新型 3-取代苯甲酰基-4-取代噻吩基吡咯类化合物的合成及抗肿瘤活性研究

陈 简 张袁魁 詹晓平 刘增路 毛振民*

(上海交通大学药学院 上海 200240)

摘要 以取代苯乙酮和取代噻吩-2-甲醛为原料, 经过 Aldol 缩合和 Van Leusen 吡咯合成法合成了 29 个未见文献报道的 3-取代苯甲酰基-4-取代噻吩基吡咯类化合物 **2a~5c**. 以噻唑蓝(MTT)法测定目标化合物对人结肠癌细胞(HCT-116)、人胃腺癌细胞(SGC-7901)、人宫颈癌细胞(Hela)和 H 人脐静脉血管内皮细胞(UVEC)的细胞增殖抑制活性, 结果显示化合物 **2c**, **2i**, **3i**, **3j**, **4a~4f** 和 **5c** 对 HCT-116 细胞有较强($IC_{50} \leq 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)或中等($20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} < IC_{50} \leq 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)增殖抑制作用; 化合物 **2j** 对 Hela 细胞有较强增殖抑制作用, 其 IC_{50} 值为 $4.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 化合物 **2i**, **3j** 对 Hela 细胞有中等增殖抑制作用; 化合物 **3j** 对 SGC-7901 细胞有较强增殖抑制作用, 化合物 **2i** 对 SGC-7901 细胞有中等增殖抑制作用. 几乎所有化合物对 HUVEC 细胞无显著增殖抑制作用, 具有高选择性.

关键词 吡咯; 噻吩; 合成; MTT 法; 抗肿瘤活性

Synthesis and Anti-tumor Activity of Novel 3-Substituted-benzoyl-4-substituted-thienyl-pyrroles

Chen, Jian Zhang, Yuankui Zhan, Xiaoping Liu, Zenglu Mao, Zhenmin*

(School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

Abstract 29 novel 3-substituted-benzoyl-4-substituted-thienyl-pyrrole compounds **2a~5c** were synthesized via aldol condensation and Van Leusen pyrrole reaction using substituted acetophenone and substituted 2-thienaldehyde as raw materials, and the cell proliferation inhibition efficacy of **2a~5c** against human colon cancer (HCT-116), human gastric adenocarcinoma (SGC-7901), human cervical carcinoma (Hela) and human umbilical vein endothelial (HUVEC) cell lines were estimated. Then MTT assay was used to evaluate the anti-proliferative activity. The result indicated that some target compounds exhibited strong ($IC_{50} \leq 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) or moderate ($20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1} < IC_{50} \leq 50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) proliferation inhibition efficacy against tumor cells, meanwhile didn't have significant inhibition effect on HUVEC. Compounds **2c**, **2i**, **3i**, **3j**, **4a~4f** and **5c** showed strong or moderate inhibition efficacy against HCT-116. The IC_{50} value of **2j** was $4.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ against Hela, and compounds **2i** and **3j** exhibited moderate inhibition efficacy against Hela. The IC_{50} value of **3j** was $10.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ against SGC-7901, and compounds **2i** indicated moderate inhibition efficacy against SGC-7901. Compounds **2i** and **3j** showed broad anti-proliferative activity against all selected tumor cells.

Keywords pyrrole; thiophene; synthesis; MTT assay; anti-tumor activity

吡咯是研究与应用很广泛的杂环之一, 存在于骨焦油和煤焦油中, 1857 年首次被分离得到. 经过一百多年的发展, 含有吡咯环结构的化合物在农药、高分子、化妆品等很多领域都有很重要的应用^[1]. 吡咯衍生物在医药领域也有不可忽视的重要作用, 吡咯结构是许多具有重要生理活性物质的基本组成部分, 如叶绿素、血红素、

维生素 B12 等. 吡咯环上取代位点多, 能与其它环联合组成新的母核结构, 使得吡咯衍生物的数量极速增加. 由于吡咯类化合物具有优良的生物相容性和结构多样性, 医药工作者们对其进行了深入的研究, 目前已发现吡咯衍生物的生物学活性涵盖了抗真菌细菌、抗病毒、降血脂、降胆固醇、COX1/COX2 抑制剂、抗肿瘤^[2~4]

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

Received October 14, 2015; revised November 6, 2015; published online November 20, 2015.

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

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

等. 其中, 具有抗肿瘤活性的吡咯类化合物包括辉瑞公司研发的 Sunitinib(舒尼替尼)^[5](图 1)、来源于海洋生物的 Dicytodendrins A 和 B^[6](图 1)等. 本课题组^[7~9]曾报道了 3,4-二取代吡咯类系列化合物的合成及抗肿瘤活性. 前期研究表明, 当吡咯环的 1, 2, 5 位无取代基, 3 位为吸电子基(苯甲酰基、硝基等)取代时, 化合物具有良好的体外抗肿瘤活性. 针对已报道的 3,4-二取代吡咯类化合物, 其 4 位取代基主要是取代苯基, 本工作设计的吡咯类新化合物在保留前期研究得出的优势结构基础上, 保留吡咯环的 1, 2, 5 位无取代基, 3 位为取代的苯甲

酰基, 在吡咯环的 4 位引入噻吩基及取代噻吩基.

噻吩是杂环化学中重要的研究部分^[10], 噻吩也被广泛地用于新药的研发. 噻吩的重要衍生物之一为生物素, 也称维生素 H, 具有防止脱发、增强机体免疫力等作用; 噻吩也用于抗生素的合成, 如头孢噻啶等, 一些含有噻吩结构的抗生素比苯基同系物具有更好的疗效^[11]; 由鬼臼毒素衍生而来的替尼泊苷^[12]对何杰金和非何杰金淋巴瘤有明显疗效. 由于噻吩环具有特殊的活性, 我们在前期报道的 3,4-二取代吡咯化合物的 4 位引入噻吩基团以考察噻吩基取代后的吡咯类化合物的抗肿瘤活性.

