新型 4'-(*N*-取代-1-哌嗪基)查尔酮衍生物的合成及其抗肿瘤活性

林玉萍^{†,a} 虎春艳^{†,a} 郑 喜^b 王秀丽^a
 万春平^b 毛泽伟^{*,a}

(^a 云南中医学院中药学院 昆明 650500)

(^b 云南中医学院第一附属医院中心实验室 昆明 650021)

摘要 为了寻找活性较高的抗肿瘤新型分子,采用活性亚结构拼接的方法,将查尔酮和哌嗪连接起来,并通过衍生化,设计合成了 10 个未见文献报道的新型 4'-(*N*-取代-1-哌嗪基)查尔酮衍生物 **3a~3j**,其结构经 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 确证。采用溴化噻唑蓝四氮唑(MTT)法测试了目标化合物体外抗肿瘤活性(Hela, A549 和 SGC7901),结果表明化合物 **3f**、**3i** 和 **3j** 均表现出良好的细胞毒活性,可做进一步研究。

关键词 查尔酮; 哌嗪; 合成; 抗肿瘤活性

Synthesis and Anti-tumor Activities of Novel 4'-(*N*-Substitued-1-piperazinyl)chalcone Derivatives

Lin, Yuping^{†,a} Hu, Chunyan^{†,a} Zheng, Xi^b Wang, Xiuli^a
 Wan, Chunping^b Mao, Zewei^{*,a}

(^a School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500)

(^b Central Laboratory, The No. 1 Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021)

Abstract With the aim of developing new potent anticancer agents, a series of novel 4'-(*N*-substitued-1-piperazinyl)chalcone derivatives **3a~3j** have been designed and synthesized based on the structure of the chalcone by molecular hybridization. The structures were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. These derivatives were evaluated for their *in vitro* anti-tumor activity against a panel of human tumor cell lines (Hela, A549 and SGC7901) by the thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) assay. The result indicated that compounds **3f**, **3i** and **3j** were found to be the potent compounds against human tumor cell lines, which are to be lead compounds for further structural modifications and activity research.

Keywords chalcone; piperazine; synthesis; anti-tumor activity

查尔酮是一类以二芳基取代的 α,β -不饱和酮为基本骨架的化合物,在自然界分布十分广泛^[1~3]。查尔酮类化合物分子结构独特,含有多个反应中心,可以与多种受体结合,从而表现出广泛的生物活性,是一类非常重要的有机合成及药物合成中间体^[4~6]。从天然产物中提取分离以及通过化学、生物等方法合成的查尔酮类化合物,表现出抗肿瘤、抗寄生虫、抗病毒、抗菌、抗炎、抗血小板凝集等多种药理学性质^[7~10]。因此,查尔酮类化合物的研究与开发已成为药物化学的一个热点研究

领域。

氮杂环化合物因其广泛的生物活性和较好的有机催化活性,一直颇受人们的青睐^[11~13]。哌嗪作为含氮杂环体系中的重要一员,具有优良的生物活性和低毒性的特点,其环上的 N 原子可以参与生物体中氢键的形成,增加药物与受体的亲和力和选择性,使该类化合物在新药研发方面显示出越来越重要的作用^[14,15]。

基于此,在前期研究中,本课题组依据生物活性叠加原理,将哌嗪与查尔酮母核连接起来,并对环上的

* Corresponding author. E-mail: ydmason@163.com

Received May 12, 2016; revised June 20, 2016; published online July 15, 2016.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81460624) and the Foundation of Yunnan Province Department of Education (No. 2014Z119).

国家自然科学基金(No. 81460624)和云南省教育厅基金(No. 2014Z119)资助项目。

[†]共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

NH 基团进行衍生化. 活性结果表明, 当哌嗪环上 N—H 被苯乙酮取代时, 其细胞毒活性明显增强^[16], 如图 1 所示.

