新型吡咯类氨基酸缀合物的合成与抗肿瘤活性测定

李衍忠 赵萍 詹晓平 刘增路 毛振民*

(上海交通大学药学院 上海 200240)

摘要 以苯甲醛或 3,4-二甲氧基苯甲醛为原料经 Wittig-Horner 反应、Van Leusen 吡咯合成法、水解等多步反应, 设计并合成了 16 个未见文献报道的吡咯类氨基酸缀合物 **7a~7p**. 其结构经 ^1H NMR, ^{13}C NMR 及 HRMS 确证. 采用噻唑蓝 (MTT) 法测试了目标化合物对 MCF-7, MGC80-3, Hep G2, CT-26 及 HUVEC 细胞的增殖抑制作用. 结果表明, 几乎所有化合物对人体正常细胞 HUVEC 无明显抑制作用, 化合物 **7a~7h** 对 Hep G2 细胞株有一定的抑制活性, 化合物 **7i~7p** 对 MCF-7 及 MGC80-3 较强的抑制活性. 其中化合物 **7o~7p** 对 MCF-7 细胞株的抑制活性最强.

关键词 吡咯; 氨基酸; 合成; 抗肿瘤活性

Synthesis and Cytotoxic Activities of Novel Amino Acid-Conjugates of Pyrrole Derivatives

Li, Yanzhong Zhao, Ping Zhan, Xiaoping Liu, Zenglu Mao, Zhenmin*

(School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240)

Abstract Sixteen novel amino acid-conjugates of pyrrole derivatives **7a~7p** were designed and synthesized using benzaldehyde or 3,4-dimethoxybenzaldehyde as raw materials. The compounds were synthesized via multi-step reaction including Wittig-Horner, Van Leusen and hydrolysis. The structures of all the target compounds were characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS. Moreover, the cell proliferation inhibiting activities of the target compounds were evaluated against MCF-7, MGC80-3, Hep G2, CT-26 and HUVEC cell lines by thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) method. The result indicated that most of the compounds had no significant inhibitory effect against normal human cell HUVEC. However compounds **7a~7h** showed significant inhibitory effect against Hep G2, compounds **7i~7p** showed stronger inhibitory effect against MCF-7 and MGC 80-3, and compound **7o~7p** exhibited the strongest inhibitory activity against MCF-7 in all of the compounds.

Keywords pyrrole; amino acid; synthesis; cytotoxic activities

吡咯类化合物是杂环化学研究领域中的重要组成部分^[1]. 自 1857 年 Anderson 从骨胶油中分离出吡咯以来, 吡咯化学就随着大量取代吡咯类化合物从天然产物中的分离而不断发展^[2~4]. 吡咯的衍生物极为丰富, 很多有重要生理作用的物质都是由吡咯衍生物组成的, 如叶绿素、血红蛋白、维生素 B12 等都是吡咯的衍生物, 所以对吡咯衍生物生理作用上价值的探索一直备受人们关注. 在过去的几十年中, 科研工作者们对吡咯衍生物的合成及其药效作用也进行了广泛的研究^[5~9]. 其中 3,4-二取代吡咯的合成以及其作为抗炎、抗病毒、抗真菌药物的研究已见诸多报道^[10~12]. 我们课题组报道了

3,4-二取代吡咯衍生物的抗肿瘤活性^[13,14], 当 4 位是 3-氯-4-氟苯基取代, 或 4-甲巯基苯基取代时, 得到的系列化合物具有显著的抗肿瘤活性, 部分化合物甚至表现出与紫杉醇相近的活性, 而且令人欣喜的是这些化合物对正常细胞几乎没有抑制活性, 这显示了此类化合物具有较高的选择性及安全性. 通过对文献中的化合物以及我们课题组的前期研究工作进行构效关系总结, 发现: 当保持吡咯环 1 位无取代基, 3 位为羰基、硝基等吸电子基团, 吡咯环 4 位为苯环尤其是苯环上含有甲基、甲氧基、甲巯基等供电子基团时, 化合物往往具有较好的抗肿瘤活性. 本研究将继续开展对 3,4-二取代吡咯的研究, 探

* E-mail: zmmao@sjtu.edu.cn

Received July 10, 2014; revised August 20, 2014; published online September 12, 2014.

Project supported by the National Science and Technology Major Special Drug Discovery (No. 2010ZX09401404-004).

国家“重大新药创制”科技重大专项(No. 2010ZX09401404-004)资助项目.

索新类型的化合物的抗肿瘤活性. 据研究报道^[15]肿瘤细胞对氨基酸的需求不同于正常细胞. 肿瘤组织为了蛋白质合成和细胞增生, 需要不断摄取多种氨基酸为肿瘤细胞增殖提供必需的营养物质, 其对氨基酸的需求要远高于正常细胞. 将氨基酸引入抗肿瘤药物分子中, 可以提高其对肿瘤细胞的选择性、增强药物的脂溶性、缓解药物对正常细胞的毒害作用^[16,17], 这也为寻找和发现高效、低毒抗肿瘤药物提供了新的重要方向^[18~20]. 我们尝试当 4 位为苯基或 3,4-二甲氧基苯基取代时, 以 3 位羰基作为桥接, 在 3 位引入不同的氨基酸, 以期得到有价值的化合物. 本研究共合成了 16 个未见报道的化合物, 其结构经 ¹H NMR, ¹³C NMR 及 HRMS 表征, 并选择 5 种细胞株, 分别为 MCF-7(人乳腺癌细胞), MGC80-3(人胃癌细胞), Hep G2(人肝癌细胞), CT-26(小鼠结肠癌细胞)和 HUVEC(人脐静脉内皮细胞)对目标化合物进行了抗肿瘤活性的筛选. 合成路线见 Scheme 1.

