

具有准确度高、精密度好的特点,能较为准确地进行含量测定,同时可减少测定带来的时间、仪器及试剂的损耗。通过本实验进一步验证 LC-MS 和 UPLC 技术作为一种新的色谱技术在中药的成分研究方面具有明显的优势,是中药现代化的有力技术手段。

REFERENCES

[1] WS₃-B-3825-98(红花注射液部颁标准)[S]. 1998:102-103.
[2] DOU C Y,QIN X M,DONG H H,*et al.* Determination and specific chromatogram study of flavonols in saffron injection for the quality control by HPLC [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志),2009,29(21):1846-1849.
[3] FENG X,TANG J M,CAO X,*et al.* Comparison of excretion of hydroxysafflor yellow A after oral administration of monomer, medicinal substance aqueous extract and naodesheng tablets in rats [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志),2012,47(6):448-554.
[4] LIU Y,YU J D,DAI Z,*et al.* Study on quality control of Honghua injection [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志),2010,30(9):1732-1734.
[5] ANFOSSI G,MASSUCCO P,MATTIELLO L,*et al.* Adenosine

increases human platelet levels of cGMP through nitric oxide: Possible role in its antiaggregating effect [J]. *Throm Res*,2002,105(1):71-78.
[6] POTTER L R. Guanylyl cyclase structure, function and regulation [J]. *Cell Signal*,2011,23(12):1921-1926.
[7] JIANG J S. Studies on the chemical constituents and bioactivities of *Carthamus tinctorius* L. [D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College,2008.
[8] XIA Y Y,MIN Y,SHENG Y C,*et al.* The effects of hydroxysafflor yellow A on the formation of thrombus and platelet aggregation in rats [J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报),2005,21(11):1400-1401.
[9] WU W,JIN M,PIAO Y Z,*et al.* Inhibition of safflower yellow against myocardial ischemia injury of rats [J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药),2007,37(9):1373-1375.
[10] WANG G Y. *Detecting Methods for Useful Constituent of Health Food*(保健食品功效成分检测方法)[M]. Beijing:China Light Industry Press,2002:143.
[11] ZHOU F R,ZHAO M B,TU P F. Simultaneous determination of four nucleosides in *Carthamus tinctorius* L. and Safflower injection using high-performance liquid chromatography [J]. *J Chin Pharm Sci*(中国药科学英文版),2009,18:326-330.
(收稿日期:2013-01-14)

新型 *N*-芳基(芳基偶氮-1,3,4-噻二唑)磺酰胺类化合物的合成及抗癌活性

胡颖¹,杨坤淘^{1*},冯驹^{2,3}(1. 湖北民族学院附属民大医院,湖北恩施 445000;2. 湖北民族学院化学与环境工程学院,湖北恩施 445000;3. 华中师范大学化学学院,武汉 430079)

摘要:目的 研究 *N*-芳基(芳基偶氮-1,3,4-噻二唑)磺酰胺类化合物的合成方法及抗癌活性。**方法** 以芳胺、水杨醛、氨基硫脲和苯磺酰氯为原料合成相应的目标化合物,采用 MTT 法研究了目标化合物体外抑制 L1210 和 B16 癌细胞的活性。**结果** 合成了一系列新型的 *N*-芳基(芳基偶氮-1,3,4-噻二唑)磺酰胺类化合物,其结构经元素分析、IR、MS 及 ¹H-NMR 确证。化合物 5a,5g 表现出明显的体外抗癌活性。**结论** *N*-芳基(芳基偶氮-1,3,4-噻二唑)磺酰胺类化合物有可能成为新型结构的抗癌药物。**关键词:**1,3,4-噻二唑;合成;抗癌活性

doi:10. 11669/cpj. 2013. 12. 020 中图分类号:R914 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2013)12-1026-04

The Synthesis and Antitumor Activity of Novel *N*- aryl(arylazo-1,3,4-Thiadiazoles) Sulfonamides Derivatives

HU Ying¹, YANG Kun-qing^{1*}, FENG Fu^{2,3}(1. *University Hospital of Hubei University For Nationalities,Enshi 445000,China*; 2. *School of Chemistry and Environmental Engineering, Hubei Institute for Nationalities,Enshi 445000,China*; 3. *Department of Chemistry, Huazhong Normal University, Wuhan 430079,China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the synthesis and antitumor activity of *N*-aryl(arylazo-1,3,4-thiadiazoles) sulfonamides derivatives. **METHODS** The title compounds were synthesized by the condensation reaction of aromatic amine, salicylaldehyde, thiosemicarbazide and benzene sulfochloride, and their antitumor activities against L1210 and B16 cells were assayed by MTT method.

