

5-苄基-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

彭俊梅, 李婉, 申坤, 霍素芳, 叶姣, 胡艾希

(湖南大学化学化工学院, 长沙 410082)

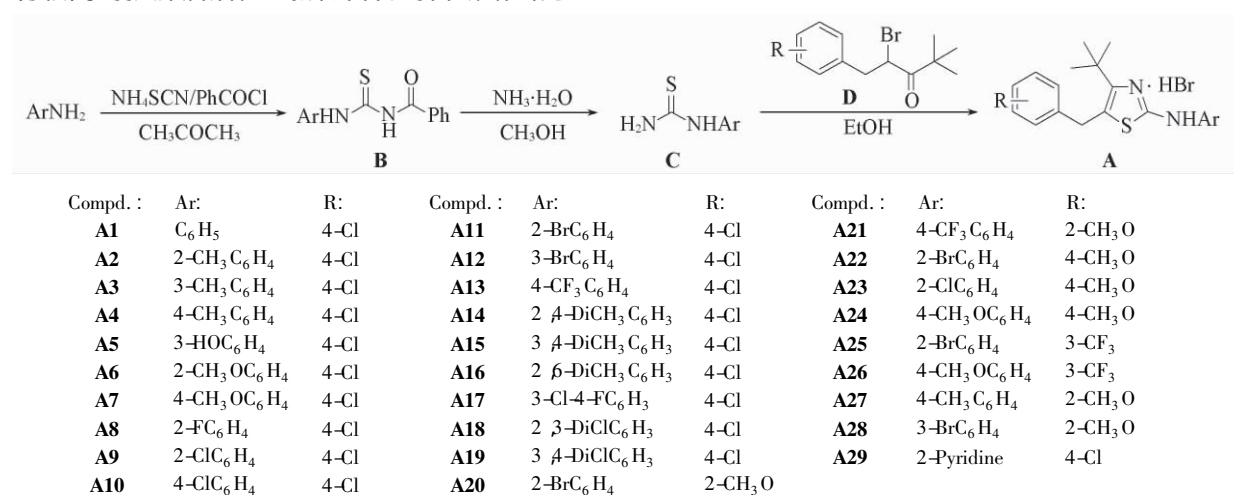
摘要 以芳香胺和 4-*tert*-丁基-2-芳氨基噻唑为原料, 设计合成了 29 种新的 5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑氢溴酸盐化合物; 其结构经 ^1H NMR 和元素分析等确证. 体外抗肿瘤活性测试结果表明, 化合物 **A4**, **A5**, **A12** 和 **A29** 对人非小细胞肺癌细胞 A549 的 IC_{50} 值分别为 0.016, 0.019, 0.019 和 0.026 $\mu\text{mol/mL}$, 与阳性对照物紫杉醇 (IC_{50} 值为 0.022 $\mu\text{mol/mL}$) 相当; 化合物 **A5**, **A7**, **A13**, **A14** 和 **A19** 对肝癌细胞 Bel7402 的 IC_{50} 值分别为 0.021, 0.021, 0.026, 0.014 和 0.029 $\mu\text{mol/mL}$, 与阳性对照物紫杉醇的 IC_{50} 值 (0.030 $\mu\text{mol/mL}$) 相近. 利用倒置显微镜和 Hoechst33342-PI 双染色法观察了细胞经化合物处理后的形态变化.

关键词 5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑; 合成; 抗肿瘤活性

中图分类号 O626

文献标志码 A

噻唑类化合物因具有杀虫、抗菌和抗病毒等生物活性^[1~4]引起研究者的关注. 邵玲等^[5]合成了 4-芳基-5-三唑基-2-亚胺噻唑类化合物, 其中部分化合物对苹果轮纹菌有较好的抗菌活性; 罗先福等^[6]研究了 4-(7-甲氧基-2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-5-基)-2-芳氨基噻唑的合成及杀虫活性; 夏林等^[7]报道了 4-(*N*-乙酰氨基)-3-(4-芳基噻唑-2-氨基)苯甲酸酯类化合物的合成, 测试了抗流感病毒和抗菌活性. 近年来, 噻唑类化合物在抗肿瘤方面的研究报道日渐增多^[8~13]. Westman 等^[14]报道了 5 种 5-苄基-4-甲基/三氟甲基-2-芳氨基噻唑的合成及抗癌活性; Hayakawa 等^[15]报道了 4-芳基-2-芳氨基噻唑类化合物的制备, 发现其对宫颈癌细胞的抑制作用较好. 本文选择芳香胺经中间体苯甲酰芳基硫脲(**B**)和 *N*-芳基硫脲(**C**), 再与 4-*tert*-丁基-2-芳氨基噻唑(**D**)环合合成 29 种 5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑氢溴酸盐(**A**), 并对新化合物进行了体外抗肿瘤活性测试. 测试结果表明, 部分化合物具有较高的抗肿瘤活性. 新化合物的合成路线见 Scheme 1.



