

Salan 钛双齿配合物的 Sonogashira 合成后修饰反应研究

赵添堃* 王鹏 姬明宇 李善家 杨明俊 蒲秀瑛

(兰州理工大学生命科学与工程学院 兰州 730050)

摘要 报道了一种通过钯催化 Sonogashira 反应对具抗癌活性的 ONNO 型“Salan”、“2,6-吡啶二甲酸”双配位钛化合物进行高效后修饰的方法学研究。通过 Sonogashira 反应直接向两个配体引入不同炔基功能基团,共制备了 20 个新型的钛配合物。进一步通过该方法学向钛配合物引入三苯乙炔基及癌细胞靶向分子雌炔醇。通过 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR、HRMS、UV-vis 和 IR 等手段对所有配合物进行了结构表征。多数炔基活化的钛配合物对 HeLa S3 和 Hep G2 癌细胞在微摩尔范围内表现出显著提升的抑制活性,其中配合物 **3j** [$\text{Salan}^{2,4\text{-dimethylTi(IV)Dipic}^{4\text{-}(3\text{-dimethylamino)prop-1-yn-1-yl}}$] 的 IC_{50} 值较顺铂提升约一个数量级,是本研究中活性最强的 Salan 钛双齿配合物 **3j**, HeLa S3: $\text{IC}_{50}=(0.5\pm 0.1)\ \mu\text{mol/L}$, Hep G2: $\text{IC}_{50}=(0.7\pm 0.2)\ \mu\text{mol/L}$; 顺铂, HeLa S3: $\text{IC}_{50}=(3.3\pm 0.2)\ \mu\text{mol/L}$, Hep G2: $\text{IC}_{50}=(6.0\pm 1.1)\ \mu\text{mol/L}$ 。针对芳炔和脂肪炔取代不同配体的代表配合物 **2a**、**2f**、**3a** 和 **3j** 开展的稳定性研究表明,向 2 位无取代 Salan 引入的炔基可通过电负性改变配合物的水稳定性, **2a** 和 **2f** 水解出无抗癌活性的炔基 Salan 配体 **1a***, 半数水解时间($t_{1/2}$)分别为 5 和 10 h。炔基功能化 2,6-吡啶二甲酸的配合物 **3a** 和 **3j** 含有 2 位甲基取代的 Salan 配体,它们在水环境中保持稳定。此外,本文总结和阐释了这类新型炔基功能化钛配合物的“结构-活性”关系,并对后续开发此类钛配合物的前景和策略做出了分析与展望。

关键词 Sonogashira 反应; [SalanTi(IV)Dipic]配合物; 抗癌活性; 炔基功能化; 水稳定性

Post-Synthetic Modification Research of Salan Titanium *bis*-Chelates via Sonogashira Reaction

Tiankun Zhao* Peng Wang Mingyu Ji Shanjia Li Mingjun Yang Xiuying Pu

(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050)

Abstract A palladium-catalyzed Sonogashira reaction has been developed for the highly efficient post-modification of ONNO “Salan” ligand and 2,6-dipicolinic acid stabilized titanium *bis*-chelates with anticancer activity. Different alkynyl substituents were introduced to “Salan” and 2,6-dipicolinic acid, respectively. In total 20 novel titanium complexes containing mono-, di- and tri-alkynyl substituents as well as a complex containing tumor targeting ethynylestradiol were synthesized, all complexes were characterized by ^1H NMR and ^{13}C NMR, HRMS, UV-vis and IR spectroscopy. The nature of obtained titanium complexes that losing solvent molecules fast when exposed to air makes it hard to obtain satisfactory single crystals for X-ray diffraction measurement. Most alkynyl titanium complexes exhibit enhanced inhibitory activity against HeLa S3 and Hep G2 tumor cells in the micromole range. The introduction of alkynyl group to the Salan demonstrated less significant contribution to the anti-tumoral activity. However, the anti-tumoral activity alters with different alkynyl substituents on the 2,6-dipicolinic acid. Of all complexes, **3j** [$\text{Salan}^{2,4\text{-dimethylTi(IV)Dipic}^{4\text{-}(3\text{-dimethylamino)prop-1-yn-1-yl}}$] showed excellent inhibitory activity, its IC_{50} value is an order of magnitude higher than that of Cisplatin, which is the most active anti-tumoral Salan titanium compound in this study [**3j**, HeLa S3: $\text{IC}_{50}=(0.5\pm 0.1)\ \mu\text{mol/L}$, Hep G2: $\text{IC}_{50}=(0.7\pm 0.2)\ \mu\text{mol/L}$; Cisplatin, HeLa S3: $\text{IC}_{50}=(3.3\pm 0.2)\ \mu\text{mol/L}$, Hep G2: $\text{IC}_{50}=(6.0\pm 1.1)\ \mu\text{mol/L}$]. In general, aromatic alkynyl substitution containing electron withdrawing moiety proved to have a positive influence on complex’s anti-tumoral activity than those containing electron donating moiety. Short chain aliphatic alkynyl substituents benefit the complex’s inhibitory activity. However, increased aliphatic chain length results in fast loss of complexes’ activity. Stability study on the representative aromatic alkynyl **2a**, **3a** and aliphatic alkynyl **2f**, **3j** suggests that the alkynyl’s electron nature can alter the complex stability. **2a** and **2f**, with substitutions on the Salan (2 position non-substituted), their half hydrolyzation time ($t_{1/2}$) are 5 and 10 h, respectively. The hydrolysate of **2a** was characterized to be the non-toxic alkynyl Salan ligand **1a***. For **3a** and **3j**, the 2 position of Salan are occupied by methyl groups, their protective effect to the titanium center resulted in a stable behavior of both in the presence of an aqueous media. In addition, the “structure-activity” relationship and development prospects of these novel alkynyl Salan titanium *bis*-chelates are summarized and prospected.

Keywords Sonogashira reaction; [SalanTi(IV)Dipic] complexes; antitumor activity; alkyne functionalization; aqueous

* E-mail: zhaotiankun2006@163.com

Received June 21, 2021; published August 13, 2021.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the Natural Science Foundation of Gansu Province (No. 20JR5RA470).

甘肃省自然科学基金(No. 20JR5RA470)资助项目。

1 引言

Sonogashira 反应是钯催化下有机卤化物与末端炔烃形成 C—C 键的交叉偶联反应, 是一种高效且底物耐受性好的向目标分子引入炔基的方法^[1]. Sonogashira 反应在新材料^[2]、纳米科学^[3]、天然产物合成^[4]及药物合成^[5]等领域得到广泛的应用^[6]. 对于药物分子尤其金属药物而言, 炔基可桥连靶向分子或其它功能基团, 实现药物分子的功能化改造^[7]; 亦可基于炔基的线性结构、独特的电子转移及生物学效应增强药物分子的共轭体系, 从而提升药物分子的脂溶性和透膜能力^[8]. 然而, 对于 IVB 族甚至前过渡系的金属配合物来说, 尚未有通过 Sonogashira 反应高效构建分子库的相关方法学报道.

配合物的“合成后修饰”(Post-Synthetic Modification, 简称为 PSM), 是针对完整配合物进行一步额外修饰, 直接引入功能性基团, 是一种从目标配合物出发, 高效构建功能化分子库的研究策略^[9]. Sonogashira 反应可高效构建 C—C 键偶联两个独立分子, 反应原料市售易得、反应条件温和^[10], 非常适用于配合物的“合成后修饰”研究. 然而, 金属配合物易与氧、氮等发生配体交换反应, 且溶解度较低, 对酸、碱及高温等反应环境耐受性较差. 因此, 针对金属配合物的结构改造一般遵循先修饰配体, 再制备配合物的途径^[11], “合成后修饰”策略在金属配合物研究中应用较少, 对于钛配合物, 则未见相关的报道.

