

芹菜素衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

徐 雪 赵晓静 王 芳 徐梓涵 郭海梦 袁雨欣 李千鹏*

(云南民族大学民族医药学院 民族药资源化学教育部重点实验室 民族药内生菌天然产物
合成生物学国家民委重点实验室 昆明 650500)

摘 要 以芹菜素为起始原料,在 C-5、C-6、C-7、C-4'位置上引入甲基、苄基、乙酰基、对甲苯磺酰基、三异丙基硅烷基等多种单元结构基团,合成了 16 个芹菜素衍生物,采用 CCK-8 的方法考察了所合成化合物对人肝癌细胞(Hep3β)、人结肠癌细胞(LOVO)、人肺癌细胞(A549)的抑制作用。结果显示,经过化学修饰后的部分化合物比芹菜素有更强的抗肿瘤活性,其中化合物 **13** 对人肺癌细胞(A549)的抑制率超过了顺铂,值得进一步探讨和研究。

关键词 芹菜素衍生物 合成 抗肿瘤

Synthesis and Antitumor Activity of Apigenin Derivatives

Xu Xue, Zhao Xiaojing, Wang Fang, Xu Zihan, Guo Haimeng,
Yuan Yuxin, Li Ganpeng*

(Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources & Key Laboratory of Natural Products Synthetic
Biology of Ethnic Medicinal Endophytes, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education,
School of Ethnic Medicine, Yunnan Minzu University, Kunming, 650500)

Abstract Using apigenin as starting material, a series of apigenin derivatives were synthesized by introducing methyl, benzyl, acetyl, *p*-toluenesulfonyl and triisopropyl silyl groups at C-5, C-6, C-7 and C-4' positions. The inhibitory effects of the synthesized compounds on human hepatoma cells (Hep3β), human colon cancer cells (LOVO) and human lung cancer cells (A549) were investigated by CCK-8 assay. The results showed that some modified compounds display stronger anti-tumor activity than apigenin. Especially, compound **13** exhibits more excellent inhibitory rate on human lung cancer cells (A549) than that of cisplatin, which is worthy of further exploration.

Keywords Apigenin derivatives, Synthetic, Antitumor

肿瘤疾病一直是困扰人类的高发疾病之一,现在的一些抗肿瘤药物使长期暴露在应激环境中的肿瘤细胞产生了一定耐药性^[1],并且这些抗肿瘤药物会对人体产生一些毒副作用,在治疗的同时也对身体产生一定程度的危害,因此研发新的抗肿瘤药物具有重要的意义。

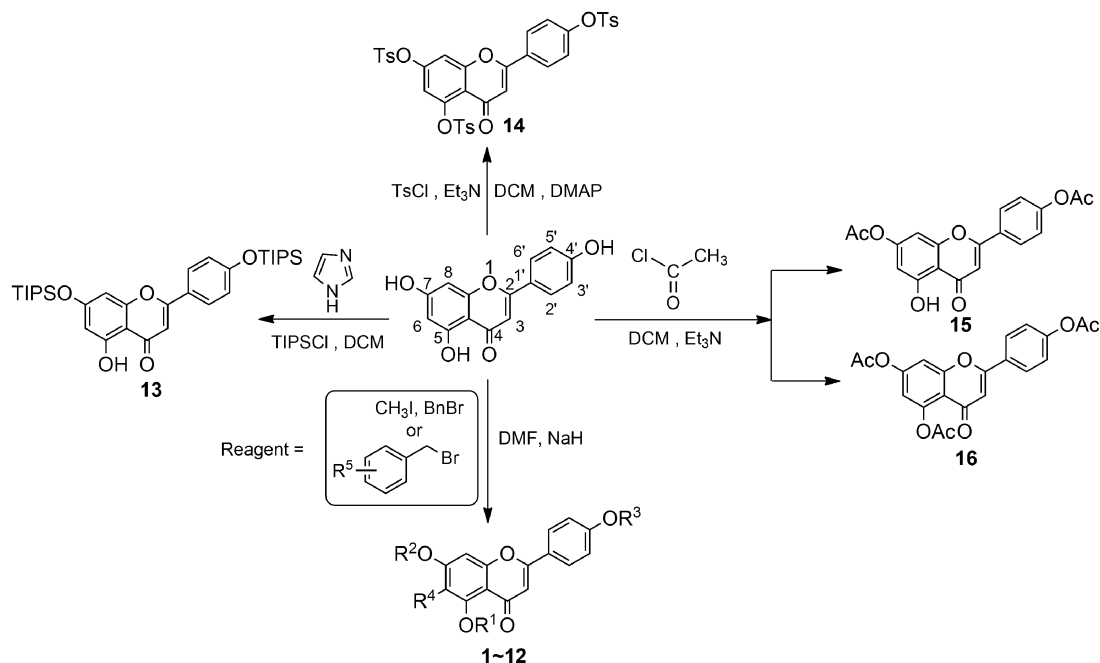
黄酮类化合物芹菜素是以 2-苯基色原酮为母核结构的多酚化合物,具有抗肿瘤^[2]、抗病毒^[3]、抗氧化^[4]、抗心血管疾病^[5]等多种药理活性。然而,由于芹菜素较低的生物利用度大大限制了其作为新型药物的开发。鉴于此,本文对芹菜素进行化学结构修饰,改善化合物在体内的脂

