

文章编号 1006-8147(2015)04-0282-05

论 著

新型酰胺类鬼臼毒素衍生物的合成及体外抗肿瘤活性

孙强稳^{1,2}, 王 杰¹, 陈守强¹, 牛 聪², 曹 波², 高 颖², 陈 虹^{1,2}

(1.天津医科大学药学院,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070;2.武警后勤学院生药学教研室,天津 300309)

摘要 目的:通过对鬼臼毒素母核进行结构改造,以获得高效、低毒、抗多药耐药的新型鬼臼毒素衍生物。方法:将4 β -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素的C-4位经酰胺化分别引入对位取代的苯甲酸和对位取代的肉桂酸化合物,得到4-甲酰基苯甲酸及4-甲酰基肉桂酸的鬼臼毒素类衍生物,通过MTT法筛选,并对K562和Hela细胞进行药理活性评价。结果:合成得到两个系列共8个化合物,所有化合物都经过HR-ESI-MS和¹HNMR验证,其中化合物1d、2b具有较强的体外抗肿瘤活性。结论:在C-4位引入4-甲酰基苯甲酸以及4-甲酰基肉桂酸基团可增加鬼臼毒素类衍生物的抗肿瘤活性。

关键词 鬼臼毒素衍生物;苯甲酸;肉桂酸;体外抗肿瘤活性

中图分类号 R9

文献标志码 A

Synthesis and evaluation of novel podophyllotoxin derivatives as potential antitumor agents

SUN Qiang-wen^{1,2}, WANG Jie¹, CHEN Shou-qiang¹, NIU Cong², CAO Bo², GAO Ying², CHEN Hong^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmacognosy, Logistic University of PAPF, Tianjin 300309, China)

Abstract Objective: To obtain novel podophyllotoxin derivatives with higher efficiency, lower toxicity and anti-multi-drug resistance.

Methods: Derivatives of 4-formyl benzoic acid and 4-formyl cinnamic acid in C-4 position of 4 β -amino-pipodophyllotoxin were introduced; Hela cells and K562 were used to evaluate pharmacological activity *in vitro*. **Results:** Eight compounds by different methods were obtained, and all compounds were confirmed by MS and ¹HNMR validation. The compounds 1b, 1d, 2a and 2b had a good drug resistance in both Hela and K562 cell line. **Conclusion:** At C-4 position, podophyllotoxin introduced 4-formyl-benzoyl derivatives and 4-formyl-cinnamic acid derivatives can increase antitumor activities.

Key words podophyllotoxin; benzoic acid; cinnamic acid; antitumor activity *in vitro*

鬼臼毒素(podophyllotoxin)及相关木脂素是一类具有显著细胞毒性的天然活性物质,主要来源于小檗科的八角莲属(dysosma)、桃儿七属(podophyllum)和山荷叶属(diphylla)及大麻科和柏科的少数科属中^[1]。在我国的青海、甘肃、四川西部、西藏和台湾等地分布较多^[2]。鬼臼素类化合物具有良好的抗肿瘤活性,其合成衍生物依托泊苷和替尼泊苷已在临床长期广泛应用。据文献报道,鬼臼毒素类化合物主要有两种细胞毒作用机制:(1)抑制拓扑异构酶Ⅱ的活性;(2)抑制微管组装^[3-4]。然而,大量的临床应用显示,这类化合物存在水溶性差、多药耐药、骨髓抑制以及严重的胃肠道反应^[5]等