图 1 查尔酮-哌嗪衍生物的设计思路

Figure 1 Synthetic strategy of chalcone-piperazine derivatives

为了进一步研究哌嗪环上不同取代基对查尔酮-哌嗪结合物抗肿瘤活性的影响, 本研究在前期工作基础上, 采用活性亚结构拼接的方法, 以对二甲氨基苯甲醛与 2-溴-4'-氟苯乙酮为原料出发, 经羟醛缩合、脱水、取代反应生成 4-二甲氨基-4'-(1-哌嗪基)查尔酮(**2**)后, 再通过取代反应, 设计合成了 10 个未见报道的含取代哌嗪的查尔酮衍生物 **3a~3j** (Scheme 1). 化合物结构经 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 确证. 采用溴化噻唑蓝四氮唑(MTT)法初步测试了化合物的体外抗肿瘤活性(人宫颈癌细胞 Hela, 人肺癌细胞 A549 和人胃癌细胞 SGC7901). 结果表明, 部分化合物对肿瘤细胞株表现出良好的抑制活性. 特别是化合物 **3i**, 对 Hela, A549 和 SGC7901 的 IC₅₀ 值分别为 16.45, 0.19 和 0.78 μmol/L, 有待作进一步研究.

图式 1 查尔酮-哌嗪衍生物的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of chalcone-piperazine derivatives

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

目标化合物 **3a~3j** 的合成路线如 Scheme 1 所示, 结果见表 1. 文献报道, 氮杂环化合物能与查尔酮发生加成反应^[17,18], 但在化合物 **2** 的合成过程中, 未检测到加成产物. 在合成目标化合物 **3** 时, 尝试了不同碱和溶剂对反应的影响. 以合成化合物 **3a** 为例, 反应结果如表 2 所示. 从表 2 可以看出, 碱和溶剂的不同对反应均有较大影响. 选取有机碱时反应效果较好, 因化合物 **2** 在 CH₃CN 中的溶解度较差, 选择 DCM-CH₃CN 混合溶剂, 能有效溶解反应物, 产率达到 82%.

表 1 合成目标化合物的产率

Table 1 Yields of synthesized compounds

Compd.	R	Yield ^a /%
3a	Me—	82
3b	C ₂ H ₅ —	73
3c	CH ₂ =CHCH ₂ —	88
3d	HC≡CCH ₂ —	85
3e		78
3f		86
3g		82
3h		91
3i		88
3j		84

^a Isolated yield.

表 2 化合物 **3a** 的反应条件优化

Table 2 Optimization of reaction conditions for the synthesis of **3a**

Entry	Base ^a	Solvent	Yield/%
1	DIPEA	DCM	62
2	K ₂ CO ₃	DCM	40
3	CS ₂ CO ₃	DCM	38
4	DIPEA	CH ₃ CN	42
5	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	26
6	CS ₂ CO ₃	CH ₃ CN	30
7	DIPEA	DCM/CH ₃ CN (V : V=1 : 1)	82

^a 碱(2.0 equiv.); DIPEA: N,N-二异丙基乙胺; DCM: 二氯甲烷.

1.2 抗肿瘤活性测试

以顺铂(DDP)为对阳性对照, 以 Hela、A549 和

SGC7901 为待测细胞株, 采用 MTT 法测定目标化合物的体外抗肿瘤活性, 结果见表 3. 活性结果表明, 化合物 **3a**, **3h** 对肿瘤细胞株 Hela 和 SGC7901 有选择性的抑制作用; 化合物 **3f**, **3g** 对肿瘤细胞株 A549 和 SGC7901 有选择性的抑制作用; 化合物 **3i**, **3j** 对 3 种肿瘤细胞株均表现出优于顺铂的细胞毒活性, 特别是化合物 **3i** 的体外抗肿瘤活性最强, 对 Hela、A549 和 SGC7901 的 IC_{50} 值分别为 16.45, 0.19 和 0.78 $\mu\text{mol/L}$.

