新型香豆素类衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

时 蕾^a 李子秋^a 崔鑫鑫^b 朱 挺^b 庞晓静^b 李龙辉^a
罗德福^a 刘方芳^b 赵冰玉^b 龙 跃^{*,a} 张赛扬^{*,c}

(^a 郑州大学化学学院 郑州 450001)

(^b 郑州大学药学院 郑州 450001)

(^c 郑州大学基础医学院 郑州 450001)

摘要 为了寻找结构新颖、活性较好的抗肿瘤化合物,设计合成了19个未见文献报道的3,4,5-三甲氧基苯基香豆素类化合物,并用核磁共振(NMR)和高分辨质谱(HRMS)等方法对化合物结构进行表征。用四甲基偶氮盐(MTT)法评价了该类化合物对人前列腺癌细胞(PC-3)、人食管癌细胞(EC-109)和人胃癌细胞(MGC-803)三种肿瘤细胞的抑制活性。结果显示, *N*-苄基-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4a**)和 *N*-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4n**)对三种肿瘤细胞的抑制活性优于阳性对照药5-氟尿嘧啶,其中化合物**4n**对人前列腺癌细胞(PC-3)的抑制活性最好,其IC₅₀为4.18 μmol/L。

关键词 香豆素; 抗肿瘤; 合成

Synthesis and Anticancer Activity of Novel Coumarin Derivatives

Shi, Lei^a Li, Ziqui^a Cui, Xinxin^b Zhu, Ting^b Pang, Xiaojing^b Li, Longhui^a
Luo, Defu^a Liu, Fangfang^b Zhao, Bingyu^c Long, Yue^{*,a} Zhang, Saiyang^{*,c}

(^a College of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

(^b School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou 450001)

(^c School of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

Abstract Nineteen novel 3,4,5-trimethoxyphenyl coumarin derivatives have been synthesized and evaluated for antitumor activity against three human cancer cell lines (EC-109, PC-3 and MGC-803). These chemical structures were well characterized by NMR and HRMS spectroscopic methods. *N*-Benzyl-2-((4-methyl-2-oxo-2*H*-chromen-7-yl)oxy)-*N*-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamide (**4a**) and *N*-((5-chlorobenzo[*b*]thiophen-3-yl)methyl)-2-((4-methyl-2-oxo-2*H*-chromen-7-yl)oxy)-*N*-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetamide (**4n**) had better inhibitory activity against three kinds of tumor cells than 5-fluorouracil. Compound **4n** showed the most potent antitumor activity against PC-3 cells with an IC₅₀ value of 4.18 μmol/L.

Keywords coumarin; anticancer; synthesis

香豆素又称1,2-苯并吡喃酮,其结构中的苯环和吡喃酮环可形成一个较大的共轭体系,这种结构特征使得香豆素具有很强的可修饰性,能够引入多种功能性基团^[1],使其在生物医药、功能材料和光电材料等领域广泛应用^[2]。此外,香豆素类化合物具有多种生物活性,如抗炎^[3]、抗病毒^[4]、抗菌^[5]、抗氧化^[6]和抗肿瘤^[7~9]等。近十几年来,人们对香豆素类化合物的研究不断深入,

发现许多香豆素类化合物主要通过调控细胞周期、诱导细胞凋亡或对多种酶和信号通路产生影响等途径抑制肿瘤细胞的增殖^[10,11]。

微管在细胞有丝分裂和生长发育过程中起着非常重要的作用,因此微管蛋白是抗癌药物研究中的一个重要靶点。研究发现,多种含3,4,5-三甲氧基苯基片段的化合物通过抑制微管蛋白聚合来抑制肿瘤细胞的增

* Corresponding authors. E-mail: longyue@zzu.edu.cn; saiyangz@zzu.edu.cn

Received November 23, 2019; revised January 15, 2020; published online April 9, 2020.

Project supported by the National Natural Sciences Foundations of China (Nos. 81703541, 81673322) and the China Postdoctoral Science Foundation (No. 2018M632812).

国家自然科学基金(Nos. 81703541, 81673322)和中国博士后科学基金(No. 2018M632812)资助项目。

殖^[12]. 如 2-氨基-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-5-芳基噻唑作为微管蛋白聚合抑制剂, 对多药耐药肿瘤细胞表现出有效的抑制活性^[13]; 3-(3,4,5-三甲氧基苯胺基)苯并咪唑作用于微管蛋白的秋水仙碱结合位点, 从而有效抑制肿瘤细胞的增殖^[14].

酰胺类化合物具有抗菌^[15]、抗肿瘤^[16]和杀虫^[17]等生物活性, 广泛应用于药物、材料和工业溶剂等方面. 酰胺结构是蛋白质的基本结构, 具有低毒和生物利用度高优点, 因此在药物分子设计中常被用到^[18]. 如温倩雯等^[19]合成一系列 4-(5H-噻唑并[5,4-b]咪唑-2-基-氨基)苯甲酰胺类化合物, 结果显示该类化合物对肿瘤细胞增殖有明显抑制作用; 张明千等^[20]合成了一系列 1,3,4-噻二唑酰胺类化合物, 发现部分化合物对人前列腺癌细胞(PC-3)的抑制作用要优于阳性对照药达卡巴嗪.

在前期工作中我们设计合成了一系列含 3,4,5-三甲氧基苯基的三级酰胺类化合物, 发现含有 4-甲基香豆素基团的化合物有较好的抗肿瘤活性. 利用药物化学中的拼合原理, 将 3,4,5-三甲氧基苯基和香豆素这两个药效基团通过酰胺片段连接(图 1), 设计合成了 19 个目标化合物, 并测试了该类化合物对人食管癌细胞(EC-109)、人胃癌细胞(MGC-803)和人前列腺癌细胞(PC-3)的抑制作用, 探索其构效关系, 为此类化合物的进一步研究提供参考.

