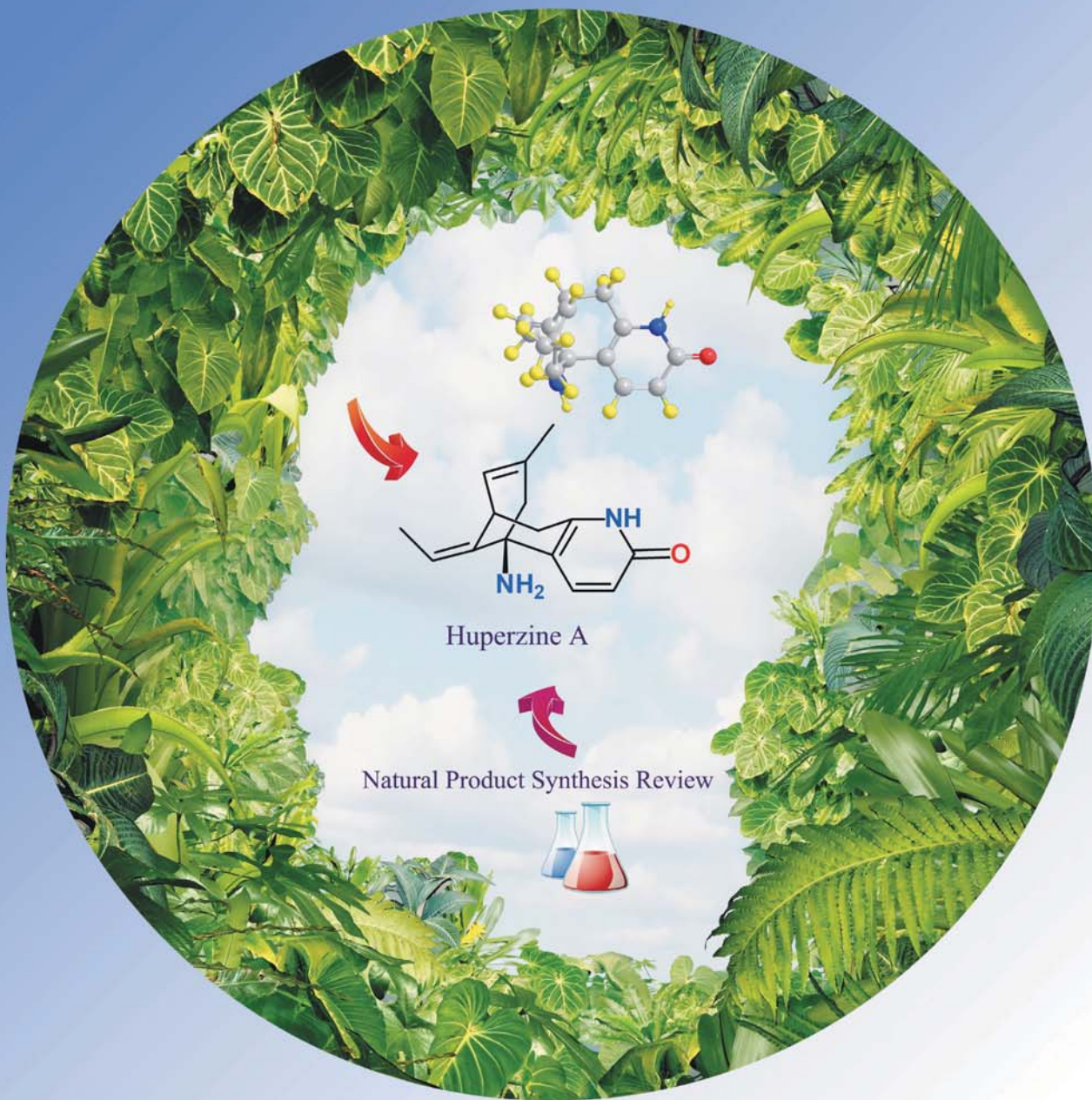


有机化学

Youji Huaxue

Chinese Journal of Organic Chemistry

第33卷 第11期 Vol. 33 No. 11 2013



ISSN 0253-2786



11>

9 770253 278136



中国化学会主办
中国科学院上海有机化学研究所

Born to find out



Anton Paar

安东帕(中国)有限公司

电话: 021-6485 5000

传真: 021-6485 5668

Email: Info.cn@anton-paar.com

www.anton-paar.com.cn

安东帕创新分析测试解决方案

创新赢得喝彩

分析成就未来



单模微波反应器
Monowave 300+ MAS 24

- 最高微波反应条件: 300°C@30bar
- 特殊的碳化硅反应管可用于微波机理研究
- 实际反应温度和红外温度可同时监控
- 叠加式自动进样 - 节省实验室空间

新药研发、金属催化、固相合成及纳米材料合成等合成反应的方法开发 (mg to g)



高性能多模微波反应系统
Multiwave PRO

- 可靠的温度和压力传感器 - 最佳反应控制
- 最高微波反应条件 (300°C和 80bar) - 拓展了微波合成的应用范围
- 专业的充气装置 - 轻松实现惰性气体保护
- 模块化扩展功能 - 同一主机适用所有类型转子

新药研发、生物医学科学、纳米材料研究、法医鉴定学等合成的放大反应 (g to ≤ 100g)



公斤级微波反应器
Masterwave BTR

- 最高微波反应条件: 250°C@30bar
- 无可比拟的生产力: 公斤级产量
- 磁力驱动桨式搅拌装置可自动调整搅拌速度
- 独特冷却安全系统保证公斤级反应安全

新药研发、有机杂环合成、金属催化、固相合成及纳米材料合成等合成反应的公斤级放大 (50-300 g)

