·研究论文·

具有 Src 激酶和 NO 合酶双重抑制作用的 4-芳杂胺-3-氰基喹啉类抗肿瘤化合物的设计、合成与生物活性研究

曹 鑫[1,2], 尤启冬[1,2*], 李志裕[1,2], 郭青龙[1], 杨 勇[1],
尚 靖[3], 严 明[3], 陈基旺[4], 陈梦伶[4]

(1. 中国药科大学江苏省肿瘤发生与干预重点实验室, 江苏 南京 210009; 2. 中国药科大学药物化学教研室, 江苏 南京 210009; 3. 中国药科大学国家新药筛选中心, 江苏 南京 210009; 4. 台湾大学药学系, 台北 100)

摘要: Src 与 iNOS 为肿瘤发生、转移中位于不同通路的重要靶酶，本文采用分子拼合的药物设计原理，设计合成了全新的酪氨酸 Src 蛋白激酶与 iNOS 的双重抑制剂。所设计合成的化合物经过 Src 激酶和 iNOS 的抑制活性检测及体外抗肿瘤测试，实验结果表明大部分化合物对于两种靶酶均表现出一定的抑制活性，部分化合物对于多种肿瘤细胞的增殖有一定的抑制作用。其中化合物 **33** 对 Src 激酶和 iNOS 均有比较好的抑制活性，对于肝癌 HepG2 和结肠癌 HT-29 细胞的增殖也有明显的抑制作用。

关键词: 抗肿瘤; Src 激酶; NO 合酶; 双重抑制剂
中图分类号: R916.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870 (2009) 03-0288-08

The design, synthesis and anticancer activity of 4-heteroarylamino-3-cyanoquinolines as dual inhibitors of c-Src and iNOS

CAO Xin[1,2], YOU Qi-dong[1,2*], LI Zhi-yu[1,2], GUO Qing-long[1], YANG Yong[1], SHANG Jing[3], YAN Ming[3], CHEN Ji-wang[4], CHEN Meng-ling[4]

(*1. Jiangsu Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 3. National Drug Screening Center, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 4. School of Pharmacy, National Taiwan University, Taipei 100*)

Abstract: Because c-Src and iNOS are key regulatory enzymes in tumorigenesis, a new series of 4-heterocycle amine-3-quinolinecarbonitriles as potent dual inhibitors of both enzymes were designed, synthesized and evaluated as multiple targets agents in cancer therapy. All compounds were evaluated by two related enzyme inhibition assays and an anti-proliferation assay *in vitro*. The results showed that most compounds inhibited *c*-Src and iNOS well. The best compound **33** inhibited both enzymes with the IC_{50} values of 0.048 4 μmol·L^{-1} and 34.5 μmol·L^{-1}, respectively. Some of the compounds also showed moderate anti-proliferation activities at 10 μmol·L^{-1} against colon cancer HT-29 and liver cancer HepG2 cell lines.

Key words: anticancer; Src kinase; NOS; dual inhibitors

Src酪氨酸激酶 (Src tyrosine kinases) 是一种能催化ATP上的γ-磷酸从供体转移到其底物蛋白的特定酪氨酸残基上，选择性地使底物的酪氨酸残基磷酸化并介导细胞生长、分裂信号传导的一种非受体酪氨酸激酶。Src在许多细胞调节过程中起着重要作用, 例如有丝分裂、细胞分化和形成、血管增生、细胞周期的生长控制、转录调节、肿瘤的生成以及细胞凋亡等[1,2]。为了通过抑制非正常激活的Src激酶在细胞增殖信号中的级联信号放大作用来阻滞细胞信号的转导，科

收稿日期: 2009-01-09.
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371676).
*通讯作者 Tel / Fax: 86-25-83271351, E-mail: youqidong@gmail.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

学家建议采用Src抑制剂对于非正常激活的细胞增殖信号进行阻断，从而达到治疗癌症的目的。

近年来 Src 抑制剂的研究已取得了突破性的进展。例如，由 BMS 公司开发的 Src 小分子抑制剂 dasatinib (**1**) 已于 2006 年在美国上市[3], 由 Wyeth 公司开发的 Src 激酶小分子抑制剂 bosutinib (**2**) 也已在 CML 治疗领域进入了 III 期临床试验阶段[4](图 1)。

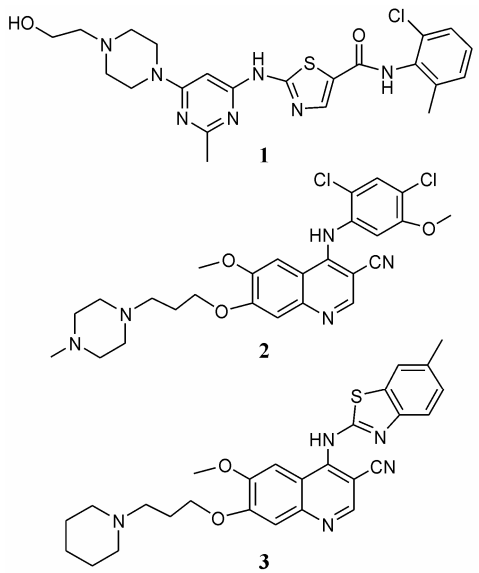


Figure 1　Selective Src inhibitors

iNOS 为诱生型 NO 合成酶, 与肿瘤的发生、转移、恶变及肿瘤组织的血管生成等有着复杂而密切的联系。在内毒素、肿瘤坏死因子-α 和干扰素-γ 等诱导下, iNOS 由巨噬细胞等大量表达产生, 随即大量合成 NO, 在抑制和杀伤肿瘤细胞的同时对正常细胞产生不良影响, 引起细胞周期失控, 也引发炎症、休克、哮喘等疾病的发生, 对肿瘤的发生和转移有促进作用[5, 6]。因此有科学家提出采用 iNOS 抑制剂, 选择性地抑制 iNOS 的促肿瘤作用, 调控非正常的 NO 水平, 达到间接控制肿瘤发展的目的, 对预防和治疗肿瘤有一定的研究意义[7](图 2)。

