

4(3H) 喹唑啉酮衍生物的合成及体外抗肿瘤活性

曹胜利^{1*}, 蒋宇扬^{2,3}, 冯玉萍³, 刘世英^{2,3}, 高红核¹, 张 玫¹, 万 荣³

(1. 首都师范大学 化学系, 北京 100037; 2. 清华大学 深圳研究生院, 广东省化学生物学重点实验室, 广东 深圳 518055;
3. 清华大学 化学系, 生命有机磷化学与化学生物学教育部重点实验室, 北京 100084)

摘要: 将 6-溴甲基-2-甲基-4(3H) 喹唑啉酮在无水磷酸钾存在下与二硫化碳以及不同的胺反应, 合成了一系列具有二硫代氨基甲酸酯侧链的 4(3H) 喹唑啉酮衍生物, 其结构经 ESI-MS, ¹H NMR, 元素分析或 HRMS 所证实。采用 MTT 法测定了目标化合物 8a~8q 对人慢性髓性白血病 K562 细胞和人宫颈癌 HeLa 细胞的体外抗肿瘤活性, 结果表明化合物 8q 对 K562 和 HeLa 细胞的体外生长具有显著的抑制作用, IC₅₀ 值分别为 0.5 和 12.0 μmol·L⁻¹, 因而可作为抗肿瘤药物研究的先导化合物。

关键词: 4(3H) 喹唑啉酮; 二硫代氨基甲酸酯; 抗肿瘤活性

中图分类号: R916.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2007)07-0741-06

Synthesis and *in vitro* antitumor activity of 4(3H)-quinazolinone derivatives bearing dithiocarbamate chains

CAO Sheng-li¹, JIANG Yu-yang^{2,3}, FENG Yu-ping³, LIU Shi-ying^{2,3}, GAO Hong-he¹, ZHANG Mei¹, WAN Rong³

(1. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100037, China;

2. The Key Laboratory of Chemical Biology, Guangdong Province; Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China; 3. The Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry and Chemical Biology, Ministry of Education; Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: A series of 4(3H)-quinazolinone derivatives bearing dithiocarbamate side chains have been synthesized through the reaction of 6-bromomethyl-2-methyl-4(3H)-quinazolinone with CS₂ and various amines in the presence of anhydrous K₃PO₄, and their structures were confirmed with ESI-MS, ¹H NMR, elemental analysis or HRMS. The target compounds 8a-8q were tested for their *in vitro* antitumor activity against human myelogenous leukaemia K562 and human HeLa cell lines by means of colorimetric MTT assay. Among the tested compounds, 8q exhibited *in vitro* inhibitory activity against K562 and HeLa cells with IC₅₀ values of 0.5 and 12.0 μmol·L⁻¹, respectively. Therefore, compound 8q is worthy to be a lead compound for the design and synthesis of new antitumor agents.

Key words: 4(3H)-quinazolinone; dithiocarbamate; antitumor activity

经典的抗叶酸剂在肿瘤化疗中一直发挥着重要的作用, 其结构与叶酸类似, 分子中都含有 L-谷氨酸残基, 例如甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 在临床

上治疗白血病和某些实体瘤已经使用了半个多世纪^[1]。最近, 具有 4(3H) 喹唑啉酮结构片段的经典抗叶酸剂雷替曲塞 (ralitrexed) (1, 图 1) 已用于晚期结直肠癌的治疗^[2,3]。然而经典抗叶酸剂也存在一些缺点, 如需要还原叶酸载体 (reduced folate carrier, RFC) 的转运而进入细胞; 在细胞内发生聚谷氨酸化, 虽可增强其对叶酸依赖性酶的抑制作用, 但也因此易对宿主细胞产生毒性和耐药性^[4,5]。为了

收稿日期: 2007-02-27.

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目 (7042006); 北京市教委科技发展项目 (KM200710028008).

