

N-乙酰基吡唑啉衍生物和二苯醚基 N-乙酰基双吡唑啉衍生物的合成及体外抗肿瘤活性

张应鹏^{*,a} 谭伟^a 杨云裳^a 孙世琪^b 郭慧琛^b

(^a 兰州理工大学石油化工学院 兰州 730050)

(^b 中国农业科学院兰州兽医研究所 兰州 730050)

摘要 合成了 7 个 *N*-乙酰基吡唑啉化合物 **2a**~**2g** 和 7 个新型的二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物 **4a**~**4g**, 通过核磁共振谱、元素分析和质谱对合成化合物进行了结构表征。并且用 3-(4,5-二甲基吡啶-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑(MTS)法测试了它们对人肺腺癌细胞(A549)、人非小细胞肺癌细胞(H1299)和乳癌细胞(MCF-7)三类癌细胞株的体外抗肿瘤活性。结果显示, 所合成的化合物对癌细胞有一定抑制作用, 其中 3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(3,4-亚甲基二氧苯基)-2-吡唑啉](**4e**)对 A549, H1299 和 MCF-7 三类癌细胞株具有较好的抗肿瘤活性, 半数抑制浓度(IC_{50})分别为 16.91, 10.09, 10.97 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词 *N*-乙酰基吡唑啉; *N*-乙酰基双吡唑啉; 二苯醚; 抗肿瘤

Syntheses and *in vitro* Antitumor Activities of *N*-Acetyl Pyrazolines and Diphenyl Etheryl *N*-Acetyl Bis-pyrazolines

Zhang, Yingpeng^{*,a} Tan, Wei^a Yang, Yunshang^a Sun, Shiqi^b Guo, Huichen^b

(^a School of Petrochemical Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050)

(^b Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046)

Abstract Seven *N*-acetyl pyrazolines **2a**~**2g** and seven *N*-acetyl bis-pyrazolines **4a**~**4g** with diphenyl etheryl moiety were synthesized and characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, elemental analysis and ESI-MS, and their *in vitro* antitumor activities on A549, H1299 and MCF-7 were evaluated by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl-2H-tetrazolium) (MTS) assay. The results showed those compounds exhibited potent antiproliferative effects on cancer cells, among them compound 3,3'-(4,4'-diphenyl ether)-5,5'-bi[1-acetyl-5-(benzo[d][1,3]dioxo-5-yl)-2-pyrazoline] (**4e**) showed significantly inhibited the growth of all three kinds of cancer cells, the IC_{50} values of A549, H1299 and MCF-7 were 16.91, 10.09, 10.97 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Keywords *N*-acetyl pyrazoline; *N*-acetyl bis-pyrazoline; diphenyl ether; antitumor

杂环化合物在药物化学和有机合成中一直是研究的重要内容之一, 吡唑啉类化合物是一类重要的杂环类化合物, 它们不仅是有机合成中重要合成子和合成中间体^[1], 还具有广泛的生物活性, 如抗菌^[2,3]、消炎^[4]、水解内源性蛋白^[5]、抑制 EGFR 激酶^[6]和抗癌活性^[7]等。另据文献^[8]报道, 芳基取代的吡唑啉化合物因其具有较强的荧光性而被广泛地用作荧光增白剂^[9,10]、闪烁材料^[11]及光导材料电子输送层中的工作物质^[12]等。因此, 对吡唑啉类化合物的合成及应用研究具有重要意义。

目前对吡唑啉类化合物的生物活性研究多集中在单吡唑啉类化合物, 据文献报道^[13,14], 二苯醚类化合物具有很好的抗肿瘤活性, 根据药物拼合原理^[15], 把两个吡唑啉基和二苯醚结构单元通过共价键连接在一个分子上, 以期发现活性更高的先导化合物。

据此, 本研究合成了二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉衍生物, 并与 *N*-乙酰基吡唑啉的抗肿瘤活性进行比较, 具体过程如下^[16]: 查尔酮衍生物为前体, 与水合肼反应合成了 7 个 *N*-乙酰基吡唑啉化合物(Eq. 1); 再利用双查

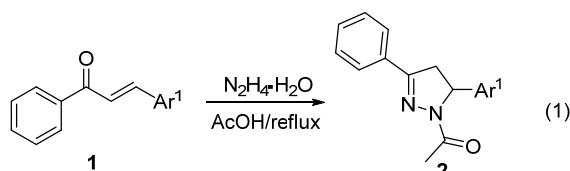
* E-mail: yingpengzhang@126.com

Received March 31, 2015; revised May 6, 2015; published online May 26, 2015.

