

1-(5-取代糠基)吲哚啉-2-酮衍生物的合成和初步抗肿瘤活性

董肖椿, 周福生, 郑剑斌, 闻 韧*

(复旦大学 药学院 药物化学教研室, 上海 200032)

摘要: 为了寻找具有较好抗肿瘤活性的新型吲哚啉-2-酮类化合物, 本研究以 5-甲酰基-2,4-二甲基-1*H*-吡咯-3-羧酸乙酯与 5 位不同取代的吲哚啉-2-酮(2a ~ 2d)为原料, 首先经缩合得 3-吡咯亚甲基-吲哚啉-2-酮(3a ~ 3d), 再经 *N* 羟化反应得到 1-(5-甲酰基糠基)-3-(吡咯亚甲基)-吲哚啉-2-酮(4a ~ 4d), 然后与吲哚啉-2-酮缩合得到以 5-亚甲基糠基连接的双吲哚啉-2-酮化合物(5a ~ 5d)。所合成的 12 个新型吲哚啉-2-酮类化合物的结构经核磁共振谱、质谱和元素分析确认。采用四氮唑盐(MTT)还原法测试所合成化合物的体外抗肿瘤活性, 结果表明所合成的化合物均有一定的抗肿瘤作用, 其中 6 个化合物对 SPC-A1 肺癌肿瘤株体外抑制活性优于舒尼替尼, 特别是化合物 5a ~ 5d, IC_{50} 值均小于 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 值得作为抗肿瘤药物先导化合物。

关键词: 合成; 抗肿瘤; 吲哚啉-2-酮; 衍生物

中图分类号: R916.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513 - 4870(2008)01 - 0054 - 06

Synthesis of 1-furfuryl-indolin-2-one derivatives and preliminary evaluation of their antitumor activities

DONG Xiao-chun, ZHOU Fu-sheng, ZHENG Jian-bin, WEN Ren*

(Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: In order to find new indolin-2-one derivatives as antitumor agents, a series of 3-pyrrole substituted 1-(5-formyl-2-furanylmethyl) indolin-2-one derivatives were designed and synthesized. 5-Formyl-2,4-dimethyl-1*H*-pyrrole-3-carboxylic acid ethyl ester was condensed with 5-substituted indolin-2-one 2a - 2d to afford 3-[(pyrrol-2-yl)-methylidene]indolin-2-ones 3a - 3d. Through *N*-alkylation, 1-(5-formyl-furfuryl)-indolin-2-one 4a - 4d were prepared. Compounds 4a - 4d were then condensed with indolin-2-one to afford bis-indolin-2-one derivatives 5a - 5d. The structures of the synthesized compounds were determined by ^1H NMR, MS and element analysis. Antitumor activities of all the synthesized compounds *in vitro* were tested. All the 12 synthesized compounds possess antitumor activities against SPC-A1 strain. Especially the compounds 5a - 5d possess potent antitumor activities better than sunitinib. Their IC_{50} are all below $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: synthesis; antitumor; indolin-2-one; derivative

靛玉红是我国科学家在 20 世纪 70 年代中期发现的具有双吲哚啉类结构的抗肿瘤药物, 对多种肿瘤有明显抑制作用; 其对慢性粒细胞白血病的疗效与白消安相当, 且具有临床疗效可靠, 毒副作用小, 对

骨髓无明显抑制作用等特点。靛玉红(图 1)的主要缺点是溶解性不佳, 水溶性和脂溶性均较差, 经口服给药影响吸收, 临床应用显效较慢, 并有胃肠道副作用^[1]。

以 SU5416、SU6668 和 SU11248(图 2)为代表的 3-取代-吲哚啉-2-酮类化合物具有受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)抑制活性, 此类化合物和 ATP 竞争性结合于多种生长因子受体的

收稿日期: 2007-08-10.

基金项目: 上海市卫生局青年科研基金资助项目(2006Y14).