基金项目:湖北省自然科学基金项目(2012FFB01103)

作者简介:胡颖,女,硕士 研究方向:临床药学 * **通讯作者:**杨坤淘,男,副主任医师 研究方向:临床药学 Tel/Fax:15027224903
E-mail:fu. feng@ yahoo. com. cn

RESULTS A series of novel *N*-aryl(arylo-1,3,4-Thiadiazoles)sulfonamides derivatives were synthesized, and their structures were confirmed by IR, MS, ¹H-NMR and elemental analysis. Compounds 5a and 5g showed potential antitumor activity. **CONCLUSION** *N*-aryl(arylo-1,3,4-thiadiazoles)sulfonamides derivatives may be useful antitumor candidate drugs.

KEY WORDS: 1,3,4-thiadiazole; synthesis; antitumor activity

癌症是以细胞异常增殖及转移为特点的一类疾病,正在成为人类的第一杀手。肿瘤转移是恶性肿瘤(癌症)致命性症结所在。筛选和开发抗肿瘤转移药物对于肿瘤防治具有重要意义。1,3,4-噻二唑类化合物具有抗癌,抗结核,杀菌等多种生物活性^[1-3]。自1955年Oleson等报道2-氨基-1,3,4-噻二唑类化合物(ATDA)对S91黑素瘤,8110神经胶质过滤,6C3HED淋巴肉瘤具有抑制作用以来,引起了药物界、化学界对该类化合物的广泛兴趣,对这类化合物进行了大量的研究^[4-5]。同时,水杨醛具有消炎、止痛、抗病毒等生物活性^[6],磺酰脲化合物也具有高效、低毒和高选择性等优点^[7]。为了寻找新型具有抗肿瘤转移的药物,我们以芳胺、水杨醛、氨基硫脲和苯磺酰氯为原料,设计合成了10个新型的1,3,4-噻二唑芳基磺酰脲类化合物,并对目标化合物进行了体外抗癌活性实验,希望得到有抗癌活性的先导化合物,为进一步的合成和活性研究奠定基础,其合成路线见图1。

1 实验部分

产物的熔点用XRC-1显微熔点仪测定(温度未校正);IR谱用AVA TAR 360型红外光谱仪(美国Nicolet公司)测定;¹H-NMR用XL-400型核磁共振仪(德国Bruker公司,CDCl₃为溶剂,TMS为内

标)测定;元素分析采用Perkin-Elmer-2400型元素自动分析仪测定(美国PE公司)。

2-氨基-5-(2-羟基-5-偶氮芳基苯基)-1,3,4-噻二唑(4)按文献[8]方法合成。

1.1 偶氮化合物(2)的合成

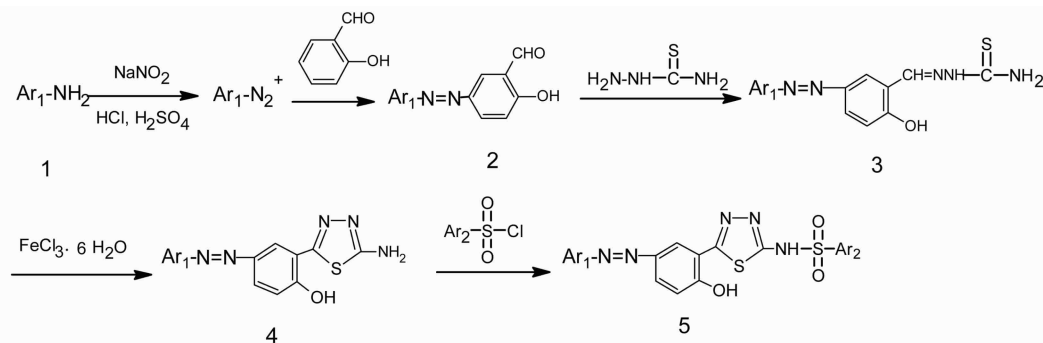
将5 mmol 芳胺溶于25 mL 50%硫酸溶液中,加热搅拌充分溶解,再迅速冷却至0~3℃。在0.5 h内向其缓慢滴加35% NaNO₂溶液10 mL,得黄色澄清溶液。在搅拌下将该溶液滴加到含5 mmol 水杨醛的50 mL 2%的NaOH水溶液中,用饱和碳酸钠溶液调节pH5~6,搅拌反应4.5 h,得黄色沉淀。过滤,用无水乙醇重结晶,抽滤,烘干得化合物2。