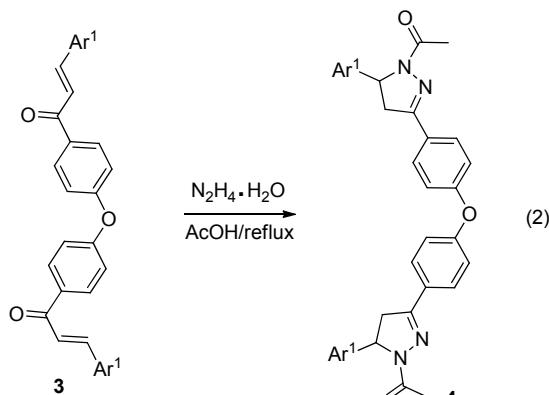
Project supported by the Natural Science Foundation of Gansu Province (No. 2014GS03265).

甘肃省自然科学基金(No. 2014GS03265)资助项目。

尔酮为前体,与水合肼反应合成了7个新型的二苯醚基N-乙酰基双吡唑啉化合物(Eq. 2).采用3-(4,5-二甲基吡啶-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-碘苯基)-2H-四唑(MTS)法^[17]测试了14个该类化合物对人肺腺癌细胞(A549)、人非小细胞肺癌细胞(H1299)和乳癌细胞(MCF-7)三类癌细胞株的体外抗肿瘤活性.



1a: Ar¹ = Ph; **1b:** Ar¹ = 4-BrC₆H₄; **1c:** Ar¹ = 4-MeOC₆H₄;
1d: Ar¹ = α-Furyl; **1e:** Ar¹ = 4-(methylenedioxy)phenyl;
1f: Ar¹ = 2-BrC₆H₄; **1g:** Ar¹ = 3,4,5-(MeO)₃C₆H₂



3a: Ar¹ = Ph; **3b:** Ar¹ = 4-BrC₆H₄; **3c:** Ar¹ = 4-MeOC₆H₄;
3d: Ar¹ = α-Furyl; **3e:** Ar¹ = 3,4-(methylenedioxy)phenyl;
3f: Ar¹ = 2-BrC₆H₄; **3g:** Ar¹ = 3,4,5-(MeO)₃C₆H₂

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

在N-乙酰基吡唑啉化合物**2a~2g**的合成^[16]中,采用查尔酮衍生物为前体,与水合肼在冰乙酸中反应,实现了查尔酮与水合肼关环以及吡唑啉酰基化两步一锅法合成.反应条件为文献报道最优条件,从实验结果来看,采用文献条件实验获得了较好的收益.在二苯醚基N-乙酰基双吡唑啉化合物**4a~4g**的合成^[16]中,将双查尔酮**3a~3g**与水合肼在冰乙酸(冰乙酸既是溶剂,又是催化剂)中加热回流,发生关环反应和酰基化,得到双吡唑啉化合物**4a~4g**.当水合肼和双查尔酮的物质的量比为2:1,反应不充分,而且有单吡唑啉生成.但水合肼的用量太大时,副反应也较多.实验结果表明,以冰乙酸为溶剂,水合肼和双查尔酮的物质的量比为5:1为最佳反应条件.水合肼和双查尔酮反应的时间以TLC检测为准.

1.2 体外抗肿瘤活性研究

将A549, H1299和MCF-7三株细胞分置与含5%小

牛血清的RPMI1640培养液中,在37℃、含5%CO₂的培养箱中复苏,培养2代,将第3代细胞接种于96孔板,每孔100μL,培养24 h(37℃,5%CO₂);分别加入等体积不同浓度的样品溶液(DMSO做溶剂),使终浓度分别为4.93, 29.13, 58.25, 116.50, 166.67 μmol/L,每个浓度3孔,DMSO作阴性对照,DDP(顺铂)为阳性对照,再培养48 h,每孔加入20 μL MTS溶液,再置培养箱中培养4 h;在酶标仪490 nm波长处测定吸光度,用下式计算样品的肿瘤细胞生长的抑制率(%).抑制率(%)=(OD_{空白}-OD_{样品})/OD_{空白}×100%.半数抑制浓度(IC₅₀)值用SPSS统计软件计算得到.结果如表1所示.

表1 化合物**2a~2g**和**4a~4g**对A549, H1299和MCF-7三类癌细胞株的体外抗肿瘤活性测试

Table 1 The cytotoxicity of the compounds **2a~2g** and **4a~4g** against A549, H1299 and MCF-7

Compd.	IC ₅₀ (μmol·L ⁻¹)		
	A549	H1299	MCF-7
2a	>100	>100	>100
2b	51.87	50.27	36.01
2c	36.55	47.99	61.42
2d	33.47	39.90	30.02
2e	22.38	36.52	26.22
2f	69.53	58.32	46.57
2g	33.67	40.56	66.89
4a	98.11	90.02	88.96
4b	35.36	33.83	23.51
4c	20.67	22.19	26.01
4d	21.39	20.71	19.56
4e	16.91	10.06	10.97
4f	44.35	39.46	27.33
4g	19.23	21.66	17.82
DDP	16.12	18.33	10.21

