

基于喹喔啉为母核的PI3K抑制剂的合成及抗肿瘤活性研究

黄涛^{1,2}, 赖惠芳², 林荣坤², 林锦², 李柱来^{2*}, 许秀枝^{2*}

- (1. 福建省儿童医院 (福建省妇幼保健院), 福建 福州 350001;
2. 福建医科大学药学院, 福建省药物靶点发现与结构功能研究重点实验室, 福建 福州 350122)

摘要: 以含有喹喔啉母核的PI3K抑制剂XL765和WR23为结构基础, 通过生物电子等排, 在喹喔啉母核上2位引入取代苯氧基片段, 延长3位连接链改为磺酰肼, 并在7位引入氟原子; 去掉3位取代并在7位引入丙烯酰胺基。初步设计并合成了22个喹喔啉类衍生物, 通过¹H NMR、¹³C NMR、ESI-MS进行结构确证。以人非小细胞肺癌A549、人乳腺癌细胞MCF-7、人结肠癌细胞HCT-116和人肝癌细胞HepG2进行体外抗肿瘤活性筛选(MTT法)。结果表明, **P6b**、**P6e**、**P6f**对HCT116活性较好(IC_{50} =3.24, 4.78和4.50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **P6d**对MCF-7具有较强抑制作用(IC_{50} =0.228 7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

关键词: 喹喔啉类衍生物; 抗肿瘤; PI3K抑制剂

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)01-0096-10

Synthesis and biological evaluation of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) inhibitors based on a quinoxaline scaffold

HUANG Tao^{1,2}, LAI Hui-fang², LIN Rong-kun², LIN Jin², LI Zhu-lai^{2*}, XU Xiu-zhi^{2*}

- (1. Fujian Provincial Children's Hospital (Fujian Provincial Maternity and Children's Hospital), Fuzhou 350001, China;
2. Fujian Key Laboratory of Drug Target Discovery and Structural and Functional Research, College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350122, China)

Abstract: Based on the structure of inhibitors XL765 and WR23, the quinoxaline scaffold was selected as an attractive structure for drug design. In this protocol, the 2-position of quinoxaline was modified with a substituted phenoxy fragment. Meanwhile, the linking chain at the 3-position was changed to a sulfonyl hydrazine or was removed. A series of substituent groups were added at the 6-position of the quinoxaline scaffold. Twenty-two quinoxaline derivatives were designed and synthesized, and their structures were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, and ESI-MS. All compounds were screened for anti-tumor activity *in vitro* in A549, MCF-7, HCT-116 and HepG2 cancer cells. The results showed that **P6b** was effective, **P6e** and **P6f** had better activity against HCT116 (IC_{50} = 3.24, 4.78 and 4.50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), and **P6d** had strong inhibitory effect on MCF-7 (IC_{50} = 0.228 7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Key words: quinoxaline derivative; anti-tumour; PI3K inhibitor

收稿日期: 2019-08-26; 修回日期: 2019-10-21.

基金项目: 福建省科技创新联合资金资助项目 (2016Y9052); 福建省高校杰出青年科研人才培育计划 (2017B021); 福建医科大学引进高层次创新创业人才计划 (XRCGZX2017010); 福建省自然科学基金项目 (2018J01846); 福建省自然科学基金青年创新项目 (2019J05073).

*通讯作者 Tel: 86-591-22862016,

E-mail: xiuzhi_xu@126.com; lizhulai@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0679

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是由磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3Ks) 及其下游介质 Akt 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 构成 PI3K/Akt/mTOR 信号级联、调节细胞增殖、生存和代谢的核心成分^[1], 是连接癌基因和多种受体与许多重要细胞功能的关键信号转导系统, 可能是人类癌症中最常激活的信号通路^[2]。磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3Ks) 是 PI3K/Akt/mTOR 信号通道中的关键

激酶, 它整合来自生长因子、细胞因子和其他环境线索的信号, 将其转化为调节多种信号通路的细胞内信号。这些通路控制许多生理功能和细胞过程, 包括细胞增殖、生长、存活、运动和代谢, 且PI3K的激活常见于各种癌症中^[2,3]。PI3Ks作为酪氨酸激酶受体(RTKs)和G蛋白偶联受体(GPCRs)下游的主要效应物, 是PI3K/Akt/mTOR信号通道中关键性激酶, 能够使磷脂酰肌醇4,5-二磷酸(PIP2)的3'-羟基磷酸化生成磷脂酰肌醇3,4,5-三磷酸(PIP3), 这种脂质产物作为“第二信使”将各种生长因子和细胞因子的信号转导到细胞内, 进而激活丝氨酸/苏氨酸激酶Akt等下游效应通路^[4]。最终作用细胞核内翻译起始因子4E-BP、S6Ks, 进而影响细胞的翻译、转录、生长和增殖。

LY294002(图1)是第一个可逆的靶向PI3K家族的小分子抑制剂(对PI3K α 、PI3K δ 和PI3K β 半数抑制率IC₅₀分别为0.50、0.57、0.97 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。但是两者对单个PI3K亚型几乎没有选择性, 在动物实验中也具有相当大的毒性^[5,6]。XL765(图1)是一个含喹啉母核的高选择性的强ATP竞争性, 可逆泛I类PI3K抑制剂和mTOR双重抑制剂^[7]。它作用于p110 α 、p110 β 、p110 δ 、p110 γ 和mTOR的IC₅₀分别为39、113、9、43、157 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。XL765的药效学活性与抑制迁移性肿瘤细胞的增殖、抑制肿瘤血管生成、诱导细胞凋亡有关, 在多种人体肿瘤模型中均有明显的肿瘤生长抑制作用^[8,9]。WR23(图1)也是含有喹啉母核的PI3K抑制剂, 它是由Wu等^[10-12]发现的含有吗啉环喹啉类PI3K α 抑制剂, 对PI3K α 半数抑制率IC₅₀为0.025 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Corona等^[13]研究表明, 根据电子等排体将2位链接分别替换为O、S时, 同时在60种人类癌细胞上分别测试2位链接为N、O、S3种类型的新化合物的抑制活性, 研究结果显示O链接活性表现最高。本文以喹啉为母核, 以PI3K为作用靶点, 设计并合成了22个喹啉类衍生物, 通过¹H NMR、¹³C NMR、ESI-MS进行结构确证, 并对其进行抗肿瘤活性筛选, 初步探究其构效关系, 为该类化合物作为PI3K抑制剂进一步的探索及其结构优化研究提供依据。

结果与讨论

1 化学合成

以邻苯二胺和4-氟邻苯二胺为起始原料, 与草酸二乙酯环合得到喹啉酮(**H2**)和6-氟喹啉酮(**F2**), 经三氯氧磷氯化得到2,3-二氯喹啉(**H3**)和6-氟-2,3-二氯喹啉(**F3**), 再与取代苯酚在弱碱性条件下发生亲核取代反应生成2-苯氧基类喹啉衍生物(**H4a**~