* 通讯作者 Tel: 86 - 21 - 54237560, Fax: 86 - 21 - 64033265,
E-mail: rwen@shmu.edu.cn

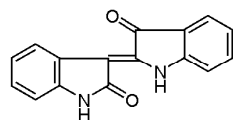


Figure 1 Structure of indirubin

酪氨酸激酶域,抑制酪氨酸激酶自磷酸化,阻断生物信号的转导^[2~4],从而抑制肿瘤血管生成。其中舒尼替尼(sunitinib、SU1248)是由SUGEN和辉瑞公司研制的一个口服的、多靶点的受体酪氨酸激酶抑制剂,于2006年1月上市,临床用于标准治疗无效或不能耐受的恶性胃肠道间质瘤和转移性肾细胞癌的治疗。

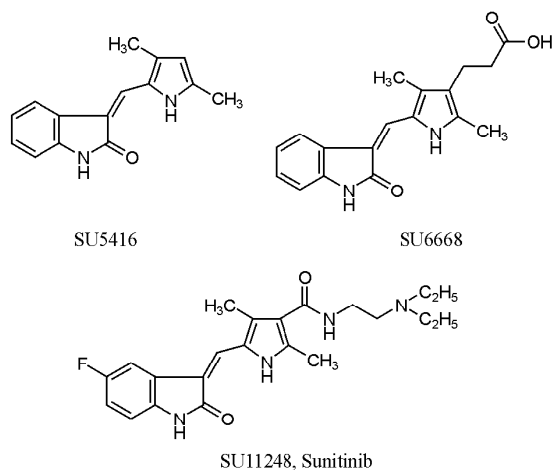


Figure 2 Structures of 3-substituted indolin-2-ones

最近,作者^[5]以靛玉红为先导化合物合成了一系列1-(5-甲酰基糠基)-3-(芳基亚甲基)吲哚啉-2-酮类化合物,体外抗肿瘤实验表明此类化合物对CACO-2结肠癌细胞具有较强的抑制作用,其中(Z)-1-(5-甲酰基糠基)-3-(4-硝基苯亚甲基)-5-溴吲哚啉-2-酮抑制CACO-2细胞的 IC_{50} 值达 $0.19 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

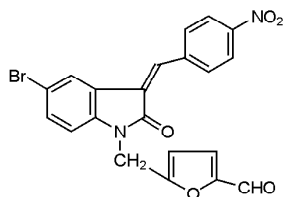


Figure 3 Structure of 1-(5-formylfurfuryl) indolin-2-one

为寻找新型吲哚啉-2-酮类抗肿瘤药物的先导化合物,作者以舒尼替尼、靛玉红和本课题组前期发现具有较好抗肿瘤作用的1-(5-甲酰基糠基)-3-(芳基亚甲基)吲哚啉-2-酮类化合物作为先导化合物,设计合成了新型吲哚啉-2-酮类似物12个,所合成化合物结构和理化光谱数据见表1和表2。

参照文献[6]采用Knorr吡咯合成法合成起始原料5-甲酰基-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸乙酯(1);参照文献[7~9]方法合成5位不同取代的吲哚啉-2-酮(2a~2d)。

将5-甲酰基-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸乙酯(1)与吲哚啉-2-酮(2a~2d)在乙醇中回流,加少量吡啶作为碱进行催化,缩合得到3-吡咯亚甲基-吲哚啉-2-酮(3a~3d)。此缩合反应产物只得到一种几何异构体,分析其历程认为,化合物3的Z式异构体中吡咯1位的氢原子容易和吲哚啉-2-酮结构中2位的羰基氧原子形成稳定的氢键,因而反应几乎只得到稳定的Z式异构体没有分离到E式异构体,这与文献^[9]报道的类似反应结果相一致。为进一步证实产物的几何构型,作者测定了化合物3b的NOE谱,结果显示,吲哚啉-2-酮4位芳香氢原子(δ 8.12)与烯基氢原子(δ 7.79)之间有明显的相互作用,而与吡咯甲基氢原子之间无明显相互作用,表明化合物为Z式异构体。

