

# 查尔酮曼尼希碱类衍生物的设计、合成及抗肿瘤活性研究

谭鸿舟<sup>1</sup> 许嘉琛<sup>1</sup> 付 俐<sup>2</sup> 刘成波<sup>1</sup> 何黎琴<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>安徽中医药大学药学院 合肥 230011; <sup>2</sup>安徽省食品药品检验研究院 合肥 230051)

**摘要** 以丹皮酚和对氯苯甲醛为起始原料,通过 Claisen-Schmidt 反应得到 2-羟基-4-甲氧基-4'-氯查尔酮(**3**),再经过 Mannich 反应得到 10 个查尔酮曼尼希碱衍生物(**4a~4e, 5a~5e**)。目标化合物结构均经高分辨质谱、核磁共振氢谱、碳谱进行确证。采用 MTT 法测试了所合成化合物对人肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2 的体外抗增殖活性。结果表明,目标化合物对肿瘤细胞 A549、HepG2 均具有较强的细胞增值抑制作用,且明显优于阳性对照药 5-氟尿嘧啶。

**关键词** 查尔酮 曼尼希碱 丹皮酚 抗癌活性

## Syntheses and Anticancer Activities of Chalcone Mannich Base Derivatives

Tan Hongzhou<sup>1</sup>, Xu Jiachen<sup>1</sup>, Fu Li<sup>2</sup>, Liu Chengbo<sup>1</sup>, He Liqin<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, 230011;

<sup>2</sup> Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei, 230051)

**Abstract** Starting from paeonol and *p*-chlorobenzaldehyde, the target compounds paeonol mannich base derivatives (**4a~4e, 5a~5e**) were obtained through Claisen-Schmidt and Mannich reactions. The chemical structure of target compounds was confirmed by HRMS, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR. The *in vitro* antiproliferative activities of the synthesized compounds were assessed against human cancer cell lines (HepG2 and A549). The results showed that the target compounds had strong cell proliferation inhibitory effects on tumor cells A549 and HepG2, and were significantly superior to the positive control drug 5-fluorouracil.

**Keywords** Chalcone, Mannich base, Paeonol, Anticancer activity

恶性肿瘤具有高发病率和高致死率,严重威胁人类生命健康。随着科技的不断进步,治疗肿瘤的手段越来越多,并取得了一定的治疗效果。目前恶性肿瘤的治疗方法主要是药物治疗,但其临床效果并不十分令人满意,存在选择性差、毒副作用大,易产生耐药性等不足,亟需开发有效、安全、毒副作用小的药物来满足肿瘤患者需要。

天然查尔酮类化合物是一类含有 1,3-二苯基丙烯酮骨架的有机化合物,广泛存在于蔬菜、水果、茶叶等可食性植物和红花、甘草等药用植物中。查尔酮骨架中的  $\alpha, \beta$ -烯酮结构,可作为迈克尔受体与生物大分子化合物中的亲和性基团共价

结合,呈现出多种生物活性,如抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌等<sup>[1-4]</sup>,使其在药物研发中受到广泛关注。通过药物设计的原理和方法,对查尔酮的结构进行化学修饰,可以得到具有结构新颖、更高活性和良好成药性的新型抗肿瘤药物,具有很高的研发价值<sup>[5-7]</sup>。

