

本文引用:庄方方,尹延彦,闫建伟,等.含吡啶三级醇的合成和抗肿瘤活性评价[J].新乡医学院学报,2016,33(4):267-271. DOI:10.7683/xyxyxb.2016.04.005.

【基础研究】

含吡啶三级醇的合成和抗肿瘤活性评价

庄方方, 尹延彦, 闫建伟, 闫福林
(新乡医学院药学院,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 合成一系列含吡啶环的三级醇,进行抗肿瘤活性测试,考察其结构与活性的关系。**方法** (1)制备目标产物:吡啶,1,3-二羰基化合物和2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基(TEMPO)一锅法合成吡啶3-位取代的三级醇;(2)抗癌活性筛选:用四唑盐比色法对制备的3-位取代的吡啶衍生物进行多种肿瘤细胞株的体外细胞毒活性试验。**结果** 共合成14个化合物,通过对人类神经母细胞瘤细胞(SHSY5Y)、食管癌细胞系(109)、乳腺癌细胞(MCF)和胃癌肿瘤细胞(MGC)4种细胞系的测定,发现部分化合物具有不同程度的抗肿瘤活性。其中吡啶衍生物5、6、7对SHSY5Y、109、MCF、MGC 4种肿瘤细胞抑制效果逐渐增强;吡啶衍生物中化合物15对109细胞的 IC_{50} 达到 $8.42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。**结论** 丙酰乙酸乙酯衍生7、6-氯及6-溴吡啶衍生物14和15有较好的抗肿瘤活性。

关键词: 吡啶;1,3-二羰基化合物;合成;含吡啶三级醇;抗肿瘤活性

中图分类号: R914 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2016)04-0267-05

Synthesis and anti-tumor activity evaluation of indole-containing tertiary alcohols

ZHUANG Fang-fang, YIN Yan-yan, YAN Jian-wei, YAN Fu-lin

(College of Pharmacy of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China,)

Abstract: **Objective** A series of indole-containing tertiary alcohols were synthesized and their antitumor activities were tested to investigate their structure-activity relationship. **Methods** (1) The preparation of targeted products; indole-3-substituted tertiary alcohols were synthesized through one-pot procedure from indoles, 1,3-dicarbonyl compounds and 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidyloxy (TEMPO). (2) Screening of antitumor activity; cytotoxic activities of the preparation 3-substituted indole derivatives were tested in four different cancer cell lines *in vitro* by 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide method. **Results** Fourteen desired compounds were prepared and their antitumor activities were evaluated against human neuroblastoma (SHSY5Y), esophageal carcinomacell line (109), gastric cancer cell (MGC) and breast carcinoma cell (MCF) *in vitro*. Several compounds showed different antitumor activities. Indole derivatives 5, 6 and 7 against the four kinds of tumor cells inhibition effect were increased gradually, however, the IC_{50} of 15 against 109 decreased to $8.42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ in compound 11-16. **Conclusion** Ethyl propionylacetate derivative (compound 7) and 6-Cl and 6-Br indole derivatives (compound 14, 15) exhibit good antitumor activities.

Key words: indole; 1,3-dicarbonyl compounds; indole-containing tertiary alcohol; antitumor activity

恶性肿瘤是威胁人类健康的重要原因之一^[1],而开发出一类新的高效低毒的抗肿瘤药物已成为药物化学家的目标。吡啶是含有苯并吡咯环结构单元的一类化合物,广泛存在于生物体、天然产物及药物分子中。近年来,吡啶及其衍生物的合成与生物活性的研究引起了人们的广泛关注^[2],特别是在3-位取代的吡啶衍生物,具有抗病毒^[3]、抗癌^[4]、抗菌^[5]、抗炎^[6]及细胞毒性^[7]等生物活性。有文献报道,Psam-