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

反应流程如 Scheme 1, 主要分为两步. (1) α,β -不饱和酮的制备: 以取代的噻吩-2-甲醛与取代的苯乙酮在碱性条件下进行 Aldol 缩合生成相应的 α,β -不饱和酮^[13], 由于原料活性和空间位阻不同, 反应时间在 15 min 到 4 h 不等. (2) 环合反应: 采用范勒森(Van Leusen)吡咯合成法^[14], 以第一步得到的 α,β -不饱和酮为原料, 与对甲基苯磺酰甲基异脒(Tosylmethyl isocyanide, TosMIC)在无水碱性环境下进行 Michael 加成得到相应的目标化合物.

1.2 生物活性

从表 1 可以看出: 部分目标化合物对所选取的 3 种肿瘤细胞有较强($IC_{50} \leq 20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)或中等($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} < IC_{50} \leq 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的增殖抑制作用, 几乎所有目标化合物对正常细胞 HUVEC 无明显抑制作用, 具有高

图 1 具有抗肿瘤活性的吡咯衍生物

Figure 1 Pyrrole derivatives with anti-tumor activity

图式 1 目标化合物的反应流程

Scheme 1 Reaction processes of target compounds

选择性. 吡咯母核 4 位噻吩环分为有取代基和无取代基两种情况, 当取代基为 Cl 和 Br 时, 部分目标化合物对三种肿瘤细胞的抑制作用较无取代基的化合物抑制作用有所增强, 如化合物 **2c** (R=5-Br, R'=3-Br)、化合物 **3f** (R=5-Cl, R'=3-Br) 与化合物 **5b** (R=H, R'=3-Br) 相比, 前两者对三种肿瘤细胞的 IC₅₀ 值都低于后者, 化合物 **2i** (R=5-Br, R'=4-phenyl)、**3j** (R=5-Cl, R'=4-phenyl) 与化合物 **5c** (R=H, R'=4-phenyl) 相比, 也是前两者对三种肿瘤细胞的 IC₅₀ 值都低于后者. 但当溴取代的噻吩环增加一个甲基时, 即吡咯环的 4 位为 4-甲基-5-溴噻吩取代时, 目标化合物对 HCT-116 细胞的增殖抑制活性明显增强, 而对 Hela 细胞和 SGC-7901 细胞的抑制活性下降, 如化合物 **4a~4f**. 比较吡咯母核 4 位的卤素取代噻吩基对目标化合物的增殖抑制活性, 发现噻吩环上的卤原子对化合物的活性影响没有明显的规律, 比如化合物 **2c** (R=5-Br, R'=3-Br) 对三种肿瘤细胞株的抑制活性较 **3f** (R=5-Cl, R'=3-Br) 强; 化合物 **2f** (R=5-Br,

R'=2, 4-CH₃) 对三种肿瘤细胞株的抑制活性较 **3e** (R=5-Cl, R'=2, 4-CH₃) 强. 但化合物 **2a** (R=5-Br, R'=2-Cl) 与 **3a** (R=5-Cl, R'=2-Cl) 的抑制活性相当; 化合物 **2d** (R=5-Br, R'=3, 4-OCH₃) 的活性弱于 **3b** (R=5-Cl, R'=3, 4-OCH₃), **2e** (R=5-Br, R'=2-F) 的弱于 **3c** (R=5-Cl, R'=2-F), **2i** (R=5-Br, R'=4-phenyl) 的弱于 **3j** (R=5-Cl, R'=4-phenyl). 还有化合物 **2g** (R=5-Br, R'=3-NO₂) 与 **3i** (R=5-Cl, R'=3-NO₂), **2h** (R=5-Br, R'=4-CH₃) 与 **3d** (R=5-Cl, R'=4-CH₃) 相比较, 互有强弱.

吡咯母核 3 位上的取代苯环可分为吸电子基取代、供电子基取代和无取代基的苯环, 在 IC₅₀ 值 < 100 μmol·L⁻¹ 的化合物中, 苯环无取代的化合物的 IC₅₀ 高于苯环有取代的化合物, 如化合物 **4f** (R=4-CH₃, 5-Br, R'=H) 比同系列中 **4a~4e** 对 HCT-116 的 IC₅₀ 值都高, 化合物 **3h** (R=5-Cl, R'=H) 比同系列中 **3d, 3f, 3h, 3i, 3j** 对 HCT-116 的 IC₅₀ 值都高; 当苯环取代基为强吸电子基硝基时, 化合物有一定抑制活性, 但 IC₅₀ 值 < 20 μmol·L⁻¹ 的化合物 4 位苯环上均为供电子基和弱吸电子基取代, 如 **2j** (R=5-Br, R'=3,4,5-OCH₃), **3j** (R=5-Cl, R'=4-phenyl), **4c** (R=4-CH₃, 5-Br, R'=3-Br) 和 **4d** (R=4-CH₃, 5-Br, R'=2-F).

目标化合物中 IC₅₀ 值 < 20 μmol·L⁻¹ 的化合物为 **2j**, **3j**, **4c** 和 **4d**. 其中 **2j** (R=5-Br, R'=3,4,5-OCH₃) 是所有化合物中最有潜力的, 对 Hela 细胞的 IC₅₀ 值为 4.3 μmol·L⁻¹, 达到与紫杉醇 IC₅₀ 值同一数量级, **2j** 的苯环上有 3 个供电子基甲氧基取代, 推测目标化合物与 Hela 结合位点可能为缺电子结构; 化合物 **3j** (R=5-Cl, R'=4-phenyl) 对 SGC-7901 细胞的 IC₅₀ 值为 10.5 μmol·L⁻¹, 为紫杉醇 IC₅₀ 值的 2.14 倍, 对 SGC-7901 细胞有较强的增殖抑制作用. 化合物 **4c** (R=4-CH₃, 5-Br, R'=3-Br), **4d** (R=4-CH₃, 5-Br, R'=2-F) 对 HCT-116 细胞的 IC₅₀ 值分别为 10.3 和 11.1 μmol·L⁻¹, 与紫杉醇 IC₅₀ 值相近, 具有较强的细胞增殖抑制作用.