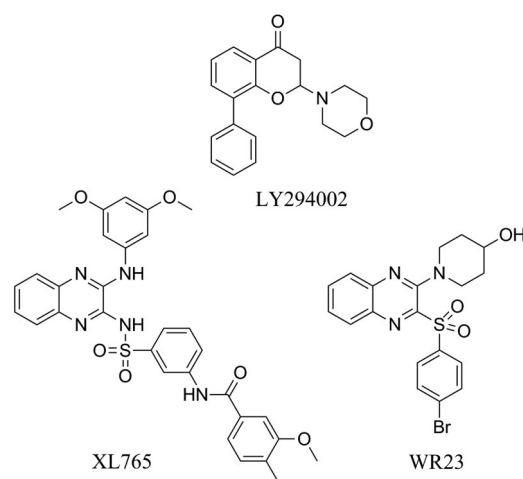


Figure 1 Chemical structures of LY294002, XL765 and WR23

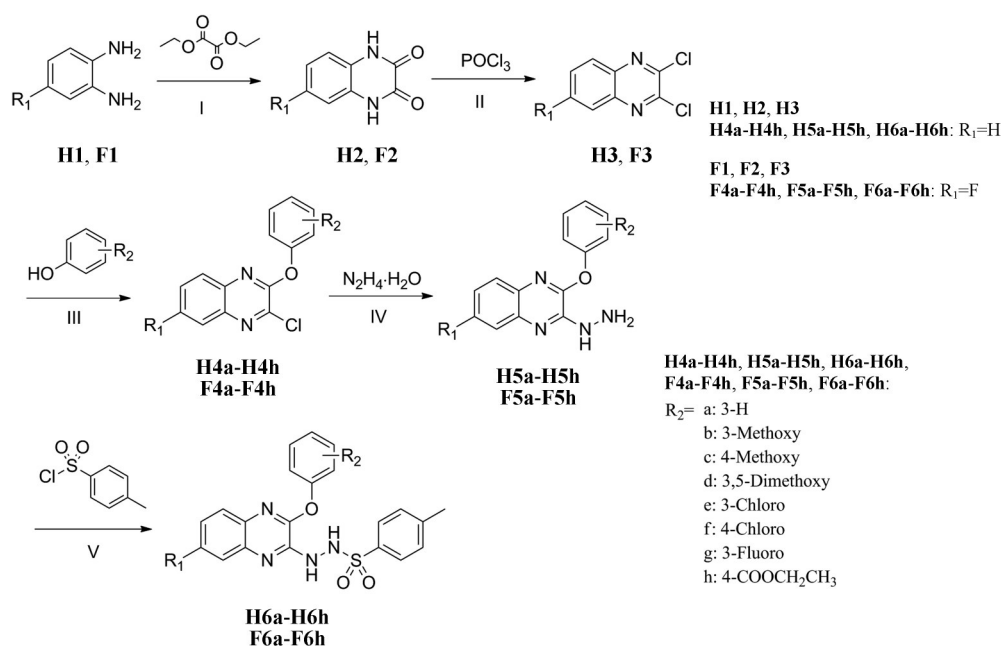
H4h, F4a~F4h), 与水合肼反应后再与对甲苯磺酰氯酰化最终得到16个磺酰肼类喹啉衍生物(**H6a**~**H6h, F6a~F6h**)(合成路线1)。以4-硝基邻苯二胺为起始原料, 经三氯氧磷氯化取代苯酚的亲核取代反应得到6-硝基-3-取代苯氧基喹啉衍生物(**P4a**~**P4f**), 再经Pd/C/H₂还原后与丙烯酰氯反应得到6个丙烯酰胺类喹啉衍生物(**P6a**~**P6f**)(合成路线2)。目标化合物经¹H NMR、¹³C NMR和ESI-MS确证其结构, 数据见实验部分。

2 生物活性评价

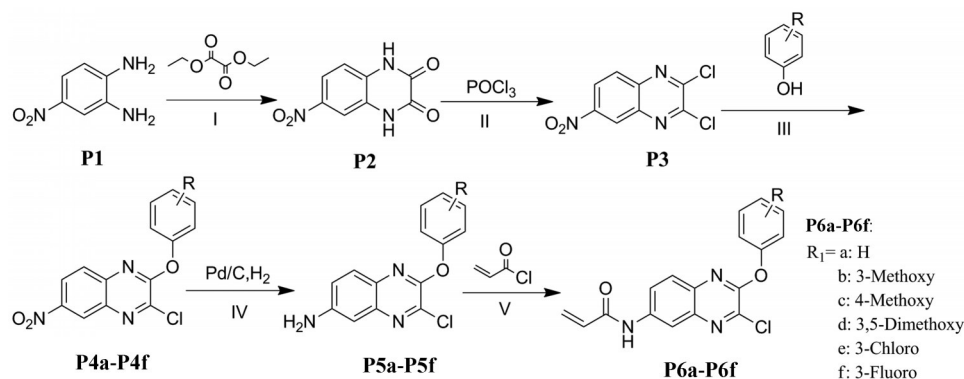
以人非小细胞肺癌A549、人乳腺癌细胞MCF-7、人结肠癌细胞HCT-116、人肝癌细胞Hep-G2为实验对象, 通过MTT法对所得22个目标化合物进行体外抗肿瘤细胞增殖实验, 并以LY294002为阳性对照, 结果见表1、2和图2。其中**P6b**、**P6e**、**P6f**对HCT116活性较好(IC₅₀=3.24、4.78和4.50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **P6d**对MCF-7具有较强抑制作用(IC₅₀=0.228 7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

3 分子对接

利用SYBYL/Surflex-Dock模块, 以PI3K α 和抑制剂GCD-0326的晶体复合物(PDB: 5DXT)的蛋白数据为基础, 对化合物进行分子模拟对接进行简单初步分析。首先对配体分子进行Tripos力场能量最小化计算, 最大重复次数(Max Iterations)设置为1 000, Gradient能量差设置为0.005, 得到最低能量构象的小分子用于对接分析。结果表明, 化合物都能与靶点位置形成较好的氢键作用, **P6d**对接示意图显示(图3), 苯氧基上3,5-二甲氧基分别与Lys802、Tyr836形成氢键; 喹啉母核与丙烯酰胺分别与Ser774、Thr856形成氢键作用。根据活性筛选结果以及对接结果可得出, 苯氧基上3,5-二甲氧基取代能明显提高活性, 丙烯酰胺的引入也对活性有一定的影响。



Scheme 1 Synthesis of **H6a-H6h**, **F6a-F6h**. Reagents and conditions: (I) HCl, H₂O, 90 °C, 6 h; (II) POCl₃, DMF, 110 °C, 4 h; (III) DMF, 70 °C, 1 h; (IV) H₂O, rt, 24 h; (V) DCM, rt, 4 h



