

3,4-二芳基吡咯酮衍生物的合成和生物活性

韦 丽^a 杨晓丽^{a,b} 袁吉文^a 胡宏纹^a 陆国元^{*,a}^(a) 南京大学化学化工学院 南京 210093^(b) 江苏省姜堰中学 姜堰 225500

摘要 考布他汀-A4 (Combretastatins-A4, CA-4)是从天然产物中分离得到的抗癌活性化合物,其分子中 Z-构型烯键易异构化转变为无抗癌活性的 E-构型。以吡咯-2,5-二酮或吡咯-2-酮代替烯键,设计合成了 4 个新的 CA-4 类似物。它们的合成是以 3,4-二甲氧基苯乙酮或 3-氟-4-甲氧基苯乙酮为起始原料,经 α -溴化、改良的 Gabriel 合成法、与 3,4,5-三甲氧基苯乙酸缩合、环化-氧化或环化四步反应完成。其结构用 ¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS 及元素分析进行了表征。用 MTT 法测试了 CA-4 类似物对白血病细胞 HL-60、肝癌细胞 SMMC-7721 和肺腺癌细胞 A549 的体外抗肿瘤活性。初步结果表明,含氟化合物 3,4-二芳基-2,5-吡咯酮(**1b**)的抗肿瘤活性接近 CA-4, IC₅₀ 值达到 0.03~0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词 考布他汀类似物; 合成; 抗肿瘤活性; 3,4-二芳基吡咯二酮; 3,4-二芳基吡咯酮

Synthesis and *in vitro* Antitumor Activities of 3,4-Diaryl Substituted Pyrrolones DerivativesWei, Li^a Yang, Xiaoli^{a,b} Yuan, Jiwen^a Hu, Hongwen^a Lu, Guoyuan^{*,a}^(a) Department of Chemistry, State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210093^(b) Jiangyan High School, Jiangyan 225500

Abstract Combretastatins-A4 (CA-4) is a natural product with extraordinary anticancer activity, which was isolated from the South African Tree-Combretum caffrum. However, the *cis*-isomer exhibits strong antitubulin activity only, but the *cis*-isomer tends to isomerize the inactive *trans*-isomer. In this paper, an additional pyrrolidone ring system was used to replace the *cis* double bond to arrest the *cis*-conformation. Thus, four new compounds of 3,4-diaryl pyrrolediones and 3,4-diaryl pyrrolones as CA-4 analogues were synthesized from the starting materials 3,4-dimethoxyacetophenone or 3-fluoro-4-methoxy acetophenone, via a four steps reaction, α -bromination, improved Gabriel reaction, condensation with 3,4,5-trimethoxyphenylacetic acid and intramolecular cyclization under air or nitrogen. The structures of these new compounds were confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS and elemental analysis. The *in vitro* antitumor activities of CA-4 analogues against HL-60, SMMC-7721 and A549 human gastric cancer cell lines were tested using colorimetric MTT assay. The preliminary result indicates that 3-(3-fluoro-4-methoxyphenyl)-4-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrrole-2,5-dione (**1b**) shows significant antitumor activity (0.03~0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), which is closely to the natural CA-4.

Keywords combretastatin A-4 analogues; synthesis; antitumor activity; 3,4-diaryl pyrroledione; 3,4-diaryl pyrrolone

考布他汀(Combretastatins)是从南非灌木(Combretum caffrum)中分离得到的具抗癌活性的天然产物^[1],它通过抑制微管蛋白聚合,选择性地阻止血液向肿瘤流动,导致肿瘤细胞死亡,从而达到抗癌的目的^[2]。在这类天然产物中,Combretastatin A4 (CA-4)的活性最高,对多种肿瘤具有强有力的抑制作用^[3]。由于 CA-4 的水溶性差,生物利用度低,因此将其磷酸化转变为水溶性

的磷酸二钠盐前药(CA-4P) (图 1),其体内抗肿瘤活性大大提高。CA-4 磷酸二钠盐已进入三期临床研究阶段^[4]。但 CA-4 有从 Z-构型异构化为无抗癌活性的 E-构型的缺点^[5]。为了固定 Z-构型,近年来文献报道用咪唑^[6]、噁唑^[6a,7]、噻唑^[6a,8]、吡唑^[9]、三氮唑^[10]和呋喃^[11]等五元芳杂环代替 CA-4 分子中的烯键。在这些 CA-4 类似物中,一些化合物的体外抗癌活性与 CA-4 相当甚至高于

* E-mail: lugyuan@nju.edu.cn

Received July 27, 2012; revised August 30, 2012; published online September 3, 2012.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20872061).