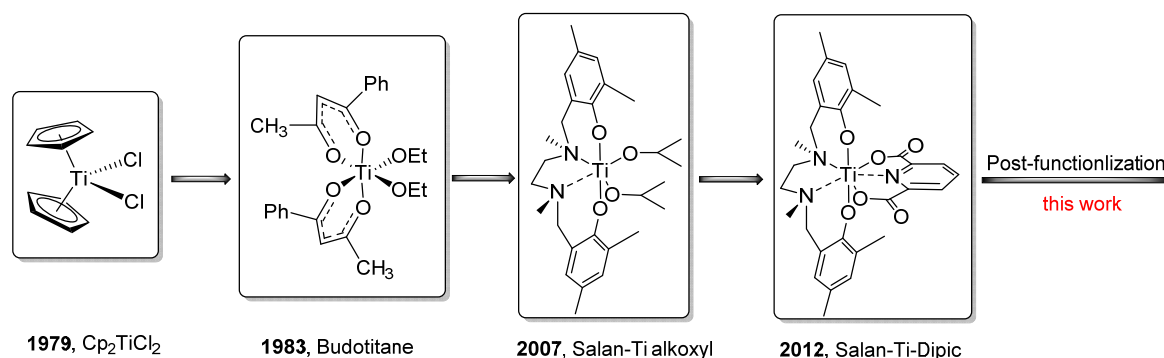
如 Scheme 1 所示, 1979 年 Köpf 等^[12]报道了二氯二茂钛(Titanocene Dichloride, Cp_2TiCl_2)的抗癌活性, 其与 Keppler 等^[13]在 1983 年报道的布度钛(双-(1-苯基-1,3-丁二酮)钛, Budotitane)共同进入临床试验. 然而, 两者均因水稳定性不足在 II 期临床试验中失败. 大量具有抗癌活性的茂钛和 β -二酮钛衍生物随后被报道和测试^[14], 但稳定性未得到突破性提高. ONNO 型 Salan 钛配合物具有显著提高的稳定性^[15], 其抗癌谱系^[16]、作用机理^[16-17]、活性分子^[18]及毒理效应得到了广泛研究^[19]. 使

用 2,6-吡啶二甲酸(2,6-dipicolinic acid, 以下称 Dpic)为第二刚性配体得到一类七配位的双齿钛配合物^[20]. 其稳定性突破提升并具有优秀的抗癌活性^[20], 同位素 $[^{45}Ti][SalanTi^{(IV)}Dpic]$ 通过固相合成被制备并具有新型肿瘤 PET (Positron emission tomography)探针的开发潜力^[21], Zhuravlev 等^[22]近期报道了通过修饰 Dpic, 向 $[^{45}Ti][SalanTi^{(IV)}Dpic]$ 引入了具癌细胞靶向作用的“PSMA” (prostate-specific membrane antigen, 前列腺特异性膜抗原)的研究工作. 然而“Dpic-PSMA”的制备途径冗长, 产率较低(四步反应, 总产率 32%), 且原料价格昂贵, 反应条件苛刻. 更为遗憾的是 PSMA-钛配合物在体内解离迅速, 无靶向作用. 因此, 如能针对此类配合物开发有效的“合成后修饰”方法学, 不仅可高效地改造和构建抗癌钛分子库, 亦可通过引入靶向基团发现新型的抗癌靶向治疗或肿瘤 PET 探针分子^[7b]. 我们在此报道通过 Sonogashira 反应对 $[SalanTi^{(IV)}Dpic]$ 配合物进行“合成后修饰”的方法学研究, 包括炔基功能化钛配合物的拓展、癌细胞抑制活性、“结构-活性”关系、水稳定性及水解产物探索.

2 结果与讨论

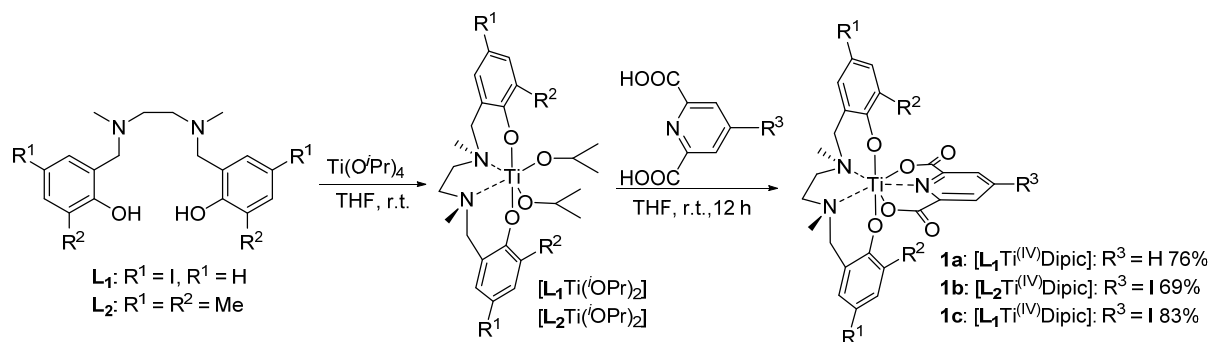
2.1 碘代 Salan 钛配合物 1a~1c 的合成

Salan 配体 L_1 、 L_2 及 $Dpic^{4-}$ 按照文献报道方法进行制备^[23], $[SalanTi^{(IV)}Dpic]$ 的通用合成步骤为: 氮气保护下, 1.0 equiv. 的 L 与 1.1 equiv. 的 $Ti(O^iPr)_4$ 在无水四氢呋喃(THF)中室温反应 2 h 后得到 $[LTi^{(IV)}(O^iPr)_2]$, 真空除去溶剂后的粗品与 1.0 equiv. 的 Dpic 在无水 THF 中室温反应并通过薄层色谱(TLC)监测. 反应结束后, 产物 $[LTi^{(IV)}Dpic]$ 通过柱层析分离纯化. $Salan^{4-iodine}Ti^{(IV)}Dpic$ (**1a**)、 $Salan^{2,4-dimethyl}Ti^{(IV)}Dpic^{4-iodine}$ (**1b**) 和 $Salan^{4-iodine}Ti^{(IV)}Dpic^{4-iodine}$ (**1c**) 的产率分别为 76%、69% 和 83% (图 1).



图式 1 具抗癌活性钛配合物发展及合成后修饰研究

Scheme 1 Development and post-synthetic modification of anti-tumoral titanium complexes

图 1 碘代[SalanTi^(IV)Dipic] **1a**~**1c**的合成Figure 1 Synthesis of iodine-substituted [SalanTi^(IV)Dipic] **1a**~**1c**

2.2 Sonogashira 反应的探索与优化

以 **1a** (0.3 mmol) 和苯乙炔为原料进行了 Sonogashira 反应的探索(表 1), 在(*i*-Pr)₂NH 为碱, 0.015 mmol PdCl₂(PPh₃)₂ 催化的条件下, 反应 10 h 后, 没有检测到目标产物生成(Entry 1); 加入 0.03 mmol CuI 后反应顺利进行, 以 76% 分离产率得到 **2a** (Entry 2); 降低 CuI 量至 0.0075 mmol 得到最佳反应条件, 反应 10 h 后以 84% 的分离产率得到 **2a** (Entry 3); 与 PdCl₂(PPh₃)₂ 相比, Pd-DPPF 的催化效率降低(Entry 4); Pd(PPh₃)₄ 无法催化反应进行(Entry 5); 有机碱三乙胺、吡啶或无机碱碳酸钾均导致反应无法进行(Entries 6~8); 使用 1,4-二氧六环或甲苯为溶剂时, 反应产率下降至 74% 和 65% (Entries 9, 10).

2.3 **1a** 与不同炔烃的底物拓展

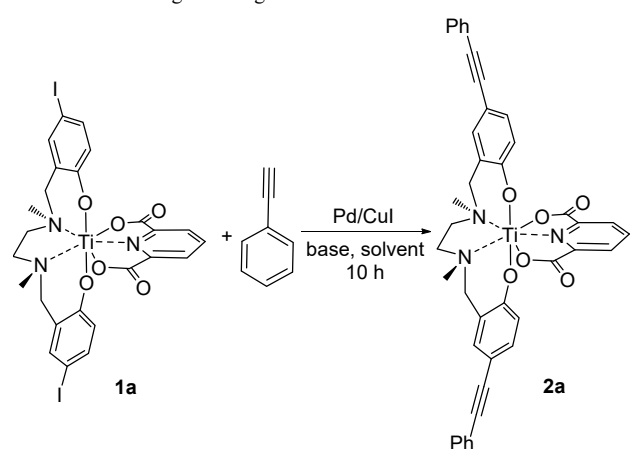
获取最佳反应条件后, 继续研究了 **1a** 与不同芳香和脂肪炔烃的 Sonogashira 反应(表 2). 总体而言, **1a** 与取代芳香炔烃的 Sonogashira 反应进行顺利, 其与吸电子氟、溴或推电子乙基和甲氧基取代的苯乙炔均以良好产率得到目标配合物 **2b**~**2e** (Entries 2~5); 脂肪炔烃的反应活性总体较低, 反应在最佳条件下无法进行完全. 经过条件优化, 增加 CuI 量至 0.05 mmol 时可有效改善反应, **1a** 与短链正戊炔、长链正辛炔和三甲基硅基乙炔均可高效生成目标配合物 **2f**、**2g** 和 **2h** (Entries 6~8); 含杂原子的炔丙醇和 *N,N*-二甲基炔丙胺的反应活性低, 反应延长至 72 h 仍未检测到目标产物生成(Entries 9, 10).

