稠合四环噻嗪烷-4-酮衍生物的合成及其抗肿瘤活性

牛丽萍 邢顺凯 李小六* 陈 华*

(河北大学化学与环境科学学院 河北省化学生物学重点实验室 保定 071002)

摘要 以叔丁氧羰基(Boc)保护的脯氨酸 **1**、氨基酸酯盐酸盐 **2a~2d** 和巯基水杨酸 **3a~3b** 为原料,三组分一锅法得到苯并噻嗪烷-4-酮中间体。酸性条件下脱除 Boc,分子内酰胺缩合制备稠合四环噻嗪烷-4-酮衍生物 **6~11**。新生成手性碳(1-C)的构型通过 H-1 和 H-2 的耦合常数及 X-ray 单晶衍射确定。测试了化合物抗 HeLa 和 A549 的肿瘤细胞增殖活性。结果表明,部分化合物具有中等的抗 HeLa 细胞活性,其中(13aR,13bR)-1,2,3,13b-四氢苯并[e]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-b][1,3]噻嗪-5,8(6H,13aH)-二酮(**6b**)的 IC₅₀ 值为 9.50 μmol/L。所有化合物对 A549 的细胞没有抑制活性。

关键词 稠合衍生物; 噻嗪烷-4-酮; 三组分缩合; 酰胺环缩合; 抗肿瘤活性

Synthesis of the Fused Tetracyclic Thiazinan-4-one Derivatives and Their Anti-tumor Activity

Niu, Liping Xing, Shunkai Li, Xiaoliu* Chen, Hua*

(Key Laboratory of Chemical Biology of Hebei Province, College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002)

Abstract The benzothiazinan-4-one intermediates were prepared by the one-pot three-components condensation from the *N*-Boc-L-proline **1**, amino acid ethyl/methyl ester hydrochlorides **2a~2d**, and mercaptobenzoic acids **3a~3b**. After removal of Boc, the target novel fused tetracyclic thiazinan-4-one derivatives **6~11** were afforded by the intramolecular cyclo-amidation reaction. The absolute configurations of the newly generated chiral carbon (1-C) were determined by the coupling constants of H-1 and H-2 and the X-ray crystallographic structures. The tetracyclic alkaloids were examined for their anti-proliferative activity against HeLa and A549 tumor cells. The results showed that some compounds could moderately inhibit the growth of HeLa cells, and among them, (13aR,13bR)-1,2,3,13b-tetrahydrobenzo[e]pyrrolo[2',1':3,4]pyrazino[2,1-b][1,3]thiazine-5,8(6H,13aH)-dione (**6b**) was the best one with the IC₅₀ value of 9.50 μmol/L. However, all the compounds showed no anti-tumor activity against A549.

Keywords fused heterocyclic derivatives; thiazinan-4-one; three-components condensation; cyclo-amidation; anti-tumor activity

生物碱(alkaloids)是指存在于生物体内的含氮化合物,因其种类繁多、结构迥异,并且具有各种各样的生物活性而备受关注^[1,2]。其中,具有稠合多环结构的生物碱和含氮衍生物,因其独特的结构骨架以及显著的药理活性,一直是有机化学(全合成)及药物化学领域的热点与重点^[3,4]。

噻嗪烷-4-酮(图 1)是一类含 N 和 S 杂原子的六元环内酰胺药效团^[5],其衍生物多具有消炎^[6]、抗菌^[7]、抗结核^[8]、抗惊厥^[9]、抗病毒^[10]和抗帕金森病^[11]等活性。目

图 1 噻嗪烷-4-酮和噻唑烷-4-酮

Figure 1 Thiazinan-4-one and thiazolidin-4-one

前对噻嗪烷-4-酮的研究并不多,而含有噻嗪烷-4-酮结构的稠合多环衍生物更是鲜有报道。合成结构新颖的含氮稠合多环衍生物(生物碱),研究其生物(药理)活性,

* Corresponding authors. E-mail: lixl@hbu.cn; hua-todd@163.com

Received July 24, 2018; revised August 23, 2018; published online October 26, 2018.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21372060) and the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. B2016201031).

国家自然科学基金(No. 21372060)和河北省自然科学基金重点(No. B2016201031)资助项目。

对于以结构多样性为导向的新药研发, 具有重要的意义^[12,13].

在此, 作为本实验室长期从事噻唑烷-4-酮^[14](图 1, 含 N 和 S 杂原子的五元环内酰胺)衍生物的合成及其生物活性研究工作的延续^[9,15~17], 本文以叔丁氧羰基(Boc)保护的脯氨酸、氨基酸酯盐酸盐和巯基水杨酸为起始原料, 经三组分一锅法、脱 Boc 保护基和分子内酰胺缩合三步反应, 合成了系列新型的稠合四环噻唑烷-4-酮衍生物(Scheme 1), 并测试了所合成化合物的抗肿瘤细胞增殖活性.

