

新型他克林-吲哚杂二联体的微波促进 Huisgen [3+2]环加成反应合成及生物活性

郭永彪 刘海波 许明*

(防化研究院 北京 102205)

摘要 以吲哚-3-丙酸和吲哚-3-丁酸为原料, 分别与炔丙胺发生缩合反应得到 3-(丙酰丙炔胺)吲哚(**4a**)和 3-(丁酰丙炔胺)吲哚(**4b**), 然后 **4a** 和 **4b** 分别与 9-(叠氮基乙基氨基)-1,2,3,4-四氢吡啶类衍生物 **5a~5c** 在微波辐射下发生 Huisgen [3+2]环加成反应得到 12 个新型乙酰胆碱酯酶抑制剂——他克林-吲哚杂二联体, 其结构经 NMR, IR 和 HRMS 表征。初步生物活性测试表明, 目标化合物均具有较强的乙酰胆碱酯酶抑制能力, 其中化合物 **2b** 和 **2d** 抑制鱼鳃乙酰胆碱酯酶的 IC₅₀ 值分别为 1.6 和 2.0 nmol·L⁻¹, 是 6T6BA (IC₅₀=11.0 nmol·L⁻¹, 鱼鳃)的 6.9 和 5.5 倍。

关键词 他克林-吲哚杂二联体; Huisgen [3+2]环加成; 乙酰胆碱酯酶抑制剂; 微波

Synthesis and Bioactivity of Novel Tacrine-Indole Hybrids by Microwave-Assisted Huisgen [3+2] Cycloaddition Reaction

Guo, Yongbiao Liu, Haibo Xu, Ming*

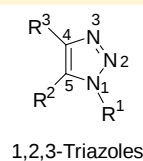
(Research Institute of Chemical Defense, Beijing 102205)

Abstract 3-(Propargyl-propionamide)indole (**4a**) and 3-(propargyl-butyrarnide)indole (**4b**) were prepared from indole-3-propionic acid (**3a**) and indole-3-butyric acid (**3b**) by condensation with propargylamine, respectively. Twelve novel acetylcholinesterase inhibitors, tacrine-indole hybrids, were synthesized from **4a**, **4b** and 9-(azido-ethyl-amino)-1,2,3,4-tetrahydroacridine derivatives (**5a~5c**) by microwave-assisted Huisgen [3+2] cycloaddition reaction. These novel compounds were determined by NMR, IR and HRMS techniques. The preliminary bioassay showed that all of them exhibited better AChE (electrophorus) inhibitory activity. Particularly, the IC₅₀ values of compounds **2b** and **2d** were 1.6 and 2.0 nmol·L⁻¹ respectively, which were 6.9 and 5.5 times respectively more potent than *N*-[6-(6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl-amino)hexyl]-3-(1*H*-Indol-3-yl)propionamide (6T6BA) (IC₅₀=11.0 nmol·L⁻¹, electrophorus).

Keywords tacrine-indole hybrids; Huisgen [3+2] cycloaddition; acetylcholinesterase inhibitors; microwave

1,2,3-三唑类化合物(1,2,3-Triazoles, Scheme 1)是一类重要的杂环化合物, 已为有机化学家熟知百年之久。自其首次被合成至今, 国内外已经对这类化合物进行了大量研究^[1~3]。虽然从自然界中未曾分离出含有该结构的天然产物, 但大量的实验表明, 该类化合物具有独特化学性质, 因而一直以来备受化学家的重视, 在有机化学、有机金属化学、药物化学和材料化学等诸多领域具有广阔的应用前景。

Sharpless 课题组^[4~6]在研究靶向诱导合成时, 将 1,2,3-三唑类化合物引入到乙酰胆碱酯酶抑制剂 (AChEIs)的合成中, 并发现了 *syn*-TZ2/PA6, *syn*-TZ2P-IQ-A6 和 *syn*-TZ2PIQ-A5 (Scheme 2)等 3 种抑制活性



