~148°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.44 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.15 (s, 2H, CH_2), 5.95 (s, 2H, OCH_2O), 6.68 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.70 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.59 (s, 1H, NH), 8.19 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 1H, FC_6H_3 5-H), 8.31 (d, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 1H, FC_6H_3 6-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 30.94, 32.71, 36.14, 101.03, 108.25, 108.71, 115.68, 119.58, 121.17, 123.76, 124.18, 124.93, 134.13, 140.45, 142.37, 146.36, 147.84, 155.57, 155.81。

4.2.2.26 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-硝基-2-氯苯氨基)噻唑(**J26**)的合成



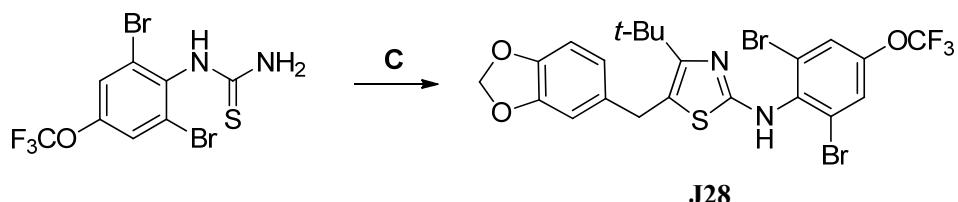
合成方法同 4.2.2.7, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 61%, m.p. 143~145°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.44 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.15 (s, 2H, CH_2), 5.96 (s, 2H, OCH_2O), 6.68 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.70 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.59 (s, 1H, NH), 8.18 (dd, $J_1 = 9.2$ Hz, $J_2 = 2.8$ Hz, 1H, ClC_6H_3 5-H), 8.29 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, ClC_6H_3 3-H), 8.55 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, ClC_6H_3 6-H)。

4.2.2.27 5-胡椒基-4-叔丁基-2-[3,5-二(三氟甲基)苯氨基]噻唑(**J27**)的合成



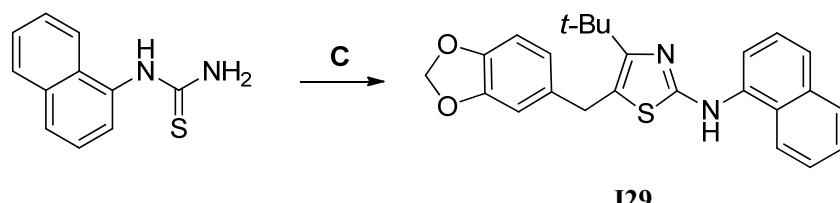
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色油状物, 收率 65%, 通入干燥 HCl 气体得到白色固体, m.p. 148~150°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.48 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.12 (s, 2H, CH_2), 5.97 (s, 2H, OCH_2O), 6.64~6.66 (m, 2H, C_6H_3 6,2-H), 6.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.58 (s, 1H, $\text{CF}_3\text{C}_6\text{H}_3$ 4-H), 7.87 (s, 2H, $\text{CF}_3\text{C}_6\text{H}_3$ 2,6-H)。 ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 30.88, 31.76, 35.87, 101.14, 108.46, 108.80, 112.80, 116.29, 120.80, 121.29, 123.68, 131.02, 134.89, 143.11, 146.00, 147.61, 153.99, 157.73。

4.2.2.28 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-三氟甲氧基-2,6-二溴苯氨基)噻唑(**J28**)的合成



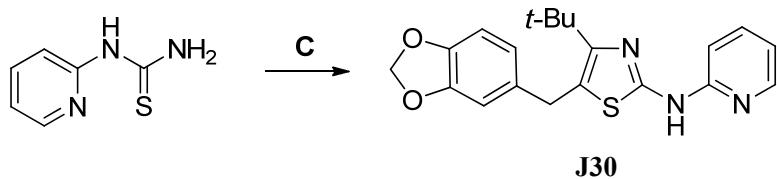
合成方法同 4.2.2.7, 反应 6 h, 得到黄色固体, 收率 67%, m.p. 126~128°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.38 (s, 9H, 3×CH₃), 4.02 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.65 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.73 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.47 (s, 2H, C₆H₂)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.74, 32.87, 35.46, 100.93, 108.17, 108.66, 120.19, 121.06, 121.61, 121.86, 125.30, 134.00, 140.28, 145.96, 146.14, 147.73, 150.93, 161.01。

4.2.2.29 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(萘-1-基氨基)噻唑(J29)的合成



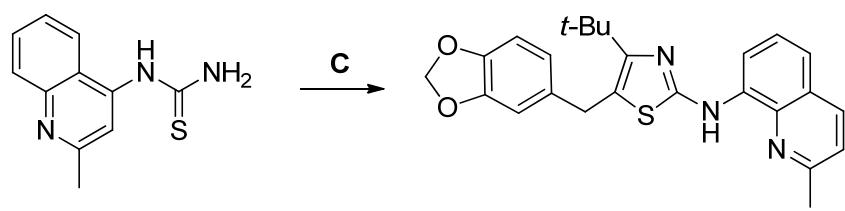
合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色油状物, 收率 86%, 通入干燥 HCl 得到白色固体, m.p. 161~163°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.50 (s, 9H, 3×CH₃), 4.06 (s, 2H, CH₂), 5.93 (s, 2H, OCH₂O), 6.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.64 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.72 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.43 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₁₀H₇), 7.52~7.71 (m, 5H, C₁₀H₇), 7.86 (d, *J* = 8.0 Hz, C₁₀H₇), 8.20 (s, 1H, NH)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 30.36, 31.76, 35.60, 101.54, 108.87, 109.31, 118.77, 121.12, 121.97, 122.41, 126.62, 127.54, 127.72, 129.06, 133.46, 134.58, 134.92, 146.60, 147.98, 166.28。

4.2.2.30 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(吡啶-2-基氨基)噻唑(J30)的合成



合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 61%, m.p. 147~149°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.40 (s, 9H, 3×CH₃), 4.16 (s, 2H, CH₂), 5.94 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.84~6.88 (m, 2H, 吡啶环), 7.58 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, 吡啶环), 8.27 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, 吡啶环)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 26.07, 27.41, 30.73, 95.93, 103.19, 103.86, 105.11, 111.11, 115.96, 116.15, 130.02, 132.73, 141.04, 142.19, 142.80, 146.72, 148.20, 150.76。

4.2.2.31 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-甲基喹啉-8-基氨基)噻唑(J31)的合成



J31

合成方法同 4.2.2.1, 反应 8 h, 得到黄色固体, 收率 66%, m.p. 153~155°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.47 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 2.72 (s, 3H, CH_3), 4.16 (s, 2H, CH_2), 5.94 (s, 2H, OCH_2O), 6.70~6.77 (m, 3H, C_6H_3), 7.26~7.30 (m, 2H, 喹啉环), 7.44 (t, J =8.0 Hz, 1H, 喹啉环 6-H), 8.00 (d, J =8.4 Hz, 1H, 喹啉环), 8.38 (d, J =7.2 Hz, 1H, 喹啉环), 9.55 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 25.06, 31.07, 32.65, 36.01, 100.88, 108.08, 108.76, 111.76, 118.20, 119.45, 121.06, 122.29, 126.09, 126.36, 134.94, 136.15, 137.05, 146.03, 147.68, 155.04, 156.49, 158.19。

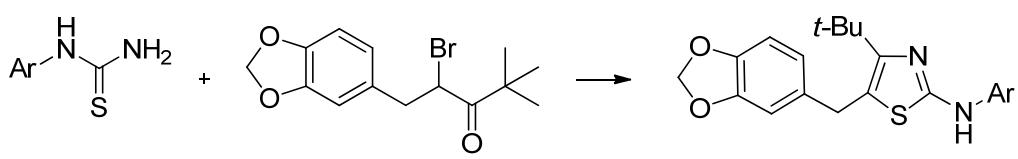
4.2.3 抗肿瘤活性测试

抗肿瘤活性测试方法参见第3章3.2.5抗肿瘤活性实验。

4.3 结果与讨论

4.3.1 成环反应

中间体芳氨基硫脲的合成参见彭俊梅博士论文^[139]，中间体 2,2-二甲基-5-(亚甲二氧苯基)-4-溴-3-戊酮（C）的合成参见第 3 章实验部分 3.2.2.2。将中间体 C 与不同的芳氨基硫脲按摩尔比 1:1 投料，在乙醇溶剂中回流反应，得到目标化合物 J1~J31，合成结果列入表 4.6 中。



J1~J31

表 4.6 化合物 J1~J31 的合成结果

化合物	Ar	反应时间/h	性状	收率/%	熔点/°C
J1^a	C ₆ H ₅	8	白色固体	82	139~141
J2	2-CH ₃ C ₆ H ₄	8	黄色固体	61	99~101
J3^a	3-CH ₃ C ₆ H ₄	8	白色固体	66	155~157
J4	2-FC ₆ H ₄	8	黄色固体	70	110~111
J5	4-FC ₆ H ₄	8	黄色固体	57	122~124
J6	2-ClC ₆ H ₄	8	黄色固体	53	108~110
J7	3-ClC ₆ H ₄	8	黄色固体	52	105~106
J8	4-ClC ₆ H ₄	7	黄色固体	75	121~123

J9	2-BrC ₆ H ₄	6	红棕色固体	55	83~84
J10	3-BrC ₆ H ₄	6	黄色固体	59	102~104
J11	4-BrC ₆ H ₄	6	黄色固体	52	118~120
J12	3-CF ₃ C ₆ H ₄	8	黄色固体	59	90~92
J13	4-CF ₃ C ₆ H ₄	6	黄色固体	75	96~98
J14	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	8	黄色固体	47	147~149
J15	2-NO ₂ C ₆ H ₄	6	红棕色固体	57	103~104
J16	4-NO ₂ C ₆ H ₄	5	红棕色固体	58	161~163
J17	4-CO ₂ EtC ₆ H ₄	6	米白色固体	76	177~180
J18^a	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	8	白色固体	67	175~177
J19	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	8	米白色固体	62	155~157
J20^a	3,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	8	白色固体	71	188~190
J21^a	2,3-Cl ₂ C ₆ H ₃	8	白色固体	64	159~161
J22	3,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	8	黄色固体	69	124~126
J23^a	3,5-Cl ₂ C ₆ H ₃	8	黄色固体	65	99~101
J24	4-F-3-ClC ₆ H ₃	8	黄色固体	78	100~102
J25	4-NO ₂ -2-FC ₆ H ₃	8	黄色固体	73	147~148
J26	4-NO ₂ -2-ClC ₆ H ₃	8	黄色固体	61	144~145
J27^a	3,5-(CF ₃) ₂ C ₆ H ₃	8	白色固体	65	148~150
J28	2,6-Br ₂ -4-OCF ₃ C ₆ H ₂	6	黄色固体	67	126~128
J29^a	萘-1-基	8	白色固体	86	177~179
J30	吡啶-2-基	8	黄色固体	61	147~149
J31	2-甲基喹啉-8-基	8	黄色固体	66	153~155

注: ^a表示该化合物为其盐酸盐。

从表 4.6 可以看出, 化合物 **J** 的收率处于 47%~88% 之间, 因为取代基离反应位点较远, 苯环上的大 π 键又能起到分散电荷的作用, 所以取代基的电子效应和位阻效应对反应的收率影响较小, 且没有呈现出明显的规律性。

不同取代基对产物在溶剂中的析晶有影响, 从取代基的种类分析, 供电子基团 (如 H 和 CH₃), 不利于产物从溶剂中析出; 从位置关系分析, 2-位或 6-位取代化合物 (如 **J2** 和 **J19**) 更容易析出固体, 而 3-位和 4-位取代化合物 (如 **J3** 和 **J20**) 难以析出, 对于难以形成固体的化合物, 对其进行成盐处理, 方便称取和保存。

4.3.2 结构表征

4.3.2.1 ¹H NMR 分析

所有目标化合物均经过核磁共振氢谱表征, 详细数据见 4.2 实验部分。选择化合物 **J1** 和 **J7** 为例, 对化合物的氢谱进行解析, 氢谱图如图 4.1 所示, 质子归属列入表 4.6 中。

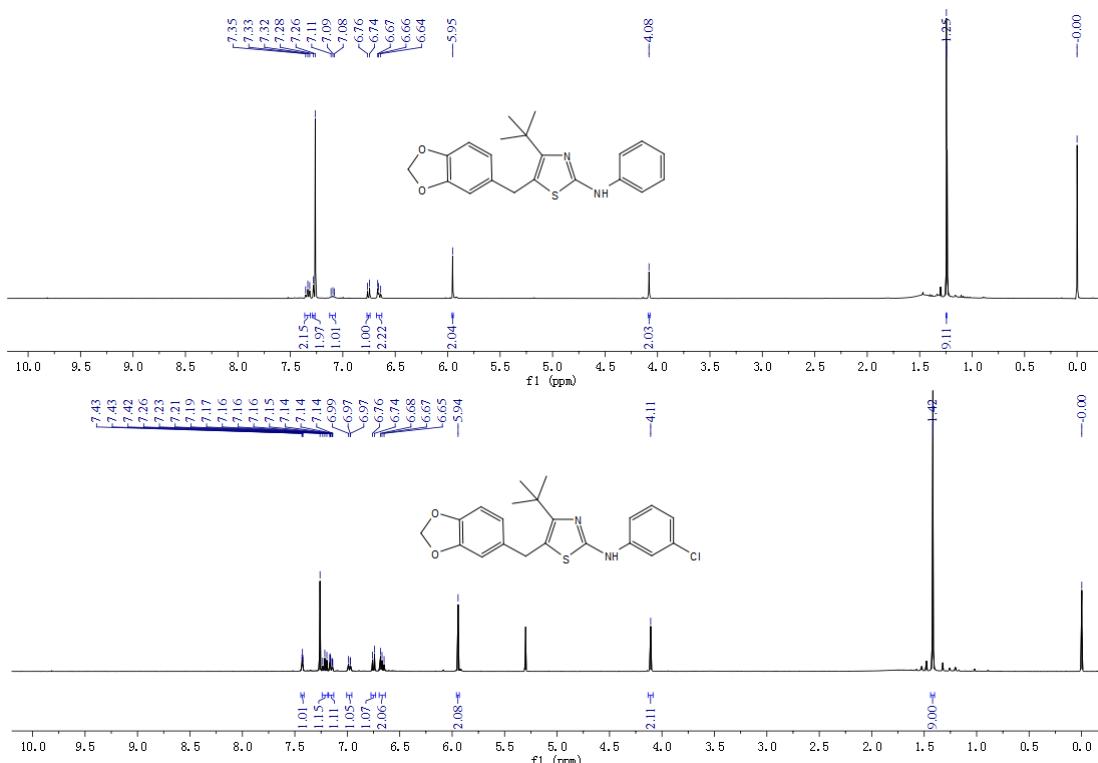


图 4.1 化合物 J1 和 J7 的氢谱图

表 4.6 化合物 J1 和 J7 的质子归属

J1	δ	J7	δ
3×CH ₃	1.25 (s)	3×CH ₃	1.42 (s)
CH ₂	4.08 (s)	CH ₂	4.11 (s)
OCH ₂ O	5.95 (s)	OCH ₂ O	5.94 (s)
C ₆ H ₃	6.64~6.67 (m, 2H)	C ₆ H ₃	6.65~6.68 (m, 2H)
	6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H)		6.75 (d, J = 8.0 Hz, 1H)
C ₆ H ₅	7.09 (t, J = 8.0 Hz, 1H)	C ₆ H ₄	6.98 (dd, J = 8.0 Hz, 1.2 Hz, 1H)
	7.28 (d, J = 8.0 Hz, 2H)		7.14 (dd, J = 8.0 Hz, 1.2 Hz, 1H)
	7.33 (t, J = 8.0 Hz, 2H)		7.22 (t, J = 8.0 Hz, 1H)
			7.43 (t, J = 2.0 Hz, 1H)

对比化合物 J1 和 J7 的氢谱图, 可以发现, 在苯环上引入吸电子基团氯原子后, 胡椒环上各质子因相距较远, 其化学位移基本不受影响; 叔丁基及苄位亚甲基受其拉电子效应影响, 相应氢原子的化学位移有所增大。化合物 J1 的苯环 2,6-位氢部分与溶剂峰重叠。化合物 J7 含氯苯环上的氢出现了明显的间位耦合现象, 受此影响, 2-位氢为 t 峰, 偶合常数为 2 Hz, 4-位和 6-位氢均为 dd 峰, 耦合常数均为 8.0 Hz 和 1.2 Hz。

4.3.2.2 ^{13}C NMR 分析

所有目标化合物均经过核磁共振碳谱表征, 详细数据见 4.2 实验部分。以化合物 J1 和 J7 为例对该类化合物进行碳谱解析, 化合物谱图如图 4.2 所示, 碳原子归属列入表 4.7 中。

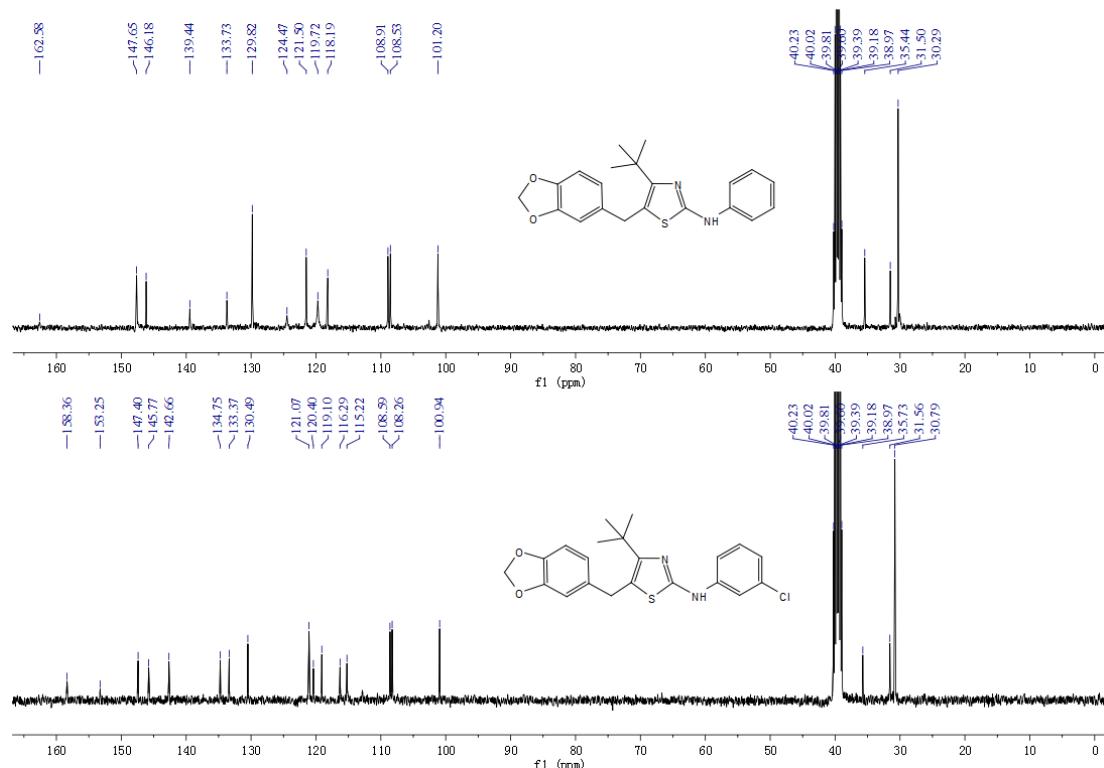


图 4.2 化合物 J1 和 J7 的碳谱图

表 4.7 化合物 J1 和 J7 的碳原子归属

J1	δ	J7	δ
3×CH ₃	30.29	3×CH ₃	30.79
C	31.50	C	31.56
CH ₂	35.44	CH ₂	35.73
OCH ₂ O	101.20	OCH ₂ O	100.94
C ₆ H ₃	108.53, 108.91, 121.50, 133.73, 146.18, 147.65	C ₆ H ₃	108.26, 108.59, 121.07, 133.37, 145.77, 147.40
C ₆ H ₅	118.19, 119.72, 124.47, 129.82	C ₆ H ₄	115.22, 116.29, 119.10, 120.40, 134.75, 142.66
噻唑环	129.82, 139.44, 162.58	噻唑环	130.49, 130.91, 153.25, 158.36

对比化合物 J1 和 J7 的碳谱图可以发现，在苯环上引入吸电子基团氯原子之后，化合物的碳原子化学位移变化情况与氢原子变化情况所有不同。叔丁基及苯位亚甲基碳的化学位移均有所增大，而胡椒环上的碳原子位移反而略有减小。另外，在化合物 J1 中，出现了不同碳原子峰重叠的情况，导致出现了一个很高的峰（129.82），该峰可能归属于苯环和噻唑环的两个碳原子。

4.3.2.3 单晶结构分析

将适量化合物 5-胡椒基-4-叔丁基-N-(2-甲基喹啉-8-基)噻唑-2-胺 (J31) 溶于 95% 乙醇中，在室温下缓慢挥发，约 10 天之后，析出晶体。选取 0.41 mm×0.38 mm×0.37 mm 单晶体，在 BRUKER SMART APEX 1000 CCD 衍射仪上收集衍射数据，利用石墨单色器单色化了的 Mo K α 射线 ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$)，在 150 (2) K 下以 ω - φ 扫描方式收集衍射

数据，在 $2.99^\circ \leq \theta \leq 26.00^\circ$ 范围收集12031个数据，其中独立衍射点4371个，可观测点3649个。然后运用Bruker的SAINTPLUS程序将数据还原，同时运用SADABS程序进行经验吸收校正。应用SHELXS-97和SHELXL-97程序[Sheldrick, G. M. *SHELXS97 and SHELXL97*, University of Göttingen, Germany, 1997]直接法解析和精修结构。所有的非氢原子采用全矩阵最小二乘法进行结构精修。所有非氢原子都做各向异性精修。理论加氢，氢原子各向同性热参数修正。化合物J31的单晶衍射图见图4.3，分子堆积图见图4.4，晶体数据与结构参数列入表4.8，非氢原子坐标和热参数列入表4.9，部分键长和键角列入表4.10和4.11。

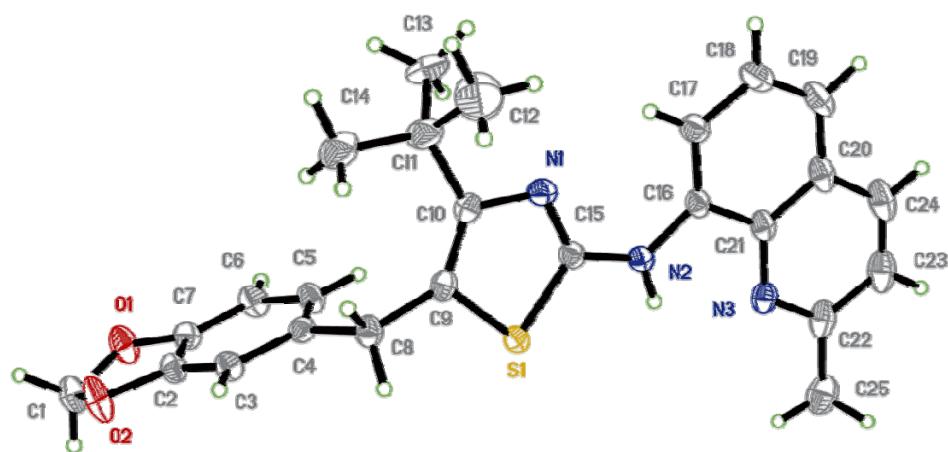


图4.3 化合物J31的单晶衍射图

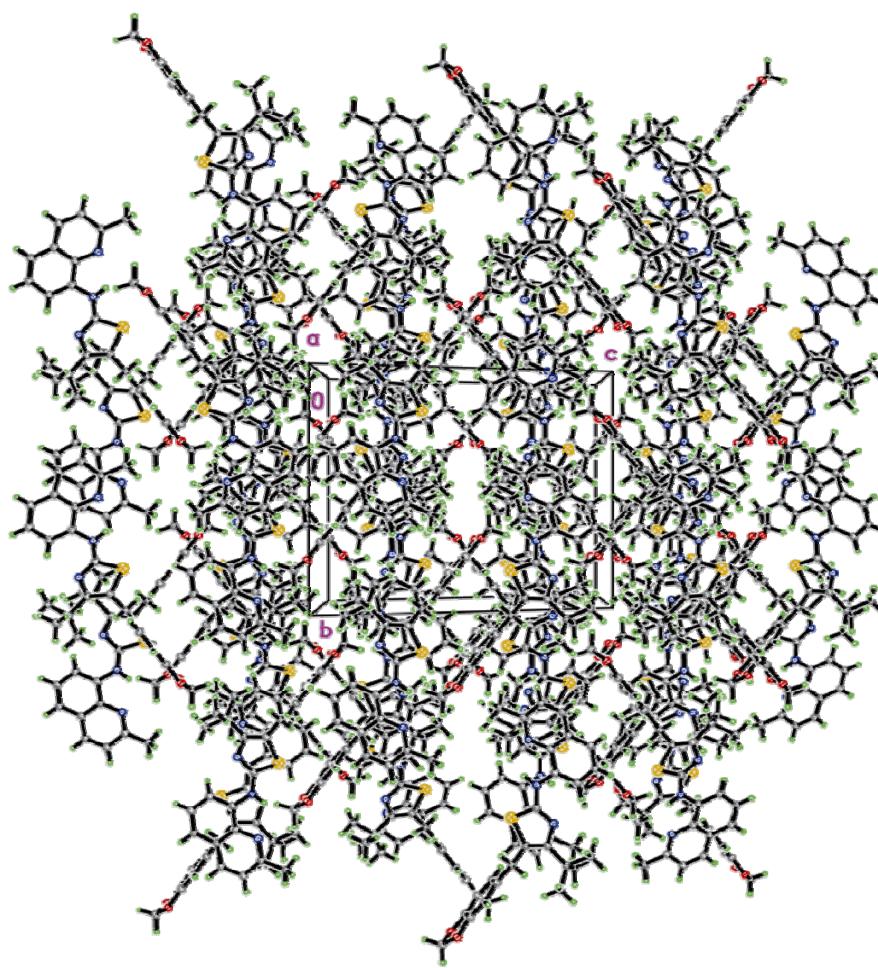


图 4.4 化合物 J31 的分子堆积图

5-胡椒基-4-叔丁基-*N*-(2-甲基喹啉-8-基)噻唑-2-胺晶体属单斜晶系, 空间群为 $I\bar{1}_2/a_1$, 晶胞参数为: $a = 19.2951(9) \text{ \AA}$, $b = 13.6381(4) \text{ \AA}$, $c = 19.3808(8) \text{ \AA}$; $Z = 4$, $V = 4451.5(3) \text{ \AA}^3$, $D_c = 1.288 \text{ Mg/m}^3$, $F(000) = 1824$, $\mu = 0.172 \text{ mm}^{-1}$, 3469 个可观测点 [$I > 2\sigma(I)$], 可观测点精修最终偏离因子 $R = 0.0538$, $wR = 0.1164$, $(\Delta/\sigma)_{\max} = 0.006$, $S = 1.02$, $(\Delta\rho)_{\max} = 0.41 \text{ e}/\text{\AA}^3$, $(\Delta\rho)_{\min} = -0.32 \text{ e}/\text{\AA}^3$ 。

