

5 个新查耳酮类化合物的设计及合成

苏培¹, 张彦文^{2*}, 段宏泉², 郎奕¹, 黄涛²

1. 天津市第三医院, 天津 300250

2. 天津医科大学药学院, 天津 300070

摘要: 目的 设计、合成新结构类型的查耳酮类化合物, 为新药设计和开发提供有价值的信息。方法 根据关于具有抗肿瘤活性的查耳酮类化合物构效关系的初步研究及第三代芳香维甲类的经典构效关系研究, 设计并合成了查耳酮类新化合物, 并对目标化合物进行人白血病细胞株 HL-60 细胞毒活性筛选, 结合筛选结果, 采用 SYBYL 7.3 软件对所合成化合物进行能量优化及构象分析。结果 设计并合成了 5 个未见报道的查耳酮类新化合物, 均经光谱方法鉴定了结构。所有化合物均对 HL-60 细胞呈现不同程度的细胞毒活性, 同时能量优化得到最低能量构象并进行了构象分析。结论 本实验为新的查耳酮类化合物的设计提示了信息与依据。

关键词: 查耳酮; 抗肿瘤; 构效关系; 先导化合物; 构象分析

中图分类号: R284.3 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)07-1296-04

Design and synthesis of five new chalcone compounds

SU Pei¹, ZHANG Yan-wen², DUAN Hong-quan², LANG Yi¹, HUANG Tao²

1. The Municipal 3rd Hospital of Tianjin, Tianjin 300250, China

2. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Key words: chalcone; antitumor; structure-activity relationship; lead compound; conformational analysis

查耳酮化学结构为 1,3-二苯基丙烯酮, 以其为母体的天然化合物存在于甘草、红花等植物中, 是植物体内合成黄酮的前体。查耳酮类化合物分子具有较大的柔性, 能与不同的生物受体结合^[1-2], 因此药理作用广泛。自 1955 年 Willamian 提出了查耳酮类化合物有维生素 P 样作用以来, 国外已陆续报道了其抗炎、抗真菌、抗溃疡、抗氧化、酶抑制剂(PKG 和 GST)、抗病毒及抗肿瘤等多种药理活性, 以其抗肿瘤作用的研究较为广泛^[3]。Hsu 等^[4]研究了查耳酮对乳腺癌细胞株细胞增殖的影响, 表明查耳酮有望成为治疗乳腺癌的化学预防剂。Rafi 等^[5]和 Yamazaki 等^[6]均发现甘草查耳酮化合物具有诱导肿瘤细胞凋亡的活性, 可以诱导乳腺癌、胃癌、黑色素瘤等细胞凋亡, 还能够抑制结肠癌等肿瘤的诱发和转移。Hsu 等^[7]也发现甘草查耳酮-异甘草素可使 HepG₂ 细胞周期中的 G₂/M 期停滞并诱导细胞凋亡。

本实验旨在国外的研究基础上设计、合成新结构类型的抗肿瘤查耳酮类化合物。查耳酮的经典

合成方法是使用强碱或者强酸来催化的羟醛缩合, 通常由苯乙酮及其衍生物与芳香醛在碱或酸作用下缩合而成。本实验结合抗肿瘤查耳酮构效关系的初步研究及第三代芳香维甲类的经典构效关系研究^[8], 设计并合成了 5 个新的查耳酮类化合物。同时, 采用计算机辅助药物设计技术, 对目标化合物在 SGI RZ4000 图形工作站上进行能量优化、构象分析, 完善具有抗肿瘤活性的查耳酮类化合物的结构信息, 为新的查耳酮类化合物的设计提供参考。

1 仪器与试剂

85—2 型磁力搅拌器 (攻义市英峪予华仪器厂), BP211D 电子天平 (德国赛多利斯股份公司), 熔点仪 (北京泰克仪器有限公司), 傅里叶变换红外光谱仪 Nicolet 380 (美国尼高力公司)。Perkin—Elmer 2400 series 元素分析仪 (美国 Perkin—Elmer 公司), 质谱仪 (德国布鲁克公司)。能量优化及构象分析是在 SGI RZ4000 图形工作站借助 Tripos 公司提供 SYBYL 7.3 系统软件包完成。

收稿日期: 2011-12-11

作者简介: 苏培 (1968—), 女, 天津市人, 硕士在读, 副主任药师, 天津市第三医院药剂科主任, 主要从事医院药学工作。

Tel: 13132190977 E-mail: sixiannvm@163.com

*通讯作者 张彦文 Tel: (022)60357206 13821502680 E-mail: zyw19661968@126.com

薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱用硅胶 H, 均为青岛海洋化工厂产品, 其余试剂均为化学纯。

