微波辅助高效合成2-氮杂环丁酮类衍生物及其抗肿瘤活性研究

李勇¹, 何刘军¹, 徐嘉¹, 丁勇¹, 徐志刚¹, 雷杰^{1,2}, 孟江平^{1*}, 朱瑾^{1,2*}

1. 重庆文理学院创新靶向药物国际研究院, 永川 402160

2. 中国科学院成都有机化学研究所, 成都 610041

*通讯作者, E-mail: mengjp2006@163.com; jinzhu@cioc.ac.cn

收稿日期: 2017-12-30; 接受日期: 2018-03-09; 网络版发表日期: 2018-05-15

重庆文理学院校级科研项目(编号: 2017RBX09)和重庆市永川区自然科学基金(编号: Ycstc, 2016nc5001)资助项目

摘要 含氮杂环是一类非常重要的一类有机化合物, 具有广泛的生物活性和药理活性, 目前临床上正在使用或者处于研究开发的许多药物结构中都含有含氮杂环. 因此, 含氮杂环的快速高效合成及其生物活性研究一直都是有机化学和药物化学领域的研究热点之一. 本文利用Ugi反应设计合成了两类具有潜在抗癌活性的2-氮杂环丁酮类衍生物, 其结构均经核磁共振谱(¹H NMR)、碳谱(¹³C NMR)和高分辨质谱(HRMS)确证. 以人肺癌细胞A549、人胶质瘤细胞LN229、人乳腺癌细胞MDA-MB-453、人结肠癌细胞SW620和人前列腺癌细胞DU145等5种细胞株为活性筛选对象, 采用噻唑蓝(MTT)法对目标分子进行了体外抗肿瘤活性研究, 结果表明, 所合成的目标分子具有一定的体外抗肿瘤活性, 其中化合物**7e**和**13e**分别对LN229和DU145的抑制率达到了53%, 具有可进一步深入研究的价值.

关键词 2-氮杂环丁酮, Ugi反应, 抗肿瘤活性, 苯并咪唑, 喹喔啉

1 引言

随着生物学和遗传学的不断发展, 研究者发现具有生物活性的小分子具有很多不被人们了解的功能, 它们可以对生物大分子起到促进和抑制作用. 研究表明, 蛋白质受制于一些具有生物活性的小分子. 虽然有机化合物数量众多, 但是具有生物活性的化合物相对较少. 要想获得具有生物活性的小分子化合物, 就必须从大量有机化合物中筛选, 由此需要合成数量庞大的化合物. 近年来, 为了快速高效地合成大量新化

合物, 多样性导向合成受到广大有机化学和药物化学家的广泛关注和青睐^[1], 这种合成方法的主要特点是可以迅速地合成大量有机小分子、组建小分子化合物库, 为筛选具有生物活性的化合物提供基础. 多组分反应具有操作简单、高选择性、高收率、高原子经济性、反应条件温和、环境友好等特点^[2-5]. 这些特点使其很适合广泛应用于合成具有不同结构的化合物库, 为筛选活性化合物提供了基础.

Ugi反应是一种重要的多组分反应, 该反应是由一分子羰基化合物、胺、酸以及异腈通过缩合, 高收率

引用格式: Li Y, He LJ, Xu J, Ding Y, Xu ZG, Lei J, Meng JP, Zhu J. Microwave-assisted facile synthesis of 2-azetidinone derivatives and evaluation of their antitumor activities. *Sci Sin Chim*, 2018, 48: 751–758. doi: 10.1360/N032017-00223

地生成类二肽化合物的反应^[6-9]。因为Ugi反应前后只失去一分子水, 因此该反应具有高度的原子经济性。生成的具有二肽结构的化合物, 具有较强的药物开发前景, 同时可以通过改变不同的反应底物来实现结构多样性的有机分子的合成, 以满足药物活性筛选和结构修饰的需求。

2-氮杂环丁酮及其衍生物具有广泛的生物活性, 在药物化学和有机化学领域得到了广泛的研究^[10-12]。研究发现, 2-氮杂环丁酮及其衍生物在抗菌素^[13,14]、抑制胆固醇吸收^[15]、类胰蛋白酶^[16]、抑制凝血酶和糜蛋白酶^[17,18]、抗炎^[19]、抗HIV^[20]和抗癌^[21]等方面具有广泛的应用。图1为部分具有生物活性的氮杂环丁酮类衍生物的结构^[22]。