表 3 化合物的体外抗肿瘤活性 [$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]

Table 3 Anti-tumor activities of compounds [$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]

Compd.	Hela	A549	SGC7901
3a	12.53	>40	19.34
3b	25.33	>40	>40
3c	>40	>40	34.13
3d	33.22	>40	24.05
3e	>40	>40	>40
3f	30.62	10.54	8.35
3g	>40	18.62	31.14
3h	7.06	33.21	10.52
3i	16.45	0.19	0.78
3j	12.15	1.22	9.82
顺铂	20.52	11.54	12.44

由表 3 可以看出, 目标化合物哌嗪环上 NH 的取代基对其体外抗肿瘤活性具有明显的影响. 当烷基取代时 (**3a**~**3d**), 显示无抗肿瘤活性; 当苄基取代时 (**3e**~**3g**), 显示出一定的抗肿瘤活性, 并且苄基苯环上含吸电子基团时活性增强, 其中 $4\text{-CF}_3 > 3,4\text{-CF}_2 > \text{H}$; 当含有酮基或酯基取代时, 其细胞毒活性要优于顺铂或与顺铂相当, 特别是含丙酮取代的化合物 (**3i**), 对三种肿瘤细胞增殖均显示出明显的抑制作用. 由上我们可以推测, 取代基是目标化合物细胞毒活性的关键, 这为该类化合物的构效关系研究提供了参考.

2 结论

采用活性亚结构拼接的方法, 将查尔酮和哌嗪连接起来, 设计合成了一系列查尔酮-哌嗪衍生物, 其结构经 ^1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 确证. 采用 MTT 法对合成化合物进行了体外抗肿瘤活性测试 (Hela, A549 和 SGC7901). 结果表明, 部分化合物对肿瘤细胞有较好的抑制活性, 特别化合物 **3i** 对三种肿瘤细胞株均具有显著的细胞毒活性, IC_{50} 值分别为 16.45, 0.19 和 0.78 $\mu\text{mol/L}$, 可作为先导化合物作进一步研究.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker AM 300 和 Bruker AM 400 核磁共振波谱仪,

TMS 为内标; YANACO 显微熔点仪, 温度未校正; AutoSpec Premier P776 型双聚焦三扇型磁质谱仪; 二氧化碳培养箱 (美国 Thermo-fisher); Epoch 连续波长酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); RPMI-1640 培养基 (Gibco B.R.L 公司). 所有试剂与溶剂均为市售分析纯, 使用前按常规方法处理.

3.2 实验方法

3.2.1 4-二甲氨基-4'-(1-哌嗪基)查尔酮(**2**)的合成

按文献[19]的方法合成: 称取 4-氟苯乙酮 (2.76 g, 20 mmol) 和对二甲氨基苯甲醛 (3.28 g, 22 mmol) 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 50 mL 乙醇室温搅拌. 待固体溶解后, 加入 20% KOH 20 mL. 薄层色谱 (TLC) 检测原料消失后, 将反应物倒入 50 mL 水中, 固体析出, 抽滤, 固体依次用 50 mL 水和 50 mL 30% 乙醇-水洗涤. 干燥后得 4.61 g 4-二甲氨基-4'-氟查尔酮 (**1**), 橙黄色固体, 收率 84%. 称取 2.69 g (10 mmol) 4-二甲氨基-4'-氟查尔酮 (**1**) 和 2.74 g (20 mmol) 碳酸钾于 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 1.72 g (20 mmol) 哌嗪和 50 mL 无水 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF), 在 120 $^{\circ}\text{C}$ 反应 12 h. TLC 检测反应完成后, 将反应物倒入 100 mL 冷水中, DCM 萃取 (30 mL $\times$ 3). 有机相经无水硫酸钠干燥后浓缩, 残余物经柱层析 [洗脱剂: $V(\text{甲醇}): V(\text{二氯甲烷}) = 1: 50$] 分离得到黄色固体, 收率 84%. m.p. 164~166 $^{\circ}\text{C}$ [16]; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.01 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.33 (t, $J=4.8$ Hz, 4H), 3.01~3.04 (m, 10H), 2.12 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 188.3, 154.2, 151.8, 144.1, 130.3, 130.1, 129.1, 123.0, 116.8, 113.6, 111.8, 48.5, 45.9, 40.2. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}$ ($M+H$) $^{+}$ 336.2070, found 336.2072.