2.4 **1b** 与不同炔烃的底物拓展

1b 与不同炔烃的 Sonogashira 反应如表 3 所示. 与 **1a** 相同, **1b** 与苯乙炔在最佳反应条件下 7 h 定量转化为目标产物 **3a** (Entry 1); 4-氟代苯乙炔反应进展顺利, 以 88% 的产率得到目标产物 **3b** (Entry 2); 4-溴代苯乙炔反应活性降低, 延长反应至 23 h 以 84% 的产率得到 **3c** (Entry 3); 含推电子基团的对甲氧基苯乙炔反应活性略高于对乙基苯乙炔(Entry 4: **3d**, 24 h, 86%; Entry 5: **3e**, 7 h, 91%); 脂肪族炔烃在最佳条件下的反应活性较低, 增

表 1 Sonogashira 反应条件筛选

Table 1 Screening of Sonogashira reaction conditions



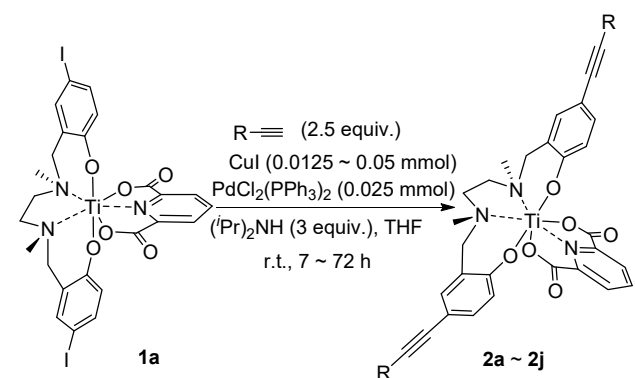
Entry ^a	Catalyst	CuI	Base	Yield ^{b/c} /%
1	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	—	(<i>i</i> -Pr) ₂ NH	Trace ^c
2	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	10%	(<i>i</i> -Pr) ₂ NH	76
3	PdCl₂(PPh₃)₂	2.5%	(<i>i</i>-Pr)₂NH	84
4	Pd-DPPF	2.5%	(<i>i</i> -Pr) ₂ NH	76
5	Pd(PPh ₃) ₄	2.5%	(<i>i</i> -Pr) ₂ NH	Trace ^c
6	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	2.5%	Et ₃ N	Trace ^c
7	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	2.5%	Pyridine	Trace ^c
8	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	2.5%	K ₂ CO ₃	trace ^c
9 ^d	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	2.5%	(<i>i</i> -Pr) ₂ NH	74
10 ^e	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	2.5%	(<i>i</i> -Pr) ₂ NH	65

^a Reaction conditions: [L₁Ti^(IV)Dipic] **1a** (0.3 mmol), phenylacetylene (0.75 mmol), Pd-catalyst (0.015 mmol), CuI (0~0.03 mmol), base (0.9 mmol) in 3 mL THF under N₂ for 10 h at r.t. Pd-DPPF (1,1'-bis(diphenyl phosphino)-ferrocene) dichloro-Pd^(II)-CH₂Cl₂. ^b Isolated yield. ^c Starting material was recycled. ^d Dioxane (3 mL) was used. ^e Toluene (3 mL) was used.

加 CuI 的用量至 0.05 mmol 并延长反应时间后可促进反应进展完全. **1b** 与短链正戊炔和三甲基硅基乙炔在反应 30 和 24 h 后, 分别以 91% 和 77% 的产率得到 **3f** 和 **3h** (Entries 6, 8); 与长链正十六炔反应 48 h 后以 92% 的产率得到 **3g** (Entry 7); **1b** 与含杂原子的炔丙醇和 *N,N*-二甲基炔丙胺反应进行缓慢, 反应 72 h 后以中等产率得到了配合物 **3i** 和 **3j** (Entries 9, 10), 延长反应时间无法提升反应的转化率.

表 2 钛配合物 2a~2j 的合成

Table 2 Synthesis of titanium complexes 2a~2j



Entry ^a	R	Time/h	Yield ^b /%	Complex
1	Ph	10	84	2a
2	<i>p</i> -PhF	10	72	2b
3	<i>p</i> -PhBr	12	78	2c
4	<i>p</i> -PhEt	11	70	2d
5	<i>p</i> -PhOMe	12	82	2e
6 ^c	<i>n</i> -C ₃ H ₇	12	82	2f
7 ^c	<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	7	76	2g
8 ^c	TMS	11	80	2h
9	CH ₂ OH	72	trace ^d	2i
10	CH ₂ NMe ₂	72	trace ^d	2j

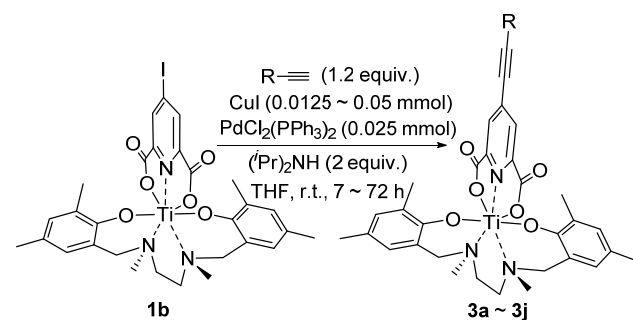
^a All reactions were performed under N₂ on a 0.5 mmol scale of **1a**, using aryl alkynes (2.5 equiv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0.025 mmol), CuI (0.0125 mmol) and (iPr)₂NH (3.0 equiv.) in 4 mL THF at r.t. ^b Isolated yield. ^c 0.05 mmol CuI was used. ^d Starting material was recycled.

2.5 Sonogashira 反应应用研究

为了进一步拓宽该方法学的应用范围, 将 **1b** 与雌炔醇进行了 Sonogashira 反应偶联, 成功得到目标配合物 **4a** (图 2, Path a). 雌炔醇可靶向 ER (Estrogen Receptor, 雌激素受体) 阳性癌细胞, 已有其修饰铂配合物的相关报道^[24], 基于此, **4a** 可作为靶向抗癌分子进行相关后续

表 3 钛配合物 3a~3j 的合成

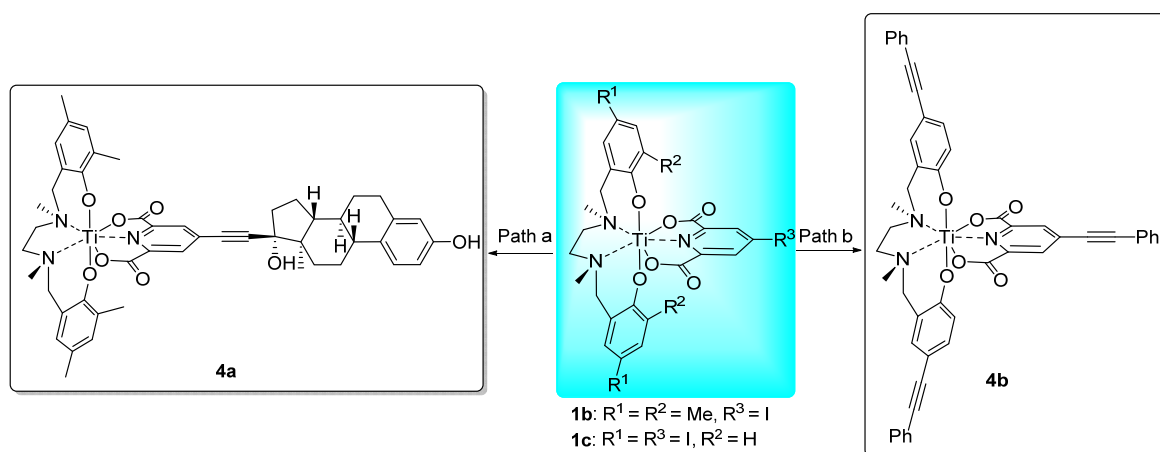
Table 3 Synthesis of titanium complexes 3a~3j



Entry ^a	R	Time/h	Yield ^b /%	Complex
1	Ph	7	>99	3a
2	<i>p</i> -PhF	8	88	3b
3	<i>p</i> -PhBr	23	84	3c
4	<i>p</i> -PhEt	24	86	3d
5	<i>p</i> -PhOMe	7	91	3e
6 ^c	<i>n</i> -C ₃ H ₇	30	91	3f
7 ^c	<i>n</i> -C ₁₄ H ₂₉	48	92	3g
8 ^c	TMS	24	77	3h
9	CH ₂ OH	72	64 ^d	3i
10	CH ₂ NMe ₂	72	74	3j

^a All reactions were performed under N₂ on a 0.5 mmol scale of **1b**, using aryl alkynes (1.2 equiv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0.025 mmol), CuI (0.0125 mmol) and (iPr)₂NH (2.0 equiv.) in THF (4 mL) at r.t. ^b Isolated yield. ^c 0.05 mmol CuI was used. ^d Starting material was recycled.

