



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20160188

## 一类苄基咔唑衍生物的合成及其芳香化酶抑制活性

戴玉杰<sup>1</sup>, 刘艳春<sup>1</sup>, 孙紫悦<sup>1</sup>, 宋智丹<sup>1</sup>, 刘伟<sup>2</sup>, 张秀利<sup>1</sup>  
(1. 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;  
2. 天津科技大学理学院, 天津 300457)

**摘要:** 许多含咔唑结构的天然产物和药物分子具有广泛的生物和药理活性. 在前期研究中发现苄基咔唑类化合物具有芳香化酶抑制活性的基础上, 合成 10 个苄基咔唑衍生物(其中, 前 7 个化合物是未被文献报道过的化合物), 采用 <sup>1</sup>H NMR 确证它们的结构, 在体外酶水平上测定它们对芳香化酶的抑制活性, 并总结取代基对其活性影响的构效关系. 该研究可为进一步寻找更高活性苄基咔唑类芳香化酶抑制剂提供基础数据和思路.

**关键词:** 苄基咔唑衍生物; 合成; 芳香化酶抑制剂

中图分类号: R914.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2017)04-0020-04

## Synthesis and Aromatase Inhibitory Activities of Some Benzyl Carbazole Derivatives

DAI Yujie<sup>1</sup>, LIU Yanchun<sup>1</sup>, SUN Ziyue<sup>1</sup>, SONG Zhidan<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, ZHANG Xiuli<sup>1</sup>  
(1. Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;  
2. College of Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Many natural substances and drug molecules with the carbazole structure have a broad range of biological and pharmacological activities. Based on our previous discovery that benzyl carbazole possesses aromatase inhibitory activity, ten substitutes were synthesized (the first seven compounds are unreported in literature), and their structure was confirmed by <sup>1</sup>H NMR. Their aromatase inhibitory activities were assayed *in vitro* at enzyme levels and the structure activity relationship was summarized. This research can provide some basic data and ideas for the further search of new benzyl carbazole derivatives with higher aromatase inhibitory activities.

**Key words:** benzyl carbazole derivatives; synthesis; aromatase inhibitor

咔唑是含有吡咯环的三环并环化合物. 许多含咔唑的天然产物和药物分子具有广泛的生物和药理活性<sup>[1]</sup>. 目前许多已知的含有咔唑结构天然来源(生物碱)或合成的稠环芳香化合物药物中, 具有抗癌、抗菌、抗真菌、抗炎、保肝、抗 HIV 病毒、抗原虫和镇静特性, 或具有拓扑异构酶 II 的抑制能力<sup>[2]</sup>. 尤其是咔唑衍生物表现出明显的抗肿瘤作用<sup>[3-5]</sup>. 例如, glybomine B 和 C 通过抑制肿瘤促进因子 12-O-十四烷酰佛波醋酸酯(TPA)而表现出显著的抗肿瘤作用<sup>[6]</sup>; 另外, 七叶黄皮碱和 7-甲氧基七叶黄皮碱对

NCI-H187 和 KB 细胞系表现出强烈的细胞毒性<sup>[7]</sup>.

芳香化酶是人体内雌激素合成的关键酶, 在体内可以将睾酮和雄烯二酮氧化为雌二醇和雌酮, 是治疗绝经后女性乳腺癌的一个重要靶点. 许多杂环类化合物芳香化酶抑制剂例如来曲唑、阿那曲唑, 对于雌激素敏感的乳腺癌表现出良好的抑制活性. 本课题组前期研究首次发现咔唑类衍生物——苄基咔唑表现出芳香化酶抑制活性<sup>[8]</sup>, 为其结构优化提供了一个良好的开端. 本文合成了不同取代的苄基咔唑衍生物, 对其结构进行表征, 同时测定了它们的芳香化酶

收稿日期: 2016-05-25; 修回日期: 2016-06-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21272171)

作者简介: 戴玉杰(1965—), 男, 河北人, 教授; 通信作者: 张秀利, 教授, zx11966@sina.com

数字出版日期: 2017-01-12; 数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20170112.1157.002.html>

抑制活性.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

咪唑、2-羟基咪唑、卡洛芬,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;其余试剂均为分析纯.