表 4.8 化合物 J31 的晶体数据

化学式(Empirical formula)	$C_{25}H_{25}N_3O_2S$
化学式量(Formula weight)	431.54
温度(Temperature)	150(2) K
波长(Wavelength)	0.71073 \AA
晶系(Crystal system)	单斜(Monoclinic)
空间群(Space group)	$I\bar{1}_2/a_1$
晶胞尺寸(Unit cell dimensions)	$a = 19.2951(9) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$. $b = 13.6381(4) \text{ \AA}$ $\beta = 119.209(5)^\circ$ $c = 19.3808(8) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
体积(Volume)	$4451.5(3) \text{ \AA}^3$
分子数(Z)	8

密度(计算)(Density (calculated))	1.288 Mg/m ³
吸光系数(Absorption coefficient)	0.172 mm ⁻¹
<i>F</i> (000)	1824
晶体大小(Crystal size)	0.41 × 0.38 × 0.37 mm ³
数据收集的θ范围(Theta range for data collection)	2.99 to 26.00°
指标范围(Index ranges)	-23 ≤ h ≤ 23, -16 ≤ k ≤ 10, -23 ≤ l ≤ 23
收集的衍射点(Reflections collected)	12031
独立衍射点(Independent reflections)	4371 [<i>R</i> (int) = 0.0251]
θ = 26.00°的完整性(Completeness to theta = 26.00°)	99.8 %
吸收校正(Absorption correction)	等效半经验 (Semi-empirical from equivalents)
最大透过率和最小透过率(Max. and min. transmission)	0.9390和0.9327
精修方法 (Refinement method)	基于 <i>F</i> ² 的全矩阵最小二乘 (Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²)
数据/限制/参数(Data / restraints / parameters)	4371 / 14 / 297
<i>F</i> ² 的拟合度(Goodness-of-fit on <i>F</i> ²)	1.046
可观测衍射点的残差因子 <i>R</i> 值 (Final <i>R</i> indices [<i>I</i> >2sigma(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0430, w <i>R</i> ₂ = 0.1074
全部衍射点的残差因子 <i>R</i> 值(<i>R</i> indices (all data))	<i>R</i> ₁ = 0.0538, w <i>R</i> ₂ = 0.1164
最大电子密度峰值和洞值(Largest diff. peak and hole)	0.411和-0.319 e.Å ⁻³

表 4.9 化合物 J31 的晶体非氢原子坐标 (×10⁴) 和热参数 (Å²×10³)

Atom	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>U</i> _{eq}
C(1)	788(1)	1670(2)	-790(1)	31(1)
C(2)	1441(1)	2821(1)	116(1)	23(1)
C(3)	1977(1)	3500(1)	600(1)	23(1)
C(4)	1724(1)	4177(1)	975(1)	20(1)
C(5)	956(1)	4124(1)	858(1)	25(1)
C(6)	414(1)	3414(2)	364(1)	27(1)
C(7)	675(1)	2776(1)	-1(1)	23(1)
C(8)	2311(1)	4961(1)	1473(1)	24(1)
C(9)	2060(1)	5631(1)	1930(1)	22(1)
C(10)	2109(1)	5579(1)	2651(1)	24(1)
C(11)	2440(1)	4775(2)	3277(1)	36(1)
C(12)	3141(2)	5219(2)	4029(2)	73(1)
C(13)	1867(5)	4530(6)	3548(5)	38(2)
C(13B)	1654(7)	4290(9)	3238(10)	66(3)
C(14)	2771(2)	3890(2)	3049(1)	45(1)
C(15)	1522(1)	7033(1)	2301(1)	20(1)
C(16)	1164(1)	8346(1)	2956(1)	22(1)
C(17)	1470(1)	7942(2)	3702(1)	26(1)
C(18)	1419(1)	8466(2)	4305(1)	32(1)
C(19)	1070(1)	9365(2)	4174(1)	33(1)

C(20)	753(1)	9800(2)	3418(1)	29(1)
C(21)	803(1)	9298(1)	2806(1)	23(1)
C(22)	220(1)	10575(2)	1922(1)	31(1)
C(23)	143(1)	11122(2)	2501(1)	40(1)
C(24)	399(1)	10738(2)	3231(1)	38(1)
C(25)	-63(1)	10993(2)	1114(1)	41(1)
N(1)	1804(1)	6384(1)	2857(1)	25(1)
N(2)	1179(1)	7908(1)	2317(1)	23(1)
N(3)	536(1)	9687(1)	2069(1)	25(1)
O(1)	273(1)	2005(1)	-501(1)	33(1)
O(2)	1555(1)	2082(1)	-302(1)	37(1)
S(1)	1606(1)	6730(1)	1474(1)	23(1)

表 4.10 化合物 J31 晶体的部分键长 (Å)

Bond	Dist.	Bond	Dist.	Bond	Dist.
C(1)-O(2)	1.426(2)	C(8)-C(9)	1.508(2)	C(18)-C(19)	1.362(3)
C(1)-O(1)	1.433(2)	C(9)-C(10)	1.357(3)	C(19)-C(20)	1.413(3)
C(2)-C(3)	1.364(3)	C(9)-S(1)	1.7432(18)	C(20)-C(24)	1.412(3)
C(2)-O(2)	1.376(2)	C(10)-N(1)	1.394(2)	C(20)-C(21)	1.413(3)
C(2)-C(7)	1.383(3)	C(15)-N(1)	1.292(2)	C(21)-N(3)	1.367(2)
C(3)-C(4)	1.403(2)	C(15)-N(2)	1.371(2)	C(22)-N(3)	1.323(3)
C(4)-C(5)	1.386(3)	C(15)-S(1)	1.7386(17)	C(22)-C(23)	1.416(3)
C(4)-C(8)	1.513(2)	C(16)-C(17)	1.382(3)	C(22)-C(25)	1.497(3)
C(5)-C(6)	1.404(3)	C(16)-N(2)	1.389(2)	C(23)-C(24)	1.356(3)
C(6)-C(7)	1.362(3)	C(16)-C(21)	1.435(3)	N(2)-H(2)	0.85(2)
C(7)-O(1)	1.383(2)	C(17)-C(18)	1.413(3)		

表 4.11 化合物 J31 晶体的部分键角 (°)

Angle	(°)	Angle	(°)	Angle	(°)
O(2)-C(1)-O(1)	107.99(14)	C(9)-C(8)-H(8B)	108.1	N(2)-C(15)-S(1)	119.38(13)
O(2)-C(1)-H(1A)	110.1	C(4)-C(8)-H(8B)	108.1	C(17)-C(16)-N(2)	125.31(17)
O(1)-C(1)-H(1A)	110.1	H(8A)-C(8)-H(8B)	107.3	N(2)-C(16)-C(21)	115.30(16)
O(2)-C(1)-H(1B)	110.1	C(10)-C(9)-C(8)	133.86(17)	C(24)-C(20)-C(19)	123.80(18)
O(1)-C(1)-H(1B)	110.1	C(10)-C(9)-S(1)	109.44(14)	C(24)-C(20)-C(21)	116.45(19)
H(1A)-C(1)-H(1B)	108.4	C(8)-C(9)-S(1)	116.70(13)	N(3)-C(21)-C(20)	123.01(18)
C(3)-C(2)-O(2)	128.06(17)	C(9)-C(10)-N(1)	115.29(16)	N(3)-C(21)-C(16)	117.48(15)
C(3)-C(2)-C(7)	122.30(17)	C(9)-C(10)-C(11)	130.46(17)	N(3)-C(22)-C(23)	121.9(2)
O(2)-C(2)-C(7)	109.62(16)	N(1)-C(10)-C(11)	114.25(16)	N(3)-C(22)-C(25)	117.90(18)
C(2)-C(3)-C(4)	117.63(17)	C(13)-C(11)-C(10)	110.5(3)	C(15)-N(1)-C(10)	111.45(15)
C(5)-C(4)-C(8)	123.31(16)	C(13)-C(11)-C(14)	114.6(4)	C(15)-N(2)-C(16)	127.89(16)
C(3)-C(4)-C(8)	116.94(16)	C(10)-C(11)-C(14)	114.18(17)	C(15)-N(2)-H(2)	118.4(14)
C(7)-C(6)-C(5)	116.99(17)	C(13)-C(11)-C(12)	102.5(4)	C(16)-N(2)-H(2)	113.3(14)
C(6)-C(7)-O(1)	128.73(17)	C(10)-C(11)-C(12)	107.52(19)	C(22)-N(3)-C(21)	118.60(16)

O(1)-C(7)-C(2)	109.77(16)	C(14)-C(11)-C(12)	106.5(2)	C(7)-O(1)-C(1)	104.87(14)
C(9)-C(8)-C(4)	116.57(15)	N(1)-C(15)-N(2)	126.06(16)	C(2)-O(2)-C(1)	105.46(14)
C(9)-C(8)-H(8A)	108.1	N(1)-C(15)-S(1)	114.56(14)	C(15)-S(1)-C(9)	89.26(8)
C(4)-C(8)-H(8A)	108.1				

4.3.3 抗肿瘤活性

4.3.3.1 抗肿瘤活性评价

利用 MTT 法, 测试了化合物 **J1~J31** 对 HeLa、A549 和 MCF-7 三种肿瘤细胞的体外抗肿瘤活性, 利用 SPSS 软件分别计算其半数抑制浓度 (IC₅₀), 测试结果列入表 4.12 中。

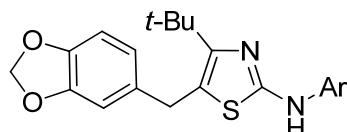


表 4.12 化合物 **J** 对 3 种供试肿瘤细胞的抑制活性

化合物	Ar	IC ₅₀ (μM)		
		HeLa	A549	MCF-7
J1	C ₆ H ₅	11.95 ± 0.51	20.42 ± 1.21	11.60 ± 1.14
J2	2-CH ₃ C ₆ H ₄	24.78 ± 0.79	18.74 ± 5.98	19.10 ± 2.09
J3	3-CH ₃ C ₆ H ₄	18.79 ± 1.74	12.72 ± 0.16	4.91 ± 0.03
J4	2-FC ₆ H ₄	18.32 ± 0.91	7.57 ± 0.22	4.49 ± 0.49
J5	4-FC ₆ H ₄	25.26 ± 1.75	5.81 ± 0.27	14.98 ± 1.54
J6	2-ClC ₆ H ₄	18.89 ± 3.92	6.84 ± 0.21	8.99 ± 0.97
J7	3-ClC ₆ H ₄	8.27 ± 0.89	2.06 ± 0.09	3.00 ± 0.25
J8	4-ClC ₆ H ₄	10.98 ± 1.91	9.19 ± 1.03	3.48 ± 0.12
J9	2-BrC ₆ H ₄	51.95 ± 0.21	26.10 ± 1.58	39.85 ± 5.29
J10	3-BrC ₆ H ₄	6.43 ± 3.02	5.00 ± 0.94	4.66 ± 0.25
J11	4-BrC ₆ H ₄	13.31 ± 1.89	10.05 ± 1.78	4.71 ± 0.81
J12	3-CF ₃ C ₆ H ₄	12.96 ± 0.88	15.80 ± 1.94	3.32 ± 0.31
J13	4-CF ₃ C ₆ H ₄	10.36 ± 0.52	9.22 ± 1.64	3.54 ± 1.90
J14	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	11.71 ± 0.62	10.12 ± 0.05	9.36 ± 1.68
J15	2-NO ₂ C ₆ H ₄	194.11 ± 44.34	82.80 ± 1.70	> 200
J16	4-NO ₂ C ₆ H ₄	4.15 ± 0.01	8.26 ± 0.18	2.55 ± 0.34
J17	4-CO ₂ EtC ₆ H ₄	47.53 ± 27.47	8.51 ± 4.30	5.95 ± 0.37
J18	2,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	18.90 ± 0.54	11.35 ± 0.52	18.65 ± 0.77
J19	2,6-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	83.50 ± 6.15	15.94 ± 2.07	20.14 ± 5.07
J20	3,4-(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃	20.71 ± 5.06	12.15 ± 2.72	20.37 ± 0.48
J21	2,3-Cl ₂ C ₆ H ₃	34.61 ± 7.28	14.24 ± 1.49	19.45 ± 3.30
J22	3,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	7.83 ± 2.17	11.54 ± 0.37	11.23 ± 0.11

J23	3,5-Cl ₂ C ₆ H ₃	5.80 ± 0.59	17.03 ± 1.82	17.72 ± 1.63
J24	4-F-3-ClC ₆ H ₃	4.60 ± 0.52	16.30 ± 1.68	8.66 ± 0.38
J25	4-NO ₂ -2-FC ₆ H ₃	19.29 ± 2.13	67.24 ± 11.72	33.33 ± 1.55
J26	4-NO ₂ -2-ClC ₆ H ₃	51.70 ± 11.52	80.88 ± 3.32	76.55 ± 1.52
J27	3,5-(CF ₃) ₂ C ₆ H ₃	2.07 ± 0.88	3.52 ± 0.49	9.03 ± 0.96
J28	2,6-Br ₂ -4-OCF ₃ C ₆ H ₂	53.26 ± 12.37	102.74 ± 4.25	102.86 ± 2.17
J29	萘-1-基	14.05 ± 0.09	55.19 ± 4.50	22.30 ± 0.63
J30	吡啶-2-基	4.79 ± 0.86	5.13 ± 0.62	4.71 ± 0.47
J31	2-甲基喹啉-8-基	65.07 ± 0.92	55.50 ± 0.07	> 200
5-FU		56.50 ± 3.40	26.00 ± 6.00	79.30 ± 5.11

体外抗肿瘤活性实验结果显示, 化合物 **J** 对 3 种供试肿瘤细胞均表现出良好的抑制效果, 绝大部分化合物对 3 种细胞的 IC₅₀ 均低于阳性对照物 5-FU。其中, 化合物 **J16**、**J24**、**J27** 和 **J30** 四个化合物对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 分别为 4.15 ± 0.01 μM、4.60 ± 0.52 μM、2.07 ± 0.88 μM 和 4.79 ± 0.86 μM, 均不到阳性对照物 5-FU (IC₅₀ = 56.50 ± 3.40 μM) 的 1/10。化合物 **J7**、**J10** 和 **J27** 对 A549 细胞的 IC₅₀ 分别为 2.06 ± 0.09 μM、5.00 ± 0.94 μM 和 3.52 ± 0.49 μM, 远小于阳性对照物 5-FU (IC₅₀ = 26.00 ± 6.00 μM); 化合物 **J3**、**J4**、**J7**、**J8**、**J10**、**J11**、**J12**、**J13**、**J16**、**J30** 对 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 分别为 4.91 ± 0.03 μM、4.49 ± 0.49 μM、3.00 ± 0.25 μM、3.48 ± 0.12 μM、4.66 ± 0.25 μM、4.71 ± 0.81 μM、3.32 ± 0.31 μM、3.54 ± 1.90 μM、2.55 ± 0.34 μM 和 4.71 ± 0.47 μM, 比阳性对照物 5-FU 的 IC₅₀ 低一个数量级。整体而言, 此类化合物对 MCF-7 细胞的抑制活性优于对 HeLa 细胞和 A549 细胞的抑制活性。

对化合物 **J** 进行构效关系分析, 可以发现如下规律: 1) 当芳基为取代苯基 (**J1~J28**) 时, 单取代或无取代苯基 (**J1~J17**) 的活性优于多取代苯基 (**J18~J28**); 若苯环上取代基相同, 则 3-位或 4-位取代的活性优于 2-位取代, 如化合物 **J10** (3-Br) 和 **J11** (4-Br) 优于 **J9** (2-Br), 化合物 **J16** (4-NO₂) 优于 **J15** (2-NO₂); 2) 当芳基为稠环或杂环时, 吡啶-2-基 (**J30**) 的活性最好, 其对 3 种供试细胞的 IC₅₀ 均在 5 μM 左右, 萘-2-基 (**J29**) 活性次之, 而当芳环为喹啉环时 (**J31**), 活性最弱。

与先导化合物 **4-13** 相比, 大部分目标化合物的 IC₅₀ 小了一个数量级。另外, 选取部分活性较好化合物^[140]与化合物 **J** 进行对比 (如表 4.13 所示), 可以看出, 当芳氨基部分相同时, 胡椒环结构相比于 4-Cl、2-OCH₃ 和 4-OCH₃ 苯基, 活性都明显提高。表明胡椒环的引入改善了化合物的抗肿瘤活性, 为抗肿瘤药物的开发提供了一个新的模板。

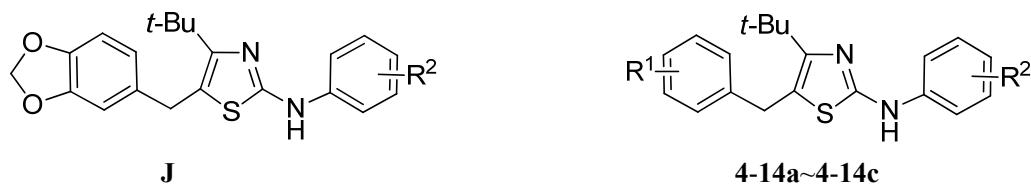


表 4.13 化合物 J 与 4-14 抗肿瘤活性对比

化合物	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)	
			HeLa	A549
J10	3,4-OCH ₂ O	3-Br	6.43 ± 3.02	5.00 ± 0.94
4-14a	4-Cl	3-Br	73	19
J13	3,4-OCH ₂ O	4-CF ₃	10.36 ± 0.52	9.22 ± 1.64
4-14b	2-OCH ₃	4-CF ₃	84	103
J14	3,4-OCH ₂ O	4-OCH ₃	11.71 ± 0.62	10.12 ± 0.05
4-14c	4-OCH ₃	4-OCH ₃	88	80

与酰胺类化合物 (E、G、H) 相比, 化合物 J 的整体抗肿瘤活性更强, IC₅₀ 优于阳性对照物的化合物数量更多。从而表明, 将噻唑环 2-位氨基改造为芳氨基比酰胺更有利 于增强化合物抗肿瘤活性。

4.3.3.2 AO/EB 双染

化合物 J24 在 5 μM 和 10 μM 浓度下, 对 HeLa 细胞诱导 12 h, 用 AO/EB 对细胞进 行染色, 在双光子荧光显微镜下观察细胞形态。测试结果如图 4.3 所示。

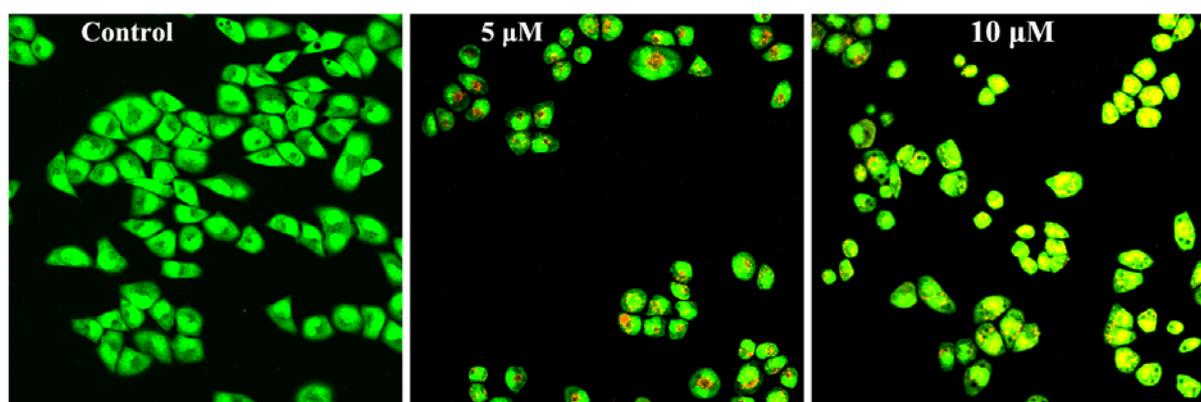


图 4.5 化合物 J24 处理 12 h 后 HeLa 细胞的双染情况

从图 4.5 中可以看出, 用化合物 J24 处理 12 h 之后, HeLa 细胞表现出了明显的凋亡特征。在空白对照组中, 细胞排列紧凑、性状不规则、细胞核没有被染色; 而在实验组中, 细胞核被染成橙色, 细胞变成大小不一的圆球状, 且随着浓度的增大, 出现了更多的细胞核碎片。测试结果表明, 化合物 J24 能诱导 HeLa 细胞凋亡, 且遵循剂量依赖关系, 与体外抗肿瘤活性测试结果相吻合。

4.3.3.3 Hoechst 33342 单染

化合物 J24 在 2.5 μM 和 5.0 μM 浓度下, 对 HeLa 细胞诱导 12 h, 利用 Hoechst 33342 染料对细胞进行染色, 在倒置荧光显微镜下观察细胞形态, 测试结果如图 4.6 所示。

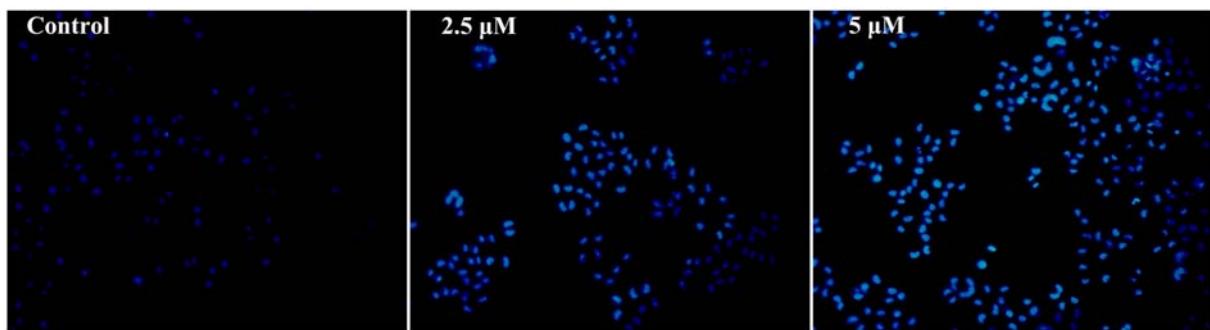


图 4.6 化合物 J24 处理 12 h 后 HeLa 细胞的单染情况

从图 4.6 可以看出，在空白对照组中，细胞形态均匀，蓝色荧光很弱。而在实验组中，出现了月牙状或环状细胞团，细胞大小不一，蓝色荧光明显增强，且随着浓度的增大，蓝色荧光增强。测试结果表明，化合物 **J24** 能够诱导 HeLa 细胞凋亡，且遵循剂量依赖关系，与前文提到的体外抗肿瘤活性实验及 AO/EB 双染实验结果相吻合。

4.3.3.4 细胞周期分析

化合物 **J24** 在 5 μ M 和 10 μ M 浓度下，对 HeLa 细胞诱导 12 h，利用流式细胞仪对其进行细胞周期分析，分析结果如图 4.7 所示。