1,2,3-Triazoles

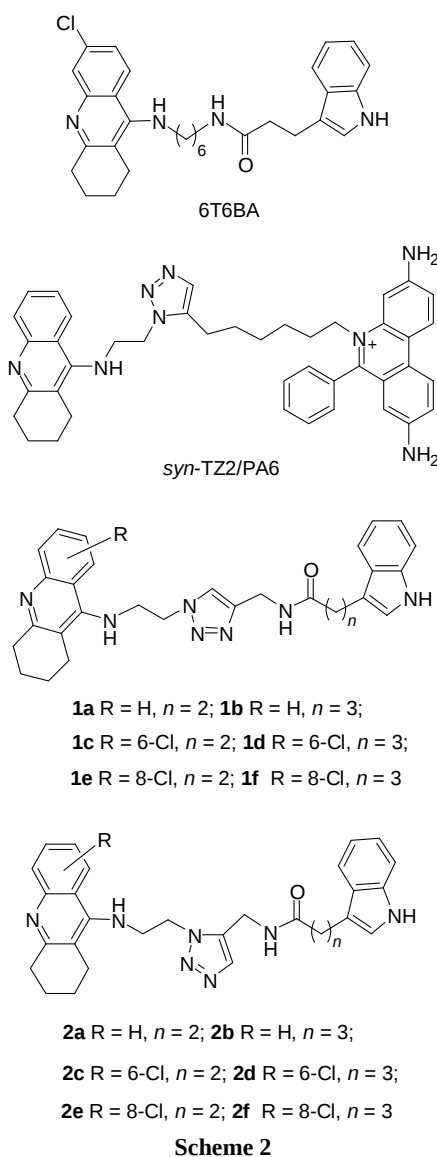
Scheme 1

达到 10⁻¹⁵ mol·L⁻¹ 的 AChEIs. Bourne 等^[7]通过 *syn*-TZ2/PA6 与胆碱酯酶复合物的晶体结构证明 *syn*-TZ2/PA6 不仅与 AChE 的外周位点和中心位点结合, 而且连接链中的三唑环与 AChE 芳香峡谷中部的氨基酸形成氢键并相互堆垛。这说明三唑环不仅起到连接构建基团的作用, 而且是一个大大促进与蛋白质结合的药效团。Muñoz-Ruiz 等^[8]合成了系列具有双作用位点的他克林-

* E-mail: uxwangxu@sohu.com; xiaoqiang19851224@126.com

Received May 14, 2011; revised October 9, 2011; accepted October 19, 2011.

吡啶杂二联体, 从中寻找到活性达到 $10^{-12} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的化合物 6T6BA ($\text{IC}_{50} = 20 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 牛, Scheme 2), 其活性是他克林($\text{IC}_{50} = 167 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 牛)的 8350 倍. 据此, 本文通过将 1,2,3-三唑引入到他克林-吡啶杂二联体中, 设计并合成了 12 个带有三唑环的他克林-吡啶杂二联体 (**1a**~**1f**, **2a**~**2f**, Scheme 2), 以期得到具有三作用位点的 AChEIs, 进一步提高他克林-吡啶杂二联体抑制 AChE 活性.

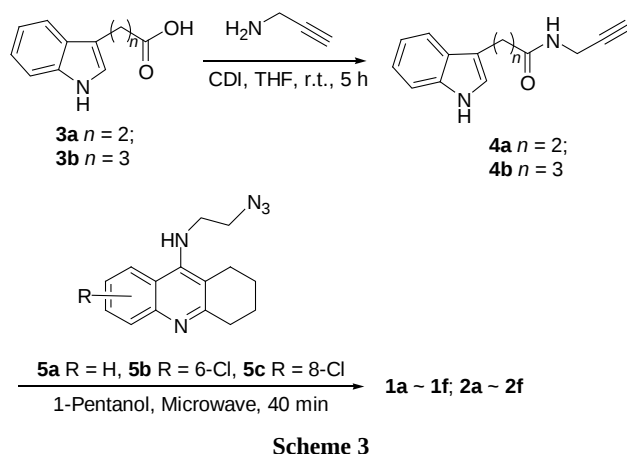


1,2,3-三唑化合物的合成主要是通过炔烃与叠氮化合物发生 Huisgen [3+2]环加成反应^[9]得到, 但经典 Huisgen [3+2]环加成反应存在反应时间长、温度高和区域选择性差等缺点. 因此改进 Huisgen [3+2]环加成反应, 优化实验条件, 探索一条更为高效、安全、快速的合成方法具有良好的应用价值.

微波辐射下的有机反应以其快速、方便、高效、环保等优势越来越受到人们的关注, 也符合绿色化学的发

展趋势. 近年来, 微波促进 Huisgen [3+2]环加成反应也取得一些进展. Louër^[10], Katrizky^[11]和 Balducci 等^[12]分别以经典 Huisgen [3+2]环加成反应为基础引入微波合成技术, 大大缩短了反应时间, 提高了反应的效率, 但由于叠氮化合物在高温条件下易分解、爆炸, 因此微波促进 Huisgen [3+2]环加成反应存在一定的危险性. 本文通过使叠氮和炔在溶剂存在下发生反应并采用同步冷却技术很好的控制反应温度, 有效地防止了叠氮和炔在微波条件下迅速升温而发生爆炸. 在解决反应安全性问题的基础上, 进一步系统优化微波促进 Huisgen [3+2]环加成反应条件, 合成 1,4-二取代三唑和 1,5-二取代三唑化合物的混合物, 然后经柱层析分离得到 1,4-二取代三唑和 1,5-二取代三唑化合物.