mopemmins A-C 是从南极海绵 Psammopemma sp 中得到的一种铵盐。Aplicyanins A-F 是 Reyes 从南极被囊类动物 Aplidium cyaneum 中分离得到的一种新型具有抗癌活性的吡啶类生物碱,对胸腺恶性肿瘤、肺癌和结肠癌具有细胞毒性^[8]。在此基础上,本实验通过探索吡啶及其衍生物与1,3-二羰基化合物偶联制备3-位吡啶取代的1,3-二羰基化合物的新途径和有效方法,制备出一系列吡啶3-取代三级醇化合物,并预期筛选出具有较好抗肿瘤活性的药物,为开发新的高效低毒的抗肿瘤药物奠定实验基础。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器 ZNCL-GS 数显智能磁力搅拌器(河南爱博特仪器公司);X-4 显微熔点仪(温度计未

DOI:10.7683/xyxyxb.2016.04.005

收稿日期:2015-12-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81172953)。

作者简介:庄方方(1989-),女,河南平顶山人,硕士研究生在读,研究方向:药物化学。

通信作者:闫福林(1957-),男,河南新乡人,博士,教授,研究方向:中草药成分提取鉴定;E-mail:yannz2009@163.com。

校正,上海精密仪器有限公司);Q-TOF 6540 高分辨质谱仪(电喷雾离子源,美国安捷伦公司);Bruker-400 型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);恒温水浴锅、R 系列旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司);SHB-循环水式多用真空泵(郑州长城科贸有限公司);薄层层析用硅胶 GF254 及柱层析用硅胶(200~300 目)(青岛海洋化工厂);ZF-7 型三用紫外分析仪(上海贝仑仪器设备有限公司);酶标仪(SpectraMax Paradigm,美国 Molecular Devices);CO₂ 培养箱(RSBiotech,美国 GalaxyS);高压灭菌锅(MLS-3780,美国 Thermo)。

1.2 主要试剂 吲哚、乙酰乙酸乙酯和 2,2,6,6-四甲基哌啶氧化物(2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidyl-oxyl,TEMPO)等反应试剂购自上海达瑞精细化学品有限公司、上海萨恩化学技术有限公司或上海书亚医药科技有限公司;柱层析用乙酸乙酯、石油醚等有机试剂均为分析纯,购于天津科密欧试剂公司;达尔伯克改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium,DMEM)、胰蛋白酶培养基(美国 Gibco 公司);胎牛血清(杭州四季青生物技术公司);四唑盐比色法[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-

H-tetrazolium bromide, MTT] 试剂盒、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide,DMSO)(美国 Sigma 公司)。

1.3 细胞株 类神经母细胞瘤细胞 SHSY5Y、食管癌细胞系 109、乳腺癌细胞 MCF、胃癌肿瘤细胞 MGC 均来自广州吉妮欧生物科技有限公司,肿瘤细胞均采用含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基,在 37 °C、体积分数 5% CO₂ 条件下培养。

1.4 目标产物的制备 称取吲哚(117 mg, 1.0 mmol)、乙酰乙酸乙酯(143 mg, 1.1 mmol)和 TEMPO(343 mg, 2.2 mmol)于干燥圆底烧瓶中,然后加入乙酸(5.0 mL)中溶解,裸露于空气中加热至 60 °C,搅拌约 1 h,经薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC)检测反应完全,加入乙酸乙酯(50 mL)稀释,并将反应液倒入 150 mL 的锥形瓶中,然后加入适量饱和 NaHCO₃ 进行中和,待中和完全即无气泡产生时,用乙酸乙酯进行萃取(3 × 30 mL),合并有机层,加入无水 Na₂SO₄ 除水,过滤,最后将残余液浓缩硅胶拌样,用石油醚:乙酸乙酯=3:1 进行洗脱,通过硅胶柱层析分离纯化,得到 222 mg 白色粉末状固体 3(图 1),产率 85%。化合物 4~16 制备方法同上(图 1)。