国家自然科学基金(No. 20872061)资助项目。

CA-4^[6,8-10]. 用合适的刚性脂环代替 CA-4 的烯键, 也能达到固定 Z-构型的目的. Niamh 等^[12]用脂环的环丁酰胺代替 CA-4 的烯键合成的 CA-4 类似物对 MCF-7 肿瘤细胞的 IC_{50} 值达到 $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平. Dannhardt 等^[13]用脂环的马来酰胺代替 CA-4 的烯键后的衍生物作为肿瘤细胞微管聚合抑制剂, IC_{50} 值也达到纳摩尔级水平. 但是用脂环为中心单元的 CA-4 类似物文献报道较少. 为了研究刚性脂环代替烯键构建的 CA-4 类似物以及芳环上取代基对生物活性的影响, 本文设计合成了一系列新的脂环为中心单元的 CA-4 类似物, 3,4-二芳基吡咯-2,5-二酮(**1a**, **1b**)和 3,4-二芳基吡咯-2-酮(**2a**, **2b**) (Scheme 1). 体外抗肿瘤活性测定表明, 含氟的 2,3-二取代芳基吡咯-2,5-二酮 **1b** 具有较高的抑制肿瘤细胞活性, IC_{50} 值达到 $0.03 \sim 0.05 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

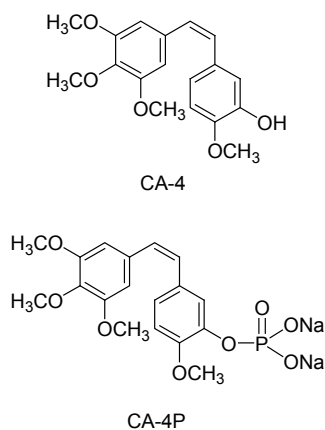
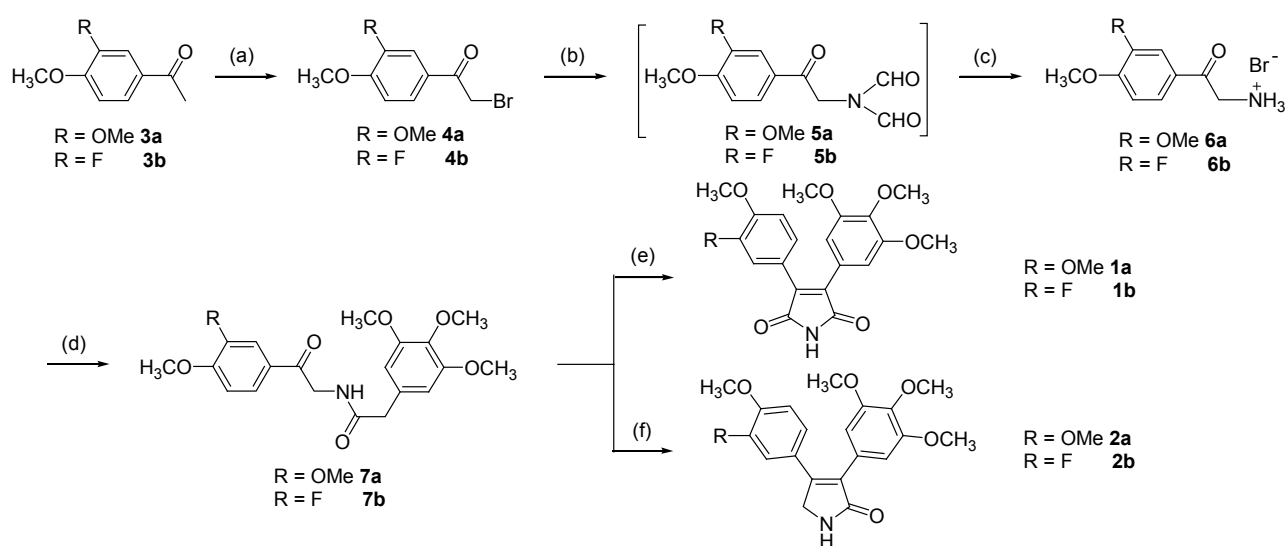