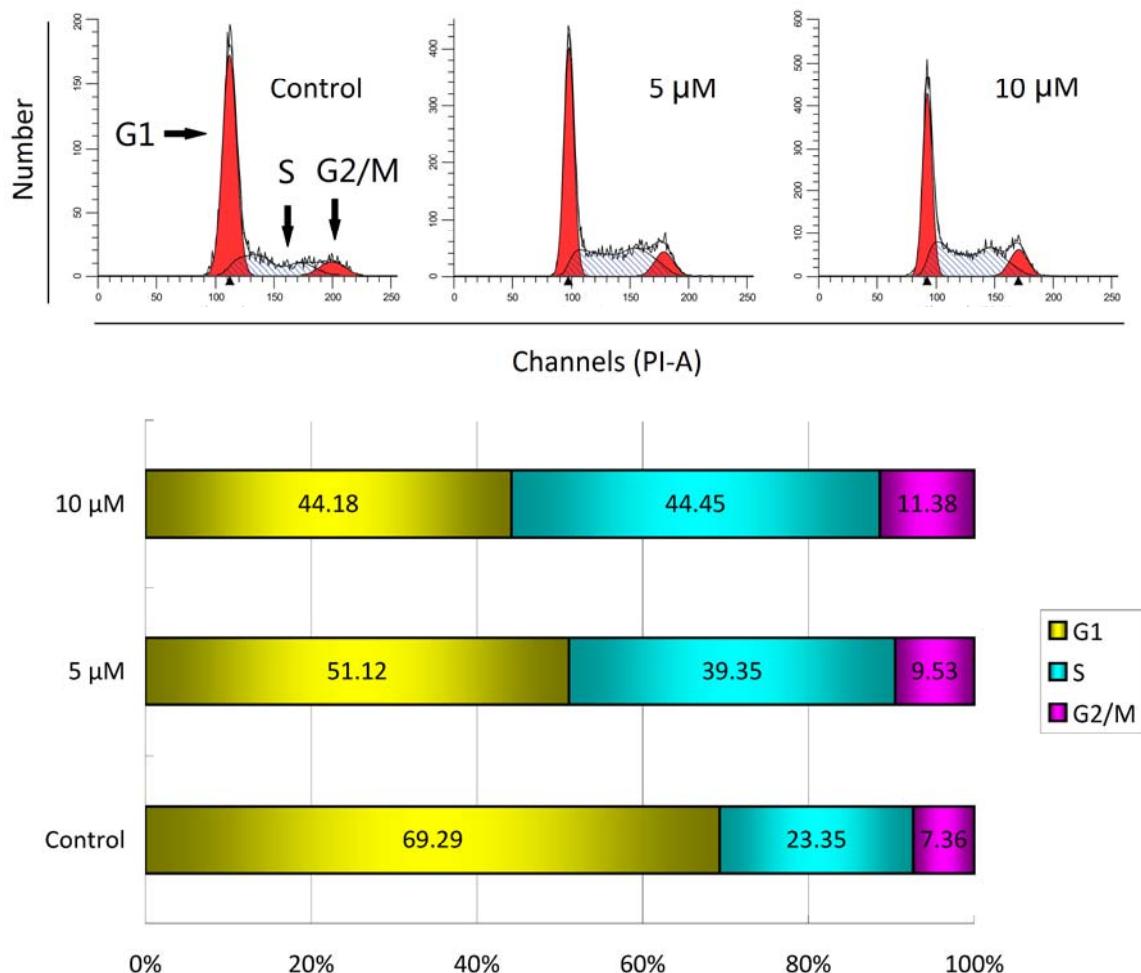


图 4.7 化合物 J24 对 HeLa 细胞分裂周期的影响

由图 4.7 可以看出, 化合物 **J24** 诱导 12 h 之后, S 期细胞的比例从空白对照组的 23.35% 分别上升到 39.35% (5 μ M) 和 44.45% (10 μ M), G2/M 期细胞的比例从空白对照组的 7.36% 分别上升到 9.53% (5 μ M) 和 11.38% (10 μ M)。测试结果表明, 化合物 **J24** 对 HeLa 细胞有丝分裂具有 S 期阻滞和 G2/M 期阻滞作用, 其中 S 期阻滞效果更加明显, 且随着化合物浓度的增大, 其对 HeLa 细胞有丝分裂的阻滞作用增强。该化合物是一种很好的抗有丝分裂潜在药物。

4.3.3.5 细胞凋亡结果分析

利用流式细胞仪测试了化合物 **J24** 在 5 μ M 和 10 μ M 浓度下, 对 HeLa 细胞诱导 12 h 后, 细胞的凋亡情况, 实验结果如图 4.8 所示。

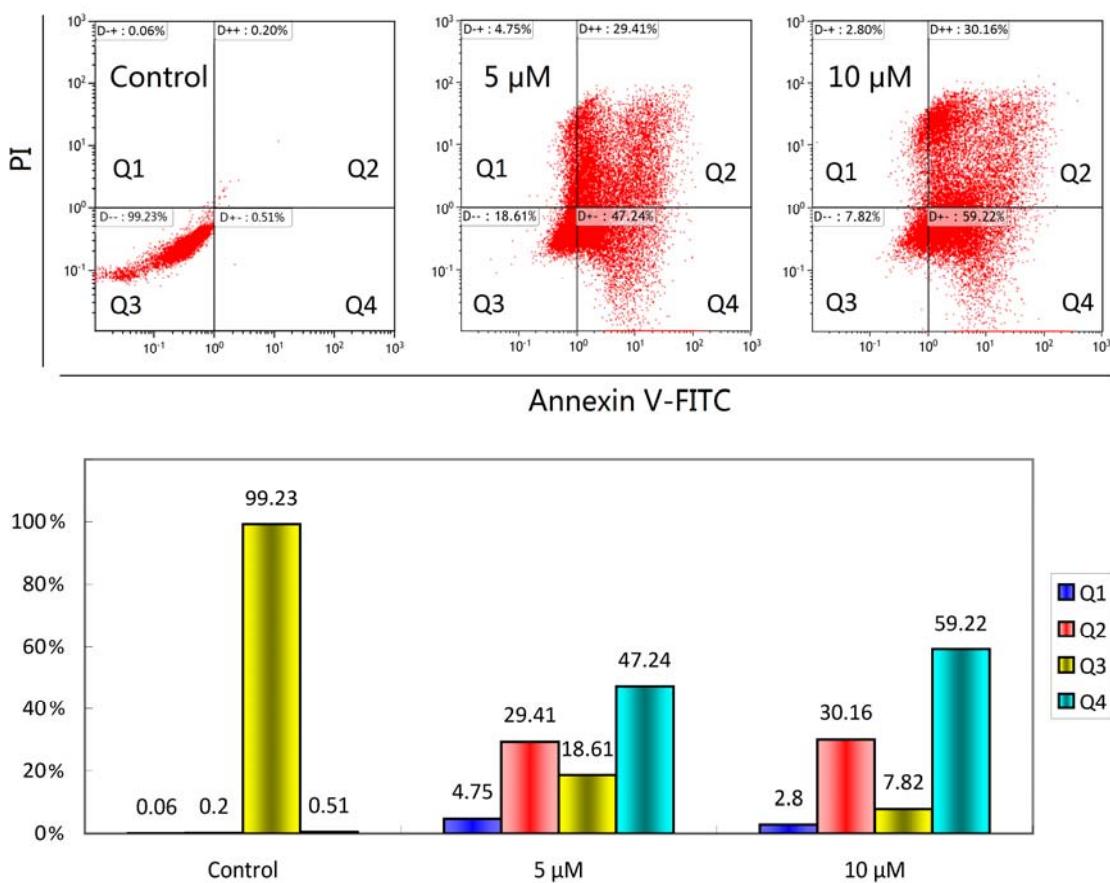


图 4.8 化合物 **J24** 对 HeLa 细胞分裂周期的影响

从图 4.8 可以看出, 在空白对照组中, 正常活细胞 (Q3) 的占比为 99.23%, 早期凋亡 (Q4) 和晚期凋亡 (Q2) 细胞的比例分别为 0.51% 和 0.20%, 机械损伤 (Q1) 细胞的比例为 0.06%。而用浓度为 5 μ M 的化合物 **J24** 诱导 12 h 之后, 早期凋亡细胞的比例达到了 47.2%, 晚期凋亡细胞的比例为 29.41%, 总凋亡细胞占 76.65%; 用浓度为 10 μ M 的化合物 **J24** 诱导 12 h 之后, 早期凋亡细胞的比例达到 59.22%, 晚期凋亡细胞的比例为 30.16%, 细胞总体凋亡率达到 89.38%, 较前一浓度提高了近 13 个百分点。实验结果表明, 化合物 **J24** 能很好的诱导 HeLa 细胞凋亡, 从而抑制细胞的增殖, 且化合物对细胞的诱导凋亡作用遵循剂量依赖规律。

4.4 本章小结

(1) 以芳氨基噻唑活性基团为母体, 在噻唑环 5-位引入天然产物活性基团胡椒基, 得到 5-胡椒基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑 (**J1~J31**), 利用核磁共振氢谱和碳谱对目标化合物进行了结构表征, 利用 X-射线单晶衍射法测试了化合物 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-甲基喹啉-8-基)氨基噻唑 (**J31**) 的晶体结构, 验证了化合物的结构。

(2) 体外抗肿瘤活性表明, 化合物 **J** 对 HeLa、A549 和 MCF-7 3 种供试细胞具有很好的抑制活性, 大部分化合物对 3 种供试细胞的体外抑制活性优于阳性对照物。化合物 **J16**、**J24**、**J27** 和 **J30** 4 个化合物对 HeLa 细胞的 IC_{50} 在 5 μM 以下, 化合物 **J7**、**J10** 和 **J27** 对 A549 细胞的 IC_{50} 在 5 μM 以下, 化合物 **J3**、**J4**、**J7**、**J8**、**J10**、**J11**、**J12**、**J13**、**J16** 和 **J30** 对 MCF-7 细胞的 IC_{50} 在 5 μM 以下, 均远优于阳性对照物 5-FU。

与先导化合物相比, 引入胡椒基之后, 化合物的抗肿瘤活性显著增强。与第 3 章酰胺类化合物 (**E**、**G** 和 **H**) 相比, 化合物 **J** 的抗肿瘤活性显著增强, 表明芳氨基比酰胺更有利于增强化合物的抗肿瘤活性。

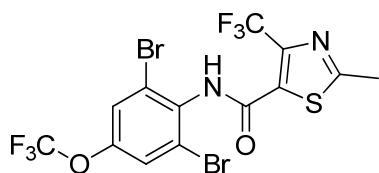
(3) 以化合物 **J24** 为代表, 进行细胞染色与流式细胞周期及凋亡实验, 结果表明, 该化合物能诱导细胞凋亡, 对细胞有丝分裂具有 S 期和 G2/M 阻滞作用。该类化合物作为一种优良的细胞凋亡诱导剂, 具有进一步开发的价值。

第5章 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑的合成与杀菌活性

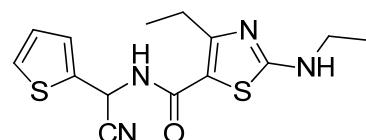
5.1 引言

杀菌剂在保障农作物质量与产量方面发挥着重要的作用。随着农作物病害发生越来越严重，新的病害不断涌现，杀菌剂用量呈现逐年递增趋势，杀菌剂市场总体也始终保持增长，至2013年销售额达到157亿美元^[141]。然而随着药物使用时间的延长，很多植物病菌对杀菌剂（尤其是单靶点杀菌剂）逐渐产生了耐药性^[142]。另外，随着人类对健康和环境要求的不断提高，一些毒性较大的杀菌剂正面临着被淘汰的局面。因此，开发高效、安全的新型杀菌剂成为全人类面临的一项重大课题。

噻唑类化合物在杀菌剂中应用广泛，其中，噻呋酰胺^[143,144]（thifluzamide）和噻唑菌胺^[145,146]（ethaboxam）均为含噻唑活性基团的上市药物。噻呋酰胺属于噻唑酰胺类琥珀酸酯脱氢酶抑制剂，对许多种真菌性病害均有很好的防治效果，可广泛应用于水稻、麦类、花生、棉花、甜菜、咖啡、马铃薯、草坪等多种作物，目前生产上主要用于防治水稻和麦类的纹枯病。噻唑菌胺由韩国LGSL研发，可土壤施用、叶施、或者用作种子处理剂，对霜霉病，晚疫病，腐霉病等多种病害防效显著，可在许多作物包括葡萄、蔬菜、西红柿、玉米和其他中耕作物应用。



噻呋酰胺

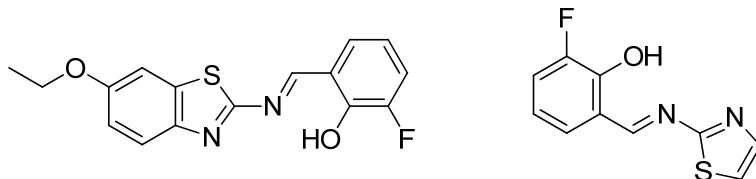


噻唑菌胺

2-氨基噻唑与苯甲醛反应得到的席夫碱，称为苄亚氨基噻唑，这类化合物具有广泛的生物活性，如抗丝虫^[147]、抗癌^[148,149]、抗阿尔茨海默^[150,151]、镇痛抗炎^[152]、抗氧化^[153,154]、抗惊厥^[155]等；另外，对碳酸酐酶^[156]、脲酶^[157]和β-葡萄糖醛酸酶^[158]等具有抑制作用；而其在抗菌领域的应用更加广泛，近年来，大量具有抗菌活性的苄亚氨基噻唑衍生物相继被报道。

Shanmugam等^[159]设计合成了一系列苄亚氨基噻唑化合物，部分化合物表现出良好的抗菌活性，其中化合物**5-1a**和**5-1b**对克雷伯氏肺炎菌(*K. pneumoniae*)、伤寒沙门菌(*S. typhi*)和铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)3种细菌的离体抑制活性优于阳性对照物链霉素。化合物**5-1a**对产黄青霉菌(*P. chrysogenum*)、白色念珠菌(*C. albicans*)、根霉菌(*Rhizopus sp*)和黑曲霉菌(*A. niger*)的离体抑制活性优于阳性对照物两性霉素B，化合物**5-1b**对黄曲霉菌(*A. flavus*)和黑曲霉菌(*A. niger*)的离体抑制活性优于阳性对照

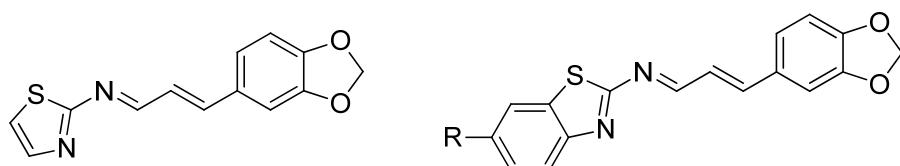
物两性霉素 B。



5-1a

5-1b

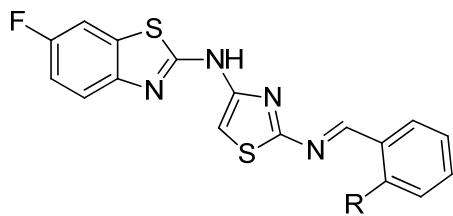
Sharma 等^[160]报道了一类含胡椒环结构的苯亚氨基噻唑化合物, 其中化合物 **5-2b** 对阴沟肠杆菌 (*E. cloacae*)、洋葱伯克霍尔德菌 (*B. cepacia*)、铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 和克雷伯氏肺炎菌 (*K. pneumoniae*) 等细菌的离体抑制活性优于阳性对照物氨苄青霉素, 其最低抑菌浓度均为 0.81 mM; 此外化合物 **5-2a** 对阴沟肠杆菌 (*E. cloacae*)、洋葱伯克霍尔德菌 (*B. cepacia*) 和克雷伯氏肺炎菌 (*K. pneumoniae*), 化合物 **5-2c** 和 **5-2d** 对洋葱伯克霍尔德菌 (*B. cepacia*), 化合物 **5-2e** 对阴沟肠杆菌 (*E. cloacae*) 和洋葱伯克霍尔德菌 (*B. cepacia*) 的离体 MIC 均低于阳性对照物氨苄青霉素。同时, 测试了化合物对黑曲霉菌 (*A. niger*)、聚多曲霉 (*A. sydowii*)、寄生曲霉 (*A. parasiticus*)、红色毛霉菌 (*T. rubrum*)、白色念珠菌 (*C. albicans*) 和东方伊萨酵母 (*I. orientalis*) 等真菌的离体抑制活性, 结果显示, 各化合物的抑菌活性均弱于阳性对照物制霉菌素。



5-2a

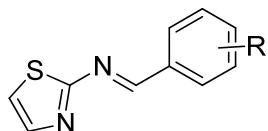
5-2[b: R = H; c: R = 6-Cl; d: R = OEt; e: R = CH₃]

Amnerkar 等^[161]报道了一系列 4-苯并噻唑氨基-2-苯亚氨基噻唑化合物, 其中化合物 **5-3a**、**5-3b** 和 **5-3c** 对革兰氏阴性细菌大肠杆菌和铜绿假单胞菌的离体抑制活性与阳性对照物环丙沙星相当, 化合物 **5-3a** 和 **5-3b** 对革兰氏阳性细菌枯草杆菌 (*B. subtilis*) 的离体抑制活性与阳性对照物环丙沙星接近。抗真菌实验显示, 化合物 **5-3b**、**5-3c** 对白色念球菌和黑曲霉菌的最低抑制浓度分别为 2 μg/mL、3 μg/mL 和 4 μg/mL、5 μg/mL, 接近阳性对照物氟康唑。

5-3[a: R = H; b: R = Cl; c: R = NO₂]

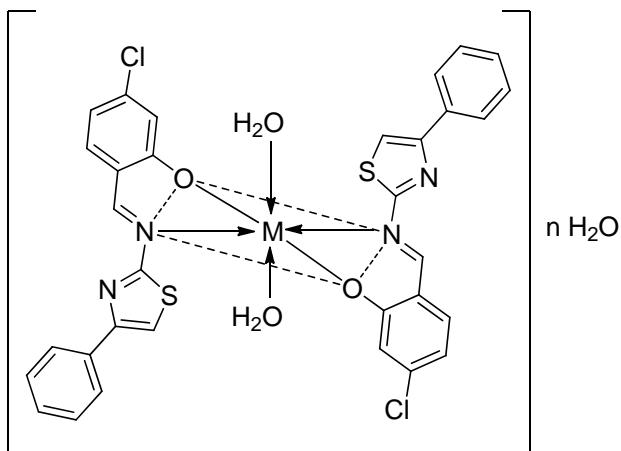
Mishra 等^[162]报道了 2 个苯亚氨基噻唑化合物及其钴、镍、铜配合物的抗菌活性。抗细菌实验结果显示, 化合物 **5-4b** 的钴配合物在 25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 浓度下对大肠杆菌的抑菌圈半径大于阳性对照物链霉素, 其铜配合物在相同浓度下的对大肠杆菌 (*E. coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 的抑制活性与阳性对照物链霉素相当。抗

真菌实验结构显示, 化合物 **5-4a** 的钴配合物对黑曲霉菌 (*A. niger*) 和白色念珠菌 (*C. albicans*) 在 25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 浓度下的抑菌圈半径分别为 19 mm、23 mm、27 mm 和 20 mm、24 mm、29 mm, 与阳性对照物咪康唑相当。另外化合物 **5-4a** 的铜配合物、化合物 **5-4b** 的钴配合物在 25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L 浓度下对黑曲霉菌的抑菌圈半径接近阳性对照物咪康唑。



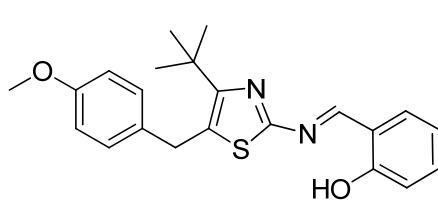
5-4[a: R = 4-Cl; b: R = 2-NO₂]

Alaghaz 等^[163]合成了一系列 4-苯基-2-(2-羟基-4-氯苄亚氨基)噻唑的金属配合物, 其中钴配合物 **5-5a** 和铜配合物 **5-5b** 对革兰氏阳性细菌金黄色葡萄球菌和酿脓链球菌的抑制活性与阳性对照物氯霉素相当, 对革兰氏阴性细菌菜豆假单胞菌 (*Pseudomonas phaseolicola*)、大肠杆菌和恶臭假单胞菌 (*pseudomonas putida*) 的抑制活性与阳性对照物先锋霉素接近, 对真菌尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、烟曲霉菌 (*aspergillus fumigatus*) 和白色念球菌的抑制活性接近阳性对照物放线菌酮。另外锰配合物 **5-5c** 和镉配合物 **5-5d** 对金黄色葡萄球菌、酿脓链球菌、大肠杆菌和白色念球菌的抑制活性也与相应的阳性对照物接近。

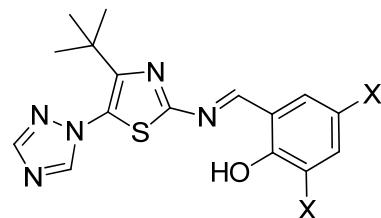


5-5[a: M = Co(II), n = 2; b: M = Cu(II), n = 2; c: M = Mn(II), n = 1.5; d: M = Cd(II), n = 1]

杨林涛等^[164]设计合成了一系列 5-苄基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑, 其中化合物 **5-6** 在 500 mg/L 浓度下对水稻纹枯病菌抑制率为 95%。胡艾希等^[165]报道了一系列 4-叔丁基-5-(1,2,4-三唑-1-基)-2-苄亚氨基噻唑, 其中化合物 **5-7a** 对小麦赤霉病菌的抑制率为 100%; 化合物 **5-7b** 对水稻曲病菌、小麦赤霉病菌、水稻纹枯病菌和黄瓜灰霉病菌的抑制率分别为 100%、100%、80.3% 和 82.8%; 化合物 **5-7c** 对油菜菌核病菌、水稻纹枯病菌、水稻曲病菌和小麦赤霉病菌的抑制率分别为 95.5%、100%、100% 和 100%。化合物 **5-7c** 对小麦赤霉病菌、水稻纹枯病菌和油菜菌核病菌的 EC₅₀ 分别为 1.16 mg/L、1.47 mg/L 和 1.38 mg/L, 与阳性对照物叶枯唑相比, 化合物 **5-7c** 对小麦赤霉病菌的毒力更优, 对油菜菌核病菌和水稻纹枯病菌的毒力稍弱。

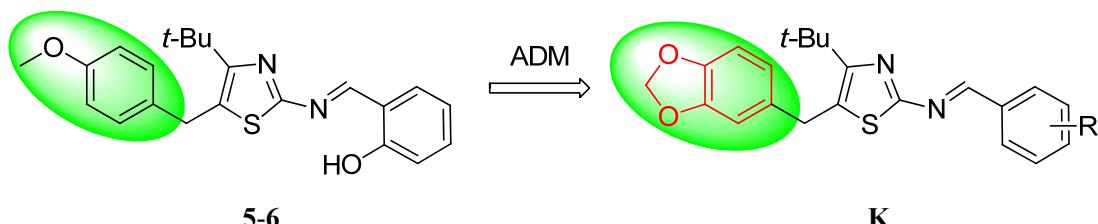
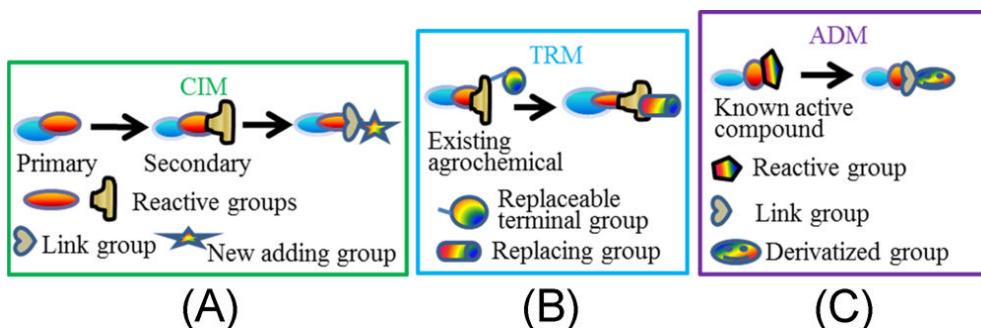


5-6

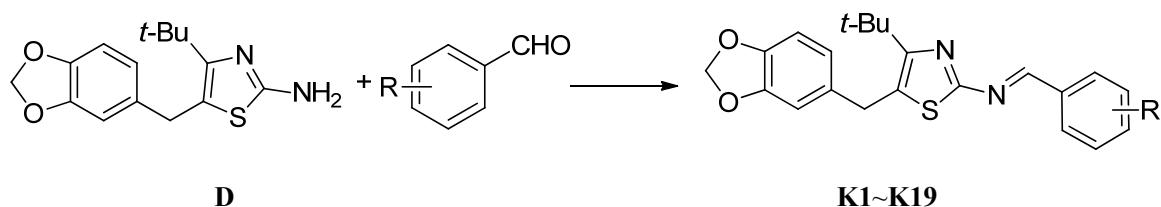


5-7[a: X = Cl; b: X = Br; c: X = I]

Guan 等¹⁶⁶报道了一种高效的农药开发新方法—中间体衍生化法 (Intermediate Derivatization Approach)，可细分为共中间体法 (Common Intermediate Method, CIM)、末端基团替代法 (Terminal Group Replacement Method, TRM) 和活性化合物衍生法 (Active compound Derivatization Method, ADM)。本章以活性已知的化合物 5-6 为先导化合物，采用 ADM 法对其进行结构改造，用胡椒基替代噻唑环 5-位的对甲氧基苄基，得到一类新的苄亚氨基噻唑类化合物。



以中间体 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (D) 为底物，和不同的取代苯甲醛反应，共合成了 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑 (K) 类化合物 19 个，化合物结构经过 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 确证，并测试了目标化合物的离体和活体杀菌活性。合成路线如下：



K1: R = H; **K2**: R = 4-F; **K3**: R = 2-Cl; **K4**: R = 4-Cl; **K5**: R = 2-NO₂; **K6**: R = 3-NO₂; **K7**: R = 4-NO₂; **K8**: R = 2-OCH₃; **K9**: R = 4-OCH₃; **K10**: R = 2,4-Cl₂; **K11**: R = 5-NO₂-2-Cl; **K12**: R = 2-OH; **K13**: R = 2-OH-5-Cl; **K14**: R = 2-OH-5-Br; **K15**: R = 2-OH-3-NO₂; **K16**: R = 2-OH-5-NO₂; **K17**: R = 2-OH-3,5-Cl₂; **K18**: R = 2-OH-3,5-Br₂; **K19**: R = 2-OH-3,5-I₂.