* 通讯作者 Tel: 86-10-68902974, Fax: 86-10-68903040, E-mail: sl_cao@sohu.com

克服这些缺点,近年来研究者设计合成了一些不含 L-谷氨酸,亲脂性的非经典抗叶酸剂,其中 AG337 (2,图 1)能有效抑制耐药的肿瘤细胞,已进入临床试验^[4,6,7]。

作者注意到具有肿瘤化学预防作用的天然产物 Brassinin^[8] (3,图 1)以及一些合成抗肿瘤剂分子中含有二硫代氨基甲酸酯结构片段^[9,10],于是将其引入 4(3H)-喹唑啉酮的 6位,合成了一系列具有二硫代氨基甲酸酯侧链的 4(3H)-喹唑啉酮衍生物(其结构见合成路线 1和表 1)。体外活性试验表明,一些化合物对人慢性髓性白血病 K562细胞的体外生长具有显著的抑制作用,部分内容已发表^[11]。此后,作者又测试了这些化合物对人宫颈癌 HeLa细胞体外生长的抑制活性。本文将详细介绍这类化合物的合成、结构表征以及体外抗肿瘤活性。

如合成路线 1所示,以 2-氨基-5-甲基苯甲酸(4)为原料,经与硫代乙酰胺共热,生成 2,6-二甲基-4(3H)-喹唑啉酮(5)。5在三氯甲烷溶液中,以过氧化苯甲酰为引发剂,经 N-溴代琥珀酰亚胺(NBS)溴代,得到 2-甲基-6-溴甲基-4(3H)-喹唑啉酮(6)。最后在水磷酸钾存在下,将 6与二硫化碳以及不同的伯胺或仲胺(7)反应,得到目标化合物 8a~8q,利用 ESI-MS,¹HNMR,元素分析或 HRMS进行了结构表征,数据见实验部分。

采用 MTT法,测试了目标化合物 8a~8q对人慢性髓性白血病 K562细胞和人宫颈癌 HeLa细胞的

体外抗肿瘤活性,实验结果见表 1。从表 1可见,所合成的化合物对 2种人肿瘤细胞的体外生长均显示出一定的抑制作用,但总的来说,对人白血病 K562细胞的抑制作用明显强于对人宫颈癌 HeLa细胞的抑制作用。比较化合物 8a,8d和 8b,8c,8e对 K562细胞的 IC₅₀值,可以看出仲胺形成的二硫代甲酸酯活性强于伯胺。然而,含有芳环或芳杂环的苯胺和咪唑甲胺所形成的化合物 8f和 8g却显示出强的抑制活性,而且 8f和 8g也具有较弱的活性,提示在氨基结构中引入芳环可提高化合物对 K562细胞的抑制活性。从表 1还可看出,环状仲胺形成的化合物均对 K562细胞显示出明显的抑制作用,进一步比较 8n,8o,8p和 8q对 K562细胞的 IC₅₀值,说明在咪唑 4位引入芳基或芳烷基比引入甲基可显著提高活性,其中 8q最为突出,对 K562细胞的 IC₅₀值仅为 0.5 μmol·L⁻¹。比较 8q和 8n,8o,8p对 HeLa细胞的 IC₅₀值,也可看出在咪唑 4位引入芳基比引入烷基或芳烷基有利于提高活性,其中 8q对 HeLa细胞也显示出中等的抑制活性(IC₅₀值为 12.0 μmol·L⁻¹)。

综上所述,作者以二硫代氨基甲酸酯为侧链,设计合成了一系列具有非经典抗叶酸剂结构特征的 4(3H)-喹唑啉酮衍生物。初步的体外抗肿瘤活性筛选结果表明,具有氟苯咪唑基二硫代甲酸酯侧链的化合物 8q对人白血病 K562细胞和人宫颈癌 HeLa细胞的体外生长具有明显的抑制作用,可作为先导