研究; 亦可将雌炔醇引入 [SalanTi^(IV)Dipic] 制备新型的钛 PET 肿瘤探针. 此外, 钛配合物对 Sonogashira 反应的适应性较好, [LiTi^(IV)Dipic⁴⁻] **1c** 与苯乙炔的偶联反应进行顺利, 以 86% 的产率得到 [Salan^{2,4-phenylacetylenyl}Ti^(IV)Dipic^{4-phenylacetylenyl}] **4b** (图 2, Path b). 基于炔烃的电子传导性能, **4b** 可作为模板分子, 进一步研究通过 Sonogashira 反应引入多共轭炔烃, 开发潜在的新型钛分子导线.



Path a: **1b** (347 mg, 0.5 mmol), ethynylestradiol (177.8 mg, 1.2 equiv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0.05 mmol), CuI (0.025 mmol), (iPr)₂NH (3.0 equiv.) in 4 mL THF at r.t. for 20 h, yield 89%. Path b: **1c** (445 mg, 0.5 mmol), phenylacetylene (0.2 mL, 3.6 equiv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0.075 mmol), CuI (0.025 mmol), (iPr)₂NH (6.0 equiv.) in 4 mL THF at r.t. for 9 h, yield 86%.

图 2 碘代 [SalanTi^(IV)Dipic] 的 Sonogashira 后续功能化反应Figure 2 Further functionalization of iodine containing [SalanTi^(IV)Dipic] via Sonogashira reaction

2.6 钛配合物的抗癌活性研究

用顺铂和已报道的 $[\text{L}_2\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Dipic}]$ 为对照,通过阿尔玛蓝试剂(Alamar Blue assay)测试了 **2a**~**4b** 对 HeLa S3(人宫颈癌细胞)和 Hep G2(人肝癌细胞)癌细胞的抑制活性^[20],具体结果如表4所示.部分向Salan引入炔基的**2a**~**2h**表现出了优异的抗癌活性,含苯乙炔基的**2a**对HeLa S3细胞的 IC_{50} 值较顺铂和 $[\text{L}_2\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Dipic}]$ 分别提高了约4和5倍(Entry 1);卤代苯乙炔取代Salan的**2b**(F)和**2c**(Br)癌细胞抑制活性与顺铂和 $[\text{L}_2\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Dipic}]$ 相当(Entries 2, 3);4-乙基苯乙炔未显著提高**2d**的抑制活性(Entry 4);而4-甲氧基苯乙炔基导致**2e**抑制活性下降(Entry 5).Salan被脂肪炔基取代的钛配合物,癌细胞抑制活性随脂肪链的增长而下降,正辛炔基取代的**2g**活性较正戊炔基取代的**2f**显著降低(Entries 6, 7);三甲基硅基(TMS)乙炔基取代的**2h**对两种癌细胞的抑制活性较顺铂提高约6倍(Entry 8).

苯乙炔取代Dipic的**3a**对Hep G2细胞的抑制活性下降幅度较大(Entry 9);Dipic被卤代苯乙炔取代的**3b**和**3c**抑制活性与**2b**和**2c**基本持平,仅**3c**对Hep G2细胞的抑制活性稍有下降(Entries 10, 11);4-乙基苯乙炔取代的**3d**对HeLa S3细胞的抑制活性较 $[\text{L}_2\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Dipic}]$ 降低约一个数量级,对Hep G2细胞失去抑制活性(Entry 12);4-甲氧基苯乙炔取代的**3e**对两种癌细胞均丧失抑制活性(Entry 13).与Salan类似,Dipic被脂肪炔取代的钛配合物癌细胞抑制活性随脂肪链增长而迅速下降.含正戊炔的**3f**抑制活性较顺铂降低约一个数量级(Entry 14);正十六炔取代的**3g**则完全丧失抑制活性(Entry 15);与Salan不同,TMS乙炔取代Dipic的**3h**对Hep G2细胞的抑制活性下降较为明显(Entry 16);向Dipic引入含杂原子炔基可显著增强配合物的活性,炔丙醇取代的**3i**抑制活性较顺铂提高约4倍(Entry 17),引入 N,N -二甲基炔丙胺基的**3j**对两种癌细胞的抑制活性较顺铂提升约一个数量级(Entry 18).含雌炔醇的**4a**对两种ER阴性癌细胞均未表现出抑制活性(Entry 19);三苯乙炔取代的**4b**对HeLa S3细胞表现出了一定的活性,对Hep G2细胞失去抑制活性(Entry 20).此外,我们初步证实**3j**对于癌细胞具有较好的选择性,对小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)及小鼠肝细胞(AML 12)均未表现出抑制活性.

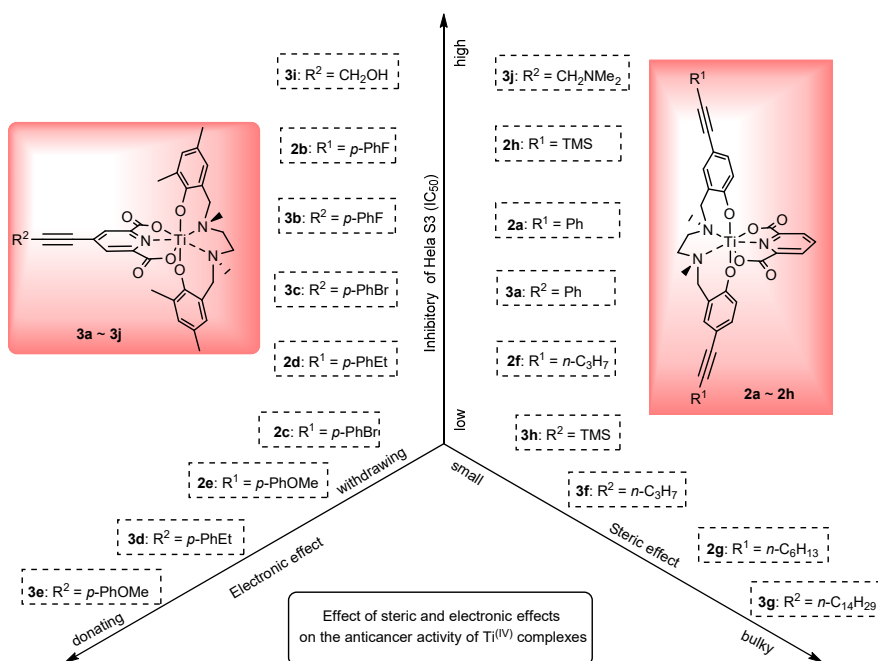
据报道,Salan上取代基类型对配合物的癌细胞抑制活性产生直接影响^[15b].当Salan苯环2位含有大位阻取代基时,位阻效应占主导,其对钛中心的保护作用使得配合物非常稳定^[25],即使进入细胞亦无法与靶标作用,这类配合物均不表现出抗癌活性^[25];当Salan苯环2位含有小位阻取代基或无取代时,取代基效应占主导,向Salan苯环的2,4位引入甲基、甲氧基或卤素可提升脂溶性^[25-26],硝基可增强溶解性^[15b];4位磺酰胺的引入可由于吸电子效应和磺酰胺自身的协同效应,使得配合物更易于与靶标作用解离而发挥活性^[26].然而,

Dipic上取代基类型对活性的影响规律研究十分有限,目前仅有向Dipic引入甲氧基或羟甲基的报道,其对配合物的活性无明显影响^[25].在此研究中,我们向苯环2位无取代Salan的4位引入炔基,得到了癌细胞抑制活性不同的**2a**~**2h**.不同的是,炔基的引入“激活”了Dipic,其炔取代基类型直接影响配合物的活性.