化合物 **2i** (R=5-Br, R'=4-phenyl) 与 **3j** (R=5-Cl, R'=4-phenyl) 对三种受试肿瘤细胞都显示出了不错的抗肿瘤活性, 相比其它目标化合物具有较广的抗癌谱.

2 结论

合成了 29 个新型 3-取代苯甲酰基-4-取代噻吩基吡咯类化合物, 部分目标化合物显示出良好的细胞增殖抑制活性, 表明结合了噻吩环与吡咯环的小分子抗肿瘤化合物有很大的研究价值与潜力, 目标化合物中 **2i**, **3j**, **4c**, **4d** 对肿瘤细胞的 IC₅₀ 值低于 20 μmol·L⁻¹, 有进一步研究的意义. 本工作为吡咯类抗肿瘤化合物进一步的结构修饰提供了依据, 在以后的结构改造中, 由于噻吩环部

表 1 MTT 实验结果 [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]^a
Table 1 Result of MTT assay [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]

化合物	HCT-116	Hela	SGC-7901	HUVEC
2a	>300	>300	>300	>300
2b	73.3	145.4	180.9	212.5
2c	38.5	90.1	69.2	98.0
2d	>300	>300	>300	>300
2e	>300	>300	>300	>300
2f	52.1	160.3	280.1	>300
2g	63.5	60.9	51.1	85.2
2h	65.3	121.3	144.9	255.6
2i	46.1	33.1	34.1	118.6
2j	106.0	4.3	143.0	>300
3a	>300	>300	>300	>300
3b	184.8	>300	>300	>300
3c	201.7	269.1	>300	>300
3d	55.2	182.7	160.5	>300
3e	135.2	233.6	>300	>300
3f	50.5	164.4	160.8	145.6
3g	55.2	71.0	201.4	173.4
3h	59.6	120.5	202.4	250.8
3i	44.4	188.0	71.7	168.8
3j	27.5	32.3	10.5	157.3
4a	30.5	>300	164.5	216.5
4b	25.6	>300	>300	156.7
4c	10.3	>300	102.8	210.0
4d	11.1	>300	153.5	>300
4e	28.4	>300	>300	119.3
4f	38.2	>300	203.1	172.4
5a	>300	>300	>300	>300
5b	113.7	164.7	188.6	169.1
5c	47.7	73.1	61.6	168.6
紫杉醇	8.7	6.8	4.9	175.1

^a Do not calculate IC₅₀ value which is bigger than 300 μmol·L⁻¹, indicates > 300.

分引入卤素提高了抗肿瘤活性,可尝试噻吩环上多卤素取代,如二氯、二溴、5-溴-4-氟取代等,由于化合物 **2i** ($R=5\text{-Br}$, $R'=4\text{-phenyl}$)与 **3j** ($R=5\text{-Cl}$, $R'=4\text{-phenyl}$)对受试肿瘤细胞有较广谱的抗肿瘤作用,可尝试吡咯3位引入与联苯结构相近的基团,如萘基,考察这类萘甲酰基取代吡咯化合物的抗肿瘤活性,此外,还有研究表明与本工作合成的目标化合物结构相近的噻吩取代吡咯类化合物具有 COX1/COX2 抑制作用^[16],可尝试测定目标化合物的 COX1/COX2 抑制活性,以发掘这一类化合物更多的生理作用。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

200~300 目柱层析硅胶(青岛海洋化工厂),薄层色谱板(GF₂₅₄,烟台江友硅胶开发有限公司),紫外分析仪(WFH-203B,上海精科实业有限公司),显微熔点仪(SGW-X4,上海精密科学仪器有限公司,温度计未校正),电子天平(Adventurer ARB120,美国 OHAUS)、核磁共振波谱仪(Agilent 405/54 400MHz 波谱仪或 Avance III 600 MHz 波谱仪, TMS 为内标,溶剂为 DMSO-*d*₆),高分辨质谱仪(Agilent 6230 ToF);细胞培养箱(美国 Thermo 公司);酶联免疫检测仪(美国 Thermo 公司);倒置显微镜(Olympus IX71);超净台(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

TosMIC (Sigma 公司),甲醇、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、石油醚、乙酸乙酯等常用试剂购买自国药集团化学试剂有限公司。RPMI-1640 培养基(HyClone 公司)、McCoy's 5A 培养基(Sigma 公司)、南美血缘胎牛血清(HyClone 公司)、青霉素-链霉素溶液(双抗, HyClone 公司)、无 Ca^{2+} , Mg^{2+} 磷酸盐缓冲液(PBS, HyClone 公司)、0.25%胰酶溶液(HyClone 公司)、生物级 DMSO ((HyClone 公司)、噻唑蓝(Sigma 公司)、紫杉醇(Sigma 公司)。

人结肠癌细胞(HCT-116,赛百慷细胞库)、人宫颈癌细胞(Hela,中科院细胞库)、人胃腺癌细胞(SGC-7901,中科院细胞库)、人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC,中科院细胞库)。