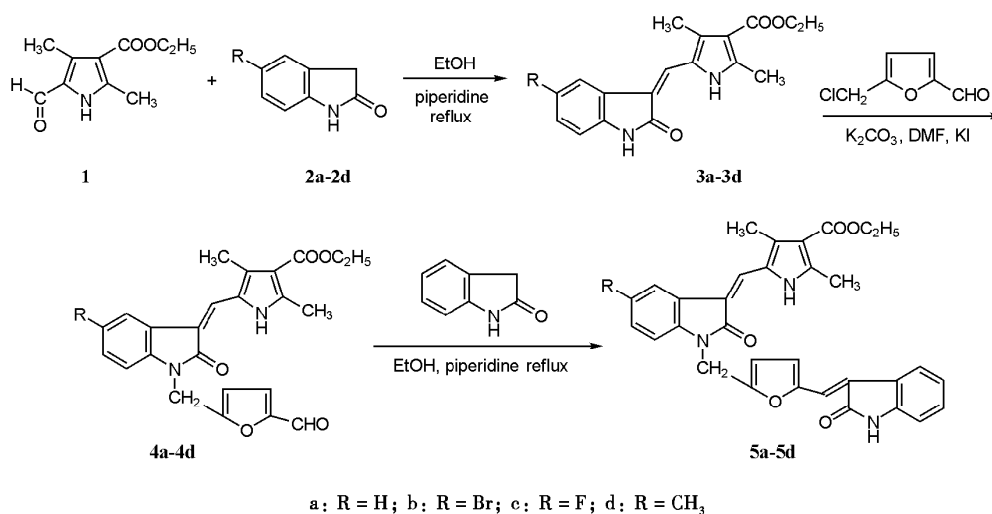
化合物3a~3d在碳酸钾碱性条件下与氯甲基咪喃甲醛进行N烷基化反应,得到1-(5-甲酰基糠基)-3-(吡咯亚甲基)-吲哚啉-2-酮(4a~4d);后者与吲哚啉-2-酮缩合,得到以5-亚甲基糠基连接的双吲哚啉-2-酮化合物(5a~5d)。本文中合成的3-吡咯亚甲基-吲哚啉-2-酮(3c,3d)、1-(5-甲酰基糠基)-3-(吡咯亚甲基)-吲哚啉-2-酮(4a~4d)和双吲哚啉-2-酮化合物(5a~5d)均为新化合物,未见文献报道。

Table 1 Structures, physical and spectra data and biological activities of compounds 3a-3d and 4a-4d

No.	Structure	Yield /%	mp / $^{\circ}\text{C}$	MS (ESI, m/z)	IC_{50} / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
3a	R = H	89.3	290 - 292	311 [M + H] ⁺	40.6
3b	R = Br	93.5	> 300	390 [M + H] ⁺	5.35
3c	R = F	92.1	284 - 285	329 [M + H] ⁺	8.05
3d	R = CH ₃	88.2	268 - 270	325 [M + H] ⁺	13.27
4a	R = H	82.8	173 - 175	419 [M + H] ⁺	14.73
4b	R = Br	78.3	207 - 209	498 [M + H] ⁺	17.51
4c	R = F	86.0	162 - 164	437 [M + H] ⁺	34.57
4d	R = CH ₃	75.3	194 - 196	433 [M + H] ⁺	37.60

Table 2 Structures, physical and spectral data and biological activities of compounds **5a-5d**