Scheme 1 Synthetic routes of 5-benzyl-4-*tert*-butyl-2-arylaminothiazole hydrobromide

收稿日期: 2012-11-29.

基金项目: 湖南省自然科学基金重点项目(批准号: 07JJ3022)资助.

联系人简介: 胡艾希, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事药物化学研究. E-mail: axhu@hnu.edu.cn

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

VARIAN INOVA-400 型核磁共振仪(美国), 频率为 399.970 MHz, TMS 为内标; VARIO EL III 元素分析仪(德国); LCQ-Advantage 液相色谱-质谱联用仪(美国); RY-1 型熔点测定仪(天津市天分仪器厂); ZF-2 型三用紫外分析仪(上海市安亭电子仪器厂)。

所用试剂均为分析纯或工业品。

1.2 实验过程

苯甲酰芳基硫脲(B)和 *N*-芳基硫脲(C) 参照文献[16~18]方法合成; 4- μ -二甲基-1-芳基-2-溴戊-3-酮(D) 参照文献[19]方法合成。

5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑氢溴酸盐(A) 的合成: 将 2.0 mmol *N*-芳基硫脲、2.0 mmol 4- μ -二甲基-1-芳基-2-溴戊-3-酮和 30 mL 乙醇混合, 搅拌回流反应, 用 TLC [展开剂: *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯) = 8: 1] 监测反应进程, 反应完毕, 冷却、析出固体, 过滤, 用乙醇洗涤, 经干燥得化合物 A。化合物 A 的反应时间、收率、熔点和元素分析数据见表 1, ^1H NMR 数据见表 2。

Table 1 Reaction time, yields, melting points and elemental analysis data of compound A

Compd.	Time/h	Yield(%)	m. p. / $^{\circ}\text{C}$	Elemental analysis(% , calcd.)			
				C	H	N	S
A1	8.0	80.2	238—240	54.85(54.87)	5.09(5.06)	6.42(6.40)	7.29(7.32)
A2	7.0	67.3	198—200	55.85(55.82)	5.33(5.35)	6.21(6.20)	7.08(7.10)
A3	5.0	66.5	192—194	55.81(55.82)	5.32(5.35)	6.24(6.20)	7.10(7.10)
A4	5.0	87.1	181—183	55.83(55.82)	5.36(5.35)	6.18(6.20)	7.10(7.10)
A5	4.0	68.4	235—237	52.94(52.93)	4.91(4.89)	6.15(6.17)	7.06(7.07)
A6	5.0	60.3	232—235	53.88(53.91)	5.21(5.17)	5.97(5.99)	6.86(6.85)
A7	7.0	61.7	177—180	53.88(53.91)	5.21(5.17)	6.03(5.99)	6.80(6.85)
A8	6.5	87.8	214—216	52.74(52.70)	4.58(4.64)	6.21(6.15)	6.99(7.03)
A9	6.0	65.0	215—218	50.88(50.86)	4.44(4.48)	5.93(5.93)	6.81(6.79)
A10	14.0	93.7	240—242	50.90(50.86)	4.42(4.48)	5.90(5.93)	6.84(6.79)
A11	7.0	65.2	225—227	46.46(46.49)	4.12(4.10)	5.60(5.54)	6.16(6.21)
A12	5.5	69.2	195—198	46.53(46.49)	4.12(4.10)	5.50(5.54)	6.19(6.21)
A13	8.5	60.1	210—213	49.83(49.86)	4.22(4.18)	5.59(5.54)	6.28(6.34)
A14	6.0	84.5	198—200	56.79(56.72)	5.58(5.63)	6.03(6.01)	6.64(6.88)
A15	11.0	82.5	200—201	56.75(56.72)	5.60(5.63)	6.02(6.01)	6.87(6.88)
A16	9.5	63.8	243—245	56.68(56.72)	5.65(5.63)	6.04(6.01)	6.87(6.88)
A17	7.5	72.3	186—188	49.02(49.00)	4.15(4.11)	5.68(5.71)	6.51(6.54)
A18	9.0	71.3	214—218	47.37(47.41)	4.00(3.98)	5.59(5.53)	6.29(6.33)
A19	7.0	74.3	175—178	47.44(47.41)	3.93(3.98)	5.60(5.53)	6.28(6.33)
A20	6.0	71.5	164—167	49.17(49.23)	4.75(4.72)	5.51(5.47)	6.25(6.26)
A21	17.0	69.7	150—154	52.75(52.70)	4.79(4.82)	5.53(5.59)	6.44(6.40)
A22	13.0	65.5	175—177	49.21(49.23)	4.78(4.72)	5.45(5.47)	6.24(6.26)
A23	13.0	68.9	180—183	53.97(53.91)	5.15(5.17)	5.95(5.99)	6.85(6.85)
A24	15.5	71.3	154—157	57.00(57.02)	5.93(5.87)	6.01(6.04)	6.91(6.92)
A25	8.0	72.0	173—176	45.77(45.84)	3.89(3.85)	5.13(5.09)	5.82(5.83)
A26	6.5	69.5	87—89	52.66(52.70)	4.81(4.82)	5.62(5.59)	6.42(6.40)
A27	19.0	65.5	126—128	59.11(59.06)	6.05(6.08)	6.23(6.26)	7.18(7.17)
A28	25.5	63.8	163—166	49.17(49.23)	4.75(4.72)	5.49(5.47)	6.27(6.26)
A29	7.0	94.7	267—270	52.04(52.00)	4.77(4.82)	9.61(9.58)	7.29(7.31)