Scheme 2 Synthesis of **P6a-P6f**. Reagents and conditions: (I) HCl, H₂O, 90 °C, 6 h; (II) POCl₃, DMF, 110 °C, 4 h; (III) DMF, 70 °C, 1 h; (IV) Ethanol, rt, 4 h; (V) DCM, rt, 2 h

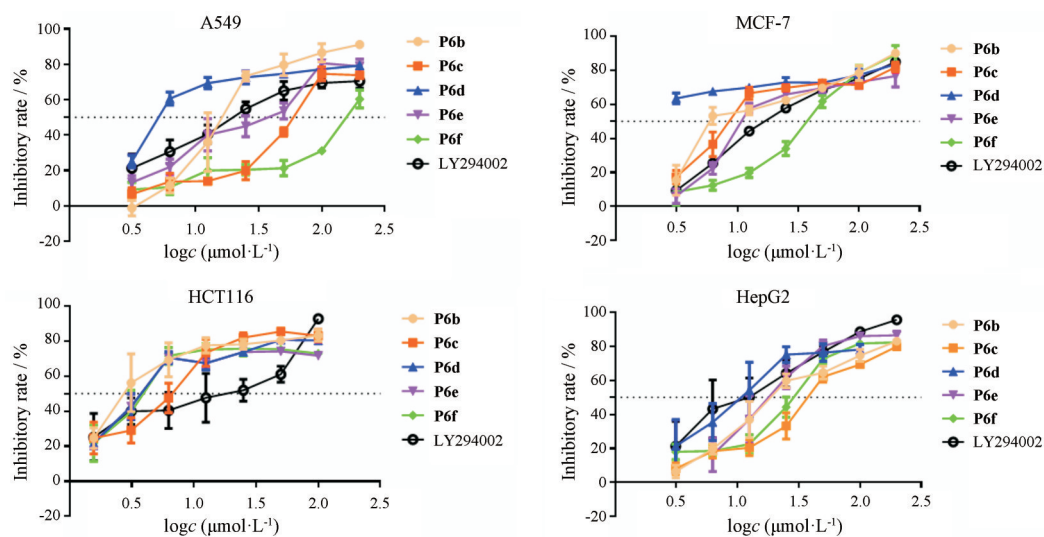


Figure 2 Inhibitory rate curve of compound **P6b-P6f**, LY294002 on A549, MCF-7, HCT116 and HepG2

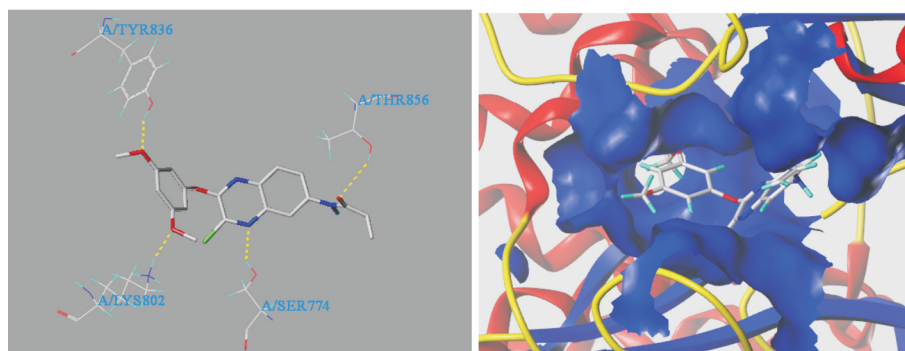
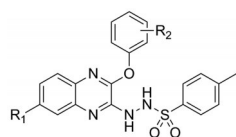


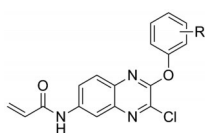
Figure 3 Interaction between PI3K α with P6d (left) and protein surface (right) PDB:5DXT

Table 1 Antitumor evaluation of quinoxaline derivatives of aromatic sulfonyl hydrazide *in vitro*



Compd.	R ₁	R ₂	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹			
			A549	MCF-7	HCT-116	HepG2
H6a	H	3-H	61.92	200>	59.58	78.82
H6b	H	3-Methoxy	157.3	200>	35.59	142
H6c	H	4-Methoxy	282.6	200>	42.65	66.44
H6d	H	3,5-Dimethoxy	200>	200>	200>	200>
H6e	H	3-Chloro	41.77	82.83	42.65	40.68
H6f	H	4-Chloro	29.09	86.67	33.38	41.63
H6g	H	3-Fluoro	52.53	83.85	27.81	49.51
H6h	H	4-COOC ₂ H ₅	200>	147.4	10.88	17.61
F6a	Fluoro	3-H	143.4	81.22	58.78	144.9
F6b	Fluoro	3-Methoxy	200>	200>	118.3	200>
F6c	Fluoro	4-Methoxy	200>	120.2	78.57	141.9
F6d	Fluoro	3,5-Dimethoxy	126.6	105.8	200>	200>
F6e	Fluoro	3-Chloro	152.9	200>	142.3	200>
F6f	Fluoro	4-Chloro	137.4	200>	79.19	183.1
F6g	Fluoro	3-Fluoro	126	200	200>	200>
F6h	Fluoro	4-COOC ₂ H ₅	200>	200>	200>	200>
LY294002	-	-	23.60	20.61	11.80	11.41

Table 2 Antitumor evaluation of quinoxaline derivatives of acrylamide *in vitro*



Compd.	R	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹			
		A549	MCF-7	HCT-116	HepG2
P6a	H	80.23	30.89	20.15	20.54
P6b	3-Methoxy	17.52	11.12	3.241	24.31
P6c	4-Methoxy	60.33	11.56	6.199	40.96
P6d	3,5-Dimethoxy	6.004	0.228 7	4.622	11.29
P6e	3-Chloro	29.07	18.01	4.775	18.92
P6f	3-Fluoro	189.2	36.74	4.503	27.63
LY294002	-	23.60	20.61	11.80	11.41

4 小结

本文以喹喔啉母核为结构基础,在喹喔啉母核上2位引入取代苯氧基片段,延长3位连接链改为磺酰肼或去掉3位取代,并在6位加入一系列取代基团,设计并合成了22个目标化合物,并通过¹H NMR、¹³C NMR、ESI-MS进行了确证。采用MTT法进行抗肿瘤活性测试,结果显示丙烯酰胺类喹喔啉衍生物具有相对较好的活性,并以3,5-二甲氧基取代(P6d)活性最佳(IC₅₀=0.228 7 μmol·L⁻¹)。利用计算机辅助药物设计进行分子对接分析,结果显示目标化合物与作用靶点具有较好的结合作用,生物活性实验也证实了其具有良好的相关性。本研究结果表明,该类化合物可进行进一步的探索及其结构优化研究,对针对PI3K信号通路的小分子抗肿瘤药物的开发具有一定的意义和价值。