No.	Structure	Yield /%	mp /°C	MS (ESI, <i>m/z</i>)	Element analysis/%	Caled. (Found)			IC ₅₀ /μmol · L ⁻¹
						C	H	N	
5a	R = H	76.1	> 300	534 [M + H] ⁺	C ₃₂ H ₂₇ N ₃ O ₅	72.03 (71.78)	5.10 (5.12)	7.87 (7.84)	4.09
5b	R = Br	87.0	> 300	613 [M + H] ⁺	C ₃₂ H ₂₆ BrN ₃ O ₅	62.75 (62.58)	4.28 (4.30)	6.86 (6.84)	2.80
5c	R = F	82.0	> 300	552 [M + H] ⁺	C ₃₂ H ₂₆ FN ₃ O ₅	69.68 (69.47)	4.75 (4.76)	7.62 (7.60)	3.09
5d	R = CH ₃	87.6	> 300	548 [M + H] ⁺	C ₃₃ H ₂₉ N ₃ O ₅	72.38 (72.14)	5.34 (5.35)	7.67 (7.64)	4.11

**Scheme 1** Route of synthesis

采用四氮唑盐 (MTT) 还原法对所合成的 12 个新型吲哚啉-2-酮化合物的体外抗肿瘤活性进行了初步筛选, 以舒尼替尼作为阳性对照, 测试它们对 SPC-A1 肺癌肿瘤株的体外抗肿瘤活性。结果显示所合成的化合物均有一定的体外抑制活性, 实验结果分别见表 1 和表 2。

体外抗肿瘤实验结果表明, 以 5-亚甲基糠基连接的双吲哚啉-2-酮类化合物 (**5a~5d**) 对于 SPC-A1 肺癌肿瘤株的体外抗肿瘤活性要明显优于 1-(5-甲酰基糠基)-吲哚啉-2-酮类化合物 (**4a~4d**) 和 3-吡咯亚甲基-吲哚啉-2-酮 (**3a~3d**), 这说明可能吲哚啉-2-酮结构是此类化合物具有抗肿瘤作用的主要药效基团。另外母体吲哚啉-2-酮 5 位上的取代基对体外抗肿瘤作用有一定的影响。5 位引入卤素能增强活性, 这可能与卤素的特殊生理效应有关, 其中溴代的活性略优于氟代化合物; 而 5 位引入甲基对活性影响不明显。本文所合成的化合物中有 6 个化合物的体外抗肿瘤活性优于舒尼替尼 (IC₅₀ = 9.92 μmol · L⁻¹), 特别是以 5-亚甲基糠基连接的双吲哚啉-2-酮类化合物 (**5a~5d**) 具有较好的抑制活性, 其

IC₅₀ 值均小于 5 μmol · L⁻¹, 值得作为抗肿瘤药物先导化合物而进行进一步研究。

实验部分

熔点用毛细管法测定, 温度未经校正。¹H NMR 用 Varian INOVA 400 MHz 核磁共振仪测定; 质谱用 Agilent 1100 Series LC/MSD G1946D 电喷雾质谱仪测定; 元素分析用 VARIO EL 元素分析仪测定。氯甲基呋喃甲醛按文献 [10] 方法合成。体外抗肿瘤活性测试中 RPMI 1640 培养基购自 Gibco 公司; 四氮唑盐 (MTT) 购自上海源聚生物科技有限公司; 酶标仪采用 Elx 800 (Bio-tek Instrument Inc.); SPC-A1 肺癌肿瘤细胞购自国家新药筛选中心。

1 (Z)-2,4-二甲基-5-[(1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯 (**3a**) 的合成

在 50 mL 烧瓶中加入 5-甲酰基-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸 0.70 g (3.59 mmol)、吲哚啉-2-酮 0.40 g (3 mmol)、乙醇 9 mL、哌啶数滴, 氮气保护下搅拌回流 3 h 后出现大量固体。冷却后抽滤, 滤饼用乙醇洗涤、真空干燥得橙黄色固体 0.83 g, 收率

89.3%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.30 (t, 3H, *J* = 7.10, COOCH₂CH₃), 2.49 (s, 3H, pyrrole-3-CH₃), 2.54 (s, 3H, pyrrole-5-CH₃), 4.21 (q, 2H, *J* = 7.10, COOCH₂CH₃), 6.89 (d, 1H, *J* = 7.66, indole-H₇), 7.00 (t, 1H, *J* = 7.56, indole-H₆), 7.15 (t, 1H, *J* = 7.57, indole-H₅), 7.65 (s, 1H, vinyl-H), 7.80 (d, 1H, *J* = 7.46, indole-H₄), 10.95 (s, 1H, indole-NH), 13.88 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