关于2-氮杂环丁酮类衍生物的合成及其抗癌活性研究在近年来也有文献报道: (1) Lukevics等^[23]合成了新型的4位杂环取代的氮杂环丁酮并研究了它们对肿瘤细胞和正常细胞的细胞毒性, 结果表明这类化合物可以促进NO自由基生成, NO自由基浓度较高时会引起细胞死亡。(2) Coy等^[24]报道了1,4-二芳基取代的氮杂环丁酮的合成, 并测试了其对人体神经母细胞瘤细胞的细胞毒性。(3) Lukevics等^[25]通过Ugi三组分反应合成了新型的氮杂环丁酮类衍生物(图2), 并研究了对人源纤维肉瘤细胞、鼠源肝癌细胞和鼠源成神经细胞瘤三株细胞系的体外细胞毒性。

含氮杂环化合物在生物医药领域具有重要的作用^[26], 其中含苯并咪唑化合物^[27]和喹啉类化合物^[28]具有广泛的生物活性。近年来本课题组^[29]一直致力于利用多组分反应合成含氮杂环化合物及其抗肿瘤活性研究, 取得了一系列重要成果。因此我们设想将含氮杂环丁酮类化合物和具有重要生物活性的苯并咪唑类化合物或喹啉类化合物进行组合, 期望能得到较好生物活性的新型氮杂化合物。基于这一设想和我们之前的工作基础, 我们通过Ugi四组分反应设计合成了一

图1 具有生物活性的氮杂环丁酮类衍生物

Figure 1 Azetidinone derivatives with biological activity.

图2 氮杂环丁酮类衍生物的合成方法(网络版彩图)

Figure 2 The methods for the preparation of azetidinone derivatives (color online).

系列新型2-氮杂环丁酮类衍生物(图2), 并研究了其体外抗肿瘤活性。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

所有试剂均购买于国内试剂公司。所用溶剂正己烷、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇等试剂为国产分析纯试剂, 在使用前不处理或参考文献纯化方法处理(如有需要)。柱层析硅胶(300~400目)及薄层层析硅胶板为烟台江友硅胶开发有限公司产品(中国)。

核磁共振氢谱(¹H-NMR)和碳谱(¹³C-NMR)用Bruker-400型核磁共振仪(德国)测定, 化学位移为ppm, 参照相应氘代溶剂, 耦合常数 J 的单位为Hz。HPLC-MS分析在岛津-2020液质联用仪器(日本)上完成, 条件为: 液相色谱柱为C18柱(反相, 150×2.0 mm); 80%乙腈和20%水, 6 min完成; 流速为0.4 mL/min; UV检测器的波长范围为200~400 nm。所有微波反应在Biotage®型微波反应器(英国)上完成。分离纯化使用Biotage®中压制备色谱仪。

2.2 化合物7和13的合成方法

2.2.1 化合物7a-h的合成方法

合成路线如图3所示。在5.0 mL的微波反应管中将1.0 mmol的乙醛酸乙酯溶于2.0 mL甲醇, 加入1.0 mmol胺, 室温搅拌反应10 min, 然后分别加入1.0 mmol溴乙酸和1.0 mmol *N*-Boc-邻氨基苯基异脒, 室温下搅拌反应。薄层色谱(TLC)检测反应。反应完成后除去溶剂, 残留物溶于二甲基甲酰胺(DMF, 3.0 mL), 加入二异丙醇胺(DIPA, 2.0 mmol)置于微波反应器中90℃反应10 min。反应完成后冷却至室温, 反应液加入15 mL乙

图 3 化合物7a-h的合成路线(网络版彩图)

Figure 3 The synthetic route to compounds 7a-h (color online).

酸乙酯, 用饱和食盐水洗(2×10 mL), 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后减压除去溶剂, 残留物溶于10%三氟乙酸/二氯乙烷(TFA/DCE, 5.0 mL), 置于微波反应器中120℃反应10 min. 冷却至室温后减压除去溶剂, 残留物溶于15 mL乙酸乙酯, 分别用饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水各洗一次, 有机相用无水硫酸镁干燥后过滤浓缩, 残留物用乙酸乙酯/正己烷(0~50%)梯度洗脱分离得到目标化合物苯并咪唑-氮杂环丁酮7a-h.

