

· 论 文 ·

N-杂环取代苯并呋喃衍生物的合成及抗肿瘤活性

毛泽伟¹, 万春平², 姜 圆¹, 郭文恋¹, 饶高雄^{1*}(¹云南中医学院药学院, 昆明 650500; ²云南中医学院第一附属医院中心实验室, 昆明 650021)

摘 要 为了寻找具有抗肿瘤活性的新型分子, 以苯并呋喃为基础, 在分子中引入 *N*-杂环片段进行优势结构重组。以水杨醛与 2-溴-4'-氟苯乙酮为原料, 经取代、缩合反应后, 与 *N*-杂环化合物反应, 合成 10 个新型 *N*-杂环取代的苯并呋喃衍生物 (**2a~2j**), 其结构经 ¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 确证。采用 MTT 法初步测试了目标化合物体外抗肿瘤 (HeLa, A549 和 H1975) 活性, 结果表明化合物 **2a**、**2f** 和 **2j** 均表现出较好的抑制活性, 值得进一步深入研究。

关键词 *N*-杂环; 苯并呋喃衍生物; 合成; 抗肿瘤活性

中图分类号 R914.5; R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)01-0058-04

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150106

Synthesis and anti-tumor activity *in vitro* of *N*-heterocycle substituted benzofuran derivatives

MAO Zewei¹, WAN Chunping², JIANG Yuan¹, GUO Wenlian¹, RAO Gaoxiong^{1*}¹School of Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500;²Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China

Abstract To discover the novel compounds with biological activity, *N*-heterocycle substituted derivatives were synthesized based on the structure of benzofuran. A series of novel *N*-heterocycle substituted benzofuran derivatives (**2a-2j**) were synthesized by the reaction of 2-(4'-fluorobenzoyl) benzofuran with *N*-heterocyclic compounds. And the structures were characterized by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. Their anti-tumor activities were studied *in vitro* against a panel of human tumor cell lines (HeLa, A549 and H1975) by the MTT assay. The results indicate that compounds **2a**, **2f** and **2j** are the most potent within this series of compounds against human tumor cell lines, showing that they are promising lead compounds for further structural modifications and biological evaluation.

Key words *N*-heterocycle; benzofuran derivatives; synthesis; anti-tumor activity

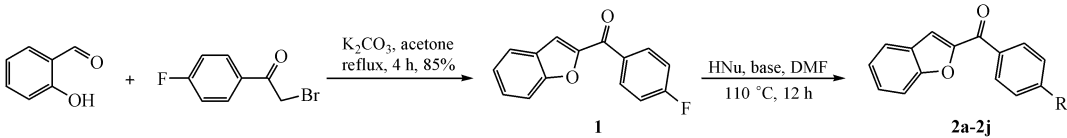
This study was supported by the Applied Basic Research Program of Yunnan Province (No. 2013FZ088)

苯呋喃类化合物广泛存在于多种药用植物中, 因其具有良好的生理活性而备受关注, 如抗肿瘤^[1]、抗病毒^[2-3]、抗菌和抗真菌活性^[3-4]等。天然分子的生理活性一般与药物开发的要求有一定差距, 在植物化学研究的基础上开展基于活性分子结构的合成工作, 是获得更优化分子的有效途径之一, 目前国内外对该类化合物进行了大量构效关系研究^[5-9]。*N*-杂环化合物普遍具有良好的生理活

性而用于药物分子设计及药效研究中, 如咪唑和哌嗪均具有良好的抗菌和抗真菌活性, 是非常重要的医药中间体。在前期工作中, 本课题组对含氮苯并呋喃衍生物和 *N*-杂环取代苯乙酮类化合物进行了合成^[10-11], 在此基础上, 希望将 *N*-杂环片段通过优势结构重组连接到苯并呋喃分子中, 并结合体外抗肿瘤活性测试, 以期得到具有进一步研究价值的化合物。