2 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-(5-溴-1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(3b)的合成

化合物**3b**按类似**3a**方法合成,为橙黄色固体,收率93.5%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.29 (t, 3H, *J* = 7.03, COOCH₂CH₃), 2.49 (s, 3H, pyrrole-3-CH₃), 2.52 (s, 3H, pyrrole-5-CH₃), 4.19 (q, 2H, *J* = 7.03, COOCH₂CH₃), 6.79 ~ 6.82 (d, 1H, *J* = 8.25, indole-H₇), 7.24 ~ 7.28 (dd, 1H, *J* = 8.25, 1.84, indole-H₆), 7.79 (s, 1H, vinyl-H), 8.12 (d, 1H, *J* = 1.83, indole-H₄), 11.05 (s, 1H, indole-NH), 13.85 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

3 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-(5-氟-1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(3c)的合成

化合物**3c**按类似**3a**方法合成,为橙黄色固体,收率92.1%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.30 (t, 3H, *J* = 7.03, COOCH₂CH₃), 2.49 (s, 3H, pyrrole-3-CH₃), 2.53 (s, 3H, pyrrole-5-CH₃), 4.20 (q, 2H, *J* = 7.03, COOCH₂CH₃), 6.81 ~ 6.85 (dd, 1H, *J* = 8.55, 4.58, indole-H₇), 6.90 ~ 6.96 (m, 1H, *J* = 8.56, 2.75, indole-H₆), 7.75 (s, 1H, vinyl-H), 7.77 ~ 7.81 (dd, 1H, *J* = 9.17, 2.65, indole-H₄), 10.95 (s, 1H, indole-NH), 13.90 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

4 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-(5-甲基-1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(3d)的合成

化合物**3d**按类似**3a**方法合成,为橙黄色固体,收率88.2%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.30 (t, 3H, *J* = 7.31, COOCH₂CH₃), 2.30 (s, 3H, indole-5-CH₃), 2.50 (s, 3H, pyrrole-3-CH₃), 2.53 (s, 3H, pyrrole-5-CH₃), 4.21 (q, 2H, *J* = 7.31, COOCH₂CH₃), 6.75 ~ 6.78 (d, 1H, *J* = 7.80, indole-H₇), 6.93 ~ 6.97 (d, 1H, *J* = 7.31, indole-H₆), 7.63 (s, 1H, vinyl-H), 7.64 (s, 1H, indole-H₄), 10.86 (s, 1H, indole-

NH), 13.85 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

5 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-(5-甲酰基咪喃-2-基)甲基]-1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(4a)的合成

在50 mL烧瓶中加入(Z)-2,4-二甲基-5-[1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(**3a**) 0.40 g (1.3 mmol)、碳酸钾 0.27 g (1.94 mmol)、DMF 9 mL、室温搅拌30 min后加入氯甲基咪喃甲醛 0.28 g (1.94 mmol)、碘化钾 30 mg,氮气保护下继续室温搅拌3 h, TLC显示反应结束。加入30 mL乙酸乙酯和30 mL水,搅拌后分离,水相用乙酸乙酯提取,合并有机相后用水洗涤5次,用饱和食盐水洗涤3次,无水硫酸镁干燥。过滤蒸干后得黄色固体 0.45 g,收率82.8%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.30 (t, 3H, *J* = 7.06, COOCH₂CH₃), 2.50 (s, 3H, pyrrole-3-CH₃), 2.55 (s, 3H, pyrrole-5-CH₃), 4.22 (q, 2H, *J* = 7.06, COOCH₂CH₃), 5.15 (s, 2H, furan-CH₂), 6.74 (d, 1H, *J* = 2.97, furan-H), 7.05 ~ 7.10 (t, 1H, *J* = 7.45, indole-H₆), 7.11 ~ 7.16 (d, 1H, *J* = 7.78, indole-H₇), 7.19 ~ 7.24 (t, 1H, *J* = 7.61, indole-H₅), 7.48 (d, 1H, *J* = 2.95, furan-H), 7.73 (s, 1H, vinyl-H), 7.85 ~ 7.90 (d, 1H, *J* = 7.50, indole-H₄), 9.50 (s, 1H, CHO), 13.70 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