图式 1 稠合四环噻唑烷-4-酮衍生物的合成

Scheme 1 Synthesis of the fused tetracyclic thiazinan-4-one derivatives

1 结果与讨论

1.1 稠合四环噻唑烷-4-酮衍生物的合成

因与噻唑烷-4-酮结构相似, 噻唑烷-4-酮骨架的构建常通过醛、胺、巯基丙酸三组分一锅法反应合成^[18]. 参照实验室已有的合成方法^[19,20], 以化合物 **6a** 和 **6b** 的合成例, 反应首先是以 *N*-Boc-*L*-脯氨酸(**1**)、甘氨酸甲酯盐酸盐(**2a**)和巯基水杨酸(**3a**)为原料, 并在缩合剂 *N,N'*-二环己基碳酰二亚胺(DCC)和催化剂 4-二甲氨基吡啶(DMAP)的作用下, 微波辐射合成了含噻唑烷-4-酮结构的中间体(**4a** 和 **4b**, 一对非对映异构体, 比例 1:1). 反应的历程是醛和氨基酸形成亚胺, 继而巯基水杨酸对亚胺亲核加成并关环(Scheme 2). 经条件优化, 确定以甲苯(toluene)为溶剂, 碳酸钾(K_2CO_3)为缚酸剂(中和氨基酸酯的盐酸, 以使氨基裸露, 利于反应), 温度为 50 °C, 微波辐射反应, 总收率为 33%. 反应收率不高, 主要是因为醛和巯基水杨酸直接缩合, 生成了相应的内酯副产物(Scheme 2)^[16], 造成醛原料的消耗.

图式 2 中间体 **4a** 和 **4b** 的合成反应机理

Scheme 2 Mechanism of the synthesis of intermediates **4a** and **4b**

继而, 以分离到的纯净化合物 **4a** 为原料, 在酸性条件下, 脱除 Boc 保护基得到化合物 **5a**, 进一步在碱性条件下, 经分子内酰胺关环合成目标的稠合四环噻唑烷-4-酮衍生物 **6a** (Scheme 1). 我们重点探讨了反应溶剂、碱以及反应温度等条件对酰胺关环反应的影响(表 1). 如表 1 所示, 不同溶剂对反应影响较大(Entries 1~3), 二氯甲烷(DCM)为溶剂时, 化合物 **5a** 的溶解及反应效果, 均优于甲醇和乙腈为溶剂, 表明非质子小极性溶剂有利于反应的进行. 因催化剂的碱可有效实现酰胺关环, 以 DCM 为溶剂, 进一步探讨了不同的有机碱催化剂对酰胺关环反应的影响(Entries 4~7). 结果表明, 在加入有机碱后, 反应收率提高较大, 其中三乙烯二胺(DABCO)为催化剂时, 效果最好. 最后, 探讨了不同温度对反应产率的影响(Entries 8~10), 发现反应温度为

表 1 分子内酰胺关环反应合成 **6a**

Table 1 Synthesis of **6a** by intramolecular amidation

Entry	溶剂	碱	温度/°C	产率 ^a /%
1	CH ₃ OH	— ^b	40	9
2	CH ₂ Cl ₂	—	40	13
3	CH ₃ CN	—	40	6
4	CH ₂ Cl ₂	DBN ^c	40	51
5	CH ₂ Cl ₂	DIPEA ^d	40	40
6	CH ₂ Cl ₂	DMAP	40	53
7	CH ₂ Cl ₂	DABCO	40	67
8	CH ₂ Cl ₂	DABCO	30	35
9	CH ₂ Cl ₂	DABCO	50	75
10	CH ₂ Cl ₂	DABCO	60	55

^a Isolated yields, ^b no catalyst, ^c DBN: 1,5-diazabicyclo[4.3.0]-5-nonene,

^d DIPEA: *N,N*-diisopropylethylamine.

50 °C时, 反应收率最高可达 75%.

在上述条件下, 分别以 3-氨基丙酸甲酯盐酸盐(2b)、*D/L*-2-甲基甘氨酸甲酯盐酸盐(2c 和 2d) 和 5-氟巯基水杨酸(3b)等为起始原料, 经三步反应, 合成了系列新型稠合四环噻嗪烷-4-酮衍生物 7~11(图 2). 在后续的合成中, 中间体 4(非对映异构体)不再分离, 均使用其混合物用于合成. 待得到四环化合物后, 经硅胶柱层析分离得到最终的纯净化合物, 简化实验操作.