本文所设计合成的化合物均未见文献报道, 其结构经 NMR 和 HRMS 表征. 合成路线如 Scheme 3 所示. 以吡啶-3-丙酸和吡啶-3-丁酸为原料, 分别与炔丙胺发生缩合反应得到 3-(丙酰丙炔胺)吡啶(**4a**)和 3-(丁酰丙炔胺)吡啶(**4b**), 然后 **4a** 和 **4b** 分别与 9-(叠氮基乙基氨基)-1,2,3,4-四氢吡啶类衍生物 **5a**~**5c** 在微波辐射下发生 Huisgen [3+2]环加成反应得到 **1a**~**1f** 和 **2a**~**2f**.



1 实验部分

1.1 仪器和试剂

XT4 100B 型显微熔点测定仪; VarianVMS 600M 核磁共振仪; LC/MSD/TOF 液相色谱-质谱联用仪(LC-MS); CEM DISCOVER 型微波反应仪.

化合物 **5a**~**5c** 按文献^[13]方法合成; 硅胶 200~300 目, 青岛海洋化工厂; 其余所有试剂为市售化学纯或分析纯.

1.2 合成

1.2.1 3-(丙酰丙炔胺)吡啶(**4a**)的合成

将吡啶-3-丙酸(5 mmol)溶于 25 mL 无水 THF 中, 氮

气保护下加入 N,N' -羰基二咪唑(CDI, 5 mmol), 加毕, 室温搅拌 4 h. 滴加炔丙胺的 THF 溶液(6 mmol **3a** 溶于 5 mL THF), 滴毕, 室温下反应, TLC 检测反应进程, 待原料消失后, 浓缩蒸去溶剂, 得深黄色粘稠物, 加入 50 mL CH_2Cl_2 溶解, 依次用水(40 mL $\times$ 3)和饱和氯化钠水溶液(40 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩后经硅胶柱层析[洗脱剂 $V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇}):V(\text{氨水})=20:1:0.1$]分离得 **4a**, 深黄色固体粉末, 收率 99.1%. m.p. 85~87 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.14 (s, 1H), 7.58 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.12 (t, $J=6.9$ Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 5.67 (s, 1H), 3.11 (t, $J=6.9$ Hz, 1H), 2.57 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 2.18 (s, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.4, 136.3, 127.0, 122.0, 121.8, 119.3, 118.6, 114.6, 111.2, 79.5, 71.5, 37.0, 29.1, 21.1. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 249.0998, found 249.0997.

3-(丁酰丙炔胺)吡啶(**4b**)参照合成 **4a** 的方法合成, 浅黄色固体粉末, 收率 97.5%. m.p. 67~70 °C; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.23 (s, 1H), 7.57 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.17 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.09 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 3.99 (s, 2H), 2.78 (t, $J=6.6$ Hz, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.04 (t, $J=6.9$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.8, 136.3, 127.3, 121.8, 121.6, 119.1, 118.7, 115.2, 111.2, 79.6, 71.5, 35.7, 29.0, 25.8, 24.3. HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 263.1154, found 263.1152.

1.2.2 目标化合物 **1a** 和 **2a** 的合成

在 10 mL 微波反应管中加入正戊醇 1 mL, **4a** 134 mg (0.5 mmol)及 **5a** 113 mg (0.5 mmol), 置于微波反应器中, 采用同步冷却技术, 在功率 80 W, 中速搅拌条件下, 于 130 °C 辐射 40 min. 浓缩后经硅胶柱层析[洗脱剂 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{丙酮})=4:3$]分离得 **1a** 和 **2a**.

1a 为浅黄色泡沫状固体, 收率 42%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.68 (s, 1H), 7.90 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.57~7.53 (m, 2H), 7.35 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.05 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 4.38 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 4.35 (d, $J=5.7$ Hz, 2H), 3.89 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 3.08 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.04 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.58 (t, $J=6.6$ Hz, 4H), 1.88 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.83 (d, $J=5.4$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.9, 158.9, 149.2, 147.0, 145.3, 136.2, 128.7, 127.6, 127.2, 124.4, 122.9, 122.0, 121.9, 121.8, 120.5, 119.2, 118.7, 118.0, 114.5, 111.1, 50.7, 47.7, 37.0, 34.9, 33.8, 24.8, 22.8, 22.6, 21.2; IR

(KBr) ν : 1653.09, 1635.59, 1554.57, 1535.27, 1510.36, 1496.63, 1489.01, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 494.2663, found 494.2670.