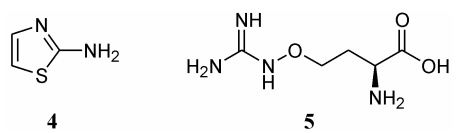


Figure 2　Some selective iNOS inhibitors

为了克服肿瘤细胞所有强大的信号转导代偿能力和多药耐药性, 多靶点多通路同时对肿瘤进行抑制可以比较好的达到抗肿瘤目的, 在肿瘤临床领域广泛应用的“鸡尾酒”治疗方法对肿瘤的治疗也取得了显著效果。Src 与 iNOS 分属于肿瘤发生和转移的不同信号转导通路, 通过使用双重抑制剂对这两个靶点同时抑制, 将能有效地提高化合物对肿瘤细胞增殖的抑制活性, 并可能对肿瘤细胞快速产生的多药耐药性起到一定的抑制作用。近年来, 本课题组基于多靶点药物设计理论提出的抗肿瘤新型 Src 与 iNOS 双重抑制剂已经取得一定的研究进展[8]。其中化合物 CPU-Y020 (**3**) 对 Src 和 iNOS 均有较好的抑制作用, 目前在进行临床前进一步评价[9](图 1)。

由于在多靶点药物设计中，各个靶点抑制活性的平衡是个很重要的问题, 而过多考虑各种复杂参数则往往会使情况更加复杂而面临失败，因此多靶点药物的开发需要设计高质量的多靶点配体先导物。基于作者对 Src 与 iNOS 在肿瘤发生过程中不同分子生物学过程的研究，作者认为这两个靶点中 Src 在肿瘤的发展过程中起更加重要的作用。因此在考虑两个靶点抑制活性的重点时将优先考虑对 Src 激酶的抑制，而对 iNOS 的抑制则处于从属地位。经过对现有 Src 抑制剂的构效关系研究，作者选择化合物 bosutinib 的母体为先导结构, 采用在药物开发中分子拼合的药物分子设计原理, 以对 Src 激酶有明确抑制作用的 3-氰基喹啉母体为分子骨架, 在其 4 位芳胺位置引入对 iNOS 有选择性抑制作用的 2-氨基噻唑衍生物等基团，将 Src 激酶抑制剂活性结构和 iNOS 活性抑制片段结合在一起，设计合成了全新的酪氨酸 Src 蛋白激酶与 iNOS 的双重抑制剂 (图 3)。沿用本设计思路, 本课题组相继报道了两类对于两个靶酶同时具有一定抑制活性的抗肿瘤化合物[8, 9]。在此工作基础上, 本论文报道了新合成化合物 12 个，分别考察了这些新化合物对 Src 与 iNOS 的抑制活性，以及它们对多种肿瘤细胞的抑制作用。

1　合成方法

本类新化合物的合成分别以 2-羟基-5-硝基甲苯 (**6**) 及 5-硝基愈创木酚 (**7**) 为起始原料, 先将酚羟基用异丙基保护, 而后硝基还原为胺基, 所得芳胺与 3-乙氧基-2-氰基-丙烯酸乙酯缩合得到缩合产物, 缩合物以液体石蜡为溶剂在高温下环合得到取代的喹诺酮母环, 该中间体经 $POCl_3$ 作用氯代芳构化得到关键中间体 4-氯-3-氰基喹啉 (**8**, **9**), 化合物 **8** 或 **9** 与不同的取代芳胺作用得到 4-杂环芳胺取代的 3-氰基喹啉。在 $AlCl_3$ 或者 HBr 回流的条件下将 4-异丙基脱除, 引入不同取代胺基即得目标化合物 (**25**～**36**)[5, 9](合成路线 1)。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