3.2.2 4-二甲氨基-4'-(1-哌嗪基)查尔酮(**3**)的合成

称取 100 mg (0.3 mmol) 化合物 **2** 于 25 mL 圆底烧瓶中, 加入 5 mL 无水 DCM 和 5 mL CH_3CN 溶解后, 再加入 0.1 mL DIPEA 和 0.45 mmol 卤代物 (合成化合物 **3a** 采用碘甲烷, 其它化合物采用溴代物), 室温下搅拌 2 h. TLC 检测原料消失后, 加入 30 mL 水, DCM 萃取 (10 mL $\times$ 3). 有机相经无水硫酸钠干燥后浓缩, 残余物经柱层析 [洗脱剂: $V(\text{甲醇}): V(\text{二氯甲烷}) = 1: 100$] 分离得到目标产物.

4-二甲氨基-4'-(*N*-甲基-1-哌嗪基)查尔酮 (**3a**): 灰白色固体. m.p. 162~164 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.38 (t, $J=5.1$ Hz,

4H), 3.01 (s, 6H), 2.57 (t, $J=5.1$ Hz, 4H), 2.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 188.3, 153.8, 151.8, 144.1, 130.3, 130.1, 129.2, 123.1, 116.9, 113.7, 111.9, 54.8, 47.3, 46.1, 40.1.

4-二甲氨基-4'-(*N*-乙基-1-哌嗪基)查尔酮(**3b**): 淡褐色固体. m.p. 164~166 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 3.41 (d, $J=3.8$ Hz, 4H), 3.03 (s, 6H), 2.64 (d, $J=4.0$ Hz, 4H), 2.53 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.18 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.5, 153.8, 151.9, 144.3, 130.5, 130.3, 129.4, 117.0, 113.8, 112.0, 52.6, 52.5, 47.4, 40.3.

4-二甲氨基-4'-(*N*-烯丙基-1-哌嗪基)查尔酮(**3c**): 淡黄色固体. m.p. 170~172 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.99 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=6.9$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=6.9$ Hz, 2H), 5.86~5.95 (m, 1H), 5.19~5.26 (dd, $J=17.2, 10.4$ Hz, 2H), 3.39 (d, $J=3.4$ Hz, 4H), 3.07 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.03 (s, 3H), 3.02 (s, 3H), 2.62 (d, $J=3.2$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.5, 153.9, 151.9, 144.2, 134.7, 130.5, 130.2, 123.4, 118.6, 117.2, 113.8, 112.0, 61.8, 52.8, 47.6, 40.3.

4-二甲氨基-4'-(*N*-炔丙基-1-哌嗪基)查尔酮(**3d**): 淡灰色固体. m.p. 179~181 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=7.1$ Hz, 2H), 3.42 (d, $J=3.8$ Hz, 4H), 3.38 (s, 2H), 3.03 (s, 6H), 2.74 (d, $J=3.6$ Hz, 4H), 2.29 (s, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.5, 153.8, 151.9, 144.3, 130.5, 130.2, 129.5, 123.4, 117.2, 113.9, 112.0, 78.5, 73.7, 51.7, 47.6, 47.1, 40.3.

4-二甲氨基-4'-(*N*-苄基-1-哌嗪基)查尔酮(**3e**): 淡黄色固体. m.p. 196~198 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.01 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.26~7.41 (m, 6H), 6.90 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 3.37 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 3.02 (s, 6H), 2.61 (t, $J=5.2$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.3, 153.9, 151.8, 144.1, 137.9, 130.4, 130.2, 129.2, 129.1, 128.4, 127.3, 123.2, 117.0, 113.6, 111.9, 63.0, 52.8, 52.7, 47.5, 40.2.