2a 为浅黄色泡沫状固体, 收率 37%. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.74 (t, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.52 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.31 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.25 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.01 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.92 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 4.28 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 4.21 (s, 2H), 3.80 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 2.99 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.94 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.50 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.87 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.82 (d, $J=5.4$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 175.8, 159.7, 151.9, 147.8, 138.1, 137.0, 134.1, 129.8, 128.5, 128.2, 125.3, 123.7, 123.1, 122.4, 121.6, 119.6, 119.3, 118.7, 114.7, 112.2, 49.4, 48.4, 37.9, 34.2, 32.4, 26.0, 23.9, 23.6, 22.3; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.68, 1554.64, 1535.23, 1510.36, 1496.50, 1489.02, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 494.2663, found 494.2670.

1b~1f 和 **2b~2f** 参照 **1a** 和 **2a** 合成方法合成.

1b: 浅黄色泡沫状固体, 收率 35%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.24 (s, 1H), 7.89 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.71 (t, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.55~7.51 (m, 2H), 7.33 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.31 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.15 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.07 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.17 (s, 1H), 4.43~4.39 (m, 5H), 3.91 (dd, $J=11.4$, 6.0 Hz, 2H), 3.04 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.76 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.60 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.23 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.05~2.00 (m, 2H), 1.89 (dt, $J=13.8$, 6.6 Hz, 2H), 1.87 (td, $J=13.8$, 6.0 Hz, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 173.1, 159.1, 148.9, 147.3, 145.1, 136.3, 129.0, 127.4, 127.4, 124.3, 124.9, 121.9, 121.9, 121.5, 120.6, 119.1, 118.8, 118.2, 115.4, 111.1, 50.9, 47.8, 35.9, 34.8, 34.0, 25.8, 24.9, 24.4, 22.9, 22.7; IR (KBr) ν : 1656.18, 1635.67, 1554.55, 1535.27, 1510.35, 1496.78, 1489.02, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 508.2819, found 508.2826.

2b: 浅黄色泡沫状固体, 收率 29%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.25 (s, 1H), 7.89 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.55~7.53 (m, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.32~7.30 (m, 2H), 7.14 (d, $J=6.6$ Hz, 1H), 7.07 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 4.43 (s, 5H), 3.93 (s, 2H), 3.04 (s, 2H), 2.74 (d, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.60 (s, 2H), 2.22 (d, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.03 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 1.87 (s, 2H), 1.84 (s, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.0,

159.9, 149.8, 148.7, 136.3, 134.9, 133.3, 128.8, 127.9, 127.8, 127.3, 127.3, 122.7, 121.9, 121.5, 119.2, 119.1, 118.6, 115.1, 111.2, 48.3, 48.0, 35.8, 33.4, 31.3, 25.7, 25.7, 24.4, 22.8, 22.5; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.58, 1554.55, 1535.20, 1510.35, 1496.51, 1489.09, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 508.2819, found 508.2826;

1c: 浅黄色泡沫状固体, 收率 35%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.12 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.67 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.30~7.26 (m, 2H), 7.15 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.02 (s, 1H), 4.48 (s, 1H), 4.41 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 4.38 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 3.90 (d, $J=4.2$ Hz, 2H), 3.11 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.02 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.60~2.56 (m, 4H), 1.89~1.85 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.8, 160.2, 149.2, 147.8, 145.4, 136.2, 134.3, 127.7, 127.2, 125.1, 123.6, 122.8, 122.0, 121.8, 119.4, 118.8, 118.2, 114.8, 111.1, 50.7, 47.9, 37.2, 34.9, 29.7, 24.7, 22.8, 22.5, 21.2; IR (KBr) ν : 1653.09, 1635.48, 1560.51, 1535.29, 1510.36, 1496.69, 1489.98, 1456.22 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528.2273, found 528.2290.

2c: 浅黄色泡沫状固体, 收率 31%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.18 (s, 1H), 7.85 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.25~7.24 (m, 1H), 7.15 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 5.92 (d, $J=5.4$ Hz, 1H), 4.66 (d, $J=6.6$ Hz, 1H), 4.32 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 4.28 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.78 (dd, $J=10.8, 6.0$ Hz, 2H), 3.07 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.98 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.61 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.54 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.87~1.83 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.9, 160.3, 149.4, 147.8, 136.3, 134.7, 134.2, 133.5, 127.6, 126.8, 125.1, 123.6, 122.2, 121.8, 119.5, 119.0, 118.5, 118.4, 114.1, 111.4, 48.1, 47.7, 37.1, 34.0, 31.2, 24.8, 22.8, 22.6, 21.2; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.59, 1554.57, 1535.28, 1510.38, 1496.50, 1489.02, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528.2273, found 528.2290.