1.3 抗肿瘤活性测试

采用 MTT 法^[20 21] 测试了目标化合物对人非小细胞肺癌细胞 A549 和肝癌细胞 Bel7402 的体外抗肿瘤活性。取 2 种肿瘤细胞株(1×10^4 个/mL) 接种于 96 孔板, 于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱中培养 48 h 后, 分别加入 0.500 , 0.250 , 0.100 , 0.050 和 0.025 mmol/L 目标化合物的 DMSO 溶液, 每孔培养液总体积为 0.1 mL。吸取 0.1 mL 培养液, 设置细胞空白对照。每组样本设 4 个复孔, 于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱

Table 2 ^1H NMR data of compound A

Compd.	^1H NMR(CDCl_3 , 400 MHz) , δ
A1	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 13(s , 2H , CH ₂) , 7. 11 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 25—7. 29(m , 3H , C ₆ H ₅) , 7. 34 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 39—7. 43(m , 2H , C ₆ H ₅) , 11. 86(s , 1H , NH) , 13. 17(s , 1H , N ⁺ H)
A2	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 2. 44(s , 3H , CH ₃) , 4. 09(s , 2H , CH ₂) , 7. 08 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 21—7. 27(m , 4H , C ₆ H ₄) , 7. 31 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 27(s , 1H , NH) , 13. 31(s , 1H , N ⁺ H)
A3	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 2. 35(s , 3H , CH ₃) , 4. 12(s , 2H , CH ₂) , 7. 01—7. 08(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 10 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 26—7. 30(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 33 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 78(s , 1H , NH) , 13. 08(s , 1H , N ⁺ H)
A4	1. 54(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 2. 34(s , 3H , CH ₃) , 4. 10(s , 2H , CH ₂) , 7. 09 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 15 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 3 β -H(C ₆ H ₄)] , 7. 20 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 2 β -H(C ₆ H ₄)] , 7. 32 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 62(s , 1H , NH) , 13. 09(s , 1H , N ⁺ H)
A5	1. 53(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 11(s , 2H , CH ₂) , 6. 56(br , 1H , OH) , 6. 73—6. 81(m , 3H , C ₆ H ₄) , 7. 11 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 17—7. 21(m , 1H , C ₆ H ₄) , 7. 33 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 47(s , 1H , NH) , 12. 85(s , 1H , N ⁺ H)
A6	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 3. 91(s , 3H , OCH ₃) , 4. 12(s , 2H , CH ₂) , 6. 95—6. 98(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 10 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 22—7. 26(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 32 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 24(s , 1H , NH) , 13. 60(s , 1H , N ⁺ H)
A7	1. 53(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 3. 80(s , 3H , OCH ₃) , 4. 09(s , 2H , CH ₂) , 6. 91 [d , J = 9. 2 Hz , 2H , 3 β -H(C ₆ H ₄)] , 7. 09 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 20 [d , J = 9. 2 Hz , 2H , 2 β -H(C ₆ H ₄)] , 7. 32 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 39(s , 1H , NH) , 13. 05(s , 1H , N ⁺ H)
A8	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 12(s , 2H , CH ₂) , 7. 09 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 17—7. 23(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 29—7. 37 [m , 4H , C ₆ H ₄ , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 46(s , 1H , NH) , 13. 49(s , 1H , N ⁺ H)
A9	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 12(s , 2H , CH ₂) , 7. 09 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 2 β -H(4-ClC ₆ H ₄)] , 7. 16—7. 23(m , 2H , 2-ClC ₆ H ₄) , 7. 29—7. 36 [m , 4H , 2-ClC ₆ H ₄ , 3 β -H(4-ClC ₆ H ₄)] , 11. 47(s , 1H , NH) , 13. 50(s , 1H , N ⁺ H)
A10	1. 54(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 13(s , 2H , CH ₂) , 7. 10 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 22 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 3 β -H(NHC ₆ H ₄)] , 7. 34 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 37 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 2 β -H(NHC ₆ H ₄)] , 11. 97(s , 1H , NH) , 13. 19(s , 1H , N ⁺ H)