MTS测试结果显示合成的吡唑啉化合物对三类癌细胞株有一定的抑制作用.抗癌活性测试中半数抑制浓度(IC₅₀)值与抗癌细胞增殖活性负相关.吡唑啉芳基苯环上无取代基的**2a**对A549, H1299和MCF-7三类癌细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)均大于100 μmol/L,同样双吡唑啉中的**4a**对三类癌细胞的活性也较差,吡唑啉芳基环上有取代基**2b**, **2c**, **2e**, **2f**, **2g**和**4b**, **4c**, **4e**, **4f**, **4g**活性明显高于无取代的**2a**和**4a**,故推断当吡唑啉芳基苯环上无取代基时不利于与癌细胞结合,导致其抗肿瘤活性较低.对于A549和H1299两类癌细胞,吡唑啉芳基苯环上对位取代的吸电基团溴(**2b**, **4b**)活性小于对位取代的富电基团甲氧基(**2c**, **4c**),但对MCF-7细胞株却相反(**2c**>**2b**, **4c**>**4b**),这可能是由于MCF-7癌细胞的差异性造成.通过比较**2b**和**2f**, **4b**和**4f**的半数抑制浓度(IC₅₀)发现芳基苯环对位溴取代的吡唑啉对癌细胞的抑制作用大于邻位溴取代的吡唑啉.比较**2c**和**2g**, **4c**和

4g 的半数抑制浓度(IC_{50})，当吡唑啉芳基苯环上取代基增加时，取代基增加的抗肿瘤活性增加，这可能由于取代基增加更有利于化合物分子与癌细胞靶点契合。当吡唑啉芳基环为呋喃环(**2d**, **4d**)时，其对 A549, H1299 和 MCF-7 三株癌细胞的活性都明显提高，表现出中等活性。当芳基环为 3,4-亚甲基二氧苯基(**2e**, **4e**)时，对三株癌细胞都显示出较好的抑制活性，尤其是 **4e** 对 A549 和 MCF-7 两类癌细胞活性几乎与 DDP 相当，其对 H1299 癌细胞株活性优于 DDP。

二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物 **4a~4g** 与 *N*-乙酰基吡唑啉化合物 **2a~2g** 相比抗肿瘤活性相对较高。测试结果(表1)显示，*N*-乙酰基吡唑啉化合物有一定的抗肿瘤活性，但 IC_{50} 值太大， IC_{50} 值与抗癌细胞增殖活性负相关，其活性相对较低。二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物 **4a~4g** 的 IC_{50} 值相对较低，其 IC_{50} 值除 **4a** 外其它均小于 50 $\mu\text{mol/L}$ 。比较化合物 **4a~4g** 与 **4a~4g** 对三株癌细胞的体外抗肿瘤活性数据，半数抑制浓度(IC_{50})值 **2b>4b**, **2c>4c**, **2d>4d**, **2e>4e**, **2f>4f**, **2g>4g**，半数抑制浓度(IC_{50})与抗癌细胞增殖活性负相关。尤其是化合物 **4e**, H1299 癌细胞测试结果显示，**2e** 的半数抑制浓度(IC_{50})值为 36.52 $\mu\text{mol/L}$ 是 **4e** 的 3.63 倍，**2e** 对 MCF-7 癌细胞的半数抑制浓度(IC_{50})值为 26.22 $\mu\text{mol/L}$ 是 **4e** 的 2.39 倍，**4e** 抗肿瘤活性远优于 **2e**。相同取代基的情况下二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物抗肿瘤活性优于 *N*-乙酰基吡唑啉，其原因可能是由于二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物分子中活性官能团比 *N*-乙酰基吡唑啉多一个，吡唑啉环之间的协同作用，另外二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物分子中含有二苯醚结构，而二苯醚类化合物也具有很好的抗肿瘤活性^[13,14]。因此二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物显示出比 *N*-乙酰基吡唑啉化合物更好的抗肿瘤活性。

2 结论

分别采用查尔酮和双查尔酮为前体，合成了 7 个 *N*-乙酰基吡唑啉化合物和 7 个二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物，产物经核磁共振谱、元素分析和质谱确认了结构，并且测试了它们对 A549、H1299 和 MCF-7 三类癌细胞株的体外抗肿瘤活性。实验结果表明，所合成的化合物对癌细胞有一定抑制作用，且二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物的抗肿瘤活性高于 *N*-乙酰基吡唑啉化合物的抗肿瘤活性。二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉化合物中的 **4e** 对 A549 和 MCF-7 两类癌细胞株活性与 DDP 相当，对 H1299 癌细胞株的活性优于 DDP，可以对 **4e** 进一步研究，有希望成为开发新抗癌药的前体。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