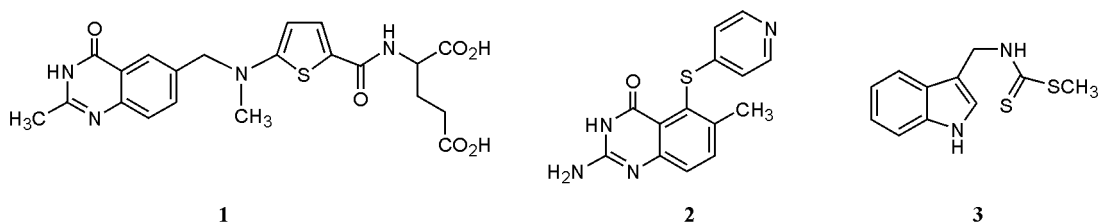
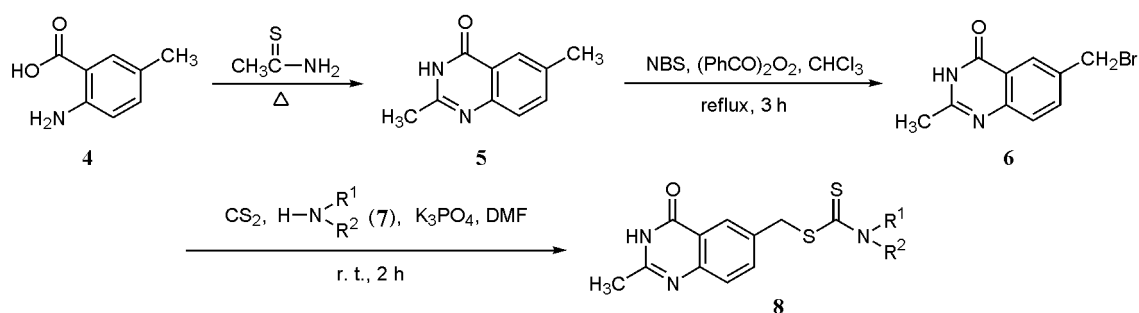


Figure 1 Structures of raltitrexed (1), AG337 (2), and brassinin (3)



Scheme 1 Synthetic route of 4(3H)-quinazolinone derivatives bearing dithiocarbamate side chains (8a-8q)

Table 1 *In vitro* antitumor activity of compounds **8a** - **8q** against K562 and HeLa cells

Compd.	-NR ¹ R ²	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹		Compd.	-NR ¹ R ²	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
		K562	HeLa			K562	HeLa
8a		4.4	46.6	8j		3.3	26.3
8b		25.6	48.3	8k		7.2	28.7
8c		31.0	35.2	8l		3.7	46.6
8d		7.6	35.1	8m		11.0	31.1
8e		30.6	41.2	8n		10.8	22.4
8f		4.0	47.5	8o		7.4	27.3
8g		2.1	20.0	8p		4.3	18.1
8h		11.3	9.0	8q		0.5	12.0
8i		8.7	14.7				

化合物用于类似物的设计与合成及构效关系研究, 以发现活性更强的抗肿瘤活性化合物。

实验部分

熔点用 XT4A 显微熔点仪测定, 温度未校正; ¹H NMR 用 Bruker AC-200P 核磁共振仪测定, TMS 为内标; ESI-MS 用 Bruker Esquire-LC 00136 质谱仪测定; HRMS 用 Bruker APEX II FT-ICR 质谱仪测定; 元素分析用 Flash EA 1112 元素分析仪测定。薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶 (粗孔, 200 ~ 300 目) 为青岛海洋化工厂产品, 其他试剂均为市售商品。

1 2-甲基-6-溴甲基-4(3H)-喹唑啉酮 (**6**) 的合成

按文献 [12] 方法合成。

2 化合物 **8a** ~ **8q** 的合成通法

将 1.5 mmol 胺 (**7**), 0.57 g (7.5 mmol) 二硫化碳、0.32 g (1.5 mmol) 无水磷酸钾和 15 mL *N,N*-二甲基甲酰胺的混和液在室温下搅拌 30 min, 加入 0.25 g (1 mmol) 2-甲基-6-溴甲基-4(3H)-喹唑啉酮 (**6**), 继续在室温下搅拌反应 2 h。将反应液倾入 100 mL 水中, 用二氯甲烷提取 (15 mL × 3), 合并提取液, 无水 Na₂SO₄ 干燥。除去溶剂后, 经硅胶柱色谱 (除另有说明外, 洗脱液为二氯甲烷-甲醇 95:5) 分离纯化, 得固体产物 **8a** ~ **8q**。

化合物 **8a** 收率 84.3%, mp 210 ~ 212 °C。

¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.29 (t, 6H, *J* = 7.1 Hz, CH₂CH₃ × 2), 2.60 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.75 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 4.05 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 4.70 (s, 2H, CH₂S), 7.64 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quiazolinone 8-H), 7.83 (dd, 1H, *J* = 8.4, 2.1 Hz, quiazolinone 7-H), 8.26 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, quiazolinone 5-H)。ESI-MS *m/z*: 322 [M + H]⁺。元素分析 C₁₅H₁₉N₃OS₂, 计算值 (%): C 56.04, H 5.96, N 13.07; 实测值 (%): C 56.08, H 5.89, N 13.11。