6 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-(5-甲酰基咪喃-2-基)甲基]-5-溴-1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(4b)的合成

化合物**4b**按类似**4a**方法合成,为黄色固体,收率78.3%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.30 (t, 3H, *J* = 7.07, COOCH₂CH₃), 2.52 (s, 3H, pyrrole-3-CH₃), 2.56 (s, 3H, pyrrole-5-CH₃), 4.21 (q, 2H, *J* = 7.07, COOCH₂CH₃), 5.20 (s, 2H, furan-CH₂), 6.74 (d, 1H, *J* = 3.42, furan-H), 7.10 (d, 1H, *J* = 8.78, indole-H₇), 7.33 ~ 7.37 (dd, 1H, *J* = 8.29, 1.95, indole-H₆), 7.49 (d, 1H, *J* = 3.42, furan-H), 7.90 (s, 1H, vinyl-H), 8.23 (d, 1H, *J* = 1.95, indole-H₄), 9.50 (s, 1H, CHO), 13.60 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

7 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-(5-甲酰基咪喃-2-基)甲基]-5-氟-1,2-二氢-2-氧代-吲哚-3-基)亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(4c)的合成

化合物**4c**按类似**4a**方法合成,为黄色固体,收率86.0%。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ: 1.30 (t, 3H,

$J=7.04$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 2.50 (s, 3H, pyrrole-3- CH_3), 2.55 (s, 3H, pyrrole-5- CH_3), 4.20 (q, 2H, $J=7.03$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 5.20 (s, 2H, furan- CH_2), 6.74 (d, 1H, $J=3.67$, furan-H), 6.98 ~ 7.04 (m, 1H, $J=9.47$, 2.45 indole- H_6), 7.10 ~ 7.14 (dd, 1H, $J=8.86$, 4.58, indole- H_7), 7.47 (d, 1H, $J=3.67$, furan-H), 7.82 (s, 1H, vinyl-H), 7.87 ~ 7.92 (dd, 1H, $J=9.47$, 2.44, indole- H_4), 9.46 (s, 1H, CHO), 13.65 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

8 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-[(5-甲酰基咪唑-2-基)甲基]-5-甲基-1,2-二氢-2-氧代-咪唑-3-烯基]甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(4d)的合成

化合物 4d 按类似 4a 方法合成,为黄色固体,收率 75.3%。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.30 (t, 3H, $J=7.07$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 2.30 (s, 3H, indole-5- CH_3), 2.50 (s, 3H, pyrrole-3- CH_3), 2.54 (s, 3H, pyrrole-5- CH_3), 4.20 (q, 2H, $J=7.07$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 5.20 (s, 2H, furan- CH_2), 6.71 (d, 1H, $J=3.41$, furan-H), 7.00 (d, 2H, $J=0.97$, indole- H_4 , H_7), 7.47 (d, 1H, $J=3.42$, furan-H), 7.70 (s, 1H, vinyl-H), 7.70 ~ 7.72 (d, 1H, $J=3.41$, indole- H_6), 9.45 (s, 1H, CHO), 13.62 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表1。

9 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-[[5-[(咪唑啉-2-酮-3-基)亚甲基]-咪唑-2-基]甲基]-1,2-二氢-2-氧代-咪唑-3-基]亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(5a)的合成

