

医药与日化原料

# 含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮类化合物的合成及其抗增殖活性

黄婷<sup>1,2</sup>, 孙安霞<sup>1</sup>, 崔益铭<sup>1</sup>, 张浩阳<sup>1</sup>

(1. 安康学院 化学化工学院, 陕西 安康 725000; 2. 陕西省富硒食品质量监督检验中心, 陕西 安康 725000)

**摘要:** 运用药物分子片段原理及拼合原理, 设计并以 70.1%~83.9% 的收率合成了 10 个含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮类衍生物, 并对该类化合物的体外抗肿瘤细胞增殖活性进行初步研究。通过 <sup>1</sup>HNMR、<sup>13</sup>CNMR 和 HRMS (ESI) 确证了目标化合物的结构。以人肺腺癌细胞株 A549、人肝癌细胞株 HepG2 和人前列腺癌细胞株 PC-3 3 种肿瘤细胞为测试细胞株, 采用四甲基偶氮唑盐 (MTT) 法评价了目标化合物的抗增殖活性。结果表明, 10 个化合物对 3 种肿瘤细胞株均具有很好的抑制活性。其中, 3-{4-[4-(2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(3,4-二甲氧基苯基)丙基-2-烯-1-酮 (VIIh) 活性突出, 对 A549、HepG2 和 PC-3 3 种肿瘤细胞株的半抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 分别为(0.87±0.05)、(2.43±0.16)和(2.02±0.10) μmol/L, 优于阳性对照药索拉非尼。

**关键词:** 药物分子设计; 查尔酮; 噻吩并[3,2-*d*]嘧啶; 合成; 抗增殖活性; 医药与日化原料

**中图分类号:** R914.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 02-0427-06

## Synthesis and antiproliferative activity of chalcone derivatives bearing thieno[3,2-*d*]pyrimidine moiety

HUANG Ting<sup>1,2</sup>, SUN Anxia<sup>1</sup>, CUI Yiming<sup>1</sup>, ZHANG Haoyang<sup>1</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Ankang University, Ankang 725000, Shaanxi, China; 2. Quality Supervision and Inspection Centre of Se-enriched Food of Shaanxi Province, Ankang 725000, Shaanxi, China)

**Abstract:** Ten chalcone derivatives bearing thieno[3,2-*d*]pyrimidine moiety with yield ranging from 70.1%~83.9% were successfully designed and synthesized based on the principle of drug molecular fragment and splicing, with their structures confirmed by <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR and HRMS (ESI). The compounds were further evaluated for their *in vitro* antitumor activity via methylthiazole tetrazolium (MTT) assay using human lung adenocarcinoma (A549) cell lines, human liver cancer (HepG2) cell lines and human prostate cancer (PC-3) cell lines as model lines. The results showed that all target compounds showed excellent antiproliferative activities against all tested cancer cell lines. Among them, 3-{4-[4-(2-chlorothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)piperazine-1-carbonyl]phenyl}-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propyl-2-ene-1-one exhibited remarkable inhibitory activity against A549, HepG2 and PC-3 cell lines with half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of (0.87±0.05), (2.43±0.16) and (2.02±0.10) μmol/L, respectively, which were more potent than the positive control sorafenib.

**Key words:** drug molecular design; chalcone; thieno[3,2-*d*]pyrimidine; synthesis; antiproliferative activity; drug and cosmetic materials

收稿日期: 2023-03-06; 定用日期: 2023-05-08; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230167

基金项目: 陕西省创新型人才支持计划项目 (陕人 64015 号); 陕西省研究生教育教学改革重点课题 (陕教合 18019); 陕西省重点实验室项目 (19JS003); 陕西省青年创新团队项目 (21JP002); 安康市秦创原“科学家+工程师”队伍建设项目 (2022AKKXJ-03); 国家级大学生创新创业项目 (202211397023); 陕西省富硒食品质量监督检验中心研究成果 (2023AYPT05)