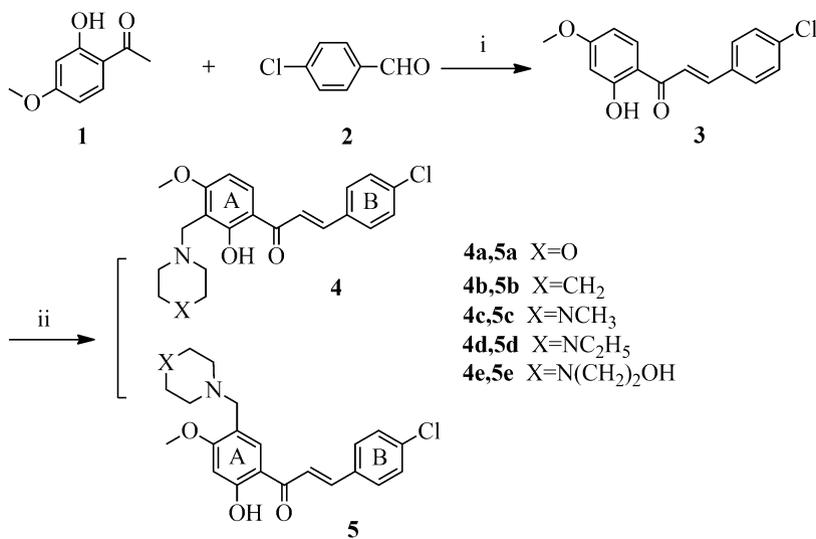
本课题组前期曾以丹皮酚(2-羟基-4-甲氧基苯乙酮)为原料,利用其 1-位乙酰基与不同取代的苯甲醛进行 Claisen-Schmidt 缩合,得到相应的查尔酮衍生物<sup>[8]</sup>。体外抗肿瘤活性筛选结果显示,所得目标物具有较强的抗肿瘤细胞增殖的活性,但其水溶性较差。在药物研发过程中,解决水溶性差的方法很多,其中引入有机胺片

\* 联系人,何黎琴 女,博士,教授,主要从事药物化学研究。E-mail: hlq661125@126.com

安徽省教育厅自然科学基金项目(KJ2020A0957, KJ2021B003)资助

2023-07-18 收稿,2023-09-06 接受

段是改善化合物水溶性、提高生物活性常用的方法之一。在查尔酮的结构修饰和改造中,通过引入有机胺片段增强抗肿瘤活性的报道也不少,并取得了喜人的成就<sup>[9-12]</sup>。Mannich反应是构建含有有机胺片段的新化合物的常用方法,在先导化合物的优化过程中,通过Mannich反应引入曼尼希碱结构以改善理化性质或/和提高药效的实例有不少:如天然活性成分羟基喜树碱到临床应用的抗肿瘤药物拓扑替康;抗溃疡药物西咪替丁到疗效更好、副作用更小的药物雷尼替丁等。为此,本文在前期研究的基础上,拟通过曼尼希反应在查尔酮A环上引入不同的胺甲基,合成系列查尔酮曼尼希碱杂合物,并用MTT法测试目标化合物对人肝癌HepG2细胞、人肺癌A549细胞增殖作用的影响,以期得到具有良好抗肿瘤作用的新型查尔酮曼尼希碱类衍生物。



反应条件以及试剂(i): EtOH, 50% NaOH, 50°C; (ii): 95% EtOH, (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>, Secondary amine (morpholine, piperidine, *N*-methyl piperazine, *N*-ethyl piperazine, *N*-(2-Hydroxyethyl)piperazine), 85°C

图式1 目标化合物的合成路线

Scheme 1 Synthesis route for target compounds

### 1.2.1 中间体3的合成<sup>[8]</sup>

取0.83g(5mmol)丹皮酚、0.7g(5mmol)对氯苯甲醛置于50mL圆底烧瓶中,加入15mL无水乙醇,于50°C下搅拌至固体完全溶解。再向反应液中缓慢滴加1.5mL 50% NaOH溶液,继续搅拌反应。薄层色谱法(TLC)监测至反应完全。冷却至室温后加入6mol/L稀盐酸调至pH=6,有黄色沉淀生成,过滤后经过95%乙醇重结晶后得黄色固体粉末1.208g,产率83.90%,熔点111.5~112.4°C。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

SGW X-4型显微熔点仪(上海精密科学仪器有限公司);AV 400/600型核磁共振谱仪(德国Bruker公司);LCQ Advantage MAX型液质联用质谱仪(美国Finnigan公司)。多聚甲醛、吗啡啉、哌啶、*N*-甲基哌啶、*N*-乙基哌啶、*N*-(2-羟乙基)哌啶、无水乙醇、95%乙醇、对氯苯甲醛、氢氧化钠等试剂均为市售分析纯级或化学纯级。

### 1.2 合成部分

以丹皮酚(1)与对氯苯甲醛(2)为起始原料,经Claisen-Schmidt反应得到2-羟基-4-甲氧基-4'-氯查尔酮(3),然后化合物3与多聚甲醛及不同有机胺经曼尼希反应得到相应的查尔酮曼尼希碱(4a~4e, 5a~5e)。