A11	1. 56(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 10(s , 2H , CH ₂) , 7. 09 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 19—7. 24(m , 1H , C ₆ H ₄) , 7. 32 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 35—7. 41(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 67—7. 70(m , 1H , C ₆ H ₄) , 11. 30(s , 1H , NH) , 13. 67(s , 1H , N ⁺ H)
A12	1. 54(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 15(s , 2H , CH ₂) , 7. 11 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 21—7. 28(m , 2H , C ₆ H ₄) , 7. 34 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 38—7. 45(m , 2H , C ₆ H ₄) , 12. 07(s , 1H , NH) , 13. 25(s , 1H , N ⁺ H)
A13	1. 56(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 17(s , 2H , CH ₂) , 7. 13 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 36 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 38 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 3 β -H(C ₆ H ₄)] , 7. 67 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 2 β -H(C ₆ H ₄)] , 12. 40(s , 1H , NH) , 13. 34(s , 1H , N ⁺ H)
A14	1. 54(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 2. 24(s , 6H , 2 \times CH ₃) , 4. 10(s , 2H , CH ₂) , 6. 98 [dd , J_1 = 8. 0 Hz , J_2 = 2. 0 Hz , 1H , 5-H(C ₆ H ₃)] , 7. 05 [d , J = 2. 0 Hz , 1H , 3-H(C ₆ H ₃)] , 7. 09 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 13 [d , J = 8. 0 Hz , 1H , 6-H(C ₆ H ₃)] , 7. 32 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 59(s , 1H , NH) , 13. 07(s , 1H , N ⁺ H)
A15	1. 53(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 2. 24(s , 6H , 2 \times CH ₃) , 4. 11(s , 2H , CH ₂) , 6. 98 [dd , J_1 = 8. 0 Hz , J_2 = 2. 0 Hz , 1H , 6-H(C ₆ H ₃)] , 7. 05 [d , J = 2. 0 Hz , 1H , 2-H(C ₆ H ₃)] , 7. 10 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 13 [d , J = 8. 0 Hz , 1H , 5-H(C ₆ H ₃)] , 7. 32 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 58(s , 1H , NH) , 13. 05(s , 1H , N ⁺ H)
A16	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 2. 30(s , 6H , 2 \times CH ₃) , 4. 04(s , 2H , CH ₂) , 7. 04 [d , J = 8. 0 Hz , 2H , 3 β -H(C ₆ H ₃)] , 7. 11 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 20 [t , J = 8. 0 Hz , 1H , 4-H(C ₆ H ₃)] , 7. 28 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 59(s , 1H , NH) , 13. 07(s , 1H , N ⁺ H)
A17	1. 54(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 14(s , 2H , CH ₂) , 7. 10 [d , J = 8. 8 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 18—7. 19(m , 2H , C ₆ H ₃) , 7. 33—7. 38 [m , 3H , C ₆ H ₃ , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 11. 95(s , 1H , NH) , 13. 19(s , 1H , N ⁺ H)
A18	1. 56(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 13(s , 2H , CH ₂) , 7. 10 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 26 [t , J = 8. 0 Hz , 1H , 5-H(C ₅ H ₃)] , 7. 32 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 35 [dd , J_1 = 8. 0 Hz , J_2 = 1. 2 Hz , 1H , 4-H(C ₅ H ₃)] , 7. 43 [dd , J_1 = 8. 0 Hz , J_2 = 1. 2 Hz , 1H , 6-H(C ₅ H ₃)] , 11. 50(s , 1H , NH) , 13. 73(s , 1H , N ⁺ H)
A19	1. 55(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 4. 15(s , 2H , CH ₂) , 7. 11 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 2 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 14 [dd , J_1 = 8. 0 Hz , J_2 = 2. 4 Hz , 1H , 6-H(C ₆ H ₃)] , 7. 35 [d , J = 8. 4 Hz , 2H , 3 β -H(ClC ₆ H ₄)] , 7. 40 [d , J = 2. 4 Hz , 1H , 2-H(C ₆ H ₃)] , 7. 47 [d , J = 8. 0 Hz , 1H , 5-H(C ₆ H ₃)] , 12. 16(s , 1H , NH) , 13. 25(s , 1H , N ⁺ H)
A20	1. 26(s , 9H , 3 \times CH ₃) , 3. 81(s , 3H , OCH ₃) , 4. 09(s , 2H , CH ₂) , 6. 86—7. 67(m , 8H , 2 \times C ₆ H ₄) , 11. 17(s , 1H , NH) , 13. 50(s , 1H , N ⁺ H)