图 1 CA-4 和 CA-4P 的结构
Figure 1 Structures of CA-4 and CA-4P



Reagents and conditions: (a) Br_2 , CHCl_3 , r.t., 2 h; (b) $\text{NaN}(\text{CHO})_2$, DMF, r.t., 2 h; (c) HBr , CH_3OH , r.t., 24 h; (d) 3,4,5-三甲氧基苯乙酸, DMAP, EDCI, CH_2Cl_2 , N_2 , r.t., 24 h; (e) $t\text{-BuOK}$, THF, 35°C , 空气, 2 h; (f) $t\text{-BuOK}$, $t\text{-BuOH}$, 35°C , N_2 , 2 h

Scheme 1

1 结果与讨论

1.1 3,4-二芳基吡咯二酮和 3,4-二芳基吡咯酮的合成

Dannhardt 等^[13]报道用 α -氧代芳基乙酸酯和芳乙酰胺缩合得到 3,4-二芳基吡咯二酮, 但是不能同时合成相应的单羰基化合物 3,4-二芳基吡咯酮. Pal 等^[14]报道 N -(2-芳基-2-氧代乙基)-2-芳基乙酰胺在强碱或弱碱性条件下可分别得到 3,4-二芳基吡咯二酮和相应的单羰基化合物 3,4-二芳基吡咯酮. 因此我们采用 Pal 的成环方法合成目标化合物. Scheme 1 是 3,4-二芳基吡咯二酮(**1a**, **2a**)和 3,4-二芳基吡咯酮(**1b**, **2b**)的合成路线. 溴化物 **4a** 和 **4b** 按文献^[17]报道的方法合成. 接着将溴化物转变为伯胺, 常用的方法是 Gabriel 合成法. 但是在 Gabriel 反应中需用水合肼解才能得到伯胺^[15]. 当前的反应物中的羰基易与肼缩合导致较低的收率. 我们^[16]前面的工作用 N,N -二甲酰胺钠盐代替邻苯二甲酰亚胺盐与卤代烃反应, 生成的取代产物无需分离, 用无机酸水解可一步制备伯胺. 因此按照该方法合成得到伯胺的氢溴酸盐 **6a** 和 **6b**. 然后 **6a** 和 **6b** 在 4-二甲氨基吡啶(DMAP)和 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺(EDCI)存在下分别与 3,4,5-三甲氧基苯乙酸缩合得到酰胺产物 **7a** 和 **7b**. 在 Pal 等^[14]的工作中, 使用 1,8-二氮杂二环[5,4,0]十一碳-7-烯(DBU)为碱时, N -(2-芳基-2-氧代乙基)-2-芳基乙酰胺分子内成环并被空气中的氧气氧化为 3,4-二芳基吡咯二酮, 而使用碳酸钾时分子内成环后并不被氧化, 只形成 3,4-二芳基吡咯酮. 我们在实验中发现, 不仅 DBU, 其他强碱如叔丁醇钾、乙醇钠和氢化钠等也可使化合物 **7a** 和 **7b** 氧化环化, 而在无空气条件下仅仅发生环化反应. 由于叔丁醇钾在四氢呋喃有较好

的溶解度, 因而采用叔丁醇钾为碱, 碱的用量是底物的 2 倍(物质的量). 中间体 **6b**, **7a**, **7b** 和 3,4-二芳基吡咯二酮(**1a**, **1b**)和 3,4-二芳基吡咯酮(**2a**, **2b**)是新化合物, 它们的核磁共振氢谱和碳谱、质谱以及元素分析数据与其结构相吻合.

1.2 体外抗肿瘤活性研究

为了研究化合物的抗肿瘤活性, 我们将人癌细胞白血病细胞 HL-60、肝癌细胞 SMMC-7721 和肺腺癌细胞 A549 用不同浓度的化合物处理 72 h. 细胞存活率由 MTT 实验确定. 阳性对照物为 CA-4. 3,4-二芳基吡咯二酮和 3,4-二芳基吡咯酮对这些癌细胞的抑制效果(IC_{50} 值)列于表 1.