作为全球高品质测量和分析仪器的领导厂商, 安东帕公司的微波消解与合成设备、旋光仪、折光仪、密度计、粘度测量仪、流变仪、固体表面 Zeta 电位分析仪、SAXSess 小角 X 光散射仪、闪点测量仪等产品已广泛应用于制药、药检、石油、化工、商检、质检、啤酒饮料等诸多领域和研究机构, 并且已作为许多国家行业标准及计量校正仪器。

新型 1,4-双哌嗪二硫代甲酸[1-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯类化合物的设计、合成和抗肿瘤活性研究

王盟盟 段迎超 叶先炜 任景丽 余斌
张恩 刘宏民*
(郑州大学药学院 郑州 450001)

摘要 为了寻找新型抗肿瘤活性优良的先导化合物,我们以哌嗪、二硫化碳和溴丙炔为原料一锅得哌嗪基二硫代甲酸酯双炔化合物 **1**,再利用“点击化学”合成了未见文献报道的含有 1,2,3-三唑和哌嗪二硫代甲酸酯结构单元的 1,4-双哌嗪二硫代甲酸[1-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯类化合物 **3a~3o**。所有化合物结构经 ^1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 进行了确证。利用噻唑蓝(MTT)法测试了目标化合物对 EC-9706, MGC-803, SMMC-7721 和 MCF-7 的体外抗肿瘤活性,部分化合物表现出了较好的抗肿瘤活性,其中化合物 **3a** 对 MGC-803 的抗肿瘤活性与阳性对照氟尿嘧啶相当,对 SMMC-7721 的抗肿瘤活性优于阳性对照氟尿嘧啶, IC_{50} 分别为 11.15 和 14.75 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词 1,2,3-三唑; 二硫代甲酸酯; 点击化学; 抗肿瘤活性

Design, Synthesis and Antitumor Study of Novel 1,4-Bispiperazine-carbodithioic Acid [1-Substituted-(1,2,3-triazole)-4]-methyl Esters

Wang, Mengmeng Duan, Yingchao Ye, Xianwei Ren, Jingli
Yu, Bin Zhang, En Liu, Hongmin*
(School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

Abstract In order to find novel lead compounds with promising antitumor activity, a series of novel 1,4-bispiperazine-carbodithioic acid [1-substituted-(1,2,3-triazole)-4]-methyl esters were designed and synthesized. Commercially available piperazine reacting with CS_2 and propargyl bromide in the presence of $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ in one pot gave compound **1**, which was further reacted with appropriately substituted azide derivatives by click reaction to afford desired target compounds **3a~3o**. The structures were characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HRMS. The compounds were evaluated for antitumor activity against four selected human tumor cell lines of EC-9706, MGC-803, SMMC-7721 and MCF-7. Several compounds exhibited moderate to potent activity. Particularly, compound **3a** was more potent than 5-fluorouracil against MGC-803 and SMMC-7721 with IC_{50} values of 11.15 and 14.75 $\mu\text{mol/L}$.

Keywords 1,2,3-triazole; dithiocarbamate; click chemistry; antitumor activity

1,2,3-三唑是一类重要的五元杂环化合物,具有较大的偶极矩和氢键结合能力,易于与生物分子靶标相结合^[1],同时在代谢转化、氧化还原及酸碱条件下很稳定,表现出高度的芳香性^[2,3]。这种结构特性使其表现出多种生物活性,例如抗菌^[4]、抗炎^[5]、抗过敏^[6]、抗结核^[7]、抗 HIV^[8]等生物活性。利用点击化学简便高效地合成

1,2,3-三唑类化合物^[9~12]及其相关应用^[13]成为近年来国内外的研究热点。同时,1,2,3-三唑在抗肿瘤药物先导化合物发现中的应用也受到越来越多的关注^[14~18],多个研究小组将 1,2,3-三唑和其他药效团进行拼合,得到了一些具有潜在抗肿瘤活性的化合物。如 Miller 等^[19]将 1,2,3-三唑和芳酰胺结合,发现了一类新型具有优异抗

* E-mail: liuhm@zzu.edu.cn

Received June 21, 2013; revised July 7, 2013; published online July 11, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81172937, U1204206), the New Teachers' Fund for Doctor Stations, Ministry of Education (No. 20114101120013) and the National Science Foundation for Post-doctoral Scientists of China (Nos. 20100480857, 201104402).

国家自然科学基金(Nos. 81172937, U1204206)、教育部博士点新教师基金(No. 20114101120013)和中国博士后科学基金(Nos. 20100480857, 201104402)资助项目。

肿瘤活性的化合物; Kumar 等^[20]将 1,2,3-三唑引入到 β -内酰胺-查尔酮中, 得到了一系列抗肿瘤活性优秀的化合物.

另外, 由于氨基二硫代甲酸酯衍生物具有抗真菌^[21]、抗细菌^[22]、碳酸酐酶抑制剂^[23]、抗肿瘤^[24]等生物活性, 其衍生物的设计合成和活性评价也得到了深入研究, 并从中筛选得到大量具有优异抗肿瘤活性的化合物. 如李润涛等^[25,26]合成了一系列对人白血病细胞和肝癌细胞有优异抑制作用的哌嗪二硫代甲酸酯类化合物, 并分析了其构效关系; 李学强等^[27]合成并报道了一系列具有人肝癌细胞抑制活性的 18 β -甘草次酸氨基二硫代甲酸酯酰胺衍生物; 曹胜利等^[28]合成了一系列对人宫颈癌、肺癌、乳腺癌等肿瘤细胞有较好抑制作用的含喹啉酮结构的氨基二硫代甲酸酯类化合物; 钱勇等^[29]设计并合成了一系列含有查尔酮结构的氨基二硫代甲酸酯类化合物, 从中得到了体外抗肿瘤活性强和对微血管抑制作用较好的化合物; 在前期工作中, 我们课题组^[30,31]合成并报道了一类新型的含丁烯酸内酯的氨基二硫代甲酸酯化合物, 部分化合物表现出较好的抗癌活性.