Continued

Compd.	$^1\text{H NMR (CDCl}_3, 400 \text{ MHz), } \delta$
A21	1.58(s, 9H, 3 × CH ₃), 3.83(s, 3H, OCH ₃), 4.15(s, 2H, CH ₂), 6.91—7.65(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 12.30(s, 1H, NH), 13.15(s, 1H, N ⁺ H)
A22	1.57(s, 9H, 3 × CH ₃), 3.80(s, 3H, OCH ₃), 4.07(s, 2H, CH ₂), 6.86—7.68(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.22(s, 1H, NH), 13.57(s, 1H, N ⁺ H)
A23	1.56(s, 9H, 3 × CH ₃), 3.80(s, 3H, CH ₃ O), 4.07(s, 2H, CH ₂), 6.86—7.36(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.39(s, 1H, NH), 13.40(s, 1H, N ⁺ H)
A24	1.54(s, 9H, 3 × CH ₃), 3.79(s, 3H, OCH ₃), 3.80(s, 3H, OCH ₃), 4.04(s, 2H, CH ₂), 6.85—7.20(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.35(s, 1H, NH), 12.95(s, 1H, N ⁺ H)
A25	1.57(s, 9H, 3 × CH ₃), 4.21(s, 2H, CH ₂), 7.22—7.70(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.35(s, 1H, NH), 13.77(s, 1H, N ⁺ H)
A26	1.38(s, 9H, 3 × CH ₃), 3.78(s, 3H, OCH ₃), 4.23(s, 2H, CH ₂), 6.85—7.48(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.39(s, 1H, NH), 13.07(s, 1H, N ⁺ H)
A27	1.55(s, 9H, 3 × CH ₃), 2.32(s, 3H, CH ₃), 3.81(s, 3H, OCH ₃), 4.08(s, 2H, CH ₂), 6.87—7.32(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.56(s, 1H, NH), 12.91(s, 1H, N ⁺ H)
A28	1.56(s, 9H, 3 × CH ₃), 3.83(s, 3H, OCH ₃), 4.12(s, 2H, CH ₂), 6.90—7.42(m, 8H, 2 × C ₆ H ₄), 11.96(s, 1H, NH), 13.05(s, 1H, N ⁺ H)
A29	1.53(s, 9H, 3 × CH ₃), 4.20(s, 2H, CH ₂), 7.07—7.10(m, 1H, C ₅ H ₄ N), 7.13[d, J = 8.4 Hz, 2H, 2- <i>δ</i> -H(C ₆ H ₄)], 7.21—7.23(m, 1H, C ₅ H ₄ N), 7.34[d, J = 8.4 Hz, 2H, 3- <i>δ</i> -H(C ₆ H ₄)], 7.73—8.31(m, 2H, C ₅ H ₄ N), 12.85(s, 1H, NH), 13.28(s, 1H, N ⁺ H)

中培养 48 h 后, 每孔加入 20 μL 5 mg/mL 溴化二甲噻唑二苯四氮唑 (MTT), 继续培养 3~4 h. 去掉培养液, 加入 100 μL DMSO, 将培养板置于微孔板振荡器上振荡, 使深蓝色结晶溶解, 用 MTP-420 微孔板酶免比色仪测定 570 nm 处的吸光度值. 实验平行重复 3 次, 取其平均值.

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{正常 OD 值} - \text{加药 OD 值}}{\text{正常 OD 值}} \times 100\%$$

以试样浓度对数值与细胞抑制率作线性回归, 用 spss17.0 软件计算试样对细胞的半数抑制浓度 (IC₅₀ 值), 活性数据见表 3.

Table 3 IC₅₀ values of compound A against A549 and Bel7402 cells

Compd.	IC ₅₀ / ($\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$)		Compd.	IC ₅₀ / ($\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$)	
	A549	Bel7402		A549	Bel7402
A1	0.050	0.243	A16	0.175	0.189
A2	0.067	0.053	A17	0.047	0.039
A3	0.050	0.090	A18	0.129	0.075
A4	0.016	0.109	A19	0.033	0.029
A5	0.019	0.021	A20	0.183	0.105
A6	0.172	0.183	A21	0.103	0.134
A7	0.046	0.021	A22	0.155	0.119
A8	0.062	0.094	A23	0.093	0.090
A9	0.076	0.074	A24	0.080	0.080
A10	0.045	0.073	A25	0.211	0.094
A11	0.113	0.088	A26	0.135	0.047
A12	0.019	0.061	A27	0.223	0.175
A13	0.055	0.026	A28	0.333	0.282
A14	0.054	0.014	A29	0.026	0.039
A15	0.054	0.060	Taxinol	0.022	0.030

1.4 肿瘤细胞凋亡的形态观察

1.4.1 细胞形态学变化 将生长至对数期的状态良好的 A549 细胞分散于培养皿中, 设置空白对照组和化合物处理组, 空白对照组加 2 mL RPMI1640 培养基, 化合物处理组分别加入 2 mL 0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 的化合物 A4, A5, A12 和 A29 的溶液, 培养 24 h 后置于倒置显微镜下, 观察细胞的形态变化.

1.4.2 Hoechst33342-PI 双染色法检测细胞凋亡 将生长至对数期的状态良好的 A549 细胞分散于培养皿中, 分别加入 2 mL 0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 的化合物 A4, A5, A12 和 A29 的溶液, 培养 24 h 后弃去溶液, 分别用 2 mL PBS 洗涤, 加入 40 μL PI/Hoechst33342 染料混合液 [PI (40 ×) 25 μL + Hoechst33342

(100 ×) 10 μL + PBS 65 μL]混匀,于37 ℃放置15 min,以1000 r/min离心5 min,弃去上清液,加2滴PBS制成细胞悬液,涂片,在荧光显微镜下观察细胞的形态变化。