图 2 稠合四环噻嗪烷-4-酮衍生物

Figure 2 Fused tetracyclic thiazinan-4-one derivatives

1.2 结构确证

化合物 6~11 的结构通过 NMR、HR(ESI)MS 等方法确认. 化合物新生成的手性碳(1-C)的立体构型, 可通过 H-1 和 H-2 的耦合常数大小确定(表 2). 依据 Karplus 方程, H-1 和 H-2 处于顺式时, 其耦合常数较小; 反式时, 耦合常数较大. 由表 2 可知, 7a~11a 内 H-1 和 H-2 的耦合常数较小, 判断其 1-C 的构型为 *S* 构型, 而具有较大耦合常数的 7b~11b 为 *R* 构型. 化合物 10a 和 11b 的 X-ray 单晶衍射结构^[21]进一步确证了上述立体构型的判断(图 3).

表 2 化合物 6~11 中 H-1 和 H-2 的耦合常数

Table 2 Coupling constants of H-1 and H-2 in compounds 6~11(a~b)

Compd.	J/Hz	Compd.	J/Hz
<i>cis</i> -6a (<i>S</i>)	4.2	<i>trans</i> -6b (<i>R</i>)	10.2
<i>cis</i> -7a (<i>S</i>)	1.8	<i>trans</i> -7b (<i>R</i>)	8.4
<i>cis</i> -8a (<i>S</i>)	4.2	<i>trans</i> -8b (<i>R</i>)	10.2
<i>cis</i> -9a (<i>S</i>)	4.2	<i>trans</i> -9b (<i>R</i>)	10.2
<i>cis</i> -10a (<i>S</i>)	4.2	<i>trans</i> -10b (<i>R</i>)	10.2
<i>cis</i> -11a (<i>S</i>)	1.8	<i>trans</i> -11b (<i>R</i>)	8.4

1.3 化合物抗肿瘤活性评价

对所合成化合物 6~11 分别进行了体外抑制人宫颈癌(Hela)和肺癌(A549)细胞活性测试, 顺铂为阳性对照, 结果见表 3. 总体而言, 所测试化合物对 Hela 细胞增殖

图 3 化合物 10a 和 11b 的单晶衍射结构
Figure 3 X-ray crystallographic structures of 10a and 11b

表 3 化合物 6~11 的抗肿瘤活性
Table 3 Antitumor activities of compounds 6~11

Compd.	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	
	Hela	A549
6a	34.16 ± 0.05	> 50
6b	9.50 ± 0.12	> 50
7a	20.27 ± 0.12	> 50
7b	> 50	> 50
8a	49.37 ± 0.21	> 50
8b	> 50	> 50
9a	26.41 ± 0.23	> 50
9b	46.24 ± 0.21	> 50
10a	37.23 ± 0.15	28.31 ± 0.04
10b	17.73 ± 0.04	> 50
11a	28.87 ± 0.10	> 50
11b	29.75 ± 0.08	> 50
顺铂	5.87 ± 0.23	8.20 ± 0.25

具有中等偏弱的抑制活性, 个别化合物 6b 半抑制浓度(IC₅₀)为 9.50 μmol/L; 而化合物对 A549 细胞增殖没有抑制作用, 表现出一定的细胞选择性. 以上活性数据均小于阳性对照顺铂相应的活性. 此外, 新生成手性碳的立体构型对化合物抗肿瘤细胞增殖活性影响不大.

2 结论

以 Boc 保护的脯氨酸、氨基酸酯盐酸盐和巯基水杨酸为起始原料, 经三步反应合成了新型稠合四环噻嗪烷-4-酮衍生物 **6~11**, 三步总收率为 9%~24%。化合物的结构通过 NMR 和 HR(ESI)MS 确定。新生成手性碳(1-C)的构型通过化合物中 H-1 和 H-2 的耦合常数大小以及 **10a** 和 **11b** 的 X-ray 单晶衍射确定。测试了化合物抗 Hela 和 A549 的肿瘤细胞增殖活性。结果表明, 部分化合物具有中等的抗 Hela 细胞活性, 其中 **6b** 的 IC₅₀ 值为 9.50 $\mu\text{mol/L}$, 但所有化合物对 A549 细胞没有抑制活性。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