5.2 实验部分

5.2.1 实验仪器与试剂

主要仪器见第 2 章 2.2.1, 主要试剂与原料如表 5.1 所示:

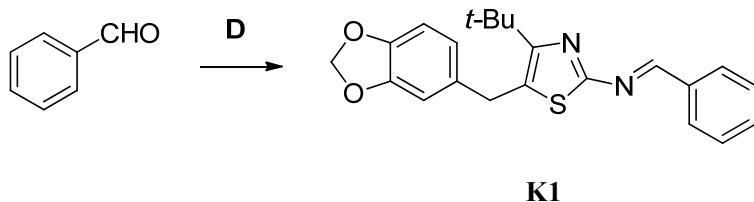
表 5.1 主要试剂与原料

试剂与原料	规格	生产厂家
苯甲醛、4-氟苯甲醛、2-氯苯甲醛、4-氯苯甲醛、2-硝基苯甲醛、3-硝基苯甲醛、4-硝基苯甲醛、2-甲氧基苯甲醛、4-甲氧基苯甲醛、2,4-二氯苯甲醛、5-硝基-2-氯苯甲醛、	分析纯	成都格雷西亚化学技术有限公司
水杨醛	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
5-氯水杨醛、5-溴水杨醛、3-硝基水杨醛、5-硝基水杨醛、3,5-二氯水杨醛、3,5-二溴水杨醛、3,5-二碘水杨醛	自制	

注: 其他常用溶剂均为市售分析纯

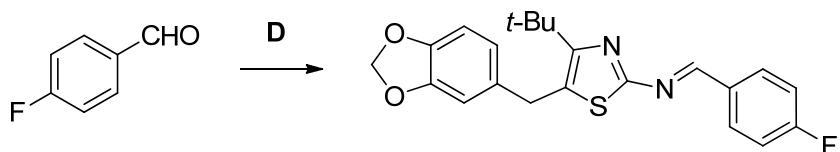
5.2.2 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑 (K) 的合成

5.2.2.1 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑(K1)的合成



2 mmol 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑、2 mmol 苯甲醛和 2 滴三乙胺溶于 10 mL 甲苯中, 于 80℃ 反应 3 h, 旋蒸回收溶剂, 柱层析得到淡黄色固体, 收率 56%, m.p. 88~90 ℃, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 4.21 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.43~7.50 (m, 3H, C₆H₅ 3,4,5-H), 7.93 (d, J = 7.6 Hz, 2H, C₆H₅ 2,6-H), 8.74 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 30.71, 33.23, 35.83, 76.36, 76.68, 76.99, 100.66, 107.91, 108.56, 121.01, 128.40, 129.31, 129.71, 131.93, 133.96, 134.75, 145.98, 147.50, 157.74, 162.23, 166.90。

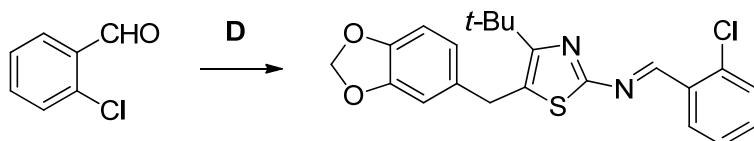
5.2.2.2 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-氟苄亚氨基)噻唑(K2)的合成



K2

2 mmol 5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑 (**D**)、2 mmol 4-氟苯甲醛和 2 滴三乙胺溶于 10 mL 甲苯中, 于 80℃ 反应 3 h, 旋蒸回收溶剂, 用适量 95% 乙醇重结晶, 得淡黄色固体, 收率 69%, m.p. 90~92 ℃, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.46 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.21 (s, 2H, CH_2), 5.95 (s, 2H, OCH_2O), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.71 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.76 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.26 (d, J = 8.0 Hz, 2H, C_6H_4 3,5-H), 7.83 (d, J = 8.0 Hz, 2H, C_6H_4 2,6-H), 8.68 (s, 1H, NCH)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 31.02, 33.55, 36.15, 76.66, 76.98, 77.29, 100.99, 108.24, 108.89, 115.93, 116.15, 121.33, 130.16, 131.45, 131.66, 131.75, 134.26, 146.32, 147.84, 158.06, 160.90, 163.96, 166.48, 167.01。

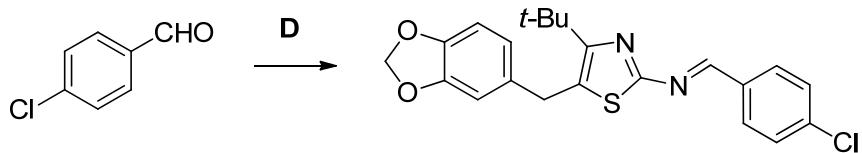
5.2.2.3 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-氯苄亚氨基)噻唑(K3)的合成



K3

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 78%, m.p. 103~105 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.47 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.22 (s, 2H, CH_2), 5.96 (s, 2H, OCH_2O), 6.69 (d, J =8.0 Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.71 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.77 (d, J =8.0 Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.31~7.36 (m, 1H, C_6H_4), 7.40~7.42 (m, 2H, C_6H_4), 8.32 (d, J =8.0 Hz, 1H, C_6H_4), 9.18 (s, 1H, NCH)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 26.09, 28.66, 31.22, 71.73, 72.05, 72.37, 96.07, 103.34, 103.94, 116.41, 122.11, 124.28, 125.04, 125.89, 127.29, 128.06, 129.21, 131.79, 141.42, 142.92, 153.48, 154.01, 162.04。

5.2.2.4 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-氯苄亚氨基)噻唑(K4)的合成

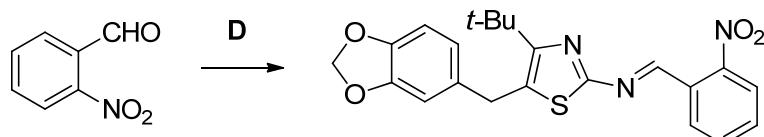


K4

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 78%, m.p. 116~118 °C, ^1H NMR (400

MHz, CDCl₃), δ : 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 4.21 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.76 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.43 (d, J =8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 7.87 (d, J =8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 8.71 (s, 1H, NCH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 30.68, 33.24, 35.83, 76.34, 76.66, 76.98, 100.67, 107.91, 108.55, 121.01, 128.79, 130.25, 130.35, 133.26, 133.88, 138.02, 146.01, 147.51, 157.85, 160.46, 166.49。

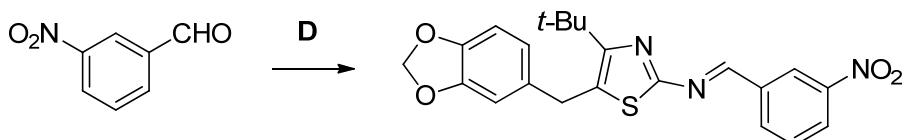
5.2.2.5 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-硝基苯亚氨基)噻唑(K5)的合成



K5

合成方法同 K2, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 60%, m.p. 133~135 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ : 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 4.23 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.77 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.63 (t, J =7.6 Hz, 1H, C₆H₄), 7.71 (t, J =7.6 Hz, 1H, C₆H₄), 8.06 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 8.40 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 9.25 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 26.05, 28.72, 31.24, 71.71, 72.03, 72.35, 96.08, 103.37, 103.94, 116.45, 119.69, 124.91, 125.01, 126.94, 127.31, 128.46, 129.04, 141.49, 142.96, 144.66, 152.32, 153.69, 161.15。

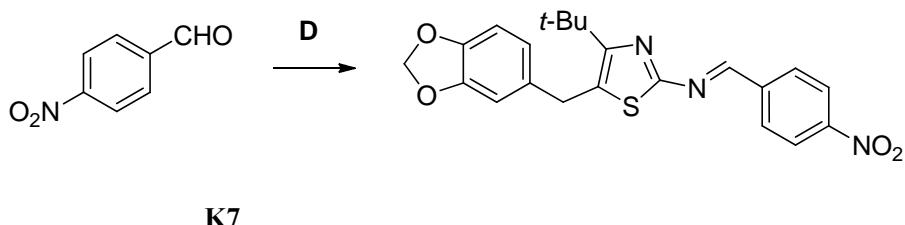
5.2.2.6 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(3-硝基苯亚氨基)噻唑(K6)的合成



K6

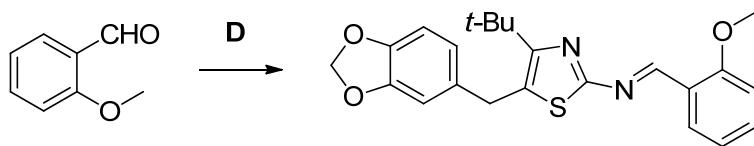
合成方法同 K2, 反应 3 h, 得到棕黄色固体, 收率 55%, m.p. 117~119 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.47 (s, 9H, 3×CH₃), 4.23 (s, 2H, CH₂), 5.97 (s, 2H, OCH₂O), 6.70 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.78 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.65 (t, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 8.29 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 8.34 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₄), 8.77 (s, 1H, C₆H₄ 2-H), 8.89 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 30.98, 33.63, 36.20, 76.66, 76.98, 77.30, 101.03, 108.29, 108.89, 121.39, 124.11, 126.20, 129.81, 132.13, 134.05, 134.51, 136.87, 146.42, 147.88, 148.66, 158.50, 158.79, 165.91。

5.2.2.7 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-硝基苯亚氨基)噻唑(K7)的合成



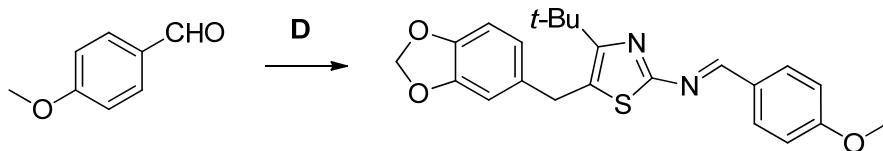
合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 62%, m.p. 127~129 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.47 (s, 9H, 3×CH₃), 4.23 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.78 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 8.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 8.89 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 30.97, 33.68, 36.21, 76.65, 76.97, 77.29, 101.04, 108.30, 108.89, 121.40, 123.96, 124.27, 130.01, 130.42, 132.65, 134.00, 140.59, 146.44, 147.89, 149.59, 158.69, 165.90。

5.2.2.8 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-甲氧基苯亚氨基)噻唑(K8)的合成

**K8**

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 70%, m.p. 142~143 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 4.21 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.72 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.77 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.92 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 3-H), 7.00 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 7.43 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₄ 4-H), 8.25 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 9.13 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ: 31.07, 33.56, 36.11, 55.54, 76.67, 76.99, 77.31, 100.97, 108.21, 108.89, 111.00, 120.78, 121.31, 123.55, 128.43, 129.16, 133.83, 134.40, 146.26, 147.81, 158.01, 158.91, 160.01, 168.20。

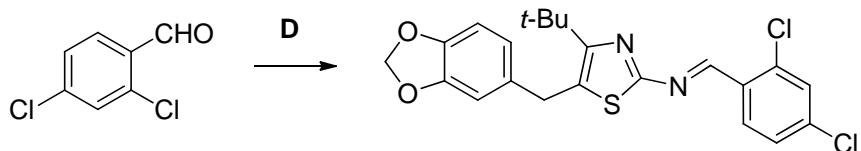
5.2.2.9 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(4-甲氧基苯亚氨基)噻唑(K9)的合成

**K9**

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 96%, m.p. 103~105 °C, ¹H NMR (400

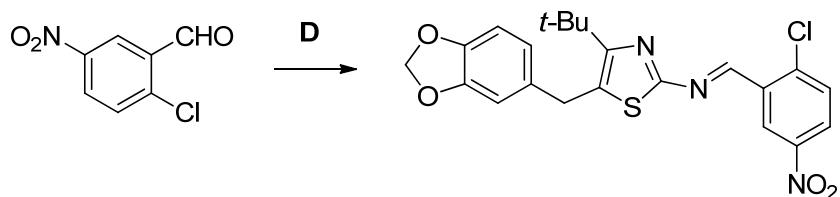
MHz, CDCl₃) δ : 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 2.41 (s, 3H, CH₃), 4.21 (s, 2H, CH₂), 5.95 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.76 (d, J =8.0 Hz, 1H, OC₆H₃ 5-H), 7.26 (d, J =8.0 Hz, 2H, C₆H₄ 3,5-H), 7.83 (d, J =8.0 Hz, 2H, C₆H₄ 2,6-H), 8.68 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 21.39, 30.71, 33.21, 35.81, 76.33, 76.65, 76.96, 100.64, 107.88, 108.56, 120.99, 129.19, 129.37, 132.19, 134.02, 142.74, 145.95, 147.49, 157.63, 162.28, 167.18。

5.2.2.10 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2,4-二氯苄亚氨基)噻唑(**K10**)的合成



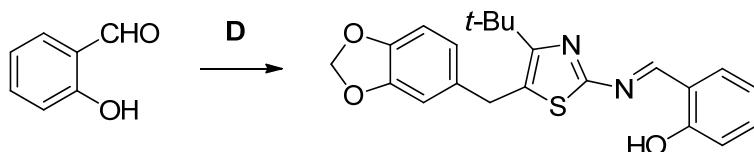
合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 52%, m.p. 101~102.5 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.46 (s, 9H, 3×CH₃), 4.22 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.77 (d, J =8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.32 (dd, J_1 =8.8 Hz, J_2 =1.2 Hz, 1H, ClC₆H₃ 5-H), 7.44 (d, J =1.2 Hz, 1H, ClC₆H₃ 3-H), 8.27 (d, J =8.8 Hz, 1H, ClC₆H₃ 6-H), 9.10 (s, 1H, NCH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 31.01, 33.62, 36.15, 76.66, 76.98, 77.29, 101.01, 108.28, 108.87, 121.35, 127.68, 129.80, 130.02, 130.89, 131.33, 134.08, 137.13, 138.56, 146.38, 147.87, 157.46, 158.54, 166.61。

5.2.2.11 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(5-硝基-2-氯苄亚氨基)噻唑(**K11**)的合成



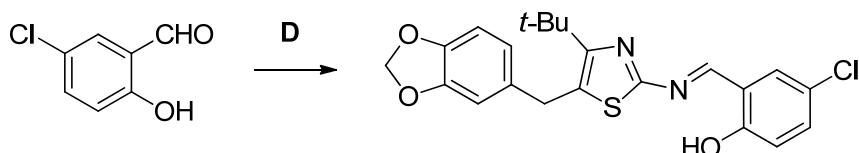
合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 79%, m.p. 159~161°C, ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.26 (s, 2H, CH₂), 6.01 (s, 2H, OCH₂O), 6.73 (d, J =8.0 Hz, 1H, OC₆H₃ 6-H), 6.84 (s, 1H, OC₆H₃ 2-H), 6.89 (d, J =8.0 Hz, 1H, OC₆H₃ 5-H), 7.92 (d, J =8.8 Hz, 1H, ClC₆H₃ 3-H), 8.37 (dd, J_1 =8.8 Hz, J_2 =2.8 Hz, 1H, ClC₆H₃ 4-H), 8.81 (d, J =2.8 Hz, 1H, ClC₆H₃ 6-H), 9.17 (s, 1H, NCH)。

5.2.2.12 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基苄亚氨基)噻唑(**K12**)的合成

**K12**

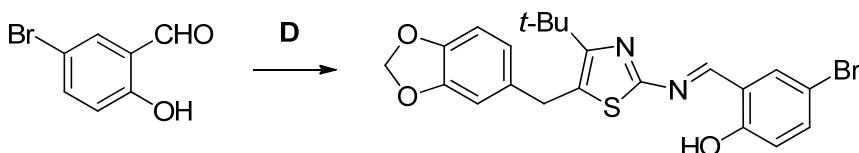
合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 51%, m.p. 90~91 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ : 1.45 (s, 9H, 3×CH₃), 4.21 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.69 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.71 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 6.95 (t, J = 7.2 Hz, 1H, C₆H₄ 5-H), 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H, C₆H₄ 3-H), 7.40 (t, J = 7.6 Hz, 1H, C₆H₄ 4-H), 7.44 (d, J = 7.6 Hz, 1H, C₆H₄ 6-H), 9.04 (s, 1H, NCH), 12.35 (s, 1H, OH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 30.99, 33.51, 36.21, 76.66, 76.98, 77.30, 101.02, 108.28, 108.87, 117.33, 118.62, 119.38, 121.35, 131.43, 133.29, 134.04, 134.14, 146.39, 147.87, 157.92, 161.33, 163.28, 164.13。

5.2.2.13 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-5-氯苄亚氨基)噻唑(**K13**)的合成

**K13**

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 84%, m.p. 129~131 °C, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ : 1.45 (s, 9H, 3×CH₃), 4.21 (s, 2H, CH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.68 (d, J = 7.6 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.70 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.77 (d, J = 7.6 Hz, 1H, OC₆H₃ 5-H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H, ClC₆H₃ 3-H), 7.33 (dd, J_1 = 8.8 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 1H, ClC₆H₃ 4-H), 7.43 (d, J = 2.0 Hz, 1H, ClC₆H₃ 6-H), 9.01 (s, 1H, NCH), 12.30 (s, 1H, OH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 30.62, 33.21, 35.90, 76.33, 76.64, 76.96, 100.71, 107.97, 108.53, 118.56, 119.09, 121.04, 123.68, 131.70, 132.04, 133.39, 133.68, 146.11, 147.57, 157.81, 159.46, 161.37, 163.11。

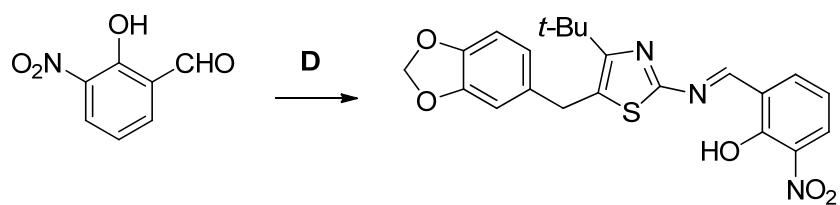
5.2.2.14 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-5-溴苄亚氨基)噻唑(**K14**)的合成

**K14**

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 74%, m.p. 153~154 °C, ¹H NMR (400

MHz, CDCl_3), δ : 1.45 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.21 (s, 2H, CH_2), 5.96 (s, 2H, OCH_2O), 6.68 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.70 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 6.90 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, BrC_6H_3 3-H), 7.46 (dd, $J_1=8.8$ Hz, $J_2=2.4$ Hz, 1H, BrC_6H_3 4-H), 7.57 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, BrC_6H_3 6-H), 9.01 (s, 1H, NCH), 12.30 (s, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 30.61, 33.21, 35.90, 76.32, 76.64, 76.96, 100.70, 107.97, 108.53, 110.51, 118.97, 119.73, 121.04, 132.06, 133.68, 134.73, 136.15, 146.11, 147.57, 157.81, 159.91, 161.26, 163.08。

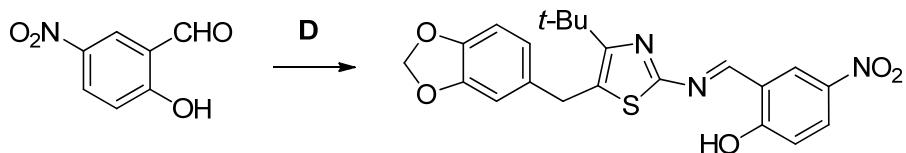
5.2.2.15 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-3-硝基苄亚氨基)噻唑(K15)的合成



K15

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到棕黄色固体, 收率 82%, m.p. 163~165 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.45 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.22 (s, 2H, CH_2), 5.97 (s, 2H, OCH_2O), 6.68 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.69 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.05 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$ 5-H), 7.94 (d, $J=6.8$ Hz, 1H, $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$ 6-H), 8.14 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$ 4-H), 9.21 (s, 1H, NCH), 13.52 (s, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 30.61, 33.21, 35.91, 76.33, 76.64, 76.96, 100.72, 108.00, 108.49, 118.45, 121.03, 121.95, 129.07, 132.74, 133.51, 136.74, 137.28, 146.15, 147.59, 155.36, 158.17, 159.13。

5.2.2.16 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-5-硝基苄亚氨基)噻唑(K16)的合成

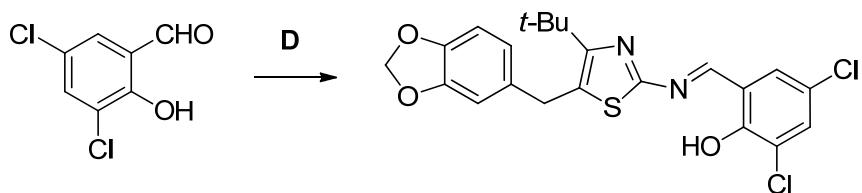


K16

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 85%, m.p. 152~154 °C, ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 1.46 (s, 9H, $3\times\text{CH}_3$), 4.22 (s, 2H, CH_2), 5.97 (s, 2H, OCH_2O), 6.69 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, C_6H_3 6-H), 6.70 (s, 1H, C_6H_3 2-H), 6.78 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, C_6H_3 5-H), 7.09 (d, $J=9.2$ Hz, 1H, $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$ 3-H), 8.27 (dd, $J_1=9.2$ Hz, $J_2=2.8$ Hz, 1H, $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$ 4-H), 8.45 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_3$ 6-H), 9.18 (s, 1H, NCH), 13.26 (s, 1H, OH). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 30.58, 33.30, 35.95, 76.32, 76.64, 76.95,

100.74, 108.01, 108.53, 117.55, 117.91, 121.09, 128.45, 128.77, 133.35, 133.51, 140.03, 146.21, 147.62, 158.16, 160.49, 161.97, 165.86。

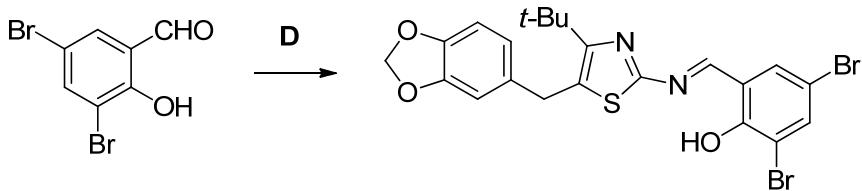
5.2.2.17 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-3,5-二氯苄亚氨基)噻唑(K17)的合成



K17

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 83%, m.p. 146~148 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.25 (s, 2H, CH₂), 6.01 (s, 2H, OCH₂O), 6.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.85 (s, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.89 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.80 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, C₆H₂), 7.88 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, C₆H₂), 9.10 (s, 1H, NCH), 12.88 (s, 1H, OH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 30.94, 33.55, 36.28, 76.67, 76.99, 77.31, 101.07, 108.35, 108.84, 119.93, 121.38, 122.85, 123.84, 130.58, 133.34, 133.87, 146.50, 147.94, 155.66, 158.44, 160.59, 162.50。

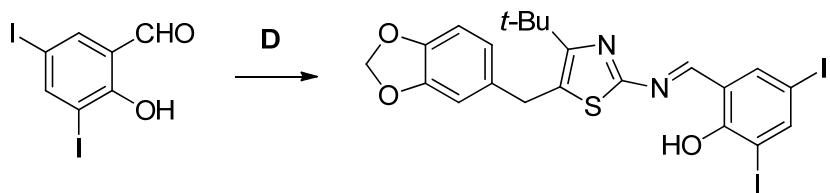
5.2.2.18 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-3,5-二溴苄亚氨基)噻唑(K18)的合成



K18

合成方法同 **K2**, 反应 3 h, 得到黄色固体, 收率 91%, m.p. 166~168 °C, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.25 (s, 2H, CH₂), 6.01 (s, 2H, OCH₂O), 6.74 (dd, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 1.6 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.85 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.89 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 7.99 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, C₆H₂), 8.04 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, C₆H₂), 9.08 (s, 1H, NCH), 13.10 (s, 1H, OH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃), δ : 30.59, 33.18, 35.93, 76.32, 76.64, 76.96, 100.72, 108.00, 108.48, 110.39, 111.73, 120.07, 121.02, 132.97, 133.52, 133.94, 138.39, 146.15, 147.59, 156.63, 158.11, 159.98, 162.04。

5.2.2.19 5-胡椒基-4-叔丁基-2-(2-羟基-3,5-二碘苄亚氨基)噻唑(K19)的合成

**K19**

合成方法同 **K2**，反应 3 h，得到黄色固体，收率 86%，m.p. 203~204.5 °C，¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.41 (s, 9H, 3×CH₃), 4.25 (s, 2H, CH₂), 6.01 (s, 2H, OCH₂O), 6.74 (dd, *J*₁ = 8.0 Hz, *J*₂ = 2.0 Hz, 1H, C₆H₃ 6-H), 6.85 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, C₆H₃ 2-H), 6.89 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, C₆H₃ 5-H), 8.14 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, C₆H₃), 8.19 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, C₆H₂), 8.99 (s, 1H, NCH), 13.32 (s, 1H, OH)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)， δ : 30.93, 33.51, 36.28, 76.66, 76.98, 77.30, 80.44, 86.99, 101.06, 108.33, 108.82, 120.34, 121.36, 133.15, 133.88, 141.33, 146.48, 147.93, 149.71, 158.45, 159.88, 160.02, 162.34。

5.2.3 杀菌活性测试

杀菌活性测试由巴斯夫公司 (Basf SE) 完成，测试方法由巴斯夫公司提供。

5.2.3.1 母液的配制

往0.84 mL环己酮和二甲亚砜 (体积比为1:1) 混合溶剂中加入16.8 mg活性组分，然后加入27.16 mL水、丙酮 (10%)、乳化剂Wettol (0.1%) 和润湿剂Silwet (0.05%)。供试母液然后进一步用所述的溶剂-乳化剂-水混合溶液稀释至所需浓度。

5.2.3.2 离体活性测试

供试母液按比例混合，用移液器汲取到微量滴定板上 (MTP)，然后用水稀释到标准浓度。将悬浮有待测病菌孢子的培基 (灰霉病菌为生物麦芽水溶液或酵母-细菌蛋白-醋酸钠溶液；晚疫病菌为豌豆汁营养液或灭菌脱脂玉米营养液；稻瘟病菌和小麦壳针孢菌均为生物麦芽水溶液或酵母-细菌蛋白-甘油溶液) 加入，将板子放置于水蒸气饱和的房间，维持18°C温度。接种7天后，利用吸收分光光度计在405 nm下对实验板进行检测。测量的参数与无活性组分的控制组以及无菌无活性组分的空白组的生长情况对照，确定各活性化合物的相应的病菌生长率和抑制活性。

5.2.3.3 活体活性测试

青椒灰霉病菌：选择新出的盆栽青椒幼苗，将含所需浓度活性组分的溶液喷淋在植株上。第二天给供试植株接入含悬浮灰霉病菌孢子的生物麦芽水溶液，然后立刻将植株转移到潮湿的房间，维持温度22~24 °C，相对湿度接近100%，5天后观察叶片上病菌侵袭程度，评估患病叶片面积百分率。

小麦白粉病菌：将长出第一片叶子的盆栽小麦苗，用含所需浓度活性组分的溶液喷淋处理。第二天将处理过的植株接入白粉病菌孢子，采用在供试盆钵上摇晃严重感染的备用植株来接入病菌。然后将植株放入温室培养，维持温度21~23 °C，相对湿度维持在40~70%之间，7天后观察叶片上病菌侵袭程度，评估患病叶片面积百分率。