图 1 目标化合物 4 的分子设计示意图

Figure 1 Design strategy of the target compounds 4

1 结果与讨论

1.1 化合物的合成

3,4,5-三甲氧基苯胺和取代基苄氯在 *N,N*-二甲基甲

酰胺和碳酸钾作用下发生亲核取代反应生成化合物 2, 再与氯乙酰氯反应得到化合物 3, 最后, 再和香豆素通过 Williamson 反应得到目标化合物 4. 在合成化合物 2 的过程中, 通常会有二取代副产物产生, 因此, 需要严格控制反应物之间的物质的量比和反应时间. 参考文献[21]中的合成方法, 控制两种原料的物质的量比为 1:1, 与参考文献不同的是没有对反应进行加热而是在室温下进行. 实验过程中通过薄层色谱对反应进行监测, 当体系中出现二取代杂质点时停止反应, 此时单取代化合物 2 的收率最高. 最后一步反应的溶剂选择也非常关键, 参考文献[22]用丙酮作溶剂, 发现完成反应需要 12 h, 收率约为 20%. 为了提高收率缩短反应时间, 分别使用乙腈、乙醇和四氢呋喃等溶剂, 对比发现乙腈作溶剂时, 反应时间缩短到 5 h, 大部分收率提高到 60%以上.

1.2 化合物的抗肿瘤活性

选用 5-氟尿嘧啶作阳性对照药, 用四甲基偶氮唑盐(MTT)法评价该类化合物对人食管癌细胞(EC-109)、人胃癌细胞(MGC-803)和人前列腺癌细胞(PC-3)三种肿瘤细胞的抑制作用, 其 IC_{50} 值见表 1.

从表 1 可以看出, 大部分化合物对肿瘤细胞具有一定的抑制作用, 值得注意的是, 化合物 4a 和 4n 对三种肿瘤细胞的抑制作用均优于阳性对照药 5-氟尿嘧啶, 其中, 化合物 4n 对人前列腺癌细胞(PC-3)的抑制活性最强, 其 IC_{50} 值为 4.18 $\mu\text{mol/L}$. 化合物 4c 对人食管癌细胞(EC-109)具有选择性抑制作用, 其 IC_{50} 值为 10.96 $\mu\text{mol/L}$; 化合物 4e 对人胃癌细胞(MGC-803)具有选择性抑制作用, 其 IC_{50} 值为 14.65 $\mu\text{mol/L}$. 对比化合物 4b~4j 对人前列腺癌细胞(PC-3)的抑制活性发现, 取代基 R^1 的种类和位置对化合物的抗肿瘤活性有明显的影响. R^1 为给电子取代基(4b 和 4c)时的抑制活性优于 R^1 为吸电子取代基(4d、4e 和 4f)时的抑制活性, 其抑制活性顺序为 $\text{OCH}_3 > \text{CH}_3 > \text{Br} > \text{F} > \text{Cl}$; R^1 位于对位(4b、4c、4d 和 4f)时的抗肿瘤活性普遍优于位于间位(4g、4h、4i 和 4j)时的抗肿瘤活性. 比较含有不同香豆素基团的化合物 4n~4s 对三种肿瘤细胞的抑制作用发现, 当香豆素基团的 4 位上含有甲基(4n 和 4p)时, 化合物对人前列腺癌细胞(PC-3)和人胃癌细胞(MGC-803)均有较好抑制的作用.

2 结论

利用拼合原理, 设计并合成了 19 个未见文献报道的新型香豆素类衍生物. 用 MTT 法对合成的化合物进行抗肿瘤活性筛选, 结果显示, 化合物 4a 和 4n 对三种肿瘤细胞的抑制作用均优于阳性对照药 5-氟尿嘧啶. 此

图式 1 目标化合物 4 的合成路线

Scheme 1 Synthetic routes of the target compounds 4

表 1 化合物 4a~4s 的抗肿瘤活性[IC₅₀/(μmol·L⁻¹)]Table 1 Anti-cancer activity [IC₅₀/(μmol·L⁻¹)] of the compounds 4a~4s

Compd.	PC-3	EC-109	MGC-803
4a	5.62 ± 1.27	16.24 ± 1.53	18.90 ± 1.28
4b	14.24 ± 1.55	38.73 ± 0.42	43.88 ± 1.27
4c	31.51 ± 2.94	10.96 ± 1.24	>80
4d	45.58 ± 2.02	43.24 ± 2.18	>80
4e	32.91 ± 1.81	44.94 ± 3.06	14.65 ± 1.82
4f	>80	>80	>80
4g	76.28 ± 2.59	46.31 ± 1.25	78.29 ± 3.64
4h	>80	36.183 ± 1.72	>80
4i	47.93 ± 1.30	27.93 ± 1.30	56.94 ± 1.52
4j	>80	72.86 ± 1.37	67.61 ± 1.32
4k	12.81 ± 1.63	55.68 ± 3.09	>80
4l	42.46 ± 2.42	51.33 ± 3.82	33.32 ± 7.06
4m	39.33 ± 2.02	46.75 ± 0.64	76.19 ± 2.42
4n	4.18 ± 0.41	14.32 ± 2.48	17.92 ± 2.38
4o	14.62 ± 1.51	42.93 ± 2.04	>80
4p	9.72 ± 1.28	24.19 ± 1.82	20.19 ± 1.84
4q	42.18 ± 1.39	>80	47.17 ± 1.24
4r	32.06 ± 1.59	48.91 ± 2.08	>80
4s	>80	60.63 ± 3.47	>80
5-Fu	9.79 ± 0.17	20.42 ± 1.83	21.21 ± 3.61

外, 化合物 **4c** 对人食管癌细胞(EC-109)的抑制作用以及化合物 **4e** 和 **4p** 对人胃癌细胞(MGC-803)的抑制作用也都优于阳性对照药 5-氟尿嘧啶。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

ZF7 三用紫外分析仪(巩义市予华仪器有限责任公司); SHB-III 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); CP214 电子天平(奥豪斯仪器有限公司); RE5299 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); Q-TOF Micro 高分辨质谱测定仪(美国 Waters 公司); DPX-400FT 超导核磁共振仪(美国 Bruker 公司)。所用试剂均为市售分析纯, 使用前按常规方法处理。实验所用的肿瘤细胞: 人食管癌细胞(EC-109)、人胃癌细胞(MGC-803)和人前列腺癌细胞(PC-3)由郑州大学基础医学院药理系提供。