水分配系数以利于在体内的溶解和吸收,使芹菜素衍生物的亲脂性明显增加,提高该类化合物对生物体内膜和组织等的穿透能力,从而增加芹菜素衍生物在生物体中的吸收程度和传递速度。在此,以现有报道的构效关系研究结果为指导^[6],向其结构引入甲基、苄基、乙酰基、对甲苯磺酰基及三异丙基硅烷基多种药效基团,以期改善其理化性质进而提高活性^[7],合成了 16 个芹菜素衍生物(合成路线见图式 1),其中有 10 个是未见文献报道的新化合物。所合成化合物均经过核磁共振、高分辨质谱进行结构确证,并且采用 CCK-8 法对化合物进行抗肿瘤活性筛选。

* 联系人,李千鹏 男,博士,主要从事天然药物化学研究。E-mail: ganpeng_li@ sina. com

云南省高校科技创新团队项目(IRTSTYN 2014-11)资助

2022-05-17 收稿,2022-08-12 接受



Compound No.	Reagent	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
1	CH ₃ I	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
2	CH ₃ I	H	CH ₃	CH ₃	H
3	CH ₃ I	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
4	BnBr	Bn	Bn	Bn	H
5	2-Me-BnBr	2-Me-Bn	2-Me-Bn	2-Me-Bn	2-Me-Bn
6	2-Me-BnBr	2-Me-Bn	2-Me-Bn	2-Me-Bn	H
7	3-Me-BnBr	H	3-Me-Bn	3-Me-Bn	H
8	3-Me-BnBr	3-Me-Bn	3-Me-Bn	3-Me-Bn	3-Me-Bn
9	3-Me-BnBr	3-Me-Bn	3-Me-Bn	3-Me-Bn	H
10	3-Cl-BnBr	3-Cl-Bn	3-Cl-Bn	3-Cl-Bn	H
11	4-F-BnBr	H	4-F-Bn	4-F-Bn	H
12	4-OMe-BnBr	4-OMe-Bn	4-OMe-Bn	4-OMe-Bn	4-OMe-Bn

图式 1 芹菜素衍生物 1~16 的合成路线

Scheme 1 Synthesis routes of apigenin derivatives 1~16

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Bruker AV III 400MHZ 核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司);质谱仪(Bruker 公司);超净工作台(美国 Thermo 公司)。

芹菜素(上海毕得医药科技股份有限公司);
氢化钠(北京伊诺凯科技有限公司);*N,N*-二甲基
甲酰胺(DMF,成都市科隆化学有限公司);柱
色谱硅胶(100~200目,200~300目)、薄层色谱
硅胶板(青岛海洋化工有限公司);其他试剂均为
市售分析纯级。

1.2 化合物的合成

1.2.1 化合物 1~12 的合成

称取 270.24mg (1.0mmol) 芹菜素置于干燥的圆底烧瓶中,加入 10mL DMF,在 N₂ 保护下室温搅拌溶解后,将反应体系降至 0℃,缓慢加入 180mg (4.5mmol) NaH,反应 30min 后,升至室温,加入 0.28mL (4.5mmol) 碘甲烷,搅拌反应 2h, TLC 监测至反应完全。向反应体系中缓慢滴加饱和氯化铵溶液,乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,减压浓缩、然后进行柱层析纯化得到化合物 **1**、**2**、**3**。