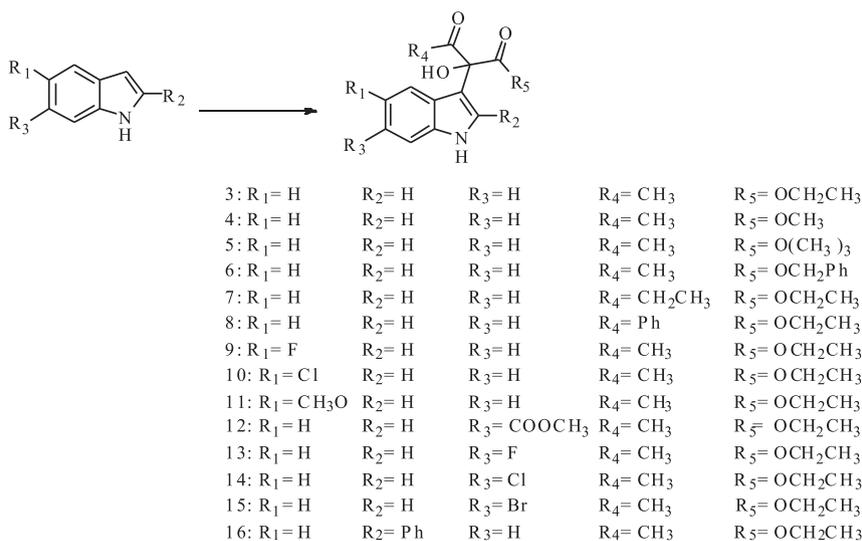


图 1 含吲哚三级醇的合成

Fig.1 Synthesis of indole-containing tertiary alcohols

1.5 抗肿瘤活性的筛选

1.5.1 细胞培养 类神经母细胞瘤细胞 SHSY5Y、食管癌细胞系 109、乳腺癌细胞 MCF、胃癌肿瘤细胞 MGC 均在本实验室正常传代 3 次。细胞株用含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,同时加入 0.01 U · L⁻¹ 链霉素和 0.10 U · L⁻¹ 青霉素,于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中饱和湿培养,每 2~3 d 换液 1 次。

1.5.2 MTT 法测半数抑制浓度(half maximal in-

hibitory concen tration, IC₅₀) 分别取处于对数期生长,状态良好的 SHSY5Y、109、MCF 和 MGC 细胞,制成单细胞悬液,使细胞密度为 1 × 10² L⁻¹,接种于 96 孔板,每孔加入细胞悬液 100 μL,置于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 待细胞贴壁,然后按预设的浓度梯度加入待测样品,每 1 个梯度重复 6 次检测。对照物加入等体积的溶解样品用的溶剂,空白孔为三蒸水,培养 48 h 后,每孔加入 20 μL 的 MTT(5 g · L⁻¹),然后置于 37 °C 培养箱中温育

4 h,抽取上清液后加入 200 μL 的 DMSO,振荡 10 min 溶解沉淀,随后用酶标仪检测吸光度,波长 492 nm。本实验重复 3 次。计算一定浓度下样品对细胞的抑制率:抑制率 = (对照吸光度 - 给药吸光度) / (对照吸光度 - 空白吸光度) \times 100%,以抑制率为横坐标,药物浓度为纵坐标作图,求出每个样品的 IC_{50} 值。

2 结果

2.1 化合物 3~16 的结构表征 化合物 3: Ethyl 2-hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-3-oxobutanoate。产率 85%,白色固体, m. p. 136 ~ 137 $^{\circ}\text{C}$ 。核磁共振氢谱 (proton nuclear magnetic resonance, $^1\text{H-NMR}$) (400 MHz, CDCl_3) δ 8.39 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.24 ~ 4.42 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); 核磁共振碳谱 (nuclear magnetic resonance, $^{13}\text{C-NMR}$) (101 MHz, CDCl_3) δ 204.9, 170.4, 136.6, 125.1, 124.3, 122.7, 120.5, 120.3, 111.9, 111.6, 82.3, 62.9, 25.1, 14.2; $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 高分辨质谱 (high-resolution mass spectrometer, HRMS) 计算值 284.089 3, 实测值 284.090 7。