本研究以水杨醛与 2-溴-4'-氟苯乙酮为原料出发,经取代、缩合反应生成 2-(4'-氟苯甲酰基)苯并呋喃(**1**)后,与氮杂环化合物反应,合成了 10 个新型 *N*-杂环取代苯并呋喃衍生物(**2a**~**2j**),化合

物结构经¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 确证;采用 MTT 法对其体外抗肿瘤活性进行测试,为该类化合物的深入生化研究提供参考。合成路线见路线 1 和表 1。



Scheme 1 Synthesis route of *N*-heterocycle substituted benzofuran derivatives

Table 1 Structures of *N*-heterocycle substituted benzofuran derivatives

Compd.	R	Yield/%
2a		82
2b		78
2c		71
2d		78
2e		72
2f		75
2g		72
2h		70
2i		84
2j		65

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker AM-300 核磁共振波谱仪, TMS 为内标; YANACO 显微熔点仪, 温度未校正; AutoSpec Premier P776 型双聚焦三扇型磁质谱仪; 二氧化碳培养箱 (美国 Thermo-fisher 公司); Epoch 连续波长酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); RPMI-1640 培养基

(美国 Gibco B. R. L 公司); 所有试剂与溶剂均为市售分析纯。

1.2 合成部分

1.2.1 中间体 2-(4'-氟苯甲酰基)苯并呋喃(**1**)的合成
称取水杨醛 2.44 g (20 mmol) 和 K₂CO₃ 5.52 g (40 mmol) 于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入丙酮 60 mL, 在室温搅拌下分批加入 2-溴-4'-氟苯乙酮 4.34 g (20 mmol), 加热回流反应 4 h。TLC 检测反应完成后, 冷却至室温, 真空浓缩。向反应瓶中加入水 80 mL 搅拌 20 min, 抽滤, 固体依次用 10% KOH 溶液 20 mL、水 (20 mL × 3) 洗涤, 干燥, 得到黄褐色固体 4.08 g, 收率 85%。mp: 188.4 ~ 190.6 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.10 ~ 8.15 (2H, dd, *J* = 5.7 Hz, 5.4 Hz, Ar-H), 7.74 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Ar-H), 7.65 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 7.55 (1H, s, 3-CH), 7.51 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Ar-H), 7.32 ~ 7.37 (1H, dd, *J* = 7.8 Hz, 7.2 Hz, Ar-H), 7.19 ~ 7.26 (1H, dd, *J* = 5.1 Hz, 8.7 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 182.75, 164.00, 155.97, 152.14, 133.37, 132.25, 132.13, 128.49, 126.92, 124.10, 123.35, 116.40, 115.93, 115.64, 112.56。

1.2.2 目标化合物 **2a**~**2c** 的合成方法
依次称取化合物 **1** 1.20 g (5 mmol) 和 Cs₂CO₃ 3.26 g (10 mmol) 于 50 mL 圆底烧瓶中, 加入无水 DMF 20 mL 溶解, 再加入咪唑 10 mmol, 并置于 110 °C 反应 12 h。TLC 检测反应完成后, 冷却至室温, 将反应物倒入水 50 mL 中, 搅拌 20 min。抽滤, 固体用水 (20 mL × 3) 洗涤, 干燥后, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1 ~ 30:1) 为洗脱剂进行柱色谱。

化合物 **2a** 黄色固体, mp: 181.4 ~ 183.8 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.26 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, Ar-H), 8.01 (1H, s, 咪唑 2-H), 7.78 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, 咪唑 4-H), 7.54 ~ 7.68 (5H, m, Ar-H, 咪唑 5-H), 7.36 ~ 7.41 (2H, m, Ar-H, 3-CH), 7.28 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, Ar-H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 182.61, 156.05, 152.14, 140.64, 135.75, 135.43, 131.63, 131.21, 128.69, 126.90, 124.21, 123.42, 120.75, 117.78, 116.58, 112.58; HRMS: (*m/z*) Calcd. for C₁₈H₁₃N₂O₂ [*M* + 1]⁺ 289.089 9, Found 289.088 2。