3.2 实验方法

3.2.1 化合物的合成

称取 0.09 g (3.9 mmol)金属钠加入 10 mL 甲醇中,搅拌片刻制成碱性甲醇钠溶液,加入 0.40 g (2.6 mmol) 2-氯苯乙酮,室温搅拌 5 min,加入 0.50 g (2.6 mmol) 5-溴噻吩-2-甲醛,室温反应 30 min, TLC 板监测反应进程,紫外显色;反应完毕加入硅胶粉减压旋蒸除去甲醇,采用柱层析分离纯化,石油醚/乙酸乙酯($V:V=60:1\sim 20:1$)梯度洗脱,得明黄色固体 **2A** 0.69 g,收率 80.6%。

2B~5C 的合成步骤与 **2A** 相同,该步反应收率较高,为 70%~90%。

将 0.26 g (2.3 mmol) *t*-BuOK(叔丁醇钾)加入到 12 mL DMF 中,搅拌片刻加入 0.36 g (1.8 mmol) TosMIC 室温搅拌 5 min 左右。0.50 g (1.5 mmol) **2A** 溶于 3 mL DMF 中,并将其滴加进反应体系,室温反应 6 h。TLC 板监测反应完毕后,反应液加入 100 mL 水洗,乙酸乙酯(20 mL $\times$ 3)萃取,收集有机相,用饱和氯化钠溶液洗,然后用无水硫酸钠干燥有机相 2 h,抽滤,收集滤液,加硅胶粉减压旋蒸除去乙酸乙酯;采用柱层析分离纯化,石油醚/乙酸乙酯($V:V=10:1\sim 3:1$)梯度洗脱,得棕色粉末状固体 **2a** 0.22 g,收率 40.4%。**2b~5c** 合成步骤与 **2a** 相同,产率约为 30%~70%。

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氯苯基)甲酮(**2a**):棕色粉末,产率 40.4%。m.p. 171~173 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.88 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.54~7.40 (m, 4H, ArH), 7.33~7.28 (m, 2H, thiophene-H+pyrrole-H), 7.13 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, thiophene-H), 6.99 (dd, $J=2.0, 3.2$ Hz, pyrrole-H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.8, 140.8, 138.8, 131.4, 131.2, 130.5, 130.1, 130.0, 129.1, 127.4, 126.3, 121.4, 121.0, 117.5, 109.3; ESI-HRMS calcd for C₁₅H₉ONSBrCl [$M+H$]⁺ 365.9277, 367.9319; found 365.9349, 367.9325。

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-甲氧基苯基)甲酮(**2b**):棕色粉末,产率 36.3%。m.p. 119~121 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.82 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.42 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.32~7.29 (m, 3H, ArH), 7.24 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.17~7.15 (m, 2H, thiophene-H+pyrrole-H), 7.10 (d, $J=4.0$ Hz, 1H, thiophene-H), 3.81 (s, 3H, OCH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 190.2, 159.5, 141.8, 139.4, 130.4, 129.9, 129.4, 125.9, 121.9, 120.8, 120.5, 118.1, 118.0, 114.1, 109.3, 55.7; ESI-HRMS calcd for C₁₆H₁₂O₂NSBr [$M+H$]⁺ 361.9772, 363.9817; found 361.9844, 363.9825。

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-溴苯基)甲酮(**2c**):棕色粉末,产率 51.3%。m.p. 135~137 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.89 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.83 (t, $J=1.6$ Hz, 1H, ArH), 7.79 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.46 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.32~7.29 (m, 2H, pyrrole-H), 7.16 (d, $J=3.9$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.10 (d, $J=3.9$ Hz, 1H, thiophene-H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.8, 142.4, 139.1, 134.7, 131.7, 131.0, 130.4, 129.8, 128.3, 126.1, 122.1, 121.0, 120.1, 117.9, 109.3; ESI-HRMS calcd for C₁₅H₉ONSBr₂ [$M+H$]⁺ 409.8840, 411.8797; found

409.8841, 411.8822.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3,4-二甲氧基苯基甲酮)(**2d**): 棕色粉末, 产率 40.5%. m.p. 162~164 °C; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.75 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.41 (dd, *J*=1.8, 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.35 (d, *J*=1.8 Hz, 1H, ArH), 7.29 (t, *J*=2.4 Hz, 1H, pyrrole-H), 7.27 (t, *J*=2.4 Hz, 1H, pyrrole-H), 7.11 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H), 7.08 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H), 7.05 (d, *J*=8.2 Hz, 1H, ArH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.3, 152.6, 148.8, 139.6, 132.6, 130.4, 128.0, 125.6, 124.0, 120.7, 120.3, 118.0, 112.3, 111.1, 109.1, 56.2, 55.9; ESI-HRMS calcd for C₁₇H₁₄O₃NSBr [M+H]⁺ 391.9878, 393.9927; found 391.9952, 393.9931.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氟苯基)甲酮(**2e**): 红棕色粉末, 产率 32.0%. m.p. 136~138 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.90 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.58~7.49 (m, 2H, ArH), 7.32~7.26 (m, 4H, ArH+pyrrole-H+thiophene-H), 7.15 (s, 1H, pyrrole-H), 7.12 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, thiophene-H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 186.8, 160.5, 158.0, 138.9, 132.6, 132.5, 131.0, 130.4, 130.2, 129.7, 129.5, 126.3, 124.8, 124.7, 121.4, 121.2, 117.4, 116.6, 116.4, 109.3; ESI-HRMS calcd for C₁₅H₉ONSBr [M+H]⁺ 349.9572, 351.9613; found 349.9647, 351.9627.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2,4-二甲基苯基)甲酮(**2f**): 棕色粉末, 产率 40.1%. m.p. 170~172 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.76 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.27~7.25 (m, 2H, thiophene-H), 7.24 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.11 (s, 1H, pyrrole-H), 7.10 (s, 1H, pyrrole-H), 7.05 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 6.95~6.94 (m, 1H, ArH), 2.32 (s, 3H, CH₃), 2.23 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 192.6, 139.4, 139.3, 138.5, 135.8, 131.7, 130.3, 130.3, 128.4, 126.0, 125.9, 122.0, 120.9, 117.5, 109.1, 21.3, 19.8; ESI-HRMS calcd for C₁₇H₁₄ONSBr [M+H]⁺ 359.9979, 362.0032; found 360.0055, 362.0035.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-硝基苯基)甲酮(**2g**): 红棕色粉末, 产率 33.3%. m.p. 165~167 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.97 (s, 1H, pyrrole-NH), 8.40~8.38 (m, 2H, ArH), 8.12 (d, *J*=6.8 Hz, 1H, ArH), 7.76 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.39 (s, 1H, pyrrole-H), 7.31 (s, 1H, pyrrole-H), 7.15 (d, *J*=2.8 Hz, 1H, thiophene-H), 7.07 (d, *J*=2.8 Hz, 1H, thiophene-H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 188.2, 148.0, 141.5, 138.9, 135.4, 130.6, 130.5, 130.2, 126.4, 126.3, 123.8, 121.3, 119.9,