2 结果与讨论

2.1 化合物 A 的合成

以化合物 A10 的合成为例,考察了以甲醇、乙醇、乙腈、丙酮以及乙酸乙酯为溶剂对反应的影响,反应结果如表 4 所示。

Table 4 Influence of different solvents on the synthesis of compound A10

Entry	Solvent	Temp. /℃	Time/h	Yield(%)
1	CH ₃ OH	Reflux	14.0	89.6
2	EtOH	Reflux	14.0	93.7
3	CH ₃ COCH ₃	Reflux	16.0	87.6
4	CH ₃ CN	Reflux	26.5	71.3
5	EtOAc	Reflux	26.5	68.2

由表 4 可见,化合物 *N*-4-氯苯基取代硫脲和 4-*μ*-二甲基-1-(4-氯苯基)-2-溴戊-3-酮在极性溶剂中的反应时间较短、收率较高。在乙醇溶剂中反应时,收率为 93.7%。而文献[14]报道的 5-苄基-4-甲基/三氟甲基-2-芳氨基噻唑的制备时间长达 72 h,且需通过硅胶柱色谱分离,收率仅为 32.9%。

4-*μ*-二甲基-1-芳基-2-溴戊-3-酮与 *N*-芳基硫脲的反应选择以乙醇回流为条件,按摩尔比 1:1 进行环合,共得到 29 种 5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑氢溴酸盐新化合物。该反应条件温和、反应时间短、收率高且操作简单。

2.2 化合物的谱学表征

在化合物 A1 ~ A29 的 ¹H NMR 谱中,各峰的归属都比较容易确定。在 δ 1.26 ~ 1.58 处出现的单峰为噻唑环上叔丁基氢; δ 4.02 ~ 4.23 处出现的单峰为苄基亚甲基氢; δ 11.17 ~ 12.85 处出现的单峰为氨基上氢; δ 12.85 ~ 13.77 处出现的单峰为噻唑环 4-氮氢(以正离子形式存在); δ 6.73 ~ 7.70 处出现的多重峰为苯环氢。

2.3 抗肿瘤活性

目标化合物 A 对 A549 和 Bel7402 的体外抗肿瘤活性测试结果表明,化合物 A4, A5, A12 和 A29 对 A549 有较好的抑制效果,其 IC₅₀ 值分别为 0.016, 0.019, 0.019 和 0.026 μmol/mL,与阳性对照物紫杉醇(IC₅₀ = 0.022 μmol/mL)相当;化合物 A5, A7, A13, A14 和 A19 对 Bel7402 的 IC₅₀ 值分别为 0.021, 0.021, 0.026, 0.014 和 0.029 μmol/mL,与阳性对照物紫杉醇(IC₅₀ = 0.030 μmol/mL)相近。

2.4 肿瘤细胞形态学变化

采用倒置生物显微镜观察了对照空白组及经化合物处理后细胞的形态学变化。由图 1 可见,对照

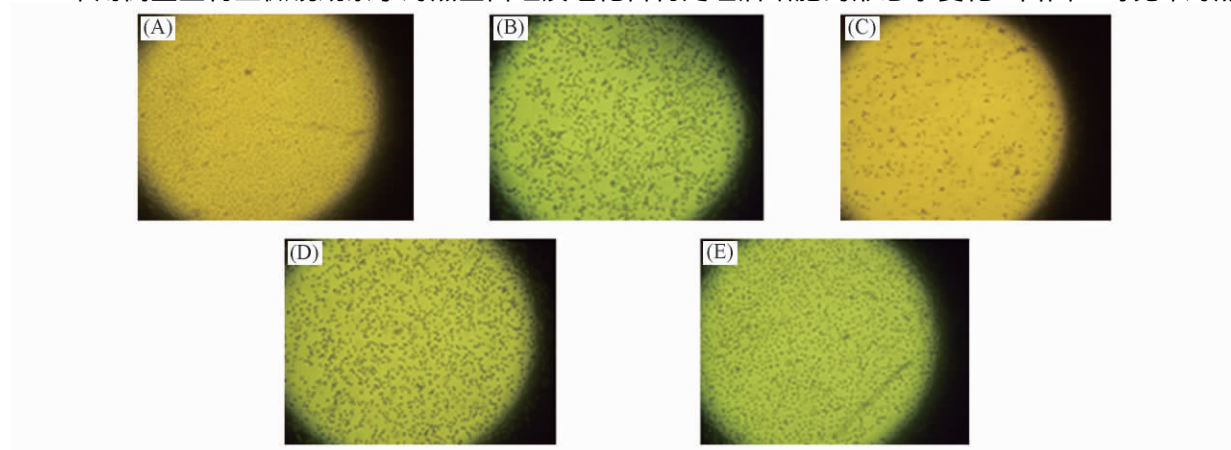


Fig. 1 Shape changes of A549 cells treated without compound A (A), treated with 0.1 μmol/mL compounds A4 (B), A5 (C), A12 (D) and A29 (E) for 24 h under inverted microscope