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

以磷酸三乙酯和芳香醛为原料, 先通过 Wittig-Horner 反应生成 α,β -不饱和烯炔化合物 **3a~3b**, 再利用 Van Leusen 合成法实现吡咯环的构建, 在碱性下水解、酸化吡咯环上的酯基, 接着以 1-乙基-(3-二甲基

氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDCI)和 1-羟基苯并三唑(HOBT)作为缩合剂, 与取代的氨基酸甲酯进行缩合反应得到化合物 **6a~6p**, 在碱性下水解、酸化, 脱甲氧基后得到目标化合物 **7a~7p**. 反应中使用的 Van Leusen 法是一种制备 3,4-二取代吡咯类化合物简便、高效的方法, 其中以使用对甲苯磺酰基甲基异脒(Tosmic)的 Van Leusen 合成法最为普遍, 此法首先要完成 α,β -不饱和烯炔的制备. 根据目标化合物的结构特点, 想要接上氨基酸, 要先在吡咯环的 3 号位引入酯基, 而酯基的吸电性较弱, 直接和芳香醛反应制备不饱和烯炔比较困难, 所以对于酯基相应的 α,β -不饱和烯炔的合成, 我们选择使用活性更高的磷脂叶立德试剂进行 Wittig-Horner 反应来制备. 在得到化合物 **5a~5b** 后, 最初设想是将羧基转化为活性更高的酰氯和氨基酸反应, 但实验过程中发现, 制备酰氯的反应条件比较严苛, 反应后呈胶状物, 纯化比较困难, 会对其后的反应造成困难. 之后我们选用 EDCI 和 HOBT 的缩合剂组合, 这种方法要先将氨基酸的羧基变成酯基进行保护, HOBT 的引入可以在活化吡咯羧基的同时有效避免氨基酸的消旋. 该缩合常温下即可进行且反应迅速, 后处理简单, 收率高(65%~95%).

1.2 生物活性

化合物 **7a~7p** 对 5 种细胞株的增殖抑制作用如表 1

Scheme 1

表 1 目标化合物对细胞株增殖抑制活性结果[IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]^aTable 1 Results of anti-proliferative activity of the target compounds on cells [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]

Compd.	MCF-7	MGC80-3	Hep G2	CT-26	VEC
7a	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
7b	360.09	>1000	217.91	>1000	>1000
7c	322.48	>1000	61.96	>1000	>1000
7d	114.76	>1000	247.61	>1000	>1000
7e	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
7f	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
7g	>1000	>1000	130.63	>1000	>1000
7h	>1000	>1000	466.45	>1000	>1000
7i	>1000	173.84	541.81	>1000	>1000
7j	306.34	200.55	173.31	>1000	>1000
7k	266.68	360.03	115.12	>1000	>1000
7l	102.15	386.01	169.94	>1000	>1000
7m	>1000	>1000	>1000	>1000	945
7n	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
7o	31.32	78.82	89.34	>1000	>1000
7p	34.23	82.05	90.92	>1000	732.55
紫杉醇	3.06	4.2	5.7	9.7	68.9

^a Do not calculate IC₅₀ value which is bigger than 1000 μmol/L, described as >1000.

所示,从表中结果可以看出:(1)绝大多数化合物对人体正常细胞(HUVEC)没有明显的抑制作用,所有化合物对 CT-26 均无明显抑制活性,这体现了该类化合物具有较好的选择性和安全性。(2) 4 位为苯基取代和 4 位为 3,4-二甲氧基苯基取代的两个系列化合物相比较,前者的抗肿瘤活性较弱,其只对 MCF-7 和 Hep G2 有一定的抑制活性,其中尤以 7d 对 MCF-7, 7c 对 Hep G2 有较强的抑制能力,IC₅₀ 值分别为 114.76 和 61.96 μmol·L⁻¹;后者对 MCF-7, MGC80-3, Hep G2 的抑制作用相对来说较好,这说明苯环上供电子基团的引入可增强化合物的抗肿瘤活性,推究其原因可能与化合物作用靶点的电子云分布有关。该部分可能参与结合靶点的缺电子区域,所以此处电子云密度的提高将促进化合物与靶点的紧密结合。(3)对比 4 位为 3,4-二甲氧基苯基取代的系列化合物的活性数据发现, 7o 和 7p 对三种肿瘤细胞均有较好的抑制活性,尤其是对 MCF-7 而言,两者的 IC₅₀ 值分别为 31.32 和 34.23 μmol·L⁻¹。从引入氨基酸结构上来看 7o 和 7p 引入的氨基酸是丝氨酸和天冬氨酸,这两种氨基酸与该系列其它氨基酸相比,都含有极性基团(分别为羟基和羧基),极性基团的存在会增强化合物的水溶性,从而提高化合物的生物利用度;同时,羟基和羧基有利于化合物分子与受体之间形成氢键,氢键的存在有可能加强药物分子同靶点的结合,从而表现出更好的抑制活性。(5)当脯氨酸或者苯丙氨酸被用来改造 3,4-二取代吡咯类化合物时,所得的化合物 7e, 7f, 7m, 7n 基本无抑制活性,这说明空间位阻较大时不利于化合物的抗肿瘤活性。