熔点由 SGW[®] X-4 显微熔点仪(温度计未校正)测定; 微波反应釜为美国 CEM 公司产品; 核磁共振谱用 BRUKER AC-P600 (600 MHz)型核磁共振仪测定, TMS 为内标; 质谱(ESI)用 Agilent G6300 离子阱液相质谱联用仪; 高分辨质谱(ESI)用 FTICR-MS (Ionspec 7.0T)型质谱仪测定; 旋光仪为 SGW-1 型自动旋光仪, 上海精密科学仪器有限公司; 单晶衍射仪为 BRUKER Axsmart apexII Mo 靶单晶衍射仪; 层析用硅胶(200~300 目)为青岛海洋化工厂产品。本文所用其他试剂均为分析纯, 无水试剂均按常规方法处理, 水为二次蒸馏水。

3.2 实验方法

3.2.1 中间体 **4a** 和 **4b** 的合成

于 25 mL 茄形烧瓶中加入 *N*-Boc-*L*-脯氨酸(94 mg, 0.47 mmol, 1.2 equiv.)和甘氨酸乙酯盐酸盐(54 mg, 1.0 equiv.)和 K₂CO₃(1.0 equiv.)粉末, 用 10 mL 新蒸甲苯溶解, 微波辐射, 50 $^{\circ}\text{C}$ 封管反应 15 min。薄层色谱(TLC)监测, 原料脯氨酸反应完全, 加入巯基水杨酸(120 mg, 2.0 equiv.)、*N,N'*-二环己基碳酰二亚胺(DCC, 96.5 mg, 1.2 equiv.)和催化剂 4-二甲氨基吡啶(DMAP, 9.45 mg, 0.2 equiv.), 继续微波辐射, 50 $^{\circ}\text{C}$ 反应 20 min。反应结束后, 加 Na₂CO₃ 粉末中和反应液至中性, 过滤掉固体物质并用少量乙醚洗涤, 滤液减压浓缩, 残留物经硅胶(300~400 目)柱色谱分离[淋洗剂为 *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=6:1], 得到一对非对映异构体化合物 **4a** 和 **4b** (1:1), 收率 33%。

(2*S*)-2-[(*R*)-叔丁氧羰基吡咯烷-2-基]-3-(2-乙氧基-2-氧亚基乙基)-2*H*-苯并[*e*][1,3]噻嗪-4-(3*H*)-酮(**4a**): 黄色油状物。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.89 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.42 (d, *J*=6.6 Hz, 1H), 7.30 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.25 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 5.12~4.92 (m, 1H), 4.80 (d, *J*=17.4 Hz, 1H), 4.46~4.29 (m, 1H), 4.22 (d, *J*=6.6 Hz,

2H), 3.98 (d, *J*=17.4 Hz, 1H), 3.36~3.26 (m, 1H), 2.77 (td, *J*=10.5, 5.5 Hz, 1H), 2.19~1.85 (m, 2H), 1.73 (s, 2H), 1.42 (s, 5H), 1.37 (s, 4H), 1.29 (t, *J*=7.2 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z*: 444.1 ([*M*+Na]⁺); HR-ESI-MS calcd for C₂₁H₂₈N₂O₅SNa [*M*+Na]⁺ 443.1616, found 443.1613。

(2*R*)-2-[(*R*)-叔丁氧羰基吡咯烷-2-基]-3-(2-乙氧基-2-氧亚基乙基)-2*H*-苯并[*e*][1,3]噻嗪-4-(3*H*)-酮(**4b**): 黄色油状物。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.00 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.46 (brs, 1H), 7.34~7.30 (m, 2H), 4.66~4.60 (m, 2H), 4.23~4.19 (m, 3H), 3.89 (brs, 1H), 3.52~3.34 (m, 2H), 2.08~1.94 (m, 2H), 1.87~1.84 (m, 2H), 1.42 (d, *J*=10.8 Hz, 9H), 1.28 (t, *J*=7.2 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z*: 444.5 ([*M*+Na]⁺). HR-ESI-MS calcd for C₂₁H₂₈N₂O₅SNa [*M*+Na]⁺ 443.1616, found 443.1615。

3.2.2 化合物 **6~11** 的合成

以化合物 **6a** 和 **6b** 的合成为例: 于 25 mL 圆底烧瓶中加入化合物 **4a** (0.1 mmol), 在室温下加入 90%三氟醋酸水溶液 10 mL, 反应 3 h 后, 加碱中和反应液至中性, 二氯甲烷(5 mL $\times$ 2)萃取。减压蒸除溶剂, 残留物经硅胶(200~300 目)柱色谱分离[淋洗剂为 *V*(二氯甲烷): *V*(甲醇)=5:1], 得到化合物 **5a**, 收率 92%。