实验部分

RE52-98型旋转蒸发器;WRS-1B数字熔点仪;核磁共振波谱仪:Bruker AVANCE III 400M、Bruker ascend 500M、Bruker AVANCE IIIHD 600 MHz;质谱仪:Thermo Finnigan;Thermo Labsystems酶标仪:Multiskan Mk3;4-硝基邻苯二胺(G1517071)、苯酚(H1820089)、3-氯苯酚(L1712072)、4-氯苯酚(J1631082)、3-氟苯酚(G1528032)、尼泊金乙酯(K1715100)、对甲基苯磺酰氯(L1606048)、草酸二乙酯(F1526034)、阿拉丁生化科技股份有限公司;4-氟邻苯二胺(C10078939)、上海麦克林生化科技有限公司;水合肼(20160510)、三氯氧磷(20180111)、N,N-二甲基甲酰胺(20180117)、国药集团药业股份有限公司;3-甲氧基苯酚(M71420GGQ0)、天津希恩思生化科技有限公司;4-甲氧基苯酚(EH030124)、丙烯酰氯(GD270002)、3,5-二甲氧基苯酚(FJ210258)、萨恩化学技术(上海)有限公司。

1 化合物的合成

1.1 1,4-二氢喹喔啉-2,3-二酮(H2)的合成 邻苯二胺 100 mmol、草酸二乙酯 100 mmol和 4 mol·L⁻¹盐酸水

溶液 80 mL, 90 °C 搅拌 6 h。反应液静置冷却析出紫红色晶体, 抽滤, 水洗, 干燥, 得紫红色晶体 14.29 g, 收率 88%。同法, 用 4-氟邻苯二胺代替邻苯二胺合成 **F2**, 得亮黑色晶体, 收率 92%。同法用 4-硝基邻苯二胺代替邻苯二胺得到 **P2**, 紫红色固体, 收率 95%。

1.2 2,3-二氯-喹喔啉 (H3) 的合成 1,4-二氢喹喔啉-2,3-二酮 (**H2**) 60 mmol、新蒸 POCl₃ 120 mL、10 mL DMF, 回流搅拌 4 h。反应液倒入 800 mL 冰水中, 析出大量灰色固体, 抽滤, 水洗, 干燥后得灰色固体, 正丁醇重结晶得白色固体粉末 10.77 g, 收率 90%。

同法合成 **F3**, 白色固体粉末, 收率 91%; **P3**, 白色固体粉末, 收率 92%。

1.3 2-氯-3-苯氧基喹喔啉 (H4a) 的合成 2,3-二氯喹喔啉 (**H3**) 6.00 mmol 溶于 10 mL DMF 中, 加 K₂CO₃ 7.20 mmol, 滴加入苯酚 (6 mmol) 的 DMF (8 mL) 溶液, 70 °C 反应 1 h。反应液倒入 40 mL 饱和食盐水中, 静置, 过滤, 乙醇重结晶得浅黄色固体 0.85 g, 收率 55%。

同法合成 **H4b~H4h**、**F4a~F4h**、**P4a~P4f**。

1.4 2-胍基-3-苯氧基喹喔啉 (H5a) 的合成 2-氯-3-苯氧基喹喔啉 2.00 mmol (**H4a**)、80 mL 乙醇、1.5 mL 85% 水合肼, 常温搅拌 24 h, 过滤得棕黄色固体 0.46 mg, 收率 91%。同法合成 **H5b~H5h**、**F5a~F5h**。

1.5 N'-(3-苯氧基喹喔啉)-4-甲基苯磺酰肼 (H6a) 的合成 2-胍基-3-苯氧基喹喔啉 (**H5a**) 1.55 mmol 溶于 30 mL 二氯甲烷中, 加入对甲苯磺酰氯 1.86 mmol, 吡啶两滴, 常温搅拌 4 h, 反应液拌硅胶, 硅胶柱分离, 得浅黄色固体 0.41 g, 收率 65%, mp: 173.6~175.1 °C; ESI-MS (*m/z*): 405.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.95 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.53~7.45 (m, 2H), 7.39 (dd, *J* = 12.1, 5.6 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H), 7.26 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 2.15 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 152.60, 147.59, 143.44, 143.41, 138.37, 137.78, 135.20, 130.16, 129.38, 128.28, 127.54, 126.60, 126.01, 125.84, 125.69, 122.31, 21.26。

同法合成 **H6b~H6h**、**F6a~F6h**。

N'-(3-(3-甲氧基苯氧基)喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**H6b**), 浅黄色固体, 收率 63%, mp: 159.3~161.7 °C; ESI-MS (*m/z*): 435.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.95 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 9.83 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.38 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 12.5, 8.1 Hz, 3H), 6.91 (dd, *J* = 14.1, 5.3 Hz, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.17 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 160.72, 153.62, 147.47, 143.43, 143.41, 138.38, 137.81,

135.25, 130.55, 129.37, 128.29, 127.56, 126.66, 125.84, 125.70, 114.34, 111.69, 108.26, 55.86, 21.26。

N'-(3-(4-甲氧基苯氧基)喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**H6c**), 浅黄色固体, 收率 65%, mp: 177.0~178.6 °C; ESI-MS (*m/z*): 435.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.93 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.38 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.24 (dd, *J* = 14.1, 5.4 Hz, 5H), 7.03 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.16 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.12, 147.95, 145.79, 143.41, 143.40, 138.28, 137.79, 135.29, 129.37, 128.28, 127.38, 126.53, 125.81, 125.64, 123.27, 115.03, 55.87, 21.26。

N'-(3-(3,5-甲氧基苯氧基)喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**H6d**), 浅黄色固体, 收率 65%, mp: 135.1~137.4 °C; ESI-MS (*m/z*): 465.15 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.95 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.45 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.30 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H), 7.22 (s, 1H), 6.54 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 6.46 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H), 3.76 (s, 6H), 2.17 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.34, 154.24, 147.35, 143.40, 143.39, 138.37, 137.85, 135.26, 129.37, 128.28, 127.58, 126.72, 125.82, 125.70, 100.81, 98.01, 55.96, 21.27。

N'-(3-(3-氯苯氧基)喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**H6e**), 浅黄色固体, 收率 67%, mp: 148.7~150.9 °C; ESI-MS (*m/z*): 439.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.99 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 9.86 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.57~7.50 (m, 2H), 7.47~7.38 (m, 3H), 7.36 (dd, *J* = 8.1, 2.2 Hz, 1H), 7.33~7.28 (m, 1H), 7.28~7.24 (m, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 153.32, 147.18, 143.41, 143.32, 138.53, 137.81, 135.03, 133.91, 131.55, 129.38, 128.29, 127.77, 126.70, 126.13, 125.86, 125.76, 122.61, 121.24, 21.26。