西红柿晚疫病菌：选择新出的盆栽西红柿幼苗，将含所需浓度活性组分的溶液喷淋在植株上。第二天给处理过的植株接入含悬浮晚疫病菌孢子的水溶液，然后立刻将植株转移到潮湿的房间，维持温度18~20 °C，相对湿度接近100%，6天后观察叶片上病菌侵袭程度，评估患病叶片面积百分率。

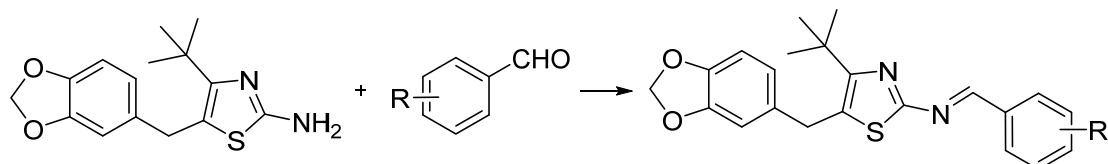
大豆锈病菌：盆栽大豆苗叶接入大豆锈病菌孢子，为保证人工接入的成功，供试植株转入潮湿温室，在相对湿度约95%和温度20~24 °C下培养24 h。第二天供试植株喷淋含所需浓度活性组分的水溶液，并在空气中晾干。然后供试植株在温度23~27°C，相对湿度60~80%的温室中培养14天，观察叶片上病菌侵袭程度，评估患病叶片面积百分率。

小麦隐匿柄锈菌：选择新出两片叶子的盆栽小麦幼苗，对其喷淋含所需浓度活性组分的溶液。第二天供试植株接入隐匿柄锈菌孢子，为保证人工接入的成功，供试植株转入无光照的潮湿温室，维持相对湿度95~99%和温度20~24 °C下培养24 h。然后供试植株再在温度20~24°C、相对湿度65~70%的温室中培养6天，观察叶片上病菌侵袭程度，评估患病叶片面积百分率。

5.3 结果与讨论

5.3.1 合成实验

5-胡椒基-4-叔丁基-2-氨基噻唑（**D**）与取代苯甲醛按摩尔比为1:1投料，选择甲苯为溶剂，在80°C下反应1~3 h，得到目标化合物为浅黄色至棕黄色固体。之所以选择甲苯作为溶剂，是由于反应过程中会产生水，而甲苯具有较好的分水效果，能使产生的水与有机相分离，有利于反应向正反应方向进行。



K1~K19

表 5.2 化合物 **K** 的合成结果

化合物	R	反应时间/h	性状	收率/%	熔点/°C
K1	H	3	淡黄色固体	56	88~90
K2	4-F	3	淡黄色固体	69	90~92
K3	2-Cl	3	淡黄色固体	78	103~105

K4	4-Cl	3	黄色固体	78	116~118
K5	2-NO ₂	3	黄色固体	60	133~135
K6	3-NO ₂	3	棕黄色固体	55	117~119
K7	4-NO ₂	3	黄色固体	62	127~129
K8	2-OCH ₃	3	黄色固体	70	142~143
K9	4-OCH ₃	3	黄色固体	96	103~105
K10	2,4-Cl ₂	3	黄色固体	52	101~103
K11	5-NO ₂ -2-Cl	3	黄色固体	79	159~161
K12	2-OH	1	黄色固体	71	90~91
K13	2-OH-5-Cl	1	黄色固体	84	129~131
K14	2-OH-5-Br	1	黄色固体	74	153~154
K15	2-OH-3-NO ₂	1	棕黄色固体	82	163~165
K16	2-OH-5-NO ₂	1	黄色固体	85	152~154
K17	2-OH-3,5-Cl ₂	1	黄色固体	83	146~148
K18	2-OH-3,5-Br ₂	1	黄色固体	91	166~168
K19	2-OH-3,5-I ₂	1	黄色固体	86	203~205

从表 5.2 可以看出, 目标化合物的收率从 52%~96% 不等。对于不含 2-位羟基的化合物 (K1~K11), 取代基的电负性对反应收率的影响规律不明显, 而从取代基的位置分析可以发现, 4-位取代的化合物 (K2、K4、K7 和 K9) 收率要高于邻位取代、间位取代或多取代化合物。对于水杨醛衍生物, 即含有 2-位羟基的化合物 (K12~K19), 其收率处于 71%~91% 之间, 受取代基影响较小。整体而言, 水杨醛衍生物的收率高于其他化合物。

从反应时间分析, 水杨醛衍生物的反应时间 (1 h) 比其他化合物的反应时间 (3 h) 短, 因为邻位羟基上的氢原子可以与亚胺氮原子形成分子内氢键, 增强分子结构的稳定性, 有利于反应朝正反应方向进行。这也是水杨醛衍生物收率较高的原因。

化合物的熔点主要受取代基大小的影响, 即随着取代基数量的增多或者取代基原子序数的增大, 化合物的熔点逐渐升高。

5.3.2 结构表征

5.3.2.1 ¹H NMR 分析

所有目标化合物均经过核磁共振氢谱表征, 详细数据见 5.2 实验部分。选择化合物 K4 和 K13 为例, 对化合物的氢谱进行解析, 氢谱图如图 5.1 所示, 质子归属列入表 5.3 中。

表 5.3 化合物 K4 和 K13 的质子归属

K4	δ	K13	δ
3×CH ₃	1.46	3×CH ₃	1.45
CH ₂	4.21	C	4.21
OCH ₂ O	5.96	OCH ₂ O	5.96
C ₆ H ₃	6.67~6.71 (m, 2H) 6.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H)	C ₆ H ₃	6.67~6.70 (m, 2H) 6.77 (d, J = 8.0 Hz, 1H)
C ₆ H ₄	7.43 (d, J = 8.0 Hz, 2H) 7.87 (d, J = 8.0 Hz, 2H)	C ₆ H ₃	6.95 (d, J = 8.0 Hz, 1H) 7.33 (dd, J = 8, 4 Hz, 1H) 7.43 (d, J = 4.0 Hz, 1H)
NCH	8.71	NCH	9.01
		OH	12.30

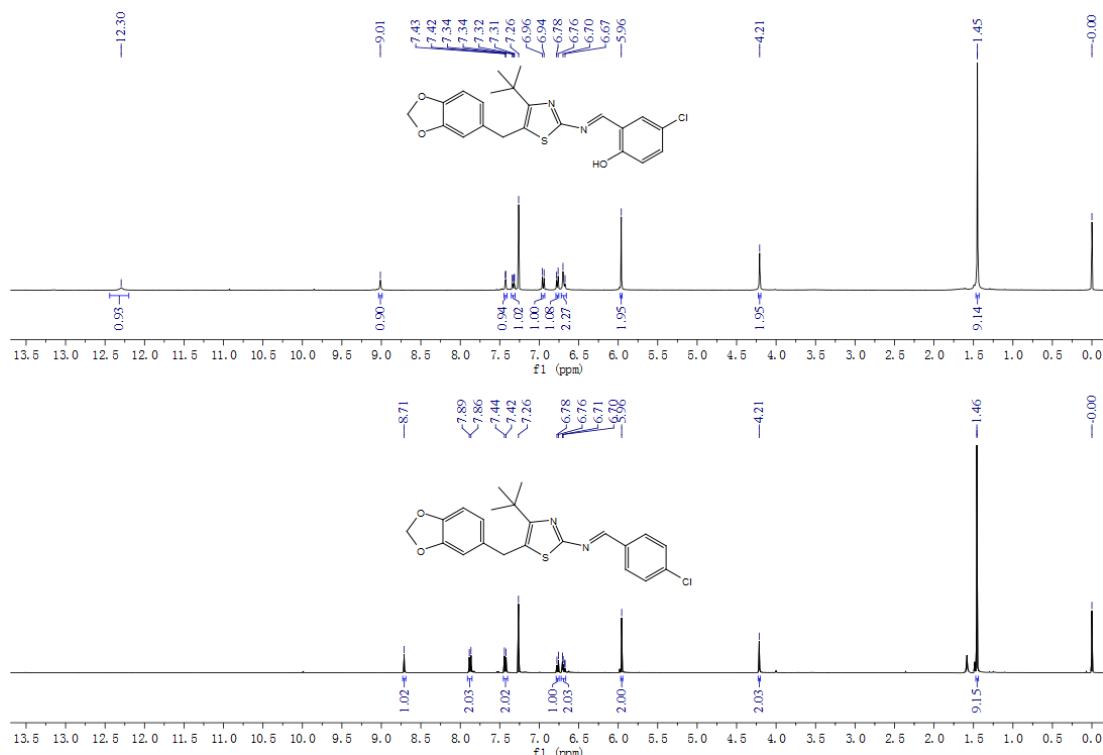


图 5.1 化合物 K4 和 K13 的 ^1H NMR 图

从图 5.1 和表 5.3 可以看出, 化合物 **J4** 和 **J13** 氢谱的主要区别在于右侧苯环及与其相连的亚氨基, 由于-OH 与亚胺 N 形成分子内氢键, 使得 $\text{HC}=\text{N}$ 上的电荷被分散, 电子云密度降低, 屏蔽减弱, 导致亚胺氢的位移有所增大。

5.3.2.2 ^{13}C NMR 分析

所有目标化合物均经过核磁共振碳谱表征, 详细数据见 5.2 实验部分。以化合物 **K4** 和 **K13** 为例对该类化合物进行碳谱解析, 化合物谱图如图 5.2 所示, 碳原子归属列入表 5.4。

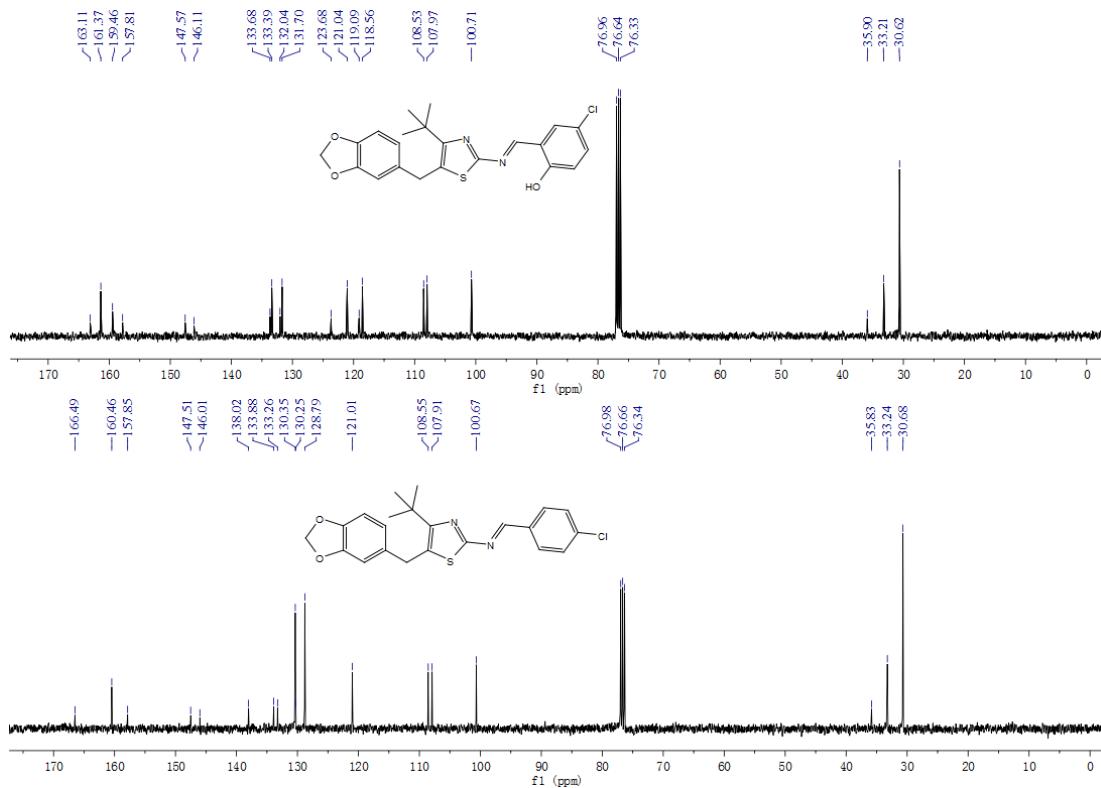
图 5.2 化合物 K4 和 K13 的 ^{13}C NMR 图

表 5.4 化合物 K4 和 K13 的碳原子归属

K4	δ	K13	δ
$3 \times \text{CH}_3$	30.68	$3 \times \text{CH}_3$	30.62
C	33.24	C	33.31
CH_2	35.83	CH_2	35.90
OCH_2O	100.67	OCH_2O	100.71
C_6H_3	107.91, 108.55, 121.01, 133.88, 147.51, 157.85,	C_6H_3	107.97, 108.53, 121.04, 133.68, 147.57, 157.81,
C_6H_4	128.79, 130.25, 130.35, 138.02	C_6H_3	118.56, 119.09, 123.68, 131.70, 132.04, 159.46
噻唑环	133.26, 146.01, 166.49	噻唑环	133.39, 146.11, 163.11
N=CH	160.46	N=CH	161.37

从图 5.2 和表 5.4 可以看出, 化合物 K4 和 K13 结构相同的部分, 即 5-胡椒基-4-叔丁基噻唑部分, 各碳原子的化学位移大致相同。出现在高场的 3 个峰分别属于叔丁基的甲基碳原子、季碳和苄位亚甲基, 与两个氧原子相连的亚甲基碳由于受到氧原子的拉电子作用, 电子云密度降低, 屏蔽减弱, 因而化学位移增大。

二者的主要区别在于右侧苯环, 化合物 K13 苄亚氨基苯环上 2-位有供电子基团羟基, 其孤对电子离域到苯环 π 电子体系上, 受其影响, 羟基的邻位和对位碳原子上的电子云密度增大, 屏蔽作用增强, 碳原子的化学位移减小, 因此其中 3 个碳原子的化学位移为 118.56、119.09 和 123.68, 均小于化合物 K4 对应碳原子的化学位移。

5.3.3 杀菌活性

5.3.3.1 离体杀菌活性

在浓度为 31 mg/L 条件下对化合物 **K1~K19** 进行普筛, 对抑制率 50% 以上的化合物进行初筛, 并计算其半数有效浓度 (ED₅₀), 测试结果列入表 5.5 中:

表 5.5 目标化合物对供试菌种的离体 ED₅₀ 值 (mg/L)

化合物	灰霉病菌	晚疫病菌	稻瘟病菌	小麦壳针孢菌
K1	20.8 ± 1.8	4.57 ± 1.6	11.4 ± 2.5	5.84 ± 1.0
K2	23.3 ± 2.5	8.94 ± 2.8	13.4 ± 3.0	5.20 ± 0.8
K3	21.6 ± 2.0	8.35 ± 2.1	11.7 ± 2.4	5.63 ± 0.3
K4	17.9 ± 2.7	5.96 ± 2.2	8.17 ± 1.6	7.75 ± 1.7
K5	>31.0	7.76 ± 1.3	9.44 ± 2.3	3.19 ± 0.3
K6	6.00 ± 0.6	10.7 ± 1.3	7.08 ± 1.1	5.06 ± 0.3
K7	>31.0	9.37 ± 1.7	11.7 ± 2.6	12.6 ± 0.2
K8	19.1 ± 2.4	8.61 ± 1.9	11.7 ± 2.5	4.38 ± 0.3
K9	20.8 ± 4.2	13.8 ± 3.3	14.5 ± 3.8	6.18 ± 0.9
K10	>31.0	9.85 ± 2.1	12.8 ± 2.3	30.5 ± 0.1
K11	—	—	—	—
K12	23.6 ± 2.1	5.94 ± 1.2	12.4 ± 2.3	2.81 ± 0.3
K13	14.8 ± 3.0	8.09 ± 1.3	7.89 ± 1.4	9.06 ± 1.7
K14	24.7 ± 1.4	6.79 ± 1.7	11.5 ± 1.3	1.8 ± 0.4
K15	15 ± 3.6	2.33 ± 2.0	10.5 ± 2.9	9.4 ± 1.8
K16	15.8 ± 5.5	5.93 ± 2.1	12.4 ± 3.8	7.29 ± 1.1
K17	15.4 ± 2.1	0.775 ± 2.2	5.66 ± 1.4	3.79 ± 4.9
K18	14.3 ± 1.3	0.723 ± 1.9	2.35 ± 2.8	2.18 ± 1.2
K19	3.55 ± 0.6	0.601 ± 0.9	1.75 ± 0.7	0.975 ± 0.6
阳性对照物	0.1 (多菌灵)	2.0 (甲霜灵)	7.0 (克瘟散)	0.98 (嘧菌酯)

从表 5.5 可以看出, 大部分化合物对供试菌种表现出了较好的抑制活性。其中, 抑菌活性最好的是化合物 **K17**、**K18** 和 **K19**。化合物 **K17** 和 **K18** 对晚疫病菌和稻瘟病菌的 ED₅₀ 值低于阳性对照物, 化合物 **K19** 对晚疫病菌、稻瘟病菌和小麦壳针孢菌 3 种供试菌种均表现出良好的抑制活性, 其 ED₅₀ 值分别为 0.601 ± 0.9 mg/L、1.75 ± 0.7 mg/L 和 0.975 ± 0.6 mg/L, 低于阳性对照物的 2.0 mg/L (甲霜灵)、7.0 mg/L (克瘟散) 和 0.98 mg/L (嘧菌酯)。

从化合物抑菌的选择性角度分析, 可以看出, 化合物对稻瘟病菌和晚疫病菌抑制活性最强, 分别有 3 个化合物的活性优于相应的阳性对照物; 对小麦壳针孢菌的抑制活性次之, 有一个化合物的抑制活性优于阳性对照物; 而对灰霉病菌的抑制活性最弱, 化合物的抑菌活性与阳性对照物差距较大。表明此类化合物对稻瘟病菌和晚疫病菌具有选择性抑制活性, 可针对这两类病菌作进一步深入研究。

对化合物进行构效关系分析可以发现, 含 2-位羟基的化合物 (**K12~K19**) 杀菌活性较好, 其中, 又以含 3,5-位双卤代化合物 (**K17~K19**) 的杀菌活性最优, 这可能有是由于极性基团羟基的引入改善了化合物的水溶性, 增加了其生物利用度, 而当其与相应靶

点结合后，能与某些氨基酸残基形成氢键作用，另外，卤素原子本身具备一定的毒性。与先导化合物 **5-6** 相比，化合物 **K** 在抗菌活性方面表现出明显的优势，尽管测试方法与菌种有所不同。说明胡椒环的引入确能增强苄亚氨基噻唑类化合物的杀菌活性，符合预期设计思路。

5.3.2.2 活体杀菌活性

进一步对目标化合物进行活体活性测试，在 100 mg/L 浓度下，对目标化合物进行叶盘防治测试，供试菌种包括灰霉病菌、小麦白粉病菌、大豆锈病菌、晚疫病菌和小麦隐匿柄锈菌，测试结果列入表 5.6；在 600 mg/L 浓度下，对目标化合物进行整株防治测试，供试菌种为灰霉病菌、小麦白粉病菌、大豆锈病菌、晚疫病菌、小麦隐匿柄锈菌和小麦壳针孢菌，测试结果列入表 5.7。

表 5.6 目标化合物对供试菌种的活体抑制活性 (100 mg/L, 叶盘防效/%)

化合物	灰霉病菌	小麦白粉病菌	大豆锈病菌	晚疫病菌	小麦隐匿柄锈菌
K1	0	0	0	0	0
K2	33	0	0	0	0
K3	0	0	17	33	—
K4	0	0	0	0	0
K5	0	17	0	0	0
K6	0	0	0	0	0
K7	0	0	0	0	0
K8	33	0	0	0	50
K9	0	0	0	0	0
K10	0	0	0	0	0
K11	—	—	—	—	—
K12	33	0	0	0	0
K13	0	0	0	0	0
K14	0	17	0	0	0
K15	0	0	0	0	0
K16	0	0	0	0	—
K17	0	33	0	0	—
K18	0	33	0	0	—
K19	33	17	0	83	0

注：“—”表示未测。

表 5.6 中测试结果显示，整体而言，目标化合物对供试菌种的叶盘防治效果较差。化合物 **K2** 和 **K12** 对灰霉病菌有较弱的防治效果，其叶盘防效为 33%；化合物 **K3** 对大豆锈病菌和晚疫病菌表现出较弱的抑制作用，相应植株的叶盘防效分别为 17% 和 33%；化合物 **K5**、**K14**、**K17** 和 **K18** 对小麦白粉病菌有较弱的活体防治效果，相应植株的叶盘防效分别为 17%、17%、33% 和 33%；化合物 **K8** 对灰霉病菌有较弱的活体防治效果，对小麦隐匿柄锈菌有中等防治效果，相应植株的叶盘防效分别为 33% 和 50%；化合物

K19 对灰霉病菌和小麦白粉病菌的活体防治效果较弱, 相应植株的叶盘防效分别为 33% 和 17%, 对晚疫病菌表现出较强的活体防治效果, 相应植株的叶盘防效为 83%。

表 5.7 目标化合物对供试菌种的活体抑制活性 (600 mg/L, 整株防效/%)

化合物	灰霉病菌	小麦白粉病菌	大豆锈病菌	晚疫病菌	小麦隐匿柄锈菌	小麦壳针孢菌
K1	10	10	10	10	30	30
K2	10	10	10	10	10	10
K3	10	10	10	10	10	10
K4	90	10	10	10	10	10
K5	10	10	10	10	10	20
K6	10	10	10	10	30	10
K7	10	10	10	10	10	10
K8	10	10	10	10	10	10
K9	—	—	—	—	—	—
K10	—	—	—	—	—	—
K11	—	—	—	—	—	—
K12	30	10	10	10	30	20
K13	10	10	10	10	10	10
K14	10	10	10	10	30	10
K15	—	—	—	—	—	—
K16	10	10	10	40	10	10
K17	10	40	10	40	30	20
K18	10	40	10	10	40	10
K19	—	—	—	—	—	—

注: “—”表示未测。

从表 5.7 可以看出, 整体而言, 目标化合物对供试病菌的整株防治效果较差, 对大部分植株的防效在 30% 以下。化合物 **K16** 对晚疫病菌有较弱的防治效果, 对相应植株的防效为 40%; 化合物 **K17** 对晚疫病菌和小麦白粉病菌具有较弱的防治效果, 对相应植株的防效为 40%; 化合物 **K18** 对小麦白粉病菌和小麦隐匿柄锈菌表现出一定的防治效果, 其植株防效为 40%; 化合物 **K4** 对灰霉病菌有良好的整株防治效果, 对青椒植株的防效为 90%。

5.4 本章小结

(1) 采用活性化合物衍生法, 在噻唑环 5-位引入胡椒环结构, 设计合成了 19 个 5-胡椒基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑化合物。

(2) 离体杀菌活性测试结果表明, 大部分化合物表现出较好的抗菌活性, 其中化合物 **K17** 和 **K18** 对晚疫病菌和稻瘟病菌的 ED_{50} 优于阳性对照物, 化合物 **K19** 对晚疫病菌、稻瘟病菌和小麦壳针孢菌的 ED_{50} 优于阳性对照物。

(3) 活体抗菌活性测试结果表明, 化合物 **K19** 对晚疫病菌表现出较强的活体防治

效果,对西红柿植株的叶盘防效为83%;化合物**K4**对灰霉病菌表现出良好的整株防治效果,对青椒植株的防效为90%。

化合物**K**具有良好离体的杀菌效果,个别化合物具备较好的活体杀菌活性。与先导化合物相比,胡椒环的引入使化合物的杀菌活性明显增强,达到了设计预期目标,验证了实验设计的合理性,同时,为农用杀菌剂的设计与开发提供了一个参考。

结 论

本论文涉及工艺路线的优化与新化合物的合成及生物活性研究, 其中, 新化合物的合成与生物活性研究是论文的重点; 得到的结论如下:

(1) 司替戊醇的合成工艺优化

对抗癫痫药司替戊醇的合成工艺进行了优化: 采用 Vilsmeier 反应合成关键中间体胡椒醛, 并采用单因素试验法, 得出最佳反应条件为: 以 DMF/POCl₃ 为 Vilsmeier 试剂、投料比为 n(胡椒环) : n(DMF) : n(POCl₃) = 1:2:2、反应温度为 85℃、反应时间为 24 h, 收率 51.2%; 采用 Meerwein-Ponndorf 还原法, 选择异丙醇铝/异丙醇体系, 4,4-二甲基-1-(3,4-亚甲二氧苯基)-1-烯-3-戊酮选择性还原为司替戊醇, 收率 95%。该工艺条件温和, 收率高, 异丙醇铝可循环使用, 具有工业化生产前景。

(2) 新化合物的设计与合成

选择 2-氨基噻唑作为母核, 利用拼合原理, 在噻唑环 5-位引入具有良好抗癌和杀菌活性的活性结构胡椒环, 并对 2-位氨基进行合理的结构修饰, 引入苯甲酰基、2-氨基乙酰基、3-氨基丙酰基、芳氨基、苄亚氨基等活性基团, 设计合成了 4 类抗肿瘤化合物 **E** (24 个)、**G** (10 个)、**H** (10 个) 和 **J** (31 个) 和 1 类杀菌化合物 **K** (19 个) 共 94 个新化合物。