3.2 实验方法

3.2.1 中间体 **2** 的合成

将 2.00 g (10.92 mmol) 的 3,4,5-三甲氧基苯胺溶于 *N,N*-二甲基甲酰胺中, 加入取代基苄氯(10.92 mmol)和 1.50 g (10.92 mmol) 的碳酸钾, 室温搅拌, 通过薄层色谱(TLC)监测。反应结束后抽滤, 收集滤液, 加入水和乙酸乙酯萃取三次, 合并有机相, 无水硫酸镁干燥后旋干, 柱层析分离(洗脱剂: 石油醚-乙酸乙酯, *V*: *V*=6:1), 得到目标化合物 **2a~2n**。

N-苄基-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2a**): 白色固体, 收率 49%。m.p. 84~85 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.37 (d, *J*=7.0 Hz, 2H), 7.32 (t, *J*=7.5 Hz, 2H), 7.22 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 6.02 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 5.89 (s, 2H), 4.23 (d, *J*=6.0 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.3, 145.4, 140.4, 128.5, 128.2, 127.4, 126.6, 90.1, 60.1, 55.4, 46.9; HRMS calcd for C₁₆H₂₀NO₃ [M+H]⁺ 274.1443, found 274.1448.

N-(4-甲氧基苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2b**)^[22]: 白色固体, 收率 58%。m.p. 101~102 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.23 (d, *J*=8.6 Hz, 2H), 6.81 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 5.82 (s, 2H), 4.15 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.69 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 158.1, 153.3, 145.1, 131.9, 130.4, 128.7, 113.6, 90.4, 60.1, 55.4, 55.0, 46.5; HRMS calcd for C₁₇H₂₂NO₄ [M+H]⁺ 304.1549, found 304.1553.

N-(4-甲基苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2c**): 白色固体, 收率 54%。m.p. 78~79 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.25 (d, *J*=7.9 Hz, 2H), 7.12 (d, *J*=7.8 Hz, 2H), 5.96 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 5.88 (s, 2H), 4.17 (d, *J*=6.0 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H), 2.27 (s, 3H); ¹³C NMR

(100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.3, 145.4, 137.3, 135.6, 128.8, 128.6, 127.3, 90.2, 60.1, 55.4, 46.7, 20.6; HRMS calcd for C₁₇H₂₂NO₃ [M+H]⁺ 288.1600, found 288.1602.

N-(4-氟苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2d**): 白色固体, 收率 46%。m.p. 115~116 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.40 (dd, *J*=8.6, 5.7 Hz, 2H), 7.14 (t, *J*=8.9 Hz, 2H), 6.08 (s, 1H), 5.88 (s, 2H), 4.22 (s, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 162.3, 159.9, 158.7, 153.3, 147.0, 144.6, 98.7, 90.6, 60.1, 55.9, 55.4; HRMS calcd for C₁₆H₁₉FNO₃ [M+H]⁺ 292.1349, found 292.1354.

N-(4-溴苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2e**): 灰色固体, 收率 55%。m.p. 102~103 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.51 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.33 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 6.09 (t, *J*=6.1 Hz, 1H), 5.86 (s, 2H), 4.21 (d, *J*=6.1 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.3, 145.1, 140.0, 131.1, 129.5, 128.7, 119.5, 90.2, 60.1, 55.5, 46.1; HRMS calcd for C₁₆H₁₈BrNO₃Na [M+Na]⁺ 374.0368, found 374.0365.

N-(4-氯苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2f**): 灰色固体, 收率 53%。m.p. 94~95 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.48~7.27 (m, 4H), 6.08 (t, *J*=6.1 Hz, 1H), 5.86 (s, 2H), 4.23 (d, *J*=6.0 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.3, 131.1, 130.1, 129.2, 128.9, 128.1, 98.8, 90.5, 60.1, 55.9, 55.5, 46.3; HRMS calcd for C₁₆H₁₈ClNO₃Na [M+Na]⁺ 330.0873, found 330.0876.

N-(3-甲氧基苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2g**): 白色固体, 收率 49%。m.p. 90~91 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.23 (t, *J*=8.0 Hz, 1H), 6.95 (d, *J*=6.5 Hz, 2H), 6.79 (dd, *J*=8.1, 1.8 Hz, 1H), 5.91 (s, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.65 (s, 6H), 3.51 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 159.3, 153.3, 144.9, 141.8, 129.3, 119.7, 113.1, 112.0, 98.7, 90.6, 60.1, 55.4, 54.9, 47.1; HRMS calcd for C₁₇H₂₂NO₄ [M+H]⁺ 304.1549, found 304.1555.

N-(3-甲基苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2h**): 黄色油状液体, 收率 52%。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.20 (dd, *J*=9.7, 4.8 Hz, 2H), 7.16 (d, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.04 (d, *J*=7.1 Hz, 1H), 5.97 (t, *J*=5.9 Hz, 1H), 5.90 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 4.18 (d, *J*=5.8 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H), 2.29 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.3, 145.3, 140.2, 137.2, 128.1, 128.0, 127.3, 124.5, 90.2, 60.1, 55.9, 55.4, 47.0, 21.0; HRMS calcd for C₁₇H₂₂NO₃ [M+H]⁺ 288.1600, found 288.1603.

N-(3-氟苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2i**): 黄色固体, 收率 60%. m.p. 75~76 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.36 (td, *J*=7.9, 6.3 Hz, 1H), 7.27~7.11 (m, 2H), 7.04 (td, *J*=8.4, 2.3 Hz, 1H), 6.10 (t, *J*=6.2 Hz, 1H), 5.88 (s, 2H), 4.26 (d, *J*=6.1 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 159.7, 153.3, 153.2, 145.0, 141.4, 137.0, 135.7, 129.7, 129.6, 129.4, 128.8, 128.6, 127.4, 98.6, 90.4, 60.1, 55.4, 46.9; HRMS calcd for C₁₆H₁₈FO₃Na [M+Na]⁺ 292.1349, found 292.1353.

N-(3-氯苄基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2j**): 黄色油状液体, 收率 43%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.43 (s, 1H), 7.35 (dd, *J*=3.4, 2.0 Hz, 2H), 7.31~7.26 (m, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.88 (s, 2H), 4.26 (s, 2H), 3.65 (s, 6H), 3.51 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.3, 133.0, 130.1, 127.1, 126.6, 126.1, 98.9, 90.4, 60.1, 55.9, 55.4, 46.3; HRMS calcd for C₁₆H₁₉ClO₃ [M+H]⁺ 330.0873, found 330.0874.