4-二甲氨基-4'-[*N*-(4-三氟甲基苄基)-1-哌嗪基]查尔酮(**3f**): 淡褐色固体. m.p. 188~190 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.99 (t, $J=3.6$ Hz, 2H), 7.76~7.81 (dd, $J=5.0, 5.0$ Hz, 1H), 7.48~7.61 (m, 6H), 7.35~7.40 (dd,

$J=5.2, 5.2$ Hz, 1H), 6.92 (q, $J=3.4$ Hz, 2H), 6.70 (q, $J=3.5$ Hz, 2H), 3.61 (d, $J=4.1$ Hz, 2H), 3.37 (d, $J=4.3$ Hz, 4H), 3.03 (s, 3H), 3.02 (s, 3H), 2.60 (d, $J=4.3$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.4, 153.9, 151.9, 144.2, 142.4, 130.5, 130.2, 129.3, 125.4, 125.3, 123.4, 117.0, 113.8, 112.0, 62.5, 52.9, 47.6, 40.2.

4-二甲氨基-4'-[*N*-(3,4-二氟苄基)-1-哌嗪基]查尔酮(**3g**): 黄色固体. m.p. 183~185 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.18~7.23 (m, 1H), 7.05~7.12 (m, 2H), 6.91 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 3.49 (s, 2H), 3.37 (t, $J=4.8$ Hz, 4H), 3.02 (s, 6H), 2.58 (t, $J=5.0$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.4, 153.9, 151.9, 144.2, 130.5, 130.2, 129.3, 124.7, 123.3, 117.8, 117.6, 117.1, 117.0, 113.8, 112.0, 61.9, 52.8, 47.6, 40.3. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 462.2351, found 462.2351.

4-二甲氨基-4'-[*N*-(2-氧代乙醚基)-1-哌嗪基]查尔酮(**3h**): 淡红色固体. m.p. 180~182 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.99 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 4.23 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.43 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 3.27 (s, 2H), 3.02 (s, 6H), 2.75 (t, $J=5.0$ Hz, 4H), 1.31 (t, $J=7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 188.5, 170.2, 153.8, 151.9, 144.2, 130.5, 129.4, 123.3, 117.1, 113.9, 112.0, 60.8, 59.5, 52.8, 47.5, 40.3. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_3$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 422.2438, found 422.2437.

4-二甲氨基-4'-[*N*-(2-氧代丙基)-1-哌嗪基]查尔酮(**3i**): 淡红色粘稠状. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J=15.5$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.70 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.42 (t, $J=4.7$ Hz, 4H), 3.27 (s, 2H), 3.03 (s, 6H), 2.66 (t, $J=4.8$ Hz, 4H), 2.18 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 206.1, 188.5, 153.8, 151.9, 144.3, 130.5, 130.2, 129.4, 123.2, 117.0, 113.8, 112.0, 68.1, 53.1, 47.5, 40.3, 27.9. HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 392.2333, found 392.2333.

4-二甲氨基-4'-[*N*-(2-氧代- β -萘乙基)-1-哌嗪基]查尔酮(**3j**): 淡黄色固体. m. p. 241~243 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.57 (s, 1H), 7.86~8.05 (m, 6H), 7.79 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 7.52~7.62 (m, 4H), 7.39 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 4.01 (s, 2H), 3.46 (d, $J=3.9$ Hz, 4H), 3.01 (s, 6H), 2.83 (d, $J=$

3.9 Hz, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 196.3, 188.5, 153.9, 151.9, 144.3, 135.9, 133.5, 132.6, 130.5, 130.2, 130.0, 129.8, 129.5, 128.8, 128.6, 128.0, 127.0, 124.0, 123.4, 117.2, 113.9, 112.0, 64.6, 53.4, 47.6, 40.3; HRMS-ESI calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$ 504.2646, found 504.2645.

3.3 抗肿瘤活性测试

以顺铂(DDP)为阳性对照, 采用 MTT 法^[8]测定目标化合物的体外抗肿瘤活性. 取对数生长期的肿瘤细胞 (5×10^4 个/mL) 接种于 96 孔板中, 培养过夜后加入化合物, 设置 6 个浓度梯度, 每个浓度 3 个复孔. 作用 48 h 后, 每孔加入 20 μL 5 mg/mL 的 MTT, 继续培养 4 h, 于 3000 r/min 离心 10 min, 吸弃培养液, 加入 150 μL DMSO, 酶标仪 570 nm 波长测定吸光度, 计算 IC_{50} 值.