作者简介: 黄婷 (1983—), 女, 副教授, E-mail: tingyu2008jh@126.com.



m. p. 102~104 °C (文献<sup>[17]</sup>值: 101~103 °C); MS (ESI),  $m/Z$ :  $C_6H_4N_2O_2S[M+H]^+$ 实测值(理论值): 169.10 (168.00)。

### 1.2.2 2,4-二氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶(III)的合成

取化合物II 9.62 g (57.20 mmol), 在搅拌下缓慢加入到70 mL 三氯氧磷中, 升温至回流反应12 h, 自然降至室温, 反应混合物缓慢加入到搅拌的冰水中, 析出大量固体, 过滤, 滤饼水洗至中性, 滤饼于50 °C减压干燥24 h后得灰白色固体9.23 g, 产率78.7%, m. p. 137~139 °C (文献<sup>[18]</sup>值: 138.8~139.3 °C); MS (ESI),  $m/Z$ :  $[M+H]^+$ 实测值(理论值): 205.10 (203.93)。

### 1.2.3 2-氯-4-(1-哌嗪基)噻吩并[3,2-*d*]嘧啶(IV)的合成

将化合物III 9.00 g (43.89 mmol)和无水哌嗪26.46 g (307.23 mmol)加入到150 mL 乙腈中, 升温至回流反应8 h。反应完毕, 减压蒸发除去溶剂, 残余物加入100 mL 二氯甲烷和1500 mL 水进行萃取, 分离有机层, 水层再用(2×100 mL)二氯甲烷萃取, 合并有机层。有机层经过多次水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压蒸发除去溶剂得粗产物。粗产物经硅胶柱层析分离 [ $V$ (二氯甲烷):  $V$ (甲醇)=10:1]得微黄色固体7.46 g, 产率66.7%; <sup>1</sup>HNMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 8.32 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J=5.6$  Hz, 1H), 3.68 (m, 4H), 3.43 (m, 4H), 1.29 (br, 1H); MS (ESI),  $m/Z$ :  $[M+H]^+$ 实测值(理论值)为255.10 (254.05),  $[M+Na]^+$ 实测值(理论值)为277.10 (277.03)。

### 1.2.4 4-(3-氧代-3-取代苯基丙基)苯甲酸类化合物(VI)的合成

取4-甲酰基苯甲酸(V) 1.50 g (10.00 mmol)和苯乙酮及其衍生物10.50 mmol加入到80 mL 甲醇中, 搅拌溶解后向该溶液中再缓慢加入1.0 mol/L的NaOH溶液20 mL, 室温反应12 h, 反应完毕。将反应液倒入50 mL 水中, 用1.0 mol/L HCl调节pH为3.0左右, 溶液中析出大量固体, 过滤, 滤饼水洗至洗出液近中性, 于50 °C减压干燥24 h, 得白色固体VIa~j<sup>[19-21]</sup>。

### 1.2.5 3-{4-[4-(2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-取代苯基丙基-2-烯-1-酮类化合物(VII)的合成

分别将化合物IV 0.31 g (1.50 mmol)、VIa~j (1.80 mmol)、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU) 0.80 g (2.10 mmol)和三乙胺(TEA) 0.20 g (3.00 mmol)加入10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中, 室温搅拌反应12 h。将反应液倒入质量分数为20%的碳酸钠溶液(50 mL)中, 加入二氯甲烷萃取3次, 每次30 mL, 合并有机相, 有机相用质量分数20%的碳酸钠溶液洗涤3次, 每

次30 mL, 然后有机相再用饱和食盐水洗涤3次, 每次50 mL, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 减压蒸发除去溶剂, 得粗产物, 粗产物经甲醇重结晶过滤后, 于50 °C减压干燥24 h, 得淡黄色固体, 即为目标化合物VIIa~j。