N-((1*H*-苯并[*d*]咪唑-2-基)甲基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2k**): 黄色固体, 收率 51%. m.p. 50~52 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.29 (s, 1H), 7.50 (dd, *J*=5.9, 3.2 Hz, 2H), 7.13 (dd, *J*=6.0, 3.2 Hz, 2H), 6.10 (s, 1H), 5.99 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 3.65 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.6, 153.3, 145.0, 129.0, 121.4, 90.4, 60.1, 55.5, 42.1; HRMS calcd for C₁₇H₂₀N₃O₃ [M+H]⁺ 314.1505, found 314.1508.

N-(苯并[*d*]咪唑-2-基甲基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2l**): 黄色油状液体, 收率 53%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.03 (d, *J*=7.9 Hz, 1H), 7.95 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.49 (t, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.40 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.98 (s, 2H), 4.70 (d, *J*=5.2 Hz, 2H), 3.65 (s, 6H), 3.52 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 174.6, 153.4, 153.0, 144.5, 134.6, 129.2, 126.0, 124.8, 122.3, 122.2, 90.4, 60.1, 55.5, 45.9; HRMS calcd for C₁₇H₁₉N₂O₃S [M+H]⁺ 331.1116, found 331.1124.

N-(吡啶-2-基甲基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2m**): 黄色油状液体, 收率 57%. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.59~8.44 (m, 1H), 7.74 (td, *J*=7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.38 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.25 (dd, *J*=6.9, 5.4 Hz, 1H), 6.13 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 5.90 (s, 2H), 4.33 (d, *J*=6.0 Hz, 2H), 3.64 (s, 6H), 3.50 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 159.8, 153.4, 148.7, 145.1, 136.6, 128.7, 122.0, 121.3, 90.2, 60.1, 55.4, 48.9; HRMS calcd for C₁₅H₁₉N₂O₃ [M+H]⁺ 275.1396, found 275.1398.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-3,4,5-三甲氧基苯胺(**2n**): 白色固体, 收率 44%. m.p. 140~141 °C; ¹H

NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.06 (d, *J*=1.9 Hz, 1H), 8.02 (d, *J*=8.6 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.41 (dd, *J*=8.6, 2.0 Hz, 1H), 6.05 (t, *J*=5.8 Hz, 1H), 5.99 (s, 2H), 4.47 (d, *J*=5.8 Hz, 2H), 3.68 (s, 6H), 3.51 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.4, 145.2, 139.5, 138.5, 134.3, 129.3, 128.7, 126.3, 124.5, 124.4, 121.8, 90.2, 60.1, 55.5, 41.3; HRMS calcd for C₁₈H₁₉ClNO₃S [M+H]⁺ 364.0774, found 364.0779.

3.2.2 中间体 **3** 的合成

将 0.50 g (2.09 mmol) 的化合物 **2a**~**2n** 加入 100 mL 的圆底烧瓶中, 用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶解, 缓慢滴加氯乙酰氯(2.51 mmol), 室温搅拌, TLC 检测反应完全后, 加入水和乙酸乙酯萃取三次, 合并有机相, 无水硫酸镁干燥, 旋干得化合物 **3a**~**3n**.

2-氯-*N*-苄基-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**3a**): 白色固体, 收率 73%. m.p. 137~138 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.22 (s, 1H), 7.21 (d, *J*=1.3 Hz, 2H), 7.18~7.13 (m, 2H), 6.09 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.62 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 165.2, 152.6, 137.1, 135.9, 135.2, 128.3, 127.5, 126.8, 104.5, 60.0, 55.1, 52.5, 40.9; HRMS calcd for C₁₈H₂₁ClNO₄ [M+H]⁺ 350.1159, found 350.1162.

2-氯-*N*-(4-甲氧基苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**3b**): 白色固体, 收率 75%. m.p. 136~137 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.08 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 6.74 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 6.10 (s, 2H), 4.72 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.64 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 165.1, 158.3, 152.6, 137.2, 135.2, 129.7, 128.1, 112.8, 104.6, 60.0, 55.2, 54.3, 52.0, 40.9; HRMS calcd for C₁₉H₂₃ClNO₅ [M+H]⁺ 380.1265, found 380.1270.

2-氯-*N*-(4-甲基苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**3c**): 白色固体, 收率 68%. m.p. 143~144 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.05 (d, *J*=8.3 Hz, 2H), 7.02 (d, *J*=8.3 Hz, 2H), 6.10 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.64 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 165.1, 152.6, 137.2, 136.5, 135.3, 132.9, 128.2, 128.1, 104.6, 59.9, 55.2, 52.3, 40.9, 20.1; HRMS calcd for C₁₉H₂₃ClNO₄ [M+H]⁺ 364.1316, found 364.1318.

2-氯-*N*-(4-氟苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**3d**): 白色固体, 收率 78%. m.p. 119~121 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.22 (dd, *J*=8.6, 5.4 Hz, 2H), 6.98 (t, *J*=8.7 Hz, 2H), 6.17 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.72 (s, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 165.2, 162.6, 160.2, 152.7, 137.2, 135.0, 131.8, 131.7,

130.1, 130.0, 114.4, 114.2, 104.4, 60.0, 55.2, 51.8, 40.8; HRMS calcd for $C_{18}H_{20}ClFNO_4$ $[M+H]^+$ 368.1065, found 368.1072.

2-氯-*N*-(4-溴苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3e**): 白色固体, 收率 73%. m.p. 169~172 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.51 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 6.56 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.67 (d, $J=17.6$ Hz, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.7, 153.0, 137.1, 136.9, 136.5, 136.0, 131.2, 130.4, 120.4, 105.8, 60.0, 56.0, 52.1; HRMS calcd for $C_{18}H_{20}BrClNO_4$ $[M+H]^+$ 428.0264, found 428.0269.