N'-(3-(4-氯苯氧基)喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**H6f**), 浅黄色固体, 收率 62%, mp: 189.2~189.8 °C; ESI-MS (*m/z*): 439.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.96 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 9.85 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.56~7.52 (m, 2H), 7.40 (s, 1H), 7.39 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.31~7.26 (m, 1H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.14 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 151.35, 147.32, 143.42, 143.34, 138.46, 137.79, 135.06, 130.05, 129.38, 128.28, 127.70, 126.64, 125.85, 125.75, 124.27, 21.26。

N'-(3-(3-氟苯氧基)喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**H6g**), 浅黄色固体, 收率 68%, mp: 146.3~148.5 °C; ESI-MS (*m/z*): 424.10 [M]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.98 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 9.86 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.54 (dd, *J* = 15.2, 8.2 Hz, 1H), 7.43 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.37~7.28 (m, 2H), 7.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 3H), 7.20~7.14 (m, 1H), 2.16 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 162.80 (d, *J* = 244.6 Hz), 153.60 (d, *J* = 11.3 Hz), 147.15, 143.42, 143.36, 138.54, 137.83, 135.08, 131.36 (d, *J* = 9.5 Hz), 129.39, 128.29, 127.78, 126.73, 125.87, 125.77, 118.49 (d, *J* = 3.0 Hz), 112.95 (d, *J* = 20.9 Hz), 110.21 (d, *J* = 24.5 Hz), 21.25。

4-((3-对甲苯磺酰肼)喹喔啉-2-基)氧基苯甲酸乙酯 (**H6h**), 白色固体, 收率 65%, mp: 154.0~156.1 °C; ESI-MS (*m/z*): 477.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.00 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 9.92 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.51 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.48~7.39 (m, 2H), 7.31 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 4.35 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.55, 156.49, 146.96, 143.43, 138.59, 137.77, 134.98, 132.16, 131.41, 129.38, 129.13, 128.28, 127.90, 127.43, 126.72, 122.42, 61.30, 21.26, 14.66。

N'-(3-苯氧基-7-氟喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6a**), 白色固体, 收率 70%, mp: 183.5~184.4 °C; ESI-MS (*m/z*): 423.00 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.97 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.50 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 7.2 Hz, 4H), 7.27 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.23~7.17 (m, 2H), 2.17 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 159.80 (d, *J* = 242.0 Hz), 152.46, 148.39, 143.43, 143.08, 137.82, 135.78 (d, *J* = 13.0 Hz), 135.30, 130.20, 129.38, 128.29, 127.43 (d, *J* = 9.7 Hz), 126.17, 122.30, 116.29 (d, *J* = 24.0 Hz), 111.14 (d, *J* = 22.8 Hz), 21.26。

N'-(3-(3-甲氧基苯氧基)-7-氟喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6b**), 白色固体, 收率 75%, mp: 177.6~180.4 °C; ESI-MS (*m/z*): 453.05 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.93 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.40 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.36~7.30 (m, 1H), 7.30~7.26 (m, 1H), 7.24 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 6.97~6.86 (m, 3H), 3.80 (s, 3H), 2.19 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 159.81 (d, *J* = 239.0 Hz), 153.46, 148.28, 143.42, 143.07, 137.85, 135.82 (d, *J* = 12.8 Hz),

135.32, 130.59, 129.38, 129.13, 128.30, 127.42 (d, *J* = 9.7 Hz), 116.31 (d, *J* = 24.3 Hz), 114.32, 111.90, 111.20 (d, *J* = 22.4 Hz), 108.26, 55.89, 21.25。

N'-(3-(4-甲氧基苯氧基)-7-氟喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6c**), 白色固体, 收率 72%, mp: 171.1~172.8 °C; ESI-MS (*m/z*): 453.05 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.92 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 3H), 7.26 (d, *J* = 13.3 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 9.3 Hz, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.18 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 159.80 (d, *J* = 241.8 Hz), 150.18, 148.56, 143.41, 143.07, 137.82, 135.85 (d, *J* = 12.8 Hz), 135.32, 135.25, 130.54, 129.37, 129.13, 128.29, 127.40 (d, *J* = 9.8 Hz), 122.05, 116.17 (d, *J* = 24.5 Hz), 111.10 (d, *J* = 22.5 Hz), 20.92。

N'-(3-(3,5-二甲氧基苯氧基)-7-氟喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6d**), 白色固体, 收率 75%, mp: 186.4~187.1 °C; ESI-MS (*m/z*): 483.10 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.95 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.32 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.27 (dd, *J* = 13.2, 7.4 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.54 (s, 2H), 6.46 (s, 1H), 3.76 (s, 6H), 2.19 (s, 3H); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 161.37, 159.80 (d, *J* = 242.2 Hz), 154.05, 148.16, 143.40, 143.01, 137.88, 135.78, 135.30, 129.37, 128.29, 127.41, 116.40, 111.34, 100.82, 98.18, 55.97, 21.26。

N'-(3-(3-氯苯氧基)-7-氟喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6e**), 白色固体, 收率 70%, mp: 186.1~186.7 °C; ESI-MS (*m/z*): 457.00 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.96 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.57~7.50 (m, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.27 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 159.83 (d, *J* = 242.2 Hz), 153.17, 148.02, 143.43, 142.97, 137.84, 135.62 (d, *J* = 12.9 Hz), 135.49, 133.97, 131.58, 129.38, 128.31, 127.46 (d, *J* = 9.8 Hz), 126.30, 122.65, 121.26, 116.54 (d, *J* = 24.5 Hz), 111.25 (d, *J* = 22.5 Hz), 21.25。

N'-(3-(4-氯苯氧基)-7-氟喹喔啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6f**), 白色固体, 收率 70%, mp: 199.4~200.2 °C; ESI-MS (*m/z*): 457.00 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.95 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.56 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.33 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H), 2.18 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 159.83 (d, *J* = 242.0 Hz), 151.21, 148.14, 143.43,

142.98, 137.82, 135.64 (d, $J = 12.7$ Hz), 135.42, 130.24, 130.10, 129.38, 128.30 (s), 127.46 (d, $J = 9.8$ Hz), 124.28, 116.46 (d, $J = 24.5$ Hz), 111.18 (d, $J = 22.9$ Hz), 21.25。