1d: 浅黄色泡沫状固体, 收率 41%. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.50 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.17 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.78 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.68 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.31 (t, $J=5.7$ Hz, 2H), 4.05 (s, 2H), 3.71 (t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.66 (t, $J=$

6.3 Hz, 2H), 2.42 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 2.31 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.97 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 1.69 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 1.61~1.55 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 176.2, 160.7, 152.4, 148.1, 146.5, 138.2, 135.7, 128.7, 126.6, 126.0, 125.7, 124.9, 122.9, 122.2, 119.8, 119.5, 119.4, 118.6, 115.6, 112.1, 51.8, 48.6, 36.6, 35.4, 34.2, 27.7, 25.9, 25.6, 23.8, 23.4; IR (KBr) ν : 1653.09, 1635.53, 1554.52, 1535.29, 1510.36, 1496.72, 1489.01, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 542.2430, found 542.2427.

2d: 浅黄色泡沫状固体, 收率 45%. ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.79 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.39 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.02 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.93~6.90 (m, 2H), 4.61 (t, $J=5.7$ Hz, 2H), 4.31 (s, 2H), 3.99 (t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.92 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 2.67 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.60 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.17 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 1.92 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.86~1.80 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 176.2, 161.0, 152.3, 148.3, 138.2, 137.3, 135.6, 134.2, 128.7, 126.8, 125.9, 125.7, 122.9, 122.2, 119.9, 119.4, 119.3, 118.7, 115.4, 112.2, 48.7, 48.6, 36.5, 34.3, 32.3, 27.6, 25.9, 25.6, 23.8, 23.4; IR (KBr) ν : 1643.65, 1635.42, 1552.65, 1534.78, 1510.36, 1496.50, 1488.98, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 542.2430, found 542.2427.

1e: 浅黄色泡沫状固体, 收率 38%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.25 (s, 1H), 7.81~7.80 (m, 1H), 7.58 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.40~7.34 (m, 2H), 7.28 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.14 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.08 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.20 (t, $J=5.1$ Hz, 1H), 5.60 (t, $J=1.2$ Hz, 1H), 4.43 (t, $J=5.7$ Hz, 2H), 4.37 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.68~3.65 (m, 2H), 3.11 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.02 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.64~2.59 (m, 4H), 1.93~1.89 (m, 2H), 1.81~1.77 (m, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.7, 160.0, 149.7, 148.8, 144.8, 136.2, 129.0, 127.9, 127.8, 127.2, 127.1, 122.8, 122.3, 122.0, 121.7, 119.3, 119.0, 118.8, 114.8, 111.1, 50.8, 47.8, 37.1, 34.8, 33.5, 26.0, 22.8, 22.5, 21.2; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.53, 1552.79, 1535.29, 1510.36, 1496.69, 1489.02, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528.2273, found 528.2298.

2e: 浅黄色泡沫状固体, 收率 28%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.21 (s, 1H), 7.81~7.80 (m, 1H), 7.49 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.39~7.32 (m, 3H), 7.23 (s, 1H), 7.14 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.04 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.78 (s, 1H), 6.00

(t, $J=5.7$ Hz, 1H), 5.62 (t, $J=1.8$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J=5.4$ Hz, 2H), 4.28 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.60~3.57 (m, 2H), 3.06 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 3.00 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.58 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.53 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 1.92~1.88 (m, 2H), 1.78~1.75 (m, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.7, 1560.0, 149.7, 148.8, 136.3, 134.8, 133.2, 128.9, 127.9, 127.7, 127.3, 126.8, 122.8, 122.1, 121.8, 119.4, 119.1, 118.5, 114.2, 111.3, 48.2, 47.9, 37.1, 33.5, 31.3, 25.7, 22.8, 22.5, 21.2; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.58, 1554.51, 1535.29, 1510.36, 1496.47, 1489.01, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 528.2273, found 528.2298.

1f: 浅黄色泡沫状固体, 收率 36%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.22 (s, 1H), 7.80 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.38~7.30 (m, 4H), 7.15 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.07 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.26 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.41 (d, $J=5.4$ Hz, 2H), 3.67 (d, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.01 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 2.77 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.64 (d, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.26 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.04 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 1.91 (s, 2H), 1.78 (s, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.1, 160.0, 149.7, 148.8, 144.8, 136.3, 129.0, 127.8, 127.7, 127.4, 127.2, 122.9, 122.4, 121.9, 121.5, 119.1, 119.1, 118.8, 115.4, 111.1, 50.9, 47.8, 35.9, 34.8, 33.5, 26.1, 25.9, 24.5, 22.8, 22.5; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.56, 1554.43, 1535.31, 1510.36, 1496.72, 1488.98, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 542.2430, found 542.2427.