空白组细胞呈圆形,形态规则,状态良好,紧密并且贴壁生长;经化合物处理后的细胞萎缩,看不清其结构,并呈碎片状漂浮于溶液表面。

采用 Hoechst33342-PI 双染色法,在荧光显微镜下观察经化合物处理后的 A549 的形态学变化。由图 2 可见,化合物 A4, A5, A12 和 A29 的溶液中细胞呈现强蓝色荧光,染色质浓缩成新月形或者肾型,体积变小,有染色碎片出现,还伴随有凋亡小体的出现;在绿光下可观察到在出现强蓝色荧光的位置对应地出现弱红光,这与细胞凋亡的特征完全相符。而部分出现弱蓝光的位置在绿光激发下无红光出现,且细胞形态正常,则为正常细胞。化合物 A29 的溶液在绿光激发下呈现红色,且出现明显的染色质凝集现象,凋亡细胞较多,且其在紫外激发下呈亮蓝光的位置,在绿光激发下呈暗红色,其细胞凋亡现象较明显。通过观察还发现,在绿光下细胞为亮红色,说明有些细胞呈坏死状态。

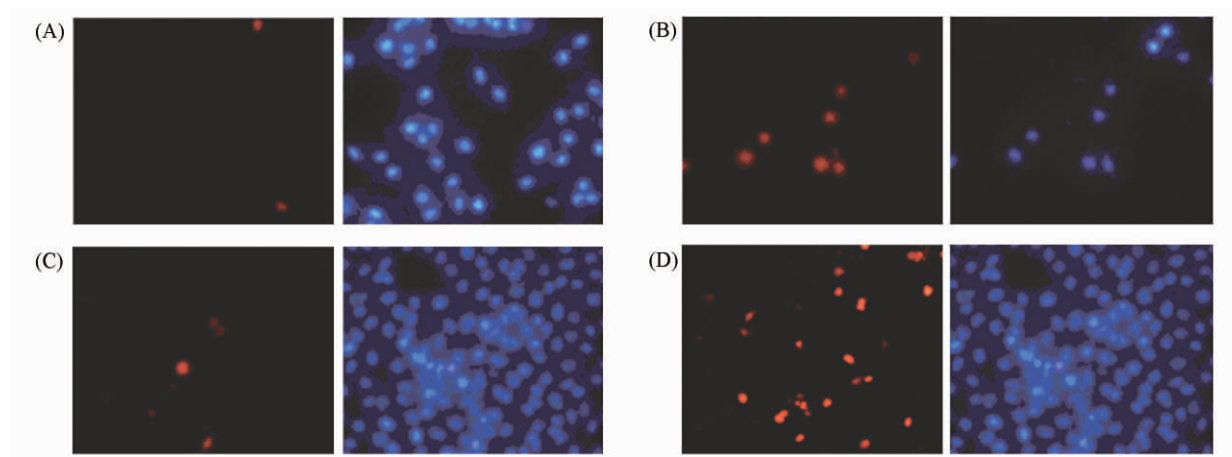


Fig. 2 Shape changes of A549 cells treated with compounds A4(A) , A5(B) , A12(C) and A29(D) after staining with Hoechst33342-PI under fluorescence microscope

3 结 论

芳香胺经中间体苯甲酰芳基硫脲和 *N*-芳基硫脲反应,再与 4-*A*-二甲基-1-芳基-2-溴戊-3-酮环合制得 29 种 5-苄基-4-叔丁基-2-芳氨基噻唑氢溴酸盐,化合物结构经元素分析和 ^1H NMR 确证。体外抗肿瘤活性测试结果表明,部分化合物对 A549 和 Bel7402 的抑制活性与阳性对照物相当。本论文的研究结果为开发具有更好抗肿瘤活性的噻唑类化合物提供了一定的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Hu D. Y. , Song B. A. , He W. , Yang S. , Jin L. H. , *Chin. J. Synth. Chem.* , **2006** , 14(4) , 319—328(胡德禹, 宋宝安, 何伟, 杨松, 金林红. 合成化学, **2006** , 14(4) , 319—328)
- [2] Hu A. X. , He L. M. , Dong M. Y. , Zhang J. Y. , Ou X. M. , *Chem. J. Chinese Universities* , **2008** , 29(4) , 739—744(胡艾希, 贺丽敏, 董敏宇, 张建宇, 欧晓明. 高等学校化学学报, **2008** , 29(4) , 739—744)
- [3] Marcantonio K. M. , Frey L. F. , Murry J. A. , Chen C. Y. , *Tetrahedron Lett.* , **2002** , 43(49) , 8845—8848
- [4] Jackson A. , Heys G. , Grayson J. I. , Clarke R. , *Preparation of Substituted Thiazoles* , US 5705652 , 1996-09-09
- [5] Shao L. , Zhang Q. , Zhou X. , Jin Z. , Liu J. B. , Fang J. X. , *Chem. J. Chinese Universities* , **2007** , 28(2) , 270—273(邵玲, 张青, 周欣, 金钟, 刘建兵, 方建新. 高等学校化学学报, **2007** , 28(2) , 270—273)
- [6] Luo X. F. , Hu A. X. , Wang Y. , Ye J. , Wang X. G. , Ou X. M. , *Chem. J. Chinese Universities* , **2011** , 32(12) , 2800—2805(罗先福, 胡艾希, 王宇, 叶姣, 王晓光, 欧晓明. 高等学校化学学报, **2011** , 32(12) , 2800—2805)
- [7] Xia L. , Hu A. X. , Peng J. M. , *Chin. J. Org. Chem.* , **2010** , 30(4) , 558—563(夏林, 胡艾希, 彭俊梅. 有机化学, **2010** , 30(4) , 558—563)
- [8] Tokarski J. S. , Newitt J. A. , Chang C. Y. J. , *Cancer Res.* , **2006** , 66(11) , 5790—5797
- [9] Manetti F. , Falchi F. , Crespan E. , Schenone S. , Maga G. , Botta M. , *Bioorg. Med. Chem. Lett.* , **2008** , 18 , 4328—4331
- [10] Bursavich M. G. , Parker D. P. , Willardsen J. A. , Gao Z. H. , Davis T. , Ostanin K. , Robinson R. , Peterson A. , Cimbara D. M. , Zhu J. F. , *Bioorg. Med. Chem. Lett.* , **2010** , 20 , 1677—1679