XRC-1 型显微熔点仪(四川大学科学仪器厂); Bruker Avance 400 型核磁共振仪(TMS 为内标, CDCl_3 作溶剂); Vario III 元素分析仪(德国 Elementar 公司); Esquire 6000 型液相色谱/质谱联用仪(Bruker 公司); 酶标仪(BIOTEK 公司); RPMI1640 培养基(上海士峰生物科技有限公司); MTS (Promega 公司); 细胞株：人肺腺癌细胞(A549)、人非小细胞肺癌细胞(H1299)、乳癌细胞(MCF-7)，均由中科院兰州兽医研究所提供。其它所用试剂均为市售分析纯或化学纯。

化合物 **1,3** 参考文献[18]方法合成。化合物 **1a**: m.p. 54~55 °C(文献值^[19]: 54~56 °C); 化合物 **1b**: m.p. 120~122 °C(文献值^[20]: 121~123 °C); 化合物 **1c**: m.p. 73~75 °C(文献值^[21]: 73~74 °C); 化合物 **1d**: m.p. 40~41 °C(文献值^[22]: 41 °C); 化合物 **1e**: m.p. 116~117 °C(文献值^[23]: 115~117 °C); 化合物 **1f**: m.p. 46~47 °C(文献值^[24]: 46~47 °C); 化合物 **1g**: m.p. 173~174 °C(文献值^[25]: 173 °C); 化合物 **3a**: m.p. 203~204 °C(文献值^[26]: 207 °C); 化合物 **3b**: m.p. 186~189 °C(文献值^[27]: 187~189 °C); 化合物 **3c**: m.p. 206~208 °C(文献值^[28]: 207~208 °C); 化合物 **3d**: m.p. 135~137 °C(文献值^[29]: 135~136 °C); 化合物 **3e**: m.p. 175~176 °C(文献值^[29]: 175~176 °C); 化合物 **3f**: m.p. 175~177 °C(文献值^[27]: 175~176 °C); 化合物 **3g**: m.p. 185~187 °C(文献值^[30]: 186~187 °C)。

3.2 实验方法

3.2.1 *N*-乙酰基吡唑啉衍生物 **2** 的合成

在 50 mL 三口烧瓶中分别加入 1 mmol 化合物 **1**、130 μL 水合肼(2.5 mmol, 80%水溶液)、30 mL 冰乙酸，120 °C 油浴中回流，TLC 跟踪至化合物 **1** 反应结束，反应液倒入 200 mL 蒸馏水中，待固体析出后抽滤，依次用饱和 NaHCO_3 溶液、饱和 NaCl 溶液和蒸馏水洗涤滤饼，得到粗产物。粗产物经硅胶柱层析纯化[洗脱剂： $V(\text{乙酸乙酯}) : V(\text{石油醚}) = 1 : 6$]，得到化合物 **2** 纯品。化合物 **2** 的产率、熔点和表征数据如下所示。

1-乙酰基-3,5-二苯基-2-吡唑啉(2a): 白色固体，收率 95%。m.p. 126~127 °C(文献值^[31]: 123~124 °C); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.74 (dd, $J=6.6, 3.1$ Hz, 2H, ArH), 7.45~7.39 (m, 3H, ArH), 7.35~7.27 (m, 2H, ArH), 7.24 (t, $J=6.5$ Hz, 3H, ArH), 5.59 (dd, $J=11.9, 4.6$ Hz, 1H, C₄-H), 3.75 (dd, $J=17.7, 11.8$ Hz, 1H, C₅-H), 3.16 (dd, $J=17.7, 4.6$ Hz, 1H, C₅-H), 2.42 (s, 3H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 168.83, 152.69, 141.67,

131.96, 130.40, 128.92, 128.00, 127.72, 125.51, 124.60, 60.13, 42.21, 21.94; ESI-MS *m/z*: 264.1. Anal. calcd for C₁₇H₁₆N₂O: C 77.26, H 6.10, N 10.60; found C 77.25, H 10.60, N 9.09.

1-乙酰基-3-苯基-5-(4-溴苯基)-2-吡唑啉(2b):白色固体, 收率 96%. m.p. 108~109 °C(文献值^[32]: 110~111 °C); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.74 (dd, *J*=6.8, 3.0 Hz, 2H, ArH), 7.44 (dd, *J*=5.4, 3.1 Hz, 5H, ArH), 7.12 (d, *J*=6.6 Hz, 2H, ArH), 5.57~5.47 (m, 1H), 3.80~3.66 (m, 1H), 3.12 (dd, *J*=17.7, 4.8 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 169.04, 153.88, 140.96, 132.11, 131.23, 130.58, 128.89, 127.53, 126.68, 121.63, 59.50, 42.27, 22.05; ESI-MS *m/z*: 342.0. Anal. calcd for C₁₇H₁₅BrN₂O: C 59.49, H 4.41, N 8.16; found C 59.39, H 4.40, N 8.61.