缺点。为了获得高效、低毒、抗多药耐药且具有作用于肿瘤细胞的多靶点的新型鬼臼毒素衍生物,本课题组多年来一直致力于新型鬼臼毒素衍生物的研究,大量的构效关系表明,鬼臼类抗肿瘤药物的最佳修饰点在C-4位^[6-7],4-甲酰基肉桂酸和4-甲酰基苯甲酸是常见的有机合成中间体,并且存在于许多药物的分子结构中,本课题组在前期研究的基础上,根据药物拼合原理,将4-甲酰基肉桂酸^[8-10]和4-甲酰基苯甲酸与氨基鬼臼通过酰胺键连接,设计合成了两个系列,共8个化合物,以期获得抗肿瘤活性优于依托泊苷的新型鬼臼毒素类衍生物。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂 XT显微熔点仪;高分辨质谱仪:Agilent 6210 LC-TOF, Bruker Advance 2B/400 (Bruker, Bremen, Germany), Varian Mercury Vx300 (Varian, Palo Alto, CA, USA);98%纯度的鬼臼毒素

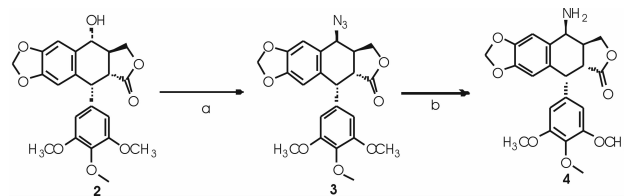
基金项目 国家自然科学基金资助项目(30873363);天津市应用基础项目基金资助(08JCYBJC070000)

作者简介 孙强稳(1990-),男,硕士在读,研究方向:天然产物结构改造;通信作者:陈虹,E-mail: chen hongtian06@163.com。

购自上海金和生物技术有限公司;HOBT,EDCI 盐酸盐;DMF(分子筛干燥);无水 CH_2Cl_2 (钠块回流干燥);无水甲醇(镁粉回流干燥);其余试剂均为市售的分析纯或化学纯。VP-16:江苏恒瑞医药股份有限公司,产品批号:09090731。

1.2 合成方法

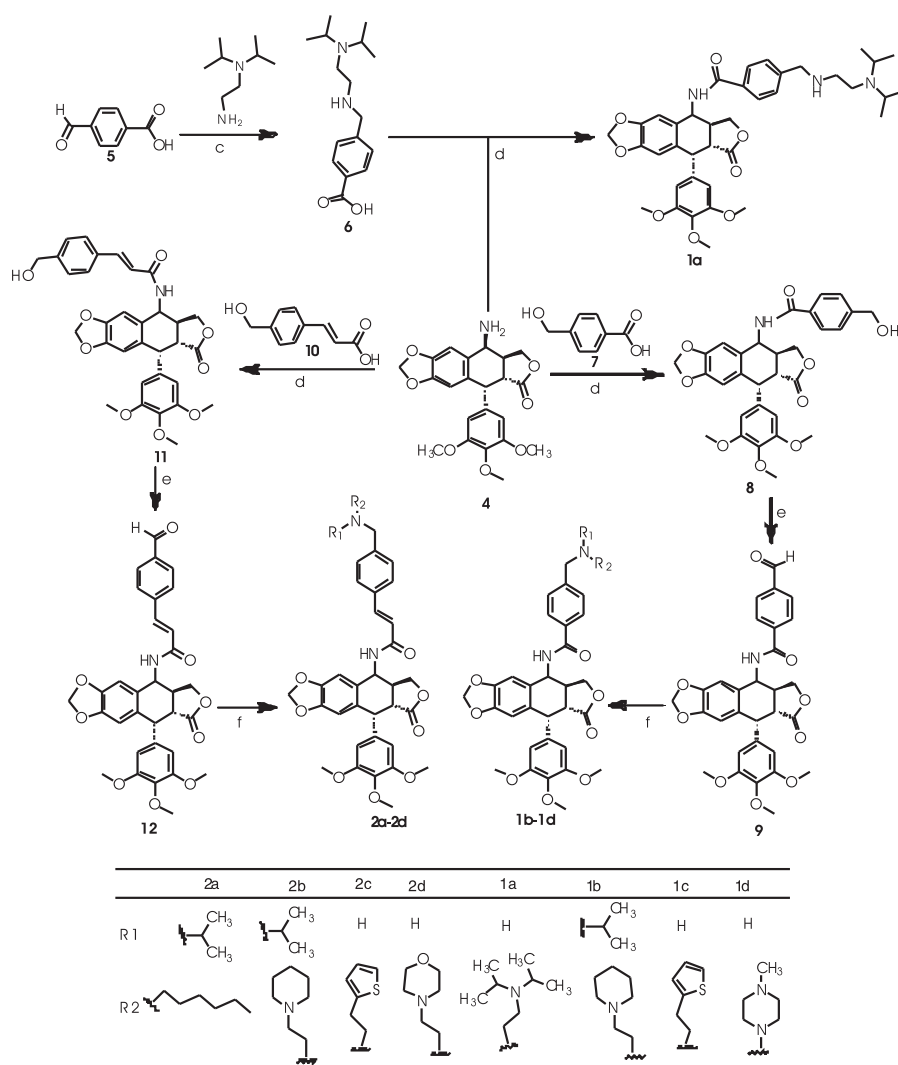
1.2.1 合成路线 (1)相关中间体的合成路线如图1。(2)目标化合物的合成路线如图2。