化合物 4: Methyl 2-hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-3-oxobutanoate。产率 90%,白色固体, m. p. 112 ~ 113 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.43 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.29 ~ 7.39 (m, 2H), 7.22 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.14 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.88 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.28 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 204.8, 170.8, 136.5, 124.95, 124.3, 122.6, 120.5, 120.0, 111.6, 111.6, 82.3, 53.4, 25.0; $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 的计算值 HRMS 270.073 7, 实测值 270.074 5。

化合物 5: Tert-butyl 2-hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-3-oxobutanoate。产率 64%,白色固体, m. p. 119 ~ 120 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.40 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.54 (s, 9H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 205.0, 169.5, 136.5, 125.2, 124.1, 122.4, 120.5, 120.2, 112.1, 111.5, 84.2, 82.4, 27.9, 25.1; $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 的 HRMS 计算值 312.120 6, 实测值 312.121 9。

化合物 6: Benzyl 2-hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-3-

oxobutanoate。产率 87%,白色固体, m. p. 93 ~ 94 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.33 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.36 (s, 5H), 7.29 ~ 7.33 (m, 2H), 7.20 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.33 (q, $J = 12.2$ Hz, 2H), 4.87 (s, 1H), 2.22 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 204.7, 170.1, 136.5, 134.9, 128.7, 128.7, 128.5, 125.1, 124.4, 122.7, 120.5, 120.2, 111.6, 111.6, 82.4, 68.2, 25.1; $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 的 HRMS 计算值 346.105 0, 实测值 346.105 2。

化合物 7: Ethyl 2-hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-3-oxopentanoate。产率 89%,白色固体, m. p. 96 ~ 97 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.39 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.24 ~ 4.45 (m, 2H), 2.80 ~ 2.67 (m, 1H), 2.58 ~ 2.46 (m, 1H), 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.02 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 207.8, 170.1, 136.2, 124.8, 124.2, 122.1, 119.9, 119.7, 111.4, 111.4, 81.7, 62.4, 30.3, 13.7, 7.7; $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 的 HRMS 计算值 298.105 0, 实测值 298.106 4。

化合物 8: Ethyl 2-hydroxy-2-(1H-indol-3-yl)-3-oxo-3-phenylpropanoate。产率 76%,白色固体, m. p. 124 ~ 125 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.29 (s, 1H), 8.08 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.61 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.47 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 7.17 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.08 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.09 (s, 1H), 4.40 ~ 4.19 (m, 2H), 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 195.2, 171.1, 136.1, 133.3, 133.2, 130.0, 127.9, 125.3, 123.9, 122.2, 120.4, 120.0, 113.0, 111.1, 81.0, 62.6, 13.6; $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 的 HRMS 计算值 346.105 0, 实测值 346.105 6。

化合物 9: Ethyl 2-(5-fluoro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-3-oxobutanoate。产率 90%,白色固体, m. p. 129 ~ 130 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.47 (s, 1H), 7.46 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.20 ~ 7.28 (m, 2H), 6.95 (td, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.45 ~ 4.27 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 204.4, 170.2, 158.0 (d, $J = 233.9$ Hz), 132.97, 125.83, 125.42 (d, $J = 10.5$ Hz), 112.1 (d, $J = 9.7$ Hz), 111.9 (d, $J = 4.8$ Hz), 110.1 (d, $J = 26.3$ Hz), 105.4 (d, $J = 24.5$ Hz), 82.1, 62.9, 24.8, 14.0; $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{FNO}_4\text{Na}(\text{M} + \text{Na})^+$ 的 HRMS 计算值 302.079 9, 实测值

302.081 2。

化合物 10: Ethyl 2-(5-chloro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-3-oxobutanoate。产率 88%, 白色固体, m. p. 144 ~ 145 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.54(s, 1H), 7.55(s, 1H), 7.34(s, 1H), 7.18(d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.12(d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.81(s, 1H), 4.24 ~ 4.45(m, 2H), 2.24(s, 3H), 1.32(t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR(101 MHz, Acetone) δ 204.6, 171.1, 136.3, 127.7, 127.0, 125.4, 122.6, 121.1, 113.8, 112.7, 83.5, 62.7, 14.3; C₁₄H₁₄ClNO₄Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 318.050 4, 实测值 318.051 6。