1.2 偶氮芳基水杨醛缩氨基芳基硫脲(3)的合成

分别将1 mmol的偶氮化合物(2)和3 mmol的氨基硫脲溶于适量的乙醇中,再加入几滴浓酸为催化剂,在20~25℃左右搅拌1.5 h,得黄色沉淀。将其用DMF-EtOH混合溶剂重结晶,抽滤,烘干得纯品。

1.3 *N*-芳基(芳基偶氮-1,3,4-噻二唑)磺酰脲类化合物(5)的合成

将10 mmol 化合物4和10 mL 吡啶加到10 mmol 系列苯磺酰氯中,在室温下搅拌15~20 h,反应结束后,到入40 mL 水中,于冰箱中(5℃)放置一夜,棕色固体析出,滤出固体,用丙酮重结晶,抽滤,烘干得固体5a~5j。



5a, Ar₁: C₆H₅, Ar₂: C₆H₅; 5b, Ar₁: C₆H₅, Ar₂: 4-O₂NC₆H₄; 5c, Ar₁: C₆H₅, Ar₂: 4-ClC₆H₄; 5d, Ar₁: 4-OCH₃C₆H₄, Ar₂: C₆H₅; 5e, Ar₁: 4-OCH₃C₆H₄, Ar₂: 4-ClC₆H₄; 5f, Ar₁: 4-OCH₃C₆H₄, Ar₂: 4-O₂NC₆H₄; 5g, Ar₁: 4-ClC₆H₄, Ar₂: C₆H₅; 5h, Ar₁: 4-ClC₆H₄, Ar₂: 4-O₂NC₆H₄; 5i, Ar₁: 4-ClC₆H₄, Ar₂: 4-ClC₆H₄; 5j, Ar₁: 4-ClC₆H₄, Ar₂: 4-FC₆H₄

图1 目标化合物合成路线

Fig. 1 Synthetic route of the target compounds

5-(2-羟基-5-偶氮苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-苯磺酰胺(5a): 产率72%。mp 203~205℃。IR(KBr) ν : 3 429, 3 257, 1 607, 158 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.12~7.97(m, 13H, Ar), 9.62(s, 1H, NH), 11.09(s, 1H, OH); MS(m/z): 437(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{S}_2\text{O}_3$, 计算值(%): C 54.92, H 3.43, N 16.02; 实测值(%): C 54.83, H 3.35, N 16.12。

5-(2-羟基-5-偶氮苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对硝基苯磺酰胺(5b): 产率78%。mp 241~243℃。IR(KBr) ν : 3 421, 3 254, 1 609, 1 591 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.15~8.31(m, 12H, Ar), 9.67(s, 1H, NH), 11.23(s, 1H, OH); MS(m/z): 482(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_5$, 计算值(%): C 49.79, H 2.90, N 17.43; 实测值(%): C 49.71, H 2.83, N 17.56。

5-(2-羟基-5-偶氮苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对氯苯磺酰胺(5c): 产率81%。mp 215~217℃。IR(KBr) ν : 3 436, 3 254, 1 609, 1 583 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.11~8.03(m, 12H, Ar), 9.61(s, 1H, NH), 11.19(s, 1H, OH); MS(m/z): 471(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{ClS}_2\text{O}_3$, 计算值(%): C 50.96, H 2.97, N 14.86; 实测值(%): C 50.83, H 2.85, N 14.95。

5-(2-羟基-5-偶氮对甲氧基苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-苯磺酰胺(5d): 产率80%。mp 210~212℃。IR(KBr) ν : 3 433, 3 249, 1 599 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 3.41(s, 3H, CH_3), 6.95~7.89(m, 12H, Ar), 9.62(s, 1H, NH), 11.12(s, 1H, OH); MS(m/z): 467(M^+)。元素分析 $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{S}_2\text{O}_4$, 计算值(%): C 53.96, H 3.64, N 14.99; 实测值(%): C 53.81, H 3.58, N 15.06。