2f: 浅黄色泡沫状固体, 收率 37%. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.19 (s, 1H), 7.81 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J=9.1$ Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.32 (d, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.15 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.07 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 5.65 (s, 1H), 4.48 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 4.41 (d, $J=5.4$ Hz, 2H), 3.70~3.67 (m, 2H), 3.01 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 2.77 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.64 (t, $J=6.3$ Hz, 2H), 2.26 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.07~2.03 (m, 2H), 1.93~1.89 (m, 2H), 1.80~1.77 (m, 2H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.1, 159.9, 151.0, 145.0, 144.8, 136.3, 132.9, 128.6, 127.9, 127.4, 127.2, 122.9, 122.0, 121.9, 121.5, 119.1, 118.9, 118.9, 115.4, 111.1, 50.9, 47.8, 35.9, 34.8, 33.3, 26.0, 25.8, 24.5, 22.8, 22.5; IR (KBr) ν : 1653.08, 1635.59, 1554.47, 1535.31, 1510.36, 1496.45, 1489.02, 1456.21 cm^{-1} . HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{OCl}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 542.2430, found 542.2427.

2 结果与讨论

2.1 合成

为了开发一种适合 Huisigen[3+2]环加成反应、应用范围广、可重复的合成方法, 本文以化合物 **1c** 和 **2c** 的合成例, 使用美国 CEM 公司生产的聚焦单模微波合成仪, 采用同步冷却技术, 使反应过程中恒定功率、恒定温度. 并考察了溶剂、反应时间、微波功率和反应温度等对反应的影响.

2.1.1 微波辐射-同步冷却的最佳反应条件

2.1.1.1 溶剂的选择

本文首先尝试无溶剂条件下的 Huisigen 环加成反应, 由于原料 **5b** 和 **4a** 的熔点分别 61~63 和 85~87 $^{\circ}\text{C}$, 因此反应温度设为 90 $^{\circ}\text{C}$, 时间 5 min, 功率 40 W. 反应结果发现有目标化合物生成, 但由于原料大部分碳化导致收率非常低. 分析原因认为: 叠氮化合物和炔烃化合物的化学势能均很高, 而三唑化合物化学势能相对较低, 此反应将放出大约 188 $\text{kJ/mol}^{[9]}$ 的热量, 由于微波促进叠氮化合物和炔烃化合物迅速反应, 瞬间产生的大量热量导致原料碳化. 因此, 该反应须在溶剂存在下发生.

从溶剂的沸点, 饱和蒸汽压, 溶解性以及比热容等多方面考虑, 本文选择正戊醇作溶剂, 溶剂量为原料的 5~10 倍以上(质量).

2.1.1.2 反应时间的选择

根据微波反应的一般规律, 设定功率 80 W, 温度 130 $^{\circ}\text{C}$, 反应时间分别为 10, 20, 30, 40, 50 和 60 min. TLC 结果表明: 反应 10, 20 和 30 min 后, 原料未完全消失, 但可以观察到逐渐减少的趋势; 反应 40 和 50 min 后, 原料完全消失, 并且都没有杂质点出现. 因此, 确定较佳反应时间为 40 min.

2.1.1.3 微波功率的选择

为了能够很好的控制恒定功率和恒定温度, 本文从采用同步冷却技术, 同时控温和功率的难易程度方面考虑, 对微波功率进行系统研究. 设定温度 130 $^{\circ}\text{C}$, 反应时间 40 min, 功率分别为 40, 60, 80, 100 和 120 W. 结果发现: 不同功率使反应达到设定温度存在很大差异(表 1), 升温时间过长对反应的时间确定影响越大, 而实验过程中发现当功率超过 80 W 时, 通过调节冷却气量很难控制温度, 因此从减少实验误差和操作方便两方面考虑确定微波功率为 80 W.

2.1.1.4 反应温度的选择

本文设定 5 个温度条件, 系统研究了反应温度对收率的影响. 实验结果(表 2)表明: 反应温度在 100~

表 1 微波功率对升温时间的影响

Table 1 Effect of microwave power on the calefactive time

功率/W	40	60	80	100	120
时间/min	12	7	4	3.5	3

130 °C 范围内, 收率随温度的升高而增大, 而当温度达 140 °C 收率明显降低. 分析认为: 当反应温度高于 130 °C 时, 叠氮化合物和炔烃化合物反应过快, 瞬间放出的热量不足以被戊醇很好分散, 导致原料碳化, 并有可能导致叠氮化合物分解, 从而使收率降低.

表 2 反应温度对 **1c** 和 **2c** 总收率的影响(功率 80 W、反应时间 40 min)Table 2 Effect of temperature on the yield of **1c** and **2c** (80 W, 40 min)

反应温度/°C	100	110	120	130	140
收率/% (HPLC)	35.2	57.9	85.6	95.4	83.2

因此, 经过多次实验, 本文将微波促进 Huisigen [3+2] 环加成反应的最优条件确定为: 溶剂戊醇, 反应时间 40 min, 功率 80 W, 温度 130 °C.