3-{4-[4-(2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-苯基丙基-2-烯-1-酮(VIIa): 淡黄色固体, 收率73.5%, m. p. 193~195 °C; <sup>1</sup>HNMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 8.34 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 8.20 (m, 2H, 苯环-H), 8.05 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 8.02 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.80 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.70 (t,  $J=7.4$  Hz, 1H, 苯环-H), 7.59 (m, 4H, 苯环-H), 7.43 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 4.05 (br, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H); <sup>13</sup>CNMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 189.61, 169.20, 163.12, 158.58, 156.38, 143.48, 137.90, 137.72, 136.43, 136.17, 133.81, 129.43, 129.34, 129.09, 128.21, 124.21, 123.67, 113.24, 48.85, 47.57; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{26}H_{22}ClN_4O_2S[M+H]^+$ 理论值489.1152, 实测值489.1150。

3-{4-[4-(2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(4-甲氧基苯基)丙基-2-烯-1-酮(VIIb): 淡黄色固体, 收率71.9%, m. p. 212~214 °C; <sup>1</sup>HNMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 8.34 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 8.21 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H, 苯环-H), 8.05 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 8.01 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.76 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.56 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.43 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 7.11 (d,  $J=8.9$  Hz, 2H, 苯环-H), 4.06 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (m, 5H, 哌嗪-H, —OCH<sub>3</sub>), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H); <sup>13</sup>CNMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 187.76, 169.23, 163.83, 163.11, 158.58, 156.38, 142.61, 137.50, 136.61, 136.16, 131.52, 130.80, 129.30, 128.19, 124.20, 123.67, 114.56, 113.23, 56.09, 46.86, 45.46; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{27}H_{24}ClN_4O_3S[M+H]^+$ 理论值519.1258, 实测值519.1255。

3-{4-[4-(2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(4-甲基苯基)丙基-2-烯-1-酮(VIIc): 淡黄色固体, 收率70.1%, m. p. 188~191 °C; <sup>1</sup>HNMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 8.33 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 8.11 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 8.04 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 8.01 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.78 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.56 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.40 (m, 3H, 噻吩-H, 苯环-H), 4.06 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H), 2.42 (s, 3H, —CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>),  $\delta$ : 189.00, 169.21, 163.11, 158.57, 156.38, 144.27, 143.10, 137.61, 136.50,

136.15, 135.40, 129.89, 129.37, 129.24, 128.19, 124.20, 123.68, 113.23, 46.94, 45.35, 21.70; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{27}H_{24}ClN_4O_2S[M+H]^+$  理论值 503.1308, 实测值 503.1305。

3-{4-[4-(2-氯嘧吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(4-氟苯基)丙基-2-烯-1-酮(VII d): 淡黄色固体, 收率 75.2%, m. p. 185~187 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.34 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 8.28 (m, 2H, 苯环-H), 8.07 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 8.02 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.81 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.57 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.44 (m, 3H, 嘧吩-H, 苯环-H), 4.05 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 188.13, 169.19, 165.63 (d,  $J=252.3$  Hz), 163.11, 158.58, 156.38, 143.65, 137.76, 136.39, 136.17, 134.61, 132.13 (d,  $J=9.3$  Hz), 129.47, 128.20, 124.21, 123.42, 116.36 (d,  $J=21.8$  Hz), 113.23, 52.47, 46.17; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{26}H_{21}ClFN_4O_2S[M+H]^+$  理论值 507.1058, 实测值 507.1056。

3-{4-[4-(2-氯嘧吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(4-溴苯基)丙基-2-烯-1-酮(VII e): 淡黄色固体, 收率 80.3%, m. p. 200~201 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.33 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 8.14 (d,  $J=8.5$  Hz, 2H, 苯环-H), 8.03 (m, 3H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.82 (m, 3H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.57 (d,  $J=8.1$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.43 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 4.07 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 188.75, 169.18, 163.11, 158.57, 156.38, 143.98, 137.83, 136.87, 136.33, 136.16, 132.39, 131.12, 129.52, 128.20, 127.99, 124.20, 123.31, 113.23, 46.96, 45.36; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{26}H_{21}BrClN_4O_2S[M+H]^+$  理论值 567.0257, 实测值 567.0254。