化合物 **2b** 淡黄色固体, mp: 182.7 ~ 185.0 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.21 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 7.71 (1H, d, J = 7.8 Hz, 咪唑 2-H), 7.60 ~ 7.68 (3H, m, Ar-H, 咪唑 4-H), 7.47 ~ 7.57 (2H, m, Ar-H), 7.36 ~ 7.47 (2H, m, Ar-H, 3-CH), 7.11 (1H, d, J = 4.8 Hz, 咪唑 5-H), 2.35 (3H, s, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 181.79, 155.38, 152.23, 140.54, 135.66, 135.03, 132.03, 131.51, 127.87, 126.48, 124.79, 122.49, 120.34, 117.65, 116.52, 111.89, 24.76。

化合物 **2c** 黄色固体, mp: 183.0 ~ 185.2 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (2H, d, J = 6.9 Hz, Ar-H), 7.77 (1H, d, J = 6.9 Hz, Ar-H), 7.63 (2H, s, 3-CH, 咪唑 4-H), 7.46 ~ 7.51 (3H, m, Ar-H, 咪唑 5-H), 7.38 (d, J = 6.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.09 (2H, s, Ar-H), 2.48 (2H, q, J = 5.4 Hz, CH_2), 1.88 (3H, t, J = 4.8 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.73, 156.07, 152.12, 144.53, 141.71, 136.43, 130.93, 128.68, 128.43, 126.89, 125.21, 124.19, 123.40, 120.30, 116.61, 112.55, 24.10, 20.67。

1.2.3 目标化合物 **2d** ~ **2j** 的合成方法 依次称取化合物 **1** 1.20 g (5 mmol) 和 K_2CO_3 1.37 g (10 mmol) 于 50 mL 圆底烧瓶中, 加入无水 DMF 20 mL 溶解, 再加入哌嗪 10 mmol, 并置于 110 °C 反应 12 h。TLC 检测反应完成后, 冷却至室温, 将反应物倒入水 50 mL 中, 搅拌 20 min。抽滤, 固体用水 (20 mL \times 3) 洗涤, 干燥后, 以二氯甲烷为洗脱剂进行硅胶柱色谱分离。

化合物 **2d** 淡黄色固体, mp: 189.7 ~ 191.6 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.34 (2H, d, J = 8.1 Hz, Ar-H), 8.21 (1H, s, 苯并咪唑 2-H), 7.91 (1H, t, J = 4.1 Hz, Ar-H), 7.65 ~ 7.78 (6H, m, Ar-H, 3-CH), 7.56 (1H, t, J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.36 ~ 7.39 (3H, m, Ar-H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.62, 156.10, 152.21, 144.34, 141.85, 140.15, 136.19, 133.14, 131.63, 128.68, 126.92, 124.22, 123.34, 120.95, 116.56, 112.57, 110.50。

化合物 **2e** 黄色固体, mp: 190.3 ~ 191.5 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.32 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.78 (2H, d, J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.67 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.51 ~ 7.58 (3H, m, Ar-H, 3-CH), 7.38 (1H, t, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.29 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.23 (2H, d, J = 3.2 Hz, Ar-H), 2.59 (3H, s, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.78, 162.45, 156.10, 152.05, 151.07, 142.77, 140.01, 137.03, 135.94, 131.24, 128.75, 126.93, 124.23, 123.45, 122.98, 122.80, 119.24, 116.79, 112.56, 109.82, 14.65。

化合物 **2f** 淡黄色黏稠状, ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.09 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 7.71 (2H, d, J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.62 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.48 (1H, s, 3-CH), 7.44 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.32 (1H, t, J = 7.5 Hz, Ar-

H), 6.92 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 3.33 (4H, d, J = 4.5 Hz, NCH_2), 3.01 (4H, d, J = 4.6 Hz, NCH_2), 1.75 (1H, s, NH); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.13, 155.63, 154.62, 153.18, 131.89, 127.61, 127.15, 126.64, 123.72, 122.98, 114.63, 113.29, 112.35, 48.31, 45.83。