在 50 mL 烧瓶中加入 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-[(5-甲酰基咪唑-2-基)甲基]-1,2-二氢-2-氧代-咪唑-3-基]亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(4a) 0.14 g (0.28 mmol)、咪唑啉-2-酮 0.036 g (0.27 mmol)、乙醇 5 mL、哌啶数滴,氮气保护下搅拌回流 3 h 后出现大量固体。冷却后抽滤,滤饼用乙醇洗涤、真空干燥得橙黄色固体 0.15 g, 收率 76.1%。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.30 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 2.50 (s, 3H, pyrrole-3- CH_3), 2.55 (s, 3H, pyrrole-5- CH_3), 4.25 (m, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 5.35 (s, 2H, furan- CH_2), 6.68 (d, 1H, furan-H), 6.78 (m, 1H, indole-H), 6.95 (m, 1H, indole-H), 7.12 (d, 2H, indole-H), 7.24 ~ 7.37 (m, 4H, indole-H, vinyl-H, furan-H), 7.73 (s, 1H, vinyl-H), 7.88 (m, 1H, indole-H), 8.15 (m, 1H, indole-H), 10.95 (s, 1H, indole-NH), 13.70 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表2。

10 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-[[5-[(咪唑啉-2-酮-3-基)亚甲基]-咪唑-2-基]甲基]-5-溴-1,2-二氢-2-氧

代-咪唑-3-基]亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(5b)的合成

化合物 5b 按类似 5a 方法合成,为橙黄色固体,收率 87.0%。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.30 (t, 3H, $J=7.03$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 2.52 (s, 3H, pyrrole-3- CH_3), 2.60 (s, 3H, pyrrole-5- CH_3), 4.20 (q, 2H, $J=7.03$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 5.35 (s, 2H, furan- CH_2), 6.62 ~ 6.67 (t, 1H, $J=8.04$, indole- H_5), 6.73 ~ 6.77 (d, 1H, $J=7.31$, indole- H_7), 6.94 (d, 1H, $J=3.42$, furan-H), 7.05-7.10 (t, 1H, $J=7.31$, indole- H_6), 7.18 ~ 7.21 (m, 3H, indole-H, vinyl-H, furan-H), 7.34 ~ 7.37 (dd, 1H, $J=8.54$, 1.95, indole- H_6), 7.93 (s, 1H, vinyl-H), 8.10 (d, 1H, $J=7.80$, indole-H), 8.25 (d, 1H, $J=1.95$, indole- H_4), 10.46 (s, 1H, indole-NH), 13.80 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表2。

11 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-[[5-[(咪唑啉-2-酮-3-基)亚甲基]-咪唑-2-基]甲基]-5-氟-1,2-二氢-2-氧代-咪唑-3-基]亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(5c)的合成

化合物 5c 按类似 5a 方法合成,为橙黄色固体,收率 82.0%。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.30 (t, 3H, $J=7.03$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 2.51 (s, 3H, pyrrole-3- CH_3), 2.60 (s, 3H, pyrrole-5- CH_3), 4.21 (q, 2H, $J=7.02$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 5.32 (s, 2H, furan- CH_2), 6.62 ~ 6.67 (t, 1H, $J=7.63$, indole- H_5), 6.74 ~ 6.77 (d, 1H, $J=7.33$, indole- H_7), 6.95 (d, 1H, $J=3.67$, furan-H), 7.00 ~ 7.10 (m, 2H, indole-H), 7.19 ~ 7.24 (m, 3H, indole-H, vinyl-H, furan-H), 7.85 (s, 1H, vinyl-H), 7.89 ~ 7.93 (dd, 1H, $J=9.17$, 2.45, indole- H_6), 8.11 ~ 8.14 (d, 1H, $J=7.33$, indole-H), 10.45 (s, 1H, indole-NH), 13.82 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表2。

12 (Z)-2,4-二甲基-5-[1-[[5-[(咪唑啉-2-酮-3-基)亚甲基]-咪唑-2-基]甲基]-5-甲基-1,2-二氢-2-氧代-咪唑-3-基]亚甲基]-1H-吡咯-3-甲酸乙酯(5d)的合成