5,7-二甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-6-甲基-4*H*-色

烯-4-酮(**1**)^[8]:黄色粉末,收率17.4%,熔点183~185℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :7.81~7.77(m,2H),6.99~6.95(m,2H),6.70(d, J =1.2Hz,1H),6.56(d, J =1.2Hz,1H),3.91(s,3H),3.85(s,6H),2.15(s,3H);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃) δ :177.2,162.3,162.1,161.0,157.7,157.5,127.7,124.0,118.4,114.4,112.2,107.5,95.0,61.7,56.0,55.5,8.3;HRMS(ESI) m/z :C₁₉H₁₉O₅[M+H]⁺,理论值327.1222,实测值327.1227。

5-羟基-7-甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**2**)^[9]:黄色粉末,收率11.7%,熔点144~146℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :12.83(s,1H),7.84(d, J =8.9Hz,2H),7.01(d, J =9.0Hz,2H),6.58(s,1H),6.48(d, J =2.2Hz,1H),6.36(d, J =2.2Hz,1H),3.89(d, J =5.2Hz,6H);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃) δ :182.6,165.5,164.1,162.7,162.3,157.8,128.2,123.7,114.6,105.7,104.5,98.2,92.7,55.9,55.7;HRMS(ESI) m/z :C₁₇H₁₅O₅[M+H]⁺,理论值299.0907,实测值299.0914。

5,7-二甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**3**)^[10]:黄色粉末,收率58%,熔点146~148℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :7.80(d, J =8.8Hz,2H),6.98(d, J =9.0Hz,2H),6.58(s,1H),6.54(d, J =2.2Hz,1H),6.35(d, J =2.2Hz,1H),3.94(s,3H),3.90(s,3H),3.86(s,3H);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃) δ :177.1,163.4,161.6,160.2,160.1,159.2,127.0,123.0,113.8,108.4,106.8,95.6,92.3,55.9,55.4,55.0;HRMS(ESI) m/z :C₁₈H₁₇O₅[M+H]⁺,理论值313.1078,实测值313.1071。

化合物**4**~**12**的合成方法与**1**~**3**类似,以相应的溴代物替代碘甲烷。

5,7-二(苄氧基)-2-(4(苄氧基)苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**4**)^[11]:淡黄色粉末,收率18.3%,熔点81~83℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :7.79(dd, J =9.0,1.2Hz,2H),7.65~7.60(m,2H),7.46~7.30(m,13H),7.07~7.02(m,2H),6.63~6.57(m,2H),6.47(d, J =2.2Hz,1H),5.20(s,2H),5.10(d, J =7.6Hz,4H);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃) δ :177.5,162.9,161.2,160.7,159.7,159.7,136.5,136.3,135.8,128.8,128.8,128.6,128.5,128.3,127.7,127.7,127.7,127.5,126.6,124.0,115.2,109.8,107.7,98.3,94.2,70.7,

70.5,70.2;HRMS(ESI) m/z :C₃₆H₂₈O₅Na[M+Na]⁺,理论值563.1828,实测值563.1829。

6-(2-甲苄基)-5,7-二((2-甲苄基)氧)-2-(4-((2-甲苄基)氧)苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**5**):白色粉末,收率11.3%,熔点187~189℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :7.88(d, J =9.0Hz,2H),7.45~7.37(m,2H),7.32~7.27(m,2H),7.25~7.07(m,10H),7.05~6.91(m,4H),6.78(d, J =7.6Hz,1H),6.67(s,1H),5.13(s,2H),5.04(d, J =4.8Hz,4H),3.87(s,2H),2.41(s,3H),2.29(s,3H),2.08(s,6H);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃) δ :177.3,161.6,161.5,161.1,158.3,157.4,138.9,136.9,136.8,136.8,136.3,135.7,134.2,133.6,130.7,130.4,130.1,129.7,129.4,128.8,128.7,128.6,128.5,128.0,127.9,127.5,126.3,126.1,126.0,125.8,125.6,124.2,121.7,115.3,107.7,96.6,77.4,75.2,69.1,68.9,26.4,19.6,19.1,19.0,18.7;HRMS(ESI) m/z :C₄₇H₄₂O₅Na[M+Na]⁺,理论值709.2937,实测值709.2924。

5,7-二((2-甲苄基)氧)-2-(4-((2-甲苄基)氧)苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**6**):白色粉末,收率16.4%,熔点163~165℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :7.89(d, J =7.5Hz,1H),7.87~7.82(m,2H),7.42(d, J =7.4Hz,2H),7.35~7.26(m,6H),7.25~7.16(m,3H),7.12~7.07(m,2H),6.70(d, J =2.2Hz,1H),6.60(s,1H),6.53(d, J =2.2Hz,1H),5.16(s,2H),5.11(s,4H),2.42~2.36(m,9H);¹³C NMR(101MHz,CDCl₃) δ :177.5,163.1,161.4,160.8,160.0,159.9,137.0,136.9,135.3,134.4,134.2,133.7,130.8,130.7,130.1,129.1,129.0,128.8,128.7,127.8,127.8,127.6,126.4,126.3,124.2,115.3,110.0,108.0,98.2,94.0,77.5,77.2,76.8,69.4,69.2,69.0,19.1,19.1,19.1;HRMS(ESI) m/z :C₃₉H₃₄O₅Na[M+Na]⁺,理论值605.2297,实测值605.2298。