1-乙酰基-3-苯基-5-(4-甲氧基苯基)-2-吡唑啉(2c):白色固体, 收率 97%. m.p. 110~111 °C(文献值^[33]: 105~107 °C); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.74 (d, *J*=2.6 Hz, 2H, ArH), 7.42 (s, 3H, ArH), 7.16 (d, *J*=8.2 Hz, 2H, ArH), 6.83 (d, *J*=8.1 Hz, 2H, ArH), 5.54 (dd, *J*=11.4, 3.8 Hz, 1H, C₄-H), 3.98~3.48 (m, 4H, C₅-H, OMe), 3.14 (dd, *J*=17.6, 3.7 Hz, 1H, C₅-H), 2.40 (s, 3H, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 168.51, 158.83, 153.61, 134.04, 131.38, 130.16, 128.62, 126.82, 126.47, 114.01, 59.36, 55.17, 42.18; ESI-MS *m/z*: 294.1. Anal. calcd for C₁₇H₁₈N₂O₂: C 77.32, H 6.43, N 9.92; found C 73.45, H 6.16, N 9.52.

1-乙酰基-3-苯基-5-(2-呋喃基)-2-吡唑啉(2d):黄色固体, 收率 94%. m.p. 125~127 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.78~7.73 (m, 2H, ArH), 7.46~7.40 (m, 3H, ArH), 7.29 (dd, *J*=1.8, 0.9 Hz, 1H, ArH), 6.35~6.26 (m, 2H, ArH), 5.69 (dd, *J*=11.5, 4.9 Hz, 1H, C₄-H), 3.58 (dd, *J*=16.2, 12.9 Hz, 1H, C₅-H), 3.44 (dd, *J*=17.5, 4.9 Hz, 1H, C₅-H), 2.39 (s, 3H, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 169.12, 154.22, 152.16, 142.06, 131.35, 130.48, 128.84, 126.69, 110.67, 107.64, 53.40, 38.35, 22.11; ESI-MS *m/z*: 254.1. Anal. calcd for C₁₅H₁₄N₂O₂: C 70.85, H 5.55, N 11.02.; found C 70.80, H 5.57, N 11.06.

1-乙酰基-3-苯基-5-(3,4-亚甲基二氧苯基)-2-吡唑啉(2e):砖红色固体, 收率 92%. m.p. 145~146 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.74 (dd, *J*=6.7, 3.1 Hz, 2H, ArH), 7.43 (dd, *J*=5.1, 1.6 Hz, ArH, 3H), 6.80~6.71 (m, 2H, ArH), 6.68 (s, 1H, ArH), 5.91 (s, 2H, CH₂), 5.51 (dd, *J*=11.8, 4.6 Hz, 1H, C₄-H), 3.72 (dd, *J*=17.7, 11.8 Hz, 1H, C₅-H), 3.13 (dd, *J*=17.7, 4.6 Hz, 1H, C₅-H), 2.42 (s,

3H, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 169.03, 153.97, 148.16, 147.09, 135.99, 131.42, 130.46, 128.85, 126.67, 119.19, 108.59, 106.06, 101.21, 59.83, 42.49, 22.13; ESI-MS *m/z*: 308.1. Anal. calcd for C₁₈H₁₆N₂O₃: C 70.12, H 5.23, N 9.09; found C 70.03, H 5.27, N 9.11.

1-乙酰基-3-苯基-5-(2-溴苯基)-2-吡唑啉(2f):白色固体, 收率 96%. m.p. 159~160 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.75~7.70 (m, 2H, ArH), 7.58 (dd, *J*=7.9, 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.44~7.38 (m, 3H, ArH), 7.23 (dd, *J*=7.6, 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.12 (td, *J*=7.6, 1.8 Hz, 1H, ArH), 7.04 (dd, *J*=7.7, 1.7 Hz, 1H, ArH), 5.89 (dd, *J*=11.9, 4.9 Hz, 1H, C₄-H), 3.91~3.77 (m, 1H, C₅-H), 3.07~2.96 (m, 1H, C₅-H), 2.49 (s, 3H, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 168.96, 154.20, 140.13, 133.36, 131.29, 130.53, 129.14, 128.83, 128.00, 126.69, 121.73, 59.90, 41.72, 22.05; ESI-MS *m/z*: 342.0. Anal. calcd for C₁₇H₁₅BrN₂O: C 59.49, H 4.41, N 8.16; found C 59.45, H 4.40, N 8.62.