N'-(3-(3-氟苯氧基)-7-氟喹啉-2-基)-4-甲基-苯磺酰肼 (**F6g**), 白色固体, 收率 72%, mp: 174.2~175.6 °C; ESI-MS (m/z): 441.00 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.99 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.54 (dd, $J = 15.3, 8.1$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J = 9.8$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.26~7.15 (m, 5H), 2.18 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 162.80 (d, $J = 244.7$ Hz), 159.84 (d, $J = 242.2$ Hz), 153.40 (d, $J = 11.3$ Hz), 147.97, 143.43, 142.96, 137.85, 135.63 (d, $J = 12.8$ Hz), 135.47, 131.40 (d, $J = 9.6$ Hz), 129.39, 128.30, 127.46 (d, $J = 9.9$ Hz), 118.51 (d, $J = 3.1$ Hz), 116.54 (d, $J = 24.4$ Hz), 113.13 (d, $J = 21.0$ Hz), 111.25 (d, $J = 22.5$ Hz), 110.27 (d, $J = 24.6$ Hz), 21.25。

4-甲基-((3-(2-苯磺酰肼)-6-氟喹啉-2-基)-4-氧基)苯磺酰肼 (**F6h**), 白色固体, 收率 70%, mp: 172.2~173.8 °C; ESI-MS (m/z): 495.05 [M-H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.97 (s, 1H), 9.92 (s, 1H), 8.09 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.34 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 4.36 (q, $J = 13.9, 7.0$ Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.36 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 165.55, 159.84 (d, $J = 242.3$ Hz), 156.29, 147.81, 143.45, 143.01, 137.82, 135.57 (d, $J = 7.6$ Hz), 135.54, 131.43, 129.39, 128.30, 127.64, 127.50 (d, $J = 9.9$ Hz), 122.49, 116.69 (d, $J = 24.6$ Hz), 111.23 (d, $J = 22.5$ Hz), 61.32, 21.25, 14.66。

1.6 3-氯-2-苯氧基-6-氨基喹啉 (P5a) 的合成 3-氯-2-苯氧基-6-硝基喹啉 6.00 mmol (**P4a**), 100 mL 乙醇, 加入 5% 钯炭, N₂ 将空气排尽, 再缓慢通入 H₂, 常温搅拌过夜, 反应液过滤, 滤液拌硅胶, 硅胶柱分离, 得亮黄色固体粉末, 收率 41%。

同法合成 **P5b~P5f**。

1.7 *N*-(2-苯氧基-3-氯喹啉-6基) 丙烯酰胺 (P6a) 的合成 3-氯-2-苯氧基-6-氨基喹啉 0.30 mmol (**P5a**), 10 mL 二氯甲烷, 于 0 °C 下加入丙烯酰氯 0.45 mmol, 移置室温搅拌 2 h, 反应液, 硅胶柱分离, 得浅黄色固体 (**P6a**), 收率 65%, mp: 154.8~156.2 °C, ESI-MS (m/z): 324.10 [M-H]⁻, ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.11 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.40 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.90~7.83 (m, 3H), 7.00 (dd, $J = 16.9, 10.0$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz,

DMSO- d_6) δ 164.13, 153.05, 152.38, 139.65, 139.58, 139.49, 135.56, 131.96, 130.31, 128.26, 127.69, 126.22, 124.41, 122.03, 115.60。

同法合成 **P6b~P6f**。

N-(2-(3-甲氧基苯氧基)-3-氯喹啉-6基) 丙烯酰胺 (**P6b**), 浅黄色固体, 收率 65%, mp: 151.4~152.7 °C, ESI-MS (m/z): 354.00 [M-H]⁻, ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.59 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.92 (s, 2H), 6.50 (dd, $J = 16.5, 10.1$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 5.86 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 164.13, 160.91, 154.08, 152.32, 139.62, 139.59, 139.50, 135.62, 131.96, 130.70, 128.27, 127.74, 124.41, 115.58, 114.02, 112.01, 107.99, 55.89。

N-(2-(4-甲氧基苯氧基)-3-氯喹啉-6基) 丙烯酰胺 (**P6c**), 浅黄色固体, 收率 67%, mp: 158.4~159.7 °C, ESI-MS (m/z): 354.00 [M-H]⁻, ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.58 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.50 (dd, $J = 16.8, 10.0$ Hz, 1H), 6.35 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 5.85 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 164.11, 157.31, 152.73, 146.25, 139.59, 139.42, 139.34, 135.60, 131.97, 128.22, 127.60, 124.34, 123.05, 115.61, 115.19, 55.91。

N-(2-(3,5-二甲氧基苯氧基)-3-氯喹啉-6基) 丙烯酰胺 (**P6d**), 浅黄色固体, 收率 60%, mp: 147.9~149.5 °C, ESI-MS (m/z): 384.00 [M-H]⁻, ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.60 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 6.56 (s, 2H), 6.55~6.48 (m, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.36 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.86 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 3.77 (s, 6H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 164.14, 161.55, 154.74, 152.25, 139.61, 139.52, 135.69, 131.96, 131.90, 128.28, 127.82, 124.42, 115.57, 100.54, 98.30, 55.98。

N-(2-(3-氯苯氧基)-3-氯喹啉-6基) 丙烯酰胺 (**P6e**), 浅黄色固体, 收率 70%, mp: 174.5~176.2 °C, ESI-MS (m/z): 359.95 [M-H]⁻, ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.61 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.63~7.48 (m, 2H), 7.40 (dd, $J = 18.3, 8.1$ Hz, 2H), 6.50 (dd, $J = 16.8, 10.1$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.86 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 164.17, 153.78, 152.17, 139.78, 139.67, 139.54, 135.45, 134.10,

131.95, 131.73, 128.34, 127.81, 126.39, 124.49, 122.47, 121.05, 115.56。

N-(2-(3-氟苯氧基)-3-氯喹喔啉-6基)丙烯酰胺 (**P6f**), 浅黄色固体, 收率 68%, mp: 167.8~168.5 °C, ESI-MS (*m/z*): 341.95 [M-H]⁻, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.61 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 15.3, 8.0 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 19.1, 8.9 Hz, 2H), 6.50 (dd, *J* = 16.9, 10.1 Hz, 1H), 6.36 (d, *J* = 16.6 Hz, 1H), 5.86 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 164.16, 162.92 (d, *J* = 244.9 Hz), 154.04 (d, *J* = 11.4 Hz), 152.08, 139.78, 139.69, 139.53, 135.47, 131.95, 131.55 (d, *J* = 9.6 Hz), 128.32, 127.82, 124.49, 118.27, 115.55, 113.20 (d, *J* = 20.9 Hz), 110.03 (d, *J* = 24.6 Hz)。

1.8 中间体核磁共振氢谱 2,3-二氯喹喔啉 (**H3**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.13~8.05 (m, 2H), 7.99~7.92 (m, 2H)。

2-氯-3-苯氧基喹喔啉 (**H4a**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06~7.98 (m, 1H), 7.80~7.66 (m, 3H), 7.53 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.36 (dd, *J* = 15.0, 7.7 Hz, 3H)。