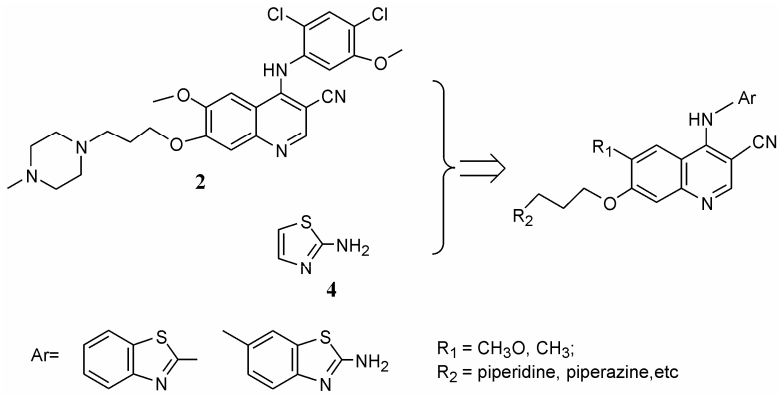
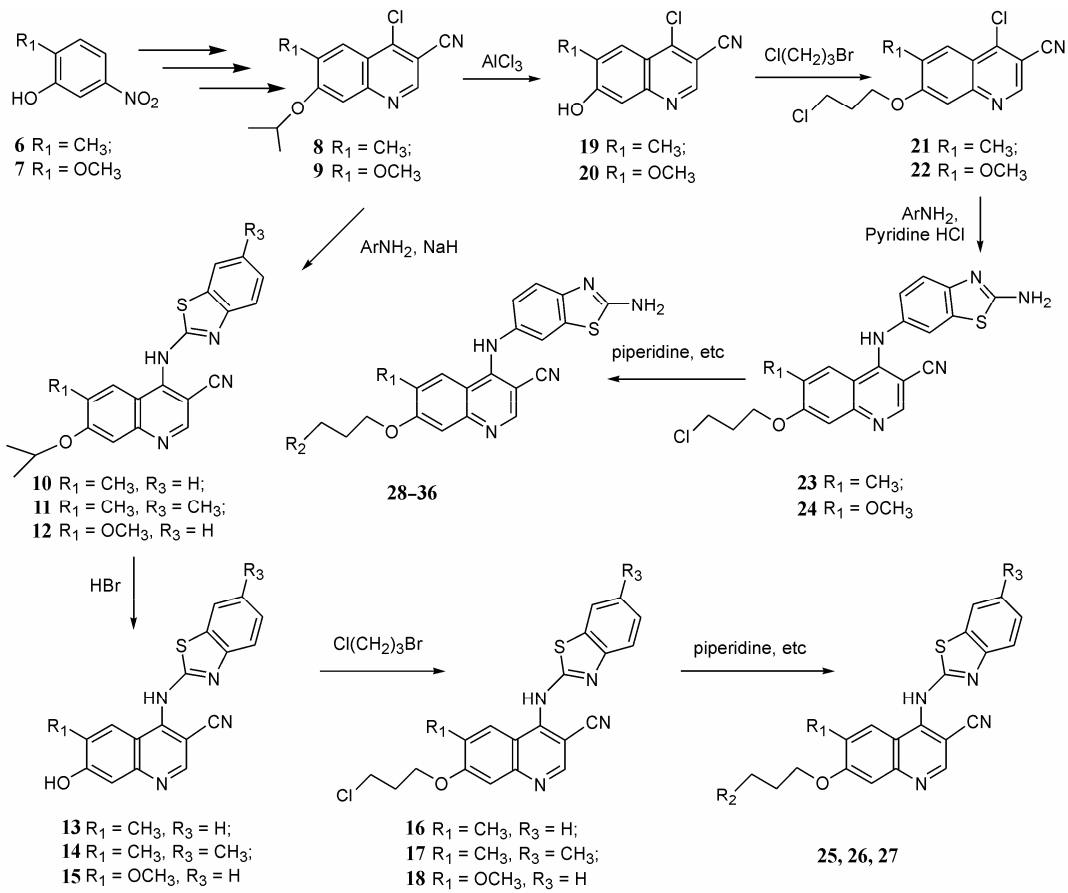


Figure 3　Design of dual inhibitors of Src and iNOS



Scheme 1　Synthetic route of target compounds

2　生物活性测试

为了检测目标化合物对两种靶酶的抑制活性，分别采用酪氨酸蛋白激酶活性测试试剂盒 (tyrosine kinase assay kit, Invitrogen)[10, 11]、一氧化氮合成酶检测试剂盒 (nitric oxide synthase assay kit, Beyotime)[12, 13] 进行了 Src 蛋白激酶抑制活性和 iNOS 抑制活性的筛选测试，测试结果见表 1。为了确定设计合成的新化合物的体外抗肿瘤活性，还采用体外抗增殖 SRB 实验对化合物的抗细胞增殖活性进行了研究。

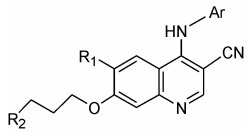
3　讨论

多靶标药物是基于提高药物疗效和改善安全性的总体目标合理设计、可作用于与某个疾病相关的多个靶点而产生一种以上药理活性的药物分子。从表 1 数据可以看出，本研究设计合成的大部分化合物对 Src 与 iNOS 两个靶酶都有一定的抑制活性。

对靶酶 Src 来说，所设计化合物对 Src 激酶的抑制活性与 bosutinib (**2**) 相比有一定的下降。其中化合物 **33** 对 Src 激酶抑制活性最强，IC_{50} 达到了 0.048 4

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Table 1　The structures of compounds **25**–**36** and their enzyme inhibition activities against *c*-Src and iNOS



Compd.	Ar	R_1	R_2	Src IC_{50}/μmol·L^{-1}	iNOS IC_{50}/μmol·L^{-1} [a, b]
25	2-(6-Methylbenzothiazole)	CH_3	Morpholine	0.156	7.14
26	2-Benzothiazole	CH_3	4-Methylpiperazine	>1.0	15.5
27	2-Benzothiazole	OCH_3	Piperidine	>1.0	28.7
28	6-(2-Aminobenzothiazole)	OCH_3	Piperidine	0.467	22.0
29	6-(2-Aminobenzothiazole)	OCH_3	4-Methylpiperazine	0.275	7.72
30	6-(2-Aminobenzothiazole)	OCH_3	Pyrrolidine	0.403	11.0
31	6-(2-Aminobenzothiazole)	OCH_3	Diethylamine	0.260	117
32	6-(2-Aminobenzothiazole)	OCH_3	3,5-Dimethylpiperazine	0.065	20.3
33	6-(2-Aminobenzothiazole)	OCH_3	4-Methylpiperidine	0.048 4	34.5
34	6-(2-Aminobenzothiazole)	CH_3	Dimethylamine	0.143	5.81
35	6-(2-Aminobenzothiazole)	CH_3	2-Methylaminopyrrolidine	>1.0	13.2
36	6-(2-Aminobenzothiazole)	CH_3	Pyrrolidine	0.159	24.8
2 (Bosutinib)				0.001 8	–
3 (CPU-Y020)				0.015 4	313
4 (2-Aminothiazole)				–	20
5 (*L*-Canavanine)				–	65