这类炔基钛双齿配合物的癌细胞抑制活性与钛中心的稳定性密切相关.如Scheme 2所示,可从电子效应和位阻效应两方面对“结构-活性”规律进行阐释.从电子效应角度分析,炔基的负电子性质可减弱配体的电子云密度,降低钛中心的稳定性,使其更易于与潜在靶标作用.因此Salan或Dipic上含有强负电性炔基的钛配合物表现出显著增强的癌细胞抑制活性,如**2b**、**3b**、**3c**及**2c**;富电子取代基可减弱炔基负电性,提升钛中心的稳定性,因此**2d**、**2e**、**3d**和**3e**的癌细胞抑制活性下降,甚至失去活性(Scheme 2,左).从位阻效应分析,Salan与Dipic上的小位阻炔基可提升配合物的癌细胞抑制活性,如含TMS的**2h**和**3h**,含苯乙炔基的**2a**和**3a**,含正戊炔基的**3f**,活性均有提升.而含大位阻的正辛炔基和正十六炔基的**2g**与**3g**活性下降或消失,推测大位阻基团阻碍了配合物的跨膜转运(Scheme 2,右).含炔丙醇基和 N,N -二甲基炔丙胺基的**3i**和**3j**,其杂原子的引入大幅提升了癌细胞抑制活性,为本文报道活性最强的两个配合物,分析其不仅为小位阻取代炔基,且杂原子的引入增强了配合物的极性,可能是其活性提升的主要原因.

3 水稳定性研究

我们选择了代表性的Salan含芳香炔基的**2a**、含脂肪炔基的**2f**及Dipic含苯乙炔基的**3a**和 N,N -二甲基炔丙胺基取代的**3j**,利用时间分辨 ^1H NMR在37 °C下研究了它们在1000 equiv. D_2O 环境中的水解表现.实验条件为:钛配合物(15 μmol)、1,4-二硝基苯(内标,1.3 mg,7.5 μmol ,0.5 equiv.)、 D_2O (0.27 mL,1000 equiv.)、 d_8 -THF(0.4 mL),每15 min进行一次 ^1H NMR测试.图3(a)列举了**2a**在24 h内的 ^1H NMR.1,4-二硝基苯的苯环氢为 δ 8.41处的单峰,标记为B,其在0 h处的积分为2.16.通过监测**2a**中吡啶4位氢信号(红色标记A: δ 8.56, 1H, Triplet)和Salan骨架的 $\text{C}_\alpha\text{CH}_2$ 信号(红色标记D: δ 5.14, 2H, Doublet)的积分变化来计算**2a**的水解速率.在0 h处,A和D为1.00和1.99;2 h处A和D为0.92和1.83,且在C(δ 6.80)和E(δ 3.12)处出现了一组新信号,其为水解出的Salan配体**1a***(支持信息Figure S6、S7和S8).通过监测**1a***苯环氢信号(蓝色标记C: δ 6.80, 2H, Singlet)来计算水解出配体的比率,2 h处C为0.14;4 h处A和D降为0.65和1.31,C增至0.32;6 h处,A和D为0.44和0.91,C增至0.52;12 h处,A和D为0.39和0.77,C增至0.94;24 h处,A和D为0.24和0.49,C增至



图式 2 含炔基 Salan 钛配合物对 HeLa S3 细胞抑制活性的位阻效应和电子效应分析

Scheme 2 Steric effect and electron effect analysis of inhibition activity of alkynyl Salan $Ti^{(IV)}$ bis-chelates against HeLa S3 cells

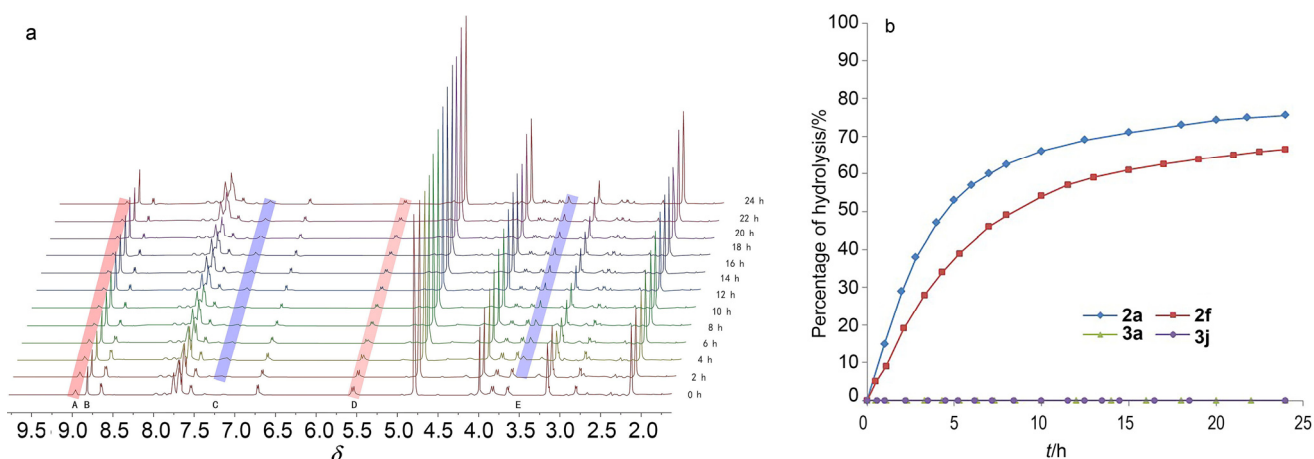


图 3 (a) **2a** 在 1000 equiv. D_2O 中的水解 1H NMR 谱图(红色: **2a** 信号 A、D, 蓝色: **1a*** 信号 C、E)。 (b) **2a**、**2f**、**3a** 和 **3j** 在 1000 equiv. D_2O 中的水解速率

Figure 3 (a) Hydrolyzation 1H NMR spectra of **2a** in 1000 equiv. D_2O (red region: signals of **2a**, A and D, blue region: signals of **1a***, C and E). (b) Hydrolyzation rate of **2a**, **2f**, **3a** and **3j** in 1000 equiv. D_2O

表 4 $[L_2Ti^{(IV)}Dipic]$ 、顺铂和 **2a**~**4b** 对 HeLa S3 和 Hep G2 细胞的 IC_{50} 值

Table 4 IC_{50} values of $[L_2Ti^{(IV)}Dipic]$, Cisplatin and **2a**~**4b** against HeLa S3 and Hep G2 cells

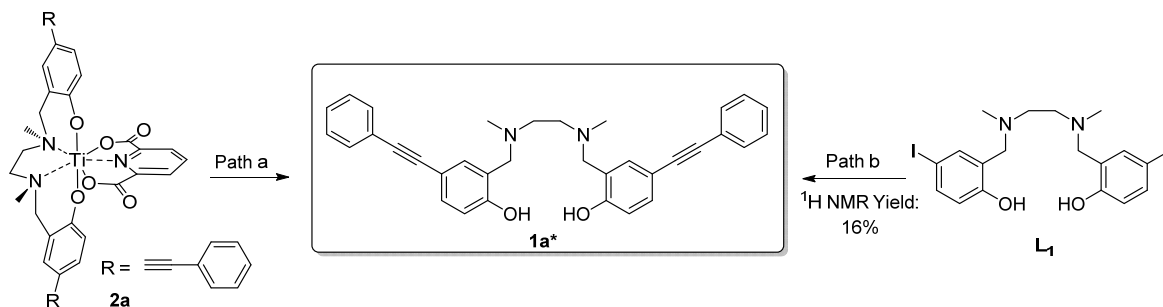
Entry ^a	HeLa S3	Hep G2	Complex	Entry ^a	HeLa S3	Hep G2	Complex
1	0.9±0.2	4.1±0.9	2a	12	59.1±6.2	Non toxic	3d
2	1.1±0.2	3.2±0.4	2b	13	Non toxic	Non toxic	3e
3	3.8±0.8	10.7±1	2c	14	10.6±2	26.1±3.3	3f
4	3.2±0.4	3.6±0.5	2d	15	Non toxic	Non toxic	3g
5	7.1±1.3	16.8±2.4	2e	16	5.9±0.4	30.2±5.7	3h
6	2.1±0.3	7.1±0.7	2f	17	0.8±0.2	1.46±0.7	3i
7	11.8±2.6	27.7±6.3	2g	18	0.5±0.1	0.7±0.2	3j
8	0.6±0.1	0.8±0.1	2h	19	Non toxic	Non toxic	4a
9	1.9±2.6	58.6±16	3a	20	11.8±1.1	Non-toxic	4b
10	1.1±0.2	6.5±1.3	3b	20	3.3±0.2	6.0±1.1	Cisplatin
11	1.6±0.3	17.7±7.6	3c	21 ^[27]	4.4±0.4	3.4±0.2	$[L_2Ti^{(IV)}Dipic]$

^a Cells were incubated for 48 h.

1.12. 图 3(b)列举了四个化合物的水解速率曲线, **2a** 在 D_2O 加入 2 h 后发生水解且速率较快, 5 h 后约 50% 的 **2a** 水解, 随后速率变慢, 24 h 后约 76% **2a** 水解. **2f** 在 2 h 处发生水解, 其速率较 **2a** 缓慢, 10 h 后 54% 的 **2f** 水解, 24 h 后 68% 的 **2f** 水解. **3a** 和 **3j** 则保持了优异稳定性, 在实验中未观测到水解现象. **2a** 的水解速率与水解产物 **1a*** 的产生速率对比图见支持信息 Figure S4.