### 1.2.2 目标化合物4a~4e和5a~5e的合成<sup>[13]</sup>

取288mg(1mmol)化合物3、0.18g(6mmol)多聚甲醛置于50mL圆底烧瓶中,加入15mL 95%乙醇,于85°C回流搅拌至固体溶解完全,加入0.52mL(6mmol)吗啡啉,继续回流反应,TLC监测至反应完全,二氯甲烷萃取有机相,减压浓缩,柱层析(淋洗剂甲醇/二氯甲烷体积比1:40)纯化得化合物4a和5a。将吗啡啉替换为哌啶、*N*-甲基哌啶、*N*-乙基哌啶、*N*-(2-羟乙基)哌啶,分别得到产物4b~4e和5b~5e。

2-羟基-4-甲氧基-3-吗啉基甲基-4'-氯查尔酮 (**4a**): 黄色固体, 收率 37.50%, 熔点 155.7 ~ 156.6 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.26 (d,  $J$  = 9.0, 1H), 8.02 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.92 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 7.76 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.51 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 6.68 (d,  $J$  = 9.0Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.52 (s, 2H), 3.39 (d,  $J$  = 5.0Hz, 4H), 2.42 ~ 2.36 (m, 4H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 190.47, 163.02, 162.60, 141.33, 135.33, 132.46, 130.20, 128.62, 128.21, 121.29, 114.78, 111.11, 101.14, 65.92, 54.88, 52.33; HRMS,  $m/z$ :  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClNO}_4$ ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 理论值 388.1316, 实测值 388.1302。

2-羟基-4-甲氧基-5-吗啉基甲基-4'-氯查尔酮 (**5a**): 黄色固体粉末, 收率 39.71%, 熔点 160.5 ~ 161.3 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 13.34 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.78 (d,  $J$  = 8.0Hz, 2H), 7.52 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 8.0Hz, 2H), 6.55 (s, 1H), 3.84 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.50 (m, 4H), 2.51 (t,  $J$  = 4.6Hz, 4H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 191.61, 166.12, 164.73, 142.89, 136.59, 133.33, 131.84, 129.74, 129.32, 120.92, 113.47, 99.53, 66.97, 55.87, 55.82, 53.47; HRMS,  $m/z$ :  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClNO}_4$ ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 理论值 388.1316, 实测值 388.1303。

2-羟基-4-甲氧基-3-哌啶基甲基-4'-氯查尔酮 (**4b**): 黄色固体粉末, 收率 35.56%, 熔点 128.8 ~ 129.7 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.82 (d,  $J$  = 8.8Hz, 1H), 7.58 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.47 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 7.41 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.33 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 6.48 (d,  $J$  = 8.8Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.81 (s, 2H), 2.63 ~ 2.59 (m, 4H), 1.63 ~ 1.44 (m, 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 191.06, 165.39, 163.65, 142.15, 135.64, 133.34, 131.09, 129.12, 128.36, 120.03, 112.42, 100.65, 55.62, 53.71, 52.60, 24.84, 23.71; HRMS,  $m/z$ :  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{ClNO}_3$ ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 理论值 386.1523, 实测值 386.1501。

2-羟基-4-甲氧基-5-哌啶基甲基-4'-氯查尔酮 (**5b**): 黄色固体粉末, 收率 36.03%, 熔点 133.6 ~ 134.3 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13.31 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.90 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 7.78 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H),

7.52 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.46 (s, 2H), 2.52 ~ 2.37 (m, 4H), 1.55 ~ 1.41 (m, 4H), 1.42 ~ 1.28 (m, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 191.10, 165.32, 163.35, 142.07, 135.47, 133.3, 132.39, 129.08, 128.21, 120.39, 112.88, 98.35, 54.90, 53.89, 52.65, 24.69, 23.70; HRMS,  $m/z$ :  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{ClNO}_3$ ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 理论值 386.1523, 实测值 386.1507。