2 结论

为了寻找新型的小分子抗肿瘤药物,本研究尝试将氨基酸引入到吡咯衍生物上,进而得到一系列新型吡咯类化合物。在确立了简单、高效的合成路线后,本研究共设计合成了 16 个新型吡咯衍生物,均未见文献报道。细胞实验结果显示,所有化合物对正常细胞没有杀伤能力,对 CT-26 几乎没有作用,这说明了该类化合物具有较好的选择抑制性;部分化合物具有较强的抗肿瘤活性,尤其是接入丝氨酸及天冬氨酸的化合物 7o 和 7p,对几种肿瘤细胞均有不错的抑制活性。并且,通过构效关系总结发现吡咯环上 3 位、4 位取代基的电子云密度和空间位阻对化合物抗肿瘤活性都有重要的影响。这为寻找和发现活性更强、副作用更小的抗肿瘤小分子药物提供了新的思路,具有进一步研究的意义。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

化学实验部分:柱色谱采用 200~300 目硅胶粉(青岛微纳化工有限公司生产);薄层色谱(TLC)采用硅胶 GF₂₅₄ 薄层层析硅胶板(烟台江友硅胶开发有限公司);熔点采用 SGWX-4 显微熔点仪测定(上海精密科学仪器有限公司),温度计未经校正;¹H NMR 和 ¹³C NMR 采用 Bruker Avance III 400 型或 Varian NMR300 核磁共振仪测定,以 TMS 为内标,CDCl₃ 或 DMSO-*d*₆ 为溶剂;高分辨质谱(ESI-HRMS)采用 Waters 公司 UPLC-Q-TOF-MS 测定。所用试剂均为市售的分析纯或化学纯试剂,所有手性 α-氨基酸为 L 型,四氢呋喃(THF)、二氯甲烷、甲

醇用前经干燥处理, 氯化亚砷用前新蒸;

细胞增殖抑制实验部分: 无菌净化工作台(上海新苗医疗器械制备有限公司)、CO₂ 培养箱(Thermo Forma Series II)、酶联免疫检测仪(Thermo MK3)、倒置显微镜(Olympus IX71)、MCF-7(人乳腺癌细胞)、MGC80-3(人胃癌细胞)、Hep G2(人肝癌细胞)、CT-26(小鼠结肠癌细胞)及 HUVEC(人脐静脉血管内皮细胞)均购买自中国科学院细胞库, 所用细胞培养基等试剂均为市售生物用实验标准。

3.2 化合物的合成部分

3.2.1 *L*-氨基酸甲酯盐酸盐的合成通法

50 mL 甲醇中, 冰盐浴降温至 $-10\sim-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, 逐滴滴加 2.2 mL 氯化亚砷, 10 min 内加完。取 25 mmol *L*-氨基酸加入此混合液中, 滴加过程当中保持温度在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 滴加完后保持 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 继续反应 3 h。升温至回流反应 3 h 后转室温反应, TLC 监测, 茚三酮显色。反应结束后, 减压蒸除溶剂, 残留物重新溶解于 25 mL 甲醇重新溶解, 再减压旋干, 此过程重复 3 次, 剩余固体重结晶 [*V*(甲醇): *V*(乙酸乙酯)=3:1], 得到各 *L*-氨基酸甲酯盐酸盐^[21]。*L*-氨基酸甲酯以盐酸盐的形式存在有利于其保存, 该反应收率 90%~97%。

3.2.2 磷酸三乙酯的合成

向反应瓶中依次加入 17.2 mL (0.963 g/mL, 0.1 mol) 磷酸三乙酯和 10.6 mL (1.15 g/mL, 0.1 mol) 氯乙酸乙酯, 回流搅拌反应约 4 h, 至不再有气体(氯乙烷)放出。减压蒸馏收集 $112\text{ }^{\circ}\text{C}/400\text{ Pa}$ 馏分, 得无色透明液体^[22], 20.3 g, 收率 90.5%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 4.18~4.07 (m, 6H, OCH₂CH₃), 2.91 (d, $J=21.3\text{ Hz}$, 2H, CH₂CO), 1.32~1.20 (m, 9H, OCH₂CH₃)。

3.2.3 **3a** 和 **3b** 的合成

以 **3a** 为例: 60 mmol *t*-BuOK 加入 100 mL 无水 THF 中, 搅拌, 逐滴加入 55 mmol 磷酸三乙酯, 滴毕, 搅拌 30 min, 加入 50 mmol 苯甲醛, 室温反应 4 h, TLC 监测反应完毕后, 减压旋蒸除去 THF, 加水 100 mL, 乙酸乙酯萃取(20 mL $\times$ 3), 合并有机相, 饱和氯化钠溶液洗, 有机相用无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 粗品经柱层析纯化[洗脱剂为 *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=30:1]^[23]。