根据报道, 这类含有 Salan 和 Dpic 的双齿钛配合物, 其稳定性被 Salan 苯环 2 位取代基的位阻效应直接影响, 大致可归纳为三种类型: (1) 2 位小位阻取代型, 如 2 位甲基对钛中心产生一定的保护, 配合物在水环境中持续保持稳定^[27], 但可在强 pH 值环境中(pH=12.1)水解释放出 Salan 配体. 这类配合物可与生物靶标作用具有抗癌活性, Dpic 上取代基(甲氧基、羟甲基)不影响配合物稳定性^[25]; (2) 2 位大位阻取代型, 如 2 位叔丁基取代的配合物在 Ph=12.1 的极端条件下仍保持稳定. 如前文所述, 过于稳定反而导致配合物无法与靶标作用失去活性^[25]; (3) 2 位无取代基型, 这类分子钛中心失去保护可被水分子进攻而水解, 也易于与生物靶标作用, 往往具备优异的活性. 其稳定性取决于 Salan 上取代基的电子效应. 吸电子基团可减弱 Ti—O 键, 使配合物稳定性下降. 如 Salan 苯环 4 位被磺酰胺取代的配合物 Ti—O 键长为 0.1865 nm (2,4-叔丁基 Salan 钛配合物 Ti—O 键长 0.1854 nm)^[25]. 磺酰胺 Salan 钛配合物在 1000 equiv. 水中的 $t_{1/2}$ 仅为 3 h 左右^[26]. 在本研究中, **2a**~**2h** 为 2 位无取代型配合物, Salan 上缺电子的苯乙炔基导致 **2a** 稳定性降低, 其 $t_{1/2}$ 为 5 h; 而富电子脂肪炔基提升了 **2f** 的稳定性, $t_{1/2}$ 为 10 h. **3a** 和 **3j** 为 2 位甲基取代型配合物, 它们均在 1000 equiv. 水中保持稳定.

为了研究细胞培养基中成分(无机盐、氨基酸、维生素等)对配合物稳定性的影响, 将加入 $NaHCO_3$ 的 DMEM (dulbecco's modified eagle medium)/F-12 干粉培养基溶解在 D_2O 中, 利用时间分辨 1H NMR 测定了 **2a** 在 1000 equiv. 的细胞培养液(D_2O)中的水解速率. 经过对比, 我们证实细胞培养基对于配合物的水稳定性无影响, **2a** 在两种条件下的水解速率几乎一致, 最大误差范围为 4%. 见支持信息 Figure S8.



Path a: 1000 equiv. D_2O , d_8 -THF 0.4 mL. Path b: L_1 (300 mg, 0.6 mmol), phenylacetylene (2.5 equiv.), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.03~0.06 mmol), CuI (0.015~0.03 mmol), PPh_3 (0.03~0.06 mmol) and $(^iPr)_2NH$ (3.0 equiv.) in 3 mL THF at r.t.

图 4 **2a** 在 1000 equiv. D_2O 中的水解产物及配体 **1a*** 的直接合成

Figure 4 Hydrolyzation of **2a** in 1000 equiv. D_2O and synthesis of **1a***

Tshuva 等^[18]报道了 Salan 烷氧型钛配合物水解形成多核钛分子, 并通过纳米化实验证实了其“活性分子”; Huhn 等^[27]通过水解实验提出了 $[SalanTi^{IV}Dpic]$ 自身为“活性分子”, 被细胞摄取后与生物亲核物质作用而发挥抗癌活性. 针对本文中的钛配合物, 设计了三个水解实验对 **2a** 的水解产物进行了鉴定. (1) 在 **2a** 水解至 12 h 处取样并通过高分辨质谱检测到了 MS 为 501.2531 的信号, 其为 **1a*** 的分子离子峰 (**1a***, $C_{34}H_{33}N_2O_2$, 高分辨质谱理论值为: 501.2537); (2) 对 **2a** 进行大量水解并分离水解产物, 经核磁共振, 高分辨质谱等手段鉴定为配体 **1a***. (3) 通过 HPLC 对比了 **1a*** 与 **2a** 在 12 h 处水解样品的保留时间谱图, 证实了水解过程中 **1a*** 的存在. 具体实验步骤及结果见支持信息 Figures S5~S7. 进一步尝试从碘代 Salan 配体 L_1 通过 Sonogashira 反应制备 **1a***, 如图 4 所示, 在标准条件下, 反应体系复杂, **1a*** 的核磁产率仅有 16%, 增加催化剂量或加入三苯基膦仍然不能改善反应条件. 从而证实了“合成后修饰”方法学的必要性和不可替代性.

为了验证此类钛配合物“活性物质”是否为水解释放的 **1a***, 对 **1a*** 进行了活性测试. 其对 HeLa S3 和 Hep G2 细胞仅在 10^{-4} 和 10^{-3} mol/L 浓度处有部分的抑制活性, 增加浓度对两种细胞的抑制率保持在 60% 左右. 鉴于此, 我们认为“活性物质”并非水解出的配体, 推测配合物作为整体被癌细胞摄取后与靶标作用发挥活性. 整体而言, 炔基的引入增强了药物分子的共轭体系, 提升了其脂溶性和透膜能力, 甚至有可能导致配合物通过不同的途径被摄取进入细胞. 通过“结构-活性”研究可知, 小分子脂溶性吸电子基团的引入与提升配合物整体的极性为改造并发展此类钛配合物为新型抗癌药物的可行策略.

4 结论

通过 Sonogashira 反应对碘代 Salan 钛双齿配合物 **1a**~**1c** 进行了合成后修饰研究, 制备了一系列炔基功能化的新型钛双齿配合物 **2a**~**4b**. 所有配合物经红外吸收光谱、紫外吸收光谱、核磁共振氢谱、碳谱、高分辨质谱和元素分析等手段进行了结构表征. 此类配合物

易失去溶剂分子,反复尝试未能获得满意的单晶衍射数据.除了**3e**、**3g**和**4a**,所有配合物对HeLa S3和Hep G2细胞表现出了优异的癌细胞抑制活性,其中**3j**为本研究中活性最强的钛配合物.“结构-活性”研究表明,强电负性炔基可减弱钛配合物的水稳定性,但增强钛配合物的癌细胞抑制活性;弱电负性炔基可增强钛配合物的水稳定性,但减弱其癌细胞抑制活性;炔基的位阻增大导致配合物的活性下降甚至消失;极性基团可显著增强钛配合物的癌细胞抑制活性.Salan的2位无取代的**2a**、**2f**在水溶液中水解出配体,而Salan的2位甲基取代的**3a**和**3j**在水环境中保持稳定.对于此类分子,引入小分子吸电子炔基、杂原子炔基提升钛配合物的脂溶性与极性是合理的开发策略.此外,具癌细胞靶向作用的雌炔醇分子与多分子炔基均可通过Sonogashira反应引入钛配合物,它们在抗癌机理、靶向抗癌、肿瘤探针及新材料领域等有着巨大的开发前景.该Sonogashira后修饰方法学可高效地向钛配合物引入炔基而构建新型钛双齿配合物分子库.这类含炔基钛配合物的抗癌谱系,安全性和毒性研究以及该方法学潜在的应用价值仍在不断的探索之中.

5 细胞毒性研究

5.1 材料与方法

使用Alamar Blue法对HeLa S3、Hep G2、MEF(小鼠胚胎成纤维细胞)和AML 12(小鼠肝细胞)细胞进行细胞毒性检测(Alamar Blue Assay购自北京百奥莱博科技有限公司)^[28].以上4种细胞购自中国科学院上海细胞库.

5.2 细胞培养

测试细胞(HeLa S3、Hep G2、MEF和AML 12)在含10%胎牛血清、1%青霉素和1%链霉素的Dulbecco's DMEM培养基中37 °C下恒温培养,细胞培养环境CO₂浓度为5%.使用支原体检测试剂盒(上海晶抗生物工程有限公司)对四种细胞进行支原体感染检测.

5.3 细胞活性测试

将癌细胞接种到96孔板中(4000个HeLa S3细胞/孔,8000个Hep G2细胞/孔,8000个MEF细胞/孔及8000个AML 12细胞/孔)贴壁24 h.将相应的配合物**1a***及**2a**~**4b**用二甲基亚砜(DMSO)溶解,并用培养基稀释成不同浓度梯度的溶液,最终使DMSO的含量为0.5%.将细胞培养48 h后,每孔加入10 μL的阿尔玛蓝试剂,再培养1 h.在530 nm激发后,使用Synergy 2HT荧光检测器(Bio-TEK)测量590 nm处的荧光.细胞活力用含纯培养基和0.5% DMSO的对照品的百分比表示.每个测试设3个平行组,一共重复测4次.使用Sigma plot 10.0拟合得到细胞活性曲线^[29].