3-{4-[4-(2-氯嘧吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(2-氟苯基)丙基-2-烯-1-酮(VII f): 淡黄色固体, 收率 72.8%, m. p. 168~170 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.33 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 7.92 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.82 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.70 (m, 2H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.57 (m, 3H, 苯环-H), 7.40 (m, 3H, 嘧吩-H, 苯环-H), 4.04 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.83 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.60 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 189.33, 169.10, 163.11, 160.78 (d,  $J=251.9$  Hz), 156.37, 143.99, 137.96, 136.08 (d,  $J=22.8$  Hz), 134.93, 131.08, 129.35, 128.30, 127.22 (d,  $J=13.0$  Hz), 127.09, 125.41, 124.20, 117.18 (d,  $J=22.2$  Hz), 113.22, 47.55, 45.38; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{26}H_{21}ClFN_4O_2S[M+H]^+$  理论值 507.1058, 实测值 507.1060。

3-{4-[4-(2-氯嘧吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(3-氯苯基)丙基-2-烯-1-酮(VII g): 淡黄色固体, 收率 81.4%, m. p. 178~180 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.34 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 8.25 (t,  $J=1.8$  Hz, 1H, 苯环-H), 8.15 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H, 苯环-H), 8.06 (m, 3H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.84 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.77 (m, 1H, 苯环-H), 7.63 (t,  $J=7.9$  Hz, 1H, 苯环-H), 7.57 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.43 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 4.05 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 193.12, 173.92, 167.86, 163.32, 161.13, 149.03, 144.46, 142.65, 141.05, 139.11, 138.26, 136.06, 134.44, 132.92, 129.01, 128.90, 128.03, 127.91, 117.98, 50.08, 46.60; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{26}H_{21}Cl_2N_4O_2S[M+H]^+$  理论值 523.0762, 实测值 523.0760。

3-{4-[4-(2-氯嘧吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(3,4-二甲氧基苯基)丙基-2-烯-1-酮(VII h): 淡黄色固体, 收率 77.2%, m. p. 175~177 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.34 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 8.06 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 8.02 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.96 (dd,  $J=8.5$ 、1.9 Hz, 1H, 苯环-H), 7.76 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 7.63 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H, 苯环-H), 7.56 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.43 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 7.13 (d,  $J=8.5$  Hz, 1H, 苯环-H), 4.05 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.89 (s, 3H, —OCH<sub>3</sub>), 3.87 (s, 3H, —OCH<sub>3</sub>), 3.86~3.74 (m, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 192.50, 173.99, 167.87, 163.34, 161.13, 158.59, 154.06, 142.26, 141.37, 135.59, 134.14, 132.98, 128.41, 124.53, 121.35, 117.99, 117.99, 116.17, 61.05, 60.84, 51.63, 46.62; HRMS (ESI),  $m/Z$ :  $C_{28}H_{26}ClN_4O_4S[M+H]^+$  理论值 549.1363, 实测值 549.1365。

3-{4-[4-(2-氯嘧吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(2,4-二氯苯基)丙基-2-烯-1-酮(VII i): 淡黄色固体, 收率 83.9%, m. p. 176~179 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.47 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H, 苯环-H), 8.34 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 8.15 (dd,  $J=8.4$ 、2.1 Hz, 1H, 苯环-H), 8.09 (d,  $J=15.6$  Hz, 1H, 查尔酮-H), 8.05 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.87 (m, 2H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.57 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.43 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 嘧吩-H), 4.05 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.84 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.61 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 187.53, 169.14, 163.12, 158.58, 156.38, 145.54, 144.60, 138.03, 137.99, 136.65, 136.24, 136.18, 132.47, 131.70, 131.01, 129.70,