5-羟基-7-((3-甲苄基)氧)-2-(4-((3-甲苄基)氧)苯基)-4*H*-色烯-酮(**7**):黄色粉末,收率41.3%,熔点152~154℃;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :12.84(s,1H),7.82(d, J =9.0Hz,2H),7.30(q, J =7.8Hz,4H),7.26~7.22(m,2H),7.18(d, J =7.4Hz,2H),7.09~7.05(m,2H),6.55(d, J =8.2Hz,2H),6.43(d, J =2.2Hz,1H),5.09(d, J =5.8Hz,4H),2.39(s,6H);¹³C NMR

(101 MHz, CDCl_3) δ : 182.5, 164.6, 164.0, 162.2, 161.9, 157.7, 138.6, 138.6, 136.09, 135.8, 129.2, 129.2, 128.8, 128.4, 128.1, 124.7, 123.7, 115.4, 105.8, 104.4, 98.9, 93.5, 70.6, 70.4, 21.6; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{31}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 理论值 501.1667, 实测值 501.1672。

6-(3-甲苄基)-5,7-二((3-甲苄基)氧)-2-(4-((3-甲苄基)氧)苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**8**): 黄色粉末, 收率 11.9%, 熔点 144~146 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.84 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.37~7.27 (m, 4H), 7.25~7.11 (m, 5H), 7.10~7.01 (m, 7H), 6.96 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.65 (s, 1H), 5.10 (d, J = 5.4 Hz, 4H), 4.94 (s, 2H), 4.05 (s, 2H), 2.40~2.33 (m, 9H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 177.3, 161.39, 161.09, 158.1, 156.7, 140.9, 138.6, 138.5, 138.1, 137.7, 137.2, 136.2, 135.7, 129.8, 129.7, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 128.6, 128.4, 128.4, 128.2, 128.1, 127.8, 126.6, 126.1, 126.0, 124.7, 124.6, 124.2, 122.3, 115.4, 112.8, 107.6, 96.8, 77.1, 70.7, 70.4, 29.3, 21.6, 21.6, 21.6, 21.5; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{47}\text{H}_{43}\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 理论值 709.2928, 实测值 709.2924。

5,7-二((3-甲苄基)氧)-2-(4-((3-甲苄基)氧)苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**9**): 黄色粉末, 收率 21.8%, 熔点 116~118 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.81 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.45~7.39 (m, 2H), 7.34~7.30 (m, 2H), 7.29~7.26 (m, 3H), 7.25~7.16 (m, 4H), 7.11 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.08~7.04 (m, 2H), 6.63 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.61 (s, 1H), 6.48 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 5.07 (d, J = 10.2 Hz, 4H), 2.40 (d, J = 4.2 Hz, 9H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 177.6, 163.0, 161.3, 160.7, 159.8, 159.8, 138.6, 138.5, 138.3, 136.4, 136.2, 135.6, 129.3, 129.1, 128.7, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.3, 127.7, 127.3, 124.9, 124.7, 124.0, 123.7, 115.2, 109.8, 107.7, 98.3, 94.1, 70.8, 70.6, 70.3, 21.6, 21.5; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{39}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 理论值 605.2299, 实测值 605.2298。

5-((3-氯苄基)氧)-7-((4-氯苄基)氧)-2-(4-((4-氯苄基)氧)-4*H*-色烯-4-酮(**10**): 黄色粉末, 收率 22.5%, 熔点 209~211 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.80 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.56

(d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.39~7.34 (m, 10H), 7.04 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.62~6.57 (m, 2H), 6.43 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 5.08 (d, J = 7.8 Hz, 4H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 177.5, 162.7, 161.0, 160.8, 159.8, 159.5, 135.0, 134.8, 134.4, 134.2, 133.5, 129.1, 129.0, 128.9, 128.9, 128.0, 127.8, 124.2, 115.3, 109.9, 107.9, 98.3, 94.3, 70.1, 69.8, 69.5; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{36}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Cl}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 理论值 643.0847, 实测值 643.0840。