表 1 3,4-二芳基吡咯二酮和 3,4-二芳基吡咯酮对癌细胞的抑制效果 [IC_{50} 值/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)]

Table 1 Inhibitory effect [IC_{50} /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)] of 3,4-diarylpyrrolindiones and 3,4-diarylpyrrolinones for tumor cells

Compd.	HL-60	SMMC-7721	A549
1a	0.128	0.980	0.809
1b	0.043	0.034	0.037
2a	6.488	4.391	7.214
2b	0.161	0.308	0.337
CA-4	0.0047	0.018	0.014

从表 1 中可见, 所合成的化合物对 3 种人肿瘤细胞的体外生长均显示较高的抑制作用. 3,4-二芳基吡咯二酮(**1a**, **1b**)的抑制活性优于相应的 3,4-二芳基吡咯酮(**2a**, **2b**). 其中含氟的 3,4-二芳基吡咯二酮(**1b**)的抑制活性最高, 对三种肿瘤细胞的 IC_{50} 值达到 $0.03\sim 0.05\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 对于肝癌细胞 SMMC-7721 和肺腺癌细胞 A549, **1b** 的抑制活性与阳性对照物 CA-4 相当, 而对于白血病细胞 HL-60, 其抑制活性低于 CA-4.

2 结论

本文设计合成了 4 个新的以脂环为中心单元的 CA-4 类似物, 3-(3,4-二甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2,5-二酮, 3-(3-氟-4-甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2,5-二酮(**1a**, **1b**)和 3-(3,4-二甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2(5*H*)-酮, 3-(3-氟-4-甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2(5*H*)-酮(**2a**, **2b**), 通过 ^1H NMR, ^{13}C NMR, ESI-MS 及元素分析对所合成化合物结构进行了表征. 用 MTT 法测试了其对白血病细胞 HL-60、肝癌细胞 SMMC-7721 和肺腺癌细胞 A549 的体外抗肿瘤活性. 结果表明, 所合成的化合物对三种人肿瘤细胞的体外生长均显示较高的抑制作用. 3,4-二芳基吡咯二酮(**1a**, **1b**)的抑制活性优于相应的 3,4-二芳基吡咯酮(**2a**, **2b**). 其中含氟的 3,4-二芳基吡咯二酮(**1b**)的抑制活性最高, 对三种

肿瘤细胞的 IC_{50} 值达到 $0.03\sim 0.05\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 对于肝癌细胞 SMMC-7721 和肺腺癌细胞 A549, **1b** 的抑制活性与阳性对照物 CA-4 相当, 而对于白血病细胞 HL-60, 其抑制活性低于 CA-4. 因此其结构还有待于进一步优化, 设计合成出抗肿瘤活性更高的化合物.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

试剂均为市售分析纯或化学纯试剂, 未进一步纯化. 化合物 **4a** 和 **4b** 按文献[17]的方法合成. 溶剂的干燥及无水处理按常规方法进行. 熔点用 SGW X-4 显微熔点仪测定. ^1H NMR 谱和 ^{13}C NMR 谱均用 Bruker AM 300 MHz (Germany)核磁共振仪测定(TMS 为内标). 质谱用电喷雾质谱仪(LCQ, Finnigan)测定. 元素分析用 VARIO EL 仪测定.