118.0, 109.4; ESI-HRMS calcd for C₁₅H₉O₃N₂SBr [M+H]⁺ 376.9551, 378.9557; found 376.9587, 378.9567.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](4-甲基苯基)甲酮(**2h**): 棕色粉末, 产率 61.6%. m.p. 174~176 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.82 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.67 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, ArH), 7.31 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, ArH), 7.29 (s, 1H, pyrrole-H), 7.25 (s, 1H, pyrrole-H), 7.16 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H), 7.10 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H), 2.39 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 190.2, 142.3, 139.4, 137.5, 130.3, 129.6(2C), 129.3(2C), 128.7, 125.7, 120.6, 120.5, 117.9, 109.1, 21.5; ESI-HRMS calcd for C₁₆H₁₂ONSBr [M+H]⁺ 345.9857, 347.9866; found 345.9897, 347.9876.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](4-联苯基)甲酮(**2i**): 黄色粉末, 产率 47.5%. m.p. 202~204 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.89 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.86 (d, *J*=7.6 Hz, 2H, ArH), 7.81 (d, *J*=7.6 Hz, 2H, ArH), 7.76 (d, *J*=7.6 Hz, 2H, ArH), 7.52 (t, *J*=7.6 Hz, 2H, ArH), 7.43 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, ArH), 7.37~7.30 (m, 2H, pyrrole-H+thiophene-H), 7.19 (s, 1H, pyrrole-H), 7.12 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 190.0, 143.7, 139.6, 139.4, 139.1, 130.4, 130.1 (2C), 129.5, 129.1 (2C), 128.6 (2C), 127.3 (2C), 127.0, 125.9, 120.7, 120.5, 118.0, 109.2; ESI-HRMS calcd for C₂₁H₁₄ONSBr [M+H]⁺ 408.0013, 410.0019; found 408.0050, 410.0032.

[4-(5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3,4,5-三甲氧基苯基)甲酮(**2j**): 红棕色粉末, 产率 34.7%. m.p. 137~139 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.83 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.43 (s, 1H, pyrrole-H), 7.29 (s, 1H, pyrrole-H), 7.13 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H), 7.09 (d, *J*=3.6 Hz, 1H, thiophene-H), 7.06 (s, 2H, ArH), 3.82 (s, 6H, 3, 5-OCH₃), 3.74 (s, 3H, 4-OCH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 189.3, 152.9, 141.1, 139.4, 135.2, 130.3, 128.7, 125.8, 120.6, 120.4, 118.0, 109.2 (2C), 107.1 (2C), 60.6, 56.4 (2C); ESI-HRMS calcd for C₁₈H₁₆O₄NSBr [M+H]⁺ 422.0017, 424.0026; found 422.0057, 424.0037.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氯苯基)甲酮(**3a**): 红棕色粉末, 产率 59.9%. m.p. 185~187 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.88 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.53~7.43 (m, 4H, ArH), 7.34 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, thiophene-H), 7.30 (t, *J*=2.0 Hz, 1H, pyrrole-H), 7.02 (d, *J*=4.0 Hz, 1H, thiophene-H), 6.99 (dd, *J*=2.0, 3.2 Hz, 1H, pyrrole-H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 188.8, 140.7, 136.1, 131.4, 131.2, 130.1, 130.0, 129.0, 127.3,