化合物 11: Ethyl 2-hydroxy-2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)-3-oxobutanoate。产率 88%, 白色固体, m. p. 108 ~ 109 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.40(s, 1H), 7.35(d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.21(d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.00(d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.86(dd, J = 8.8, 2.4 Hz, 1H), 4.81(s, 1H), 4.26 ~ 4.45(m, 2H), 3.82(s, 3H), 2.27(s, 3H), 1.34(t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR(101 MHz, CDCl₃) δ 204.91, 170.32, 154.42, 131.59, 125.48, 124.81, 112.94, 112.24, 111.32, 101.72, 82.27, 77.39, 77.08, 76.76, 62.75, 55.80, 25.00, 14.10; C₁₅H₁₇NO₅Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 314.099 9, 实测值 314.101 5。

化合物 12: Methyl 3-(1-ethoxy-2-hydroxy-1,3-dioxobutan-2-yl)-1H-indole-6-carboxylate。产率 90%, 白色固体, m. p. 135 ~ 136 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.91(s, 1H), 8.12(s, 1H), 7.80(d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.61(d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.85(s, 1H), 4.26 ~ 4.46(m, 2H), 3.95(s, 3H), 2.25(s, 3H), 1.32(t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR(101 MHz, CDCl₃) δ 204.4, 170.3, 168.1, 136.0, 128.8, 127.6, 124.3, 121.4, 120.1, 114.0, 112.3, 82.2, 63.1, 52.2, 24.9, 14.1; C₁₆H₁₇NO₆Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 342.094 8, 实测值 342.095 1。

化合物 13: Ethyl 2-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-3-oxobutanoate。产率 87%, 白色固体, m. p. 139 ~ 140 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.48(s, 1H), 7.49(dd, J = 8.8, 5.3 Hz, 1H), 7.35(d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.00(dd, J = 9.4, 2.2 Hz, 1H), 6.89(td, J = 9.3, 2.3 Hz, 1H), 4.82(s, 1H), 4.27 ~ 4.44(m, 2H), 2.26(s, 3H), 1.33(t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR(101 MHz, CDCl₃) δ 204.5, 170.2, 160.0(d, J = 245.6 Hz), 136.5(d, J = 12.3 Hz), 124.5(d, J = 3.3 Hz), 121.6, 121.3(d, J = 10.0 Hz),

112.0, 109.3(d, J = 24.2 Hz), 97.7(d, J = 26.0 Hz), 82.2, 62.9, 24.8, 14.0; C₁₄H₁₄FNO₄Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 302.079 9, 实测值 302.081 0。

化合物 14: Ethyl 2-(6-chloro-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-3-oxobutanoate。产率 77%, 白色固体, m. p. 132 ~ 133 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.42(s, 1H), 7.50(d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.43(d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.33(d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.09(dd, J = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 4.80(s, 1H), 4.27 ~ 4.34(m, 2H), 2.25(s, 3H), 1.33(t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR(101 MHz, CDCl₃) δ 204.4, 170.1, 136.9, 128.6, 124.8, 123.7, 121.2, 121.2, 112.1, 111.4, 77.4, 77.0, 76.7, 24.8, 14.1; C₁₄H₁₄ClNO₄Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 318.050 4, 实测值 318.051 4。

化合物 15: Ethyl 2-(6-bromo-1H-indol-3-yl)-2-hydroxy-3-oxobutanoate。产率 91%, 白色固体, m. p. 153 ~ 154 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.36(s, 1H), 7.52(s, 1H), 7.46(d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.23(d, J = 8.6 Hz, 1H), 4.77(s, 1H), 4.29 ~ 4.42(m, 2H), 2.25(s, 3H), 1.34(t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR(101 MHz, CDCl₃) δ 204.5, 170.3, 137.4, 124.8, 124.1, 123.9, 121.8, 116.4, 114.5, 112.3, 82.2, 63.1, 24.9, 14.2; C₁₄H₁₄BrNO₄Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 361.999 8, 实测值 361.999 3。