化合物 **8b** 收率 51.4%, mp 143 ~ 146 °C。

¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.81 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 2.30 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.57 (m, 5H, C₂-CH₃, NCH₂), 3.82 (t, 2H, *J* = 5.8 Hz, NCH₂), 4.64 (s, 2H, CH₂S), 7.60 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quiazolinone 8-H), 7.83 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quiazolinone 7-H), 8.23 (s, 1H, quiazolinone 5-H)。ESI-MS *m/z*: 351 [M + H]⁺。FAB-HRMS *m/z*: C₁₆H₂₂N₄OS₂, 计算值: 351.1313 [M + H]⁺; 实测值: 351.1306。

化合物 **8c** 收率 71.4%, mp 165 ~ 167 °C。

¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.20 ~ 2.10 (m, 11H, cyclohexyl-H), 2.59 (s, 3H, C₂-CH₃), 4.67 (s, 2H, CH₂S), 7.60 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, quiazolinone

8-H), 7.79 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.21 (s, 1H, quinazolinone 5-H)。ESI-MS m/z 370 [M + Na]⁺。FAB-HRMS m/z C₁₇H₂₁N₃OS₂, 计算值: 348.1204 [M + H]⁺; 实测值: 348.1196。

化合物 8d 硅胶柱色谱 (洗脱液: 三氯甲烷-乙酸乙酯 3:2) 纯化, 收率 71.4%, mp 228 ~ 230 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.10 ~ 2.00 (m, 22H, cyclohexyl-H), 2.60 (s, 3H, C₂-CH₃), 4.69 (s, 2H, CH₂S), 7.64 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.83 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.27 (s, 1H, quinazolinone 5-H)。ESI-MS m/z 428 [M - H]⁻。元素分析 C₂₃H₃₁N₃OS₂ · 1/3H₂O, 计算值 (%): C 63.41, H 7.33, N 9.65; 实测值 (%): C 63.26, H 7.58, N 9.76。

化合物 8e 硅胶柱色谱 (洗脱液: 乙酸乙酯-二氯甲烷 4:1) 纯化, 收率 75.0%, mp > 300 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.69 ~ 2.27 (m, 15H, adamantyl-H), 2.58 (s, 3H, C₂-CH₃), 4.61 (s, 2H, CH₂S), 7.62 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.80 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.22 (s, 1H, quinazolinone 5-H), 11.65 (br s, 1H, NH)。ESI-MS m/z 398 [M - H]⁻。元素分析 C₂₁H₂₅N₃OS₂ · 1/2AcOEt, 计算值 (%): C 62.27, H 6.59, N 9.47; 实测值 (%): C 62.65, H 6.76, N 9.62。

化合物 8f 收率 72.2%, mp 183 ~ 185 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 2.34 (s, 3H, C₂-CH₃), 4.68 (s, 2H, CH₂S), 4.86 (s, 2H, CH₂Ph), 7.29 (m, 5H, Ph-H), 7.52 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.76 (dd, 1H, $J = 8.4, 2.1$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.08 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz, quinazolinone 5-H), 10.52 (br s, 1H, NH), 12.20 (br s, 1H, NH)。ESI-MS m/z 356 [M + H]⁺。元素分析 C₁₈H₁₇N₃OS₂, 计算值 (%): C 60.82, H 4.82, N 11.82; 实测值 (%): C 60.96, H 4.85, N 11.92。

化合物 8g 收率 63.8%, mp 189 ~ 192 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 2.34 (s, 3H, C₂-CH₃), 4.66 (s, 2H, CH₂S), 4.83 (s, 2H, NCH₂), 6.35 (d, 1H, $J = 2.7$ Hz, furan-H), 6.41 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, furan-H), 7.51 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.61 (s, 1H, furan-H), 7.75 (dd, 1H, $J = 8.4, 2.1$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.06 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz, quinazolinone 5-H), 10.45 (br s, 1H, NH), 12.20 (br s, 1H, NH)。ESI-MS m/z 346 [M + H]⁺。元素分析 C₁₆H₁₅N₃O₂S₂, 计算值 (%): C 55.63, H 4.38,