2-氯-*N*-(4-氯苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3f**): 白色固体, 收率 79%. m.p. 166~167 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.27 (d, $J=2.8$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.18 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.73 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.4, 153.8, 138.3, 136.1, 135.4, 133.8, 130.7, 128.7, 105.4, 61.0, 56.2, 53.0, 41.8; HRMS calcd for $C_{18}H_{20}Cl_2NO_4$ $[M+H]^+$ 384.0769, found 384.0773.

2-氯-*N*-(3-甲氧基苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3g**): 白色固体, 收率 75%. m.p. 143~144 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.13 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 6.77~6.70 (m, 3H), 6.13 (s, 2H), 4.76 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.64 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.0, 154.5, 148.4, 133.1, 133.0, 131.0, 124.2, 116.3, 109.3, 108.2, 100.3, 55.7, 50.9, 50.0, 48.3, 36.6; HRMS calcd for $C_{19}H_{22}ClNO_5Na$ $[M+Na]^+$ 402.1084, found 402.1085.

2-氯-*N*-(3-甲基苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3h**): 白色固体, 收率 72%. m.p. 93~95 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.10 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.04~6.97 (m, 2H), 6.93 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.11 (s, 2H), 4.75 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.63 (s, 6H), 2.23 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.4, 152.6, 137.1, 135.7, 135.2, 129.0, 127.5, 127.3, 125.3, 104.5, 59.9, 55.1, 52.6, 40.9, 39.8, 20.3; HRMS calcd for $C_{19}H_{23}ClNO_4$ $[M+H]^+$ 364.1316, found 364.1321.

2-氯-*N*-(3-氟苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3i**): 白色固体, 收率 77%. m.p. 110~112 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.22~7.17 (m, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.92 (dd, $J=9.1, 1.1$ Hz, 2H), 6.13 (s, 2H), 4.77 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.66 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.4, 163.0, 160.5, 152.7, 138.4, 138.3, 137.3, 135.1, 129.03, 129.0, 123.8, 123.8, 115.1, 114.9, 113.8, 113.6, 104.3, 60.0, 55.2, 52.1, 40.8; HRMS calcd

for $C_{18}H_{20}ClFNO_4$ $[M+H]^+$ 368.1065, found 368.1066.

2-氯-*N*-(3-氯苄基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3j**): 白色固体, 收率 70%. m.p. 85~86 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.19 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.08 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 6.13 (s, 2H), 4.75 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.67 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.5, 152.8, 137.8, 137.3, 135.0, 133.2, 128.8, 128.3, 127.0, 126.4, 104.4, 60.0, 55.2, 52.1, 40.7; HRMS calcd for $C_{18}H_{19}Cl_2NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 406.0589, found 406.0593.

2-氯-*N*-((1*H*-苯并[d]咪唑-2-基)甲基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3k**): 黄色固体, 收率 76%. m.p. 134~135 °C; 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.57 (dd, $J=6.0, 3.2$ Hz, 2H), 7.23 (dd, $J=6.0, 3.1$ Hz, 2H), 6.90 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.26 (s, 2H), 3.70 (s, 6H), 3.64 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.6, 165.8, 162.3, 153.0, 150.3, 137.2, 136.1, 121.9, 105.9, 59.9, 55.9, 47.4, 43.0, 41.5, 35.8, 21.0; HRMS calcd for $C_{19}H_{20}ClN_3O_4Na$ $[M+Na]^+$ 412.1040, found 412.1053.

2-氯-*N*-(苯并[d]噻唑-2-基甲基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3l**): 黄色固体, 收率 70%. m.p. 147~148 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.90 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J=11.2, 4.1$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J=11.1, 4.1$ Hz, 1H), 6.43 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.68 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.8, 165.6, 152.9, 151.3, 137.5, 135.1, 134.6, 125.3, 124.5, 121.9, 120.8, 104.1, 59.9, 55.2, 50.9, 40.3; HRMS calcd for $C_{19}H_{20}ClN_3O_4$ $[M+H]^+$ 407.0832, found 407.0837.

2-氯-*N*-(吡啶-2-基甲基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3m**): 黄色固体, 收率 71%. m.p. 121~122 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.46 (d, $J=4.3$ Hz, 1H), 7.63 (td, $J=7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J=6.8, 5.2$ Hz, 1H), 6.37 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 3.90 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.69 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.8, 155.0, 152.8, 147.1, 137.2, 136.9, 135.7, 122.5, 121.9, 104.3, 59.9, 55.2, 53.9, 40.7; HRMS calcd for $C_{17}H_{20}ClN_2O_4$ $[M+H]^+$ 351.1112, found 351.1108.

2-氯-*N*-((5-氯苯并[b]噻吩-3-基)甲基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺 (**3n**): 白色固体, 收率 67%. m.p. 154~156 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.67 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=3.6$ Hz, 1H), 6.04 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.56 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.2, 152.7, 138.3, 137.5, 137.2, 134.7, 130.0,

129.8, 128.1, 124.0, 122.7, 121.1, 104.6, 60.0, 55.2, 45.4, 40.8; HRMS calcd for $C_{20}H_{20}Cl_2NO_4S$ $[M + H]^+$ 440.0490, found 440.0496.

3.2.3 目标化合物 4 的合成

在 50 mL 圆底烧瓶中加入 0.20 g (0.48 mmol) 的化合物 3, 不同取代香豆素(0.48 mmol), 碳酸钾(0.96 mmol) 和乙腈加热回流 5 h. 反应结束后, 冷却至室温, 抽滤得滤液, 柱层析分离(洗脱剂: 石油醚-乙酸乙酯, $V: V=4:1$), 得到目标产物 4a~4s.

N-(4-苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4a): 白色固体, 收率 59%. m.p. 138~140 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.21 (t, $J=3.2$ Hz, 2H), 7.16 (dd, $J=6.6, 2.7$ Hz, 2H), 6.83 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.15~6.08 (m, 2H), 6.07 (d, $J=0.7$ Hz, 1H), 4.80 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 3.78 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 3.64 (d, $J=10.8$ Hz, 6H), 2.32 (d, $J=0.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.4, 160.1, 160.0, 154.0, 152.9, 151.5, 137.4, 135.9, 134.3, 128.4, 127.5, 126.9, 124.6, 113.1, 112.2, 111.2, 104.4, 100.2, 65.1, 59.9, 55.2, 52.3, 17.7; HRMS calcd for $C_{28}H_{28}NO_7$ $[M+H]^+$ 490.1860, found 490.1873.