为了寻找新型抗肿瘤活性良好的化合物, 我们课题组^[32,33]利用药物设计中的拼合原理, 以“点击化学”作为关键步骤合成并报道了 1,2,3-三唑氨基二硫代甲酸酯复合物(图 1), 其中取代基 R = *o*-F 时对 MGC-803 的 IC₅₀ 值为 0.73 μ mol/L. 同时, 从丰富此类化合物抗肿瘤活性的构效关系出发, 我们合成了一系列 1,4-双哌嗪二硫代甲酸[1-取代(1,2,3-三唑)-4-]甲酯类化合物 **3a~3o**, 并对它们的抗肿瘤活性进行了初步评价.

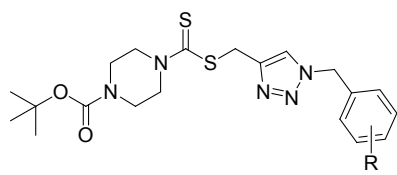
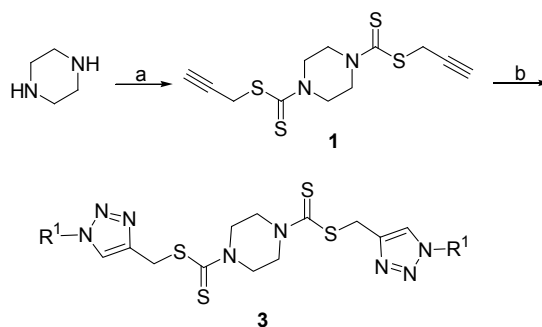


图 1 1,2,3-三唑-氨基二硫代甲酸酯复合物结构

Figure 1 Structure of 1,2,3-triazole-dithiocarbamate hybrids

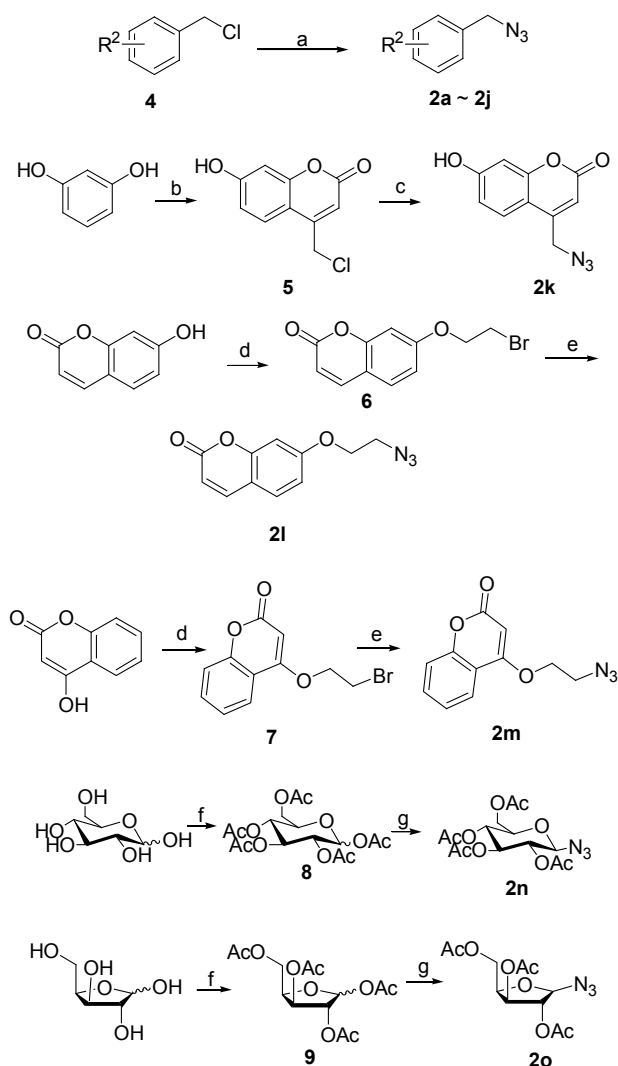
1 结果与讨论

在设计合成该类化合物时, 我们将哌嗪、二硫化碳和溴丙炔一锅反应得到未见报道的哌嗪基二硫代甲酸酯双炔化合物 **1**, 它分别与多种有机叠氮 **2a~2o** 进行点击反应, 得到含有 1,2,3-三唑和哌嗪二硫代甲酸酯结构单元的目标化合物 **3a~3o** (Scheme 1). 有机叠氮 **2a~2o** 的合成路线见 Scheme 2.



Reagents and conditions: (a) CS₂, Na₃PO₄·12H₂O, propargyl bromide, acetone, r.t.; (b) **2**, CuSO₄·5H₂O, sodium ascorbate, THF/H₂O, r.t.