N 12.16; 实测值 (%): C 55.24, H 4.58, N 11.87。

化合物 8h 收率 93.9%, mp 222 ~ 224 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.62 (m, 6H, piperidine-H), 2.34 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.89 (br, 2H, piperidine-H), 4.23 (br, 2H, piperidine-H), 4.70 (s, 2H, CH₂S), 7.52 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.77 (dd, 1H, $J = 8.4, 2.1$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.08 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz, quinazolinone 5-H), 12.20 (br s, 1H, NH)。ESI-MS m/z 334 [M + H]⁺。元素分析 C₁₆H₁₉N₃OS₂ · 1/2H₂O, 计算值 (%): C 56.11, H 5.89, N 12.27; 实测值 (%): C 56.07, H 5.68, N 12.26。

化合物 8i 硅胶柱色谱 (洗脱液: 乙酸乙酯-二氯甲烷 1:1) 纯化, 收率 68.1%, mp 186 ~ 188 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.19 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, OCH₂CH₃), 2.04 (m, 2H, piperidine-H), 2.58 (s, 3H, C₂-CH₃), 2.63 (m, 2H, piperidine-H), 3.49 (m, 2H, piperidine-H), 4.17 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, OCH₂CH₃), 4.45 (br, 1H, piperidine-H), 4.70 (s, 2H, CH₂S), 5.33 (br, 1H, piperidine-H), 7.33 (m, 5H, Ph-H), 7.62 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.81 (dd, 1H, $J = 8.4, 2.0$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.22 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, quinazolinone 5-H), 12.05 (br, 1H, NH)。ESI-MS m/z 482 [M + H]⁺。元素分析 C₂₅H₂₇N₃O₃S₂, 计算值 (%): C 62.34, H 5.65, N 8.72; 实测值 (%): C 62.51, H 5.67, N 8.62。

化合物 8j 收率 73.7%, mp 217 ~ 219 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 2.33 (s, 3H, C₂-CH₃), 2.97 (t, 2H, $J = 6.1$ Hz, ArCH₂CH₂), 4.05 (br, 1H, ArCH₂CH₂N), 4.34 (br, 1H, ArCH₂CH₂N), 4.72 (s, 2H, CH₂S), 5.05 (br, 1H, ArCH₂N), 5.30 (br, 1H, ArCH₂N), 7.24 (m, 4H, Ar-H), 7.52 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, quinazolinone 8-H), 7.79 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, quinazolinone 7-H), 8.09 (s, 1H, quinazolinone 5-H), 12.20 (br s, 1H, NH)。ESI-MS m/z 382 [M + H]⁺。元素分析 C₂₀H₁₉N₃OS₂ · H₂O, 计算值 (%): C 60.12, H 5.30, N 10.52; 实测值 (%): C 60.10, H 4.95, N 10.35。

化合物 8k 硅胶柱色谱 (洗脱液: 乙酸乙酯-二氯甲烷 7:3) 纯化, 收率 50.7%, mp > 300 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 2.34 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.67 (br s, 4H, morpholine-H), 3.94 (br, 2H, morpholine-H), 4.14 (br, 2H, morpholine-H), 4.73 (s, 2H,

CH₂S), 7.52 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 8-H), 7.87 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 7-H), 8.09 (s, 1H, quinazolinone 5-H), 12.20 (br s, 1H, NH)。ESI-MS *m/z* 333 [M + H]⁺。元素分析 C₁₅H₁₇N₃O₂S₂ · 2/3H₂O, 计算值 (%): C 51.85, H 5.32, N 12.09; 实测值 (%): C 51.57, H 5.24, N 11.82。

化合物 8l 收率 75.0%, mp 279 ~ 281 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 1.23 (d, 6H, *J* = 63 Hz, morpholine-CH₃), 2.50 (s, 3H, C₂-CH₃), 2.81 (m, 2H, morpholine-H), 3.66 (m, 2H, morpholine-H), 4.28 (m, 2H, morpholine-H), 4.73 (s, 2H, CH₂S), 7.63 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 8-H), 7.81 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 7-H), 8.26 (s, 1H, quinazolinone 5-H), 12.01 (br s, 1H, NH)。ESI-MS *m/z* 386 [M + Na]⁺。FAB-HRMS *m/z* C₁₇H₂₁N₃O₂S₂, 计算值: 363.1075 [M]⁺; 实测值: 363.1069。