N-(4-甲氧基苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4b): 白色固体, 收率 77%. m.p. 188~190 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.75 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.12 (s, 2H), 6.06 (d, $J=0.9$ Hz, 1H), 4.73 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.67 (s, 6H), 2.32 (d, $J=0.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.3, 160.1, 160.1, 158.3, 154.0, 152.8, 151.5, 137.3, 134.3, 129.7, 128.0, 124.6, 113.0, 112.8, 112.2, 111.2, 104.4, 100.2, 65.1, 60.0, 55.3, 54.3, 51.7, 17.7; HRMS calcd for $C_{29}H_{30}N_2O_7$ $[M + H]^+$ 520.1966, found 520.1963.

N-(4-甲基苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4c): 白色固体, 收率 63%. m.p. 166~167 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.04 (t, $J=5.6$ Hz, 4H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.12 (s, 2H), 6.06 (d, $J=1.0$ Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.66 (s, 6H), 2.32 (d, $J=0.9$ Hz, 3H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.1, 132.9, 130.2, 129.5, 128.3, 96.39, 95.3, 94.8, 93.2, 92.3, 91.9, 91.9, 77.4, 77.1, 76.8, 55.2, 52.1, 44.8, 29.5, 27.1; HRMS calcd for

$C_{29}H_{29}NO_7Na$ $[M+Na]^+$ 526.1836, found 526.1841.

N-(4-氟苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4d): 白色固体, 收率 86%. m.p. 131~132 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J=8.5, 5.4$ Hz, 2H), 6.91 (t, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.12 (s, 2H), 6.07 (d, $J=0.9$ Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.68 (s, 6H), 2.32 (d, $J=0.9$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.5, 160.1, 159.9, 154.0, 152.9, 151.5, 137.7, 134.2, 131.8, 131.7, 130.2, 130.1, 124.7, 114.5, 114.3, 113.1, 112.1, 111.2, 104.3, 100.2, 65.0, 60.0, 55.3, 51.6, 17.6; HRMS calcd for $C_{28}H_{26}FNO_7Na$ $[M + Na]^+$ 530.1586, found 530.1592.

N-(4-溴苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4e): 白色固体, 收率 65%. m.p. 181~182 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.49 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 6.89 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.20 (s, 2H), 6.14 (d, $J=1.1$ Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.76 (s, 6H), 2.39 (d, $J=1.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.6, 160.1, 159.9, 153.9, 152.9, 151.5, 137.5, 134.8, 134.2, 130.6, 130.1, 124.7, 120.9, 113.1, 112.1, 111.2, 104.3, 100.2, 64.9, 60.0, 55.3, 51.8, 17.7; HRMS calcd for $C_{28}H_{26}BrNO_7Na$ $[M+Na]^+$ 590.0785, found 590.0790.

N-(4-氯苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4f): 白色固体, 收率 74%. m.p. 155~156 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.11 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.81 (dd, $J=8.8, 2.3$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.13 (s, 2H), 6.07 (d, $J=0.8$ Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.69 (s, 6H), 2.32 (d, $J=0.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.6, 160.1, 159.9, 154.0, 153.0, 151.5, 137.5, 134.4, 134.2, 132.8, 129.8, 127.7, 124.7, 113.1, 112.1, 111.3, 104.3, 100.2, 65.0, 60.0, 55.3, 51.7, 17.7; HRMS calcd for $C_{28}H_{27}ClNO_7$ $[M+H]^+$ 524.1471, found 524.1477.

N-(3-甲氧基苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(4g): 白色固体, 收率 82%. m.p. 131~132 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.13 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.74 (dd, $J=12.8, 4.0$ Hz, 3H), 6.59 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.15 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.67 (d, $J=1.3$ Hz, 9H),

2.32 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.4, 160.1, 160.0, 158.7, 154.0, 152.9, 151.5, 137.4, 134.4, 128.5, 124.6, 120.6, 113.8, 113.1, 112.4, 112.1, 111.2, 104.4, 100.2, 65.1, 60.0, 55.3, 54.3, 52.3, 17.6; HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{NO}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 520.1966, found 520.1985.

N-(3-甲基苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4h**): 白色固体, 收率 82%. m.p. 149~150 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.10 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.04~6.95 (m, 2H), 6.93 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 6.83 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.13 (s, 2H), 6.06 (d, $J=1.0$ Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.46 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.66 (s, 6H), 2.31 (d, $J=0.9$ Hz, 3H), 2.22 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.4, 160.1, 154.0, 152.8, 151.5, 137.4, 137.2, 135.8, 134.4, 129.0, 127.5, 127.4, 125.4, 124.63, 113.1, 112.1, 111.2, 104.4, 100.2, 65.1, 60.0, 55.2, 52.3, 20.3, 17.6; HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{NO}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 526.1842, found 526.1843.

N-(3-氟苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4i**): 白色固体, 收率 62%. m.p. 143~144 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J=11.2$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.93~6.88 (m, 2H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.15 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 4.78 (s, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.68 (s, 6H), 2.32 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.6, 163.0, 160.5, 160.0, 159.9, 154.0, 153.0, 151.5, 138.4, 138.3, 137.5, 134.3, 129.1, 129.0, 124.7, 123.9, 123.9, 115.3, 115.0, 113.9, 113.7, 113.2, 112.1, 111.3, 104.3, 100.3, 65.0, 60.0, 55.3, 51.9, 17.6; HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{FNO}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 530.1591, found 530.1592.

N-(3-氯苄基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4j**): 白色固体, 收率 64%. m.p. 145~146 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.42 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.22~7.12 (m, 3H), 7.08 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.81 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.15 (s, 2H), 6.06 (d, $J=1.0$ Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.47 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.69 (s, 6H), 2.31 (d, $J=1.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.6, 160.0, 159.9, 154.0, 153.0, 151.5, 137.9, 137.6, 134.2, 133.3, 128.9, 128.3, 127.1, 126.5, 124.7, 113.1, 112.0, 111.3, 104.3, 100.3, 65.0, 60.0, 55.3, 51.8, 17.6; HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{ClNO}_7\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 546.1290, found 546.1295.