于 25 mL 茄形烧瓶中加入化合物 **5a** (40 mg, 0.6 mmol), 加入 3 mL 二氯甲烷(DCM)作为溶剂和干燥的三乙胺(Et₃N) 1 mL、三乙烯二胺(DABCO, 3.8 mg, 0.3 equiv.), 氮气保护, 50 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌 12 h, TLC 监测反应完全。减压蒸出 DCM, 残留物经硅胶(200~300 目)柱色谱分离[淋洗剂为 *V*(甲醇): *V*(乙酸乙酯)=1:20], 得到(13*aS*,13*bR*)-1,2,3,13*b*-四氢苯并[*e*]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-*b*][1,3]噻嗪-5,8(6*H*,13*aH*)-二酮(**6a**), 黄色固体, 三步总产率 21%。m.p. 126~127 $^{\circ}\text{C}$; [α]_D²⁵ +170.0 (*c* 0.04, CH₃OH); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.06 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.38~7.36 (m, 1H), 7.32 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.28 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 5.51 (d, *J*=4.2 Hz, 1H), 4.90 (d, *J*=16.2 Hz, 1H), 4.30~4.27 (m, 1H), 3.77 (d, *J*=16.2 Hz, 1H), 3.68~3.63 (m, 1H), 3.60~3.56 (m, 1H), 2.31~2.25 (m, 1H), 2.24~2.18 (m, 1H), 2.13~2.07 (m, 1H), 2.03~1.97 (m, 1H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 165.9, 164.3, 136.5, 132.2, 131.1, 129.1, 128.1, 126.5, 63.7, 56.6, 45.7, 44.7, 28.3, 24.1; HR-ESI-MS calcd for C₁₄H₁₄N₂O₂-SNa ([*M*+Na]⁺) 297.0673, found 297.0675。

按相同的方法, 以 **5b** 为原料, 得到了相应的(13*aR*, 13*bR*)-1,2,3,13*b*-四氢苯并[*e*]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-*b*][1,3]噻嗪-5,8(6*H*,13*aH*)-二酮(**6b**), 黄色固体, 三步总产率 21%。m.p. 125~127 $^{\circ}\text{C}$; [α]_D²⁵ -25.0 (*c* 0.04, CH₃OH); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.12 (d, *J*=7.8

Hz, 1H), 7.41 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.29 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.78 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J=16.8$ Hz, 1H), 4.28 (d, $J=17.4$ Hz, 1H), 4.03~3.99 (m, 1H), 3.70~3.66 (m, 1H), 3.61~3.55 (m, 1H), 2.4~2.35 (m, 1H), 2.09~2.04 (m, 1H), 1.95~1.89 (m, 1H), 1.76~1.74 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 167.1, 164.7, 135.5, 133.9, 131.5, 129.8, 128.5, 127.6, 62.7, 60.3, 46.9, 46.6, 31.2, 23.9; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 297.0673, found 297.0672.

按上述类似方法, 分别以 3-氨基丙酸甲酯盐酸盐 (**2b**)、*D/L*-2-甲基甘氨酸甲酯盐酸盐 (**2c** 和 **2d**) 和 5-氟巯基水杨酸 (**3b**) 等为原料, 得到中间体 **4** 后, 以其混合物 (非对映异构体) 进行后续脱 Boc 和酰胺环缩合反应得到目标产物。

(14aS,14bR)-2,3,6,7-四氢-1*H*-苯并[5,6][1,3]噻嗪并[3,2-*a*]吡咯并[2,1-*c*][1,4]二氮杂环庚烷-5,9(14a*H*,14b*H*)-二酮 (**7a**): 黄色固体, 三步总产率 17%. m.p. 133~136 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 26.7$ (c 0.15, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.98 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.45~7.42 (m, 2H), 7.33 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 5.51 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 5.11 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.72~4.68 (m, 1H), 3.87~3.82 (m, 1H), 3.80~3.76 (m, 1H), 3.54~3.49 (m, 1H), 2.83~2.75 (m, 2H), 2.39~2.34 (m, 1H), 2.27~2.22 (m, 1H), 2.07~2.03 (m, 1H), 1.93~1.88 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 171.8, 166.4, 137.8, 133.4, 131.7, 130.3, 129.0, 127.6, 69.7, 56.9, 50.4, 48.9, 39.2, 37.4, 31.7, 23.5; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), 311.0830, found 311.0826.