化合物7a, 白色固体, 收率为47%, 熔点为182℃~184℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (dd, $J=5.9$, 3.1 Hz, 2H), 7.40~7.27 (m, 4H), 7.14 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.00 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.85 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 4.59 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 4.18 (dt, $J=14.3$, 7.2 Hz, 1H), 4.04~3.91 (m, 1H), 3.77 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 3.57 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 1.16 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.19, 165.31, 147.98, 137.16, 134.00, 132.49, 131.73, 129.53, 127.72, 124.13, 123.73, 115.47, 63.13, 58.73, 51.76, 45.63, 13.65. HRMS计算值: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{BrN}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 428.06043; 实测: 428.06085.

化合物7b, 白色固体, 收率为45%, 熔点为173℃~175℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.10 (s, 1H), 7.64 (dd, $J=6.1$, 3.1 Hz, 2H), 7.34 (dd, $J=6.1$, 3.1 Hz, 2H), 7.15~6.97 (m, 5H), 4.67 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 4.46 (d, $J=15.2$ Hz, 1H), 4.10~3.97 (m, 2H), 3.59~3.77 (m, 2H), 1.14 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 168.19, 147.76, 134.65, 134.10, 128.81, 128.46, 127.83, 124.96, 115.06, 63.44, 58.65, 50.66, 46.14, 13.61. HRMS计算值: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 350.14992; 实测:

350.15007.

化合物7c, 白色固体, 收率为46%, 熔点为161℃~163℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (dd, $J=6.0$, 3.1 Hz, 2H), 7.33 (dd, $J=6.1$, 3.1 Hz, 3H), 7.11 (dd, $J=13.8$, 7.8 Hz, 1H), 7.00~6.78 (m, 3H), 4.71 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 4.37 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 4.23~4.15 (m, 1H), 4.11~3.99 (m, 1H), 3.74 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 3.60 (d, $J=14.5$ Hz, 1H), 1.20 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.87, 165.52, 163.95, 161.49, 147.98, 137.01, 130.05, 124.56, 123.98, 115.90, 115.46, 114.80, 63.25, 58.79, 51.15, 45.59, 13.71. HRMS计算值: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 368.14050; 实测: 368.14032.

化合物7d, 白色固体, 收率为49%, 熔点为175℃~177℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.57 (dd, $J=6.1$, 3.2 Hz, 2H), 7.31 (dd, $J=6.1$, 3.2 Hz, 2H), 7.03 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 4.51 (q, $J=14.8$ Hz, 2H), 4.30~4.18 (m, 1H), 4.14~4.07 (m, 1H), 3.74 (d, $J=14.5$ Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.59 (d, $J=14.5$ Hz, 1H), 1.26 (t, $J=3.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.79, 165.59, 159.37, 148.37, 136.94, 130.53, 126.18, 123.79, 115.36, 113.94, 63.13, 58.68, 55.20, 50.67, 45.43, 13.86. HRMS计算值: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 380.16048; 实测: 380.16053.

化合物7e, 白色固体, 收率为44%, 熔点为179℃~181℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.67 (dd, $J=6.0$, 3.2 Hz, 2H), 7.33 (dd, $J=6.1$, 3.1 Hz, 2H), 7.16 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.76 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 4.49~4.31 (m, 2H), 3.80~3.66 (m, 5H), 1.26 (t, $J=4.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.39, 162.15, 156.87, 148.23, 130.12, 123.95, 119.04, 115.63, 114.47, 63.60, 58.63, 55.44, 52.15, 13.94. HRMS计算值: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 366.14483; 实测: 366.14505.

化合物7f, 白色固体, 收率为42%, 熔点为167℃~169℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.66 (dt, $J=6.6$, 3.3 Hz, 2H), 7.37~7.30 (m, 2H), 7.25~7.18 (m, 4H), 7.06 (dd, $J=8.6$, 5.2, 1H), 4.48~4.31 (m, 2H), 3.79~3.68 (m, 4H), 1.22 (t, $J=3.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.32, 162.37, 148.11, 136.80, 129.19, 124.78, 123.88, 116.91, 115.65, 63.62, 58.29, 52.29, 13.88. HRMS计算值: $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 336.13427; 实测: 336.13422.

化合物**7g**, 白色固体, 收率为45%, 熔点为195℃~197℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.66 (dd, $J=6.1$, 3.2 Hz, 2H), 7.41 (t, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.32 (dd, $J=6.1$, 3.2 Hz, 2H), 7.13 (t, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J=21.7$, 8.4 Hz, 2H), 4.44~4.37 (m, 2H), 3.78~3.66 (m, 2H), 1.25 (t, $J=3.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.21, 162.32, 137.78, 134.94, 130.13, 124.82, 123.70, 117.50, 114.66, 63.70, 52.56, 13.90. HRMS计算值: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 370.09530; 实测: 370.09551.