126.9, 126.0, 125.3, 121.4, 120.9, 117.4; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_9ONSCl_2$ $[M+H]^+$ 321.9815, found 321.9855.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3,4-二甲氧基苯基)甲酮(**3b**): 浅棕色粉末, 产率 32.2%. m.p. 175~177 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.70 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.37 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (s, 1H, ArH), 7.25 (s, 1H, pyrrole-H), 7.22 (s, 1H, pyrrole-H), 7.08 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.00 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.92 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, thiophene-H), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.3, 152.6, 148.8, 136.8, 132.5, 127.9, 126.8, 125.8, 124.6, 124.0, 120.6, 120.3, 117.9, 112.2, 111.1, 56.1, 55.9; ESI-HRMS calcd for $C_{17}H_{14}O_3NSCl$ $[M+H]^+$ 348.0416, found 348.0455.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氟苯基)甲酮(**3c**): 浅棕色粉末, 产率 36.7%. m.p. 135~137 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.87 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.53~7.45 (m, 2H, ArH), 7.29~7.25 (m, 4H, ArH+thiophene-H+pyrrole-H), 7.12 (s, 1H, pyrrole-H), 6.98 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, thiophene-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 186.8, 160.5, 158.0, 136.2, 132.6, 132.5, 131.0, 130.2, 129.7, 129.5, 126.9, 126.0, 125.3, 124.7, 124.7, 121.4, 121.2, 117.5, 116.6, 116.4; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_9ONSFCl$ $[M+H]^+$ 306.0111, found 306.0151.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](4-甲基苯基)甲酮(**3d**): 浅棕色粉末, 产率 41.4%. m.p. 181~183 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.77 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.63 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.28~7.25 (m, 3H, ArH+pyrrole-H), 7.20 (s, 1H, pyrrole-H), 7.15 (d, $J=1.6$ Hz, 1H, thiophene-H), 6.95 (d, $J=1.6$ Hz, thiophene-H), 2.35 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.2, 142.2, 137.5, 136.7, 129.5 (2C), 129.3 (2C), 128.8, 126.8, 125.8, 124.7, 120.6, 120.5, 117.9, 21.49; ESI-HRMS calcd for $C_{16}H_{12}ONSCl$ $[M+H]^+$ 302.0362, found 302.0403.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2,4-二甲基苯基)甲酮(**3e**): 灰白粉末, 产率 37.6%. m.p. 189~191 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.79 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.29~7.28 (m, 2H, thiophene-H+pyrrole-H), 7.24 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.11 (s, 1H, ArH), 7.05 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.01 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H), 6.96 (s, 1H, pyrrole-H), 2.32 (s, 3H, CH₃), 2.24 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 192.6, 139.4, 138.5, 136.6, 135.8, 131.7, 130.3, 128.4, 126.8, 126.0, 125.8, 124.9, 122.0, 120.9, 117.6, 21.3, 19.8; ESI-HRMS calcd for $C_{17}H_{14}ONSCl$ $[M+H]^+$ 316.0518, found 316.0559.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-溴苯基)甲酮(**3f**): 黄棕色粉末, 产率 37.6%. m.p. 153~155 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.90 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.83 (s, 1H, ArH), 7.81 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.73 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.46 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (s, 2H, pyrrole-H), 7.19 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.00 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.8, 142.4, 136.3, 134.7, 131.7, 131.0, 129.8, 128.3, 126.9, 126.0, 125.0, 122.1, 121.0, 120.1, 117.9; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_9ONSClBr$ $[M+H]^+$ 365.9347, 367.9297; found 365.9349, 367.9326.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](4-甲氧基苯基)甲酮(**3g**): 红棕色粉末, 产率 34.6%. m.p. 153~155 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.77 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.77 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.27 (s, 1H, pyrrole-H), 7.24 (s, 1H, pyrrole-H), 7.14 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.04 (d, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 6.98 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H), 3.84 (s, 3H, OCH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.3, 162.7, 136.8, 132.6, 131.7, 128.0, 126.8, 125.8, 124.6, 120.7, 120.3, 117.9, 114.0, 55.9; ESI-HRMS calcd for $C_{16}H_{12}O_2NSCl$ ($[M+H]^+$): 318.0348, found 318.0352.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](苯基)甲酮(**3h**): 浅红棕粉末, 产率 39.8%. m.p. 181~183 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.84 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.74 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.50 (t, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.30 (s, 1H, pyrrole-H), 7.25 (s, 1H, pyrrole-H), 7.20 (d, $J=3.2$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.01 (d, $J=3.2$ Hz, 1H, thiophene-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.5, 140.3, 136.6, 132.1, 129.3, 129.3 (2C), 128.7 (2C), 126.8, 125.9, 124.8, 120.7, 120.5, 117.9; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_{10}ONSCl$ $[M+H]^+$ 288.0242, found 288.0244.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-硝基苯基)甲酮(**3i**): 棕色粉末, 产率 36.5%. m.p. 195~197 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.01 (s, 1H, pyrrole-NH), 8.44~8.42 (m, 2H, ArH), 8.16 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.80 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.43 (s, 1H, pyrrole-H), 7.36 (s, 1H, pyrrole-H), 7.21 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.01 (d, $J=3.6$ Hz, 1H, thiophene-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.1, 148.0, 141.5, 136.2, 135.4, 130.6, 130.2, 126.9, 126.4, 126.1, 125.2, 123.8, 121.2, 119.9, 118.0; ESI-HRMS calcd for $C_{15}H_9O_3N_2SCl$ $[M+H]^+$ 333.0056, found 333.0092.

[4-(5-氯噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](4-联苯基)甲酮

(**3j**): 棕色粉末, 产率 36.8%. m.p. 195~197 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.89 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.87~7.80 (m, 4H, ArH), 7.76 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.51 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.44 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.35~7.33 (m, 2H, pyrrole-H), 7.22 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.01 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, thiophene-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.0, 143.7, 139.6, 139.1, 136.6, 130.1 (2C), 129.5, 129.2 (2C), 128.6, 127.3 (2C), 127.0 (2C), 126.8, 125.9, 124.8, 120.7, 120.5, 117.9; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{ONSCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 364.0554, found 364.0559.

[4-(4-甲基-5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氯苯基)甲酮(**4a**): 棕色粉末, 产率 74.5%. m.p. 195~197 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.83 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.51~7.38 (m, 4H, ArH), 7.23 (s, 2H, pyrrole-H), 6.95 (s, 1H, thiophene-H), 2.10 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.8, 140.9, 137.0, 136.6, 131.2, 131.1, 130.1, 130.1, 129.1, 127.8, 127.3, 121.1, 121.1, 117.6, 106.5, 15.4; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ONSClBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 379.9504, 381.9457; found 379.9506, 381.9483.