Scheme 1



Reagents and conditions: (a) Acetone/H₂O (V : V = 4 : 1), NaN₃, r.t.; (b) Con. H₂SO₄, 0 °C; (c) NaN₃, CH₃CN, reflux; (d) 1,2-dibromoethane, K₂CO₃, CH₃CN, reflux; (e) NaN₃, Acetone/H₂O (V : V = 4 : 1), reflux; (f) NaOAc, Ac₂O; (g) SnCl₄, TMSN₃, CH₂Cl₂

Scheme 2

1.1 反应条件的选择

将哌嗪基二硫代甲酸酯双炔化合物 **1** 和多种有机叠氮在点击化学的条件下进行反应, 以此将 1,2,3-三唑和哌嗪二硫代甲酸酯两个活性片段拼合在一个分子之中. 我们以四氢呋喃和水 1:1(体积比)的混合溶剂为反应溶剂, 以硫酸铜/抗坏血酸钠为催化剂, 生成的产物在体系中的溶解度小, 随反应进行, 产物以固体析出, 处理简便、产物易得、产率高. 所合成的化合物均为新化合物, 目标化合物结构均经 ^1H NMR, ^{13}C NMR 和 HRMS 确证.

1.2 谱图解析

以目标化合物 **3d** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据为例进行说明. ^1H NMR 中化学位移在 δ 8.15 处的单峰为 1,2,3-三唑环上 5-位碳原子上 H 的质子信号峰; δ 7.35~7.30 处的多重峰为苯环上 H 的质子信号峰; δ 5.56 处的单峰为与三唑环相连的苄位上 H 的质子信号峰; δ 4.58 处的单峰为与三唑环相连的二硫代甲酸酯上 H 的质子信号峰; δ 4.31 和 4.05 处的宽峰均为哌嗪环上 H 的质子信号峰; ^{13}C NMR 中 δ 194.89 处的峰为 C=S 上碳原子的吸收峰; δ 136.43~128.48 出现的峰为苯环上碳原

子的吸收峰; δ 53.31 处的峰为与三唑环 1-位相连的亚甲基上碳原子的吸收峰; δ 31.81 处的峰为三唑环 4-位和二硫代甲酸酯相连的亚甲基上碳原子的吸收峰; 这些峰证实了 1,2,3-三唑和哌嗪二硫代甲酸酯的共同存在, 也证实了化合物的形成. 同时 HRMS 也证实了化合物的结构.

1.3 抗肿瘤活性

我们采用 MTT 法测试了化合物对 EC-9706(人类食管癌细胞)、MGC-803(人类胃癌细胞)、SMMC-7721(人类肝癌细胞)、MCF-7(人类乳腺癌细胞)的体外抗肿瘤活性, 以抗肿瘤药物氟尿嘧啶(5-Fu) 为阳性对照. 活性评价结果显示, 多数化合物对肿瘤细胞有一定的增殖抑制活性, 且伴随着取代基的不同而改变. 取代基 R^1 为苯环的衍生物时, 化合物对 4 种细胞的抑制活性普遍存在, 其中化合物 **3a**, **3d** 和 **3e** 对 4 种细胞均具有较好的抑制活性, 且化合物 **3a** 对 MGC-803 的抑制活性最好, 达到 11.15 $\mu\text{mol/L}$, 对 SMMC-7721 的抑制活性优于阳性对照, 达到 14.75 $\mu\text{mol/L}$. 取代基 R^1 为香豆素环和糖环的衍生物时, 化合物则失去抑制活性.

表 1 目标化合物对 EC-9706, MGC-803, SMMC-7721 和 MCF-7 的 IC_{50} 值($\mu\text{mol/L}$)
Table 1 IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$) values of target compounds against EC-9706, MGC-803, SMMC-7721 and MCF-7

Compd.	R^1	EC-9706	MGC-803	SMMC-7721	MCF-7
3a		29.07 $\pm$ 2.82	11.15 $\pm$ 1.66	14.75 $\pm$ 1.89	42.41 $\pm$ 2.56
3b		70.42 $\pm$ 2.03	86.77 $\pm$ 1.76	28.19 $\pm$ 1.86	>128
3c		>128	76.32 $\pm$ 1.37	>128	49.62 $\pm$ 2.43
3d		17.53 $\pm$ 2.30	16.40 $\pm$ 2.60	25.75 $\pm$ 1.89	36.90 $\pm$ 2.29
3e		20.31 $\pm$ 1.72	14.26 $\pm$ 2.07	22.92 $\pm$ 2.22	56.21 $\pm$ 2.71
3f		97.22 $\pm$ 2.10	86.90 $\pm$ 2.35	65.30 $\pm$ 1.44	>128
3g		29.88 $\pm$ 1.98	84.32 $\pm$ 1.82	>128	77.66 $\pm$ 2.38
3h		68.24 $\pm$ 2.73	>128	>128	>128

续表

Compd.	R ¹	EC-9706	MGC-803	SMMC-7721	MCF-7
3i		47.84±2.80	> 128	15.59±1.67	> 128
3j		> 128	87.92±2.41	> 128	> 128
3k		> 128	72.33±1.55	> 128	> 128
3l		> 128	92.34±2.37	> 128	88.31±2.16
3m		> 128	89.54±2.13	> 128	> 128
3n		> 128	> 128	> 128	> 128
3o		> 128	> 128	> 128	> 128
5-Fu	—	7.01±1.34	7.54±0.7	27.07±4.21	3.34±0.86

2 结论

我们通过点击化学和拼合原理设计合成了一系列 1,4-双哌嗪二硫代甲酸[1-取代(1,2,3-三唑)-4-]甲酯类化合物, 具有反应快速、后处理简单和产率高的优点. 该系列化合物的抗肿瘤活性结果表明: 多数苯环取代的化合物普遍具有抗肿瘤活性, 尤其是化合物 **3a**, **3d** 和 **3e** 有良好的抑制活性, 具有研究的价值. 目前进一步的结构优化和构效关系的深入研究正在进行.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

X-5 型精密显微熔点测定仪(北京福凯仪器有限公司, 未经校正). INOVA-400 NMR 型核磁共振仪(DMSO-*d*₆ 或 CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标). 酶标仪(TECAN 上海麦莎生物科技有限公司). 柱层析硅胶(200~300 目)购自青岛海洋化工. TLC 硅胶购自烟台化学研究所. 所用试剂均为市售分析纯或化学纯, 未进一步纯化.