2,7-联二((4-氟苄基)氧)-5-氢氧基-4*H*-色烯-4-酮(**11**): 黄色粉末, 收率 13.5%, 熔点 153~155 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.83 (s, 1H), 7.09 (dt, J = 9.4, 8.0 Hz, 8H), 6.58 (s, 1H), 6.42 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 5.09 (d, J = 6.4 Hz, 5H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 182.53, 163.34 (d, J = 206.0 Hz), 163.03 (d, J = 240.1 Hz), 157.72, 131.94 (d, J = 4.0 Hz), 131.64 (d, J = 4.1 Hz), 130.27, 129.60, 129.52, 129.42, 128.22, 128.17, 123.94, 115.85 (d, J = 21.0 Hz), 115.84 (d, J = 22.0 Hz), 115.42, 105.87, 104.59, 98.83, 93.56, 69.86, 69.65; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ : -113.44, -113.52; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{F}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 理论值 411.0975, 实测值 411.1039。

6-(4-甲苄基)-5-((3-甲苄基)氧)-7-((4-甲苄基)氧)-2-(4-((4-甲苄基)氧)苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**12**): 黄色粉末, 收率 15.9%, 熔点 141~143 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.8~7.80 (m, 2H), 7.55~7.52 (m, 2H), 7.39~7.35 (m, 2H), 7.24~7.19 (m, 2H), 7.15~7.10 (m, 2H), 7.09~7.04 (m, 2H), 6.96~6.87 (m, 7H), 6.84 (s, 1H), 6.74~6.70 (m, 2H), 6.65 (s, 1H), 5.05 (d, J = 4.6 Hz, 4H), 4.93 (s, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.83 (d, J = 2.8 Hz, 6H), 3.81 (s, 3H), 3.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ : 177.3, 161.4, 161.3, 161.1, 159.7, 159.7, 159.6, 158.0, 157.7, 156.4, 133.1, 130.8, 129.9, 129.6, 129.5, 129.4, 129.3, 128.3, 127.7, 124.0, 122.7, 115.3, 114.2, 114.0, 113.8, 113.5, 112.6, 107.4, 96.7, 70.5, 70.0, 55.4, 55.4, 55.4, 55.3, 28.4; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_{47}\text{H}_{43}\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 理论值 751.2918, 实测值 751.2902。

1.2.2 化合物 **13** 的合成

称取 270.24 mg (1.0 mmol) 芹菜素和 510.5 mg

(7.5mmol) 咪唑放入干燥的圆底烧瓶中,加入 6.0mL 二氯甲烷 (DCM),在 N_2 的氛围下搅拌且充分溶解,加入 1.0mL (4.5mmol) 三异丙基氯硅烷 (TIPSCl),反应搅拌 2h, TLC 监测至反应完全。向反应体系中缓慢滴加饱和氯化铵溶液,乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥、减压浓缩、然后进行柱层析纯化得到化合物 **13**。黄色油状体,收率 91.3%,熔点 130 ~ 132 $^{\circ}C$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.76 (s, 1H), 7.80 ~ 7.77 (m, 2H), 7.00 ~ 6.96 (m, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.45 (d, J = 2.2Hz, 1H), 6.32 (d, J = 2.2Hz, 1H), 1.34 ~ 1.30 (m, 3H), 1.28 (dd, J = 7.6、1.6Hz, 3H), 1.04 (d, J = 1Hz, 36H); ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3$) δ : 182.6, 164.2, 162.6, 162.1, 159.8, 157.7, 128.2, 123.9, 120.6, 106.0, 104.4, 103.8, 98.7, 18.0, 17.8, 12.8, 12.4; HRMS (ESI) m/z : $C_{33}H_{51}O_5Si_2$ [M + H] $^{+}$, 理论值 755.3770, 实测值 755.4553。