[a]The IC_{50} values were means of triplet experiments, and the variabilities were within 10%; [b]iNOS of mouse macrophage ANA-1

μmol·L^{-1}，约是 bosutinib (**2**) 的 1/20 左右, 与本课题组前期报道化合物 CPU-Y020 (**3**) 相比也下降了 2/3 左右。化合物 **25**、**26** 和 **27** 的 4 位取代基分别为 6-甲基-2-胺基苯并噻唑和 2-胺基苯并噻唑, 化合物 **25** 对 Src 有一定的抑制活性, 而化合物 **26** 和 **27** 在浓度为 1.0 μmol·L^{-1} 的初筛中没有表现出明显的抑制活性。化合物 **28** 至 **36** 的 4 位取代均为 2, 6-二胺基苯并噻唑的结构, 大部分化合物都对 Src 表现出一定的抑制活性，其中化合物 **32** 和 **33** 对 Src 的 IC_{50} 则分别达到 0.065 μmol·L^{-1} 及 0.048 4 μmol·L^{-1}，对 Src 激酶具有较好的抑制作用；7 位侧链端基取代胺基的不同，对 Src 激酶的抑制活性也有较大影响。

就化合物 **28**～**33** 来说，它们都是采用了 2，6-二氨基苯并噻唑基团作为 4-芳基取代基, 在结构上变化的主要是喹啉 6 位的 R_1 基团和喹啉 7 位胺基侧链的末端胺基取代基, 它们对两种不同靶酶的抑制活性有一些差异，但是总体来说，当 R_1 基团为甲氧基，R_2 基团为哌啶、吡咯、二乙胺或者 4-甲基哌嗪时，化合物 **28**～**31** 对 Src 的抑制活性基本处于 0.2 μmol·L^{-1} 到 0.5 μmol·L^{-1}，活性相差 1～3 倍之间，对 iNOS 的抑制活性也基本稳定于 10 μmol·L^{-1} 的数量级；当 R_2 基团为 3，5-二甲基哌嗪或者 4-甲基哌啶时, 化合物 **32** 和 **33** 对 Src 的抑制活性比化合物 **28**～**36** 提高了 4～6 倍，显示这两种取代基对 Src 亲和力的提高有正性作用。

对靶酶 iNOS 来说, 大部分所设计化合物与 2-胺基噻唑 (**4**) 及 *L*-canavanine (**5**) 相比都表现出较好的抑制活性。它们对 iNOS 的抑制活性均达到或者超过了 2-胺基噻唑 (**4**) 及 *L*-canavanine (**5**) 对 iNOS 的抑制水平。例如, 化合物 **32** 对于 iNOS 的 IC_{50} 为 20.3 μmol·L^{-1}，其抑制活性与 2-胺基噻唑 (**4**) 相当, 是 *L*-canavanine (**5**) 的 3 倍，而化合物 **34** 对于 iNOS 的 IC_{50} 达到 5.81 μmol·L^{-1}，比 2-胺基噻唑 (**4**) 强约 4 倍。

就所设计化合物对两种靶酶抑制活性的比较来说，大部分化合物对 Src 激酶的抑制活性较强而对 iNOS 的抑制活性较弱。其中对 Src 激酶抑制的 IC_{50} 值基本分布于 0.040～0.40 μmol·L^{-1} 内，而对 iNOS 的抑制活性相对较弱，IC_{50} 大致分布于 5～50 μmol·L^{-1} 内。这一点与作者设计化合物时的出发点相一致。由于所设计化合物的骨架均采用了对 Src 激酶有明确抑制作用的 3-氰基喹啉母环，而仅在其 4 位芳胺取代基的位置引入对 iNOS 有一定抑制作用的活性片段，因此所设计化合物对于 Src 激酶的抑制活性更强可以预期。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

为了确定所设计化合物对于肿瘤细胞的抑制作用，还分别选取了对 Src 和 iNOS 都有一定过表达的肺癌 A549、胃癌 AGS、肝癌 HepG2、结肠癌 HT-29 及前列腺癌 PC-3 细胞株采用 SRB 方法进行了体外抗增殖活性测试。在该项体外活性测试中，大部分化合物所表现的抗增殖作用微弱，仅部分化合物有一定的阳性结果。其中化合物 **25**、**33** 和 **34** 在 10 μmol·L^{-1} 浓度下对于肝癌 HepG2 和结肠癌 HT-29 细胞的增殖表现出一定的抑制作用 (表 2)。

Table 2 The percentage of survival cells at 10 μmol·L^{-1} treated by compounds **25**, **33, 34** and bosutinib (**2**) against 5 different human cancer cell lines

Compd.	Percentage of growth / %				
	Lung A549	Stomach AGS	Liver HepG2	Colon HT-29	Prostate PC-3
25	68.04	77.08	61.13	55.06	86.7
33	67.92	75.43	45.43	44.84	88.76
34	75.62	71.49	54.01	51.75	78.33
2 (Bosutinib)	9.32	3.80	9.20	2.84	7.81