3.2 实验方法

3.2.1 哌嗪基二硫代甲酸酯双炔化合物 **1** 的合成

将二硫化碳(1.67 g, 22 mmol)逐滴加入到哌嗪(1.86 g, 10 mmol)和 Na₃PO₄·12H₂O (3.18 g, 6 mmol)的丙酮溶液中, 室温搅拌 30 min, 加入溴丙炔(2.88 g, 22 mmol), 继续室温搅拌反应, TLC 跟踪监测. 反应结束后, 抽滤, 滤液减压浓缩, 浓缩物用乙酸乙酯(15 mL×3)萃取, 然后用水、饱和食盐水洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 浓缩物经柱层析得化合物 **1**[洗脱剂为 *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:1], 淡黄色固体, 产率 81%. m.p. 239~240 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 4.34~4.22 (m, 6H), 4.14 (d, *J*=2.7 Hz, 6H), 2.29 (t, *J*=2.7 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 195.65, 77.94, 71.99, 26.10; HRMS calcd for C₁₂H₁₅N₂S₄ [M+H]⁺: 315.0118, found 315.0116.

3.2.2 叠氮化合物 **2** 的合成

化合物 **2a**~**2j** 的合成: 将化合物 **4** (5 mmol)用丙酮 20 mL 溶解, 搅拌下加入叠氮化钠(7.5 mmol)的水溶液 5

mL, 室温搅拌反应, TLC 监测反应进程. 反应结束后, 体系减压浓缩, 浓缩物用乙酸乙酯(10 mL×3)萃取, 然后用水、饱和食盐水洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 即得无色油状化合物 **2a~2j**.

化合物 **2k** 的合成: 参照文献[34]方法合成化合物 **5**, 将 **5** (1.05 g, 5 mmol) 用乙腈 30 mL 溶解, 加入叠氮化钠 (0.98 g, 15 mmol), 加热回流反应, TLC 监测反应进程. 反应结束后, 体系减压浓缩, 浓缩物用乙酸乙酯(15 mL×3)萃取, 然后用水、饱和食盐水洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 即得淡黄色固体 **2k**.

化合物 **2l** 的合成: 将 7-羟基香豆素(1.62 g, 10 mmol) 用乙腈 20 mL 溶解, 搅拌下加入 K_2CO_3 (8.29 g, 60 mmol) 和 1,2-二溴乙烷(5.63 g, 30 mmol), 加热回流反应, TLC 监测反应进程. 反应结束后, 体系过滤, 滤液减压浓缩, 浓缩物用二氯甲烷(15 mL×3)萃取, 然后用水、饱和食盐水洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 即得化合物 **6**. 将 **6** (2.69 g, 10 mmol) 用丙酮 20 mL 溶解, 搅拌下加入叠氮化钠(0.98 g, 15 mmol) 的水溶液 5 mL, 加热回流反应, TLC 监测反应进程. 反应结束后, 体系减压浓缩, 浓缩物用乙酸乙酯萃取, 然后用水、饱和食盐水洗涤, 有机相无水硫酸钠干燥, 过滤, 滤液减压浓缩, 即得白色固体化合物 **2l**.

按照化合物 **2l** 的合成方法, 同法可得白色固体化合物 **2m**.

化合物 **2n** 的合成: 参照文献[35]方法即可得白色固体化合物 **2n**.

按照化合物 **2n** 的合成方法, 同法可得 **2o**.

3.2.3 1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯类化合物 **3a~3o** 的合成

将化合物 **1** (0.31 g, 1 mmol) 和化合物 **2** (2.2 mmol) 用 1:1 (*V:V*) 的四氢呋喃和水的混合溶剂溶解, 加入五水硫酸铜(25 mg, 0.1 mmol) 和抗坏血酸钠(40 mg, 0.2 mmol), 室温反应, TLC 监测反应进程. 随反应进行, 体系中有固体析出, 反应结束后, 体系直接抽滤, 所得固体即为产物 **3a~3o**.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2'-氟苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3a**): 淡黄色固体, 产率 82%. m.p. 189~190 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.12 (s, 2H), 7.45~7.21 (m, 8H), 5.64 (s, 4H), 4.59 (s, 4H), 4.32 (br, 4H), 4.06 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.94, 161.78, 159.33, 142.62, 131.27, 131.24, 131.20, 125.33, 125.30, 124.47, 123.32, 123.17, 116.20, 116.00, 47.36, 47.32, 31.77; HRMS (ESI) calcd for $C_{26}H_{27}F_2N_8S_4$ [$M+H$] $^+$: 617.1210, found 617.1214.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(4'-氟苄基)-取代(1,2,3-三