5-(2-羟基-5-偶氮对甲氧基苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对氯苯磺酰胺(5e): 产率71%。mp 259~261℃。IR(KBr) ν : 3 439, 3 245, 1 603, 1 585 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 3.41(s, 3H, CH_3), 6.98~8.09(m, 11H, Ar), 9.63(s, 1H, NH), 11.12(s, 1H, OH); MS(m/z): 501(M^+)。元素分析 $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{ClS}_2\text{O}_4$, 计算值(%): C 50.30, H 3.19, N 13.97; 实测值(%): C 50.19, H 3.26, N 13.85。

5-(2-羟基-5-偶氮对甲氧基苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对硝基苯磺酰胺(5f): 产率73%。mp 269~271℃。IR(KBr) ν : 3 441, 3 253, 1 605, 1 581 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 3.43(s, 3H, CH_3), 6.95~8.35(m, 11H, Ar), 9.65(s, 1H,

NH), 11.14(s, 1H, OH); MS(m/z): 512(M^+)。元素分析 $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_6$, 计算值(%): C 49.22, H 3.13, N 16.41; 实测值(%): C 49.14, H 3.09, N 16.55。

5-(2-羟基-5-偶氮对氯苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-苯磺酰胺(5g): 产率78%。mp 209~211℃。IR(KBr) ν : 3 431, 3 249, 1 603, 1 581 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.21~8.11(m, 12H, Ar), 9.62(s, 1H, NH), 11.10(s, 1H, OH); MS(m/z): 471(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{ClS}_2\text{O}_3$, 计算值(%): C 50.96, H 2.97, N 14.86; 实测值(%): C 50.81, H 2.86, N 14.97。

5-(2-羟基-5-偶氮对氯苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对硝基苯磺酰胺(5h): 产率73%。mp 257~259℃。IR(KBr) ν : 3 431, 3 252, 1 607 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.19~8.41(m, 11H, Ar), 9.63(s, 1H, NH), 11.13(s, 1H, OH); MS(m/z): 516(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_6\text{ClS}_2\text{O}_5$, 计算值(%): C 46.51, H 2.52, N 16.28; 实测值(%): C 46.42, H 2.47, N 16.39。

5-(2-羟基-5-偶氮对氯苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对氯苯磺酰胺(5i): 产率79%。mp 243~245℃。IR(KBr) ν : 3 433, 3 249, 1 609 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.21~8.15(m, 11H, Ar), 9.62(s, 1H, NH), 11.12(s, 1H, OH); MS(m/z): 505(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{Cl}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 计算值(%): C 47.52, H 2.57, N 13.86; 实测值(%): C 47.41, H 2.46, N 13.92。

5-(2-羟基-5-偶氮对氯苯基苯基)-1,3,4-噻二唑-2-对氟苯磺酰胺(5j): 产率82%。mp 235~237℃。IR(KBr) ν : 3 441, 3 251, 1 618 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ δ : 7.16~8.07(m, 11H, Ar), 9.60(s, 1H, NH), 11.12(s, 1H, OH); MS(m/z): 489(M^+)。元素分析 $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{ClFS}_2\text{O}_3$, 计算值(%): C 49.08, H 2.66, N 14.31; 实测值(%): C 49.21, H 2.63, N 14.45。

1.4 体外抗癌活性的测定

供试化合物5a~5j用DMSO作溶剂,配成0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,实验前稀释至所需浓度。小鼠白血病L1210细胞和小鼠黑色素肉瘤细胞(B16)分别以 5×10^3 个 \cdot 孔 $^{-1}$ 的接种量接种于96孔培养板,每孔加入不同浓度的相应目标化合物各10 μL ,用含10%小牛血清的RPMI 1640培养基在含5% A_2 的37℃温箱中培养48 h后,分别加入10 μL 的MTF温育4 h,弃去培养基,向L1210培养细胞中加入100 μL 的10% SDS,向B16培养细胞中加入100 μL 的DMSO。在平板摇床上摇匀,在酶标仪470 nm

读板,测出吸光度值(A),根据抑制率(IR)=(对照组A值-供试组A值)/(对照组A值-空白组A值)×100%,绘制剂量-效应曲线,作图法计算5a~5j对L1210细胞和B16细胞的IC₅₀值,结果见表1和表2。