1.2.3 化合物 **14** 的合成

称取 270.24mg (1.0mmol) 芹菜素置于干燥的圆底烧瓶中,加入 10.0mL DCM,在 N_2 的氛围下分别加入 36.7mg (0.3mmol) 4-*N,N*-二甲氨基吡啶 (DMAP)、0.6mL (4.5mmol) Et_3N 、858.2mg (4.5mmol) TsCl,反应搅拌 15min, TLC 监测至反应完全。随后用乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥、减压浓缩、然后进行柱层析纯化得到化合物 **14**。白色固体,收率 68.2%,熔点 214 ~ 216 $^{\circ}C$; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 7.88 (d, J = 8.2Hz, 2H), 7.79 ~ 7.71 (m, 6H), 7.40 ~ 7.31 (m, 7H), 7.14 (d, J = 8.8Hz, 2H), 6.82 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 2.46 (d, J = 9.8Hz, 9H); ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3$) δ : 175.0, 161.0, 157.5, 152.2, 152.1, 147.6, 146.7, 146.0, 146.0, 132.4, 132.1, 131.4, 130.4, 130.1, 129.8, 129.6, 129.0, 128.6, 128.6, 127.8, 123.4, 116.9, 115.0, 111.4, 109.3, 22.0, 22.0, 22.0; HRMS (ESI) m/z : $C_{36}H_{29}O_{11}Si_3$ [M + H] $^{+}$, 理论值 733.0879, 实测值 733.0867。

1.2.4 化合物 **15~16** 的合成

称取 270.24mg (1.0mmol) 芹菜素置于圆底烧瓶中,加入 10.0mL DCM,在 N_2 氛围下加入 0.62mL (4.5mmol) Et_3N ,再使体系缓慢降至 0 $^{\circ}C$,加入 0.32mL (4.5mmol) 乙酰氯,最后在室温和 N_2 氛围下搅拌反应 1.5h, TLC 跟踪确定反应完全。

向反应体系中缓慢滴加饱和氯化铵溶液,乙酸乙酯萃取三次,合并有机相,用饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥、减压浓缩、然后进行柱层析纯化得到化合物 **15、16**。

4-(7-乙酰氧基-5-羟基-4-羰基-4*H*-色烯-2-乙烷基)苯基乙酸 (**15**)^[12]:白色固体,收率 11.4%,熔点 198 ~ 200 $^{\circ}C$; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 12.70 (s, 1H), 7.91 (d, J = 8.8Hz, 2H), 7.27 (d, J = 8.8Hz, 2H), 6.85 (d, J = 2.0Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.57 (d, J = 2.2Hz, 1H), 2.35 (d, J = 2.6Hz, 6H); ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3$) δ : 182.9, 169.1, 168.6, 164.0, 162.0, 156.8, 156.1, 153.7, 128.6, 128.0, 122.6, 109.0, 106.2, 105.7, 101.2, 21.4, 21.3; HRMS (ESI) m/z : $C_{19}H_{14}O_7Na$ [M + Na] $^{+}$, 理论值 377.0630, 实测值 377.0632。

2-(4-乙酸苯酚酯)-4-羰基-4*H*-色烯-5,7-联乙酸乙酰盐 (**16**)^[13]:白色固体,收率 29.7%,熔点 179 ~ 181 $^{\circ}C$; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ : 7.87 (d, J = 8.8Hz, 2H), 7.34 (d, J = 2.2Hz, 1H), 7.26 (d, J = 1.4Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.85 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.34 (d, J = 4.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (101MHz, $CDCl_3$) δ : 176.4, 169.6, 169.1, 168.2, 161.9, 157.7, 154.1, 153.4, 150.3, 128.7, 127.7, 122.5, 115.0, 113.9, 109.2, 108.7, 21.3, 21.3, 21.2; HRMS (ESI) m/z : $C_{21}H_{16}O_8Na$ [M + Na] $^{+}$, 理论值 397.0918, 实测值 397.0918。

1.3 CCK8 法测试

采用 CCK-8 法测试合成化合物对人肝癌细胞 (Hep3 β)、人结肠癌细胞 (LOVO)、人肺癌细胞 (A549) 的增殖毒性实验。将人肝癌细胞 (Hep3 β)、人结肠癌细胞 (LOVO)、人肺癌细胞 (A549) 制备成 3000 个/孔的细胞悬液,吹打均匀,将细胞悬液 (100 μ L/孔)、浓度为 50 μ mol/L 的各化合物分别加入 96 孔板,设空白组、阳性对照组、给药组,每组设 3 个复孔,于 37 $^{\circ}C$ 、5% CO_2 条件下培养 24h,加入 10 μ L/孔的 CCK-8 溶液,最后在 450nm 处测定其 OD 值。

2 结果与讨论

2.1 芹菜素衍生物的合成

采用便宜易得的原料和简单省时的合成路线合成了 16 个芹菜素衍生物,并且通过核磁共振、高分辨质谱对其结构进行了确证,经 SciFinder 数

数据库文献检索发现有 10 个化合物为新化合物。本次合成思路是在芹菜素的结构基础上引入甲基、苄基、乙酰基、对甲苯磺酰基、三异丙基硅烷基单元结构基团期望提高其抗肿瘤活性。