化合物 8m 收率 83.6%, mp 160 ~ 163 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.19 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₂CH₃), 2.42 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.19 ~ 3.61 (m, 2H, CHCH₂S), 4.15 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 4.71 (s, 2H, CH₂S), 4.90 (m, 2H, NCH₂S), 5.46 (m, 1H, CHCO₂Et), 7.47 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 8-H), 7.79 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, quinazolinone 7-H), 8.10 (s, 1H, quinazolinone 5-H), 12.23 (br s, 1H, NH)。ESI-MS *m/z* 410 [M + H]⁺。元素分析 C₁₇H₁₉N₃O₃S₂, 计算值 (%): C 49.86, H 4.68, N 10.26; 实测值 (%): C 49.95, H 4.93, N 10.42。

化合物 8n 收率 71.4%, mp 236 ~ 237 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 2.33 (s, 3H, NCH₃), 2.50 (t, 4H, *J* = 5.0 Hz, piperazine-H), 2.58 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.97 (br, 2H, piperazine-H), 4.35 (br, 2H, piperazine-H), 4.72 (s, 2H, CH₂S), 7.62 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 8-H), 7.82 (dd, 1H, *J* = 8.4, 2.1 Hz, quinazolinone 7-H), 8.26 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, quinazolinone 5-H)。ESI-MS *m/z* 349 [M + H]⁺。元素分析 C₁₆H₂₀N₄OS₂, 计算值 (%): C 55.14, H 5.78, N 16.08; 实测值 (%): C 55.24, H 5.78, N 16.18。

化合物 8o 收率 78.6%, mp 217 ~ 219 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 2.58 (s, 3H, C₂-CH₃), 2.60 (m, 4H, piperazine-H), 3.56 (s, 2H, CH₂Ph), 3.94 (br, 2H, piperazine-H), 4.36 (br, 2H, piperazine-H),

4.72 (s, 2H, CH₂S), 7.32 (m, 5H, Ph-H), 7.62 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 8-H), 7.82 (dd, 1H, *J* = 8.4, 2.1 Hz, quinazolinone 7-H), 8.25 (s, 1H, quinazolinone 5-H), 11.98 (br s, 1H, NH)。ESI-MS *m/z* 425 [M + H]⁺。FAB-HRMS *m/z* C₂₂H₂₄N₄OS₂, 计算值: 425.1470 [M + H]⁺; 实测值: 425.1462。

化合物 8p 收率 59.3%, mp 148 ~ 149 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 2.46 (br s, 4H, piperazine-H), 2.58 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.94 (br, 2H, piperazine-H), 4.25 (s, 1H, CH), 4.33 (br, 2H, piperazine-H), 4.70 (s, 2H, CH₂S), 6.98 (m, 4H, Ph-H), 7.32 (m, 4H, Ph-H), 7.61 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz, quinazolinone 8-H), 7.82 (dd, 1H, *J* = 8.4, 2.1 Hz, quinazolinone 7-H), 8.24 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, quinazolinone 5-H), 11.85 (br s, 1H, NH)。ESI-MS *m/z* 537 [M + H]⁺。元素分析 C₂₈H₂₆F₂N₄OS₂, 计算值 (%): C 62.67, H 4.88, N 10.44; 实测值 (%): C 62.87, H 4.94, N 10.53。

化合物 8q 收率 73.3%, mp 246 ~ 248 °C。¹H NMR (CDCl₃) δ: 2.56 (s, 3H, C₂-CH₃), 3.20 (t, 4H, *J* = 4.9 Hz, piperazine-H), 4.13 (br, 2H, piperazine-H), 4.42 (br, 2H, piperazine-H), 4.74 (s, 2H, CH₂S), 6.94 (m, 4H, Ph-H), 7.63 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, quinazolinone 8-H), 7.82 (dd, 1H, *J* = 8.5, 2.1 Hz, quinazolinone 7-H), 8.26 (d, 1H, *J* = 2.1 Hz, quinazolinone 5-H), 11.0 (br s, 1H, NH)。ESI-MS *m/z* 429 [M + H]⁺。元素分析 C₂₁H₂₁N₄OS₂, 计算值 (%): C 58.86, H 4.94, N 13.07; 实测值 (%): C 58.84, H 4.99, N 12.93。