1-乙酰基-3-苯基-5-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-吡唑啉(2g):黄色固体, 收率 98%. m.p. 135~137 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.77 (dd, *J*=6.7, 3.0 Hz, 2H, ArH), 7.45 (dd, *J*=5.1, 1.8 Hz, 3H, ArH), 6.45 (s, 2H, ArH), 5.54 (dd, *J*=11.8, 4.8 Hz, 1H, C₄-H), 3.84 (s, 6H, OMe), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.76 (dd, *J*=17.7, 11.9 Hz, 1H, C₅-H), 3.18 (dd, *J*=17.7, 4.8 Hz, 1H, C₅-H), 2.47 (s, 3H, OMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 169.11, 153.99, 153.64, 137.60, 137.50, 131.34, 130.39, 128.70, 126.59, 102.43, 60.73, 60.20, 56.24, 42.55, 21.96; ESI-MS *m/z*: 354.2. Anal. calcd for C₂₂H₂₂N₂O₂: C 76.28, H 6.40, N 8.09; found C 67.78, H 6.26, N 7.90.

3.2.2 二苯醚基 *N*-乙酰基双吡唑啉衍生物 4 的合成

在 50 mL 圆底烧瓶中加入 30 mL 冰乙酸, 搅拌下加入 1 mmol 化合物 3、260 μL 水合肼(5 mmol, 80%水溶液), 120 °C 油浴中回流, 用 TLC 跟踪至产物 *R*_f 值几乎不变时停止反应, 将反应液倾入蒸馏水中, 析出固体, 抽滤, 依次用饱和 NaHCO₃ 溶液、饱和 NaCl 溶液和蒸馏水洗涤滤饼, 得到粗产物。粗产物经硅胶柱层析纯化[洗脱剂: *V*(乙酸乙酯) : *V*(石油醚)=1 : 3], 得到化合物 4 纯品。化合物 4 的产率、熔点和表征数据如下所示。

3,3'-4,4'-二苯醚基)双(1-乙酰基-5-苯基-2-吡唑啉)(4a):白色固体, 收率 95%. m.p. 190~192 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.82 (d, *J*=8.4 Hz, 4H, ArH), 7.67 (d, *J*=8.5 Hz, 4H, ArH), 7.34~7.29 (m, 4H, ArH), 7.26~7.22 (m, 6H, ArH), 5.61 (dd, *J*=11.8, 4.5 Hz, 2H, C_{1,1'}-H), 3.77 (dd, *J*=17.6, 11.9 Hz, 2H, C_{5,5'}-H), 3.19 (dd, *J*=17.6, 4.6 Hz, 2H, C_{5,5'}-H), 2.44 (s, 6H, OMe); ¹³C NMR

(100 MHz CDCl_3) δ : 168.93, 153.36, 141.90, 131.00, 129.02, 127.80, 127.37, 127.27, 125.64, 60.13, 42.42, 22.10; ESI-MS m/z : 542.2. Anal. calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_3$: C 75.26, H 5.57, N 10.33; found C 72.24, H 5.61, N 10.30.

3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(4-溴苯基)-2-吡唑啉](4b): 白色固体, 收率 94%. m.p. 180~183 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.72 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 7.42 (d, $J=8.4$ Hz, 4H, ArH), 7.09 (d, $J=8.4$ Hz, 4H, ArH), 7.06 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 5.53 (dd, $J=11.8, 4.6$ Hz, 2H, $\text{C}_{1,1}\text{-H}$), 3.79~3.65 (m, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 3.09 (dd, $J=17.7, 4.7$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.39 (s, 6H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 168.91, 158.46, 153.08, 140.91, 132.12, 128.54, 127.50, 126.93, 121.65, 119.26, 59.55, 42.31, 22.02; ESI-MS m/z : 630.2. Anal. calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_7$: C 68.56, H 4.79, N 8.88; found C 68.50, H 4.82, N 8.86.

3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(4-甲氧基苯基)-2-吡唑啉](4c): 白色固体, 收率 98%. m.p. 116~118 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.72 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 7.14 (d, $J=8.7$ Hz, 4H, ArH), 7.05 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 6.81 (d, $J=8.7$ Hz, 4H, ArH), 5.51 (dd, $J=11.7, 4.3$ Hz, 2H, $\text{C}_{1,1}\text{-H}$), 3.72 (s, 6H), 3.66 (dd, $J=10.6, 7.1$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 3.16~3.02 (m, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.38 (s, 6H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 168.75, 159.09, 158.37, 153.26, 134.16, 128.53, 127.21, 126.99, 119.22, 114.31, 59.57, 55.34, 42.43, 22.11; ESI-MS m/z : 602.3. Anal. calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5$: C 71.74, H 5.69, N 9.30; found C 71.69, H 5.67, N 9.31.