6 实验部分

6.1 试验方法

配合物**2a**~**4b**的合成路线:以**2a**合成为例,在氮气保护下,采用Schlenk技术开展反应.在含[L₁Ti^(IV)Dipic](380.7 mg, 0.5 mmol)和无水THF(3 mL)的Schlenk瓶中,加入PdCl₂(PPh₃)₂(17.5 mg, 0.025 mmol)、CuI(2.4 mg, 0.0125 mmol)、苯乙炔(127.6 mg, 1.25 mmol)和(*i*-Pr)₂NH(151.8 mg, 1.5 mmol).室温下反应10 h,由TLC薄层色谱监测反应进程.反应结束后,用饱和食盐水洗涤(20 mL×2),并用CH₂Cl₂(25 mL×2)萃取,有机相用无水MgSO₄干燥后,减压除去溶剂得到粗产物,经硅胶柱层析(200目)分离纯化后(*V*_{二氯甲烷}/*V*_{甲醇}=10/1)得到红色固体**2a**(298.8 mg, 0.42 mmol, 84%).所有配合物的具体合成步骤及测试数据见支持信息.

6.2 配合物结构表征

2a: 得红色固体 298.8 mg, 产率 84%, m.p. 275~276 °C; UV-vis (THF) λ_{max}: 210, 295, 410 nm; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.29 (dd, *J*=6.8, 8.4 Hz, 1H, H_{pyr}), 8.28~8.20 (m, 2H, H_{pyr}), 7.49~7.47 (m, 4H, H_{ar}), 7.33~7.31 (m, 5H, H_{ar}), 7.27~7.24 (m, 6H, H_{ar}), 6.41 (d, *J*=8.0 Hz, 2H, H_{ar}), 5.37 (d, *J*=14.4 Hz, 2H, C_{ar}CH₂), 3.37 (d, *J*=9.2 Hz, 2H, NCH₂CH₂N), 3.24 (d, *J*=14.4 Hz, 2H, C_{ar}CH₂), 2.80 (s, 6H, NCH₃), 2.22 (d, *J*=9.6 Hz, 2H, NCH₂CH₂N); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ: 169.1 (C=O), 159.9 (C_{ar}), 149.9 (C_{ar}), 143.8 (C_{ar}), 133.2 (C_{ar}), 132.6 (C_{ar}), 131.6 (C_{ar}), 128.5 (C_{ar}), 128.3 (C_{ar}), 128.2 (C_{ar}), 126.1 (C_{ar}), 123.5 (C_{ar}), 116.8 (C_{ar}), 116.5 (C_{ar}), 89.4 (C_{ar}C≡C_{ar}), 89.3 (C_{ar}C≡CC_{ar}), 63.9 (C_{ar}CH₂), 54.1 (NCH₂), 47.6 (NCH₃); IR (KBr) ν: 2971, 1679, 1509, 1242, 1170, 807, 667 cm⁻¹; MS (EI) *m/z* (%): 711 (M⁺, 5), 625 (10). Anal. calcd for C₄₁H₃₃N₃O₆Ti: C 69.20, H 4.67; found C 69.41, H 4.82. HRMS (ESI-TOF) *m/z* calcd for C₄₁H₃₄N₃O₆Ti [M+H]⁺ 712.1922, found 712.1922).

3a: 得红色固体 330.1 mg, 产率 99%, m.p. 233 °C; UV-vis (THF) λ_{max}: 332, 393 nm; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.21 (s, 2H, CH_{pyr}), 7.59~7.57 (m, 2H, H_{ar}), 7.45~7.41 (m, 3H, H_{ar}), 6.78 (s, 2H, CH_{ar}, Salan), 6.66 (s, 2H, CH_{ar}, Salan), 5.30 (d, *J*=13.9 Hz, 2H, C_{ar}CH₂), 3.39 (d, *J*=9.2 Hz, 2H, NCH₂CH₂N), 3.16 (d, *J*=13.9 Hz, 2H, C_{ar}CH₂), 2.78 (s, 6H, NCH₃), 2.20 (s, 6H, C_{ar}CH₃), 2.14 (d, *J*=9.2 Hz, 2H, NCH₂CH₂N), 1.95 (s, 6H, C_{ar}CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz) δ: 168.7 (C=O), 156.1 (C_{ar}), 139.3 (C_{ar}), 132.5 (C_{ar}), 130.7 (C_{ar}), 130.7 (C_{ar}), 130.4 (C_{ar}), 128.8 (C_{ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.5 (C_{ar}), 127.3 (C_{ar}), 125.1 (C_{ar}), 121.2 (C_{ar}), 99.9 (C_{pyr}C≡C), 86.0 (C_{pyr}C≡C), 64.1 (NCH₂C_{ar}), 54.0 (NCH₂CH₂N), 47.2 (NCH₃), 20.8 (C_{ar}CH₃), 16.1 (C_{ar}CH₃); IR (KBr) ν: 3647, 3437, 2984,

2905, 2208, 1684, 1672, 1471, 1376, 1241, 1031, 848, 749 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_6\text{Ti}$: C 66.57, H 5.59; found C 66.81, H 5.71. HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_6\text{Ti} [\text{M}+\text{H}]^+$ 668.2235, found 668.2238.

4a: 得红色固体 283.5 mg, 产率 89%, m.p. 175 $^{\circ}\text{C}$; UV-vis (THF) λ_{max} : 210, 310, 400 nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.18 (s, 2H, H_{pyr}), 7.11 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H_{ar}), 6.75 (s, 2H, H_{ar}), 6.67~6.64 (m, 3H, H_{ar}), 6.59 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H_{ar}), 5.25 (d, $J=12.0$ Hz, 2H, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_2$), 3.36 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, NCH_2), 3.13 (d, $J=12.0$ Hz, 2H, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_2$), 2.82~2.75 (m, 8H, H_{al} and NCH_3), 2.46~2.32 (m, 2H, H_{al}), 2.19 (s, 6H, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3$), 2.12 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, NCH_2), 1.91 (s, 3H, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3$), 1.88~1.83 (m, 4H, H_{al}), 1.77~1.66 (m, 1H, H_{al}), 1.53~1.39 (m, 4H, H_{al}), 0.95~0.82 (m, 5H, H_{al}); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ : 169.0 (C=O), 156.0 (C_{ar}), 154.0 (C_{ar}), 149.9 (C_{ar}), 139.2 (C_{ar}), 138.1 (C_{ar}), 132.1 (C_{ar}), 130.8 (C_{ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.7 (C_{ar}), 127.5 (C_{ar}), 126.6 (C_{ar}), 125.1 (C_{ar}), 115.5 (C_{ar}), 113.0 (C_{ar}), 104.4 (C_{ar}), 82.8 (C_{alkyne}), 80.5 (C_{alkyne}), 77.4 (C_{al}), 64.1 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_2$), 54.0 (NCH_2), 50.3 (C_{al}), 48.2 (C_{al}), 47.2 (NCH_3), 43.6 (C_{al}), 39.7 (C_{al}), 39.2 (C_{al}), 33.4 (C_{al}), 29.8 (C_{al}), 27.3 (C_{al}), 26.6 (C_{al}), 23.1 (C_{al}), 20.8 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3$), 16.0 ($\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_3$), 13.0 (C_{al}); IR (KBr) ν : 1693, 1660, 1433, 1323, 1250, 1141, 1018, 929, 833, 742 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_8\text{Ti}$: C 68.29, H 6.43; found C 68.43, H 6.54. HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_8\text{Ti} [\text{M}+\text{H}]^+$: 862.3541; found 862.3555.