2-羟基-4-甲氧基-3-甲基哌嗪基甲基-4'-氯查尔酮 (**4c**): 黄色固体粉末, 收率 36.12%, 熔点 101.8 ~ 102.7 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.74 (d,  $J$  = 8.8Hz, 1H), 7.61 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 7.57 ~ 7.42 (m, 4H), 6.82 (d,  $J$  = 15.6Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.48 (s, 2H), 2.50 ~ 2.17 (m, 8H), 2.08 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 191.56, 165.49, 163.85, 142.15, 136.84, 133.34, 130.09, 129.62, 129.36, 120.03, 116.51, 113.51, 100.65, 56.48, 55.11, 55.10, 52.63, 46.07; HRMS,  $m/z$ :  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_3$ ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 理论值 401.1632, 实测值 401.1610。

2-羟基-4-甲氧基-5-甲基哌嗪基甲基-4'-氯查尔酮 (**5c**): 黄色固体粉末, 收率 37.23%, 熔点 109.5 ~ 110.5 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13.35 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.81 (d,  $J$  = 15.4Hz, 1H), 7.64 ~ 7.55 (m, 2H), 7.46 ~ 7.39 (m, 2H), 7.40 (d,  $J$  = 15.4Hz, 1H), 6.44 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.51 (s, 2H), 2.52 (d, m, 8H), 2.30 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 191.61, 165.99, 164.70, 142.64, 136.49, 133.41, 131.65, 129.66, 129.25, 121.12, 117.87, 113.43, 99.42, 55.76, 55.27, 55.17, 52.90, 46.02; HRMS,  $m/z$ :  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_3$ ,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 理论值 401.1632, 实测值 401.1625。

2-羟基-4-甲氧基-3-乙基哌嗪基甲基-4'-氯查尔酮 (**4d**): 黄色固体粉末, 收率 36.32%, 熔点 131.7 ~ 132.7 °C;  $^1\text{H NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.91 (d,  $J$  = 8.6Hz, 1H), 7.85 (d,  $J$  = 15.4Hz, 1H), 7.60 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 7.31 (d,  $J$  = 15.4Hz, 1H), 7.22 (d,  $J$  = 8.2Hz, 2H), 6.54 (d,  $J$  = 8.2Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.07 ~ 2.71 (m, 10H), 1.24 (t,  $J$  = 7.0Hz, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 191.75, 164.38, 164.21, 143.10, 136.64, 133.26, 132.00, 129.73, 129.30, 121.29, 115.18, 114.04, 102.24, 56.07, 55.97,

54.66, 52.19, 51.99, 10.55; HRMS,  $m/z$ :  $C_{23}H_{27}ClN_2O_3$ ,  $[M+H]^+$ : 理论值 415.1788, 实测值 415.1776。

2-羟基-4-甲氧基-5-乙基哌嗪基甲基-4'-氯查尔酮 (**5d**): 黄色固体粉末, 收率 39.01%, 熔点 130.7 ~ 131.4 °C;  $^1H$  NMR (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 13.38 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.00 (d,  $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.96 (d,  $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.82 (d,  $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.45 (s, 2H), 2.50 ~ 2.16 (m, 10H), 0.97 (t,  $J = 7.2$ Hz, 3H);  $^{13}C$  NMR (151MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 191.64, 166.05, 164.76, 142.72, 136.53, 133.38, 131.83, 129.73, 129.29, 121.07, 113.43, 99.45, 55.82, 55.33, 52.86, 52.82, 52.33, 11.98; HRMS,  $m/z$ :  $C_{23}H_{27}ClN_2O_3$ ,  $[M+H]^+$ : 理论值 415.1788, 实测值 415.1776。

2-羟基-4-甲氧基-3-羟乙基哌嗪基甲基-4'-氯查尔酮 (**4e**): 黄色固体粉末, 收率 34.12%, 熔点 129.6 ~ 130.4 °C;  $^1H$  NMR (600MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.85 (d,  $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.47 (d,  $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.38 (d,  $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.31 (d,  $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.50 (d,  $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.57 ~ 3.48 (m, 2H), 3.56 ~ 3.48 (m, 2H), 2.63 ~ 2.52 (m, 8H);  $^{13}C$  NMR (151MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 191.56, 166.49, 164.85, 142.75, 136.84, 134.34, 131.09, 129.92, 129.36, 121.21, 116.51, 113.51, 99.65, 59.71, 57.56, 56.48, 52.71, 51.92; HRMS,  $m/z$ :  $C_{23}H_{27}ClN_2O_4$ ,  $[M+H]^+$ : 理论值 431.1738, 实测值 431.1722。