3.2 实验方法

3.2.1 3,4-二甲氧基-1-氨基乙酰基苯基溴酸盐(**6a**)和 3-氟-4-甲氧基-1-氨基乙酰基苯基溴酸盐(**6b**)的制备

在反应瓶中加入 2.6 g (10 mmol) 3,4-二甲氧基-1-溴乙酰基苯(**4a**), 1.0 g (11 mmol) *N,N*-二甲酰胺基钠, 25 mL 无水乙腈, 在氮气保护下搅拌反应 2 h. 过滤除去溴化钠. 加入 10 mL 40% 氢溴酸溶液, 室温搅拌 24 h. 减压除去部份溶剂, 将混合物冷却到 $0\ ^\circ\text{C}$, 滤出固体, 乙醚洗涤, 在 $60\ ^\circ\text{C}$ 真空干燥, 得到 **6a** (1.97 g, 7.1 mmol), 白色固体, 产率 71.2%. ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ : 7.55~7.71 (m, 2H, ArH), 7.15 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 4.67 (s, 2H, COCH_2), 3.96 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C NMR (D_2O , 75 MHz) δ : 190.5 (C=O), 150.1, 148.3, 130.2, 122.3, 112.4, 110.3 (Ar), 56.3, 56.0 (OCH_3), 48.5 (CH_2N). Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}_3$: C 61.21, H 7.19, N 7.14; found C 61.32, H 7.16, N 7.13.

用合成化合物 **6a** 类似的方法, 从 1.98 g (8.0 mmol) 3-氟-4-甲氧基-1-溴乙酰基苯(**4b**)得到 **6b** (1.43 g, 5.4 mmol), 白色固体, 产率 68.0%. ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ : 7.80~7.92 (m, 2H, ArH), 7.15 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, ArH), 4.55 (s, 2H, COCH_2), 4.00 (s, 3H, OCH_3); ^{13}C NMR (D_2O , 75 MHz) δ : 190.8 (C=O), 152.8, 152.1, 130.8, 125.8, 125.2, 112.5 (Ar), 55.7 (OCH_3), 48.3 (CH_2N). Anal. calcd for $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{BrFNO}_2$: C 40.93, H 4.20, N 5.30; found C 40.98, H 4.12, N 5.20.

3.2.2 *N*-[2-(3,4-二甲氧基苯基)-2-氧代乙基]-2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**7a**)和 *N*-[2-(3-氟-4-甲氧基苯基)-2-氧代乙基]-2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙酰胺(**7b**)的制备

在反应瓶中加入 0.5 g (1.8 mmol) **6a**, 0.41 g (1.8

mmol) 3,4,5-三甲氧基苯乙酸, 0.55 g (4.5 mmol) DMAP 和 35 mL 无水二氯甲烷, 冷却至 0 °C, 在氮气保护下加入 0.38 g (1.98 mmol) EDCI·HCl. 搅拌反应 30 min 后升至室温, 继续搅拌反应 24 h. 然后依次用 50 mL 2.0 mol/L 盐酸、50 mL 饱和碳酸氢钠溶液、50 mL 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥. 减压蒸去溶剂, 残留物用二氯甲烷-乙酸乙酯重结晶得到化合物 **7a** (0.55 g, 1.36 mmol), 白色固体, 产率 76%. m.p. 157~159 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 7.84 (d, *J*=7.9 Hz, 1H, ArH), 7.47 (s, 1H, ArH), 6.91 (d, *J*=7.9 Hz, 1H, ArH), 6.67 (s, 1H, NH), 6.55 (s, 2H, ArH), 4.71 (s, 2H, CH₂), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 6H, 2×OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ: 192.2 (C=O), 170.7 (C=O), 153.8, 153.2, 148.9, 136.9, 130.1, 127.2, 122.3, 110.1, 109.5, 106.1 (Ar), 60.6 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 45.8 (CH₂), 43.5 (CH₂); MS (ESI) *m/z*: 426.23 [M+Na]⁺.

用合成化合物 **7a** 类似的方法, 从 3.0 g (11.3 mmol) 化合物 **6b**, 2.83 g (12.5 mmol) 3,4,5-三甲氧基苯乙酸反应得到的粗产物经 EZ Purifier 中压制备色谱仪纯化(流动相为乙酸乙酯), 得到 3.30 g (8.43 mmol) **7b**, 白色固体, 产率 74.5%. m.p. 139~141 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 7.72~7.65 (m, 2H, ArH), 6.99 (t, *J*=8.0 Hz, 1H, ArH), 6.62 (s, 1H, NH), 6.54 (s, 2H, ArH), 4.67 (d, *J*=4.36 Hz, 2H, CH₂), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 6H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.59 (s, 2H, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ: 191.9 (C=O), 171.1 (C=O), 153.4, 152.6, 152.0, 137.0, 130.4, 127.5, 125.3, 115.3, 112.5, 106.3 (Ar), 60.7 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 56.1 (OCH₃), 46.0 (CH₂), 43.6 (CH₂); MS (ESI) *m/z*: 390.33 [M-H]⁻.