唑)-4]-甲酯(**3b**): 棕色固体, 产率 74%. m.p. 139~140 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.20 (s, 2H), 7.39 (s, 4H), 7.21 (t, $J=8.0$ Hz, 4H), 5.57 (s, 4H), 4.68 (s, 4H), 4.31 (br, 4H), 4.05 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.77, 163.61, 161.18, 132.48, 130.91, 130.83, 116.19, 115.98, 52.68, 31.60; HRMS (ESI) calcd for $C_{26}H_{27}F_2N_8S_4$ [$M+H$] $^+$: 617.1210, found 617.1216.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2',6'-二氟苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3c**): 淡黄色固体, 产率 80%. m.p. 224~225 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.13 (s, 2H), 7.55~7.48 (m, 2H), 7.19 (t, $J=8.0$ Hz, 4H), 5.64 (s, 4H), 4.58 (s, 4H), 4.33 (br, 4H), 4.06 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.90, 162.55, 162.47, 160.07, 159.99, 142.50, 132.32, 132.21, 132.11, 124.51, 112.54, 112.48, 112.35, 112.29, 111.89, 111.70, 111.51, 41.31, 31.69; HRMS (ESI) calcd for $C_{26}H_{24}F_4N_8NaS_4$ [$M+Na$] $^+$: 675.0841, found 675.0843.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-苄基-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3d**): 淡绿色固体, 产率 75%. m.p. 147~148 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.15 (s, 2H), 7.35~7.30 (m, 10H), 5.56 (s, 4H), 4.58 (s, 4H), 4.31 (br, 4H), 4.05 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.89, 136.43, 129.24, 128.64, 128.48, 53.31, 31.81; HRMS (ESI) calcd for $C_{26}H_{29}N_8S_4$ [$M+H$] $^+$: 581.1398, found 581.1396.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2'-氯苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3e**): 淡绿色固体, 产率 84%. m.p. 104~105 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.13 (s, 2H), 7.52 (dd, $J=1.4$, 7.4 Hz, 2H), 7.42~7.35 (m, 4H), 7.22 (dd, $J=1.4$, 7.4 Hz, 2H), 5.68 (s, 4H), 4.60 (s, 4H), 4.32 (br, 4H), 4.06 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.83, 133.64, 133.10, 130.99, 130.77, 130.11, 128.22, 51.13, 31.72; HRMS (ESI) calcd for $C_{26}H_{26}Cl_2NaN_8S_4$ [$M+Na$] $^+$: 671.0438, found 671.0440.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2',6'-二氯苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3f**): 淡绿色固体, 产率 85%. m.p. 160~161 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.20 (s, 2H), 7.65 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J=1.7$ Hz, 2H), 7.30 (dd, $J=1.7$, 8.3 Hz, 2H), 5.59 (s, 4H), 4.59 (s, 4H), 4.32 (br, 4H), 4.06 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.89, 137.41, 131.74, 131.49, 131.43, 130.65, 128.93, 51.88, 31.75; HRMS (ESI) calcd for $C_{26}H_{25}Cl_4N_8S_4$ [$M+H$] $^+$: 716.9839, found 716.9834.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2'-溴苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3g**): 淡黄色固体, 产率 72%. m.p. 135~137 °C; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.11 (s, 2H), 7.69 (d,

$J=7.9$ Hz, 2H), 7.40 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.33~7.29 (m, 2H), 7.15 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 5.64 (s, 4H), 4.58 (s, 4H), 4.32 (br, 4H), 4.06 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.93, 142.56, 135.32, 133.38, 130.90, 128.76, 124.78, 123.34, 53.38, 31.80; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{Br}_2\text{N}_8\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 736.9608, found 736.9609.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(4'-三氟甲基苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3h**): 淡绿色固体, 产率 75%. m.p. 209~210 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.21 (s, 2H), 7.76 (d, $J=8.0$ Hz, 4H), 7.50 (d, $J=8.0$ Hz, 4H), 5.70 (s, 4H), 4.61 (s, 4H), 4.33 (br, 4H), 4.07 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.91, 142.88, 141.10, 129.31, 129.15, 128.99, 126.18, 126.14, 126.10, 125.91, 124.67, 123.20, 52.58, 31.77; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{F}_6\text{N}_8\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 717.1146, found 717.1148.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(4'-甲氧基苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3i**): 淡绿色固体, 产率 70%. m.p. 158~160 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.09 (s, 2H), 7.29 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 6.92 (d, $J=8.4$ Hz, 4H), 5.47 (s, 4H), 4.57 (s, 4H), 4.31 (br, 4H), 4.04 (br, 4H), 3.73 (s, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.92, 159.61, 130.14, 128.35, 114.58, 55.61, 52.83, 31.83; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{NaO}_2\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 663.1429, found 663.1432.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(3',4',5'-三甲氧基苄基)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3j**): 淡黄色固体, 产率 74%. m.p. 157~159 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.16 (s, 2H), 6.69 (s, 4H), 5.46 (s, 4H), 4.58 (s, 4H), 4.31 (br, 4H), 4.04 (br, 4H), 3.74 (s, 12H), 3.63 (s, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.91, 153.45, 142.62, 137.73, 131.82, 124.27, 106.13, 60.44, 56.37, 53.50, 31.78; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{N}_8\text{NaO}_6\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 783.1851, found 783.1857.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(4'-亚甲基-7'-羟基香豆素)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3k**): 淡黄色固体, 产率 77%. m.p. 177~179 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.71 (s, 2H), 8.25 (s, 2H), 7.69 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.83 (dd, $J=2.3$, 8.7 Hz, 2H), 6.77 (d, $J=2.3$ Hz, 2H), 5.88 (s, 4H), 5.54 (s, 2H), 4.63 (s, 4H), 4.33 (br, 4H), 4.08 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.80, 162.11, 160.41, 155.55, 150.99, 126.56, 125.45, 113.65, 109.84, 103.01, 49.64, 31.65; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 749.1093, found 749.1099.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(7'-羟乙基香豆素)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3l**): 淡黄色固体, 产率 77%. m.p.