3-苯基丙烯酸乙酯(**3a**): 7.93 g, 黄色油状物, 收率 90%。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.28 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 3H, OCH₂CH₃), 4.22 (q, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, OCH₂), 6.66 (d, $J=16.0\text{ Hz}$, 1H, =CHCOOEt), 7.42~7.44 (m, 3H, ArH), 7.66 (d, $J=16.0\text{ Hz}$, 1H, ArCH=), 7.70~7.72 (m, 2H, ArH)。

3-(3,4-二甲氧基苯基)-丙烯酸乙酯(以 3,4-二甲氧基

苯甲醛为原料)(**3b**): 10.78 g, 淡黄色粉末, 收率 91.3%。m.p. $60\sim62\text{ }^{\circ}\text{C}$; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.25 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 3H, OCH₂CH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 4.18 (q, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, OCH₂), 6.57 (d, $J=16.0\text{ Hz}$, 1H, =CHCOOEt), 6.99 (d, $J=8.0\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.25 (d, $J=8.0\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.36 (s, 1H, ArH), 7.60 (d, $J=16.0\text{ Hz}$, 1H, ArCH=)。

3.2.4 **4a** 和 **4b** 的合成

以 **4a** 为例: 40 mmol 的化合物 **3a** 溶于 100 mL THF, 冰浴搅拌 15 min, 加入 48 mmol 的 Tosmic 和 60 mmol 的叔丁醇钾, 继续冰浴搅拌反应 1 h 后撤冰浴, 转室温反应。TLC 监测产物没有明显变化后, 旋干 THF, 加水 100 mL, 乙酸乙酯萃取(25 mL $\times$ 3), 合并有机相, 饱和氯化钠溶液洗, 有机相经无水硫酸钠干燥, 减压蒸除溶剂, 粗品经柱层析纯化[洗脱剂为: *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:1]。

4-苯基-1*H*-吡咯-3-羧酸乙酯(**4a**): 4.56 g, 淡黄色粉末, 收率 53%。m.p. $88\sim90\text{ }^{\circ}\text{C}$; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.18 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 3H, OCH₂CH₃), 4.11 (q, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, OCH₂), 6.93 (s, 1H, pyrrole-H), 7.21 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.30 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.44 (d, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.47 (s, 1H, pyrrole-H), 11.53 (s, 1H, pyrrole-NH)。

4-(3,4-二甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-3-羧酸乙酯(以 **3b** 为原料)(**4b**): 6.16 g, 白色粉末, 收率 56%。m.p. $149\sim151\text{ }^{\circ}\text{C}$; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.19 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 3H, OCH₂CH₃), 3.75 (s, 6H, OCH₃), 4.12 (q, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, OCH₂), 6.87~6.91 (m, 2H, ArH, pyrrole-H), 6.98 (d, $J=8.0\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.08 (s, 1H, pyrrole-H), 7.44 (t, $J=2.8\text{ Hz}$, 1H, ArH), 11.48 (s, 1H, pyrrole-NH)。

3.2.5 **5a** 和 **5b** 的合成

以 **5a** 为例: 20 mmol 的化合物 **4a** 溶于 50 mL 乙醇, 搅拌, 滴加 100 mmol 的 NaOH (4 mol/L) 溶液, 加毕, 升温至回流反应, TLC 监测反应结束后蒸除乙醇, 加水 20 mL, 乙酸乙酯(10 mL $\times$ 3)洗, 冰浴, 水相中滴加浓盐酸调节 pH 至 2~3, 出现大量沉淀, 抽滤, 滤饼重结晶^[24]。

4-苯基-1*H*-吡咯-3-羧酸(**5a**): 3.22 g, 淡黄色固体, 收率 86%。m.p. $175\sim177\text{ }^{\circ}\text{C}$; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 6.91 (t, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H, pyrrole-H), 7.19 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.29 (t, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, ArH), 7.43 (t, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H, pyrrole-H), 7.47 (d, $J=7.2\text{ Hz}$, 2H, ArH), 11.45 (s, 1H, COOH), 11.55 (s, 1H, pyrrole-NH)。

4-(3,4-二甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-3-羧酸(以 **4b** 为原料)(**5b**): 4.05 g, 淡黄色固体, 收率 82%。m.p. $205\sim207\text{ }^{\circ}\text{C}$; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 3.74 (s, 3H,

OMe), 3.75 (s, 3H, OMe), 6.86~6.89 (m, 2H, ArH, pyrrole-H), 7.00 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.13 (s, 1H, ArH), 7.41 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 11.39 (s, 1H, COOH), 11.52 (s, 1H, pyrrole-NH).

3.2.6 6a~6p 的合成通法

取 2 mmol 的 **5a**(或 **5b**)溶于 30 mL 二氯甲烷, 冰浴, 加入 2.4 mmol 的 HOBT 及 2.4 mmol 用三乙胺(3.6 mmol)处理过的 EDCI. 加完搅拌活化 30 min 后, 加入 2.6 mmol 先前制备的氨基酸甲酯盐酸盐(加入之前用 3.4 mmol 三乙胺处理), 反应 4~24 h. TLC 监测反应完成后, 反应液先水洗(5 mL $\times$ 2), 饱和碳酸氢钠溶液洗, 饱和食盐水洗, 有机相经无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂得粗品, 粗品经柱硅胶层析纯化[洗脱剂为 V (石油醚): V (乙酸乙酯)=1:1~1:2], 得化合物 **6a**~**6p**^[25], 收率 65%~95%.