根据以上活性测试结果，所设计化合物的酶抑制活性与体外抗增殖活性基本一致，抗肿瘤活性与 bosutinib (**2**) 相比有一定差距。大部分化合物所表现出体外抗增殖活性较弱，可能与该类化合物的理化性质有关。由于该类化合物溶解度普遍较弱，并且均含有 4 位芳香杂环胺基及 7 位取代胺基，所有化合物都具有较大的分子极性，较难透过细胞膜进入细胞内与靶酶作用，从而限制了该类化合物对肿瘤细胞的抑制活性。

4 结论

本文采用分子拼合的药物分子设计原理，将 Src 激酶抑制剂活性母环与具有 iNOS 抑制活性的分子片段结合在一起，设计合成了全新的酪氨酸 Src 蛋白激酶与 iNOS 的双重抑制剂。所设计合成化合物均经过了 Src 激酶和 iNOS 的抑制活性检测，并分别对 5 种不同肿瘤细胞的抗增殖活性进行了测试。在本项研究中，大部分化合物对两种靶酶都表现出一定的抑制活性，部分化合物对多种肿瘤细胞的增殖有一定的抑制作用。其中化合物 **33** 对于 Src 激酶和 iNOS 均有较好的抑制活性，对肝癌 HepG2 和结肠癌 HT-29 细胞的增殖也有明显的抑制作用。酪氨酸 Src 蛋白激酶与 iNOS 的双重抑制剂的研究与探索为新的多靶点抗肿瘤药物的开发提供了新的有益探索。

5 实验部分

化合物熔点用 MELT-TEMP Ⅱ熔点仪测定 (温度计未经校正)；IR 用 Nicolet Impact 410 型傅立叶变换红外光谱仪测定 (KBr 压片)；^{1}H NMR 核磁共振由 Bruker AV300 型 (300 MHz) 或 Bruker AV500 型 (500 MHz) 核磁共振仪测定 (TMS 为内标物)；质谱分别由岛津 GC-MS 2050 型气质联用仪 (EI-MS)、Agilent 1946A-MSD 型质谱仪 (ESI-MS) 及 Agilent MSD-TOF (ESI-HRMS) 测定。本文化合物 **8**～**36** 的合成均采用已报道的合成方法[5, 9]，其中目标化合物的简要合成过程及光谱数据如下。

5.1 6-甲基-4-(6-甲基苯并噻唑-2-胺基)-7-(3-吗啉基丙氧基)-3-氰基喹啉 (25)

将化合物 **17** 140 mg (0.3 mmol) 和碳酸钾 100 mg (0.7 mmol) 加入到 50 mL 三颈瓶中，溶于 15 mL DMF 中，然后加入吗啉 0.5 mL (5 mmol)，80 ℃反应 6 h。将反应液倾入 30 mL 水中有固体析出，抽滤干燥得粗品 95 mg，用乙酸乙酯/甲醇体系干法上样柱层析得产品 72 mg，收率 49%。取产品 10 mg 溶于 2 mL 浓度为 1 mol·L^{-1} 的盐酸后减压蒸干得产品盐酸盐 11 mg (淡黄色粉末状固体)，用于重水 NMR 分析。mp 279～281 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 425 (-NH-), 2 841 (-NCH$_3$), 1 532, 1 476 (Ar-), 1 250 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ: 1.44 (m, 2H, CH_2), 2.63 (br s, 6H, C_6-CH_3, C_6-CH_3), 3.30 (m, 2H, CH_2), 3.44 (m, 2H, CH_2), 3.64 (m, 2H, CH_2), 3.78 (m, 2H, CH_2), 4.02 (m, 2H, CH_2), 4.30 (m, 2H, Ar-OCH_2), 7.56 (m, 2H, Ar-H), 7.73 (s, 1H, Ar-H), 8.04 (s, 1H, C_5-H), 8.44 (m, 1H, C_4-H), 9.43 (s, 1H, C_2-H); EI-MS *m/z*: 473.1 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{26}H_{28}N_5O_2S$ $[M+H]^+$ 474.188 5, Found 474.185 7。

5.2 4-(苯并噻唑-2-胺基)-6-甲基-7-(3-(4-甲基哌嗪基-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (26)

采用与合成化合物 **25** 相同的方法，以化合物 **16** 120 mg (0.3 mmol) 和 *N*-甲基哌嗪 0.5 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **26** 62 mg，收率 45%。mp 236～238 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 386 (-NH-), 2 217 (-CN), 1 627, 1 457 (Ar-), 1 129 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ: 2.00 (s, 3H, C_6-CH_3), 2.29～2.30 (m, 2H, CH_2), 2.95 (s, 3H, N-CH_3), 3.38～3.42 (m, 4H, 2×CH_2), 3.46～3.50 (m, 2H, CH_2), 3.95～3.99 (m, 2H, Ar-OCH_2), 6.35 (s, 1H, C_8-H), 7.21～7.31 (m, 4H, Ar-H), 7.55 (s, 1H, C_5-H), 8.11 (s, 1H, C_2-H); EI-MS *m/z*: 473.1 $[M+H]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{26}H_{29}N_6OS$ $[M+H]^+$ 473.204 5,