3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(2-呋喃基)-2-吡唑啉](4d): 白色固体, 收率 97%. m.p. 190~192 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.70 (dd, $J=8.8, 2.4$ Hz, 4H, ArH), 7.27~7.19 (m, 2H, ArH), 7.02 (dd, $J=8.8, 2.5$ Hz, 4H, ArH), 6.34~6.17 (m, 4H, ArH), 5.68~5.54 (m, 2H, $\text{C}_{1,1}\text{-H}$), 3.57~3.44 (m, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 3.36 (ddd, $J=17.5, 4.5, 3.4$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.31 (d, $J=3.0$ Hz, 6H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 158.39, 153.47, 152.15, 142.03, 128.54, 127.00, 119.19, 110.64, 107.65, 53.45, 38.36, 22.03; ESI-MS m/z : 522.2. Anal. calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5$: C 68.95, H 5.02, N 10.72; found C 68.91, H 5.01, N 10.70.

3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(3,4-亚甲基二氧苯基)-2-吡唑啉](4e): 白色固体, 收率 93%. m.p. 210~212 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.93 (d, $J=8.7$ Hz, 4H, ArH), 7.73 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, ArH), 7.06 (d, $J=8.7$ Hz, 4H, ArH), 7.01 (d, $J=8.7$ Hz, 4H, ArH), 6.65 (s,

2H, CH_2), 5.47 (dd, $J=11.8, 4.4$ Hz, 2H, $\text{C}_{1,1}\text{-H}$), 3.67 (dd, $J=17.7, 11.8$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 3.08 (dd, $J=17.7, 4.5$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.54 (s, 6H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 196.74, 168.83, 161.04, 157.58, 153.08, 148.17, 147.11, 135.93, 132.63, 130.77, 128.57, 127.67, 119.95, 119.16, 118.05, 108.57, 106.03, 101.21, 59.91, 42.50, 26.59, 22.08; ESI-MS m/z : 630.2. Anal. calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_7$: C 68.56, H 4.79, N 8.88; found C 68.50, H 4.82, N 8.86.

3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(2-溴苯基)-2-吡唑啉](4f): 白色固体, 收率 92%. m.p. 192~193 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.70 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 7.57~7.53 (m, 2H, ArH), 7.22 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, ArH), 7.09 (td, $J=7.7, 1.5$ Hz, 2H, ArH), 7.02 (d, $J=8.7$ Hz, 6H, ArH), 5.86 (dd, $J=11.8, 4.7$ Hz, 2H, $\text{C}_{1,1}\text{-H}$), 3.82 (dd, $J=17.7, 11.8$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.99 (dd, $J=17.7, 4.8$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.46 (s, 6H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 168.81, 158.42, 153.46, 140.12, 133.37, 129.17, 128.56, 128.02, 126.96, 121.73, 119.18, 59.98, 41.76, 22.03; ESI-MS m/z : 700.3. Anal. calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_3$: C 58.30, H 4.03, N 8.00; found C 58.33, H 4.33, N 8.02.

3,3'-(4,4'-二苯醚基)双[1-乙酰基-5-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-吡唑啉](4g): 白色固体, 收率 92%. m.p. 129~130 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.71 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 7.05 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, ArH), 6.39 (s, 4H, ArH), 5.50 (dd, $J=11.8, 4.7$ Hz, 2H, $\text{C}_{1,1}\text{-H}$), 3.79 (s, 12H, OMe), 3.76 (s, 6H, OMe), 3.71~3.66 (m, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 3.11 (dd, $J=17.7, 4.8$ Hz, 2H, $\text{C}_{5,5}\text{-H}$), 2.41 (s, 6H, OMe); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 169.01, 158.41, 153.71, 153.34, 137.70, 128.52, 127.04, 119.22, 102.31, 60.82, 60.29, 56.20, 42.70, 22.06; ESI-MS, m/z : 722.3. Anal. calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_9$: C 66.47, H 5.86, N 7.75; found C 66.44, H 5.80, N 7.78.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 2a~2g, 4a~4g 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 图谱. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载

References

- [1] Yin, J. G.; Li, Y. W.; Li, J. Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 1213 (in Chinese). (殷军港, 李韵伟, 李家柱, 有机化学, **2011**, *31*, 1213.)
- [2] Zhou, M.; Lu, J. R.; Xing, C. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 1201 (in Chinese). (邹敏, 卢俊瑞, 辛春伟, 有机化学, **2010**, *30*, 1201.)
- [3] Khan, S. A.; Asiri, A. M.; Kumar, S.; Sharma, K. *Chem.-Eur. J.* **2014**, *5*, 85.
- [4] Wang, Z. N.; Hu, D. Y.; Song, B. A. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, *29*,