人急性早幼粒白血病细胞 (HL-60) 由天津医科大学免疫教研室提供。

2 方法

2.1 目标化合物的设计

将查耳酮 A 环以空间位阻大、疏水性强的叔丁基取代, 通过不断变换 B 环的取代基, 考察其对药理活性的影响。

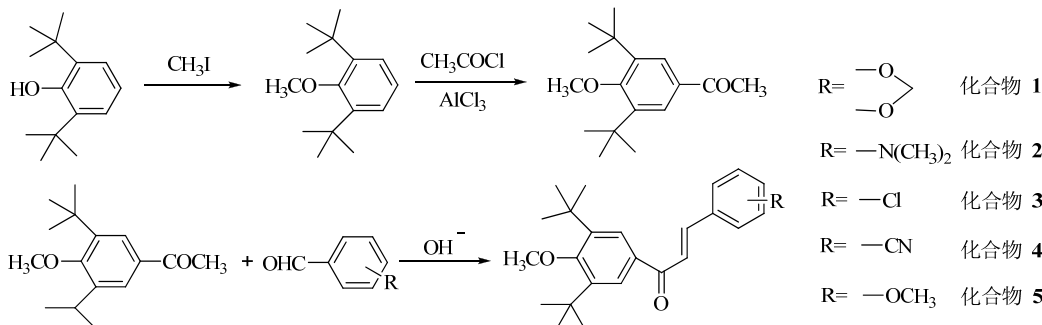


图1 查耳酮化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic routes of chalcone compounds

2.3 合成方法

2.3.1 2, 6-二叔丁基苯甲醚的合成 称取 26.93 g (481 mmol) 碾细的 KOH 于三颈瓶中, 加入 100 mL DMSO 搅拌 10 min, 再加入 2, 6-二叔丁基苯酚 24.76 g (120 mmol), 搅拌 0.5 h 后, 滴加硫酸二甲酯 15.14 g (120 mmol), 滴加温度为 18~25 °C。加毕, 保持 18 °C 反应 2 h, 加热至回流反应 1 h, 将反应液倒入冰水中, 用 10% HCl 调至 pH 值为 5, 乙醚萃取, 有机层用饱和食盐水洗 3 次, 无水 Na₂SO₄ 干燥过夜。滤过, 滤液浓缩, 得黄色油状物 20.34 g, 产率 76.93%。

2.3.2 3, 5-二叔丁基-4-甲氧基苯乙酮的合成 称取 2, 6-二叔丁基苯甲醚 11.02 g (50 mmol) 于三颈瓶中, 加入乙酰氯 10.7 mL (251 mmol), 冰盐冷却下维持 -5~0 °C 少量多次加入 14.20 g (106 mmol) 无水 AlCl₃。加毕, 冰浴反应约 2 h, 将反应液倾入冰水中, 搅拌, 有大量黄色粘块生成, 放置过夜, 抽滤, 滤饼水洗, 乙醇重结晶得棕黄色固体 11.45 g, 收率 87.28%。

2.3.3 3-(3, 4-二氧次甲基苯基)-1-(3, 5-二叔丁基-4-甲氧基苯基)-2-丙烯-1-酮 (化合物 1) 的合成 将 NaOH 0.20 g 加入到 10 mL 甲醇中, 搅拌溶解, 加入 3, 5-二叔丁基-4-甲氧基苯乙酮 0.263 g (1 mmol) 及胡椒醛 0.152 g (1 mmol), 室温搅拌反应 21 h, 溶液中出现固体, TLC 监测, 停止反应。10% 盐酸酸化, 抽滤得浅黄色固体, 水洗至中性, 丙酮重结

所设计目标化合物是图 1 查耳酮结构中取代基 R 分别为二氧次甲基 (化合物 1)、二甲氨基 (化合物 2)、氯原子 (化合物 3)、氢氰基 (化合物 4)、甲氧基 (化合物 5); 5 个化合物均为未见文献报道的新化合物。

2.2 合成线路的设计

本实验采用合成查耳酮的经典方法醛酮缩合反应^[9], 所用的酮从 2, 6-二叔丁基酚为原料开始合成, 而作为原料的醛可合成或直接购得。

晶, 得浅黄色晶体 0.20 g, 熔点 127~129 °C, 产率 50.69%。分别用对二甲胺基苯甲醛和茴香醛代替胡椒醛, 同法合成化合物 2 和 5。

2.3.4 3-(4-氯苯基)-1-(3, 5-二叔丁基-4-甲氧基苯基)-2-丙烯-1-酮 (化合物 3) 的合成 取 0.170 g (1.2 mmol) 对氯苯甲醛加入 12 mL 无水乙醇中, 在冰浴和搅拌下, 使之全部溶解后, 再加入 NaOH 0.20 g, 使之溶解。将温度升至室温, 再加入 3, 5-二叔丁基-4-甲氧基苯乙酮 0.263 g (1 mmol), 于 30~35 °C 下搅拌 3 h, 依据 TLC, 停止反应, 10% 盐酸酸化, 抽滤得浅黄色固体, 水洗至中性, 乙醇重结晶得橙色晶体 0.169 g, 熔点 78~79 °C, 产率 43.90%。用对氰基苯甲醛代替对氯苯甲醛, 同法合成化合物 4。