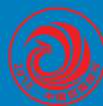
4b: 得红色固体 349.0 mg, 产率 86%, m.p. 205 $^{\circ}\text{C}$; UV-vis (THF) λ_{max} : 300, 407 nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8.22 (s, 2H, CH_{pyr}), 7.62~7.21 (m, 19H, CH_{ar}), 6.43 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, CH_{ar}), 5.37 (d, $J=14.4$ Hz, 2H, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_2$), 3.38 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.24 (d, $J=14.4$ Hz, 2H, $\text{C}_{\text{ar}}\text{CH}_2$), 2.81 (s, 6H, NCH_3), 2.23 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 101 MHz) δ : 168.8 (C=O), 159.8 (C_{ar}), 149.7 (C_{ar}), 139.9 (C_{ar}), 133.2 (C_{ar}), 132.6 (C_{ar}), 132.6 (C_{ar}), 131.6 (C_{ar}), 130.6 (C_{ar}), 128.8 (C_{ar}), 128.5 (C_{ar}), 128.3 (C_{ar}), 128.2 (C_{ar}), 127.6 (C_{ar}), 123.5 (C_{ar}), 121.1 (C_{ar}), 116.8 (C_{ar}), 116.5 (C_{ar}), 100.4 ($\text{C}_{\text{pyr}}\text{C}\equiv\text{C}$), 89.4 ($\text{C}_{\text{ph}}\text{C}\equiv\text{C}_{\text{ph}}$), 89.3 ($\text{C}_{\text{ph}}\text{C}\equiv\text{C}_{\text{ph}}$), 86.0 ($\text{C}_{\text{pyr}}\text{C}\equiv\text{C}$), 63.9 ($\text{NCH}_2\text{C}_{\text{ar}}$), 54.1 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 47.6 (NCH_3); IR (KBr) ν : 3053, 2922, 2853, 2204, 1681, 1593, 1493, 1372, 1260, 1190, 1114, 1031, 935, 849, 751, 688 cm^{-1} . Anal. calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_6\text{Ti}$: C 72.81, H 4.59; found C 72.60, H 4.72. HRMS (ESI-TOF) m/z calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_6\text{Ti} [\text{M}+\text{H}]^+$ 812.2235; found 812.2240.

References

[1] (a) Qi, H.-T.; Song, G.-L.; Quan, Z.-J.; Wang, X.-C. *Chin. J. Org. Chem.* **2017**, *37*, 1855 (in Chinese). (戚海棠, 宋光琳, 权正军, 王

- 喜存, 有机化学, **2017**, *37*, 1855.) (b) Dong, X.-Y.; Zhang, Y.-F.; Ma, C.-L.; Gu, Q.-S.; Wang, F.-L.; Li, Z.-L.; Jiang, S.-P.; Liu, X.-Y. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 1158. (c) Chinchilla, R.; Najera, C. *Chem. Rev.* **2007**, *38*, 5506.
- [2] Wu, S.; Zhu, Z.; Liu, C.; Su, Y.; Wang, F.; Bai, W.; Sucn, H.; Liang, W.; Li, A. *J. Colloid Interface Sci.* **2021**, *586*, 152.
- [3] Kim, J. G.; Cha, M. C.; Lee, J.; Choi, T.; Chang, J. Y. *ACS Appl. Mater. Inter.* **2017**, *9*, 38081.
- [4] Corr, M. J.; ShaV.; Pubill-Ulldemolins, C.; Bown, R. T.; Poirot, P.; Smith, D. R. M.; Cartmell, C.; Abou Fayad, A.; Goss, R. J. M. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 2039.
- [5] (a) Ferrazzano, L.; Martelli, G.; Fantoni, T.; Daka, A.; Corbisiero, D.; Viola, A.; Ricci, A.; Cabri, W.; Tolomelli, A. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 3969. (b) Zhang, M.; Su, W.-P. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, *39*, 3596 (in Chinese). (张敏, 苏伟平, 有机化学, **2019**, *39*, 3596.)
- [6] (a) Bai, Y.-L.; Li, X.-W.; Xiao, X.-D.; Liu, J.-Q.; Yang, J.-J.; Wang, J.-W. *Chin. J. Org. Chem.* **2017**, *37*, 1258 (in Chinese). (白亚丽, 李晓维, 肖雪冬, 刘佳琦, 杨俊娟, 王君文, 有机化学, **2017**, *37*, 1258.) (b) Wu, X. F.; Neumann, H.; Beller, M. *ChemSusChem* **2013**, *6*, 229.
- [7] (a) Mondal, A.; Chen, H.; Flämig, L.; Wedi, P.; van Gemmeren, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 18662. (b) Balasingham, R. G.; Williams, C. F.; Mottram, H. J.; Coogan, M. P.; Pope, S. J. A. *Organometallics* **2012**, *31*, 5835.
- [8] (a) Su, Y. C.; Lo, Y. L.; Hwang, C. C.; Wang, L. F.; Wu, M. H.; Wang, E. C.; Wang, Y. M.; Wang, T. P. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 6624. (b) Ranyuk, E.; Cauchon, N.; Klarskov, K.; Guérin, B.; van Lier, J. E. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 1520.
- [9] Segura, J. L.; Royuela, S.; Mar Ramos, M. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 3903.
- [10] Liang, L.; Niu, H. Y.; Li, R. L.; Wang, Y. F.; Yan, J. K.; Li, C. G.; Guo, H. M. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 6842.
- [11] Cundari, T. R.; Gordon, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 539.
- [12] Köpf, H.; Köpf-Maier, P. *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 509.
- [13] Schilling, T.; Keppler, K. B.; Heim, M. E.; Niebch, G.; Dietzfelbinger, H.; Rastetter, J.; Hanauske, A. R. *Invest. New Drugs* **1995**, *13*, 327.
- [14] Tshuva, E. Y.; Miller, M. *Met. Ions Life Sci.* **2018**, *18*, 219.
- [15] (a) Glasner, H.; Tshuva, E. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16812. (b) Glasner, H.; Tshuva, E. Y. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 3170.
- [16] Manna, C. M.; Braitbard, O.; Weiss, E.; Hochman, J.; Tshuva, E. Y. *ChemMedChem* **2012**, *7*, 703.
- [17] (a) Pesch, T.; Schuhwerk, H.; Wyrsh, P.; Immel, T.; Dirks, W.; Bürkle, A.; Huhn, T.; Beneke, S. *BMC Cancer* **2016**, *16*, 469. (b) Miller, M.; Braitbard, O.; Hochman, J.; Tshuva, E. Y. *Inorg. Biochem.* **2016**, *163*, 250. (c) Miller, M.; Mellul, A.; Braun, M.; Sherill-Rofe, D.; Cohen, E.; Shpilt, Z.; Unterman, I.; Braitbard, O.; Hochman, J.; Tshuva, E. Y.; Tabach, Y. *iScience* **2020**, *23*, 101262.
- [18] Meker, S.; Margulis-Goshen, K.; Weiss, E.; Magdassi, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 10515.
- [19] (a) Shavit, M.; Peri, D.; Manna, C. M.; Alexander, J. S.; Tshuva, E. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12098. (b) Immel, T. A.; Grütze, M.; Batroff, E.; Groth, U.; Huhn, T. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *106*, 68.
- [20] Immel, T. A.; Grütze, M.; Spate, A.-K.; Groth, U.; Öhlschlager, P.; Huhn, T. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5790.
- [21] Severin, G. W.; Nielsen, C. H.; Jensen, A. I.; Fonslet, J.; Kjær, A.; Zhuravlev, F. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 7591.
- [22] Søborg Pedersen, K.; Baum, C.; Michaelsen Nielsen, K.; Thisgaard, H.; Ingemann Jensen, A.; Zhuravlev, F. *Molecules* **2020**, *25*, 1104.
- [23] (a) Immel, T. A.; Groth, U.; Huhn, T. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2775. (b) Djukic, B.; Poddutoori, P. K.; Dube, P. A.; Seda, T.; Jenkins, H. A.; Lemaire, M. T. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 6109. (c) Storm, O.; Lüning, U. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *2002*, 3680.
- [24] Hannon, M. J.; Green, P. S.; Fisher, D. M.; Derrick, P. J.; Beck, J. L.; Watt, S. J.; Ralph, S. F.; Sheil, M. M.; Barker, P. R.; Alcock, N. W.; Price, R. J.; Sanders, K. J.; Pither, R.; Davis, J.; Rodger, A. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8000.
- [25] Grütze, M.; Zhao, T.; Immel, T. A.; Huhn, T. *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 6697.
- [26] Zhao, T.; Grütze, M.; Götz, K. H.; Druzhenko, T.; Huhn, T. *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 16475.
- [27] Immel, T. A.; Grütze, M.; Späte, A.-K.; Groth, U.; Öhlschlager, P.; Huhn, T. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5790.
- [28] Fields, R. D.; Lancaster, M. V. *Am. Biotechnol. Lab* **1993**, *11*, 48.
- [29] Systat Software, Inc., **2006**, <http://www.systat.com>.

(Lu, Y.)



ISSN 0567-7351
CN 31-1320/O6
CODEN HHHPA4
<http://sioc-journal.cn>

化学学报

ACTA CHIMICA SINICA

Volume 79 Number 11 November 2021



中国化学会
中国科学院上海有机化学研究所

主办