2-胍基-3-苯氧基喹喔啉 (**H5a**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.95 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.46~7.39 (m, 2H), 7.32 (dd, *J* = 13.1, 7.6 Hz, 3H), 7.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.59 (s, 2H)。

2-氯-3-(3-甲氧基苯氧基)喹喔啉 (**H4b**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.14~7.88 (m, 1H), 7.80~7.71 (m, 3H), 7.41 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.00 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.93 (td, *J* = 8.6, 2.2 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H)。

2-胍基-3-(3-甲氧基苯氧基)喹喔啉 (**H5b**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.92 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.45~7.40 (m, 2H), 7.38 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.24 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.92 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 6.90~6.85 (m, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.78 (s, 3H)。

2-氯-3-(4-甲氧基苯氧基)喹喔啉 (**H4c**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.01 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.74 (dt, *J* = 14.6, 7.4 Hz, 3H), 7.29 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.05 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H)。

2-胍基-3-(4-甲氧基苯氧基)喹喔啉 (**H5c**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.91 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.24 (dd, *J* = 12.7, 6.3 Hz, 3H), 7.03 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.80 (s, 3H)。

2-氯-3-(3,5-二甲氧基苯氧基)喹喔啉 (**H4d**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.02 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.83~7.68 (m, 3H), 6.58 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 6.48 (s, 1H), 3.76 (s, 6H)。

2-胍基-3-(3,5-二甲氧基苯氧基)喹喔啉 (**H5d**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.91 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 17.1, 7.6 Hz, 2H), 7.26 (dd, *J* = 11.0, 4.1 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.45 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.76 (s, 6H)。

2-氯-3-(3-氯苯氧基)喹喔啉 (**H4e**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.03 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.2, 2.2 Hz, 1H)。

2-胍基-3-(3-氯苯氧基)喹喔啉 (**H5e**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.97 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.53 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.45 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.38 (t, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.25 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.60 (s, 2H)。

2-氯-3-(3-氯苯氧基)喹喔啉 (**H4f**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.03 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.80~7.71 (m, 3H), 7.60~7.57 (m, 2H), 7.47~7.41 (m, 2H)。

2-胍基-3-(4-氯苯氧基)喹喔啉 (**H5f**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.98 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.58~7.53 (m, 2H), 7.43 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.42~7.39 (m, 2H), 7.25 (dd, *J* = 11.1, 4.0 Hz, 1H), 4.59 (s, 2H)。

2-氯-3-(3-氟苯氧基)喹喔啉 (**H4g**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.04 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.70 (dd, *J* = 6.2, 3.5 Hz, 1H), 7.62~7.54 (m, 2H), 7.39 (dd, *J* = 8.9, 6.9 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 7.21 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H)。

2-胍基-3-(3-氟苯氧基)喹喔啉 (**H5g**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.97 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (dd, *J* = 15.1, 8.1 Hz, 1H), 7.48~7.42 (m, 2H), 7.34 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.25 (dd, *J* = 13.3, 7.0 Hz, 2H), 7.18 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.59 (s, 2H)。

4-((3-氯喹喔啉-2-基)氧基)苯甲酸乙酯 (**H4h**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.13~8.09 (m, 2H), 8.04 (dd, *J* = 6.7, 2.8 Hz, 1H), 7.82~7.72 (m, 3H), 7.57~7.52 (m, 2H), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

4-((3-胍基喹喔啉-2-基)氧基)苯甲酸乙酯 (**H5h**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.02 (s, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.48~7.41 (m, 2H), 7.27 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

2,3-二氯-6-氟喹喔啉 (**F3**), ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.19 (dd, *J* = 7.7, 6.1 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* =

9.2 Hz, 1H), 7.90 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H)。

3-氯-6-氟-2-苯氧基喹喔啉 (**F4a**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.10 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.66 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.54 (dd, $J = 14.6, 8.0$ Hz, 3H), 7.39 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 7.34 (s, 1H)。

3-胍基-6-氟-2-苯氧基喹喔啉 (**F5a**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.95 (s, 1H), 7.66~7.60 (m, 1H), 7.50 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.42~7.26 (m, 4H), 7.22 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.57 (s, 2H)。

3-氯-2-(3-甲氧基苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F4b**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.10 (dd, $J = 9.2, 5.9$ Hz, 1H), 7.66 (td, $J = 8.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 9.8, 2.7$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.00 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.93 (td, $J = 7.8, 2.3$ Hz, 2H), 3.78 (s, 3H)。

3-胍基-2-(3-甲氧基苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F5b**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.93 (s, 1H), 7.62 (dd, $J = 9.0, 5.9$ Hz, 1H), 7.39 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.32 (td, $J = 8.8, 2.9$ Hz, 1H), 7.25 (dd, $J = 9.8, 2.9$ Hz, 1H), 6.96~6.87 (m, 3H), 4.56 (s, 2H), 3.78 (s, 3H)。

3-氯-2-(4-甲氧基苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F4c**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.21 (dd, $J = 9.3, 5.9$ Hz, 1H), 8.03~7.96 (m, 1H), 7.69~7.61 (m, 1H), 7.31 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 2.37 (s, 3H)。

3-胍基-2-(4-甲氧基苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F5c**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.94 (s, 1H), 7.61 (dd, $J = 9.0, 5.9$ Hz, 1H), 7.35~7.30 (m, 1H), 7.30~7.26 (m, 2H), 7.24~7.15 (m, 3H), 4.55 (s, 2H), 2.36 (s, 3H)。

3-氯-2-(3,5-二甲氧基苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F4d**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.20~7.99 (m, 1H), 7.73~7.53 (m, 1H), 6.57 (s, 2H), 6.47 (s, 1H), 3.75 (s, 6H)。

3-胍基-2-(3,5-二甲氧基苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F5d**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.88 (s, 1H), 7.69~7.55 (m, 1H), 7.30 (dd, $J = 16.4, 9.0$ Hz, 2H), 6.55 (s, 2H), 6.45 (s, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.75 (s, 6H)。

3-氯-2-(3-氯苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F4e**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.11 (dd, $J = 9.1, 5.8$ Hz, 1H), 7.72~7.65 (m, 1H), 7.62 (dd, $J = 9.7, 2.7$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.47~7.42 (m, 1H), 7.39 (dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, 1H)。

3-胍基-2-(3-氯苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F5e**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.96 (s, 1H), 7.67~7.61 (m, 1H), 7.54 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.43~7.36 (m, 2H), 7.33 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 4.62 (s, 2H)。

3-氯-2-(3-氯苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F4f**), ^1H NMR

(400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.10 (dd, $J = 9.2, 5.8$ Hz, 1H), 7.67 (td, $J = 8.8, 2.8$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 6.6, 4.5$ Hz, 3H), 7.47~7.40 (m, 2H)。