129.10, 128.18, 124.21, 123.03, 113.12, 50.39, 46.15; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $C_{26}H_{20}Cl_3N_4O_2S[M+H]^+$ 理论值 557.0373, 实测值 557.0371。

3-{4-[4-(2-氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶-4-基)哌嗪-1-羰基]苯基}-1-(2,6-二氯-3-氟苯基)丙基-2-烯-1-酮(VIIj): 淡黄色固体, 收率 78.8%, m. p. 230~231 °C;  $^1H$ NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 8.33 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 7.92 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H, 苯环-H), 7.68 (m, 2H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.52 (m, 3H, 查尔酮-H, 苯环-H), 7.42 (d,  $J=5.5$  Hz, 1H, 噻吩-H), 7.29 (d,  $J=16.4$  Hz, 1H, 苯环-H), 4.05 (m, 4H, 哌嗪-H), 3.82 (br, 2H, 哌嗪-H), 3.57 (br, 2H, 哌嗪-H);  $^{13}C$ NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ : 191.76, 168.99, 163.11, 157.01 (d,  $J=249.3$  Hz), 158.56, 156.37, 148.44, 139.29, 138.63, 136.13, 135.42, 130.69 (d,  $J=7.4$  Hz), 129.78, 128.24, 127.24, 126.06, 124.19, 119.16 (d,  $J=22.9$  Hz), 118.54 (d,  $J=20.7$  Hz), 113.22, 46.79, 45.34; HRMS (ESI),  $m/z$ :  $C_{26}H_{19}Cl_3FN_4O_2S[M+H]^+$ 理论值 575.0278, 实测值 575.0275。

### 1.3 MTT 法体外抗肿瘤活性测试

选取对数生长期的人肺腺癌细胞株 A549、人肝癌细胞株 HepG2 和人前列腺癌细胞株 PC-3 (中国科学院上海细胞库, 本实验室传代保存), 采用 MTT 法<sup>[12,19]</sup>测试目标化合物体外抗肿瘤细胞增殖活性。将处于对数生长期的细胞以每孔  $5 \times 10^3$  个接种于 96 孔板中, 放入 37 °C、饱和湿度、体积分数为 5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。次日, 吸弃上清液, 每孔加入 200  $\mu$ L 不同浓度梯度的索拉非尼和目标化合物 VIIa~j。72 h 后, 向每个孔中加入 20  $\mu$ L 质量浓度为 5 g/L 的 MTT, 继续在 37 °C 下培养 4 h, 吸弃上清液, 然后每孔加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砷 (DMSO), 置于摇床振荡混匀, 使 MTT 甲瓚结晶充分溶解。在酶标仪 (参考波长 630 nm, 检测波长 490 nm) 测定吸光度 ( $A$ ), 计算目标化合物对肿瘤细胞的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 目标化合物的合成及结构确证

目标化合物的合成路线中以 3-氨基噻吩-2-羧酸甲酯 (I) 为原料, 在 190 °C 下与脲发生环合反应, 得到 2,4-二羟基噻吩并[3,2-*d*]嘧啶 (II), 化合物 II 与三氯氧磷回流, 经氯代反应生成 2,4-二氯噻吩并[3,2-*d*]嘧啶 (III), 化合物 III 与无水哌嗪在回流的乙腈中发生取代反应得到 2-氯-4-(1-哌嗪基)噻吩并[3,2-*d*]嘧啶 (IV); 不同取代苯乙酰与 4-甲酰基苯甲酸 (V) 在 NaOH 催化下, 制备了系列中间体 4-(3-氧代-3-取代苯基丙基)苯甲酸 (VIa~j); 最后,

化合物 IV 分别与化合物 VIa~j 在 HATU、三乙胺催化下, 在 DMF 中经酰胺化反应, 制备了 10 个含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮类目标化合物 VIIa~j。