ZF-7 型三用紫外分析仪,上海嘉鹏科技有限公司;RE-3000 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;AV400 型核磁共振仪,布鲁克光谱仪器公司.

### 1.2 合成路线

10 种咪唑衍生物的合成路线如图 1 所示.

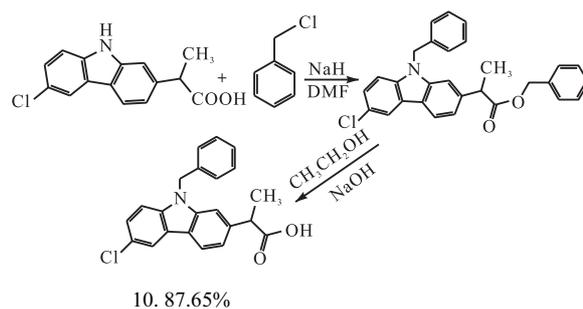
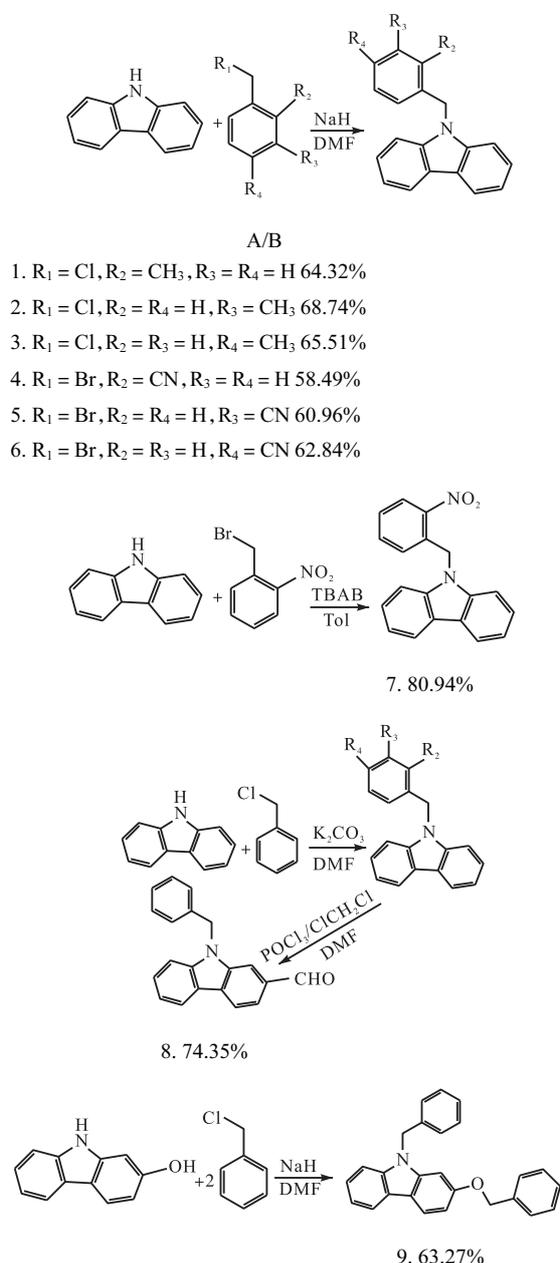


图 1 10 种咪唑衍生物的合成路线

Fig. 1 Synthesis of ten types of carbazole derivatives

#### 1.2.1 化合物 1—3 的合成

取咪唑 (1 g, 5.98 mmol) 溶于 10 mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 搅拌溶解后加入氢化钠 (0.2 g, 8.97 mmol), 待不再冒气泡后常温搅拌 1 h, 慢慢滴加化合物 A (1.3 g, 8.66 mmol), 常温反应 2 h 后进行油浴加热回流 8 h. TLC 跟踪监测至反应结束后, 将反应液导入冰水中, 有大量白色沉淀生成. 静置过滤, 用冷水洗涤数次, 抽滤, 得到白色固体. 干燥过夜, 产物经柱层析纯化 (300 ~ 400 目柱层析硅胶), 乙酸乙酯/石油醚洗脱, 得到产物为白色粉末.