(14aR,14bR)-2,3,6,7-四氢-1*H*-苯并[5,6][1,3]噻嗪并[3,2-*a*]吡咯并[2,1-*c*][1,4]二氮杂环庚烷-5,9(14a*H*,14b*H*)-二酮 (**7b**): 黄色固体, 三步总产率 17%. m.p. 131~133 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 46.0$ (c 0.05, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.17 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.30 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.60~4.56 (m, 1H), 4.53 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.25 (q, $J=9.0$ Hz, 1H), 3.91~3.86 (m, 1H), 3.47~3.45 (m, 1H), 3.41~3.36 (m, 1H), 2.85~2.76 (m, 2H), 2.31~2.27 (m, 1H), 1.98~1.94 (m, 1H), 1.91~1.86 (m, 1H), 1.67~1.62 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 171.5, 162.9, 133.0, 132.6, 130.7, 127.9, 126.9, 126.5, 66.7, 62.3, 48.8, 43.2, 38.5, 33.9, 22.4; HR-ESI-MS: calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), 311.0830, found 311.0831.

(6*S*,13a*S*,13b*R*)-6-甲基-1,2,3,13b-四氢苯并[*e*]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-*b*][1,3]噻嗪-5,8(6*H*,13a*H*)-二酮 (**8a**): 黄色固体, 三步总产率 14%. m.p. 129~131 °C;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 71.0$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.05 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.38 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.29 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 5.51 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 4.92 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.37~4.35 (m, 1H), 3.65~3.62 (m, 2H), 2.32~2.28 (m, 1H), 2.76~2.30 (m, 1H), 2.10~2.07 (m, 1H), 2.02~1.97 (m, 1H), 1.58 (d, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 168.2, 164.6, 136.9, 131.9, 131.0, 129.3, 127.9, 126.4, 63.6, 55.1, 53.4, 45.0, 28.9, 23.6, 18.4; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 311.0830, found 311.0829.

(6*S*,13a*R*,13b*R*)-6-甲基-1,2,3,13b-四氢苯并[*e*]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-*b*][1,3]噻嗪-5,8(6*H*,13a*H*)-二酮 (**8b**): 黄色固体, 三步总产率 14%. m.p. 129~130 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 192.4$ (c 0.50, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.20 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.42~7.38 (m, 1H), 7.31~7.26 (m, 1H), 7.20 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 5.60~5.50 (m, 1H), 4.41 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 3.98~3.94 (m, 1H), 3.74~3.69 (m, 1H), 3.43 (t, $J=10.8$ Hz, 1H), 3.25~2.21 (m, 1H), 2.03~1.98 (m, 1H), 1.78~1.72 (m, 1H), 1.62 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.49~1.41 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 167.8, 161.2, 132.8, 132.1, 131.3, 130.9, 126.8, 126.5, 62.6, 57.4, 53.7, 46.3, 30.8, 21.7, 16.7; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 311.0830, found 311.0832.

(6*R*,13a*S*,13b*R*)-6-甲基-1,2,3,13b-四氢苯并[*e*]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-*b*][1,3]噻嗪-5,8(6*H*,13a*H*)-二酮 (**9a**): 黄色固体, 三步总产率 9%. m.p. 131~133 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 66.0$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.97 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.45~7.40 (m, 2H), 7.32 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 5.65 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 4.76~4.73 (m, 1H), 4.53~4.50 (m, 1H), 3.62~3.54 (m, 2H), 2.35~2.31 (m, 1H), 2.23~2.17 (m, 1H), 2.08~2.01 (m, 2H), 1.55 (d, $J=7.8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 170.2, 166.5, 138.7, 133.5, 131.7, 130.4, 129.3, 127.6, 64.6, 56.5, 54.6, 46.4, 29.8, 24.5, 18.2; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$), 311.0830, found 311.0833.

(6*R*,13a*R*,13b*R*)-6-甲基-1,2,3,13b-四氢苯并[*e*]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-*b*][1,3]噻嗪-5,8(6*H*,13a*H*)-二酮 (**9b**): 黄色固体, 三步总产率 9%. m.p. 130~133 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 173.0$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8.00 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.38 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.22~7.19 (m, 2H), 5.32~5.29 (q, $J=7.2$ Hz, 1H), 4.78 (d, $J=10.2$ Hz, 1H), 3.91~3.87 (m, 1H), 3.54~3.50 (m,

1H), 3.32 (t, $J=10.4$ Hz, 1H), 2.10~2.05 (m, 1H), 1.91~1.87 (m, 1H), 1.71~1.65 (m, 1H), 1.52~1.42 (m, 4H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 169.8, 163.4, 134.4, 133.4, 131.5, 128.3, 127.9, 127.6, 63.7, 57.7, 54.8, 47.7, 31.2, 22.6, 16.8; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 311.0830, found 311.0834.