化合物 16: Ethyl 2-hydroxy-3-oxo-2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl) butanoate。产率 71%, 白色固体, m. p. 107 ~ 108 °C。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.55 ~ 7.63(m, 3H), 7.46 ~ 7.54(m, 1H), 7.26 ~ 7.38(m, 3H), 6.96 ~ 7.05(m, 1H), 6.84(q, J = 7.1 Hz, 1H), 6.23(d, J = 7.1 Hz, 1H), 4.99(s, 0.5H), 4.81(s, 0.5H), 3.91 ~ 4.13(m, 2H), 2.21(s, 1.5H), 2.19(s, 1.5H), 1.07(t, J = 7.1 Hz, 1.5H), 0.94(t, J = 7.1 Hz, 1.5H); ¹³C-NMR(101 MHz, CDCl₃) δ 203.1, 199.1, 198.6, 198.5, 168.0, 166.0, 160.2, 159.9, 137.4, 137.4, 137.0, 136.9, 136.8, 128.6, 128.5, 127.8, 127.7, 125.1, 125.0, 124.9, 124.9, 119.0, 119.0, 118.7, 111.6, 111.3, 70.2, 70.0, 65.3, 62.6, 61.6, 61.4, 32.7, 30.0, 13.4, 13.1; C₂₀H₁₉NO₄Na (M + Na)⁺ 的 HRMS 计算值 360.120 6, 实测值 360.121 3。

2.2 化合物 3 ~ 16 的体外抗肿瘤活性筛选 结果见表 1。从测试结果可以看出,合成的化合物 5 ~ 7 对 SHSY5Y、109、MCF、MGC 4 种肿瘤细胞的抑制作用逐渐增强,特别是当 R4 位置引入乙基时,随着碳链的延长,化合物 7 对 SHSY5Y、109、MCF、MGC 4 种肿瘤细胞的抑制效果进一步增强。化合物 11 ~

16 对 SHSY5Y、109、MCF、MGC 4 种肿瘤细胞的抑制作用大体上也逐渐增强,尤其是化合物 14 和 15 对 109 肿瘤细胞的抑制效果较好。

表 1 化合物 3 ~ 16 的体外抗肿瘤活性

Tab. 1 Antitumor activity of compounds 3 - 16 *in vitro*

化合物	IC ₅₀ SHSY5Y/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	IC ₅₀ 109/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	IC ₅₀ MCF/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	IC ₅₀ MGC/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
3	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
4	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
5	33.06 ± 1.52	55.69 ± 1.75	>100.00	>100.00
6	36.78 ± 1.57	37.36 ± 1.57	82.56 ± 1.92	52.78 ± 1.72
7	16.55 ± 1.22	10.45 ± 1.02	55.64 ± 1.75	87.43 ± 1.94
8	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
9	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
10	>100.00	>100.00	>100.00	>100.00
11	>100.00	58.04 ± 1.76	>100.00	>100.00
12	>100.00	69.20 ± 1.84	>100.00	>100.00
13	>100.00	53.35 ± 1.73	>100.00	>100.00
14	31.33 ± 1.49	23.71 ± 1.38	34.99 ± 1.54	36.36 ± 1.56
15	34.84 ± 1.54	8.42 ± 0.93	41.77 ± 1.62	51.05 ± 1.71
16	72.52 ± 1.86	57.26 ± 1.76	>100	>100