化合物**7h**, 白色固体, 收率为47%, 熔点为203℃~205℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 11.01 (s, 1H), 7.64 (dd, $J=5.8$, 3.1 Hz, 2H), 7.34 (dd, $J=6.0$, 3.0 Hz, 2H), 7.23~7.03 (m, 4H), 4.48~4.25 (m, 2H), 3.76 (q, $J=15.1$ Hz, 2H), 1.21 (t, $J=7.1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 168.69, 162.20, 147.32, 135.78, 135.12, 130.05, 129.24, 124.74, 118.12, 115.40, 63.92, 58.69, 52.27, 13.85. HRMS计算值: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 370.09530; 实测: 370.09557.

2.2.2 化合物**13a-f**的合成方法

合成路线如图4所示. 在5.0 mL的微波反应管中将1.0 mmol的苯甲酰甲醛溶于2.0 mL甲醇, 加入1.0 mmol胺, 室温搅拌反应10 min, 然后分别加入1.0 mmol溴乙酸和1.0 mmol异脒, 继续室温下搅拌反应. TLC检测反应, 反应完成后除去溶剂, 残留物溶于DMF (3.0 mL), 加入DIPA (2.0 mmol)置于微波反应器中90℃反应10 min. 反应完成后冷却至室温, 反应液加入15 mL乙酸乙酯, 用饱和食盐水洗(2×10 mL), 有机相用无水硫酸钠干燥, 过滤后减压除去溶剂, 残留物溶于10% TFA/DCE (5.0 mL), 置于微波反应器中100℃反应10 min. 冷却至室温后减压除去溶剂, 残留物溶于15 mL乙酸乙酯, 分别用饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水各洗一次, 有机相用无水硫酸镁干燥后过滤浓缩, 残留物用乙酸乙酯/正己烷(0~30%)梯度洗脱分离得到目标化合物喹啉并氮杂环丁酮**13a-f**.

化合物**13a**, 白色固体, 收率为51%, 熔点为132℃~134℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.11~7.99 (m, 2H), 7.60 (dd, $J=7.6$, 1.4 Hz, 1H), 7.50 (dt, $J=14.3$, 6.8 Hz, 3H), 7.40~7.26 (m, 3H), 7.21~7.12 (m, 3H), 6.96~6.85 (m, 2H), 6.22 (s, 1H), 4.38 (dd, $J=10.6$, 4.7 Hz, 3H), 3.75 (d, $J=15.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ

图4 化合物**13a-f**的合成路线(网络版彩图)

Figure 4 The synthetic route to compounds **13a-f** (color online).

167.15, 164.74, 158.25, 136.94, 135.57, 133.82, 131.97, 129.36, 129.09, 128.40, 127.57, 126.87, 126.52, 124.31, 120.00, 56.03, 53.15, 43.88. HRMS计算值: $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 382.15500; 实测: 382.15511.

化合物**13b**, 白色固体, 收率为48%, 熔点为120℃~122℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.13~8.00 (m, 2H), 7.62 (dd, $J=7.5$, 1.4 Hz, 1H), 7.55~7.45 (m, 3H), 7.37 (dd, $J=7.5$, 1.6 Hz, 1H), 7.31 (dd, $J=16.4$, 7.4, 2H), 5.74 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 4.29 (d, $J=15.4$ Hz, 1H), 3.77~3.63 (m, 2H), 1.68 (dd, $J=19.6$, 15.1 Hz, 2H), 1.45 (t, $J=15.5$ Hz, 3H), 1.29~1.21 (m, 2H), 1.11~0.85 (m, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.11, 164.78, 158.58, 135.67, 133.92, 131.86, 129.23, 128.66, 126.47, 124.27, 119.87, 56.04, 53.04, 48.81, 32.21, 25.21, 24.15. HRMS计算值: $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 374.18630; 实测: 374.18637.