3.2.7 7a~7p 的合成通法

取 1 mmol 的 **6a**~**6p** 溶解于 10 mL THF 中, 加入 4 mmol NaOH 溶液(1 mol/L), 搅拌, 反应. TLC 监测反应结束后旋干 THF, 加入 10 mL 水, 乙酸乙酯洗 3 次, 有机层弃掉, 冰浴条件下, 水相滴加 1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 至 2~3, 有大量沉淀析出, 乙酸乙酯萃取(15 mL $\times$ 3), 合并有机相, 无水硫酸钠干燥, 抽滤, 旋干溶剂, 粗品重结晶, 得到化合物 **7a**~**7p**.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-甘氨酸(**7a**): 淡黄色固体, 收率 83%. m.p. 205~207 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 3.81 (d, $J=6.0$ Hz, 2H, NCH₂COO), 6.93 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.15 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.27 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.29 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.47 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.90 (t, $J=6.0$ Hz, 1H, CONH), 11.24 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.40 (s, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 172.3, 165.8, 136.0, 128.8 (2C), 128.1 (2C), 125.9, 124.3, 122.1, 118.7, 117.1, 41.3; ESI-HRMS calcd for C₁₃H₁₃N₂O₃ [M+H]⁺ 245.0926, found 245.0916.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-丙氨酸(**7b**): 淡黄色固体, 收率 85%. m.p. 165~167 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : 1.31 (d, $J=7.2$ Hz, 3H, NCCH₃), 4.24~4.34 (m, 1H, NCH), 6.93 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.18 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.31 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.46 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.74 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, CONH), 11.24 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.39 (br s, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 175.1, 165.4, 136.0, 128.8 (2C), 128.2 (2C), 126.0, 124.2, 122.3, 118.5, 117.1, 48.1, 17.6; ESI-HRMS calcd for C₁₄H₁₅N₂O₃ [M+H]⁺ 259.1083, found

259.1084.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-缬氨酸(**7c**): 淡黄色固体, 收率 79%. m.p. 199~201 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 0.80 (d, $J=6.8$ Hz, 3H, CH₃), 0.88 (d, $J=6.8$ Hz, 3H, CH₃), 2.10~2.01 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 4.23 (dd, $J=8.0, 6.0$ Hz, 1H, NCH), 6.91 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.11 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, CONH), 7.20 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.30 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.34 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.44 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 11.29 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.48 (brs, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 173.8, 165.5, 136.0, 129.0 (2C), 128.4 (2C), 126.3, 123.8, 122.8, 118.6, 117.2, 57.8, 30.1, 19.7, 18.6; ESI-HRMS calcd for C₁₆H₁₉N₂O₃ [M+H]⁺ 287.1396, found 287.1394.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-亮氨酸(**7d**): 淡黄色固体, 收率 78%. m.p. 184~186 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 0.86~0.90 (m, 6H, C(CH₃)₂), 1.41~1.73 (m, 3H, CH₂CH), 4.27~4.39 (m, 1H, NCH), 6.93 (s, 1H, pyrrole-H), 7.17 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.31 (s, 1H, pyrrole-H), 7.45 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, CONH), 11.25 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.43 (brs, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 175.1, 165.6, 136.0, 128.8 (2C), 128.2 (2C), 126.0, 124.1, 122.3, 118.5, 117.2, 50.8, 25.0, 23.4, 21.8 (2C); ESI-HRMS calcd for C₁₇H₂₁N₂O₃ [M+H]⁺ 301.1552, found 301.1523.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-苯丙氨酸(**7e**): 淡黄色固体, 收率 87%. m.p. 94~96 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 2.91~2.97 (m, 1H, ArCH), 3.09~3.13 (m, 1H, ArCH), 4.50~4.56 (m, 1H, NCH), 6.90 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.12~7.33 (m, 11H, ArH, pyrrole-H), 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, CONH), 11.22 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.62 (brs, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 174.0, 165.3, 138.5, 135.8, 129.6 (2C), 128.7 (2C), 128.6 (2C), 128.2 (2C), 126.8, 125.9, 124.1, 122.2, 118.6, 117.1, 53.9, 37.0; ESI-HRMS calcd for C₂₀H₁₉N₂O₃ [M+H]⁺ 335.1396, found 335.1385.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-脯氨酸(**7f**): 淡黄色固体, 收率 65%. m.p. 106~108 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.56~1.89 (m, 3H, pyrrolidine-H), 2.13~2.16 (m, 1H, pyrrolidine-H), 3.30~3.41 (m, 2H, pyrrolidine-H), 4.2~4.4 (m, 1H, pyrrolidine-H), 6.86~7.09 (m, 2H, pyrrole-H), 7.13 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.25 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.46 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 11.24 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.45 (brs, 1H, COOH); ¹³C NMR (100