2.4 细胞毒实验方法

取对数生长期 HL-60 细胞, 用含 10% 胎牛血清的 RPM-1640 培养液制成单细胞悬液 5×10^4 个/mL, 接种于 96 孔培养板中, 每孔加入 180 μ L。培养 24 h 后, 加入受试药物, 使其终质量浓度为 30、10 μ g/mL。将平板在 37 °C、5% CO₂ 的温箱中孵育 3 d, 去除培养液。每孔加入含 0.5 mg/mL MTT 的 PBS 液 100 μ L, 37 °C 温育 4 h。弃上清液, 每孔加入 100 μ L DMSO, 于酶标仪 570 nm 处测吸光度 (A) 值, 并计算细胞增殖抑制率。

抑制率 = $1 - (\text{加药细胞 } A \text{ 值} / \text{对照细胞 } A \text{ 值})$

3 结果与讨论

3.1 化合物 1~5 的合成

本实验共合成了 5 个新化合物, 其结构均经红外光谱、氢谱和质谱确定。其分子式、物理常数、产率等数据见表 1。

实验发现, 含有活泼氢的不同醛酮之间的缩合反应较复杂, 会有多种产物, 催化所用的碱直接影响反应速率及产物的纯度。如文献报道^[10]取代苯甲醛与相应的酮缩合可采用六氢吡啶作催化剂, 分子筛回流除水, 产品仍复杂。而本实验仅依靠调节 NaOH 用量, 适当延长反应时间, 获得了良好的反应结果。

同时, 本实验考察了查耳酮类化合物合成过程中的取代基效应, 发现当 B 环上丙烯酮的邻、对位引入供电子基团时反应较难进行, 且产物复杂; 引入吸电子基团时反应较易进行, 后处理简单。

3.2 细胞毒实验结果

实验考察了 5 个化合物对 HL-60 细胞增殖的抑制率, 均呈现一定的细胞毒活性, 具体结果见表 2。

3.3 结构信息分析

在 Silicon Graphics IRIS Indigo RI4000 图形工作站上采用 SYBYL 7.3 软件对所合成的 5 个化合物进行了能量优化及构象分析, 除特殊指明外所有参

表 1 化合物 1~5 的物理常数及鉴定数据

Table 1 Physical constants and identification data of compounds 1—5

化合物	分子式	产率 / %	熔点 / °C	IR / cm ⁻¹	MS [M] ⁺	¹ H-NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)
1	C ₂₅ H ₃₀ O ₄	50.69	127~129	2 964, 2 913, 2 872, 1 657, 1 591, 1 497, 1 447, 1 365, 1 312, 1 261, 1 243, 1 205, 1 034, 929, 839, 806	393	1.39 (18H, s, <i>t</i> -Bu), 3.70 (3H, s, -OCH ₃), 7.70~8.03 (6H, m, Ar-H), 6.10, 7.61 (各 1H, d, <i>J</i> = 15.8 Hz, HC=CH), 5.38 (2H, s, -OCH ₂ -)
2	C ₂₆ H ₃₅ NO ₂	12.72	148~150	2 957, 2 910, 2 869, 1 641, 1 576, 1 548, 1 527, 1 369, 1 342, 1 208, 1 180, 1 113, 1 074, 815	392	1.32 (18H, s, <i>t</i> -Bu), 3.60 (3H, s, -OCH ₃), 7.22~8.04 (6H, m, ArH), 6.30, 7.50 (各 1H, d, <i>J</i> = 15.8 Hz, HC=CH), 3.36 (3H, s, -NCH ₃)
3	C ₂₄ H ₂₉ O ₂ Cl	43.90	78~79	3 008, 2 962, 2 912, 2 871, 1 662, 1 604, 1 565, 1 489, 1 402, 1 323, 1 207, 1 180, 820	384	1.38 (18H, s, <i>t</i> -Bu), 3.62 (3H, s, -OCH ₃), 7.19~8.10 (6H, m, Ar-H), 6.50, 6.98 (各 1H, d, <i>J</i> = 15.7 Hz, HC=CH)
4	C ₂₆ H ₃₁ NO ₂	13.87	181~182	3 006, 2 951, 2 913, 2 868, 2 225, 1 663, 1 605, 1 562, 1 508, 1 464, 1 331, 1 210, 829	388	1.40 (18H, s, <i>t</i> -Bu), 3.80 (3H, s, -OCH ₃), 7.58~8.00 (6H, m, ArH), 6.70, 7.42 (各 1H, d, <i>J</i> = 15.8 Hz, HC=CH)
5	C ₂₅ H ₃₂ O ₃	79.43	105~106	2 961, 2 869, 2 841, 1 657, 1 594, 1 569, 1 512, 1 255, 1 203, 1 111, 1 069, 821	379	1.42 (18H, s, <i>t</i> -Bu), 3.72 (3H, s, -OCH ₃), 7.52~8.00 (6H, m, Ar-H), 6.53, 7.50 (各 1H, d, <i>J</i> = 15.8 Hz, HC=CH)