化合物**13c**, 白色固体, 收率为54%, 熔点为139℃~141℃. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.01 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.56 (dd, $J=7.2$, 1.9 Hz, 1H), 7.35 (dd, $J=7.3$, 1.8 Hz, 1H), 7.31~7.26 (m, 1H), 7.24 (dd, $J=7.5$, 1.8 Hz, 1H), 7.19~7.13 (m, 3H), 6.98 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.91 (dd, $J=6.6$, 2.4 Hz, 2H), 6.22 (s, 1H), 4.42~4.33 (m, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.74 (d, $J=15.3$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 167.29, 164.74, 162.69, 157.71, 137.00, 135.77, 130.48, 129.09, 128.57, 127.53, 126.86, 126.56, 124.18, 119.95, 114.22, 55.96, 55.53, 53.09, 43.82. HRMS计算值: $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 412.16557; 实测: 412.16572.

化合物**13d**, 白色固体, 收率为58%, 熔点为123℃~

125°C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.03 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.61~7.54 (m, 1H), 7.39~7.33 (m, 1H), 7.32~7.27 (m, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.25 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 5.73 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 4.28 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.75~3.63 (m, 2H), 1.68 (dd, $J=14.0$, 9.2 Hz, 2H), 1.45 (t, $J=15.3$ Hz, 3H), 1.30~1.20 (m, 2H), 1.12~0.84 (m, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.25, 164.76, 162.58, 158.03, 135.86, 130.55, 128.73, 126.72, 126.42, 124.14, 119.82, 114.14, 55.97, 55.49, 52.99, 48.76, 32.20, 25.21, 24.15. HRMS计算值: $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 404.19687; 实测: 404.19722.

化合物**13e**, 白色固体, 收率为49%, 熔点为145°C~147°C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.07~7.98 (m, 2H), 7.53~7.44 (m, 3H), 7.37 (s, 1H), 7.22~7.17 (m, 2H), 7.15 (t, $J=4.4$ Hz, 2H), 6.92 (dd, $J=7.3$, 1.8 Hz, 2H), 6.22 (s, 1H), 4.41~4.32 (m, 3H), 3.71 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 2.29 (d, $J=4.7$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 167.35, 164.90, 157.24, 138.76, 137.07, 135.08, 134.02, 133.57, 131.65, 130.02, 128.69, 128.27, 127.50, 126.89, 121.97, 120.86, 56.06, 52.80, 43.81, 19.81, 19.48. HRMS计算值: $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 410.18630; 实测: 410.18637.

化合物**13f**, 白色固体, 收率为55%, 熔点为135°C~137°C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.03 (dd, $J=7.8$, 1.8 Hz, 2H), 7.53~7.44 (m, 3H), 7.38 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 5.74 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 4.27 (d, $J=15.3$ Hz, 1H), 3.76~3.63 (m, 2H), 2.30 (d, $J=2.3$ Hz, 6H), 1.79~1.62 (m, 2H), 1.49 (d, $J=4.5$ Hz, 3H), 1.25 (dd, $J=14.8$, 6.6 Hz, 2H), 1.10~0.86 (m, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.35, 165.02, 157.42, 138.63, 134.97, 134.17, 133.63, 131.53, 129.95, 128.70, 128.34, 121.98, 120.68, 56.09, 52.82, 48.91, 32.31, 25.25, 24.29, 19.84, 19.52. HRMS计算值: $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 402.21760; 实测: 402.21781.

2.3 体外抗肿瘤活性测试

本研究采用MTT法检测所有化合物对肿瘤细胞A549、LN229、MDA-MB-453、SW620、DU145生长的抑制作用。人肺癌细胞A549培养在F12K培养基中, 人胶质瘤细胞LN229、人乳腺癌细胞MDA-MB-453和人结肠癌细胞SW620培养在杜氏改良伊格尔培养液(DMEM)培养基中, 人前列腺癌细胞DU145培养

在含非必需氨基酸(NEAA)添加因子的改良伊格尔培养液(MEM)培养基中, 所有的培养基均含有10%的胎牛血清。待细胞长到70%的密度时, 将其按2000~6000个/孔的密度接种到96孔板中, 每孔培养基体积为200 μL 。放入细胞培养箱培养12 h后加入化合物, 使化合物的终浓度为10 μM , 继续培养48 h, 每孔加入20 μL 的MTT继续培养4 h后, 吸掉培养基, 加入200 μL 的DMSO, 放置在水平摇床上水平振荡10 min。在570 nm处用多功能酶标仪(百泰克, 中国)读取各孔的吸光度值。利用GraphPad Prism 6.0计算每个化合物在各个肿瘤细胞中的抑制率, 进行3次重复实验, 每次实验设置6个复孔。