N-((1*H*-苯并[*d*]咪唑-2-基)甲基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4k**):

白色固体, 收率 60%. m.p. 146~147 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.36 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J=5.8, 3.1$ Hz, 2H), 6.69 (t, $J=18.4$ Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.34 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.54 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.70 (s, 6H), 2.29 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 167.7, 159.9, 159.7, 154.0, 153.3, 151.3, 148.7, 138.0, 134.5, 124.7, 121.9, 113.3, 111.6, 111.5, 103.8, 100.5, 64.9, 59.9, 55.4, 47.8, 17.6; HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 530.1922, found 530.1923.

N-((苯并[*d*]噻唑-2-基)甲基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4l**): 白色固体, 收率 62%. m.p. 175~176 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.94 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.33 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.50 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 5.21 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.71 (s, 6H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 166.1, 165.5, 160.0, 159.9, 154.0, 153.2, 151.4, 137.8, 134.6, 134.4, 125.3, 124.7, 124.5, 122.1, 120.8, 113.2, 112.1, 111.3, 104.1, 100.4, 65.0, 60.0, 59.4, 55.3, 50.8, 20.0, 17.6, 13.2; HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 547.1533, found 547.1538.

N-(吡啶-2-基甲基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4m**): 白色固体, 收率 55%. m.p. 142~143 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (d, $J=4.4$ Hz, 1H), 7.60 (td, $J=7.7, 1.5$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.17~7.08 (m, 1H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J=2.3$ Hz, 1H), 6.46 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 4.95 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 166.0, 160.1, 155.3, 154.0, 152.9, 151.5, 148.1, 137.4, 136.0, 135.2, 124.6, 122.1, 121.7, 113.0, 112.2, 111.1, 104.3, 100.4, 65.1, 59.9, 55.3, 54.1, 17.6; HRMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{ClNO}_7\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 491.1813, found 491.1817.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4n**): 白色固体, 收率 53%. m.p. 172~174 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.69 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J=8.6, 1.9$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J=2.5$ Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 6.05 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.60 (s, 6H), 2.32 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 165.6, 160.0, 159.9, 154.0, 153.0, 151.4, 138.3, 137.4, 133.8, 130.1, 130.0, 128.3, 124.7, 124.1,

122.8, 121.1, 113.2, 111.9, 111.3, 104.6, 100.3, 65.1, 60.0, 55.3, 45.1, 17.6; HRMS calcd for $C_{30}H_{26}ClNO_7SNa [M+Na]^+$ 602.1011, found 602.1016.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4o**): 白色固体, 收率 87%. m.p. 179~180 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.69 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J=1.7$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J=8.6, 1.8$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=6.7$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.18 (d, $J=9.5$ Hz, 1H), 6.05 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.59 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 160.1, 159.9, 154.6, 153.0, 142.3, 138.2, 137.7, 137.3, 133.7, 130.0, 129.9, 128.3, 127.9, 124.1, 122.8, 121.0, 112.5, 112.3, 112.1, 104.5, 100.2, 65.1, 60.0, 55.3, 45.1; HRMS calcd for $C_{29}H_{24}ClNO_7SNa [M+Na]^+$ 588.0854, found 588.0860.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((3-氯-4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-7-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4p**): 白色固体, 收率 36%. m.p. 188~189 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.69 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=8.9$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J=8.6, 1.8$ Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.86 (dd, $J=8.9, 2.5$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.04 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.60 (s, 6H), 2.47 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.4, 159.8, 156.1, 153.0, 151.8, 146.8, 138.2, 137.7, 137.4, 133.7, 130.0, 129.9, 128.3, 125.1, 124.1, 122.8, 121.0, 117.1, 112.8, 112.6, 104.5, 100.1, 65.0, 60.0, 55.3, 45.0, 15.2; HRMS calcd for $C_{30}H_{26}Cl_2NO_7S [M+H]^+$ 614.0802, found 614.0815.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((2*H*-色烯-2-酮-4-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4q**): 白色固体, 收率 68%. m.p. 223~224 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.80 (dd, $J=7.9, 1.2$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.54~7.42 (m, 1H), 7.26~7.24 (m, 1H), 7.23 (s, 2H), 7.20 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.05 (s, 2H), 5.39 (s, 1H), 5.03 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.56 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 163.9, 161.5, 153.1, 152.4, 138.3, 137.9, 137.3, 133.5, 131.6, 130.0, 129.8, 128.4, 124.1, 123.0, 122.8, 122.3, 121.0, 115.7, 114.3, 104.5, 90.1, 65.2, 60.0, 59.4, 55.2, 45.2; HRMS calcd for $C_{29}H_{25}ClNO_7S [M+H]^+$ 566.1035, found 566.1026.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((4-甲基-2*H*-色烯-2-酮-6-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4r**): 白色固体, 收率 73%. m.p. 169~170 °C; 1H NMR (400

MHz, $CDCl_3$) δ : 7.69 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J=1.7$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J=8.6, 1.8$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.90 (d, $J=2.9$ Hz, 1H), 6.20 (s, 1H), 6.01 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.56 (s, 6H), 2.19 (d, $J=0.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.1, 159.8, 153.3, 152.9, 150.7, 147.3, 138.3, 137.7, 137.3, 134.0, 130.2, 130.0, 128.2, 124.2, 122.8, 121.1, 119.5, 117.5, 116.9, 114.6, 108.8, 104.6, 65.8, 60.0, 55.2, 45.1, 17.5; HRMS calcd for $C_{30}H_{27}ClNO_7S [M+H]^+$ 580.1191, found 580.1097.

N-((5-氯苯并[*b*]噻吩-3-基)甲基)-2-((7-甲基-2*H*-色烯-2-酮-4-基)氧基)-*N*-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**4s**): 白色固体, 收率 59%. m.p. 219~220 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.68 (dd, $J=8.3, 5.2$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J=1.7$ Hz, 1H), 7.27~7.24 (m, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.08~6.98 (m, 2H), 6.04 (s, 2H), 5.34 (d, $J=16.6$ Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.55 (s, 6H), 2.37 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 164.2, 164.0, 161.8, 153.1, 152.5, 142.9, 138.3, 137.8, 137.3, 133.5, 130.0, 129.8, 128.4, 124.2, 124.1, 122.8, 122.0, 121.0, 115.8, 111.8, 104.4, 89.2, 65.2, 60.0, 59.4, 55.2, 45.2, 20.7; HRMS calcd for $C_{30}H_{27}ClNO_7S [M+H]^+$ 580.1191, found 580.1201.