MHz, DMSO- d_6) δ : 173.7, 165.9, 135.4, 128.1 (2C), 126.6 (2C), 125.2, 122.6, 120.0, 117.0, 116.7, 58.5, 48.5, 29.1, 24.5; ESI-HRMS calcd for $C_{16}H_{17}N_2O_3$ $[M + H]^+$ 285.1239, found 285.1235.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-丝氨酸(**7g**): 黄色固体, 收率 80%. m.p. 174~176 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 3.66~3.75 (m, 2H, CCH₂), 4.34~4.39 (m, 1H, NCH), 4.90 (brs, 1H, OH), 6.93 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.17 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.27 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.35 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.41 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, CONH), 7.47 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 11.29 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.52 (brs, 1H, COOH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 172.8, 165.3, 135.8, 128.8 (2C), 128.3 (2C), 126.0, 124.1, 122.6, 118.7, 117.1, 61.9, 55.3; ESI-HRMS calcd for $C_{14}H_{15}N_2O_4$ $[M + H]^+$ 275.1032, found 275.1024.

N-(4-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基)-*L*-天冬氨酸(**7h**): 灰白色固体, 收率 89%, m.p. 181~183 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 2.60~2.66 (m, 1H, CCH), 2.72~2.78 (m, 1H, CCH), 4.65 (q, $J=7.2$ Hz, 1H, NCH), 6.93 (t, $J=2.0$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.16 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.28 (t, $J=2.0$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.45 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.76 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, CONH), 11.29 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.46 (brs, 2H, COOH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 173.3, 172.4, 165.2, 135.8, 128.8 (2C), 128.2 (2C), 126.0, 124.1, 122.5, 118.7, 117.0, 49.2, 36.5; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_{15}N_2O_5$ $[M + H]^+$ 303.0981, found 303.0977.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-甘氨酸(**7i**): 淡黄色固体, 收率 85%. 201~203 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 3.733 (s, 3H, OCH₃), 3.737 (s, 1H, OCH₃), 3.78 (d, $J=5.6$ Hz, 2H, NCH₂), 6.87 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 6.88 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.00 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.10 (s, 1H, ArH), 7.25 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.63 (brs, 1H, CONH), 11.21 (s, 1H, pyrrole-NH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 172.5, 165.8, 148.6, 147.5, 128.7, 123.9, 122.1, 120.7, 118.2, 117.2, 113.2, 112.1, 56.0, 55.8, 41.7; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_{17}N_2O_5$ $[M + H]^+$ 305.1137, found 305.1126.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-丙氨酸(**7j**): 淡黄色固体, 收率 80%. m.p. 85~87 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 1.29 (d, $J=7.2$ Hz, 3H, CH₃), 3.727 (s, 3H, OCH₃), 3.735 (s, 3H, OCH₃), 4.23~4.32 (m, 1H, NCH), 6.84~6.87 (m, 2H, ArH, pyrrole-H), 6.98 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, ArH), 7.07 (s, 1H, ArH), 7.25 (brs,