3 结果与讨论

3.1 化合物的合成

3.1.1 苯并咪唑-氮杂环丁酮类化合物的合成

以乙醛酸乙酯**1**、*N*-Boc邻氨基苯基异脒**2**、溴乙酸**3**和胺**4a-h**为原料, 以甲醇为溶剂, 室温下反应, 顺利得到了预期的Ugi产物**5a-h**。以化合物**5a**为原料对分子内关环得到氮杂环丁酮的反应条件进行了优化(网络版补充材料), 结果表明, 最优条件为DIPA作碱在DMF中微波照射反应10 min。在最优条件下以较好的收率得到了化合物**6a-h**。苯并咪唑环的合成参照我们前期的工作: 在10% TFA/DCE溶剂中微波照射120°C反应10 min即可脱去Boc保护关环得到苯并咪唑环(图3)。按照这一实验操作, 以42%~49%的收率合成了苯并咪唑-氮杂环丁酮类化合物**7a-h**(表1)。

3.1.2 喹啉-氮杂环丁酮类化合物的合成

将乙醛酸乙酯换成苯甲酰甲醛**8**, 胺换成Boc保护的邻苯二胺, 在碱性条件下关环得到氮杂环丁酮后脱保护环化可以得到喹啉骨架^[28d]。以溴乙酸、Boc保护的邻苯二胺、芳基甲酰甲醛和异脒为原料, 在甲醇中室温下搅拌过夜, 较高收率地制备了预期的Ugi产物**11a-f**, 化合物**12a-f**的合成使用了上面优化得到的条件: 在DMF中DIPA作碱90°C下微波反应10 min。喹啉环的构筑是在10% TFA/DCE中100°C微波反应10 min。通过变换原料, 经以上两步反应以48%~58%的总收率得到了结构多样性的喹啉-氮杂环丁酮类化合物**13a-f**(表2)。

表1 化合物7a-h的收率

Table 1 The yields of compounds 7a-h

Entry	R ¹	化合物	产量 (%)
1	2-Br-Bn	7a	47
2	Bn	7b	45
3	3-F-Bn	7c	46
4	4-MeO-Bn	7d	49
5	4-MeO-Ph	7e	44
6	Ph	7f	42
7	3-Cl-Ph	7g	45
8	4-Cl-Ph	7h	47

表2 化合物13a-f的收率

Table 2 The yields of compounds 13a-f

Entry	R ²	R ³	R ⁴	化学物	产物 (%)
1	Ph	H	Bn	13a	51
2	Ph	H	cHex	13b	48
3	4-MeO-Ph	H	Bn	13c	54
4	4-MeO-Ph	H	cHex	13d	58
5	Ph	Me	Bn	13e	49
6	Ph	Me	cHex	13f	55

表3 化合物7a-h和13a-f在10 μM时的体外抗肿瘤活性

Table 3 The *in vitro* antitumor activity of compounds 7a-h and 13a-f at the concentration of 10 μM

化合物	A549	LN229	MDA-MB-453	SW620	DU145
7a	6	39	15	18	19
7b	22	34	24	7	32
7c	10	38	13	1	24
7d	24	34	6	2	24
7e	32	53	15	14	15
7f	38	43	9	11	18
7g	36	37	9	5	4
7h	6	30	26	23	15
13a	8	25	15	13	27
13b	32	34	17	1	17
13c	10	37	12	6	5
13d	19	39	15	9	33
13e	31	41	34	36	53
13f	16	39	19	3	21
Paclitaxel (5 μM)	89	88	86	92	95

具有可进一步深入研究的价值(表3)。

3.2 化合物体外抗肿瘤活性研究

为了研究目标化合物的抗肿瘤活性, 选择人肺癌细胞A549、人胶质瘤细胞LN229、人乳腺癌细胞MDA-MB-453、人结肠癌细胞SW620和人前列腺癌细胞DU145作为测试肿瘤细胞, 以紫杉醇(Paclitaxel)作为对照, 利用MTT法检测目标化合物对所测肿瘤细胞的抑制率。体外抗肿瘤活性测试结果表明, 所合成的目标分子具有一定的体外抗肿瘤活性, 其中化合物7e和13e的体外抗肿瘤活性优于其他化合物, 在10 μM浓度时, 7e对LN229以及13e对DU145的抑制率均为53%。

补充材料

本文的补充材料见网络版<http://chemcn.scichina.com>。补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责。