(3) 新化合物的抗肿瘤活性研究

采用经典 MTT 法, 测试了化合物 **E**、**G**、**H** 和 **J** 对 3 种肿瘤细胞株 HeLa、A549 和 MCF-7 的抑制活性。测试结果显示, 其中化合物 **E8** 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 为 7.7 ± 2.3 μM, 活性优于阳性对照物 5-FU; 化合物 **G2** 对 HeLa 和 A549 细胞的 IC₅₀ 值分别为 11.7 ± 1.1 μM 和 4.6 ± 2.4 μM, 活性优于阳性对照物; 化合物 **G6** 和 **G9** 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 值分别为 7.0 ± 3.2 μM 和 6.4 ± 2.2 μM, 活性均明显优于阳性对照物; 化合物 **H10** 对 HeLa 细胞的 IC₅₀ 为 13.8 ± 1.6 μM, 活性与阳性对照物相当; 化合物 **J**, 多数表现出很好的体外抗肿瘤活性, 其中化合物 **J7** 对 A549 和 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 分别为 2.06 ± 0.09 μM 和 3.00 ± 0.25 μM, 化合物 **J27** 和对 HeLa 和 A549 细胞的 IC₅₀ 分别为 2.07 ± 0.88 μM 和 3.52 ± 0.49 μM, 化合物 **J30** 对 3 种肿瘤细胞的 IC₅₀ 分别为 4.79 ± 0.86 μM、5.13 ± 0.62 μM 和 4.71 ± 0.47 μM, 明显优于阳性对照。

选择活性较好的化合物 **G2** 和 **J24**, 在 5 μM 和 10 μM 浓度下诱导 HeLa 细胞 12 h 后, 利用细胞染色法观察细胞形态, 利用流式细胞术分析凋亡与周期情况; 实验结果显示, 化合物 **G2** 和 **J24** 都能很好地诱导细胞凋亡, 并能阻滞细胞有丝分裂, 其中化合物 **G2** 对 HeLa 细胞的阻滞发生在 G1 期, 而化合物 **J24** 对 HeLa 细胞的阻滞发生在 S 期和 G2/M 期, 且二者均遵循剂量依赖关系。

化合物 **G** 和 **J** 中多个化合物的抗肿瘤活性达到了设计预期目标, 具有进一步研究的

价值。

(4) 杀菌活性

对化合物 **K** 进行了离体和活体杀菌活性测试。离体活性测试结果显示, 化合物 **K17**、**K18** 和 **K19** 表现出良好的杀菌活性, 其中化合物 **K19** 对晚疫病菌、稻瘟病菌和小麦壳针孢菌 3 种供试病菌的 ED_{50} 值分别为 0.601 ± 0.9 mg/L、 1.75 ± 0.7 mg/L 和 0.975 ± 0.6 mg/L, 优于相应的阳性对照物。化合物 **K19** 和 **K4** 表现出较好的活体杀菌活性, 在 100 mg/L 浓度下, 化合物 **K19** 对晚疫病菌具有较好的叶盘防治效果, 经其处理后, 对西红柿幼苗叶盘防效为 83%; 在 600 mg/L 浓度下, 化合物 **K4** 对灰霉病菌有良好的整株防治效果, 对青椒植株的防效为 90%。

化合物 **K19** 具有良好的离体杀菌效果与较好的活体杀菌活性, 具有进一步研究的价值。

参考文献

- [1] Sandjo L P, de Moraes M H, Kuete V, et al. Individual and combined antiparasitic effect of six plant metabolites against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2016, 26(7): 1772-1775.
- [2] Parise-Filho R, Pastrello M, Pereira Camerlingo C E, et al. The anti-inflammatory activity of dillapiole and some semisynthetic analogues. *Pharmaceutical Biology*, 2011, 49(11): 1173-1179
- [3] Aukunuru J, Eedula K, Pasham V, et al. Synthesis of novel piperonal derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity using a nanoparticulate formulation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 2009, 2(1): 435-442
- [4] Aboul-Enein M N, El-Azzouny A A, Attia M I, et al. Design and synthesis of novel stiripentol analogues as potential anticonvulsants. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 47(1): 360-369
- [5] Brindisi M, Maramai S, Gemma S, et al. Development and pharmacological characterization of selective blockers of 2-arachidonoyl glycerol degradation with efficacy in rodent models of multiple sclerosis and pain. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01812
- [6] Fontana E, Dansette P M, Poli S M. Cytochrome p450 enzymes mechanism based inhibitors: common sub-structures and reactivity. *Current Drug Metabolism*, 2005, 6(5): 413-451
- [7] Zhan G, Zhou J, Liu R, et al. Galanthamine, plicamine, and secoplicamine alkaloids from *zephyranthes candida* and their anti-acetylcholinesterase and anti-inflammatory activities. *Journal of Natural Products*, 2016, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00681
- [8] Hu X, Vujanac M, Southall N, et al. Inhibitors of the *Yersinia* protein tyrosine phosphatase through high throughput and virtual screening approaches. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(4): 1056-1062
- [9] Beck D E, Lv W, Abdelmalak M, et al. Synthesis and biological evaluation of new fluorinated and chlorinated indenoisoquinoline topoisomerase I poisons. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2016, 24(7): 1469-1479
- [10] Gillard N, Detry B, Robert C, et al. Detection of pharmaceutical products in untreated hospital wastewater. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2014, 6(4): 459-467
- [11] Thobois S, Lhommée E, Klinger H, et al. Parkinsonian apathy responds to dopaminergic

- stimulation of D2/D3 receptors with piribedil. *Brain*, 2013, 136(5): 1568-1577
- [12] Sada N, Lee S, Katsu T, et al. Targeting LDH enzymes with a stiripentol analog to treat epilepsy. *Science*, 2015, 347(6228): 1362-1367
- [13] Wang T, Wang W, Liu Y, et al. An open add-on study of ilepcimide in patients with refractory epilepsy. *Chinese Journal of New Drugs*, 2013, 22(11): 1300-1302
- [14] Xiao F, Yan B, Chen L, et al. Review of the use of botanicals for epilepsy in complementary medical systems—Traditional Chinese Medicine. *Epilepsy & Behavior*, 2015, 52(Part B): 281-289
- [15] Kang S H, Jeen Y T, Koo J S, et al. Efficacy of fenoverine and trimebutine in the management of irritable bowel syndrome: multicenter randomized double-blind non-inferiority clinical study. *The Korean Journal of Gastroenterology*, 2013, 62(5): 278-287
- [16] Sravanthi D, Sameera S, Dhurke R K. Development of colon-specific multi particulate drug delivery system of fenoverine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014, 6(8): 227-231
- [17] Elliott A J, Uldall K K, Bergam K, et al. Randomized, placebo-controlled trial of paroxetine versus imipramine in depressed HIV-positive outpatients. *American Journal of Psychiatry*, 1998, 155(3): 367-372
- [18] Orleans R J, Li L, Kim M J, et al. FDA approval of paroxetine for menopausal hot flushes. *New England Journal of Medicine*, 2014, 370(19): 1777-1779
- [19] Seftel A D, Shinghal R, Kim E D, et al. Retrospective analysis of the efficacy and safety of once-daily tadalafil in patient subgroups: men with mild vs moderate ED and aged < 50 vs \geq 50 years. *International Journal of Impotence Research*, 2013, 25(3): 91-98
- [20] Dhaked D K, Bharatam P V. DFT study on the oxygen transfer mechanism in nitroethenediamine based H2-receptor antagonists using the bis-dithiolene complex as the model catalyst for N-oxide reductase enzyme. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2015, 142: 84-91
- [21] Dhaked D K, Bharatam P V. Nitro [right left harpoons] aci-nitro tautomerism and *E/Z* isomeric preferences of nitroethenediamine derivatives: a quantum chemical study. *RSC Advances*, 2013, 3(47): 25268-25277
- [22] Taxak N, Patel B, Bharatam P V. Carbene generation by cytochromes and electronic structure of heme-iron-porphyrin-carbene complex: A quantum chemical study. *Inorganic Chemistry*, 2013, 52(9): 5097-5109
- [23] Zanger U M, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of

- gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013, 138(1): 103-141
- [24] 张孟存, 孟祥考. 新型农药增效剂 MXKZMC-h 2 的研发. *河北化工*, 2008, 31(1): 35-36
- [25] 王金山, 邓新平, 龚传秀, 等. 混配增效剂对 3 种杀虫剂的增效作用研究. *西南师范大学学报: 自然科学版*, 2007, 32(3): 96-101
- [26] 于宏伟, 段书德, 牛辉, 等. 绿色农药增效剂的研究进展. *江苏农业科学*, 2010 (2): 142-143, 167
- [27] 王肖娟, 谢慧琴. 杀虫剂增效作用及其作用机理研究进展. *安徽农业科学*, 2007, 35(13): 3902-3904
- [28] Stewart B, Wild C P. *World cancer report 2014*. World Health Organization, 2015
- [29] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. *Cancer statistics in China, 2015*. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2016, 66(2): 115-132
- [30] National Cancer Institute. *What Is Cancer?* <http://www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer>, 2015-2-9
- [31] Anand P, Kunnumakara A B, Sundaram C, et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research*, 2008, 25(9): 2097-2116
- [32] Gil J, Rodriguez T. Cancer: The transforming power of cell competition. *Current Biology*, 2016, 26(4): R164-R166
- [33] Sudhakar A. History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 2009, 1(2): 1-4
- [34] Newman D J, Cragg G M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 2012, 75(3): 311-335
- [35] Cragg G M, Newman D J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2013, 1830(6): 3670-3695
- [36] 武善超, 盛春泉, 张万年. 来源于天然产物的抗肿瘤先导结构研究进展. *药学实践杂志*, 2014, 32(5): 337-341
- [37] 邬春晓, 沈红强, 夏大静. 三尖杉酯碱通过下调 Mcl-1 蛋白诱导 NB4 细胞凋亡. *浙江大学学报 (医学版)*, 2013, 42(4): 431-436
- [38] Philipp S, Sosna J, Plenge J, et al. Homoharringtonine, a clinically approved anti-leukemia drug, sensitizes tumor cells for TRAIL-induced necroptosis. *Cell Communication and Signaling*, 2015, DOI 10.1186/s12964-015-0103-0
- [39] Zhang J, Chen B, Wu T, et al. Synergistic effect and molecular mechanism of homoharringtonine and bortezomib on SKM-1 cell apoptosis. *PloS One*, 2015, 10(11):

e0142422

- [40] Chen Z F, Liu Y C, Peng Y, et al. Synthesis, characterization, and in vitro antitumor properties of gold (III) compounds with the traditional Chinese medicine (TCM) active ingredient liriiodenine. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2012, 17(2): 247-261
- [41] Li Y L, Qin Q P, Liu Y C, et al. A platinum (II) complex of liriiodenine from traditional Chinese medicine (TCM): Cell cycle arrest, cell apoptosis induction and telomerase inhibition activity via G-quadruplex DNA stabilization. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2014, 137: 12-21
- [42] Fang Z, Tang Y, Jiao W, et al. Nitidine chloride induces apoptosis and inhibits tumor cell proliferation via suppressing ERK signaling pathway in renal cancer. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 66: 210-216
- [43] Sun M, Zhang N, Wang X, et al. Nitidine chloride induces apoptosis, cell cycle arrest, and synergistic cytotoxicity with doxorubicin in breast cancer cells. *Tumor Biology*, 2014, 35(10): 10201-10212
- [44] Pallichankandy S, Rahman A, Thayyullathil F, et al. ROS-dependent activation of autophagy is a critical mechanism for the induction of anti-glioma effect of sanguinarine. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, 89: 708-720
- [45] Guamán Ortiz L M, Lombardi P, Tillhon M, et al. Berberine, an epiphany against cancer. *Molecules*, 2014, 19(8): 12349-12367
- [46] D'incalci M, Badri N, Galmarini C M, et al. Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment. *British Journal of Cancer*, 2014, 111(4): 646-650
- [47] Ávila-Arroyo S, Nuñez G S, García-Fernández L F, et al. Synergistic effect of trabectedin and olaparib combination regimen in breast cancer cell lines. *Journal of Breast Cancer*, 2015, 18(4): 329-338
- [48] Roy A, Ernsting M J, Undzys E, et al. A highly tumor-targeted nanoparticle of podophyllotoxin penetrated tumor core and regressed multidrug resistant tumors. *Biomaterials*, 2015, 52: 335-346
- [49] Yadav R, Kumar D, Kumari A, et al. Encapsulation of podophyllotoxin and etoposide in biodegradable poly-D, L-lactide nanoparticles improved their anticancer activity. *Journal of Microencapsulation*, 2014, 31(3): 211-219
- [50] Marshall K A L, Chan H S H, Simpson D. Teniposide, Cyclophosphamide, and prednisone in myeloma after bortezomib and imid failure is a useful option. *Blood*, 2014, 124(21): 5767-5767

- [51] Hande K R. Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor. *European Journal of Cancer*, 1998, 34(10): 1514-1521
- [52] Romano M, Frapolli R, Zangarini M, et al. Comparison of in vitro and in vivo biological effects of trabectedin, lurtotecan (PM01183) and Zalapsis®(PM00104). *International Journal of Cancer*, 2013, 133(9): 2024-2033
- [53] Leal J F M, Martínez-Díez M, García-Hernández V, et al. PM01183, a new DNA minor groove covalent binder with potent in vitro and in vivo anti-tumour activity. *British Journal of Pharmacology*, 2010, 161(5): 1099-1110
- [54] Guirouilh-Barbat J, Antony S, Pommier Y. Zalapsis (PM00104) is a potent inducer of γ -H2AX foci and reveals the importance of the C ring of trabectedin for transcription-coupled repair inhibition. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2009, 8(7): 2007-2014
- [55] Rajalekshmi D S, Kabeer F A, Madhusoodhanan A R, et al. Anticancer activity studies of cubebin isolated from *Piper cubeba* and its synthetic derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2016, 26(7): 1767-1771
- [56] Kandil S, Wymant J M, Kariuki B M, et al. Novel cis-selective and non-epimerisable C3 hydroxy azapodophyllotoxins targeting microtubules in cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 110: 311-325
- [57] Guan X W, Xu X H, Feng S L, et al. Synthesis of hybrid 4-deoxypodophyllotoxin-5-fluorouracil compounds that inhibit cellular migration and induce cell cycle arrest. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2016, 26(6): 1561-1566
- [58] Rosenthal A S, Tanega C, Shen M, et al. Potent and selective small molecule inhibitors of specific isoforms of Cdc2-like kinases (Clk) and dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinases (Dyrk). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21(10): 3152-3158
- [59] Ai Y, Zhu B, Ren C, et al. Discovery of new monocarbonyl ligustrazine-curcumin hybrids for intervention of drug-sensitive and drug-resistant lung cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 59: 1747-1760
- [60] Faidallah H M, Rostom S A F, Badr M H, et al. Synthesis of some 1,4,6-trisubstituted-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitriles and their biological evaluation as cytotoxic and antimicrobial agents. *Archiv der Pharmazie*, 2015, 348(11): 824-834
- [61] Gladkowski W, Skrobiszewski A, Mazur M, et al. Chiral δ -iodo- γ -lactones derived from cuminaldehyde, 2,5-dimethylbenzaldehyde and piperonal: chemoenzymatic synthesis and antiproliferative activity. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2016, 27(6): 227-237

- [62] Chakraborty S, Newton A C. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathology*, 2011, 60(1): 2-14
- [63] Strange R N, Scott P R. Plant disease: a threat to global food security. *Phytopathology*, 2005, 43: 83-116
- [64] 武玉国, 姜莉莉. 8 种杀菌剂对黄瓜枯萎病菌的室内毒力测定. *农药科学与管理*, 2015, 36(4): 54-56, 62
- [65] Jacob S, Foster A J, Yemelin A, et al. High osmolarity glycerol (HOG) signalling in *Magnaporthe oryzae*: identification of MoYPD1 and its role in osmoregulation, fungicide action, and pathogenicity. *Fungal Biology*, 2015, 119(7): 580-594
- [66] 徐玉芳, 赵振江, 朱维平, 等. 一种杂环化合物及其用途. 中国专利. CN104016960A, 2014-9-3
- [67] 曾志刚, 杨鸿彪, 彭艳红, 等. 新型喹唑啉-4 (3H)-酮 Schiff 碱的合成及生物活性. *农药学学报*, 2015, 17(2): 128-135
- [68] 宁国慧, 赵温涛, 边强, 等. 3, 5-二取代的异噁唑啉类衍生物的合成及杀菌活性研究. *有机化学*, 2014, 34(9): 1800-1805
- [69] 刘长令, 王立增, 兰杰, 等. 胡椒乙胺类化合物及其用途. 中国专利. CN1037772369A, 2014-5-7
- [70] 覃兆海, 袁小勇, 马永强, 等. 一种含硝基缩氨基胍结构的甲氧亚胺基苯乙酸酯类化合物及其制备方法与应用. 中国专利. CN104557619A, 2015-4-29
- [71] 王涛, 邹鹏, 彭浩, 等. *O*-烷基 α -(取代苯氧乙酰氧基)烃基膦酸盐的合成与生物活性. *有机化学*, 2014, 34(1): 215-219
- [72] Chiron C. Stiripentol. *Neurotherapeutics*, 2007, 4(1): 123-125
- [73] 陈焱, 冯文化. 国内外孤儿药研发现状. *中国新药杂志*, 2014, 23(7): 764-768
- [74] Chiron C, Marchand M C, Tran A, et al. Stiripentol in severe myoclonic epilepsy in infancy: a randomised placebo-controlled syndrome-dedicated trial. *The Lancet*, 2000, 356(9242): 1638-1642
- [75] Trevathan E. Epilepsy syndrome-specific anti-epileptic drug therapy for children. *The Lancet*, 2000, 356(9242): 1623-1624
- [76] Madelmont J C, Dupuy J M, Rapp M, et al. Marquage par ^{14}C et ^3H du 4, 4-dimethyl-1-(methylendioxy-3, 4 phenyl)-1-pentene-3-ol ou stiripentol. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 1992, 31(11): 961-966
- [77] 杜玉民, 张恺, 方瑜. 一种司替戊醇的制备方法. 中国专利, CN102391242B, 2013-5-8
- [78] Jacobsen E E, Anthonsen T, El-Behairy M F, et al. Lipase catalysed kinetic resolution of

- stiripentol. International Journal of Chemistry, 2012, 4(1): 7-13
- [79] El-Behairy M F, Sundby E. Synthesis of the antiepileptic (*R*)-stiripentol by a combination of lipase catalyzed resolution and alkene metathesis. Tetrahedron: Asymmetry, 2013, 24(5): 285-289
- [80] 唐新军, 谭建辉, 梁建军. 洋茉莉醛的合成研究进展. 广州化工, 2010, 38(8): 59-60
- [81] 章磊, 张小红, 王小聪, 等. 胡椒醛的合成及主要用途. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2001, 25(3): 240-245
- [82] Bjørsvik H R, Liguori L, Minisci F. High selectivity in the oxidation of mandelic acid derivatives and in o-methylation of protocatechualdehyde: new processes for synthesis of Vanillin, *iso*-Vanillin, and Heliotropin. Organic Process Research & Development, 2000, 4(6): 534-543
- [83] Xi H, Gao Z, Wang J. Kinetics of oxidative decarboxylation of 3, 4-methylenedioxy-mandelic acid to piperonal with dilute nitric acid. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2009, 48(23): 10425-10430
- [84] Lin C K, Lu T J. A simple method for the oxidation of primary alcohols with o-iodoxybenzoic acid (IBX) in the presence of acetic acid. Tetrahedron, 2010, 66(51): 9688-9693
- [85] Bellardita M, Loddo V, Palmisano G, et al. Photocatalytic green synthesis of piperonal in aqueous TiO₂ suspension. Applied Catalysis B: Environmental, 2014, 144: 607-613
- [86] 罗先福. 呋喃酚的合成工艺与其芳氨基噻唑衍生物的合成、表征和生物活性[湖南大学博士论文]. 长沙: 湖南大学化学化工学院, 2012, 43-45
- [87] 金滨, 张波, 廖江芬, 等. α , β -不饱和醛/酮 MPV 还原反应催化剂研究进展. 化工生产与技术, 2006, 13(2): 38-41
- [88] Lin C K, Lu T J. A simple method for the oxidation of primary alcohols with o-iodoxybenzoic acid (IBX) in the presence of acetic acid. Tetrahedron, 2010, 66(51): 9688-9693.
- [89] 赵杰, 张恺, 华圆, 等. 司替戊醇的合成. 中国医药工业杂志, 2013, 44(8): 747-748
- [90] Guay D R P. Cefdinir: an advanced-generation, broad-spectrum oral cephalosporin. Clinical Therapeutics, 2002, 24(4): 473-489
- [91] Shannon K M, Bennett J P, Friedman J H, et al. Efficacy of pramipexole, a novel dopamine agonist, as monotherapy in mild to moderate Parkinson's disease. Neurology, 1997, 49(3): 724-728
- [92] Noble S, Balfour J A. Meloxicam. Drugs, 1996, 51(3): 424-30; Discussion 431-32
- [93] Obach R S, Kalgutkar A S, Ryder T F, et al. In vitro metabolism and covalent binding of

- enol-carboxamide derivatives and anti-inflammatory agents sudoxicam and meloxicam: insights into the hepatotoxicity of sudoxicam. *Chemical Research in Toxicology*, 2008, 21(9): 1890-1899.
- [94] Jaimini M, Rana A C, Tanwar Y S. Formulation and evaluation of famotidine floating tablets. *Current Drug Delivery*, 2007, 4(1): 51-55
- [95] Thevissen K, Pellens K, De Brucker K, et al. Novel fungicidal benzylsulfanyl-phenylguanidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21(12): 3686-3692
- [96] Das D, Sikdar P, Bairagi M. Recent developments of 2-aminothiazoles in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 109: 89-98
- [97] Shao L, Zhou X, Hu Y, et al. Synthesis and evaluation of novel ferrocenyl thiazole derivatives as anticancer agents. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 2006, 36(4): 325-330
- [98] Lee Y S E, Chuang S H, Huang L Y L, et al. Discovery of 4-aryl-N-arylcarbonyl-2-aminothiazoles as Hec1/Nek2 inhibitors. Part I: optimization of in vitro potencies and pharmacokinetic properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(10): 4098-4110
- [99] Li L, Zhang C L, Song H R, et al. Discovery of novel dual inhibitors of VEGFR and PI3K kinases containing 2-ureidothiazole scaffold. *Chinese Chemical Letters*, 2016, 27(1): 1-6
- [100] Li M, Sim Y, Wook Ham S. Discovery of 2-aminothiazole derivatives as antitumor agents. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2010, 31(6): 1463-1464
- [101] Kim J, Moon Y, Ham S W. 2-Aminothiazole derivative as a new class of TrkA kinase inhibitor. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2011, 32(spc8): 2893-2894
- [102] Mishra C B, Kumari S, Tiwari M. Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agents. *European journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 92: 1-34
- [103] Vasilious S. SNS-032. Cyclin-dependent kinase inhibitor, Oncolytic. *Drugs Of The Future*, 2008, 33(11): 932-937
- [104] Gurdal E E, Durmaz I, Cetin-Atalay R, et al. Cytotoxic activities of some benzothiazole-piperazine derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2015, 30(4): 649-654
- [105] Abou-Seri S M, Eldehna W M, Ali M M, et al. 1-Piperazinylphthalazines as potential VEGFR-2 inhibitors and anticancer agents: Synthesis and in vitro biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 107: 165-179
- [106] Biswal S S, Singh A, Rastinehad F, et al. NRF2 small molecule inhibitors for cancer

therapy. International Patent. WO 2014145642A2, 2014-9-18

- [107] El-Messery S M, Hassan G S, Al-Omary F A M, et al. Substituted thiazoles VI. Synthesis and antitumor activity of new 2-acetamido-and 2 or 3-propanamido-thiazole analogs. European Journal of Medicinal Chemistry, 2012, 54: 615-625
- [108] Hassan G S, El-Messery S M, Al-Omary F A M, et al. Substituted thiazoles VII. Synthesis and antitumor activity of certain 2-(substituted amino)-4-phenyl-1,3-thiazole analogs. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(20): 6318-6323
- [109] Choi H G, Zhang J, Weisberg E, et al. Development of 'DFG-out' inhibitors of gatekeeper mutant kinases. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(16): 5297-5302
- [110] 张小虎. 具有刺猬通路拮抗剂活性的氨基噻唑-吡啶杂环化合物. 中国专利. CN 103524535A, 2014-1-22
- [111] 彭俊梅. 基于 4,4-二甲基-1-芳基-1-戊烯-3-酮的噻唑及嘧啶衍生物的合成与生物活性: [湖南大学博士学位论文]. 长沙: 湖南大学化学化工学院, 2013, 46-70
- [112] Meissner A, Boshoff H I, Vasan M, et al. Structure-activity relationships of 2-aminothiazoles effective against *Mycobacterium tuberculosis*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21(21): 6385-6397
- [113] Pieroni M, Wan B, Cho S, et al. Design, synthesis and investigation on the structure-activity relationships of *N*-substituted 2-aminothiazole derivatives as antitubercular agents. European journal of Medicinal Chemistry, 2014, 72: 26-34
- [114] Xu Z, Ba M, Zhou H, et al. 2, 4, 5-Trisubstituted thiazole derivatives: a novel and potent class of non-nucleoside inhibitors of wild type and mutant HIV-1 reverse transcriptase. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 85: 27-42
- [115] Jeong K, Lee J, Park S, et al. Synthesis and in-vitro evaluation of 2-amino-4-aryltiazole as inhibitor of 3D polymerase against foot-and-mouth disease (FMD). European Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 102: 387-397
- [116] Siddiqui N, Ahsan W. Synthesis, anticonvulsant and toxicity screening of thiazolyl-thiadiazole derivatives. Medicinal Chemistry Research, 2011, 20(2): 261-268
- [117] Makam P, Kannan T. 2-Aminothiazole derivatives as antimycobacterial agents: synthesis, characterization, in vitro and in silico studies. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 87: 643-656
- [118] Pieroni M, Wan B, Cho S, et al. Design, synthesis and investigation on the structure-activity relationships of *N*-substituted 2-aminothiazole derivatives as antitubercular agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 72: 26-34