3.3 抗肿瘤活性测试

测试所用的肿瘤细胞由郑州大学基础医学院药理系提供。所有化合物均用二甲基亚砜(DMSO)溶解, 配制成初始浓度为 20 mmol/L 的储备液, 放于 4 °C 冰箱中保存, 使用前用培养基稀释成所需浓度, 使 DMSO 的终含量不超过 0.1%。将肿瘤细胞培养于含 5%CO₂ 的 RPMI-1640 培养基中, 加入适量的 10%胎牛血清以及 100 U/mL 的青霉素和 0.1 mg/mL 的链霉素, 摇晃均匀, 配成细胞悬液。将细胞悬液按每孔 100 μ L 于 96 孔板中培养 24 h 后, 弃去培养基, 然后加入不同浓度的药物, 每孔 200 μ L。培养 48 h 后, 取出放在超净台中操作, 每孔加入 5 g/L 的四甲基偶氮唑盐(MTT)溶液 20 μ L, 继续置于培养箱中培养 4 h 后, 取出至实验台, 移除 96 孔板中培养基, 每孔加入 100 μ L 二甲基亚砜(DMSO)溶解的蓝紫色甲瓚颗粒, 置于摇床摇 10 min 后, 用酶标仪测定 570 nm 处的吸光度值 A, 对所得数值进行处理, 分别计算出 5-氟尿嘧啶和各化合物的平均值、标准差和存活率。通过存活率柱状图观察不同浓度药物作用的梯度情况, 用 SPSS 软件计算每个化合物的 IC₅₀。

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **2a~2n**、**3a~3n** 和 **4a~4s** 的 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图。这些材

料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Zhang, S.-Y.; Meng, L.; Gao, W.-Y.; Song, N.-Y.; Jia, W.; Duan, H.-Q. *China J. Chin. Mater. Med.* **2005**, *30*, 410 (in Chinese). (张韶瑜, 孟林, 高文远, 宋乃宁, 贾伟, 段宏泉, 中国中药杂志, **2005**, *30*, 410.)
- [2] Yang, G.-Y.; Wang, C.-X.; Huang, L.-T.; Xu, C.-L. *Chin. J. Synth. Chem.* **2011**, *9*, 337 (in Chinese). (杨国玉, 王彩霞, 黄立挺, 徐翠莲, 合成化学, **2011**, *9*, 337.)
- [3] Fylaktakidou, K. C.; Hadjipavlou-Litina, D. J.; Litinas, K. E.; Nicolaides, D. N. *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 3813.
- [4] Putri, D. E. K.; Pranowo, H. D.; Haryadi, W. *Mater. Sci. Forum* **2019**, *948*, 101.
- [5] Shi, Y.; Zhou, C.-H. *Biomed. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 956.
- [6] Atmaca, M.; Bilgin, H. M.; Obay, B. D.; Diken, H.; Kelle, M.; Kale, E. *J. Physiol. Biochem.* **2011**, *67*, 569.
- [7] Zhao, H.; Neamati, N.; Pommier, Y.; Burke, T. R. *J. Cheminf.* **2010**, *29*, 1002.
- [8] Weber, U. S.; Steffen, B.; Siegers, C. P. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **1998**, *2*, 193.
- [9] Abdizadeh, T.; Kalani, M. R.; Abnous, K.; Tayarani, Z.; Khash-yarmanesh, B. Z.; Abdizadeh, R.; Ghodsi, R.; Hadizadeh, F. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *132*, 42.
- [10] Yang, E. B.; Zhao, Y. N.; Zhang, K.; Mack, P. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *260*, 682.
- [11] Kostova, I. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *5*, 29.
- [12] Prota, A. E.; Bargsten, K.; Zurwerra, D.; Field, J. J.; Diaz, J. F.; Altmann, K. H. *Science* **2013**, *339*, 587.
- [13] Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Brancale, A.; Ricci, A.; Hamel, E.; Bortolozzi, R. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5144.
- [14] Romeo, S. O.; Andrea, B.; Ernest, H. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3209.
- [15] Anthony, N. G.; Breen, D.; Clarke, J.; Donoghue, G.; Waigh, R. D. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6116.
- [16] Kumar, N.; Kumar, S.; Abbat, S.; Nikhil, K.; Pruthi, V. *Med. Chem. Res.* **2016**, *25*, 1175.
- [17] Eckelbarger, J. D.; Parker, M. H.; Yap, M. C.; Buysse, A. M.; Babcock, J.M.; Hunter, R. *Pest. Manage. Sci.* **2016**, *73*, 761.
- [18] Zheng, Y.-G.; Guo, J.-J.; Yu, Z.-L.; Fu, R.-K.; Huang, Y.; Wang, Y.-H.; Deng, Z.; Wu, Y. *Fine Chem. Intermed.* **2015**, *45*, 1 (in Chinese). (郑玉国, 郭晴晴, 余忠林, 付如凯, 黄勇, 王永欢, 邓钊, 吴用, 精细化工中间体, **2015**, *45*, 1.)
- [19] Wen, J.-W.; Li, Y.; Su, Z.-Y.; Wan, L. *Chemistry* **2019**, *82*, 350 (in Chinese). (温借雯, 黎勇, 苏正颖, 万丽, 化学通报, **2019**, *82*, 350.)
- [20] Zhang, M.-Q.; Liu, B.-K.; Lei, Q.; Long, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 1064 (in Chinese). (张明千, 刘斌凯, 雷强, 龙跃, 有机化学, **2019**, *39*, 1064.)
- [21] Fu, D.-J.; Song J.; Hou Y.-H.; Zhao R.-H.; Li J.-H.; Mao R.-W.; Zhang Y.-B.; Liu H.-M. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *138*, 1076.
- [22] Fu, D.-J.; Yang, J.-J.; Li, P.; Hou, Y.-H.; Huang, S.-N.; Pham, V.; Song, L. K.; Zi, X. L.; Xue, W.-L. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *157*, 50.

(Lu, Y.)