参考文献

- Schreiber SL. *Science*, 2000, 287: 1964–1969
- Ugi I, Dömling A, Hörl W. *Endeavour*, 1994, 18: 115–122

4 结论

通过Ugi反应及后续环化串联反应合成了两类新型2-氮杂环丁酮类化合物, 该反应具有反应条件温和、实验操作简便、原料简单易得等优点, 该方法可用于高效快速合成2-氮杂环丁酮类化合物。体外抗肿瘤活性初步筛选结果表明, 化合物7和13对人胶质瘤细胞LN229和人前列腺癌细胞DU145两株细胞系较敏感。在10 μM浓度时, 7e和13e分别对LN229和DU145的抑制率均为53%, 具有可进一步深入研究的价值。

- 3 Zhu J, Bienayme H. *Multicomponent Reactions*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005
- 4 Dömling A. *Chem Rev*, 2006, 106: 17–89
- 5 Brauch S, van Berkel SS, Westermann B. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 4948–4962
- 6 Hulme C, Dietrich J. *Mol Divers*, 2009, 13: 195–207
- 7 Koopmanschap G, Ruijter E, Orru RV. *Beilstein J Org Chem*, 2014, 10: 544–598
- 8 Sharma UK, Sharma N, Vachhani DD, Van der Eycken EV. *Chem Soc Rev*, 2015, 44: 1836–1860
- 9 Qiu G, Ding Q, Wu J. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 5257–5269
- 10 a) Xu J. *Tetrahedron*, 2012, 68: 10696–10747; b) Deep A, Kumar P, Narasimhan B, Lim SM, Ramasamy K, Mishra RK, Mani V, Mishra RK. *Acta Pol Pharm*, 2016, 73: 93–106
- 11 Wang Y, Zhang H, Huang W, Kong J, Zhou J, Zhang B. *Eur J Med Chem*, 2009, 44: 1638–1643
- 12 Mehta PD, Sengar NPS, Pathak AK. *Eur J Med Chem*, 2010, 45: 5541–5560
- 13 Singh GS. *Mini Rev Med Chem*, 2004, 4: 69–92
- 14 Singh GS. *Mini Rev Med Chem*, 2004, 4: 93–109
- 15 Burnett DA, Caplen MA, Davis HR, Burrier RE, Clader JW. *J Med Chem*, 1994, 37: 1733–1736
- 16 Sutton JC, Bolton SA, Hartl KS, Huang MH, Jacobs G, Meng W, Ogletree ML, Pi Z, Schumacher WA, Seiler SM, Slusarchyk WA, Treuner U, Zahler R, Zhao G, Bisacchi GS. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 3229–3233
- 17 Krishna MT, Chauhan A, Little L, Sampson K, Hawksworth R, Mant T, Djukanovic R, Lee T, Holgate S. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107: 1039–1045
- 18 Aoyama Y, Uenaka M, Kii M, Tanaka M, Konoike T, Hayasaki-Kajiwara Y, Naya N, Nakajima M. *Bioorg Med Chem*, 2001, 9: 3065–3075
- 19 Kumar A, Rajput CS, Bhati SK. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15: 3089–3096
- 20 Sperka T, Pitlik J, Bagossi P, Tözsér J. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 3086–3090
- 21 Desai SB, Desai PB, Desai KR. *Heterocyclic Commun*, 2001, 7: 83–90
- 22 (a) Arumugam N, Periyasami G, Raghunathan R, Kamalraj S, Muthumary J. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 600–607; (b) Shah RJ, Modi NR, Patel MJ, Patel LJ, Chauhan BF, Patel MM. *Med Chem Res*, 2011, 20: 587–594; (c) Davis HR, Veltri EP. *J Atheroscler Thromb*, 2007, 14: 99–108
- 23 Veinberg G, Bokaldere R, Dikovskaya K, Vorona M, Mucel' D, Kazhoka K, Turovskis I, Shestakova I, Kanepe I, Domracheva I, Lukevics E. *Chem Heterocycl Compd*, 1998, 34: 1266–1275
- 24 Sun L, Vasilevich NI, Fuselier JA, Hocart SJ, Coy DH. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 2041–2046
- 25 Veinberg G, Dikovskaya K, Vorona M, Turovskis I, Shestakova I, Kanepe I, Lukevics E. *Chem Heterocycl Compd*, 2005, 41: 93–97
- 26 (a) Walsh CT. *Tetrahedron Lett*, 2015, 56: 3075–3081; (b) Zhang Z, Zheng X, Guo C. *Org Chem*, 2016, 36: 1241–1265 (in Chinese) [张钊瑞, 郑晓霖, 郭长彬, 有机化学, 2016, 36: 1241–1265]; (c) Cao Q, Gong H, Tangadanchu V, Gopala L, Cai G, Zhou C. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 844–858 (in Chinese) [曹泉诚, 工辉, Tangadanchu VKR, Gopala L, 蔡桂鑫, 周成合. 中国科学: 化学, 2017, 47: 844–858]; (d) Cui S, Wang Y, Lv J, Damu G, Zhou C. *Sci Sin Chim*, 2012, 42: 1105–1131 (in Chinese) [崔胜峰, 王艳, 吕敬松, Damu GLV, 周成合. 中国科学: 化学, 2012, 42: 1105–1131]
- 27 (a) Reddy TS, Kulhari H, Reddy VG, Bansal V, Kamal A, Shukla R. *Eur J Med Chem*, 2015, 101: 790–805; (b) Kim MK, Shin H, Park K, Kim H, Park J, Kim K, Nam J, Choo H, Chong Y. *J Med Chem*, 2015, 58: 7596–7602; (c) Singla P, Luxami V, Paul K. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23: 1691–1700
- 28 (a) Conda-Sheridan M, Marler L, Park EJ, Kondratyuk TP, Jermihov K, Mesecar AD, Pezzuto JM, Asolkar RN, Fenical W, Cushman M. *J Med Chem*, 2010, 53: 8688–8699; (b) Zeghida W, Debray J, Chierici S, Dumy P, Demeunynck M. *J Org Chem*, 2008, 73: 2473–2475; (c) Chandra Shekhar A, Shanthan Rao P, Narsaiah B, Allanki AD, Sijwali PS. *Eur J Med Chem*, 2014, 77: 280–287; (d) Li Y, Lei J, Xu J, Tang DY, Chen ZZ, Zhu J, Xu C. *Chin Chem Lett*, 2017, 28: 541–545
- 29 (a) Zhang X, Song G, Cui H, Xu Z, Zhu J, Chen Z. *Sci China Chem*, 2015, 58: 1239–1242; (b) Li Y, Lei J, Chen ZZ, Tang DY, Yuan H, Wang M, Zhu J, Xu ZG. *Eur J Org Chem*, 2016, 2016: 5770–5776; (c) Li SQ, Gao H, Lei J, Wang J, Xu J, Chen ZZ, Xu ZG. *RSC Adv*, 2016, 6: 8461–8464; (d) Li Y, Meng JP, Lei J, Chen ZZ, Tang DY, Zhu J, Zhang J, Xu ZG. *ACS Comb Sci*, 2017, 19: 324–330