- [119] Bhuniya D, Mukkavilli R, Shivahare R, et al. Aminothiazoles: Hit to lead development to identify antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 102: 582-593
- [120] Ghaemmaghami S, May B C H, Renslo A R, et al. Discovery of 2-aminothiazoles as potent antiprion compounds. *Journal of Virology*, 2010, 84(7): 3408-3412
- [121] Schittenhelm M M, Shiraga S, Schroeder A, et al. Dasatinib (BMS-354825), a dual SRC/ABL kinase inhibitor, inhibits the kinase activity of wild-type, juxtamembrane, and activation loop mutant KIT isoforms associated with human malignancies. *Cancer Research*, 2006, 66(1): 473-481
- [122] Kantarjian H M, Shah N P, Cortes J E, et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*, 2012, 119(5): 1123-1129
- [123] Luo Y, Liu H, Lu W. Design and synthesis of new imatinib analogs containing thiazolyl moiety. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2013, 50(6): 1357-1362
- [124] French K J, Schrecengost R S, Lee B D, et al. Discovery and evaluation of inhibitors of human sphingosine kinase. *Cancer Research*, 2003, 63(18): 5962-5969
- [125] Gustin D J, Li Y, Brown M L, et al. Structure guided design of a series of sphingosine kinase (SphK) inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(16): 4608-4616
- [126] Turcotte S, Chan D A, Sutphin P D, et al. A molecule targeting VHL-deficient renal cell carcinoma that induces autophagy. *Cancer Cell*, 2008, 14(1): 90-102
- [127] Hay M P, Turcotte S, Flanagan J U, et al. 4-Pyridylanilinothiazoles that selectively target von Hippel-Lindau deficient renal cell carcinoma cells by inducing autophagic cell death. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 53(2): 787-797
- [128] Bonnet M, Flanagan J U, Chan D A, et al. Identifying novel targets in renal cell carcinoma: design and synthesis of affinity chromatography reagents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2014, 22(2): 711-720
- [129] Sengupta S, Smitha S L, Thomas N E, et al. 4-Amino-5-benzoyl-2-(4-methoxy-phenylamino) thiazole (DAT1): a cytotoxic agent towards cancer cells and a probe for tubulin-microtubule system. *British Journal of Pharmacology*, 2005, 145(8): 1076-1083
- [130] Romagnoli R, Baraldi P G, Carrion M D, et al. 2-Arylamino-4-amino-5-arylthiazoles.“One-pot” synthesis and biological evaluation of a new class of inhibitors of tubulin polymerization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, 52(17): 5551-5555

- [131] Lu Y, Li C M, Wang Z, et al. Design, synthesis, and SAR studies of 4-substituted methoxylbenzoyl-aryl-thiazoles analogues as potent and orally bioavailable anticancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54(13): 4678-4693
- [132] Lu Y, Chen J, Wang J, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of stable colchicine binding site tubulin inhibitors as potential anticancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(17): 7355-7366
- [133] Turan-Zitouni G, Altintop M D, Özdemir A, et al. Synthesis and evaluation of bis-thiazole derivatives as new anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 107: 288-294
- [134] 马艳华, 史玲, 苏琦. LIM 激酶与肿瘤. *国际病理科学与临床杂志*, 2009, 29(6): 490-494
- [135] Charles M D, Brookfield J L, Ekwuru T C, et al. Discovery, development, and SAR of aminothiazoles as LIMK inhibitors with cellular anti-invasive properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(20): 8309-8313
- [136] Mardilovich K, Baugh M, Crighton D, et al. LIM kinase inhibitors disrupt mitotic microtubule organization and impair tumor cell proliferation. *Oncotarget*, 2015, 6(36): 38469-38486
- [137] Ye J, Xiao M W, Xie X Q, et al. Synthesis and cytotoxicity in vitro of *N*-aryl-4-(tert-butyl)-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)thiazol-2-amine. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2015, 62(7): 627-631
- [138] 彭俊梅, 李婉, 申坤, 等. 5-苯基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑氢溴酸盐的合成、表征及抗肿瘤活性. *高等学校化学学报*, 2013, 34(7): 1646-1652
- [139] 彭俊梅. 基于 4,4-二甲基-1-芳基-1-戊烯-3-酮的噻唑及嘧啶衍生物的合成与生物活性: [湖南大学博士学位论文]. 长沙: 湖南大学化学化工学院, 2013, 21-23
- [140] 彭俊梅. 基于 4,4-二甲基-1-芳基-1-戊烯-3-酮的噻唑及嘧啶衍生物的合成与生物活性: [湖南大学博士学位论文]. 长沙: 湖南大学化学化工学院, 2013, 33-34
- [141] 杨吉春, 吴峤, 刘长令. 近五年公开的新杀菌剂及其合成研究进展. *精细化工中间体*, 2015, 45(6): 1-9
- [142] Owen W J, Sullenberger M T, Loso M R, et al. Synthesis and antifungal activity of 3aryl-1, 2, 4-triazin-6-one derivatives. *Pest Management Science*, 2015, 71(1): 83-90
- [143] Rejeb S B, Cléroux C, Lawrence J F, et al. Development and characterization of immunoaffinity columns for the selective extraction of a new developmental pesticide: Thifluzamide, from peanuts. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 432(2): 193-200
- [144] Gupta S, Gajbhiye V T. Adsorption-desorption, persistence and leaching behavior of

- thifluzamide in alluvial soil. *Chemosphere*, 2004, 57(6): 471-480
- [145] Kim D S, Chun S J, Jeon J J, et al. Synthesis and fungicidal activity of ethaboxam against Oomycetes. *Pest Management Science*, 2004, 60(10): 1007-1012
- [146] Kim D S, Lee Y S, Chun S J, et al. Ethaboxam: a new Oomycetes fungicide. In: The British Crop Protection Council Conference: Pests and Diseases. Brighton, 2002, 377-382
- [147] Sashidhara K V, Rao K B, Kushwaha V, et al. Synthesis and antifilarial activity of chalcone-thiazole derivatives against a human lymphatic filarial parasite, *Brugia malayi*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 81: 473-480
- [148] Gupta S D, Revathi B, Mazaira G I, et al. 2,4-dihydroxy benzaldehyde derived Schiff bases as small molecule Hsp90 inhibitors: Rational identification of a new anticancer lead. *Bioorganic Chemistry*, 2015, 59: 97-105
- [149] Bashandy M S. 1-(4-(Pyrrolidin-1-ylsulfonyl)phenyl) ethanone in heterocyclic synthesis: synthesis, molecular docking and anti-human liver cancer evaluation of novel sulfonamides incorporating thiazole, imidazo[1,2-a]pyridine, imidazo[2,1-c][1,2,4]triazole, imidazo[2,1-b]thiazole, 1,3,4-thiadiazine and 1,4-thiazine moieties. *International Journal of Organic Chemistry*, 2015, 5(3): 166-190
- [150] Geng J, Li M, Wu L, et al. Liberation of copper from amyloid plaques: making a risk factor useful for Alzheimer's disease treatment. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 55(21): 9146-9155
- [151] Dong M, Li H, Hu D, et al. A molecular dynamic study on the inhibition mechanisms of drugs CQ₁₋₃ to the Alzheimer A β 40 aggregation induced by Cu²⁺. *ACS Chemical Neuroscience*, 2016. DOI: 10.1021/acschemneuro.5b00343.
- [152] Prakash C, Raja S, Saravanan G. Synthesis, analgesic, anti-inflammatory and in vitro antimicrobial studies of some novel schiff and mannich base of 5-substituted isatin derivatives. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014, 6(10): 160~166
- [153] Joseph J, Rani G A B. Mixed ligand complexes with 4-aminoantipyrine derivatives to combat natural antioxidant system: synthesis, characterization and biological studies. *Asian Journal of Chemistry*, 2015, 27(3): 790-802
- [154] Mohana K N, Kumar C B P. Synthesis and antioxidant activity of 2-amino-5-methylthiazol derivatives containing 1,3,4-oxadiazole-2-thiol moiety. *ISRN Organic Chemistry*, 2013, 2013
- [155] Singh R, Sharma S. Synthesis, characterization and evaluation of 2-imino benzothiazole

- derivatives as anticonvulsant agents. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2014, 5(5): 213-217
- [156] Karacan M S, Zharmukhamedov S K, Mamaş S, et al. Screening of novel chemical compounds as possible inhibitors of carbonic anhydrase and photosynthetic activity of photosystem II. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2014, 137: 156-167
- [157] Choudhary M I, Khan A, Khan K M, et al. Schiff bases of thiazoles: a new class of ureases inhibitors: U.S. Patent 20150368214. 2015-12-24
- [158] Khan K M, Karim A, Saied S, et al. Evaluation of the thiazole Schiff bases as β -glucuronidase inhibitors and their in silico studies. Molecular Diversity, 2014, 18(2): 295-306
- [159] Shanmugam M, Narayanan K, Mahalakshmi M, et al. Synthesis, characterization and biological studies of some novel 3-fluorosalicylaldehyde based amine derivatives. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013, 116: 394-400
- [160] Sharma U K, Sood S, Sharma N, et al. Synthesis and SAR investigation of natural phenylpropene-derived methoxylated cinnamaldehydes and their novel Schiff bases as potent antimicrobial and antioxidant agents. Medicinal Chemistry Research, 2013, 22(11): 5129-5140
- [161] Amnerkar N D, Bhongade B A, Bhusari K P. Synthesis and biological evaluation of some 4-(6-substituted-1,3-benzothiazol-2-yl)amino-1,3-thiazole-2-amines and their Schiff bases. Arabian Journal of Chemistry, 2015, 8(4): 545-552
- [162] Mishra A P, Purwar H, Jain R K, et al. Microwave synthesis, spectral, thermal and antimicrobial studies of some Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes containing 2-aminothiazole moiety. Journal of Chemistry, 2012, 9(4): 1655-1666
- [163] Alaghaz A N M A, Zayed M E, Alharbi S A. Synthesis and characterization, antimicrobial activity, DNA binding and DNA cleavage studies of new 5-chloro-2-[4-phenylthiazol-2-yl-iminomethyl] phenol metal complexes. Journal of Molecular Structure, 2015, 1082: 62-79
- [164] 杨林涛, 覃智, 陈平, 等. 5-苄基-4-叔丁基-2-苄亚氨基噻唑的合成与杀菌活性. 应用化学, 2010, 27(6): 664-668
- [165] 胡艾希, 覃智, 陈平, 等. 4-叔丁基-5-(1, 2, 4-三唑-1-基)-2-苄亚氨基噻唑的合成, 晶体结构和生物活性. 有机化学, 2010, 30(6): 923-927
- [166] Guan A, Liu C, Yang X, et al. Application of the intermediate derivatization approach in

agrochemical discovery. Chemical Reviews, 2014, 114(14): 7079-7107

附录 A：攻读博士期间发表的相关论文

1. **Wu Z L**, Ding N, Lin D, Hu A X*, Ye J, Li G X. Synthesis and fungicidal activity of some novel thiazole Schiff bases derived from benzo[*d*][1,3]dioxole. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2016, 32(1): 49-54.
2. **Wu Z L**, Peng J M, Hu A X*, Ye J, Li G X. Design, Synthesis and Neuraminidase Inhibitory Activity of *N*-(5-Benzyl-4-(*tert*-butyl)thiazol-2-yl)benzamides. *Medicinal Chemistry Research*, 2016, 25: 356-368.
3. **Z. L. Wu**, Y. L. Fang, Y. T. Tang, M. W Xiao, J. Ye, G. X. Li, A. X. Hu*. Synthesis and antitumor evaluation of 5-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-4-(*tert*-butyl)-*N*-arylthiazol-2-amines. *MedChemComm* (major revision).
4. **Zhilin Wu**, Yilin Fang, Yuting Tang, Mengwu Xiao, Ding Lin, Jiao Ye, Aixi Hu*, Guoxi Li. Design and synthesis of some *N*-(5-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-4-(*tert*-butyl)-thiazol-2-yl)-2-amides as anticancer agents. *Molecular Diversity* (under review).
5. Yi-Lin Fang, **Zhi-Lin Wu**, Meng-Wu Xiao, Yu-Ting Tang, Kang-Ming Li, Jiao Ye, Jian-Nan Xiang, Ai-Xi Hu*. One-pot three-component synthesis of novel 2-oxo-quinoline α -aminophosphonate derivatives as potential anticancer agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016, 17(5): 653-668.

授权的发明专利

1. 胡艾希, 伍智林, 叶姣. 一种司替戊醇的制备方法. ZL201210200284.X, 2014.4.23 授权
2. 胡艾希, 李全, 付二霞, 伍智林, 欧晓明. *N*-[4- (苯并呋喃-5-基) 噻唑-2-基]酰胺及其制备方法与应用. ZL201310308471.4, 2015.7.29 授权
3. 胡艾希, 申坤, 彭俊梅, 林定, 伍智林, 欧晓明. *N*-[4-叔丁基-5-苯基噻唑-2-基]酰胺及其作为杀虫剂的应用. ZL201310574325.6, 2015.1.21 授权
4. 胡艾希, 窦杰, 叶姣, 石磊, 伍智林. 2- (2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基) 吡咯及其制备方法与应用. ZL201210106643.5, 2014.7.23 授权

申请的发明专利

5. 胡艾希, 伍智林, 叶姣, 丁娜. 5-胡椒基-4-烷基-2-芳氨基噻唑及其制备方法与应用. CN104530035A, 2015.4.22 公开
6. 胡艾希, 伍智林, 叶姣, 丁娜. 5-胡椒基-4-烷基-2-芳亚氨基噻唑及其制备方法与应用. CN104530036A, 2015.4.22 公开

7. 胡艾希, 伍智林, 申坤, 彭俊梅, 刘艾琳, 连雯雯. *N*-(5-苄基噻唑-2-基) 苯甲酰胺及其医药用途. CN104771397A, 2015.7.15 公开
8. 胡艾希, 伍智林, 唐玉婷, 李国希. 5-胡椒基噻唑衍生物作为抗癌药物的应用, CN201510481661.5, 2015.8.7 申请
9. 胡艾希, 伍智林, 丁娜. *N*-(5-胡椒基噻唑-2-基)-3,5-二硝基苯甲酰胺及其医药用途, CN201610099154.X, 2016.2.23 申请
10. 胡艾希, 伍智林, 丁娜, 叶姣. *N*-(噻唑-2-基)哌嗪基酰胺衍生物及其作为抗肿瘤药的应用, CN 201610317454.0, 2016.5.13 申请
11. 胡艾希, 伍智林, 丁娜, 叶姣. *N*-(5-胡椒基噻唑-2-基)酰胺衍生物及其作为抗肿瘤药的应用, CN 201610316277.4, 2016.5.13 申请

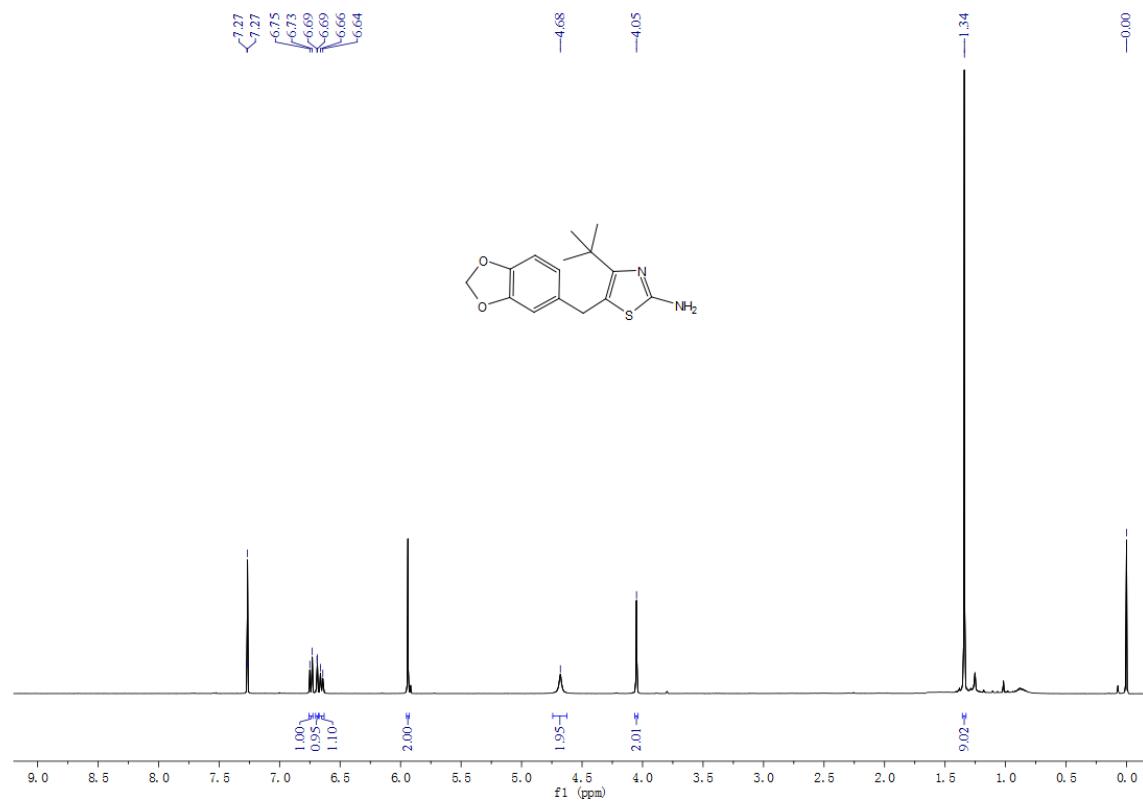
参加的学术会议

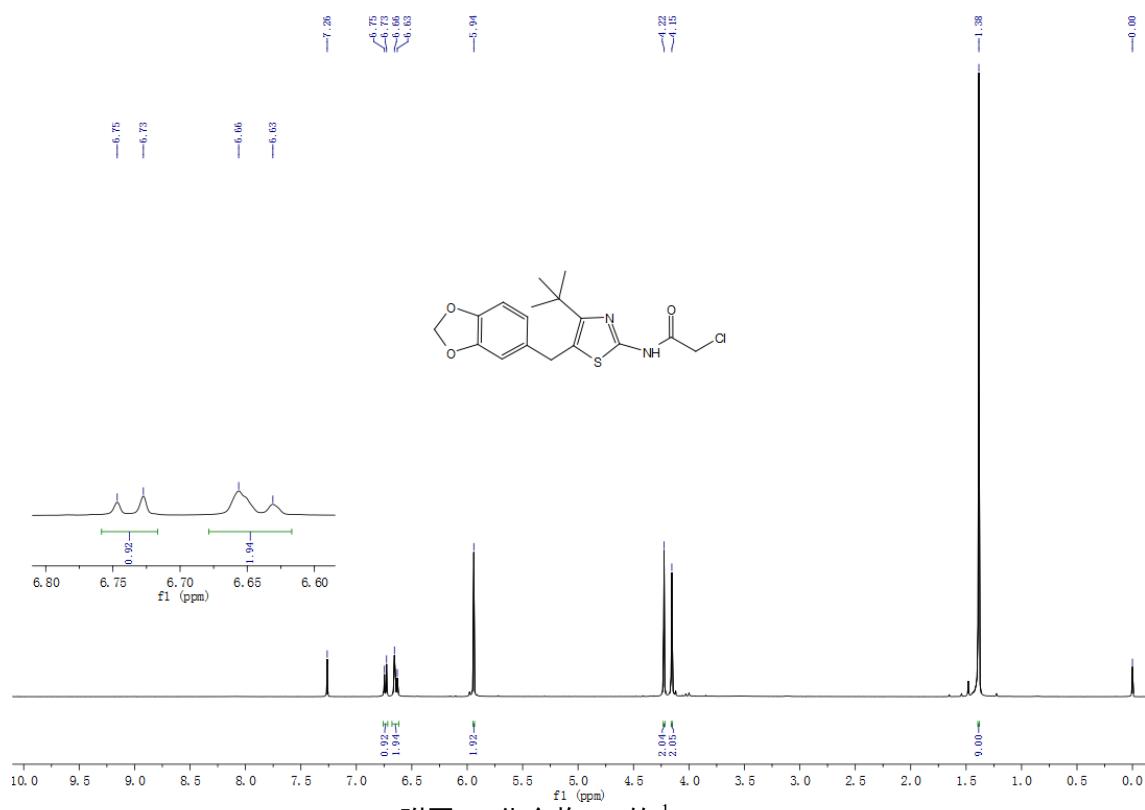
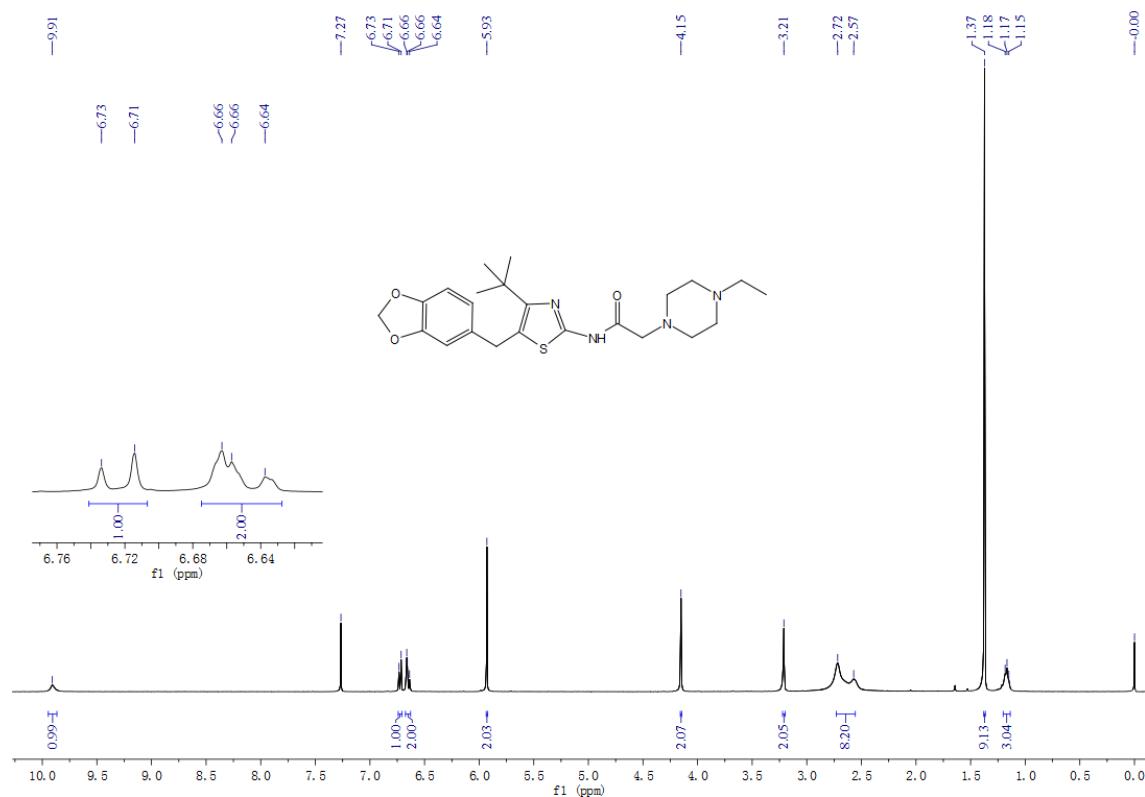
2014 年 10 月参加在新加坡召开的第 15 届四面体年会-亚洲区学术交流会, 发表会议论文一篇, 并作墙报展示