2.2 抗肿瘤活性筛选

采用上述 CCK-8 法对合成化合物进行抗肿瘤活性筛选,从表 1 可以看出,化合物 1 (93.12%)和化合物 16 (80.33%)对 Hep3β 细胞表现出了较强的抑制活性,其抑制活性远远高于芹菜素 (26.52%),并且化合物 1 的抑制效果接近顺铂 (95.90%)。化合物 1 对 LOVO 细胞没有表现出太强的细胞抑制效果,但是对 A549 细胞表现出了促进细胞生长的作用。化合物 16 对 LOVO 细胞 (25%)、A549 (4.95%) 的抑制作用都不是很强,对比芹菜素 (50.84%, 75.19%) 显示出现了活性降低的现象。化合物 2 对 LOVO 细胞有较强的抑制作用,其抑制率为 75.46%,超过了芹菜素 (50.84%),而对 Hep3β 细胞 (14.76%)、A549 细胞 (17.64%) 的抑制作用相当。值得注意的是,化合物 13 (81.17%)对 A549 细胞的抑制活性甚至超过了顺铂 (80.43%),对 Hep3β 细胞 (3.27%)、LOVO 细胞 (5.25%) 没有表现出较好的抑制活性。由此可见,对芹菜素进行结构修饰,引入取代基团,可以影响其对不同肿瘤细胞的抑制活性。

表 1 合成化合物 1~16 对 3 种肿瘤细胞的抑制率 (50μmol/L)

化合物	抑制率/%		
	Hep3β	LOVO	A549
1	93.12	25.43	-0.58
2	14.76	75.46	17.64
3	25.75	43.30	9.25
4	1.27	39.25	6.53
5	15.94	-23.48	64.13
6	26.20	19.50	7.77
7	7.51	4.45	-27.18
8	0.36	1.50	-19.38
9	1.72	3.81	49.51
10	4.05	36.75	-34.49
11	6.52	33.45	33.78
12	-9.00	4.19	-23.49
13	3.27	5.25	81.17
14	12.43	10.63	9.50
15	54.99	39.78	21.57
16	80.33	25.00	4.95
芹菜素	26.53	50.84	75.19
顺铂	95.90	87.48	80.43

3 讨论

芹菜素在体内的生物利用度低^[14],极大限制了其作为新药物的研发。芹菜素的结构是 A 环与 B 环通过中央三碳连接而成的化合物^[15],对芹菜素分子结构进行修饰,可以对功能进行改善^[16]。目前,芹菜素的结构修饰主要在 C 环的 2,3 位酚羟基、A 环 5、6、7、8 位、B 环的 2'、3'、4' C-位^[17]。其次,在 C5、C7 或 C4'羟基的位置上引入甲基、苄基、卤原子等,可以改善其生物学活性^[18],改善药代动力学属性和提高药物的生物利用度^[19]。研究发现,黄酮类化合物在 B 环 C3'和 A 环的 C7 位置上被甲氧基取代后对凝血激酶组织因子的抑制活性有较高的促进作用^[20]。Cardenas 等^[21]发现,在黄酮化合物 A 环的 C6 位置上引入 Cl 或者 Br 可使其具有较强的抗肿瘤活性。本文芹菜素结构修饰后构效关系分析发现,当芹菜素 C-5、C-7 或 C-7 和 C-4'被甲氧基取代时,衍生物 2、3 的抗 LOVO 活性相对较高。当 C-6 被甲基取代后 (衍生物 1),其表现出较强的 Hep3β 抑制活性,即 C-6 位的甲基取代能够显著提高衍生物 1 的抗肿瘤活性。化合物 13 在 C-7、C-4'的位置上引入了三异丙基硅烷基后成为抗 A549 细胞活性最强的化合物。在此芹菜素的结构修饰中首次采用三异丙基硅烷基代替传统的甲基、乙酰基和苄基等常规药效团,其衍生物 13 表现出了较强的抑制活性,甚至高于阳性对照药顺铂。这非常值得我们进一步的研究和探讨。值得注意的是,本文中合成的部分芹菜素衍生物针对 Hep3β 细胞有较强的活性,然而整体针对 LOVO 细胞则表现不佳。本文结果可为今后芹菜素类新药研发和数据库带来更多的参考价值,同时也为结构优化提供一定参考。

参 考 文 献

[1] Hanahan D, Weinberg R A. Cell, 2011, 144 (5): 646 ~ 674.