3 体外抗肿瘤活性测定

取指数生长期的细胞,以 2×10^5 个 · mL⁻¹ 接种于 96 孔板中,每孔 90 μL,置 5% CO₂ 培养箱中于 37 °C 培养 4 h。实验组加入不同浓度化合物的 DMSO 溶液,每个化合物设 5 ~ 6 个浓度,每组设 3 个复孔,同时设阴性对照 (仅含 1% DMSO)。置 5% CO₂ 培养箱中于 37 °C 培养 24 h 后,每孔加入 5 mg · mL⁻¹ MTT [3-(4,5-二甲基-2-噻唑基)-2,5-二苯基溴化四氮唑] 溶液 10 μL,继续培养 4 h。弃去上清液,每孔加入 100 μL DMSO 溶解 formazan 结晶,用微型振荡器混匀后,用酶标仪于波长 490 nm 处测定光密度 (OD) 值,按如下公式计算化合物对肿瘤细胞生长的抑制率,并通过作图法求得各化合物的 IC₅₀ 值 (结果见表 1)。

$$\text{抑制率} = (\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{实验组}}) / \text{OD}_{\text{对照组}} \times 100\%$$

References

- [1] Curtin NJ, Hughes AN. Pemetrexed disodium, a novel antifolate with multiple targets [J]. *Lancet Oncol*, 2001, 2: 298 - 306.
- [2] Marsham PR, Hughes LR, Jackman AL, et al. Quinazoline antifolate thymidylate synthase inhibitors: heterocyclic benzoyl ring modifications [J]. *J Med Chem*, 1991, 34: 1594 - 1605.
- [3] Cunningham D, Zalberg J, Maroun J, et al. Efficacy, tolerability and management of raltitrexed monotherapy in patients with advanced colorectal cancer: a review of phase II/III trials [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38: 478 - 486.
- [4] Webber S, Bartlett CA, Boritzki TJ, et al. AG337, a novel lipophilic thymidylate synthase inhibitors: *in vitro* and *in vivo* preclinical studies [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1996, 37: 509 - 517.
- [5] Marsham PR, Wardleworth JM, Boyle FT, et al. Design and synthesis of potent non-polyglutamatable quinazoline antifolate thymidylate synthase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 1999, 42: 3809 - 3820.
- [6] Creaven PJ, Pendyala L, Meropol NJ, et al. Initial clinical trial and pharmacokinetics of ThymitaqTM (AG337) by 10-day continuous infusion in patients with advanced solid tumors [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1998, 41: 167 - 170.
- [7] Chu E, Callender MA, Farrell MP, et al. Thymidylate synthase inhibitors as anticancer agents: from bench to bedside [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2003, 52: S80 - S89.
- [8] Mehta RG, Liu J, Constantinou A, et al. Cancer chemopreventive activity of brassinin, a phytoalexin from cabbage [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16: 399 - 404.
- [9] Guo BG, Ge ZM, Cheng TM, et al. Synthesis and antitumor activities of 1, 4-bis[3-(aminodithiocarbonyl)propionyl]piperazine derivatives [J]. *Acta Pharm Sin (药 学 学 报)*, 2001, 36: 185 - 187.
- [10] Güzel O, Salman A. Synthesis, antimycobacterial and antitumor activities of new (1, 1-dioxido-3-oxo-1, 2-benzisothiazol-2(3H)-yl)methyl *N,N*-disubstituted dithiocarbamate/*O*-alkyldithiocarbamate derivatives [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 7804 - 7815.
- [11] Cao SL, Feng YP, Jiang YY, et al. Synthesis and *in vitro* antitumor activity of 4(3H)-quinazolinone derivatives with dithiocarbamate side chains [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 1915 - 1917.
- [12] Cao SL, Ma XQ. Synthesis of 6-bromomethyl-2-methyl-4-oxoquinazoline [J]. *Chem Reagents (化学试剂)*, 2004, 26: 27 - 28.