- [11] Borzilleri R. M. , Bhide R. S. , Barrish J. C. , *J. Med. Chem.* , **2006** , 49(13) , 3766—3769
- [12] Alain M. , Marco C. , Camile W. , Bruno G. , 2-(3-Substituted-aryl) amino-4-aryl-thiazoles as Tryrosine Kinase Inhibitors , WO 2005073225 , 2005-08-11
- [13] Furet P. , Bold G. , Meyer T. , Roesel J. , Guagnano V. , *J. Med. Chem.* , **2006** , 49(15) , 4451—4454
- [14] Westman J. , Kurz G. , *Use of Thiazole Derivatives and Analogues in the Treatment of Cancer* , CN 101277692A , 2008-10-01
- [15] Hayakawa I. , Kanno Y. , Azuma T. , *Preparation of Aminozoles as Antitumor Agents* , JP 2003313175 , 2003-11-06
- [16] Wei T. B. , Lin Q. , Zhang Y. M. , *Synth. Commun.* , **2004** , 34(1) , 181—186
- [17] Hay M. P. , Turcotte S. , Flanagan J. U. , *J. Med. Chem.* , **2010** , 53(2) , 787—797
- [18] Rasmussen C. R. , Villani F. J. J. , Weaner L. E. , *Synthesis* , **1988** , 6 , 456—459
- [19] Hu A. X. , Cao G. , *Tetrahedron: Asymmetry* , **2011** , 22(11) , 1332—1336
- [20] Xiong Y. , Wang K. W. , Pan Y. J. , Sun H. X. , *Chem. J. Chinese Universities* , **2006** , 27(11) , 2101—2105(熊轶 , 王奎武 , 潘远江 , 孙红祥. 高等学校化学学报 , **2006** , 27(11) , 2101—2105)
- [21] Shao H. J. , Qing C. , Wang F. , Zhang Y. L. , Luo D. Q. , Liu J. K. , *J. Antibiot. (Tokyo)* , **2005** , 58 , 828—321

Synthesis , Characterization and Antitumor Activities of 5-Benzyl-4-*tert*-butyl-*N*-arylthiazol-2-amine Hydrobromide

PENG Jun-Mei , LI Wan , SHEN Kun , HUO Su-Fang , YE Jiao , HU Ai-Xi*

(School of Chemistry and Chemical Engineering , Hunan University , Changsha 410082 , China)

Abstract Recently , more and more thiazole compounds were reported to exhibit antitumor activities. Twenty-nine new 5-benzyl-4-*tert*-butyl-*N*-arylthiazol-2-amine hydrobromides were synthesized from arylamino and 2-bromo-4,4-dimethyl-1-arylpentan-3-one. Their structures were confirmed by ^1H NMR spectra and elemental analysis. The data of antitumor activities *in vitro* indicated that the IC_{50} values of compounds **A4** , **A5** , **A12** and **A29** against A549 cells were 0.016 , 0.019 , 0.019 and 0.026 $\mu\text{mol/mL}$, respectively , similar to Taxinol (IC_{50} value was 0.022 $\mu\text{mol/mL}$) . The IC_{50} values of compounds **A5** , **A7** , **A13** , **A14** and **A19** against Bel7402 were 0.021 , 0.021 , 0.026 , 0.014 and 0.029 $\mu\text{mol/mL}$, respectively , similar to Taxinol(IC_{50} value was 0.030 $\mu\text{mol/mL}$) . The shape changes of A549 cells were observed by inverted microscope and fluorescence microscope after staining with Hoechst 33342-PI.

Keywords 5-Benzyl-4-*tert*-butyl-*N*-arylthiazol-2-amine hydrobromide; Synthesis; Antitumor activity

(Ed. : P, H, N, K)