1H, pyrrole-H), 7.58 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, CONH), 11.20 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.35 (brs, 1H, COOH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.5, 164.9, 148.1, 147.1, 128.2, 123.4, 121.8, 120.3, 117.6, 116.6, 112.8, 111.6, 55.6, 55.3, 47.6, 17.2; ESI-HRMS calcd for $C_{16}H_{19}N_2O_5$ $[M + H]^+$ 319.1294, found 319.1278.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-缬氨酸(**7k**): 淡黄色固体, 收率 87%. m.p. 89~91 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 0.73 (d, $J=6.8$ Hz, 3H, CH₃), 0.84 (d, $J=6.8$ Hz, 3H, CH₃), 1.98~2.08 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.74 (s, 6H, OCH₃), 4.20~4.23 (m, 1H, NCH), 6.85 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 6.89~6.96 (m, 3H, ArH, CONH), 7.02 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, ArH), 7.29 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 11.25 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.36 (brs, 1H, COOH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 173.3, 164.9, 148.4, 147.4, 128.1, 123.0, 122.2, 120.7, 117.8, 116.8, 112.9, 111.9, 57.1, 55.6, 55.3, 29.6, 19.2, 17.8; ESI-HRMS calcd for $C_{18}H_{23}N_2O_5$ $[M + H]^+$ 347.1607, found 347.1595.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-亮氨酸(**7l**): 淡黄色固体, 收率 84%. m.p. 87~89 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 0.86 (t, $J=6.8$ Hz, 6H, CH₃), 1.48~1.61 (m, 3H, CH₂CH), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.29~4.34 (m, 1H, NCH), 6.86~6.88 (m, 2H, ArH, pyrrole-H), 6.97 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.06 (s, 1H, ArH), 7.25 (brs, 1H, pyrrole-H), 7.32 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, CONH), 11.15 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.32 (brs, 1H, COOH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.1, 165.6, 148.6, 147.6, 128.7, 123.9, 122.2, 120.7, 118.1, 117.2, 113.2, 112.1, 56.0, 55.8, 50.7, 24.9, 23.4, 21.8; ESI-HRMS calcd for $C_{19}H_{25}N_2O_5$ $[M + H]^+$ 361.1763, found 361.1759.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-苯丙氨酸(**7m**): 淡黄色固体, 收率 83%. m.p. 176~178 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 2.91~2.97 (m, 1H, ArCH), 3.10~3.15 (m, 1H, ArCH), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 4.43~4.48 (m, 1H, NCH), 6.80 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.83~6.86 (m, 2H, ArH, pyrrole-H), 7.01 (s, 1H, ArH), 7.13~7.25 (m, 8H, ArH, pyrrole-H, CONH), 11.21 (s, 1H, pyrrole-NH); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.0, 165.1, 148.6, 147.6, 140.0, 129.7 (2C), 128.6, 128.4 (2C), 126.5, 123.6, 122.1, 120.8, 118.1, 117.5, 113.1, 112.1, 56.0, 55.8, 54.6, 37.5; ESI-HRMS calcd for $C_{22}H_{23}N_2O_5$ $[M + H]^+$ 395.1607, found 395.1588.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-脯氨酸(**7n**): 淡黄色固体, 收率 75%. m.p. 230~232 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.67~1.81 (m, 3H, pyrrolidine-H), 2.12~2.16 (m, 1H, pyrrolidine-H), 3.31~3.36 (m, 2H, pyrrolidine-H), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 4.29~4.34 (m, 1H, pyrrolidine-H), 6.82~7.03 (m, 5H, ArH, pyrrole-H), 11.20 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.43 (brs, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 174.1, 166.6, 148.9, 147.3, 129.0, 123.2, 120.4, 119.3, 117.3, 116.8, 112.3, 111.4, 59.0, 56.0, 55.8, 49.0, 29.6, 25.0; ESI-HRMS calcd for C₁₈H₂₁N₂O₅ [M + H]⁺ 345.1450, found 345.1439.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-丝氨酸(**7o**): 黄色固体, 收率 80%. m.p. 187~189 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 3.63~3.67 (m, 1H, CCH), 3.70~3.72 (m, 1H, CCH), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 4.34~4.38 (m, 1H, NCH), 4.90 (brs, 1H, OH), 6.86~6.88 (m, 2H, ArH, pyrrole-H), 6.98 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 7.07 (s, 1H, ArH), 7.26 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, CONH), 7.31 (t, *J*=2.4 Hz, 1H, pyrrole-H), 11.24 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.52 (brs, 1H, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 172.8, 165.3, 148.7, 147.7, 128.5, 123.8, 122.7, 120.8, 118.4, 117.1, 113.2, 112.2, 61.9, 56.0, 55.8, 55.2; ESI-HRMS calcd for C₁₆H₁₉N₂O₆ [M + H]⁺ 335.1243, found 335.1220.

N-[4-(3,4-二甲氧基)-苯基-1*H*-吡咯-3-羰基]-*L*-天冬氨酸(**7p**): 淡黄色固体, 收率 89%. m.p. 124~126 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 2.61~2.67 (m, 1H, CCH), 2.72~2.77 (m, 1H, CCH), 3.74 (s, 6H, OCH₃), 4.67 (q, *J*=7.2 Hz, 1H, NCH), 6.87 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 6.88 (t, *J*=2.4 Hz, 1H, pyrrole), 6.97 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 7.06 (s, 1H, ArH), 7.24 (t, *J*=2.4 Hz, 1H, pyrrole-H), 7.64 (d, *J*=8.0 Hz, 1H, CONH), 11.21 (s, 1H, pyrrole-NH), 12.35 (brs, 2H, COOH, COOH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 173.3, 172.5, 165.3, 148.6, 147.6, 128.5, 123.9, 122.4, 120.7, 118.2, 116.9, 113.1, 112.1, 56.0, 55.8, 49.1, 36.5; ESI-HRMS calcd for C₁₇H₁₉N₂O₇ [M + H]⁺ 363.1192, found 363.1180.

3.3 细胞增殖抑制实验

本实验用噻唑蓝(MTT)法测定目标化合物的细胞增殖抑制活性^[26]. MTT 法是一种检测细胞存活和生长的常规方法, 其原理是活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT 还原为不溶于水的蓝紫色结晶甲瓚并沉积在细胞内, 死细胞则没有此变化. 二甲基亚砷可以溶解甲瓚, 用酶联免疫检测仪在所需波长处测定其吸光值

可间接反映活细胞数量, 在一定细胞数范围内, 甲瓚形成的数量和细胞数成正比.

实验步骤: 首先, 将冻存细胞复苏, 细胞培养、换液和传代均按标准操作进行. 取对数生长期细胞, 配制成细胞浓度为 5×10^4 个/mL 细胞悬液, 接种到 96 孔板, 每孔 90 μ L (约 4000~5000 个细胞/孔), 边缘孔用无菌 PBS 填充. 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 至细胞铺板孔底, 加入不同浓度的化合物溶液. 不同浓度阳性对照紫杉醇的样品溶液和阴性对照溶液各 10 μ L, 使化合物和阳性对照浓度分别为 0.1, 1, 10, 20, 50, 100 μ mol/L, 每个浓度设置 4 个复孔. 继续培养 24 h 后, 每孔加入 20 μ L MTT 溶液(0.5% MTT), 继续培养 4 h 后终止培养. 吸净 96 孔板中的上清液, 每孔加入 100 μ L 二甲基亚砷, 待甲瓚充分溶解后, 酶联免疫检测仪检测 570 nm 处各孔吸光值(OD 值).

$$\text{细胞增殖抑制率} = (\text{阴性对照组平均OD值} - \text{给药组平均OD值}) / \text{阴性对照组平均OD值} \times 100\%$$

根据 IC₅₀ 统计软件进行计算, 得到各化合物 IC₅₀ 值.