化合物 **2g** 淡黄色固体, mp: 166.7 ~ 168.6 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.11 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 7.73 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.65 (1H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.51 (s, 1H, 3-CH), 7.47 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.27 ~ 7.34 (1H, dd, J = 7.5 Hz, 8.1 Hz, Ar-H), 3.43 (4H, t, J = 4.8 Hz, NCH_2), 2.58 (4H, t, J = 4.8 Hz, NCH_2), 2.37 (3H, s, NCH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.31, 155.67, 154.23, 153.11, 131.94, 127.67, 127.16, 126.78, 123.74, 123.01, 114.78, 113.42, 112.44, 54.73, 47.18, 46.16; HRMS: (m/z) Calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ [M] $^+$ 320.1525, Found 320.1509。

化合物 **2h** 黄褐色固体, mp: 203.6 ~ 205.3 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.36 (2H, d, J = 4.8 Hz, Ar-H), 8.13 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 7.73 (1H, d, J = 7.8 Hz, 咪唑 4-H), 7.64 (1H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.51 (1H, s, 3-CH), 7.49 (1H, t, J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.26 ~ 7.34 (1H, dd, J = 7.5 Hz, 7.8 Hz, 咪唑 5-H), 6.99 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 6.56 (1H, t, J = 4.8 Hz, 咪唑 6-H), 4.03 (4H, t, J = 5.1 Hz, NCH_2), 3.53 (4H, t, J = 5.4 Hz, NCH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.22, 161.56, 157.80, 155.69, 154.12, 153.20, 131.98, 127.65, 127.17, 127.00, 123.73, 122.99, 114.70, 113.47, 112.41, 110.37, 47.05, 43.24。

化合物 **2i** 淡褐色黏稠物, ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.10 (2H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.70 (1H, d, J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.62 (1H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.45 (1H, s, 3-CH), 7.42 (1H, d, J = 8.1 Hz, Ar-H), 7.31 (1H, t, J = 7.5 Hz, Ar-H), 6.57 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 3.35 (4H, s, NCH_2), 2.01 (4H, s, CH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 181.84, 155.54, 153.63, 151.22, 132.31, 127.28, 123.99, 123.59, 122.84, 113.96, 112.31, 110.92, 47.59, 25.42。

化合物 **2j** 黄色固体, mp: 185.8 ~ 187.6 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.06 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar-H), 7.72 (1H, d, J = 7.8 Hz, Ar-H), 7.63 (1H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.47 (1H, s, 3-CH), 7.46 (1H, d, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.26 ~ 7.33 (1H, dd, J = 7.5 Hz, 6.9 Hz, Ar-H), 6.45 (2H, d, J = 9.0 Hz, Ar-H), 4.80 ~ 4.87 (1H, m, NH), 4.31 (2H, t, J = 7.8 Hz, NCH_2), 3.84 ~ 3.88 (2H, dd, J = 4.2 Hz, 4.2 Hz, NCH_2), 2.64 (1H, bra, OH); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 182.31, 155.64, 154.08, 153.32, 132.04, 127.55, 127.18, 125.64, 123.70, 122.94, 114.52, 112.36, 110.26, 62.48, 61.06; HRMS: (m/z) Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ [M] $^+$ 293.3166,

Found 293. 313 8。

1. 3 体外抗肿瘤活性实验

以顺铂(DDP)为对阳性对照,以 HeLa、A549 和 H1975 为待测细胞株,采用 MTT 法测定目标化合物的体外抗肿瘤活性。取对数生长期的肿瘤细胞(每毫升 5×10^4 个)接种于 96 孔板中,培养过夜后加入化合物,设置 6 个浓度梯度,每个浓度 3 个复孔。作用 48 h 后,每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μ L,继续培养 4 h,于 3 000 r/min 离心 10 min,吸弃培养液,加入 DMSO 150 μ L 终止反应,于振荡器振荡 10 min,酶标仪 570 nm 波长测定吸收度,并计算 IC₅₀,结果见表 2。

Table 2 IC₅₀ value of *N*-heterocycle substituted benzofuran derivatives (2a-2j) against human tumor cell lines *in vitro*