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Found 473.202 3。

5.3　4-(苯并噻唑-2-胺基)-6-甲氧基-7-(3-(哌啶-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (27)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **18** 130 mg (0.3 mmol) 和哌啶 0.43 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **27** 75 mg, 收率 51%。mp 258～260 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 460 (-NH-), 1 633, 1 471, 1 436, 1 396 (Ar-), 1 170 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, D_2O) δ: 1.40 (m, 2H, CH_2), 1.88 (m, 2H, CH_2), 1.99～2.13 (m, 4H, 2×CH_2), 3.09 (m, 2H, CH_2), 3.32 (m, 2H, CH_2), 3.69 (m, 4H, 2×CH_2), 3.84 (s, 3H, C_6-OCH_3), 6.61 (s, 1H, C_8-H), 7.09 (s, 1H, Ar-H), 7.58 (br, 2H, Ar-H), 7.80 (s, 1H, C_5-H), 8.23 (s, 1H, C_4-H), 8.86 (s, 1H, C_2-H); EI-MS *m/z*: 474.1 $[M+H]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{26}H_{28}N_5O_2S$ $[M+H]^+$ 474.188 6, Found 474.186 5。

5.4　4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-6-甲氧基-7-(3-(哌啶-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (28)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **24** 130 mg (0.3 mmol) 和哌啶 0.43 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **28** 76 mg, 收率 52%。mp 176 ℃ (dec); IR (KBr, cm^{-1}): 3 431 (-NH-), 2 209 (-CN), 1 620, 1 592, 1 459, 1 425 (Ar-), 1 246 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 1.38～1.40 (m, 2H, CH_2), 1.50～1.53 (m, 4H, 2×CH_2), 1.93～1.98 (m, 2H, CH_2), 2.36 (m, 2H, CH_2), 2.37～2.39 (m, 2H, CH_2), 3.91 (s, 3H, C_6-OCH_3), 4.16～4.21 (t, 2H, J = 6.3 Hz, Ar-OCH_2), 7.13～7.17 (d, 1H, J = 6.3 Hz, C_5-H), 7.29 (s, 1H, C_8-H), 7.34～7.37 (d, 1H, J = 8.4 Hz, C_7-H), 7.60 (s, 1H, C_4-H), 7.76 (s, 1H, C_5-H), 8.25 (s, 1H, C_2-H); ESI(+)-MS *m/z*: 515.2 $[M+Na]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{26}H_{29}N_6O_2S$ $[M+H]^+$ 489.199 4, Found 489.197 6。

5.5　4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-6-甲氧基-7-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)-3-氰基喹啉 (29)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **24** 130 mg (0.3 mmol) 和 N-甲基哌嗪 0.5 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **29** 63 mg, 收率 42%。mp 258～260 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 400 (-NH), 1 528, 1 477 (Ar-), 1 253 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 1.72～1.76 (m, 4H, 2×CH_2), 1.93～1.99 (m, 2H, CH_2), 2.08 (m, 2H, CH_2), 2.48 (s, 3H, N-CH_3), 2.55 (m, 2H, CH_2), 2.65 (m, 2H, CH_2), 3.91 (s, 3H, C_6-OCH_3), 4.17～4.19 (t, 2H, J = 6.0 Hz, Ar-OCH_2), 7.12～7.15 (d, 1H, J = 6.3 Hz, C_5-H), 7.28 (s, 1H, C_8-H), 7.32～7.35 (d, 1H, J = 8.4 Hz, C_4-H), 7.51 (br, 2H, NH_2), 7.80 (s, 1H, C_5-H), 8.35 (s, 1H, C_2-H), 9.49 (s, 1H, NH); EI-MS *m/z*: 503.2 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{26}H_{28}N_7O_2S$ $[M-H]^-$ 502.238 3, Found 502.239 8。

5.6　4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-6-甲氧基-7-(3-(吡咯-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (30)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **24** 130 mg (0.3 mmol) 和吡咯烷 0.36 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **30** 65 mg, 收率 46%。mp 240～242 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 460 (-NH-), 2 217 (-CN), 1 612, 1 523, 1 453 (Ar-), 1 123 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 1.71～1.75 (m, 4H, 2×CH_2), 1.96～2.01 (m, 2H, CH_2), 2.54 (m, 2H, CH_2), 2.61～2.64 (m, 2H, CH_2), 3.91 (s, 3H, C_6-OCH_3), 4.17～4.21(t, 2H, J = 6.3 Hz, Ar-OCH_2), 7.11～7.15 (d, 1H, J = 6.4 Hz, C_5-H), 7.28 (s, 1H, C_8-H), 7.31～7.34 (d, 1H, J = 8.4 Hz, C_4-H), 7.51 (br, 2H, NH_2), 7.61 (s, 1H, C_5-H), 7.79 (s, 1H, Ar-H), 8.34 (s, 1H, C_2-H), 9.49 (s, 1H, NH); EI-MS *m/z*: 475.2 $[M+H]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{25}H_{27}N_6O_2S$ $[M+H]^+$ 475.183 8, Found 475.179 6。