3.2.3 3-(3,4-二甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2,5-二酮(**1a**)和 3-(3-氟-4-甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2,5-二酮(**1b**)的制备

将 0.55 g (1.36 mmol) 化合物 **7a** 和 0.3 g (2.72 mmol) *t*-BuOK 加入 30 mL 无水 THF 中, 在 35 °C 搅拌反应 2 h. 冷却至室温, 倒入 50 mL 冰水中. 用 2 mol/L 盐酸酸化至中性, 析出橙黄色絮状沉淀, 静置陈化 2 h. 过滤, 石油醚洗涤. 固体用硅胶柱层析[展开剂: *V*(CH₂Cl₂): *V*(EtOH)=40:1]分离得 **1a** 0.30 g (0.75 mmol), 橙色固体, 产率 55.1%. m.p. 185~187 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 7.47 (s, 1H, NH), 7.24 (s, 1H, ArH), 7.04 (s, 1H, ArH), 6.88 (d, *J*=8.2 Hz, 1H, ArH), 6.76 (s, 2H, ArH), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 6H, 2×OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 75

MHz) δ: 171.0 (C=O), 153.0, 150.4, 148.4, 139.2, 135.8, 134.7, 123.9, 123.7, 120.8, 112.5, 110.8, 107.0 (Ar, C=C), 60.7 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.6 (OCH₃); MS (ESI) *m/z*: 422.23 [M+Na]⁺. Anal. calcd for C₂₁H₂₁NO₇: C 63.15, H 5.30, N 3.51; found C 63.02, H 5.03, N 3.30.

用合成化合物 **1a** 类似的方法, 从 1.0 g (2.55 mmol) 化合物 **7b** 和 0.57 g (5.1 mmol) *t*-BuOK 合成得到的粗产物用硅胶柱层析[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=1:1]分离得 **1b** 0.62 g (1.6 mmol), 橙黄色固体, 产率 62.7%. m.p. 218~221 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 11.2 (s, 1H, NH), 7.20~7.31 (m, 3H, ArH), 6.71 (s, 2H, ArH), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.61 (s, 6H, 2×OCH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ: 171.9 (C=O), 153.2, 151.3, 148.6, 139.2, 136.0, 135.0, 127.3, 124.4, 121.8, 117.5, 114.1, 107.7 (Ar, C=C), 60.6 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 56.3 (OCH₃); MS (ESI) *m/z*: 386.23 [M-H]⁻. Anal. calcd for C₂₀H₁₈FNO₆: C 62.01, H 4.68, N 3.62; found C 61.85, H 4.57, N 3.38.

3.2.4 3-(3,4-二甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2(5*H*)-酮(**2a**)和 3-(3-氟-4-甲氧基苯基)-4-(3,4,5-三甲氧基苯基)-1*H*-吡咯-2(5*H*)-酮(**2b**)的制备

将 30 mL 无水 THF 加入反应瓶中, 通氮气 10 min. 排除溶剂中的空气. 然后在氮气保护下加入 0.30 g (0.74 mmol) 化合物 **7a** 和 0.17 g (1.5 mmol) *t*-BuOK. 在 35 °C 搅拌反应 2 h. 冷却至室温后, 在氮气保护下滴加 2 mol/L 盐酸至中性, 反应液转变为橙色. 用二氯甲烷萃取(2×20 mL, 饱和食盐水(50 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸去溶剂, 残留物用硅胶柱层析[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油醚)=4:1]得 **2a** 0.25 g (0.65 mmol), 橙色固体, 产率 87.8%. m.p. 183~185 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 8.38 (s, 1H, NH), 6.95 (s, 1H, ArH), 6.94 (s, 1H, ArH), 6.87 (s, 1H, ArH), 6.56 (s, 2H, ArH), 4.33 (s, 2H, CH₂), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.64 (s, 6H, 2×OCH₃), 3.49 (s, 3H, OCH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ: 172.6 (C=O), 152.7, 149.8, 149.5, 153.0, 148.2, 137.1, 130.3, 128.4, 125.4, 120.4, 111.5, 111.1, 106.8 (Ar, C=C), 60.0 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 55.4 (OCH₃), 54.9 (OCH₃), 47.2 (CH₂); MS (ESI) *m/z*: 386.23 [M+H]⁺. Anal. calcd for C₂₁H₂₃NO₆: C 65.44, H 6.02, N 3.63; found C 65.20, H 5.82, N 3.35.