化合物 VIIa~j 的结构经  $^1H$ NMR、 $^{13}C$ NMR 和 HRMS (ESI) 确证。以 VIIa 为例, 在其  $^1H$ NMR 谱图中, 噻吩并[3,2-*d*]嘧啶母核上的 2 个 H 化学位移分别为  $\delta$  8.34、7.43。哌嗪上的 4 个 H 化学位移分别为  $\delta$  4.05、3.84、3.61。查尔酮结构的烯键上的 2 个 H 化学位移分别为  $\delta$  8.05 和 7.80, 并且其耦合常数  $J=15.6$  Hz, 因其  $J > 15.00$  Hz 表明该产物查尔酮部分烯键的双键呈 *E* 式构型<sup>[22]</sup>。除上述 H 的化学位移外, 其余为查尔酮部分苯环上氢的化学位移。在  $^{13}C$ NMR 谱中可观察到, 噻吩并[3,2-*d*]嘧啶母核中的 6 个碳信号分别为  $\delta$  163.12、158.58、156.38、136.17、124.21 和 113.24。其中,  $\delta$  163.12 和 158.58 为嘧啶 2 位和 4 位碳的化学位移。 $\delta$  48.85 和 47.57 为哌嗪上碳的化学位移。查尔酮结构的酮羰基和酰胺羰基的化学位移为  $\delta$  189.61 和 169.20。除上述碳的化学位移外, 其余为查尔酮部分苯环和烯键上碳的化学位移。在 MS 谱中, 观察到  $m/z = 489.1150([M+H]^+, 100\%)$  的峰值, 与 VIIa 的相对分子质量相符。根据上述  $^1H$ NMR、 $^{13}C$ NMR 和 HRMS (ESI) 表征, 最终确证其结构为目标化合物 VIIa, 类似的其他化合物的结构也得到确证。

### 2.2 目标化合物的抗肿瘤活性

采用 MTT 法对所合成的 10 个含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮类化合物体外对人肺腺癌细胞株 A549、人肝癌细胞株 HepG2 和人前列腺癌细胞株 PC-3 的抗增殖活性进行了测试, 结果见表 1。由表 1 可知, 该类化合物对 A549、HepG2 和 PC-3 肿瘤细胞株均显示出较好的体外抗增殖活性, 且化合物 VIIb 和 VIIh 抑制 A549 和 HepG2 肿瘤细胞的活性均优于阳性对照药索拉非尼, 化合物 VIIc 和 VIIh 抑制 PC-3 肿瘤细胞的活性均优于阳性对照药索拉非尼。化合物 VIIh 对 A549、HepG2 和 PC-3 肿瘤细胞株表现出相对较好的活性,  $IC_{50}$  分别为 (0.87 $\pm$ 0.05)、(2.43 $\pm$ 0.16) 和 (2.02 $\pm$ 0.10)  $\mu$ mol/L, 均优于阳性对照药索拉非尼。以上结果表明, 将查尔酮和噻吩并[3,2-*d*]嘧啶结构拼接到一个分子中, 保持了较好的抗肿瘤活性。初步构效关系研究表明, 末端苯环上 R 取代基对目标化合物的活性有一定的影响: 当 R 为供电子基团 (如 4-甲基取代的化合物 VIIc 和 4-甲氧基取代的化合物 VIIb) 时, 有利于提高目标化合物的抗肿瘤活性, 当 R 为 3,4-二甲氧基时 (VIIh) 活性最好; 当 R 为吸电子基团时, 目标化合物的抗肿瘤活性降低 (如 4-溴取代的化合物 VIIe 和 3-氯取代的化合物 VIIg)。

表 1 目标化合物对 A549、HepG2 和 PC-3 肿瘤细胞株的抗增殖活性

Table 1 *In vitro* antiproliferative activities of target compounds against A549, HepG2 and PC-3 cell lines