3-胍基-2-(3-氯苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F5f**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.98 (s, 1H), 7.67~7.59 (m, 1H), 7.56 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.37~7.30 (m, 1H), 7.25 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.65 (s, 2H)。

3-氯-2-(3-氟苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F4g**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.15~8.08 (m, 1H), 7.69 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 7.60~7.54 (m, 1H), 7.38 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.29~7.21 (m, 2H)。

3-胍基-2-(3-氟苯氧基)-6-氟喹喔啉 (**F5g**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.97 (s, 1H), 7.70~7.58 (m, 1H), 7.54 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.44~7.36 (m, 2H), 7.36~7.31 (m, 1H), 7.27 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 4.65 (s, 2H)。

4-((3-氯-6-氟喹喔啉-2-基)氧基)苯甲酸乙酯 (**F4h**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.12 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 7.69 (t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J = 10.1$ Hz, 3H), 4.36 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.36 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H)。

4-[(3-胍基-6-氟喹喔啉-2-基)氧基]苯甲酸乙酯 (**F5h**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.00 (s, 1H), 8.17~8.04 (m, 2H), 7.73~7.66 (m, 1H), 7.66~7.58 (m, 1H), 7.58~7.49 (m, 2H), 7.40~7.21 (m, 1H), 4.59 (s, 2H), 4.37 (q, 2H), 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)。

2,3-二氯-6-硝基喹喔啉 (**P3**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.95~8.86 (m, 1H), 8.62 (dd, $J = 9.2, 0.7$ Hz, 1H), 8.33 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H)。

3-氯-6-硝基-2-苯氧基喹喔啉 (**P4a**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.83 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.44 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.59~7.50 (m, 2H), 7.41 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H)。

3-氯-2-(3-甲氧基苯氧基)-6-硝基喹喔啉 (**P4b**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.84 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.45 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.44 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.00~6.93 (m, 2H), 3.78 (s, 3H)。

3-氯-2-(4-甲氧基苯氧基)-6-硝基喹喔啉 (**P4c**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.82 (s, 1H), 8.47~8.41 (m, 1H), 7.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H)。

3-氯-2-(3,5-二甲氧基苯氧基)-6-硝基喹喔啉 (**P4d**), ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.84 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.45 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.51 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H),

3.77 (s, 6H)。

3-氯-2-(3-氯苯氧基)-6-硝基喹喔啉 (**P4e**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.85 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.46 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.62~7.60 (m, 1H), 7.58 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.47 (ddd, $J = 8.1, 2.0, 0.9$ Hz, 1H), 7.42 (ddd, $J = 8.2, 2.2, 0.9$ Hz, 1H)。

3-氯-2-(3-氟苯氧基)-6-硝基喹喔啉 (**P4f**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.85 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 8.46 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.60 (td, $J = 8.3, 6.8$ Hz, 1H), 7.40 (dt, $J = 9.9, 2.3$ Hz, 1H), 7.32~7.22 (m, 2H)。

3-氯-2-苯氧基-6-氨基喹喔啉 (**P5a**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.55 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 6.2, 2.6$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.64~6.60 (m, 2H), 6.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 6.37 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 5.94 (s, 2H)。

3-氯-2-(3-甲氧基苯氧基)-6-氨基喹喔啉 (**P5b**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.46 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 5.96 (s, 2H), 3.78 (s, 3H)。

3-氯-2-(4-甲氧基苯氧基)-6-氨基喹喔啉 (**P5c**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.41 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.90 (s, 1H), 5.91 (s, 2H), 3.80 (s, 3H)。

3-氯-2-(3,5-二甲氧基苯氧基)-6-氨基喹喔啉 (**P5d**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.48 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.44 (s, 2H), 6.41 (s, 1H), 5.95 (s, 2H), 3.74 (s, 6H)。

3-氯-2-(3-氯苯氧基)-6-氨基喹喔啉 (**P5e**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.51 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 5.99 (s, 2H)。

3-氯-2-(3-氟苯氧基)-6-氨基喹喔啉 (**P5f**), $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.55~7.49 (m, 1H), 7.48 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J = 9.0$ Hz, 3H), 6.91 (s, 1H), 6.00 (s, 2H)。

2 生物活性测试

用LY294002作为阳性对照化合物,采用MTT法,以人非小细胞肺癌A549、人乳腺癌细胞MCF-7、人结肠癌细胞HCT-116和人肝癌细胞HepG2 4种癌细胞

为筛选对象,分别对22个目标化合物进行体外抗肿瘤活性测试。于96孔板中接种处于对数期的癌细胞每孔 5×10^3 个,培养24 h后加入待测化合物。继续培养48 h后加入MTT溶液20 μL ,培养4 h后弃上清液,加入DMSO 200 μL ,振荡,酶标仪570 nm波长测OD值,重复3次,取平均值,计算得 IC_{50} 。抑制率(%) = ((对照组OD值 - 给药组OD值) / 对照组OD值) $\times 100\%$ 。

References

- [1] Yu JS, Cui W. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination [J]. *Development*, 2016, 143: 3050-3060.
- [2] Liu P, Cheng H, Roberts TM, et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8: 627-644.
- [3] Bar V, Julie GG, Mariona G, et al. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 329-341.
- [4] Zhao W, Qiu Y, Kong D. Class I phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors for cancer therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7: 27-37.
- [5] Knight ZA, Shokat KM. Chemically targeting the PI3K family [J]. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35: 245-249.
- [6] Marone R, Cmiljanovic V, Giese B, et al. Targeting phosphoinositide 3-kinase—moving towards therapy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1784: 159-185.
- [7] Ben M, Rodrigo D, Josep T. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway—beyond rapalogs [J]. *Oncotarget*, 2010, 1: 530-543.
- [8] Prasad G, Sottero T, Yang X, et al. Inhibition of PI3K/mTOR pathways in glioblastoma and implications for combination therapy with erlotinib, temozolomide, and radiation [J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13: 384-392.
- [9] Dienstmann R, Rodon J, Serra V, et al. Picking the point of inhibition: a comparative review of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13: 1021-1031.
- [10] Wu P, Su Y, Liu X, et al. Synthesis and biological evaluation of novel 2-arylamino-3-(arylsulfonyl) quinoxalines as PI3K α inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 5540-5548.
- [11] Peng W, Yi S, Liu X, et al. Discovery of novel 2-piperidinol-3-(arylsulfonyl) quinoxalines as phosphoinositide 3-kinase α (PI3K α) inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20: 2837-2844.
- [12] Wu P, Su Y, Liu X, et al. Discovery of novel morpholino-quinoxalines as PI3K α inhibitors by pharmacophore-based screening [J]. *Med Chem Commun*, 2012, 3: 659-662.
- [13] Corona P, Carta A, Loriga M, et al. Synthesis and *in vitro* antitumor activity of new quinoxaline derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44: 1579-1591.