#### 1.2.2 化合物 4—6 的合成

取咪唑 (1 g, 5.98 mmol) 溶于 10 mL 无水 DMF 中, 搅拌溶解后加入氢化钠 (0.2 g, 8.97 mmol), 待不再冒气泡后常温搅拌 1 h, 慢慢滴加化合物 B (1.7 g, 8.66 mmol), 常温反应 2 h 后进行油浴加热回流 8 h. TLC 跟踪监测至反应结束后, 将反应液导入冰水中, 有大量白色沉淀生成. 静置过滤, 用冷水洗涤数次, 抽滤, 得到黄色固体. 干燥过夜, 产物经柱层析纯化 (300 ~ 400 目柱层析硅胶), 二氯甲烷/石油醚洗脱, 产物为白色粉末.

#### 1.2.3 化合物 7 的合成

取咪唑 (4.2 g, 25 mmol)、固体氢氧化钾 (5.6 g, 0.1 mol)、1-溴甲基-2-硝基苯 (8.64 g, 0.04 mol) 加入到 30 mL 甲苯 (Tol) 中, 再加入一定量的相转移催化剂四丁基溴化铵 (TBAB), 磁力搅拌下加热回流 5 h, 趁热过滤, 蒸干甲苯, 有红色固体析出, 干燥过夜. 产物经柱层析纯化 (300 ~ 400 目柱层析硅胶), 二氯甲烷/石油醚洗脱, 得到产物为黄色固体.

#### 1.2.4 化合物 8<sup>[9]</sup> 的合成

取咪唑 (0.25 g, 1.5 mmol) 溶于 75 mL 三氯甲烷中, 搅拌下加入碳酸钾 (0.826 g, 5.98 mmol), 常温搅拌 15 min, 将氯化苄 (0.189 g, 1.50 mmol) 溶于 20 mL 氯仿中配制成溶液, 在搅拌下由恒压滴液漏斗缓慢加入到反应器中, 随后在 40 °C 反应 8 h. 导入冰水中,

有大量白色沉淀生成. 静置过滤, 用冷水洗涤数次直至 pH 为中性, 抽滤, 得到白色粉末即为产品. 用乙醇重结晶后, 得到白色晶体.

在冰水浴中将三氯氧磷 (15.2 g, 10 mmol) 滴入 N, N-二甲基甲酰胺 (15 mL, 100 mmol) 中, 于室温下进行磁力搅拌至溶液呈微红色, 而后缓慢滴加 25 mL 溶有 1-苄基咪唑 (2.56 g, 10 mmol) 的二氯乙烷溶液, 滴加完毕后置于 85 °C 进行加热回流 8 h. 冷却至室温后倾入冰水中, 有固体析出. 干燥后产物经柱层析纯化 (300 ~ 400 目柱层析硅胶), 乙酸乙酯/石油醚洗脱, 得到产物为白色片状固体.

### 1.2.5 化合物 9<sup>[10]</sup>的合成

取 2-羟基咪唑 (1.15 g, 6.25 mmol) 溶于 30 mL 甲苯 (Tol) 中, 加入氢氧化钾固体 (2.8 g, 50 mmol)、氯化苄 (2.54 g, 20 mmol), 再放入相转移催化剂 TBAB, 加热搅拌 6 h, 趁热过滤, 蒸干甲苯, 得到黄色固体, 乙醇重结晶, 得到产物为白色粉末.

### 1.2.6 化合物 10<sup>[11]</sup>的合成

取卡洛芬 (1 g, 3.75 mmol) 溶于 10 mL 无水 DMF 中, 缓慢加入氢氧化钠 (0.3 g, 11.25 mmol), 不再冒气泡后常温搅拌 1 h, 将氯化苄 (1.59 g, 12 mmol) 加入反应瓶, 常温反应 8 h. TLC 跟踪监测至反应结束后, 将反应液导入冰水中, 有油状物析出. 产物经柱层析纯化 (300 ~ 400 目柱层析硅胶), 乙酸乙酯/石油醚洗脱, 得 2-(9-苄基-6-氯-9H-咪唑-2-基)-丙酸苄基酯.