致谢 感谢上海交通大学分析测试中心提供的所有光谱数据.

辅助材料(Supporting Information) 所有目标化合物的 ¹H NMR, ¹³C NMR 以及 ESI-HRMS 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Joshi, S. D.; More, U. A.; Kulkarni, V. H.; Aminabhavi, T. M. *Curr. Org. Chem.* **2013**, *17*, 2279.
- [2] Pinder, A. R. *Nat. Prod. Rep.* **1992**, *9*, 491.
- [3] Tohme, R.; Darwiche, N.; Muhtasib, H. G. *Molecules* **2011**, *16*, 9665.
- [4] Kumar, D.; Rawat, D. S. *Oppor., Challenge Scope Nat. Prod. Med. Chem.* **2011**, *37*, 213.
- [5] Wiegand, A.; Hanekamp, W.; Griessbach, K.; Fabian, J.; Lehr, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *48*, 153.
- [6] Harrak, Y.; Rosell, G.; Daidone, G.; Plescia, S.; Schillaci, D.; Pujol, M. D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4876.
- [7] Gour, H. J.; Sanjay, J.; Sudershan, K. A.; Neelima, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3592.
- [8] He, X. Y.; Zou, P.; Qiu, J. Y.; Hou, L.; Jiang, S. B.; Liu, S. W.; Xie, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6726.
- [9] Montalbano, A.; Parrino, B.; Diana, P.; Barraja, P.; Carbone, A.; Spano, V.; Cirrincione, G. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 2550.
- [10] Padmaja, A.; Syamaiah, K.; Muralikrishna, A.; Padmavathi, V. *Indian J. Chem.* **2012**, *51B*, 285.
- [11] Van Leusen, D.; Van Echten, E.; Van Leusen, A. M. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2245.
- [12] Syamaiah, K.; Reddy, G. M.; Padmavathi, V.; Padmaja, A. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 3287.
- [13] Lan, L.; Zhan, X. P.; Qin, W. X.; Liu, Z. L.; Mao, Z. M. *Heterocy-*

- cles **2014**, 89, 375.
- [14] Lan, L.; Qin, W. X.; Zhan, X. P.; Liu, Z. L.; Mao, Z. M. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2014**, 14, 994.
- [15] McCoy, T. A.; Maxwell, M.; Neuman, R. E. *Cancer Res.* **1956**, 16, 979.
- [16] Szkerke, M. *Cancer Treat Rep.* **1976**, 60, 347.
- [17] Cox, P. J. *Biochem. Pharmacol.* **1979**, 28, 2045.
- [18] Zhao, R. L.; Fan, C. L.; Zhuo, R. X. *Chem. J. Chin. Univ.* **1989**, 10, 605 (in Chinese).
(赵儒林, 范昌烈, 卓仁禧, 高等学校化学学报, **1989**, 10, 605.)
- [19] Wang, Q. D.; Xue, S. J.; Shen, J. F.; Cai, Z. J. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, 28, 521 (in Chinese).
(王庆东, 薛思佳, 申杰峰, 蔡志娟, 有机化学, **2008**, 28, 521.)
- [20] Meng, G. R.; Li, J. J.; Wang, G. L.; Dong, M. J.; Zhang, Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, 34, 155 (in Chinese).
(孟光荣, 李嘉俊, 王国林, 董孟杰, 张倩, 有机化学, **2013**, 34, 155.)
- [21] Othman, M. S.; Kawkab, Y. S.; Mowafaq, M. G. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2013**, 5, 464.
- [22] Wu, L.; Ye, H. Y.; Xiao, D. J. *Chin. J. Pharm.* **2004**, 35, 67 (in Chinese).
(吴磊, 叶和珏, 肖定军, 中国医药工业杂志, **2004**, 35, 67.)
- [23] Fukushima, M.; Nagao, Y.; Sano, S.; Yagi, T.; Yokoyama, K. *Chem. Commun.* **1997**, 6, 559.
- [24] Buck, I. M.; Black, J. W.; Cooke, T.; Dunstone, D. J.; Gaffen, J. D.; Griffin, E. P.; Harper, E. A.; Hull, R. A. D.; Kalindjian, S. B.; Lill, E. J.; Linney, L. D.; Low, C. M. R.; McDonald, L. M.; Pether, M. J.; Robert, S. P.; Shankley, N. P.; Shaxted, M. E.; Steel, K. I. M.; Sykes, D. A.; Tozer, M. J.; Watt, G. F.; Walker, M. K.; Wright, L.; Wright, P. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6803.
- [25] Gududuru, V.; Hurh, E.; Dalton, J. T.; Miller, D. D. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 2584.
- [26] Yang, M.; He, J. B.; Cheng, Y. X.; Jiang, S. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, 33, 1319 (in Chinese).
(杨梅, 何江波, 程永现, 蒋晟, 有机化学, **2013**, 33, 1319.)

(Li, L.; Lu, Z.)