2-羟基-4-甲氧基-5-羟乙基哌嗪基甲基-4'-氯查尔酮 (**5e**): 黄色固体粉末, 收率 37.56%, 熔点 125.6 ~ 126.3 °C;  $^1H$  NMR (600MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ : 13.31 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.94 (d,  $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.78 (d,  $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.50 (d,  $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 4.31 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 3.48 ~ 3.38 (m, 2H), 2.57 ~ 2.44 (m, 2H), 2.42 ~ 2.24 (m, 8H);  $^{13}C$  NMR (151MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 191.62, 166.47, 164.74, 142.80, 136.54, 134.31, 131.91, 129.74, 129.29, 121.01, 115.19, 113.55, 99.48, 59.19, 57.72, 56.08, 52.81, 52.62, 51.93; HRMS,  $m/z$ :  $C_{23}H_{27}ClN_2O_4$ ,  $[M+H]^+$ : 理论值 431.1738, 实测值 431.1736。

### 1.3 体外抗增殖活性测试<sup>[14]</sup>及结果

以临床常用抗肿瘤药物氟尿嘧啶 (5-FU) 和中间体 **3** 为阳性对照, 采用 MTT 法测试化合物 **4a** ~ **4e**, **5a** ~ **5e** 对人肝癌细胞 (HepG2) 和人肺癌细胞 (A549) 的体外抗细胞增殖活性。

细胞在 37°C、5%  $CO_2$  饱和湿度的培养箱中常规培养。取对数生长期生长状态良好的癌细胞 (HepG2、A549) 加入消化液消化后, 细胞计数  $(2\sim3)\times 10^4$  个/mL, 再以每孔约 5000 个细胞接种到 96 孔板中, 于培养箱中孵育 24h。更换培养液, 加入受试药物 (0.1 ~ 25.0  $\mu\text{mol/L}$ , 5 个浓度), 每孔 100  $\mu\text{L}$ , 培养箱中继续培养 48h。将 MTT 试剂加入 96 孔板中, 每个孔 20  $\mu\text{L}$ , 培养箱中孵育 4h。吸去上清液, 加 DMSO, 每孔 100  $\mu\text{L}$ , 平板摇床上振摇 10min, 用酶联免疫检测仪测定每孔在波长为 495nm 处的吸光度, 数据导入 GraphPad Prism 软件中计算  $IC_{50}$  值, 所有试验在相同条件下重复 3 次。

## 2 结果与讨论

### 2.1 合成部分

目标产物的合成可以通过以下两条路线进行: 路线一以丹皮酚 (**1**) 为原料, 先通过曼尼希反应在其酚羟基的邻位和对位分别引入曼尼希碱, 经过柱层析分离后, 再分别与对氯苯甲醛进行 Claisen-Schmidt 反应得到目标化合物; 路线二是丹皮酚与对氯苯甲醛先进行 Claisen-Schmidt 反应, 得到查尔酮, 再经曼尼希反应在其酚羟基的邻位和对位引入曼尼希碱, 经柱层析分离后得到目标化合物。两条合成路线均能得到目标产物, 但反应后处理难易程度和产率有所不同。多次实验发现, 路线二产率比路线一相对较高 (以 **4a**, **5a** 为例, 路线一和路线二两步总收率分别为 53.42%、77.21%), 且易于分离纯化。因此, 本论文选择路线二进行反应, 并以良好的收率得到目标化合物。

在曼尼希反应中, 从空间位阻影响分析, 曼尼希反应利于生成化合物 **5**, 因为 A 环羟基对位的位阻要小于其邻位; 从邻位效应考虑, 化合物 **4** 中 A 环羟基与曼尼希碱 N 原子可形成氢键, 生成的产物趋于稳定, 有利于反应的进行。在本研究中, 化合物 **4** 的收率要略低于化合物 **5** 的收率, 即曼尼希碱片段取代在 A 环羟基对位的几率略高于其邻位。究其原因, 反应产物可能受空间位阻影响更多有关。