3 讨论

肿瘤已经成为严重危害人类健康的重大疾病之一,为了研发出高效低毒的有效药物,本研究针对吡啶的结构构建进行了研究探讨。

从表 1 可以看出,合成的化合物 3 ~ 16 对 SHSY5Y、109、MCF、MGC 4 种肿瘤细胞表现出一定的抑制作用和选择性。具体地讲,当吡啶环 3-位被不同的 β -酮酸酯取代时,如乙酰乙酸乙酯、乙酰乙酸甲酯(化合物 3 和 4)无抗肿瘤活性;当 R5 位置引入大位阻的叔丁酯时,化合物 5 对 SHSY5Y、109 这 2 种肿瘤细胞具有一定的抑制效果;当 R5 位置引入苄酯,化合物 6 对 SHSY5Y、109、MCF、MGC 4 种肿瘤细胞均显示较好的抑制效果;当 R4 位置引入乙基时,随着碳链的延长,化合物 7 对 SHSY5Y、109、MCF、MGC 4 种肿瘤细胞的抑制效果进一步增强,而苯甲酰乙酸乙酯(化合物 8)却没有抗肿瘤活性,这说明当 R4 为脂肪碳链时,抗肿瘤效果会得到改善。

吡啶苯环上的取代基也显著影响目标产物的抗肿瘤活性。当吡啶的 5-位被氟、氯和甲氧基取代

时,化合物 9 ~ 11 均未表现出抗肿瘤活性;当吡啶 6-位被取代时,如 6-甲酸甲酯、6-氟、6-氯和 6-溴(化合物 12 ~ 15),就 109 肿瘤细胞而言,随着吸电子效应的减弱,抗肿瘤活性却相应增强,特别是 6-溴取代的化合物 15 的 IC₅₀ 值达 $8.42 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,这说明吡啶的 6-溴取代是 109 肿瘤细胞的抑制剂重要药效团;而对 SHSY5Y、MCF、MGC 3 种肿瘤细胞来讲,6-氯取代衍生物的抗肿瘤活性要强于相应 6-溴衍生物。当取代基在五元吡咯环 R2 位置时,如 2-苯基,化合物 16 对 SHSY5Y、109 2 种肿瘤细胞有较弱的抑制作用。总之,吡啶 6-位氯或溴取代的三级醇有较好的抗肿瘤效果。

参考文献:

- [1] LEVINE P M, GARABEDIAN M J, KIRSHENBAUM K. Targeting the androgen receptor with steroid conjugates miniperspective[J]. *J Med Chem*, 2014, 57(20):8224-8237.
- [2] GOMPEL M, LEOST M, BAL E, *et al.* Meridianins, a new family of protein kinase inhibitors isolated from the Ascidian *Aplidium meridianum*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(7):1703-1707.
- [3] WILLIAMS J D, CHEN J J, DRACH J C, *et al.* Design, synthesis, antiviral activity of certain 3-substituted 2,5,6-trichloroindole nucleosides[J]. *J Med Chem*, 2004, 47(23):5753-5765.
- [4] ANDREANI A, BURNELLI S, GRANAIOLA M, *et al.* Antitumor activity of bisindole derivatives[J]. *J Med Chem*, 2008, 51(15):4563-4570.
- [5] SEEFELD M A, MILLER W H, NEWLANDER K A, *et al.* Indole naphthyridinones as inhibitors of bacterial enoyl-ACP reductases FabI and FabK[J]. *J Med Chem*, 2003, 46(9):1627-1635.
- [6] DOEBEL K J, WASLEY J W F. Derivatives of indole-1-acetic acid as anti-inflammatory agents[J]. *J Med Chem*, 1972, 15(10):1081-1082.
- [7] BORUAH R C, SKIBO E B. A comparison of the cytotoxic and physical properties of aziridinyl quinone derivatives based on the pyrrolo[1,2-a]benzimidazole and pyrrolo[1,2-a]indole ring systems[J]. *J Med Chem*, 1994, 37(11):1625-1631.
- [8] RANI P, SRIVASTAVA V K, KUMAR A. Synthesis and anti-inflammatory activity of heterocyclic indole derivatives[J]. *J Med Chem*, 2004, 39(5):449-452.

(本文编辑:王燕 英文编辑:王燕)