5.7　4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-7-(3-(二乙胺基)丙氧基)-6-甲氧基-3-氰基喹啉 (31)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **24** 130 mg (0.3 mmol) 和二乙胺 0.37 g (5 mmol) 为原料, 得化合物 **31** 68 mg, 收率 48%。mp 185 ℃ (dec); IR (KBr, cm^{-1}): 3 297 (-NH-), 2 202 (-CN), 1 620, 1 530, 1 460, 1 426 (Ar-), 1 248 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 0.98～1.01 (d, 6H, 2×$NCH_2\underline{CH_3}$), 1.93～1.97 (m, 2H, CH_2), 2.61～2.63 (m, 4H, 2×CH_2), 2.72 (m, 2H, CH_2), 3.91 (s, 3H, C_6-OCH_3), 4.17～4.22 (t, 2H, J = 6.3 Hz, Ar-OCH_2), 7.12～7.15 (d, 1H, J = 6.0 Hz, C_5-H), 7.28 (s, 1H, C_8-H), 7.32～7.35 (d, 1H, J = 8.2 Hz, C_4-H), 7.51 (br, 2H, NH_2),7.62 (s, 1H, C_5-H), 7.81 (s, 1H, C_7-H), 8.35 (s, 1H, C_2-H), 9.50 (s, 1H, NH); EI-MS *m/z*: 476.2 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{25}H_{29}N_6O_2S$ $[M+H]^+$ 477.199 8, Found 477.198 4。

5.8　4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-7-(3-((3*S*, 5*R*)-3,5-二甲基哌嗪-1-基) -6-甲氧基-3-氰基喹啉 (32)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **24** 130 mg (0.3 mmol) 和顺式 2, 6-二甲基哌嗪 0.46 g (4 mmol) 为原料, 得化合物 **32** 70 mg, 收率 45%。mp 262～264 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 442 (-NH-), 2 207 (-CN), 1 635, 1 537 (Ar-), 1 253 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 0.99～1.03 (m, 6H, 2×$NCH\underline{CH_3}$), 1.90～1.98 (m, 2H, CH_2), 2.51～2.63 (m, 4H, 2×CH_2),

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.68～2.70 (m, 2H, CH_2), 3.26～3.28 (m, 2H, 2×NCH), 3.91 (s, 3H, C_6-OCH_3), 4.20～4.22 (t, 2H, J = 6.3 Hz, Ar-OCH_2), 7.12～7.16 (d, 1H, J = 6.0 Hz, C_5-H), 7.29 (s, 1H, C_8-H), 7.33～7.35 (d, 1H, J = 8.4 Hz, C_4-H), 7.48 (br, 2H, NH_2), 7.62 (s, 1H, C_5-H), 7.80 (s, 1H, C_7-H), 8.35 (s, 1H, C_2-H), 9.48 (s, 1H, NH); EI-MS *m/z*: 517.2 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{27}H_{32}N_7O_2S$ $[M+H]^+$ 518.226 4, Found 518.224 2。

5.9 4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-6-甲氧基-7-(3-(4-甲基哌啶-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (33)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **24** 130 mg (0.3 mmol) 和 4-甲基哌啶 0.5 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **33** 63 mg, 收率 42%。mp 235～237 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 358 (-NH-), 2 203 (-CN), 1 536, 1 356 (Ar-), 1 024 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 0.97～0.99 (d, 3H, J = 6.3 Hz, CHCH$_3$), 1.19～1.29 (m, 2H, CH_2), 1.54 (m, 1H, CHCH$_3$), 1.68 (m, 2H, CH_2), 1.95～1.97 (m, 4H, 2×CH_2), 2.21 (m, 4H, 2×CH_2), 3.95 (s, 3H, C_6-OCH_3), 4.18 (t, 2H, J = 6.3 Hz, Ar-OCH_2), 7.13～7.16 (d, 1H, J = 8.0 Hz, C_5-H), 7.27～7.33 (m, 2H, Ar-H), 7.56 (s, 2H, NH_2), 7.63 (s, 1H, C_5-H), 7.96～7.99 (m, 2H, Ar-H), 8.34 (s, 1H, C_2-H), 9.87 (s, 1H, NH); ESI(+)-MS *m/z*: 502.2 $[M]^+$; ESI-HR-MS *m/z*: calcd for $C_{27}H_{29}N_6O_2S$ $[M-H]^-$ 501.243 1, Found 501.243 5。

5.10 4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-6-甲基-7-(3-(2-(甲胺基)吡咯-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (34)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **23** 130 mg (0.3 mmol) 和 2-甲胺基吡咯 0.43 g (5 mmol) 为原料，得化合物 **34** 76 mg, 收率 52%。mp 221 ℃; IR (KBr, cm^{-1}): 3 443 (-NH-), 2 223 (-CN), 1 633, 1 585, 1 506, 1 445 (Ar-), 1 258 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 1.92～1.94 (m, 2H, CH_2), 2.17 (m, 5H, NHCH$_3$, CH_2), 2.33 (s, 3H, C_6-CH_3), 2.43～2.45 (m, 2H, CH_2), 3.37～3.44 (m, 4H, 2×CH_2), 4.17～4.21 (t, 2H, J = 6.2 Hz, Ar-OCH_2), 7.11～7.14 (d, 1H, J = 6.0 Hz, C_5-H), 7.24 (s, 1H, C_8-H), 7.31～7.34 (d, 1H, J = 8.0 Hz, C_4-H), 7.48 (br s, 2H, NH_2), 7.60 (s, 1H, C_5-H), 8.27 (s, 1H, C_7-H), 8.39 (s, 1H, C_2-H), 9.53 (s, 1H, NH); EI-MS *m/z*: 487.2 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{26}H_{30}N_7OS$ $[M+H]^+$ 488.215 6, Found 488.218 5。