反应条件:(a) NaN_3 , CF_3COOH , CH_2Cl_2 ; (b) HCOONH_4 , 10% Pd/C , $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$, Reflux.

图1 相关中间体2、3、4化合物的合成路线

Fig 1 Schematic route of 2, 3, 4 compounds



反应条件:(c) CH_3OH , HAC ; NaBH_4 ; (d) HOBT, EDCI, CH_2Cl_2 ; (e) MnO_2 , CH_2Cl_2 ; (f) HAC , NaBH_3CN , CH_3OH

图2 化合物1a-1d, 2a-2d的合成路线

Fig 2 Schematic route of 1a-1d, 2a-2d compounds

1.2.2 4 β -叠氨基-4-脱氧表鬼臼毒素的合成 将4 β -叠氨基-4-脱氧表鬼臼毒素 4.14 g (10 mmol)溶于 50 mL 干燥 CH_2Cl_2 中,加入叠氮钠 2.60 g (40 mmol),搅拌使其溶解,于冰浴下缓慢滴加 10 mL 三氟乙酸,40 $^{\circ}\text{C}$ 回流 4 h。TLC 检测反应完毕,冰浴加入饱和碳酸氢钠溶液至无气泡,萃取分出有机层,

减压干燥,粗品经 CH_2Cl_2 : $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ (v/v=1:1)重结晶,得白色晶体 3.99 g,收率 91%。

1.2.3 4 β -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素的合成 将4 β -叠氨基-4-脱氧表鬼臼毒素 4.39 g (10 mmol)溶于 50 mL 乙酸乙酯中,依次加入 10%钯碳 400 mg,甲酸铵 2.52 g (40 mmol),55 $^{\circ}\text{C}$ 加热回流,搅拌反应

4 h, TLC 检测反应完全, 过滤, 滤液用饱和食盐水洗 3 次, 减压干燥得白色泡沫状粗产物 3.63 g, 收率 83%, 粗品可直接用于下一步反应。

1.2.4 化合物 1a 的合成 将 1 mmol 4-甲酰基苯甲酸和 1.2 mmol N,N-二异丙基乙二胺溶于 20 mL 无水 CH_3OH , 滴加 7 滴冰醋酸, 室温反应 12 h 后, 冰浴下加入 5 mmol 硼氢化钠反应 6 h, 薄层色谱检测反应完全, 调节 pH 约至 2~3, 有机溶剂萃取, 减压干燥得化合物 6(图 2)的盐酸盐混合物, 直接进入下一步反应; 取 1 mmol 化合物 6 的粗品溶于 20 mL 的干燥二氯甲烷中, 冰浴下加入 1.2 倍量的 HOBt 和 EDCI 盐酸盐, 反应 30 min 后, 加入 1 mmol 4 β -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素, 常温反应 8 h, 依次用 5% HCl 溶液、饱和 NaHCO_3 溶液以及饱和食盐水溶液洗涤 1 次, 减压干燥, 经柱层析分离得化合物 1a。