2 结 论

在合成目标化合物5的过程中,使用了吡啶作为缚酸剂,可使反应顺利进行。实验表明,磺酰氯与

表1 化合物5a~5j对L1210癌细胞株的抑制率及半数抑制浓度

Tab.1 Inhibition rates and IC₅₀ of compounds 5a-5j against L1210 cell line

Compound	c/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$					IC ₅₀
	1.0	5.0	10	30	50	
5a	14.31	30.56	49.85	56.41	60.35	16.28
5b	0.96	6.12	9.42	14.73	19.85	124.31
5c	4.28	19.77	34.57	45.39	52.79	48.91
5d	3.87	15.86	29.46	42.28	49.56	52.56
5e	5.92	16.37	31.43	39.50	51.95	43.62
5f	0.85	5.63	8.50	12.45	17.20	131.67
5g	15.42	28.50	46.86	57.43	59.61	15.66
5h	0.77	5.87	10.45	16.36	20.60	145.83
5i	5.47	13.41	25.44	38.47	50.64	19.58
5j	7.70	17.12	32.55	40.75	56.43	17.86

表2 化合物5a~5j对B16癌细胞株的抑制率及半数抑制浓度

Tab.2 Inhibition rates and IC₅₀ of compounds 5a-5j to B16 cell line

Compound	c/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$					IC ₅₀
	1.0	5.0	10	30	50	
5a	23.47	35.93	49.12	68.97	83.16	2.12
5b	7.52	14.41	28.50	35.68	42.26	73.6
5c	19.46	26.55	46.47	60.61	67.33	3.47
5d	21.30	25.29	44.87	57.69	71.38	2.86
5e	18.35	22.51	37.52	52.68	65.96	6.63
5f	5.41	12.23	21.64	29.60	34.83	56.9
5g	26.30	37.23	56.55	72.43	89.70	1.68
5h	6.48	10.85	23.48	30.60	41.05	64.8
5i	21.38	36.78	47.58	63.85	68.52	5.45
5j	18.63	32.47	45.36	56.86	69.76	4.26

化合物4的反应在室温下就可以进行,比酰氯与化合物4的反应更容易进行,产率也更高。

以5a为例,从¹H-NMR中可以看出,化合物(4)的氨基(NH₂)质子信号在目标化合物中化学位移明显增大 δ 9.62。这表明化合物(4)的氨基已与磺酰氯反应,生成了磺酰脲化合物;羟基氢由于与邻位噻二唑的氮以氢键结合,形成稳定的六元环结构,使得氢上的电子云密度下降,所以向低场位移。

表1,2的体外抗癌活性结果表明,除化合物5b,5f,5h外,其他化合物对L1210和B16癌细胞株都有抑制作用,并且对B16癌细胞的活性高于L1210的活性,表现出明显的选择性。尤其是化合物5a和5g表现出明显的抑制活性,值得一步研究。致谢: ¹H-NMR及元素分析由华中师范大学化学学院分析中心完成。

REFERENCES

[1] ORUC E E, ROLAS S, KANDEMIRLI F, *et al.* 1,3,4-thiadiazole derivatives. Synthesis, structure elucidation, and structure-antituberculosis active-ty relationship investigation[J]. *J Med Chem*, 2004,47(27):6760-6767.

[2] SILVIA S, CHIARA B, OLGA B, *et al.* New 1,3,4-thiadiazole derivatives endowed with analgesic and anti-inflammatory activities[J]. *Bioorg Med Chem*, 2006,14(6):1698-1705.

[3] PALASKA E, SAHIN G, KEIICEN P, *et al.* Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazole-3-thiones [J]. *Farmaco*, 2002,57(2):101-107.

[4] SENFF-RIBEIRO A, ECHEVARRIA A, SILVA E F, *et al.* Antimelanoma activity of 1,3,4-thiadi-azolium mesoionics: A structure-activity relation-ship study [J]. *Anti Cancer Drugs*, 2004,15(3):269-275.

[5] YANG R S, HU G Q, XIE S Q, *et al.* Study on synthesis and anti-tumor activity of 2-(-5-substituted-1,3,4-Oxadiazole-2-yl-Methylenethio)-5-Pyridin-3-yl-1,3,4-thiadiazoles[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2008,43(5):388-390.

[6] ZHAO W Y, NIU X P, ZHANG R. Synthesis and biological activity of the novel salicylaldehyde-phenylamine Schiff base compounds [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2005,40(1):63-66.

[7] NING M, ZHI J F, BAO L W, *et al.* Synthesis and herbicidal activities of pyridyl sulfonylureas; More convenient preparation process of phenyl pyrimidylcarbarnates[J]. *Chin Chem Lets*, 2008, 19(11):1268-1270.

[8] Ward J S. N-(1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzami des[P]. US 4271166, 1981.

(收稿日期:2012-05-27)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告