[2] Bauer D, Mazzio E, Hilliard A, et al. Oncol. Lett., 2020, 19 (3): 2123~2132.

[3] Chiang L C, Ng L T, Cheng P W, et al. Clin. Exp. Pharm. Phys., 2005, 32 (10): 811~816.

[4] Rašković A, Gigov S, Čapo I, et al. Eur. J. Drug Metab. Pharm., 2017, 42 (5): 849~856.

[5] Xu Y, Li X, Wang H. Front. Nutrition, 2022, 9: 1~16.

参 考 文 献

[1]

Kojima A, Teshima K, Shirai Y, et al. J. Am. Chem. Soc. , 2009, 131(17) : 6050~6051.

[2]

Im J H, Lee C R, Lee J W, et al. Nanoscale, 2011, 3(10) : 4088~4093.

[3]

Kim H S, Lee C R, Im J H, et al. Sci. Rep. , 2012, 2(8) : 591~597.

[4]

Zhu L, Shan Y, Wang R, et al. Chem. Eur. J. , 2017, 23(18) : 4373~4379.

[5]

李二鹏, 吴永真. 化学通报, 2022, 85(2) :146~154.

[6]

Wang Y K, Yuan Z C, Shi G Z, et al. Adv. Funct. Mater. , 2016, 26(9) :1375~1381.

[7]

Xu B, Bi D, Hua Y, et al. Energy Environ. Sci. , 2016, 9(3) :873~877.

[8]

Liu K, Yao Y, Wang J, et al. Mater. Chem. Front. , 2017, 1(1) : 100~110.

[9]

Zhang F , Liu X C, Yi C Y, et al. ChemSusChem, 2016, 9: 2578~2585.

[10]

Zhao X M, Zhang F, Yi C Y, et al. J. Mater. Chem. A, 2016, 42, 16330~16334.

[11]

Zhang J B, Xu B, Johansson M B. Adv. Energy Mater. , 2016, 6(13) :1502536.

[12]

Su P Y, Chen Y F, Liu J M. Electrochim. Acta, 2016, 209: 529~540.

[13]

Mi S, Chen D, Lu N. Int. J. Quantum Chem. , 2011, 111(9) :2039~2044.

[6]

(a) Saito H, Ishida H, Akama T, et al. J. Med. Chem. , 1998,41(12) : 2056~2067; (b) Boumendjel A, Bois F, Beney C, et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2001,11(1) : 75~77; (c) Larget R, Lockhart B, Renard P, et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2000,10(8) : 835~838; (d) 汤立军,张淑芬,杨锦宗,等. 有机化学, 2004, 24(8) : 882~889.

[7]

Rajudin E, Ahmad F, Sirat H M, et al. Nat. Prod. Res. , 2010, 24(4) : 387~390.

[8]

Tang Q, Huang G. Mini-Rev Med. Chem. , 2016, 16(15) : 1244~1257.

[9]

Sookkongwaree K, Geitmann M, Roengsumran S, et al. Pharmazie, 2006, 61(8) : 717~721.

[10]

Sutthanut K, Sripanidkulchai B, Yenjai C, et al. J. Chromatogr. A, 2007, 1143(1-2) : 227~233.

[11]

Sipos Z, Kónya K. Synthesis, 2018, 50(08) : 1610~1620.

[12]

Al-Maharik N, Botting N P. Tetrahedron, 2003, 59(23) : 4177~4181.

[13]

Zheng Z, Han Z, Cai L, et al. Tetrahed. Lett. , 2018, 59(50) : 4442~4447.

[14]

Xiang H L, Geng Y J, Wu Z J, et al. J. Hunan Normal Univ. (Medical Sciences), 2009, 6(3) : 26~29.

[15]

沈佳妍, 徐婧淇, 刘森, 等. 中南药学, 2022, 20: 371~381.

[16]

邢志华. 中国药学杂志, 2018, 53(15) : 1241~1247.

[17]

黄鑫, 梁剑平, 郝宝成. 安徽农业科学, 2015, 43(11) : 57~61.

[18]

田杰, 张传博, 孙云子. 食品与发酵工业, 2021, 47(3) : 252~258.

[19]

Nicola S, Andrea M, Virginia E, et al. Pharm. Res. , 2017, 124: 9~17.

[20]

Jiang W, Kou J, Zhang Z, et al. Thromb. Res. , 2009, 124(6) : 714~720.

[21]

Cárdenas M, Marder M, Blank V C, et al. Bioorg. Med. Chem. , 2006, 14(9) : 2966~2971.