## 2.2 目标化合物的水溶性评价

天然查尔酮和部分合成查尔酮水溶性较差,在一定程度上限制了此类化合物在临床上的应用。本文对前期合成的活性化合物进行进一步的优化,以期获得溶解性改善且保留其活性的新型查尔酮化合物。为此,在室温下对目标化合物进行了简单的溶解性定性实验。分别称取化合物 **3**、**4a~4e**、**5a~5e** 各 1mg,置于 1.5mL EP 管,加入蒸馏水定容至 1mL,充分振摇,化合物 **4a~4e**、**5a~5e** 完全溶解,化合物 **3** 变化不明显。再称取 0.1mg 化合物 **3**,重复上述操作,化合物 **3** 仍有部分未溶解。初步的实验结果表明:化合物 **3** 在水中的溶解度小于 0.1mg/mL,目标化合物 **4a~4e**、**5a~5e** 在水中的溶解度均高于 1mg/mL。

## 2.3 药理活性部分

本论文采用 MTT 法,以临床常用的抗肿瘤药物 5-FU 为阳性对照,对合成的化合物进行了体外抗肿瘤活性测试,结果如表 1 所示。由表中数据可知,查尔酮曼尼希碱衍生物对所测试的两种癌细胞均有较强的抗增殖活性,其抗增殖活性均强于阳性对照药 5-FU。实验结果显示,不同的目标化合物对不同肿瘤细胞的增殖抑制作用不尽相同。整体来说,化合物对 A549 细胞的抑制作用稍强于 HepG2,其中化合物 **4e** 对 A549 细胞的抑制活性最强,IC<sub>50</sub> 为 3.91 μmol/L,其增殖抑制活性是 5-FU (IC<sub>50</sub> 为 49.81 μmol/L) 的 12 倍;对 HepG2 细胞抑制作用最强的是 **5e** (IC<sub>50</sub> = 4.18 μmol/L),其增殖抑制活性是 5-FU (IC<sub>50</sub> = 46.28 μmol/L) 的 11 倍。

表 1 化合物对两种癌细胞系的抑制活性 (mean±SD, n=3)

Tab. 1 Inhibitory activity against two cancer cell lines of the compounds (mean±SD, n=3)

Compound	IC <sub>50</sub> /(μmol/L)	
	A549	HepG2
<b>4a</b>	7.13±0.15	7.38±0.35
<b>5a</b>	6.72±0.10	8.85±0.55
<b>4b</b>	7.93±0.05	8.02±0.23
<b>5b</b>	6.17±0.13	8.56±0.34
<b>4c</b>	4.72±0.23	6.10±0.15
<b>5c</b>	5.31±0.17	6.59±0.08
<b>4d</b>	3.97±0.08	6.62±0.25
<b>5d</b>	4.65±0.02	6.12±0.45
<b>4e</b>	3.91±0.12	5.38±0.31
<b>5e</b>	4.35±0.26	4.18±0.36
<b>3</b>	19.65±0.19	16.45±0.43
5-FU	49.81±0.92	46.28±1.01

初步构效关系分析显示,在 2-羟基-4-甲氧基-4'-氯查尔酮的 3-位和 5-位引入不同的曼尼希碱片段有助于提高化合物的抗增殖活性,目标化合物对 A549、HepG2 细胞增殖抑制作用均优于化合物 **3**。进一步分析发现,引入的有机胺种类不同,目标化合物对两种癌细胞的抑制活性有所不同:在化合物 **3** 的 3-位分别引入哌啶基甲基(化合物 **4b**)和羟乙基哌嗪基甲基(化合物 **4e**)对 A549 细胞的抑制作用差异较大,IC<sub>50</sub> 值分别为 7.93 和 3.91 μmol/L;在化合物 **3** 的 5-位分别引入吗啉基甲基和羟乙基哌嗪基甲基得到的化合物 **5a** 和 **5e** 对 HepG2 细胞的抑制作用差异较大,IC<sub>50</sub> 值分别为 8.85 和 4.18 μmol/L;在化合物 **3** 的 3-位或 5-位引入相同的有机胺片段对目标化合物的活性影响不大。