取 2-(9-苄基-6-氯-9H-咪唑-2-基)-丙酸苄基酯 (11 g, 0.036 mmol) 溶于 100 mL 乙醇中, 加入 100 mL 3% 的氢氧化钠溶液, 搅拌回流 2 h. 反应结束后蒸干溶剂, 倾入 300 mL 冰水, 并用浓盐酸调节 pH 至 1 ~ 2. 用乙醚萃取 3 次, 合并萃取液, 水洗 3 次, 经无水硫酸镁干燥, 得白色固体. 再经三氯甲烷重结晶, 得到产物为白色固体.

## 1.3 化合物芳香化酶抑制活性测试

化合物的芳香化酶抑制活性的测定采用 BD gentest 公司的芳香化酶检测 (CYP19/MFC) 试剂盒按既定程序进行测定<sup>[12]</sup>.

## 2 结果与讨论

### 2.1 化合物表征数据

化合物 1: 9-(2-甲基)苄基咪唑, 收率为 64.32%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.21 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.52 ~ 7.34 (m, 4H),

7.22 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 7.11 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.90 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.17 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 2.45 (s, 3H).

化合物 2: 9-(3-甲基)苄基咪唑, 收率为 68.74%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.18 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.43 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.21 ~ 6.97 (m, 5H), 6.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.61 (s, 2H), 2.20 (s, 3H).

化合物 3: 9-(4-甲基)苄基咪唑, 收率为 65.51%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.18 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.43 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.28 ~ 6.97 (m, 6H), 5.61 (s, 2H), 2.20 (s, 3H).

化合物 4: 9-(2-氰基)苄基咪唑, 收率为 58.49%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.23 (s, 2H), 7.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.52 ~ 6.87 (m, 8H), 6.59 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.89 (s, 2H).

化合物 5: 9-(3-氰基)苄基咪唑, 收率为 60.96%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.20 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.68 (dd, *J* = 23.6, 2H), 7.54 ~ 7.32 (m, 6H), 7.22 (dd, *J* = 18.5, 2H), 5.74 (s, 2H).

化合物 6: 9-(4-氰基)苄基咪唑, 收率为 62.84%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.20 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.44 ~ 7.18 (m, 6H), 5.79 (s, 2H).

化合物 7: 9-(2-硝基)苄基咪唑, 收率为 80.94%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.23 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.60 ~ 7.35 (m, 8H), 7.25 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 5.76 (s, 2H).

化合物 8: 9-苄基-9H-咪唑-3-甲醛, 收率为 74.35%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.07 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.33 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.99 ~ 7.14 (m, 10H), 5.76 (s, 2H).

化合物 9: 4, 4-二苄基-异苯并二氢吡喃-3-酮, 收率为 63.27%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.23 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.60 ~ 7.35 (m, 8H), 7.25 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H), 6.26 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.06 (s, 2H), 5.76 (s, 2H).

化合物 10: 2-(9-苄基-6-氯-9H-咪唑-2-基)-丙酸苄基酯, 收率为 67.58%. 其 <sup>1</sup>H NMR 分析如下: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.30 (s, 1H), 8.25 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H),

7.74 ~ 7.08 (m, 7H), 5.77 ~ 5.54 (m, 2H), 5.16 ~ 5.00 (m, 2H), 1.19 (d,  $J = 34.0$  Hz, 3H).

## 2.2 目标化合物的合成方法分析

本研究以咪唑、2-羟基咪唑和卡洛芬为起始原料设计并合成了 10 个潜在的芳香化酶抑制剂化合物,采用不同取代基的苜基卤化合物在碱性条件下与上述原料反应从而取代咪唑环 N 上的 H 而生成不同取代基的苜基咪唑目标化合物. 而化合物 8 在生成的苜基咪唑的咪唑环上通过三氯氧磷存在下与 DMF 反应在 3 位成功引入醛基. 化合物 9 和 10 由于反应物带有羟基和羧基,在与苜基卤化物反应过程中分别生成醚和酯,化合物 10 为随后酯水解得到的产物,所有化合物制备反应条件温和,步骤短、收率较高. 所有化合物及其中间体结构均经过了  $^1\text{H}$  NMR 分析验证,并且确定其均为目标化合物.