用合成化合物 **2a** 类似的方法, 从 0.50 g (1.28 mmol) 化合物 **7b** 和 0.29 g (2.6 mmol) *t*-BuOK 合成得到的粗产物用硅胶柱层析[展开剂: *V*(乙酸乙酯): *V*(石油

醚)=4:1]得化合物 **2b** 0.37 g (1.0 mmol), 橙色固体, 产率 78.1%. m.p. 195~198 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ : (s, 1H, NH), 7.13~7.23 (m, 3H, ArH), 6.58 (s, 2H, ArH), 4.30 (s, 2H, CH₂), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.64 (s, 6H, 2×OCH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ : 172.9 (C=O), 153.3, 151.6, 149.0, 148.2, 137.8, 131.5, 128.2, 126.3, 124.9, 115.4, 114.2, 107.2 (Ar, C=C), 60.5 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 47.8 (CH₂); MS (ESI) *m/z*: 372.25 [M-H]⁺. Anal. calcd for C₂₀H₂₀FN₅: C 64.34, H 5.40, N 3.75; found C 64.12, H 5.25, N 3.48.

3.2.5 对人癌细胞体外增殖的抑制实验测定

人白血病细胞 HL-60、人肝癌细胞 SMMC-7721 和人肺腺癌细胞 A549 细胞系购于 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD), 在 37 °C 并含有 5% CO₂ 的潮湿空气中, 前者培养于 DMEM (Life Technologies Inc., Grand Island, NY) 培养基, 后两者培养于 RPMI 1640 (Gibco, Scotland, UK) 培养基 (含有青霉素 (100 U/mL), 链霉素 (100 μg/mL) 和 10% 胎牛血清). 胞在不同的化合物存在下, 用 96 孔板培养 72 h. 细胞存活率由改进的 MTT 实验获得^[18]. 吸光率数据由 ELISA reader (Tecan, Austria) 在 540 nm 下读取. 相对细胞存活率用未与化合物作用的细胞作为参比, 定为 100%.