辅助材料(Supporting Information) 文中所有化合物的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 及部分 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] Ayabe, S.; Furuya, T. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 2097.
- [2] Kim, N. Y.; Pae, H. O.; Oh, G. S.; Kang, T. H.; Kim, Y. C.; Rhew, H. Y.; Chung, H. T. *Pharmacol. Toxicol.* **2001**, 88, 261.
- [3] Jayasinghe, L.; Balasooriya, B. A. I. S.; Padmini, W. C.; Hara, N.; Fujimoto, Y. *Phytochemistry* **2004**, 65, 1287.
- [4] Kim, K. N.; Ko, Y. J.; Kang, M. C.; Yang, H. M.; Roh, S. W.; Oda, T.; Jeon, Y. J.; Jung, W. K.; Heo, S. J.; Yoon, W. J.; Kim, D. *Food Chem. Toxicol.* **2013**, 53, 371.
- [5] Franco, C.; Rossella, F.; Adriana, B.; Paola, C.; Daniela, O. S.; Francesca, R.; Matilde, Y.; Francesco, O.; Stefano, A. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2818.
- [6] Shen, Y. N.; Lin, L.; Qiu, H. Y.; Zou, W. Y.; Qian, Y.; Zhu, H. L. *RSC Adv.* **2015**, 5, 23767.
- [7] Sashidhara, K. V.; Kumar, M.; Modukuri, R. K.; Sonkar, R.; Bhatia, G.; Khanna, A. K.; Rai, S.; Shukla, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 4480.
- [8] Mishra, N.; Arora, P.; Kumar, B.; Mishra, L. C.; Bhattacharya, A.; Awasthi, S. K.; Bhasin, V. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1530.
- [9] Fang, X. W.; Zhou, L. Z.; Cheng, Z.; Yang, M. P.; Yang, B. Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, 33, 523 (in Chinese). (方线文, 周丽珍, 成昭, 杨美盼, 杨秉勤, 有机化学, **2013**, 33, 523.)
- [10] Dai, H.; Miao, W. K.; Liu, J. B.; Wu, S. S.; Qin, X.; Fang, J. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, 32, 1690 (in Chinese). (戴红, 苗文科, 刘建兵, 吴珊珊, 秦雪, 方建新, 有机化学, **2012**, 32, 1690.)
- [11] Vergelli, C.; Ciciani, G.; Cilibrizzi, A.; Crocetti, L.; Mannelli, L. D.; Ghelardini, C.; Guerrini, G.; Iacovone, A.; Giovannoni, M. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 6237.
- [12] Safyrgin, A. V.; Irgashev, R. A.; Barabanov, M. A.; Sosnovskikh, V. Y. *Tetrahedron* **2016**, 72, 227.
- [13] Biswas, N. N.; Kutty, S. K.; Iskander, G. M.; Mielczarek, M.; Bhadbhade, M. M.; Gardner, C. R.; Black, D. S.; Kumar, N. *Tetrahedron* **2016**, 72, 539.
- [14] Edlund, C.; Oh, H.; Nord, C. E. *Clin. Microbiol. Infect.* **1999**, 1, 51.
- [15] Fasciolo, G.; Nicolini, A.; Vacca, N.; Viglierchio, P. *Curr. Ther. Res.* **1994**, 3, 251.
- [16] Mao, Z. W.; Zheng, X.; Qi, Y.; Zhang, M. D.; Huang, Y.; Wan, C. P.; Rao, G. X. *RSC Adv.* **2016**, 6, 7723.
- [17] Watson, A. J.; Fairbanks, A. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 30, 6784.
- [18] Kantam, M. L.; Yadav, J.; Laha, S.; Sreedhar, B.; Jha, S. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, 349, 1938.
- [19] Ajay, A.; Singh, V.; Singh, S.; Pandey, S.; Gunjan, S.; Dubey, D.; Sinha, S. K.; Singh, B. N.; Chaturvedi, V.; Tripathi, R.; Ramchandran, R.; Tripathi, R. P. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 23, 8289.

(Cheng, F.)