- 1412 (in Chinese).
(王振宁, 胡德禹, 宋宝安, 有机化学, **2009**, 29, 1412.)
- [5] Raghav, N.; Garg, S. *Bioorg. Chem.* **2014**, 57, 43.
- [6] Shen, Y. M.; Lv, P. C.; Chen, W.; Liu, P. G.; Zhang, M. Z.; Zhu, H. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 3184.
- [7] Long, Y. X.; Zhang, K. S.; Qiu, D. W. *Chem. J. Chin. Univ.* **1996**, 17, 1247 (in Chinese).
(龙韫先, 张克胜, 邱德文, 高等学校化学学报, **1996**, 17, 1247.)
- [8] Ye, J. H.; Ye, W. F.; Zhang, W. C. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, 31, 1917 (in Chinese).
(叶家海, 叶文芳, 张文超, 有机化学, **2011**, 31, 1917.)
- [9] Morgan, M. T.; Sumalekshmy, S.; Sarwar, M.; Beck H.; Crooke, S.; Fahrni, C. *J. Phys. Chem. B* **2014**, 118, 14196.
- [10] Bernal, A.; Simón, O.; Williams, T.; Caballero, P. *Pest. Manage. Sci.* **2014**, 70, 798.
- [11] Liu, J. F.; Li, D. F.; Tang, X.; Cai, R.; Han, X.; Xie, Z. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, 30, 1039 (in Chinese).
(刘计福, 李东风, 唐鑫, 蔡然, 韩啸, 谢志元, 有机化学, **2010**, 30, 1039.)
- [12] Jin, M.; Lu, R.; Bao, C. Y.; Xu, T. H.; Zhao, Y. Y. *Opt. Mater.* **2004**, 26, 85.
- [13] Ma, Y. M.; Fen, C. L. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, 28, 1697 (in Chinese).
(马养民, 冯成亮, 有机化学, **2008**, 28, 1697.)
- [14] Bunyapaiboonsri, T.; Yoiprommarat, S.; Intereya, K.; Kocharin, K. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, 55, 304.
- [15] Xu, W. F.; *Drug Design*, People's Medical Publishing House, Beijing, **2007**, p. 65 (in Chinese).
(徐文方, 药物设计学, 人民卫生出版社, 北京, **2007**, p. 65.)
- [16] Nepali, K.; Singh, G.; Turan, A.; Agarwal, A.; Sapra, S.; Kumar, R.; Dhar, K. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 1950.
- [17] Cuei, J. G.; Huang, L. L.; Huang, Y. M. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, 29, 971 (in Chinese).
(崔建国, 黄立梁, 黄燕敏, 有机化学, **2009**, 29, 971.)
- [18] Chang, M. Y.; Chen, Y. C.; Chan, C. K. *Tetrahedron* **2014**, 70, 2257.
- [19] Rafiee, E.; Rahimi, F. *Monatsh. Chem.* **2013**, 144, 361.
- [20] Stroba, A.; Schaeffer, F.; Hindie, V.; Lopez-Garcia, L.; Adrian, I.; Fröhner, W.; Engel, M. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 4683.
- [21] Abdel-Halim, M.; Diesel, B.; Kiemer, A. K.; Abadi, A. H.; Hartmann, R. W.; Engel, M. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 6513.
- [22] Nagwanshi, R.; Bakhrus, M.; Jain, S. *Med. Chem. Res.* **2012**, 21, 1587.
- [23] Rueping, M.; Bootwicha, T.; Baars, H.; Sugiono, E. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, 7, 1680.
- [24] Wang, Y.; Franzén, R. *Synlett* **2012**, 925.
- [25] Bandgar, B. P.; Gawande, S. S.; Bodade, R. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 1364.
- [26] Chardonnens, L.; Hammer, W. *Helv. Chim. Acta* **1968**, 51, 2044.
- [27] Chuev, V. P.; Nikitchenko, V. M.; Pivnenko, N. S.; Lavrushin, V. F. *Russ. J. Org. Chem.* **1986**, 22, 66.
- [28] Dilthey, W.; Bach, E.; Grütering, H.; Hausdörfer, E.; *J. Prakt. Chem.* **1927**, 117, 337.
- [29] Dilthey, W.; Neuhaus, L.; Reis, E.; Schommer, W. *J. Prakt. Chem.* **1929**, 124, 81.
- [30] Maccarone, E.; Cuffari, G.; Passerini, A. *J. Chem. Res., Synop.* **1991**, 9, 240.
- [31] Lv, P. C.; Sun, J.; Luo, Y.; Yang, Y.; Zhu, H. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 4657.
- [32] Congiu, C.; Onnis, V.; Vesci, L.; Castorina, M.; Pisano, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 18, 6238.
- [33] Manna, F.; Chimenti, F.; Fioravanti, R.; Bolasco, A.; Secci, D.; Chimenti, P.; Scambia, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 4632.

(Zhao, X.)