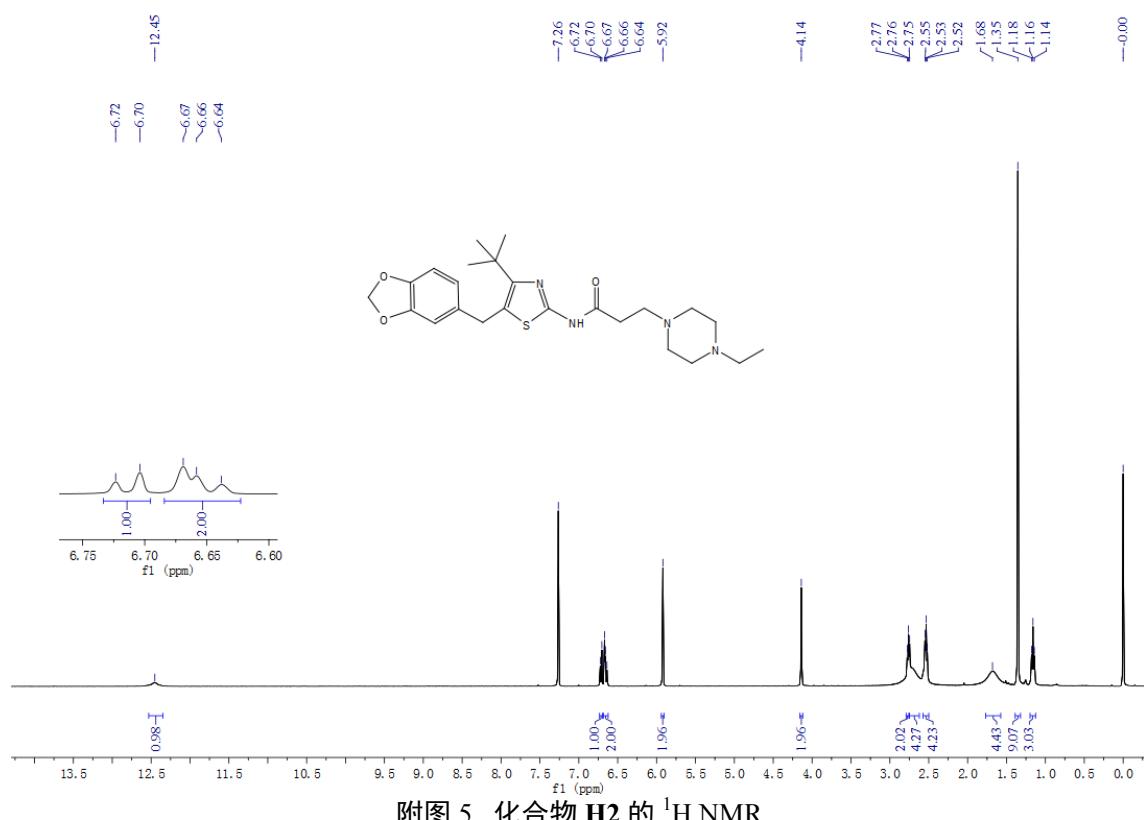
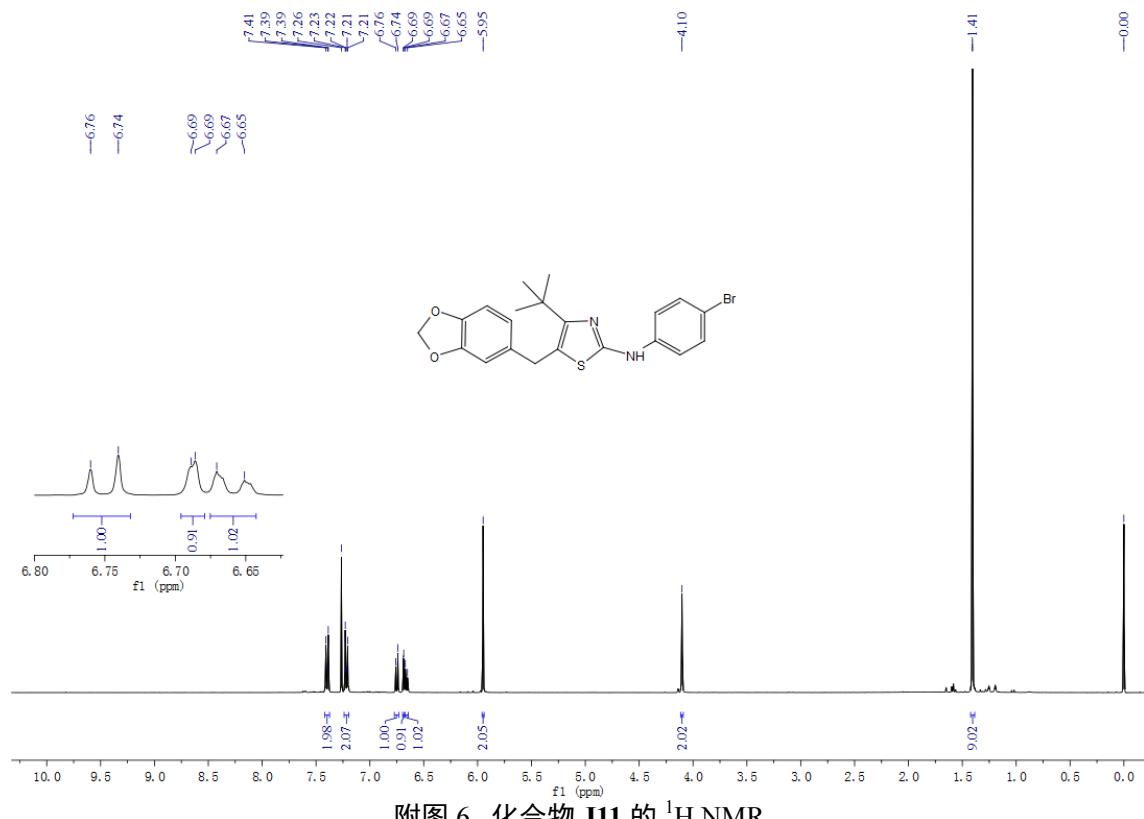
参加的科研项目

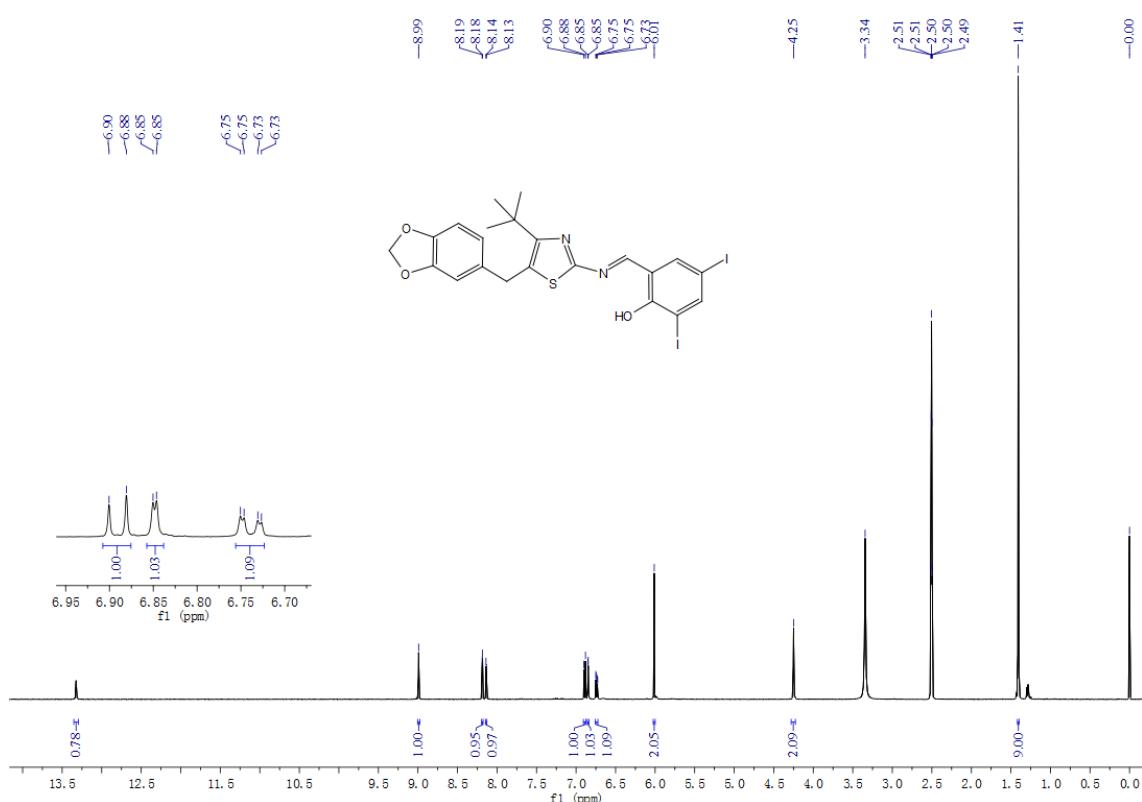
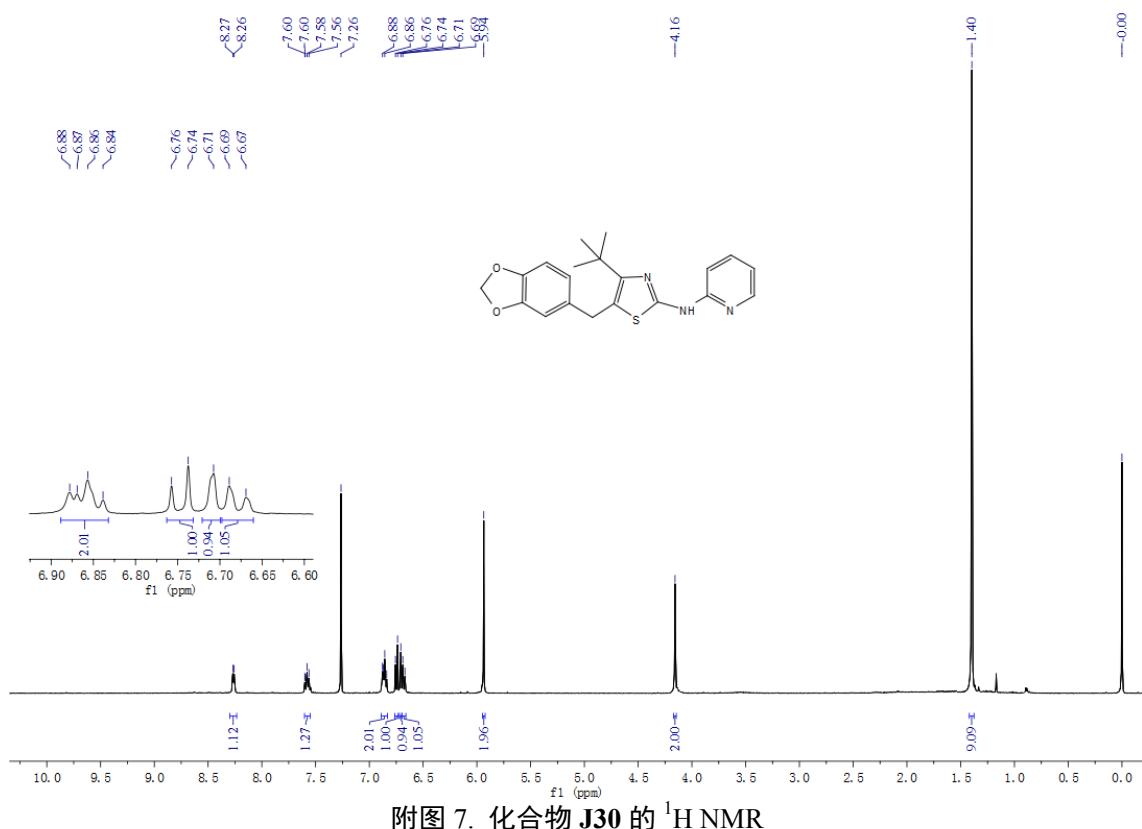
1. 防治水稻螟虫等重大害虫的农药创制开发(2011 BAE06B01), 国家科技部科技支撑计划。
2. 含喹啉酮的噻唑类流感病毒神经氨酸酶抑制剂的设计、合成与活性研究, 国家自然科学基金, 应急管理项目(21442014)。

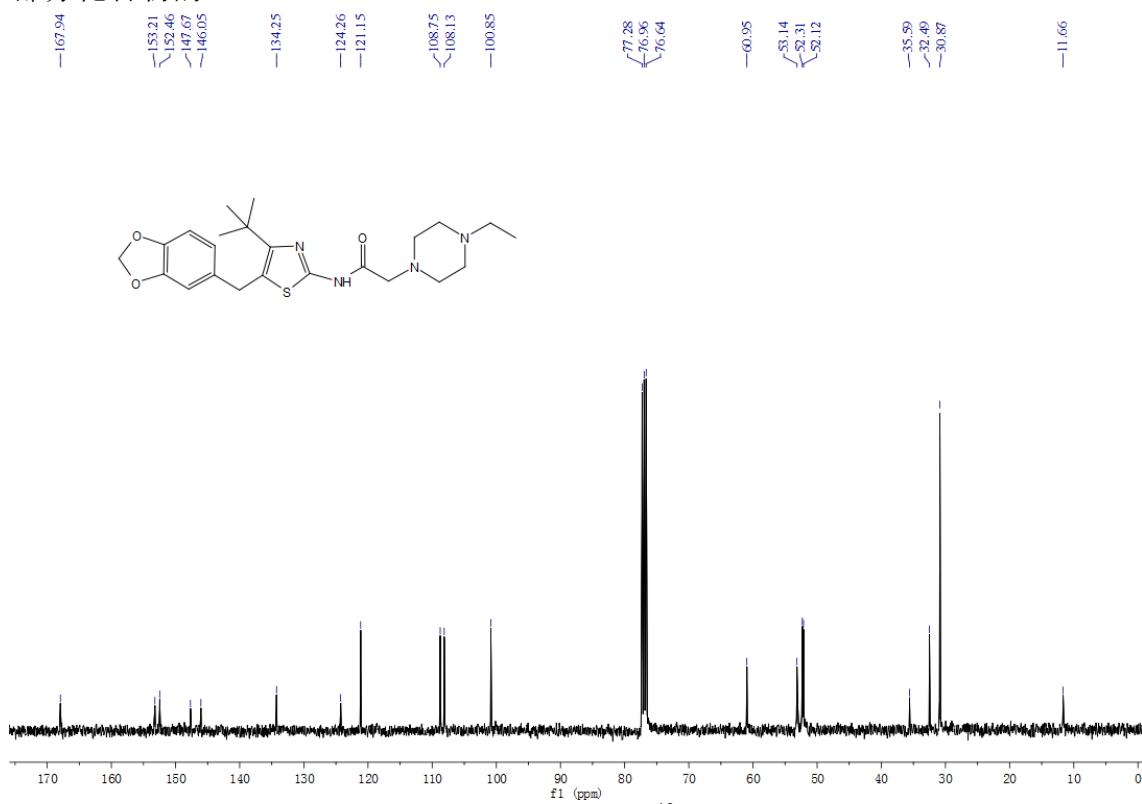
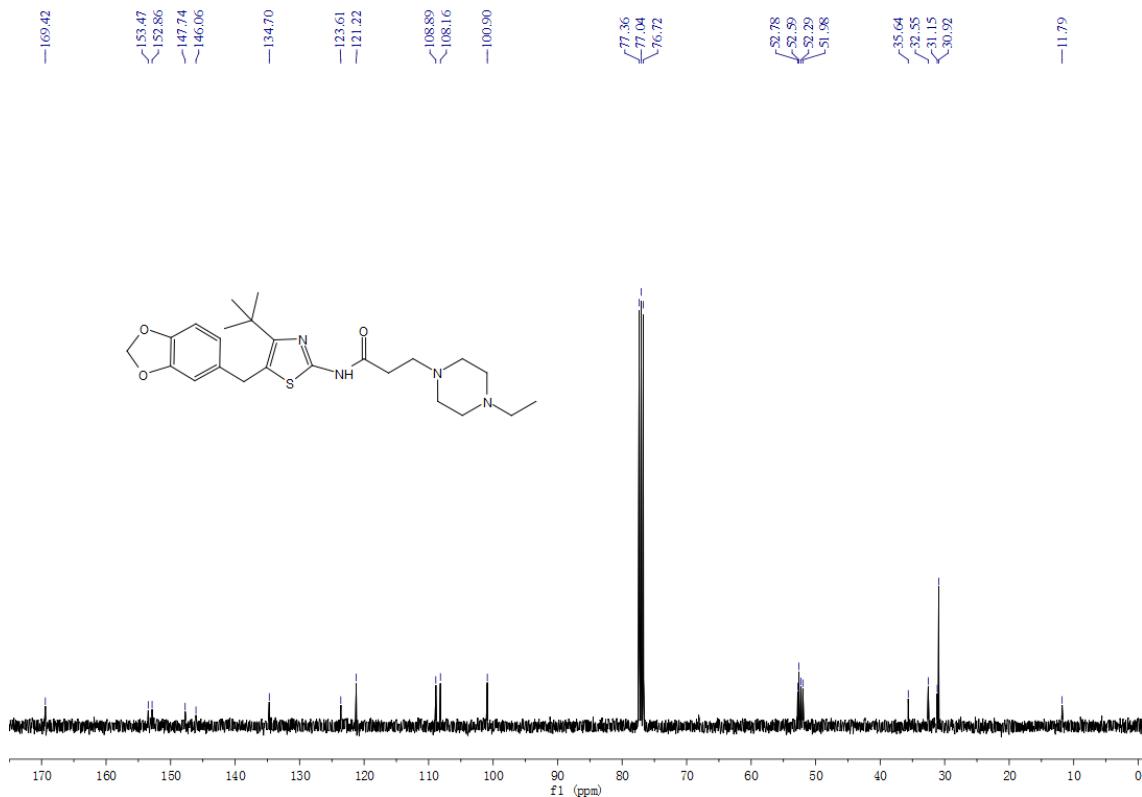
附录 B：部分化合物谱图

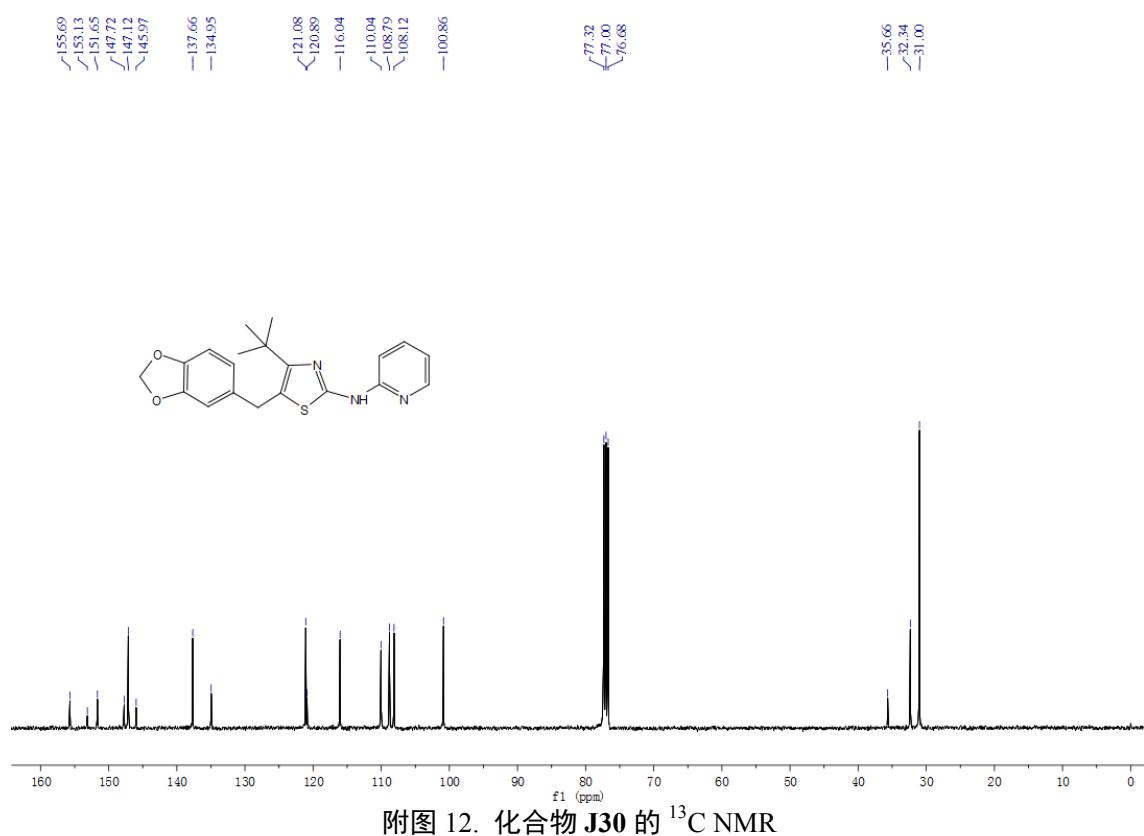
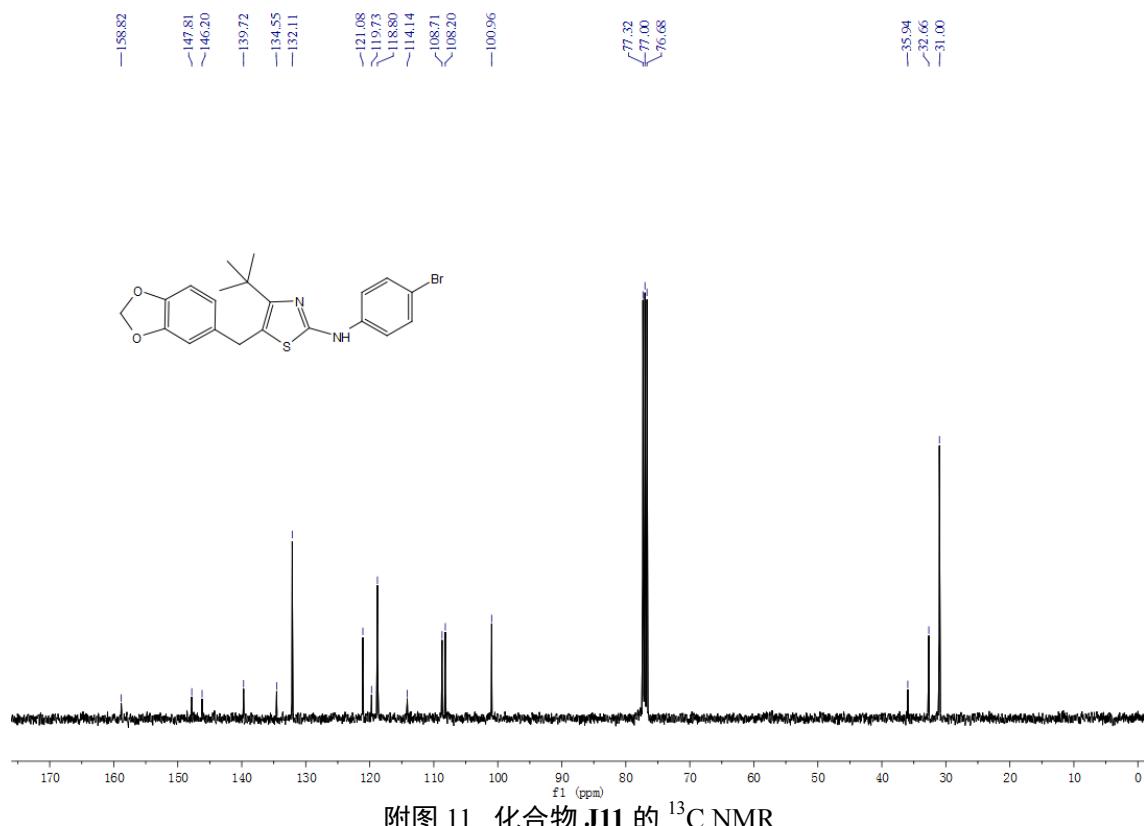
1. 部分化合物的 ^1H NMR附图 1. 化合物 D 的 ^1H NMR附图 2. 化合物 E8 的 ^1H NMR

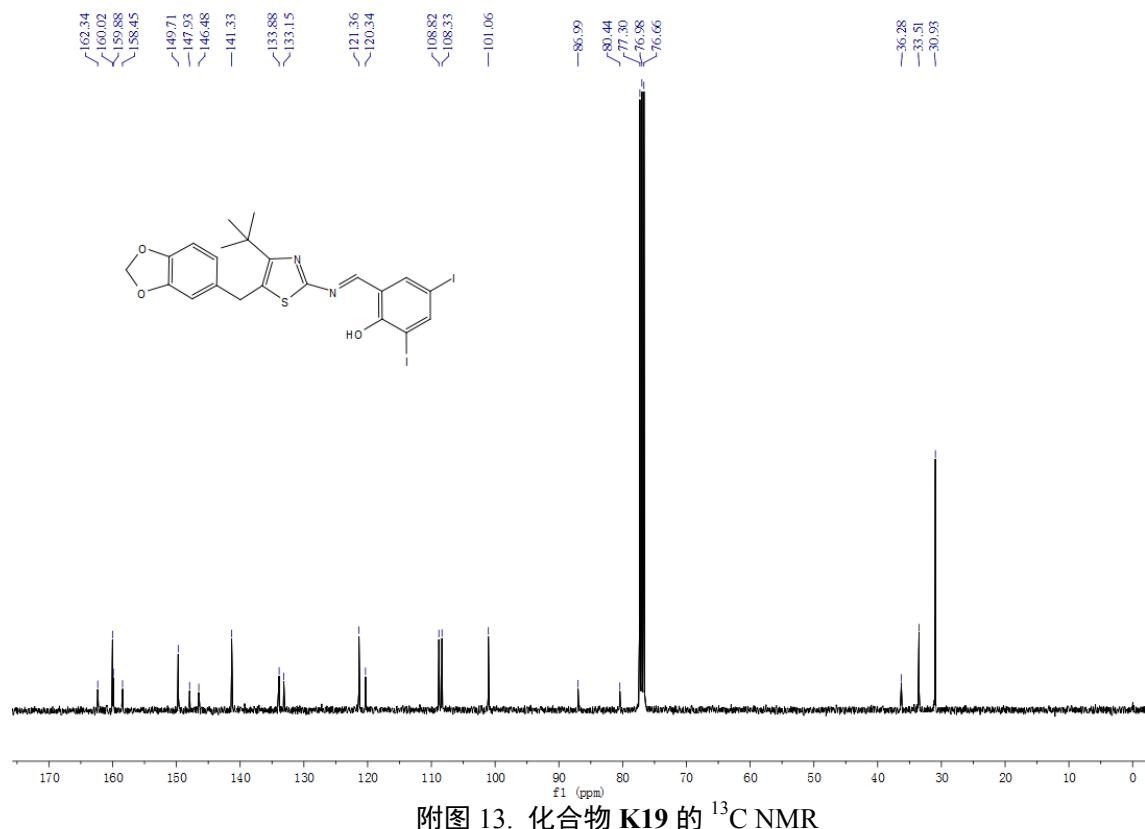
附图3. 化合物F2的¹H NMR附图4. 化合物G2的¹H NMR

附图 5. 化合物 H2 的 ¹H NMR附图 6. 化合物 J11 的 ¹H NMR



2. 部分化合物的 ^{13}C NMR附图 9. 化合物 G2 的 ^{13}C NMR附图 10. 化合物 H2 的 ^{13}C NMR





附图 13. 化合物 K19 的 ^{13}C NMR

致 谢

岳麓山下，湘江水旁，千年学府湖南大学承载着我的青春，见证了我的成长。

从五年前进入湖南大学药物研究所这个团队，到今天完成博士学位论文，我的每一步成长，都不离开导师胡艾希教授的敦敦教诲与悉心指导。在硕博连读的五年时间里，胡老师渊博的学识、严谨务实的科研态度、敏锐的洞察力以及孜孜不倦的创新精神深深地影响着我、激励我不断进步。不仅如此，胡老师更教会我很多做人的道理，必将使我受益终生。在此，向胡老师表示我最衷心的感谢！

感谢李国希教授对我科研工作的指导与帮助！

感谢叶姣老师对我科研工作上以及生活上的指导与帮助，叶老师学识渊博，平易近人，在科研工作上给了我很多创造性的建议！

同时，感谢方毅林师姐及丁娜、唐玉婷、肖梦武、魏莉、林定、杨子辉、薛寒松、梁永东、谭英、陈爱羽、闫忠忠、元科阳、李康明、易阳杰、聂剑霞、谢永乐、张蒙等师弟师妹们在科研和生活中给予的支持和帮助；同时也感谢已毕业的彭俊梅、刘祈星、李婉、唐建刚等师兄师姐和窦杰、李全、张明明、孙晓潇、邱慎意等同学对我的帮助。大家和谐共处，互相鼓励，互相帮助，共同营造出一个积极上进的科研环境氛围。

最后，感谢我的家人这么多年来对我学业的支持！

伍智林

2016年5月26日 于岳麓山