130~131 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.18 (s, 2H), 7.98 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J=1.9$ Hz, 2H), 6.92 (dd, $J=2.0$, 8.6 Hz, 4H), 6.30 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 4.78 (t, $J=4.7$ Hz, 4H), 4.50 (t, $J=4.7$ Hz, 4H), 4.32 (br, 4H), 4.05 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.86, 161.30, 160.67, 155.72, 144.71, 130.03, 124.97, 113.29, 113.23, 113.20, 101.94, 67.21, 49.32, 31.71; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{NaO}_6\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 799.1225, found 799.1228.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(4'-羟乙基香豆素)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3m**): 淡黄色固体, 产率 76%. m.p. 116~117 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.18 (s, 2H), 7.98 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J=1.9$ Hz, 2H), 6.92 (dd, $J=2.0$, 8.6 Hz, 2H), 6.30 (d, $J=9.5$ Hz, 2H), 4.78 (t, $J=4.7$ Hz, 4H), 4.60 (s, 4H), 4.52 (t, $J=4.7$ Hz, 4H), 4.32 (br, 4H), 4.05 (br, 4H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.88, 164.65, 161.89, 153.16, 133.30, 125.16, 124.64, 123.31, 116.88, 115.35, 91.57, 68.26, 48.89, 31.64; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{NaO}_6\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 799.1225, found 799.1223.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2',3',4',6'-四乙酰基葡萄糖)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3n**): 淡黄色固体, 产率 80%. m.p. 125~126 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.37 (s, 2H), 6.32 (d, $J=9.2$ Hz, 2H), 5.65 (t, $J=9.4$ Hz, 2H), 5.53 (t, $J=9.4$ Hz, 2H), 5.17 (t, $J=9.7$ Hz, 2H), 4.62 (q, $J=14.4$ Hz, 4H), 4.36~4.34 (m, 6H), 4.18~4.05 (m, 8H), 2.03 (s, 6H), 2.00 (s, 6H), 1.96 (s, 6H), 1.79 (s, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.64, 170.51, 170.04, 169.84, 168.95, 123.35, 120.28, 99.99, 84.25, 73.73, 72.61, 70.45, 67.95, 62.30, 31.51, 21.01, 20.87, 20.73, 20.42; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{53}\text{N}_8\text{O}_{18}\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1061.2361, found 1061.2367.

1,4-双呋喃二硫代甲酸[1-(2',3',5'-三乙酰基木糖)-取代(1,2,3-三唑)-4]-甲酯(**3o**): 黄绿色固体, 产率 74%. m.p. 168~169 °C; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 8.35 (s, 2H), 6.18 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 5.62 (t, $J=9.5$ Hz, 2H), 5.47 (t, $J=9.5$ Hz, 2H), 5.12 (m, 2H), 4.60 (q, $J=14.5$ Hz, 4H), 4.33 (br, 6H), 4.08 (dd, $J=5.5$, 10.8 Hz, 8H), 2.02 (s, 6H), 1.99 (s, 6H), 1.79 (s, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 194.67, 172.49, 170.06, 170.04, 168.97, 143.42, 123.22, 85.08, 72.35, 70.63, 68.40, 64.54, 31.49, 21.53, 20.94, 20.81, 20.43; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{NaO}_{14}\text{S}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 939.1758, found 939.1761.

3.3 体外抗肿瘤活性测试

称取 3~5 mg 样品置于 1.5 mL EP 管中, 用 DMSO

配制成 $128 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$ 的溶液, 4°C 保存, 根据实验所需浓度用培养基稀释。取对数生长期的细胞, 消化计数后, 用培养基调整细胞密度, 以 $4000 \sim 5000$ 个 cell/孔接种至 96 孔板, 每孔 $150 \mu\text{L}$, 培养 24 h, 弃去培养基, 加入用培养基稀释好的药物 ($50, 100 \mu\text{g/mL}$), 每个浓度设 6 个复孔, 另设空白对照组和阴性对照组。药物作用 72 h, 每孔加入 $20 \mu\text{L}$ MTT, 继续培养 4 h, 吸去液体, 加入 $150 \mu\text{L}$ 的 DMSO, 振荡均匀, 酶标仪 490 nm 处检测吸光度值, 计算抑制率, 计算公式如下:

$$\text{抑制率} = (1 - \text{给药组吸光度值} / \text{空白组吸光度值}) \times 100\%$$

$50 \mu\text{g/mL}$ 时抑制率大于 50% 的样品, 重新设置浓度进行细筛。即将待测样品以 1, 2, 4, 8, 16, 32, $64 \mu\text{g/mL}$ 浓度加入 96 孔板中, 培养 72 h, 检测。试验结果采用 SPSS 软件计算 IC_{50} 值及相关系数。结果如表 1。