References

- [1] (a) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Niven, M. L.; Hamel, E.; Schmidt, J. M. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 119.
(b) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K.; Schmidt, J. M.; Hogan, F. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1666.
(c) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Schmidt, J. M.; Niven, M. L.; Hamel, E.; Lin, C. M. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 517.
- [2] (a) Tozer, G. M.; Kanthou, C.; Baguley, B. C. *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 423.
(b) Gaya, A. M.; Rustin, G. J. S. *Clin. Oncol.* **2005**, *17*, 277.
- [3] (a) Pettit, G. R.; Temple, C., Jr.; Narayanan, V. L.; Varma, R.; Simpson, M. J.; Boyd, M. R.; Renner, G. A.; Bansal, N. *Anticancer Drug Res.* **1995**, *10*, 299.
(b) McGown, A. T.; Fox, B. W. *Cancer Chem. Pharmacol.* **1990**, *26*, 79.
(c) Dark, G. G.; Hill, S. A.; Prise, V. E.; Tozer, G. M.; Pettit, G. R.; Chaplin, D. J. *Cancer Res.* **1997**, *57*, 1829.
(d) Liekens, S.; De Clercq, E.; Neyts, J. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, *61*, 253.
- [4] (a) Thorpe, P. E.; Chaplin, D. J.; Blakey, D. C. *Cancer Res.* **2003**, *1144*.
(b) Siemann, D. W.; Chaplin, D. J.; Walicke, P. A. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2009**, *18*, 189.
- [5] (a) Pettit, G. R.; Rhodes, M. R.; Herald, D. L.; Chaplin, D. J.; Stratford, M. R. L.; Hamel, E.; Pettit, R. K.; Chapuis, J.-C.; Oliva, D. *Anti-Cancer Drug Res.* **1998**, *13*, 981.
(b) Kim, Y.; Nam, N.-H.; You, Y.-J.; Ahn, B. Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 719.
- [6] (a) Wang, L.; Woods, K. W.; Li, Q.; Barr, K. J.; McCroskey, R. W.; Hannick, S. M.; Gherke, L.; Credo, R. B.; Hui, Y.-H.; Marsh, K.; Warner, R.; Lee, J. Y.; Zielinsky-Mozng, N.; Frost, D.; Rosenberg, S. H.; Sham, H. L. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1697.
(b) Li, W.-T.; Hwang, D.-R.; Song, J.-S.; Chen, C.-P.; Chuu, J.-J.; Hu, C.-B.; Lin, H.-L.; Huang, C.-L.; Huang, C.-Y.; Tseng, H.-Y.; Lin, C.-C.; Chen, T.-W.; Lin, C.-H.; Wang, H.-S.; Shen, C.-C.; Chang, C.-M.; Chao, Y.-S.; Chen, C.-T. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2409.
(c) Schobert, R.; Biersack, B.; Dietrich, A.; Effenberger, K.; Knauer, S.; Mueller, T. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6595.
- [7] (a) Simoni, D.; Grisolia, G.; Giannini, G.; Roberti, M.; Rondanin, R.; Piccagli, L.; Baruchello, R.; Rossi, M.; Romagnoli, R.; Invidiata, F. P.; Grimaudo, S.; Jung, M. K.; Hamel, E.; Gebbia, N.; Crosta, L.; Abbadessa, V.; Di Cristina, A.; Dusanochet, L.; Meli, M.; Tolomeo, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 723.
(b) Sun, C. M.; Lin, L. G.; Yu, H. J.; Cheng, C. Y.; Tsai, Y. C.; Chu, C. W.; Din, Y. H.; Chau, Y. P.; Don, M. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1078.
- [8] Ohsumi, K.; Hatanaka, T.; Fujita, K.; Nakagawa, R.; Fukuda, Y.; Nihei, Y.; Suga, Y.; Morinaga, Y.; Akiyama, Y.; Tsuji, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3153.
- [9] LeBlanc, R.; Dickson, J.; Brown, T.; Steward, M.; Pati, H. N.; VanDerveer, D.; Arman, H.; Harris, J.; Pennington, W.; Holt, H. L., Jr.; Lee, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6025.
- [10] (a) Zhang, Q.; Peng, Y. Y.; Wang, X. I.; Keenan, S. M.; Arora, S.; Welsh, W. J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 749.
(b) Romeo, R.; Pier, G. B.; Olga, C. L. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4248.
- [11] Lee, L.; Robb, L. M.; Lee, M.; Davis, R.; Mackay, H.; Chavda, S.; Babu, B. O'Brien, E. L.; Risinger, A. L.; Mooberry, S. L.; Lee, M. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 325.
- [12] (a) Niamh, M. O.; Lisa, M. G.; Oral, B.; Jean-B. F.; Thomas, M.; David, G. L.; Daniela, M. Z.; Mary, J. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2306.
(b) Niamh, M. O. B.; Miriam, C.; Lisa, M. G.; Orla, B.; Seema, M. N.; Thomas, M.; Dabvid, G. L.; Daniela, M. Z.; Mary, J. M. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8569.
- [13] Peifer, C.; Stoiber, T.; Unger, E.; Totzke, F.; Schachtele, C.; Marme, D.; Brenk, R.; Klebe, G.; Schollmeyer, D.; Dannhardt, G. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1271.
- [14] Pal, M.; Swamy, N. K.; Hameed, P. S.; Padakanti, S.; Yelleswarapu, K. R. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 3987.
- [15] Gibson, M. S.; Bradshaw, R. W. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1968**, *7*, 919.
- [16] Song, W.; Lu, X.-F.; Lu, G.-Y. *Chem. J. Chin. Univ.* **2006**, *27*, 460 (in Chinese).
(宋伟, 陆晓峰, 陆国元, 高等学校化学学报, **2006**, *27*, 460.)
- [17] Isabel, M.; Imanol, T.; Esther, D.; Raul, S. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *13*, 2126.
- [18] Sargent, J. M.; Taylor, C. G. *Br. J. Cancer* **1989**, *60*, 206.

(Li, L.; Fan, Y.)