(13aS,13bR)-11-氟-1,2,3,13b-四氢苯并[e]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-b][1,3]噻嗪-5,8(6H,13aH)-二酮(**10a**): 黄色固体, 三步总产率 24%. m.p. 137~138 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 5.0$ (c 0.50, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.75 (dd, $J=9.0$, 3.0 Hz, 1H), 7.30 (dd, $J=8.4$, 4.8 Hz, 1H), 7.11 (td, $J=8.4$, 3.0 Hz, 1H), 5.49 (d, $J=4.2$ Hz, 1H), 4.87 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 4.30~4.27 (m, 1H), 3.79 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 3.68~3.62 (m, 1H), 3.57~3.55 (m, 1H), 2.32~2.26 (m, 1H), 2.22~2.17 (m, 1H), 2.13~2.07 (m, 1H), 2.02~1.98 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 165.6, 163.2, 162.0, 160.4, 131.5, 130.7, 130.6, 129.6, 119.7, 117.6, 63.8, 56.5, 45.7, 44.7, 28.3, 24.0; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 315.0579, found 315.0576.

(13aR,13bR)-11-氟-1,2,3,13b-四氢苯并[e]吡咯并[2',1':3,4]吡嗪并[2,1-b][1,3]噻嗪-5,8(6H,13aH)-二酮(**10b**): 黄色固体, 三步总产率 24%. m.p. 136~137 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 27.0$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.87 (dd, $J=9.0$, 3.0 Hz, 1H), 7.26 (dd, $J=8.4$, 3.6 Hz, 1H), 7.17 (td, $J=8.4$, 3.0 Hz, 1H), 4.80 (d, $J=10.4$ Hz, 1H), 4.77 (d, $J=17.4$ Hz, 1H), 4.25 (d, $J=17.4$ Hz, 1H), 4.04~4.00 (m, 1H), 3.73~3.70 (m, 1H), 3.61~3.51 (m, 1H), 2.41~2.37 (m, 1H), 2.13~2.06 (m, 1H), 2.01~1.91 (m, 1H), 1.78~1.73 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 164.7, 162.2, 161.7, 160.6, 130.5, 128.9, 128.5, 119.9, 117.8, 62.2, 58.8, 46.3, 45.3, 30.6, 22.9; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 315.0579, found 315.0583.

(14aS,14bR)-12-氟-2,3,6,7-四氢-1H-苯并[5,6][1,3]噻嗪并[3,2-a]吡咯并[2,1-c][1,4]二氮杂环庚烷-5,9(14aH,14bH)-二酮(**11a**): 黄色固体, 三步总产率 21%. m.p. 145~147 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 44.0$ (c 0.05, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.69 (dd, $J=9.0$, 3.0 Hz, 1H), 7.48~7.45 (m, 1H), 7.26 (td, $J=8.4$, 3.0 Hz, 1H), 5.52 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 5.11 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.70~4.66 (m, 1H), 3.86~3.82 (m, 1H), 3.80~3.76 (m, 1H), 3.53~3.49 (m, 1H), 2.86~2.74 (m, 2H), 2.37~2.34 (m, 1H), 2.27~2.20 (m, 1H), 2.07~2.02 (m, 1H), 1.94~1.88 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 171.7, 165.2,

163.4, 133.1, 132.0, 131.9, 131.0, 130.9, 120.8, 120.7, 118.0, 117.9, 69.9, 56.8, 50.4, 39.1, 37.4, 31.6, 23.4; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 329.0736, found 329.0731.

(14aR,14bR)-12-氟-2,3,6,7-四氢-1H-苯并[5,6][1,3]噻嗪并[3,2-a]吡咯并[2,1-c][1,4]二氮杂环庚烷-5,9(14aH,14bH)-二酮(**11b**): 黄色固体, 三步总产率 21%. m.p. 142~145 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 24.0$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.86 (dd, $J=9.0$, 2.4 Hz, 1H), 7.23~7.21 (m, 1H), 7.14 (td, $J=8.4$, 3.0 Hz, 1H), 4.55 (dd, $J=6.4$, 3.0 Hz, 1H), 4.53 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.24~4.20 (m, 1H), 3.88 (t, $J=9.6$ Hz, 1H), 3.50~3.46 (m, 1H), 3.40~3.34 (m, 1H), 2.83~2.75 (m, 2H), 2.29~2.25 (m, 1H), 1.97~1.92 (m, 1H), 1.89~1.83 (m, 1H), 1.66~1.61 (m, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 171.3, 162.2, 162.0, 160.5, 129.7, 129.6, 128.6, 128.5, 128.1, 120.2, 120.1, 117.4, 66.8, 62.1, 48.8, 43.2, 38.4, 33.9, 22.4; HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_2\text{SNa}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 329.0736, found 329.0732.