[4-(4-甲基-5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2,4-二甲苯基)甲酮(**4b**): 灰白色粉末, 产率 68.3%. m.p. 167~168 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.73 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.23~7.22 (m, 3H, ArH+pyrrole-H), 7.10 (s, 1H, thiophene-H), 7.04 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, $J=1.6$ Hz, 1H, pyrrole-H), 2.32 (s, 3H, CH_3), 2.23 (s, 3H, CH_3), 2.13 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 192.5, 139.4, 138.6, 137.0, 136.9, 135.8, 131.7, 130.2, 128.4, 127.5, 126.0, 122.1, 120.6, 117.7, 106.3, 21.3, 19.8, 15.4; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O-NSBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 374.0170, 376.0114; found 374.0210, 376.0190.

[4-(4-甲基-5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-溴苯基)甲酮(**4c**): 棕色粉末, 产率 46.8%. m.p. 164~166 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.88 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.84~7.78 (m, 2H, ArH), 7.72 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.47 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.27 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, pyrrole-H), 7.13 (s, 1H, thiophene-H), 2.12 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.8, 142.5, 137.0, 136.8, 134.6, 131.6, 130.9, 129.7, 128.3, 127.6, 122.0, 120.7, 120.1, 118.1, 106.5, 15.3; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ONSBBr}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423.8987, 425.8939; found 423.8999, 425.8979.

[4-(4-甲基-5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氟苯基)甲酮(**4d**): 棕色粉末, 产率 54.5%. m.p. 166~168 °C;

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.84 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.54~7.45 (m, 2H, ArH), 7.29~7.23 (m, 3H, ArH+thiophene-H), 7.20 (s, 1H, pyrrole-H), 7.11 (s, 1H, pyrrole-H), 2.10 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 186.8, 160.5, 158.0, 137.0, 136.6, 132.5, 132.5, 130.9, 130.9, 130.2, 130.2, 129.7, 129.5, 127.8, 124.7, 124.7, 121.5, 121.0, 117.6, 116.6, 116.3, 106.5, 15.4; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{ONSFBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 363.9808, 365.9744; found 363.9803, 365.9783.

[4-(4-甲基-5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3,4-二甲氧基苯基)甲酮(**4e**): 黄色粉末, 产率 52.4%. m.p. 168~170 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.70 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.38 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.32 (s, 1H, ArH), 7.25 (s, 1H, pyrrole-H), 7.20 (s, 1H, pyrrole-H), 7.06 (s, 1H, thiophene-H), 7.02 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 2.08 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 189.2, 152.6, 148.8, 137.3, 136.9, 132.6, 127.9, 127.1, 124.0, 120.6, 120.1, 118.1, 112.3, 111.1, 106.2, 56.1, 55.9, 15.3; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{NSBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 406.0068, 408.0074; found 406.0109, 408.0090.

[4-(4-甲基-5-溴噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](苯基)甲酮(**4f**): 棕色粉末, 产率 41.7%. m.p. 210~212 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.81 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.75 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.59 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, ArH), 7.50 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, ArH), 7.26 (s, 1H, pyrrole-H), 7.24 (s, 1H, pyrrole-H), 7.15 (s, 1H, thiophene-H), 2.12 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.4, 140.3, 137.0, 136.9, 132.1, 129.3 (2C), 129.2 (2C), 128.7, 127.3, 120.5, 120.4, 118.1, 106.4, 15.3; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ONSBBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 345.9857, 347.9871; found 345.9895, 347.9875.

[4-(噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](2-氯苯基)甲酮(**5a**): 棕色粉末, 产率 44.1%. m.p. 174~176 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.79 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.53~7.39 (m, 5H, ArH+thiophene-H), 7.36 (d, $J=4$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.20 (s, 1H, pyrrole-H), 7.02 (dd, $J=4.0$, 4.8 Hz, 1H, thiophene-H), 6.97 (s, 1H, pyrrole-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.7, 141.2, 136.9, 131.3, 131.1, 130.1, 129.1, 127.5, 127.4, 126.2, 124.4, 121.3, 121.2, 121.1, 118.4; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ONSCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 288.0142, found 288.0245.

[4-(噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](3-溴苯基)甲酮(**5b**): 棕色粉末, 产率 33.4%. m.p. 155~157 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.80 (s, 1H, pyrrole-NH), 7.82~7.81

(m, 1H, ArH), 7.77 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.44 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.33 (dd, $J=5.2, 1.0$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.31 (dd, $J=3.6, 1.0$ Hz, 1H, thiophene-H), 7.29 (dd, $J=2.4, 2.8$ Hz, pyrrole-H), 7.21 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, pyrrole-H), 6.98 (dd, $J=3.6, 5.2$ Hz, 1H, thiophene-H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.9, 142.7, 137.1, 134.6, 131.7, 130.9, 129.4, 128.3, 127.5, 125.8, 124.4, 122.0, 120.5, 120.4, 118.6; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ONSBr}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 331.9666, 333.9713; found 331.9741, 333.9720.

[4-(噻吩-2-基)-1*H*-吡咯-3-基](4-联苯基)甲酮(**5c**): 棕色粉末, 产率 40.0%. m.p. 110~112 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.72 (s, 1H, pyrrole NH), 7.81 (d, $J=8.2$ Hz, 2H, ArH), 7.75 (d, $J=8.2$ Hz, 2H, ArH), 7.70 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.47 (t, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH), 7.38 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.31 (d, $J=3.5$ Hz, 1H, thiophene H), 7.29 (d, $J=5.1$ Hz, 1H, thiophene H), 7.26 (t, $J=2.0$ Hz, 1H, pyrrole H), 7.18 (t, $J=2.0$ Hz, 1H, pyrrole H), 6.95 (dd, $J=3.5, 5.1$ Hz, 1H, thiophene H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.1, 143.6, 139.7, 139.3, 130.2 (2C), 129.5 (2C), 128.8, 128.6 (2C), 127.5 (2C), 127.4, 127.4, 126.9, 125.6, 124.2, 120.9, 120.3, 118.7; ESI-HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{ONS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 330.0908, found 330.0947.