化合物	R	IC <sub>50</sub> /(μmol/L) <sup>①</sup>		
		A549	HepG2	PC-3
VIIa	H	4.39±0.12	6.11±0.33	5.44±0.38
VIIb	4-OCH <sub>3</sub>	2.16±0.15	3.21±0.14	4.78±0.29
VIIc	4-CH <sub>3</sub>	3.87±0.26	4.83±0.17	2.52±0.14
VII d	4-F	4.12±0.11	8.16±0.69	16.83±0.57
VII e	4-Br	11.88±0.18	7.62±0.26	7.64±0.26
VII f	2-F	6.64±0.35	13.27±0.84	5.96±0.13
VII g	3-Cl	8.37±0.29	7.15±0.37	18.12±0.68
VII h	3,4-diOCH <sub>3</sub>	0.87±0.05	2.43±0.16	2.02±0.10
VII i	2,4-diCl	7.73±0.58	8.49±0.39	6.89±0.45
VII j	2,6-diCl-3-F	7.28±0.42	23.51±0.80	9.95±0.30
索拉非尼 <sup>②</sup>	—	2.91±0.10	3.49±0.21	3.16±0.18

①每次实验重复 3 次；②阳性对照药。

### 3 结论

以 3-氨基噻吩-2-羧酸甲酯、脲、4-甲酰基苯甲酸和取代苯乙酮等为原料, 经过环合、氯代、取代、缩合和酰胺化反应, 制备了 10 个含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮类目标化合物。目标化合物结构经 <sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR 和 HRMS (ESI) 进行确证。采用 MTT 法测试了目标化合物对人肺腺癌细胞株 A549、人肝癌细胞株 HepG2 和人前列腺癌细胞株 PC-3 的细胞增殖抑制活性。结果表明, 大部分化合物对 3 种细胞株显示了较好的抗增殖活性, 特别是化合物 VII h 对 A549、HepG2 和 PC-3 肿瘤细胞株的 IC<sub>50</sub> 分别为(0.87±0.05)、(2.43±0.16)和(2.02±0.10) μmol/L, 优于阳性对照药索拉非尼。含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮类化合物具有很好的抗肿瘤活性, 值得进一步研究。本文证实了含噻吩并[3,2-*d*]嘧啶的查尔酮衍生物具有一定的研究意义, 可为以后开发新型抗肿瘤药物提供先导化合物。

### 参考文献:

[1] DEO S V S, SHARMA J, KUMAR S. GLOBOCAN 2020 report on global cancer burden: Challenges and opportunities for surgical oncologists[J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2022, 29(11): 6497-6500.

[2] FENG Y Y (冯媛媛), SONG M Q (宋梦秋), WU W L (武文龙), *et al.* Synthesis and biological evaluation of 2-phenylthiazole derivatives as anticancer agents[J]. *Chemical Research and Application (化学研究与应用)*, 2022, 34(6): 1362-1368.

[3] BLACKADAR C B. Historical review of the causes of cancer[J]. *World Journal of Clinical Oncology*, 2016, 7(1): 54-86.

[4] PARVEEN Z, BRUNHOFER G, JABEEN I, *et al.* Synthesis, biological evaluation and 3D-QSAR studies of new chalcone derivatives as inhibitors of human P-glycoprotein[J]. *Bioorganic &*

*Medicinal Chemistry*, 2014, 22(7): 2311-2319.

[5] YAN J, CHEN J, ZHANG S, *et al.* Synthesis, evaluation, and mechanism study of novel indole-chalcone derivatives exerting effective antitumor activity through microtubule destabilization *in vitro* and *in vivo*[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 59(11): 5264-5283.

[6] VIJAYA BHASKAR REDDY M, HUNG H Y, KUO P C, *et al.* Synthesis and biological evaluation of chalcone, dihydrochalcone, and 1,3-diarylpropane analogs as anti-inflammatory agents[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 27(7): 1547-1550.