References

- [1] Bock, V. D.; Speijer, D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 971.
- [2] Vatmurge, N. S.; Hazra, B. G.; Pore, V. S.; Shirazi, F.; Chavan, P. S.; Deshpande, M. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2043.
- [3] Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.-C.; Silverman, S. M.; Lindstrom, W.; Olson, A. J.; Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Elder, J. H.; Fokin, V. V. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 1435.
- [4] Aher, N. G.; Pore, V. S.; Mishra, N. N.; Kumar, A.; Shukla, P. K.; Sharma, A.; Bhat, M. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 759.
- [5] Buckle, D. R.; Outred, D. J.; Rockell, C. J. M.; Smith, H.; Spicer, B. A. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 251.
- [6] Patpi, S. R.; Pulipati, L.; Yogeewari, P.; Sriram, D.; Jain, N.; Sridhar, B.; Murthy, R.; T. A. D.; Kalivendi, S. V.; Kantevari, S. J. *Med. Chem.* **2012**, *55*, 3911.
- [7] Wang, X.-L.; Wan, K.; Zhou, C.-H. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4631.
- [8] Whiting, M.; Tripp, J. C.; Lin, Y.-C.; Lindstrom, W.; Olson, A. J.; Elder, J. H.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7697.
- [9] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- [10] Fang, H.-B.; Jin, L.; Huang, N.-Y.; Wang, J.-Z.; Zou, K.; Luo, Z.-G. *Chin. J. Chem.* **2013**, *31*, 831.
- [11] Liu, J.-M.; Liu, M.-W.; Yue, Y.-Y.; Yao, M.-H.; Zhuo, K.-L. *Chin. J. Chem.* **2012**, *30*, 644.
- [12] Maryam, C. H.; Roghayeh, C.; Maryam, B.; Ghaffar, H.; Hamed, T. *Chin. J. Chem.* **2012**, *30*, 223.
- [13] He, W.-Y.; Si, H.-Z.; Luan, F.; Wu, L.-Y.; Zhou, J.-L.; He, M.-X.; Chen, G.-Y. *Acta Chim. Sinica* **2013**, *71*, 837 (in Chinese)
(何文英, 司宏宗, 栾峰, 吴禄勇, 周纪龙, 何明霞, 陈光英, 化学学报, **2013**, *71*, 837.)
- [14] Jin, P.-Y.; Lu, J.-R.; Zhao, C.-Y.; Ju, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1673 (in Chinese).
(金培元, 卢金荣, 赵长琦, 巨勇, 有机化学, **2012**, *32*, 1673.)
- [15] Pagliai, F.; Pirali, T.; Del Grosso, E.; Di Brisco, R.; Tron, G. C.; Sorba, G.; Genazzani, A. A. *J. Med. Chem.* **2005**, *49*, 467.
- [16] Vantikommu, J.; Palle, S.; Surendra Reddy, P.; Ramanatham, V.; Khagga, M.; Pallapothula, V. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5044.
- [17] Yim, C.-B.; Dijkgraaf, I.; Merckx, R.; Versluis, C.; Eek, A.; Mulder, G. E.; Rijkers, D. T. S.; Boerman, O. C.; Liskamp, R. M. J. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3944.
- [18] Li, X.; Lin, Y.; Wang, Q.; Yuan, Y.; Zhang, H.; Qian, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1274.
- [19] Stefely, J. A.; Palchaudhuri, R.; Miller, P. A.; Peterson, R. J.; Moraski, G. C.; Hergenrother, P. J.; Miller, M. J. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3389.
- [20] Singh, P.; Raj, R.; Kumar, V.; Mahajan, M. P.; Bedi, P. M. S.; Kaur, T.; Saxena, A. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *47*, 594.
- [21] Len, C.; Boulogne-Merlot, A.-S.; Postel, D.; Ronco, G.; Villa, P.; Goubert, C.; Jeufrault, E.; Mathon, B.; Simon, H. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2856.
- [22] Imamura, H.; Ohtake, N.; Jona, H.; Shimizu, A.; Moriya, M.; Sato, H.; Sugimoto, Y.; Ikeura, C.; Kiyonaga, H.; Nakano, M.; Nagano, R.; Abe, S.; Yamada, K.; Hashizume, T.; Morishima, H. *Biorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1571.
- [23] Carta, F.; Aggarwal, M.; Maresca, A.; Scozzafava, A.; McKenna, R.; Masini, E.; Supuran, C. T. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1721.
- [24] Huang, W.; Ding, Y.; Miao, Y.; Liu, M.-Z.; Li, Y.; Yang, G.-F. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3687.
- [25] Hou, X.-L.; Ge, Z.-M.; Wang, T.-M.; Guo, W.; Cui, J.-R.; Cheng, T.-M.; Lai, C.-S.; Li, R.-T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4214.
- [26] Hou, X.-L.; Ge, Z.-M.; Wang, T.-M.; Guo, W.; Wu, J.; Cui, J.-R.; Lai, C.-S.; Li, R.-T. *Arch. Pharm.* **2011**, *11*, 320.
- [27] Chen, C.-X.; Li, X.-Q.; Li, T.-C.; Zhou, X.-Z. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 852 (in Chinese)
(陈凑喜, 李学强, 李天才, 周学章, 化学学报, **2012**, *70*, 852.)
- [28] Cao, S.-L.; Wang, Y.; Zhu, L.; Liao, J.; Guo, Y.-W.; Chen, L.-L.; Liu, H.-Q.; Xu, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3850.
- [29] Qian, Y.; Ma, G.-Y.; Yang, Y.; Cheng, K.; Zheng, Q.-Z.; Mao, W.-J.; Shi, L.; Zhao, J.; Zhu, H.-L. *Biorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4310.
- [30] Wang, X.-J.; Xu, H.-W.; Guo, L.-L.; Zheng, J.-X.; Xu, B.; Guo, X.; Zheng, C.-X.; Liu, H.-M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3074.
- [31] Wang, X.-J.; Xu, H.-W.; Guo, L.-L.; Zhang, E.; Chen, G.-W.; Guo, X.; Liu, H.-M. *Heterocycles* **2011**, *83*, 1005.
- [32] Duan, Y.-C.; Ma, Y.-C.; Zhang, E.; Shi, X.-J.; Wang, M.-M.; Ye, X.-W.; Liu, H.-M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *62*, 11.
- [33] Duan, Y.-C.; Zheng, Y.-C.; Li, X.-C.; Wang, M.-M.; Ye, X.-W.; Guan, Y.-Y.; Liu, G.-Z.; Zheng, J.-X.; Liu, H.-M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *64*, 99.
- [34] Lin, W.; Long, L.; Feng, J.; Wang, B.; Guo, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *26*, 4301.
- [35] Badia, C.; Souard, F.; Vicent, C. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 10870.

(Qin, X.)