3.2.2 生物活性实验

采用噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖抑制活性. 检测原理为活细胞线粒体中含有琥珀酸脱氢酶能将外源性 MTT 还原为不溶于水的蓝紫色结晶甲瓚并沉积于细胞中, 死细胞无此功能. DMSO 能溶解甲瓚, 用酶联免疫检测仪测定 570 nm 处的吸光度(OD 值), 在一定细胞数范围内, 吸光度与活细胞数量成正比, 由此能间接反映活细胞的数量. MTT 法是操作简便、使用频率高的用于检测细胞增殖抑制活性的方法之一^[15].

具体操作步骤如下: 细胞复苏后贴壁培养(HCT-116 培养液为 McCoy's 5A, 含体积分数为 10% 的胎牛血清、0.0022 g/mL NaHCO_3 , 其余细胞培养液均为 RPMI-1640, 含体积分数为 10% 的胎牛血清及体积分数为 1% 的双抗, 传代 3~5 代后取对数生长期的细胞, PBS 冲洗后加入胰酶消化 2 min, 加入 5 mL 培养液终止消化, 吹打成单个细胞, 计数培养液稀释后取 90 μL 细胞悬液接种于 96 孔板, 使每个孔的细胞个数大约为 4000~5000. 细胞培养箱中培养 24 h 后, 加入 10 μL 浓度分别为 500, 200, 100, 10, 1 $\mu\text{g/mL}$ 的样品溶液(培养液和 DMSO 混合溶液, DMSO 含量不超过 0.05%)和阳性对

照紫杉醇溶液, 使样品溶液和紫杉醇溶液终浓度为 50, 20, 10, 1, 0.1 $\mu\text{g/mL}$, 每个浓度设置 3 个复孔, 空白对照为含等量 DMSO 的培养液. 24 h 后, 每孔中加入 20 μL 5 $\mu\text{g/mL}$ MTT 的 PBS 溶液, 继续培养 4 h. 小心吸去培养基, 每孔加入 100 μL DMSO 震荡 1 min, 酶联免疫检测仪检测 570 nm 下吸光度.

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{OD}_{\text{空白}} - \text{OD}_{\text{加药组}}}{\text{OD}_{\text{空白}}} \times 100\%$$

根据化合物浓度和细胞增殖抑制率做出标准曲线, 运用 SPSS 非线性回归分析计算受试化合物的 IC_{50} 值.

致谢 感谢方舟同学在分析测试工作上的帮助.

辅助材料(Supporting Information) 所有目标化合物的 ^1H NMR, ^{13}C 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] Nordmann, J.; Müller, T. J. J. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 6556.
- [2] Hopp, D. C.; Rhea, J.; Jacobsen, D.; Romari, K.; Smith, C.; Rabenstein, J.; Irigoyen, M.; Clarke, M.; Francis, L.; Luche, M.; Carr, G. J.; Mocek, U. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 276.
- [3] Pham, V. C.; Shin, J.-S.; Choi, M. J.; Kim, T. W.; Lee, K.; Kim, K. J.; Huh, G.; Kim, J.; Choo, D. J.; Lee, K.-T.; Lee, J. Y. *Bull. Korean Chem.* **2012**, *33*, 721.
- [4] Bellina, F.; Rossi, R. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 7213.
- [5] Raymond, E.; Dahan, L.; Raoul, J.-L.; Bang, Y.-J.; Borbath, I.; Lombard-Bohas, C.; Valle, J.; Metrakos, P. *N. Engl. J. Med.* **2011**, *364*, 501.
- [6] Gupton, J. T. *Top Heterocycl. Chem.* **2006**, *2*, 53.
- [7] Lan, L.; Zhan, X.-P.; Qin, W.-X.; Liu, Z.-L.; Mao, Z.-M. *Heterocycles* **2014**, *89*, 375.
- [8] Lan, L.; Qin, W.-X.; Zhan, X.-P.; Liu, Z.-L.; Mao, Z.-M. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2014**, *14*, 994.
- [9] Yin, C.-Q.; Zhan, X.-P.; Lan, L.; Qin, W.-X.; Liu, Z.-L.; Mao, Z.-M. *Prog. Modern Biomed.* **2014**, *14*, 5419 (in Chinese). (殷昌青, 詹晓平, 兰岚, 覃维曦, 刘增路, 毛振民, 现代生物医学进展, **2014**, *14*, 5419.)
- [10] Barbarella, G.; Melucci, M.; Sotgiu, G. *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1581.
- [11] Lu, Y.; Yuan, S.-B. *Fine Spec. Chem.* **2002**, *22*, 5 (in Chinese). (陆咏, 袁少波, 精细与专用化学品, **2002**, *22*, 5.)
- [12] Huang, Y.-H.; Li, D.-P.; Chen, L.-S. *J. Leukemia Lymphoma* **2003**, *12*, 271 (in Chinese). (黄一虹, 李德鹏, 陈令松, 白血病·淋巴瘤, **2003**, *12*, 271.)
- [13] Sharma, R.; Kumar, K.; Chouhan, M.; Grover, V.; Nair, V. A. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 14521.
- [14] van Leusen, A. M.; Siderius, H.; Hoogenboom, B. E.; van Leusen, D. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *52*, 5337.
- [15] Heo, D. S.; Park, J.-G.; Hata, K.; Day, R.; Herberman, R. B.; Whiteside, T. L. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 3681.
- [16] Dannhardt, G.; Kiefer, W.; Krämer, G.; Maehrlein, S.; Nowe, U.; Fiebich, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 499.

(Zhao, C.)