5.11 4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-7-(3-(二甲胺)丙氧基)-6-甲基-3-氰基喹啉 (35)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **23** 130 mg (0.3 mmol) 和二甲胺 0.2 g (4.4 mmol) 为原料，得化合物 **35** 60 mg, 收率 48%。mp 186 ℃ (dec); IR (KBr, cm^{-1}): 3 297 (-NH-), 2 206 (-CN), 1 623, 1 526, 1 462, 1 448 (Ar-), 1 233 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 1.96～1.98 (m, 2H, CH_2), 2.31 (s, 3H, C_6-CH_3), 2.37 (s, 6H, 2×N-CH_3), 2.69 (m, 2H, CH_2), 4.19 (m, 2H, Ar-OCH_2), 7.08～7.11 (d, 1H, J = 7.2 Hz, C_5-H), 7.22 (s, 1H, C_8-H), 7.28～7.31 (d, 1H, J = 8.2 Hz, C_4-H), 7.45 (s, 2H, NH_2), 7.57 (s, 1H, C_5-H), 8.25 (s, 1H, C_7-H), 9.52 (s, 1H, C_2-H); EI-MS *m/z*: 432.2 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{23}H_{25}N_6OS$ $[M+H]^+$ 433.180 5, Found 433.181 9。

5.12 4-(2-氨基苯并噻唑-6-胺基)-6-甲基-7-(3-(吡咯-1-基)丙氧基)-3-氰基喹啉 (36)

采用与合成 **25** 相同的方法，以化合物 **23** 130 mg (0.3 mmol) 和吡咯烷 0.36 g (5 mmol) 为原料, 得化合物 **36** 62 mg, 收率 45%。mp 206～208 ℃; IR(KBr, cm^{-1}): 3 446 (-NH-), 2 207 (-CN), 1 623, 1 558, 1 540, 1 465 (Ar-), 1 234 (-C-O-C-); ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 0.99～1.09 (m, 2H, CH_2), 1.70～1.71 (m, 4H, 2×CH_2), 1.98～2.01 (m, 2H, CH_2), 2.33 (s, 3H, C_6-CH_3), 2.50～2.61 (m, 2H, CH_2), 3.34～3.39 (m, 2H, CH_2), 4.19～4.23 (t, 2H, J = 6.0 Hz, Ar-OCH_2), 7.11～7.14 (d, 1H, J = 6.0 Hz, C_5-H), 7.24 (s, 1H, C_8-H), 7.31～7.34 (d, 1H, J = 8.5 Hz, C_4-H), 7.48 (br, 2H, NH_2), 7.60 (s, 1H, C_5-H), 8.27 (s, 1H, C_7-H), 8.39 (s, 1H, C_2-H), 9.54 (s, 1H, NH); EI-MS *m/z*: 458.2 $[M]^+$; HR-ESI-MS *m/z*: calcd for $C_{25}H_{27}N_6OS$ $[M+H]^+$ 459.196 1, Found 459.197 2。

References

[1] Summy JM, Gallick GE. Src family kinases in tumor progression and metastasis [J]. Cancer Metastasis Rev, 2003, 22: 337−358.

[2] Cao X, You QD, Li ZY, et al. Recent progress of Src family kinase inhibitors as anticancer agents [J]. Mini Rev Med Chem, 2008, 8: 1053−1063.

[3] Manetti F, Locatelli GA, Maga G, et al. A combination of docking/dynamics simulations and pharmacophoric modeling to discover new dual C-Src/Abl kinase inhibitors [J]. J Med Chem, 2006, 49: 3278−3286.

[4] Golas JM, Lucas J, Etienne C, et al. SKI-606, a Src/Abl inhibitor with *in vivo* activity in colon tumor xenograft models [J]. Cancer Res, 2005, 65: 5358−5364.

[5] Kilbourn RG, Jubran A, Gross SS, et al. Reversal of

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

endotoxin-mediated shock by NG-methyl-*L*-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1990, 172: 1132−1138.

[6] Xu YG, Xing AM, Hong M, et al. Synthesis and bioactivity of *N*-[4-(benzimidazole-2-thio)phenyl]-*N*′-alkylguanidine derivatives [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2007, 42: 152−156.

[7] Miller MJ, Sadowska-Krowicka H, Chotinaruemol S, et al. Amelioration of chronic ileitis by NOS inhibition [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1993, 264: 11−16.

[8] Cao X, You QD, Li ZY, et al. The design, synthesis and biological evaluation of 7-alkoxy-4-heteroarylamino-3-cyanoquinolines as dual inhibitors of c-Src and iNOS [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18: 6206−6209.

[9] Cao X, You QD, Li ZY, et al. Design and synthesis of 7-alkoxy-4-heteroaryl-amino-3-quinolinecarbonitriles as dual inhibitors of c-Src kinase and nitric oxide synthase [J]. Bioorg Med Chem, 2008, 16: 5890−5898.

[10] Vojtechova M, Senigl F, Sloncova E, et al. Regulation of c-Src activity by the expression of wild-type v-Src and its kinase-dead double Y416F-K295N mutant [J]. Arch Biochem Biophys, 2006, 455: 136−143.

[11] Checocich WJ, Bolger RE, Burke T. Fluorescence polarization — a new tool for cell and molecular biology [J]. Nature, 1995, 375: 254−256.

[12] Kojima H, Urano Y, Kikuchi K, et al. Fluorescent indicators for imaging nitric oxide production [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 1999, 38: 3209−3212.

[13] Kojima H, Hirata M, Kudo Y, et al. Visualization of oxygen concentration dependent production of nitric oxide in rat hippocampal slices during aglycemia [J]. J Neurochem, 2001, 76: 1404−1410.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net