Microwave-assisted facile synthesis of 2-azetidinone derivatives and evaluation of their antitumor activities

Yong Li¹, Liu-Jun He¹, Jia Xu¹, Yong Ding¹, Zhi-Gang Xu¹, Jie Lei^{1,2}, Jiang-Ping Meng^{1*}, Jin Zhu^{1,2*}

¹ International Academy of Targeted Therapeutics and Innovation, Chongqing University of Arts and Sciences, Yongchuan 402160, China

² Chengdu Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Science, Chengdu 610041, China

*Corresponding authors (email: mengjp2006@163.com; jinzhu@cioc.ac.cn)

Abstract: Nitrogen heterocyclic scaffold is one of very important derivatives in organic compounds, which possesses a wide range of biological activities and pharmacological activities and also has wide applications in many drugs, clinic trials and scientific researches. So, exploring fast and efficient synthetic methods of nitrogen heterocycles have been one of hot topics in organic chemistry. In this article, two series of 2-azetidinone analogues with potential antitumor activities were designed and synthesized via post-Ugi cascade reaction. The structures of the target molecules were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS spectra. The cancer cell lines LN229, MDA-MB-453, SW620, and DU145 were selected to evaluate the antitumor activity *in vitro* via MTT method. The results showed most compounds exhibited inhibitory activities against the cancer cells. Particularly, compounds **7e** and **13e** exhibited respectful antitumor activities in LN229 and DU145 cancer cell lines respectively with 53% inhibition, which are potential for further drug discovery.

Keywords: 2-azetidinone, Ugi reaction, antitumor activities, benzimidazole, quinoxaline

doi: [10.1360/N032017-00223](https://doi.org/10.1360/N032017-00223)