[7] GOMES M N, BRAGA R C, GRZELAK E M, *et al.* QSAR-driven design, synthesis and discovery of potent chalcone derivatives with antitubercular activity[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 137: 126-138.

[8] ZHAO D H, WANG Y C, ZHENG L W, *et al.* Antidepressant-like effect of a chalcone compound, DHIPC and its possible mechanism[J]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, 17(1): 193-201.

[9] JIN J, QIU S, WANG P, *et al.* Cardamonin inhibits breast cancer growth by repressing HIF-1α-dependent metabolic reprogramming[J]. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 2019, 38(1): 377-393.

[10] PHANG C W, MELEK S N, KARSANI S A. Flavokawain C exhibits anti-tumor effects on *in vivo* HCT 116 xenograft and identification of its apoptosis-linked serum biomarkers *via* proteomic analysis[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 137: 110846-110859.

[11] DANDAWATE P, AHMED K, PADHYE S, *et al.* Anticancer active heterocyclic chalcones: Recent developments[J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2021, 21(5): 558-566.

[12] LIU Z, WU S, WANG Y, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of novel thieno[3,2-*d*]pyrimidine derivatives possessing diaryl semicarbazone scaffolds as potent antitumor agents[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 87: 782-793.

[13] LIU B (刘波), GAO H (高慧), ZHANG M D (张梦丹), *et al.* Synthesis and antitumor activity of thieno[2,3-*d*]pyrimidine derivatives[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(12): 2534-2540.

[14] HU H, DONG Y, LI M, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of novel thieno[3,2-*d*]pyrimidine and quinazoline derivatives as potent antitumor agents[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, 90: 103086.

[15] JIANG D H (蒋达洪), PENG J S (彭进松). Design and synthesis of 7-bromothieno[3,2-*d*]pyrimidine derivatives containing piperazine unit as anticancer agents[J]. *Chemical Research and Application (化学研究与应用)*, 2012, 24(8): 1247-1250.

[16] ALI E M H, ABDEL-MAKSOUH M S, OH C H. Thieno[2,3-*d*]pyrimidine as a promising scaffold in medicinal chemistry: Recent advances[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, 27(7): 1159-1194.

[17] TIAN Q P, CHENG Z G, HERBERT M, *et al.* A practical synthesis of a PI3K inhibitor under noncryogenic conditions *via* functionalization of a lithium triarylmagnesiato intermediate[J]. *Organic Process Research & Development*, 2013, 17: 97-107.

[18] BRAVO-ALTAMIRANO K, GEORGE K M, FRANTZ M C, *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of benzothienothiazepinone inhibitors of protein kinase D[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 2(2): 154-159.

[19] SHI J T, GONG Y L, LI J, *et al.* Synthesis, structure and biological activity of 2-[2-(4-fluorobenzylidene)hydrazinyl]-4-(1-methyl-1*H*-indol-3-yl)thieno[3,2-*d*]pyrimidine[J]. *Chinese Journal of Structural Chemistry*, 2019, 38(9): 1530-1536.

[20] TAO X X, DUAN Y T, CHEN L W, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of pyrazolyl-nitroimidazole derivatives as potential EGFR/HER-2 kinase inhibitors[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2016, 26(2): 677-683.

[21] DIMMOCK J R, JHA A, ZELLO G A, *et al.* Cytotoxic *N*-[4-(3-aryl-3-oxo-1-propenyl)phenylcarbonyl]-3,5-bis(phenylmethylene)-4-piperidones and related compounds[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, 37(12): 961-972.

[22] SHANKARAIAH N, NEKKANTI S, BRAHMA U R, *et al.* Synthesis of different heterocycles-linked chalcone conjugates as cytotoxic agents and tubulin polymerization inhibitors[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2017, 25(17): 4805-4816.