化合物 5d 按类似 5a 方法合成,为橙黄色固体,收率 87.6%。 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.30 (t, 3H, $J=7.05$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 2.30 (s, 3H, indole-5- CH_3), 2.50 (s, 3H, pyrrole-3- CH_3), 2.60 (s, 3H, pyrrole-5- CH_3), 4.21 (q, 2H, $J=7.05$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), 5.29 (d, 2H, furan- CH_2), 6.62-6.67 (m, 1H, indole- H_5), 6.73 ~ 6.76 (d, 1H, $J=7.82$, indole- H_7), 6.94 (d,

1H, $J = 3.52$, furan-H), 6.98 ~ 7.02 (d, 1H, indole-H), 7.05 ~ 7.11 (m, 2H, indole-H), 7.18 ~ 7.20 (m, 2H, vinyl-H, furan-H), 7.72 ~ 7.76 (m, 2H, vinyl-H, indole-H), 8.12 ~ 8.15 (d, 1H, $J = 7.43$, indole-H), 10.45 (s, 1H, indole-NH), 13.80 (s, 1H, pyrrole-NH)。其他理化、光谱数据见表2。

13 MTT 法体外抗肿瘤活性测试

将处于对数生长期的 SPC-A1 肿瘤细胞接种于 96 孔板内, 在 37 °C、5% CO₂、RPMI 1640 培养基中培养 48 h 后加入化合物, 对每个细胞株, 每个浓度均为三个复孔。继续培养 48 h 后, 每孔加 50 μL MTT 溶液 (2 mg · mL⁻¹), 再培养 4 h 后弃去上清液, 每孔加入 DMSO 100 μL, 用酶标仪在 570 nm 波长处检测光密度, 然后按公式 [抑制率 = (对照组 OD 值 - 治疗组 OD 值) / 对照组 OD 值 × 100%] 计算被测物对癌细胞生长的抑制率, 并以化合物浓度的对数和抑制率作回归方程, 计算 IC₅₀ 值。

致谢: 复旦大学药学院张志文在体外抗肿瘤活性测试中给予热心帮助。

References

- [1] Xiao Z, Hao Y, Liu B, et al. Indirubin and meisoindigo in the treatment of chronic myelogenous leukemia in China [J]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43:1763 - 1768.
- [2] Carter SK. Clinical strategy for the development of angiogenesis inhibition [J]. *Oncologist*, 2000, 5 (Suppl):51 - 54.
- [3] Laird AD, Vajkoczy P, Shawver LK, et al. SU6668 is a potent antilangiogenic and antitumor agent that induces regression of established tumors [J]. *Cancer Res*, 2000, 60:4152 - 4160.
- [4] Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM, et al. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. *JAMA*, 2006, 295:2516 - 2524.
- [5] Wen R, Zhou FS, Dong XC, et al. 1-Furfuryl-3-substituted-indolin-2-one derivatives, preparation and application: Chinese Patent (中国专利), Applied No: 200610119183.4 [P]. 2006-12-05.
- [6] Sun L, Liang C, Shirazian S, et al. Discovery of 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihydro indol-(3Z)-ylidenemethyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (2-diethylaminoethyl) amide, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase [J]. *J Med Chem*, 2003, 46:1116 - 1119.
- [7] Carlo FJ. Synthesis of oxindole [J]. *J Am Chem Soc*, 1944, 66:1420 - 1420.
- [8] Yen VQ, Buu-Hot NP, Xuong ND. Fluorinated isatins and some of their heterocyclic derivatives [J]. *J Org Chem*, 1958, 23:1858 - 1861.
- [9] Sun L, Tran N, Tang F, et al. Synthesis and biological evaluations of 3-substituted indolin-2-ones: a novel class of tyrosine kinase inhibitors that exhibit selectivity toward particular receptor tyrosine kinases [J]. *J Med Chem*, 1998, 41:2588 - 2603.
- [10] Yu F, Wen R. New synthesis of the natural product 5,5'-oxydimethylene-bis-(2-furfural) [J]. *Chin J Med Chem (中国药物化学杂志)*, 2002, 12:285 - 286.