3.2.3 抗肿瘤细胞毒性测试

抗肿瘤细胞毒性采用改进的 Mosmann's MTT 染色法测定^[22]. 于 96 孔板接种细胞悬液, 90 μL /孔, 细胞密度 2×10^4 个/mL, 37 °C, 5% CO_2 浓度的培养箱中过夜, 加 10 μL /孔相应浓度药物(100 $\mu\text{mol/L}$), 继续培养 44 h, 加噻唑蓝(MTT) 10 μL /孔培养 4 h, 从培养箱中取出, 倒板, 加二甲基亚砜(DMSO) 100 μL /孔溶解 MTT, 测量 570 nm 波长下肿瘤细胞 OD 值, 代入公式: 抑制率 (%) = $(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{treated}}) / \text{OD}_{\text{control}} \times 100\%$, 计算抑制率, 顺铂为阳性对照.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **6~11** 的核磁共振氢谱和碳谱. 这些材料可以免费从本刊网站 (<http://sioc-journal.cn/>) 上下载.

References and note

- [1] Kim, J.; Movassaghi, M. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1159.
- [2] Amit Kumar Chattopadhyay, A. K.; Hanessian, S. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 4104.
- [3] Chrzanowska, M.; Grajewska, A.; Rozwadowska, M. D. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 12369.
- [4] Zi, W. W.; Zuo, Z. W.; Ma, D. W. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 702.
- [5] Tripathi, A. C.; Gupta, S. J.; Fatima, G. N.; Sonar, P. K.; Verma, A.; Saraf, S. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *72*, 52.
- [6] Zarghi, A.; Zebardast, T.; Daraie, B.; Hedayati, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5369.
- [7] Geng, J. H.; Li, Y. X.; Zhang, W. J.; Su, X.; Guo, C. J. *Shenyang Pharm. Univ.* **2012**, *29*, 834 (in Chinese). (耿红健, 高宁, 李裕鑫, 张卫军, 苏昕, 郭春, 沈阳药科大学学报, **2012**, *29*, 834.)
- [8] Tiwari, R.; Moraski, G. C.; Krchňák, V.; Miller, P. A.; Colon-

- Martinez, M.; Herrero, E.; Oliver, A. G.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3539.
- [9] Cao, X.; Wang, S. B.; Deng, X. Q.; Liu, D. C.; Quan, Z. S. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 1829.
- [10] Feng, J. N.; Li, X. H.; Shao, J.; Zhu, M.; Li, Y.; Chen, H.; Li, X. L. *Chin. J. Org. Chem.* **2015**, *35*, 1370 (in Chinese). (冯俊娜, 李晓慧, 邵洁, 朱墨, 李妍, 陈华, 李小六, 有机化学, **2015**, *35*, 1370.)
- [11] Stössel, A.; Schlenk, M.; Hinz, S.; Küppers, P.; Heer, J.; Gütschow, M.; Müller, C. E. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4580.
- [12] Bates, R. W. *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 559.
- [13] Xiong, Y. X.; Huang, Z. S.; Tan, J. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 538.
- [14] Manjal, S. K.; Kaur, R.; Bhatia, R.; Kumar, K.; Singh, V.; Shankar, R.; Kaur, R.; Rawal, R. K. *Bioorg. Chem.* **2017**, *75*, 406.
- [15] Shao, J.; Zhu, M.; Gao, L. G.; Chen, H.; Li, X. L. *Carbohydr. Res.* **2018**, *456*, 45.
- [16] Yin, Z. Q.; Zhu, M.; Wei, S. N.; Shao, J.; Hou, Y. H.; Chen, H.; Li, X. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 1738.
- [17] Chen, H.; Shao, J.; Zhu, M.; Li, X. L. *Chin. J. Org. Chem.* **2016**, *36*, 527 (in Chinese). (陈华, 邵洁, 朱墨, 李小六, 有机化学, **2016**, *36*, 527.)
- [18] Jain, A. K.; Vaidya, A.; Ravichandran, V.; Kashaw, S. K.; Agrawal, R. K. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3378.
- [19] Chen, H.; Yin, Q. M.; Li, C. X.; Wang, E. K.; Gao, F.; Zhang, X. B.; Yin, Z.; Wei, S. N.; Li, X. L.; Meng, M.; Zhang, P. Z.; Li, N.; Zhang, J. C. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 845.
- [20] Chen, H.; Bai, J.; Jiao, L. L.; Guo, Z. H.; Yin, Q. M.; Li, X. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3980.
- [21] CCDC-1857715 for **10a** and CCDC-1857714 for **11b** contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.
- [22] Mosmann, T. J. *Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55.

(Cheng, F.)