表 2 细胞毒活性实验结果 (*n* = 6)

Table 2 Cytotoxicity test results (*n* = 6)

组别	ρ / (μg·mL ⁻¹)	<i>A</i>	抑制率 / %
对照	—	0.731 ± 0.029	—
化合物 1	30.00	0.336 ± 0.010***	54.04
	10.00	0.577 ± 0.018***	21.07
化合物 2	30.00	0.583 ± 0.011***	20.25
	10.00	0.655 ± 0.042**	10.40
化合物 3	30.00	0.591 ± 0.011***	20.14
	10.00	0.674 ± 0.029*	18.92
化合物 4	30.00	0.442 ± 0.017***	40.27
	10.00	0.633 ± 0.027***	14.46
化合物 5	30.00	0.511 ± 0.019***	40.94
	10.00	0.594 ± 0.009***	19.73

与对照组相比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001

P* < 0.05 *P* < 0.01 ****P* < 0.001 vs control group

数均为 SYBYL 缺省值。所有化合物的起始构象都是在 SYBYL 的“Build/Edit”下构建的,采用“系统搜寻法”进行构象搜寻,旋转每个单键,步长限定为 15°。并对获得的低能量构象进一步在 Tripos 力场中用 MAXIMIN2 程序进行能量优化,得到各化合物的最低能量构象,并将最低能量构象进行叠合;可以看出上述化合物分子在空间的走向与大小相互重叠,具有相似的药效构象,初步反映出与受体结合的部分区域。结合表 2 的结果,初步发现 A 环有较大疏水性的取代基取代,有利于抗肿瘤作用;B 环取代对分子共轭体系的影响较小,但以含氧功能基取代对活性较有利。文献报道^[11]丙烯酮的结构亦影响抗肿瘤活性,这些均可为指导新的抗肿瘤查耳酮分子的设计提供信息。本实验初步探索了在全新药设计方面进行计算机辅助设计、有机合成、生物活性检测“三位一体”的开发新先导化合物的途径。

参考文献

- [1] 陈季武,胡天喜,朱大元. 11 种黄酮化合物清除超氧阴离子的构效关系研究 [J]. 中国药学杂志, 2004, 37(1): 57-58.
- [2] 廖头根,汪秋安,方伟琴,等. 新型查耳酮类化合物的合成及其生物活性研究 [J]. 有机化学, 2006, 26(5): 685-689.
- [3] 张彦文. 查耳酮类化合物的药理作用和构效关系 [J]. 国外医学: 药学分册, 1996, 4: 218-223.
- [4] Hsu Y L, Kuo P L, Tzeng W S, *et al.* Chalcone inhibits the proliferation of human breast cancer cell by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(5): 704-713.
- [5] Rafi M M, Rosen R T, Vassil A, *et al.* Modulation of bcl-2 and cytotoxicity by licochalcone-A, a novel estrogenic flavonoid [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(4): 2653-2658.
- [6] Yamazaki S, Morita T, Endo H, *et al.* Isoliquiritigenin suppresses pulmonary metastasis of mouse renal cell carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2002, 183(1): 23-30.
- [7] Hsu Y L, Kuo P L, Lin C C, *et al.* Isoliquiritigenin induces apoptosis and cell cycle arrest through p53-dependent pathway in HepG2 cells [J]. *Life Sci*, 2005, 77(3): 279-292.
- [8] 王敏敏,黄 牛,杨光中,等. 维 A 类化合物的构效关系研究 (II) 维 A 类与受体结合作用的三维构效关系 [J]. 药学报, 1997, 32(1): 43-48.
- [9] 梅 林,龚大勇,熊 云,等. 查耳酮合成工艺的研究进展 [J]. 激光杂志, 2009, 30(1): 95-96.
- [10] Gupta R, Avinash V, Paul S, *et al.* Synthesis of chalcones and related enones [J]. *Ind Med Chem*, 1995, 34(1): 61-62.
- [11] Abe T, Morita H, Noma H, *et al.* Structure function analysis of benzalacetone synthase from *Rheum palmatum* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(11): 3161-3166.