2.1.2 微波辐射-同步冷却法在合成中的应用

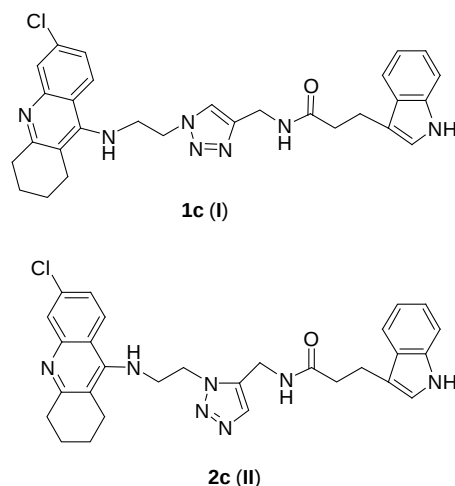
在以微波辐射-同步冷却法合成化合物 **1a~1f** 和 **2a~2f** 后, 我们又采用常规微波辐射和常规加热法合成了化合物 **1c** 和 **2c**. 结果发现在其它反应条件相同的情况下, 采用常规微波辐射 **1c** 和 **2c** 总收率为 81.5%, 而采用常规加热 **1c** 和 **2c** 总收率仅为 32.5%. 进一步研究发现延长常规微波辐射时间至 60 min, 原料 **5b** 完全消失, 产物收率为 85.6%. 分析认为长时间的高温条件下叠氮化合物 **5b** 发生分解, 导致随微波辐射反应时间的延长产物收率未有明显提高. 常规加热条件下随反应时间的延长, 产物收率有所提高, 反应 4 h 以后, 收率为 65.6%, 但之后随反应时间的延长, 由于叠氮化合物分解导致产物收率不再提高. 由此可见微波辐射-同步冷却法在 Huisigen 环加成反应中, 可使反应速度和收率较常规加热方法有明显提高, 同时也较常规微波辐射法有所提高, 这为微波辐射-同步冷却法在合成中的应用提高了广阔的前景.

2.2 目标化合物结构确认

以 **1c** 和 **2c** (Scheme 4) 为例, 对目标化合物进行结构确认.

由于微波加热反应生成的目标化合物为 **1c** 和 **2c** 的混合物, 通过柱层析分离纯化, 得到 2 个化合物 **I** 和 **II**. 分别通过 HR MS, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 进行表征.

文献报道 Cu(I) 催化叠氮化合物和炔只生成 1,4-二取代三唑化合物, 因此本文通过 Cu(I) 催化 **4a** 和 **5b** 反应生成 **1c**, 并通过 HRMS (ESI), ¹H NMR 和 ¹³C NMR 对其



Scheme 4

进行表征. **I**, **II** 和 **1c** 的 HRMS (ESI), ¹H NMR 谱和 ¹³C NMR 谱进行对比, 发现 **I**, **II** 和 **1c** 的 HRMS (ESI) 结果一致; **1c** 与 **I** 的 ¹H NMR 谱和 ¹³C NMR 谱基本一致, 而 **1c** 与 **II** 的 ¹H NMR 存在明显差别. 因此确定 **I** 为 **1c**, **II** 为 **2c**.

分析化合物 **1a~1f** 和 **2a~2f** 的 ¹H NMR 谱可以看出, 1,5-二取代三唑化合物 **2a~2f** 三唑环上氢的化学位移相对于对应的 1,4-二取代三唑化合物 **1a~1f** 向低场移动. 分析原因认为: 1,4-二取代和 1,5-二取代三唑环上氢的化学环境存在差异, 吸电子 N=N 的存在将降低三唑环上氢的核外电子云密度, 从而使其化学位移值向低场移动, 1,4-二取代三唑环上氢位于 N=N 间位, 而 1,5-二取代三唑环上氢位于 N=N 邻位, 因此 N=N 对 1,4-二取代三唑环上氢的影响要弱于 1,5-二取代三唑环, 最终导致 1,5-二取代三唑环上氢化学位移向低场移动更明显. 根据这一规律, 我们可以来确定三唑化合物的取代情况.

因此, 本文通过 Cu(I) 催化合成了高选择性的 1,4-二取代三唑化合物, 然后通过 TLC 来确定微波法合成并分离得到的目标化合物的取代情况; 另外通过此类化合物 ¹H NMR 谱中三唑环上氢的化学位移进一步确认.