Compd.	IC ₅₀ /(μ mol/L)		
	HeLa	A549	H1975
2a	30. 13	> 50	21. 18
2b	> 50	35. 96	> 50
2c	> 50	> 50	> 50
2d	> 50	32. 12	> 50
2e	> 50	> 50	> 50
2f	26. 23	> 50	19. 26
2g	> 50	> 50	28. 26
2h	> 50	> 50	> 50
2i	> 50	> 50	> 50
2j	21. 20	> 50	15. 31
DDP	15. 18	16. 65	5. 26

DDP: cisplatin

2 结果与讨论

2. 1 化合物合成

咪唑类化合物与氟苯的取代反应大多以碳酸钾作碱,但在合成目标化合物时发现反应收率较低,当以碳酸铯作碱时,反应收率明显提高。可能是由于碳酸铯的碱性较强,使咪唑的亲核反应活性增强。哌嗪类化合物与氟苯的取代反应相对较容易,但在合成目标化合物时发现,哌嗪和 *N*-甲基哌嗪在加热时易挥发,所以增加哌嗪的用量可以明显提高反应收率。

2. 2 目标化合物的活性

结果显示,化合物 2a、2f 和 2j 体外抗肿瘤活

性较强,且表现出对于不同细胞株有选择性的抑制,可作进一步研究。从化合物结构上来看,咪唑、哌嗪和氮杂环丁烷取代的衍生物活性明显高于其他杂环化合物,并且杂环上有取代基时会降低化合物的细胞毒活性,这为深入开展此类化合物的构效关系研究提供了参考。

参 考 文 献

[1] Akgul YY, Anil H. Benzofurans and another constituent from seeds of *Styrax officinalis* [J]. *Phytochemistry*, 2003, **63** (8): 939 – 943.

[2] Sheen WS, Tsai IL, Teng CM, *et al.* Nor-neolignan and phenyl propanoid from *Zanthoxylum ailanthoides* [J]. *Phytochemistry*, 1994, **36** (1): 213 – 215.

[3] Pauletti PM, Araújo AR, Young MC, *et al.* Nor-lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity [J]. *Phytochemistry*, 2000, **55** (6): 597 – 601.

[4] Pacher T, Seger C, Engelmeier D, *et al.* Antifungal stilbenoids from *Stemona collinsae* [J]. *J Nat Prod*, 2002, **65** (6): 820 – 827.

[5] Romeo R, Pier G, Taradas S, *et al.* Synthesis and biological evaluation of 2-(3',4',5'-trimethoxybenzoyl)-3-*N,N*-dimethylamino-benzo[*b*]furan derivatives as inhibitors of tubulin polymerization [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, **16** (18): 8419 – 8426.

[6] Shen F, Hu AX, Luo XF, *et al.* Synthesis and bioactivity of (*E*)-2-benzylidenimino-4-(7-methoxy-2, 2-dimethyl-2, 3-dihydro-benzofuran-5-yl) thiazole [J]. *Chin J Org Chem* (有机化学), 2012, **32** (2): 388 – 392.

[7] Wang B, Lai YS, Zhang YH. Advances in the research of benzofuran compounds [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2008, **32** (8): 351 – 356.

[8] Zhou JM, Ni PZ, Fu JH, *et al.* Synthesis and hypotensive activity of benzofuran and dihydrobenzofuran analogues [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1999, **30** (6): 401 – 405.

[9] Yang XD, Wan WC, Deng XY, *et al.* Design, synthesis and cytotoxic activities of novel hybrid compounds between 2-phenylbenzofuran and imidazole [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, **22** (8): 2726 – 2729.

[10] Mao ZW, Guo WL, Jiang Y, *et al.* Synthesis of novel 2-benzoyl benzo[*b*]furan derivatives [J]. *Chin J Synth Chem* (合成化学), 2014, **22** (6): 785 – 788.

[11] Mao ZW, Wan CP, Zheng X, *et al.* Synthesis and biological activities of novel hybrid compounds between piperazine and acetophenone [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2014, **45** (5): 517 – 521.