## 2.3 目标化合物的芳香化酶抑制剂活性

将所合成的 10 个化合物进行活性测试,其中来曲唑为对照. 其活性测试结果见表 1.

表 1 目标化合物的芳香化酶抑制活性

Tab. 1 Aromatase inhibition activity of the target compounds

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
1	1.13	7	8.74
2	0.35	8	7.90
3	0.77	9	3.69
4	3.89	10	0.27
5	5.56	来曲唑	0.043
6	0.91		

芳香化酶活性测定结果表明:咪唑衍生物的苜基上引入不同取代基会影响化合物活性. 甲基在苜基上相对位置对芳香化酶抑制剂的活性有一定影响,当甲基位于间位时,该芳香化酶抑制剂的活性最好,对位次之,邻位最差. 对于吸电子取代基,氰基则是在对位时芳香化酶抑制活性最好,邻位次之,间位最差. 另外,在邻位引入硝基无助于化合物活性的提高. 综上,在苜基上引入供电子基团有利于芳香化酶抑制活性的提高.

当咪唑母环上连接不同基团时,对咪唑衍生物的芳香化酶抑制活性也有一定影响,化合物 10 在咪唑两个苯环分别引入 Cl 和丙酸基活性最好 ( $\text{IC}_{50} = 0.27 \mu\text{mol/L}$ ),化合物 9 在一个苯环引入苜氧基团其活性次之 ( $\text{IC}_{50} = 3.69 \mu\text{mol/L}$ ),化合物 8 引入甲醛基 ( $\text{IC}_{50} = 7.90 \mu\text{mol/L}$ ) 活性最差. 综上所述,在所设计的目标化合物中,具有较好抑制活性的为化合物 2 ( $\text{IC}_{50} = 0.35 \mu\text{mol/L}$ ) 和化合物 10 ( $\text{IC}_{50} = 0.27 \mu\text{mol/L}$ ).

## 3 结 语

本文合成了 10 个苜基咪唑衍生物并测定它们的芳香化酶抑制活性. 结果表明:在苜基上引入供电子甲基有助于其活性提高,而在咪唑苯环上引入取代基也对其活性有一定影响,在所设计的目标化合物中,具有较好抑制活性的为化合物 2 ( $\text{IC}_{50} = 0.35 \mu\text{mol/L}$ ) 和化合物 10 ( $\text{IC}_{50} = 0.27 \mu\text{mol/L}$ ). 该研究为发现新的更高活性的苜基咪唑类芳香化酶抑制剂提供了基础数据.

## 参考文献:

- [1] Liu L X, Wang X Q, Zhou B, et al. Synthesis and anti-tumor activity of novel N-substituted carbazole imidazolium salt derivatives[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 13101.
- [2] Gluszyńska A. Biological potential of carbazole derivatives[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 94: 405-426.
- [3] Hou S, Yi Y W, Kang H J, et al. Novel carbazole inhibits phosphor-STAT3 through induction of protein-tyrosine phosphatase[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 57(15): 6342-6353.
- [4] Shaikh M S, Karpoornath R, Thapliyal N, et al. Current perspective of natural alkaloid carbazole and its derivatives as antitumor agents[J]. Anti-Cancer Agents Medicinal Chemistry, 2015, 15(8): 1049-1065.
- [5] Asche C, Demeunynck M. Antitumor carbazoles[J]. Anti-Cancer Agents Medicinal Chemistry, 2007, 7(2): 247-267.
- [6] Ito C, Itoigawa M, Sato A, et al. Chemical constituents of *Glycosmis arborea*: Three new carbazole alkaloids and their biological activity[J]. Journal of Natural Products, 2004, 67(9): 1488-1491.
- [7] Songsiang U, Thongthoom T, Boonyarat C, et al. Claurailas A-D, cytotoxic carbazole alkaloids from the roots of *Clausena harmandiana*[J]. Journal of Natural Products, 2011, 74(2): 208-212.
- [8] Dai Y, Xiao Y, Wang Q, et al. Syntheses and QSAR studies of benzylimidazole derivatives and benzylcarbazole as potential aromatase inhibitors[J]. Asian Journal of Chemistry, 2014, 26(8): 2381.

(下转第 35 页)