2.3 生物活性

本文采用 Ellman^[14] 方法对合成的目标化合物他克林-吡啶杂二联体 **1a~1f**, **2a~2f** 进行体外活性测定, 并以文献报道化合物 6T6BA 作为对照化合物, 结果如表 3 所示. 12 个化合物对鱼鳃 AChE 均具有较强的抑制能力, 其中化合物 **2b** 和 **2d** 抑制鱼鳃乙酰胆碱酯酶的 IC₅₀ 值分别为 1.6 和 2.0 nmol·L⁻¹, 是 6T6BA (IC₅₀ = 11.0 nmol·L⁻¹, 鱼鳃) 的 6.9 和 5.5 倍. 此外, 从体外活性测定结果可以看出: 1,5-二取代三唑环连接的他克林-吡啶杂二联体 **2a~2f** 抑制 AChE 活性普遍高于相应的 1,4-二取代三唑

环连接的他克林-吲哚杂二联体 **1a~1f**. 分析认为 1,5-二取代三唑环的存在不仅起到连接他克林与吲哚的作用, 还可与 AChE 芳香峡谷中部的氨基酸形成氢键、 π - π 或疏水相互作用, 从而提高其抑制 AChE 活性能力, 而 1,4-二取代三唑环与 AChE 芳香峡谷中部的氨基酸作用较弱.

表 3 他克林-吲哚杂二联体 **1a~1f**, **2a~2f** 和 6T6BA 对鱼鳃 AChE 的抑制能力

Table 3 Inhibition of AChE by tacrine-indole hybrids **1a~1f**, **2a~2f** and 6T6BA (electrophorus)

Compd.	IC ₅₀ /(nmol·L ⁻¹)	Compd.	IC ₅₀ /(nmol·L ⁻¹)
1a	43.8±0.2	2a	36.3±1.0
1b	111.2±1.3	2b	1.6±0.02
1c	66.9±0.9	2c	11.7±0.6
1d	22.6±0.5	2d	2.0±0.1
1e	17.2±0.4	2e	16.4±0.6
1f	18.4±0.7	2f	12.4±0.4
6T6BA	11.0±0.9	—	—

3 结论

将微波合成技术引入到 Husigen [3+2]环加成反应, 并对反应条件进行优化, 探索出一种安全、反应时间短、收率高、重复性好的合成 1,4-二取代三唑和 1,5-二取代三唑的方法, 为新型三唑环连接的他克林二联体合成奠定基础; 设计并合成的目标化合物均具有较强的乙酰胆碱酯酶抑制能力, 其中化合物 **2b** 和 **2d** 抑制鱼鳃乙酰胆

碱酯酶的 IC₅₀ 值分别为 1.6 和 2.0 nmol·L⁻¹, 是 6T6BA (IC₅₀=11.0 nmol·L⁻¹, 鱼鳃)的 6.9 和 5.5 倍.

References

- [1] Hu, M.; Li, J.; Yao, A. Q. *Org. Lett.* **2008**, 10(24), 5529.
- [2] Ankati, H.; Biehl, E. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 4677.
- [3] Zhang, F.; Moses, J. E. *Org. Lett.* **2009**, 11(7), 1587.
- [4] Lewis, W. G.; Green, L. G.; Grynszpan, F.; Radić, Z.; Carlier P. R.; Taylor, P.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, 41(6), 1053.
- [5] Manetsch, R.; Krasinski, A.; Radic, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12809.
- [6] Krasinski, A.; Radic, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 6686.
- [7] Bourne, Y.; Kolb, H. C.; Radić, Z.; Sharpless, K. B.; Taylor, P.; Marchot, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, 101, 1449.
- [8] Muñoz-Ruiz, P.; Rubio, L.; García-Palomero, E.; Dorronsoro, I.; Monte-Millán, M.; Valenzuela, R.; Usán, P.; Austria, C.; Bartolini, M.; Andrisano, V.; Bidon-Chanal, A.; Orozco, M.; Luque, F. J.; Medina, M.; Martínez, A. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7223.
- [9] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 2004.
- [10] Louréat, F.; Bougrin, K.; Loupy, A.; Ochoa de Retana, A. M.; Pagalday, J.; Palacios, F. *Heterocycles* **1998**, 48, 161.
- [11] Katritzky, A. R.; Singh, S. K. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 9077.
- [12] Balducci, E.; Bellucci, L.; Petricci, E.; Taddei, M.; Tafi, A. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 1314.
- [13] Guo, Y.-B.; Liu, H.-B.; Xu, M. *Chin. J. Synth. Chem.* **2011**, 19(3), 299 (in Chinese).
(郭永彪, 刘海波, 许明, 合成化学, **2011**, 19(3), 299.)
- [14] Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V. J.; Featherstone, R. M. *Biochem. Pharm.* **1961**, 7, 88.

(Qin, X.; Fan, Y.)