文献调研发现,查尔酮类化合物可以作用于不同的靶点产生抗肿瘤作用。如天然查尔酮黄腐酚可通过降低 NF-κB 的活性以及血管生成因子 VEGF 和 IL-8 的产生量,在体内外抑制胰腺癌中新血管的生成<sup>[15]</sup>;Li 等<sup>[16]</sup>报道了一系列喹啉-查尔酮类化合物通过与微管蛋白的秋水仙碱位点结合,抑制微管蛋白聚合,使 K562 细胞周期阻滞在 G2/M 期,诱导细胞凋亡;天然查尔酮类化合物异甘草素<sup>[17]</sup>、甘草查尔酮 A<sup>[18]</sup>、小豆蔻明<sup>[19]</sup>都具有较好的抗肿瘤活性,其作用机制可能是结构中 α, β 不饱和结构单元与 IKKβ 的 179 位半胱氨酸残基共价修饰,从而抑制 IKK 的活性,发挥抗肿瘤作用。本研究的目标化合物结构与天然查尔酮类化合物异甘草素、小豆蔻明相似,其良好的抗肿瘤作用可能与结构中的 α, β 不饱和羰基官能团具有亲电性有关,其可通过迈克尔加成与具有亲核性的生物大分子形成共价键,参与多种生物反应,进而抑制肿瘤细胞的生长。其作用机制有待进一步研究。

## 3 结论

本论文以丹皮酚和对氯苯甲醛为原料,经 Claisen-Schmidt 反应得到 2-羟基-4-甲氧基-4'-氯查尔酮,再经过 Mannich 反应得到了 10 个查尔酮曼尼希碱衍生物(**4a~4e**、**5a~5e**)。采用 MTT 法测试了化合物对人肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2 的体外抗细胞增殖活性。实验结果表明,目标化合物对肿瘤细胞 A549、HepG2 均具有较强的细胞增殖抑制作用,且明显优于阳性对照药 5-

FU。初步的构效关系分析表明,在查尔酮结构中引入极性较大的羟乙基哌嗪片段有利于抗肿瘤活性的提高。这一结果为我们后续进一步的结构修饰和改造提供了很好的基础。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Gao F, Huang G, Xiao J. *Med. Res. Rev.*, 2020, 40: 2049~2084.
- [ 2 ] Mahapatra D K, Bharti S K, Asati V. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2017, 17: 3146~3169.
- [ 3 ] Lin Y, Zhang M, Lu Q, et al. *Aging*, 2019, 11: 7805~7816.
- [ 4 ] Henry E J, Bird S J, Gowland P, et al. *J. Antibiotics*, 2020, 73(5): 299~308.
- [ 5 ] Ng H L, Ma X, Chew E H, et al. *J. Med. Chem.*, 2017, 60: 1734~1735.
- [ 6 ] Kumar S K, Hager E, Pettit C, et al. *J. Med. Chem.*, 2003, 46: 2813~2815.
- [ 7 ] Sashidhara K. V, Kumar A, Kumar M, J, et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, 20: 7205~7211.
- [ 8 ] 顾宏霞, 张强, 包贝贝, 等. *商丘师范学院学报*, 2023, 39(06): 28~30.
- [ 9 ] Yamali C, Gul H I, Sakagami H. *Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2016, 31: 125~131.
- [ 10 ] Yamali C, Gul H I. *J. Turk. Chem. Soc. A: Chem.*, 2021, 8: 189~196.
- [ 11 ] Fu H, Zhang Y, Wang X, et al. *Molecules*, 2014, 19: 17715~17726.
- [ 12 ] Han P P, Zhou W H, Chen M X, et al. *Lett. Org. Chem.*, 2019, 16(2): 117~121.
- [ 13 ] 尚飞扬, 丁乐, 何黎琴, 等. *化学通报*, 2022, 85(04): 480~484.
- [ 14 ] 黄骏凯, 何黎琴, 黄鹏, 等. *药化学报*, 2018, 53(2): 249~255.
- [ 15 ] Saito K, Matsuo Y, Imafuji H, et al. *Cancer Sci.*, 2018, 109(1): 132~140.
- [ 16 ] Li W, Xu F, Shuai W, et al. *J. Med. Chem.*, 2018, 62(2): 993~1013.
- [ 17 ] Wang K L, Yu Y C, Hsia S M. *Cancers*, 2021, 13(1): 115.
- [ 18 ] Lv H, Yang H, Wang Z, et al. *Cell Death Dis.*, 2019, 10(4): 313.
- [ 19 ] Ruibin J, Bo J, Danying W, et al. *Aging*, 2020, 12(24): 25730~25743.