1.2.5 化合物 1b 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 7(图 2)置于 20 mL 的干燥 CH_2Cl_2 中, 冰浴下加入 1.2 倍量的 HOBt 和 EDCI 盐酸盐, 反应 30 min 后, 加入 1 mmol 的氨基鬼臼, 置于常温反应 8 h, 依次用 5% HCl 溶液、饱和 NaHCO_3 溶液以及饱和食盐水溶液洗涤 1 次, 用无水硫酸钠干燥有机层, 减压蒸干, 经柱层析分离, 得化合物 8(图 2); 将 1 mmol 化合物 8 溶于 20 mL 干燥 CH_2Cl_2 中, 加入 10 倍量活性 MnO_2 , 室温反应 0.5 h, 反应完毕, 抽滤, 滤液旋干得白色固体化合物 9(图 2); 将 1 mmol 化合物 9 和 1.2 mmol 1-哌啶-2-乙胺溶于 20 mL 无水甲醇中, 滴加 1 mL 丙酮和 0.5 mL 冰醋酸, 常温缓慢加入 1.5 倍量 NaBH_3CN , 反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 1b。

1.2.6 化合物 1c 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 9 和 1.2 mmol 噻唑-2-乙胺溶于 20 mL 无水 CH_3OH , 滴加 0.5 mL 冰醋酸, 常温缓慢加入 5 倍量 NaBH_3CN , 常温反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 1c。

1.2.7 化合物 1d 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 9 和 1.2 mmol N-甲基哌嗪溶于 20 mL 无水 CH_3OH , 滴加 0.5 mL 冰醋酸, 常温缓慢加入 1.5 倍量 NaBH_3CN , 反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 1d。

1.2.8 化合物 2a 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 10(图 2)置于 20 mL 的干燥 CH_2Cl_2 溶液中, 冰浴下加入 1.2 倍量的 HOBt 和 EDCI 盐酸盐, 反应 30 min

后, 加入 1 mmol 的氨基鬼臼, 置于常温反应 8 h, 依次用 5% 的 HCl 溶液、饱和碳酸氢钠溶液以及饱和食盐水洗涤 1 次, 减压蒸干, 经柱层析分离, 得化合物 11(图 2); 将 1 mmol 化合物 11 溶于 20 mL 无水 CH_2Cl_2 中, 加入 10 倍量活性 MnO_2 , 室温反应 0.5 h, 反应完全, 抽滤, 滤液旋干得白色固体化合物 12(图 2); 将 1 mmol 化合物 12 和 1.2 mmol 己胺溶于 20 mL 无水甲醇中, 滴加 1 mL 丙酮和 0.5 mL 冰醋酸, 缓慢加入 1.5 倍量 NaBH_3CN , 室温反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 2a。

1.2.9 化合物 2b 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 12(图 2)和 1.2 mmol 1-胺乙基哌啶溶于 20 mL 无水 CH_3OH , 滴加 0.5 mL 冰醋酸, 缓慢加入 1.5 倍量氰基硼氢化钠, 室温反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH 7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 2b。

1.2.10 化合物 2c 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 12 和 1.2 mmol 2-胺乙基噻唑溶于 20 mL 无水 CH_3OH , 滴加 0.5 mL 冰醋酸, 缓慢加入 1.5 倍量 NaBH_3CN , 室温反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 2c。

1.2.11 化合物 2d 的合成 将 1.2 mmol 的化合物 12 和 1.2 mmol N-胺乙基吗啉溶于 20 mL 无水 CH_3OH , 滴加 0.5 mL 冰醋酸, 缓慢加入 1.5 倍量 NaBH_3CN , 室温反应 30 min, 薄层色谱检测, 待反应完全后, 调节 pH 7, 有白色沉淀析出, 抽滤, 将固体经柱层析分离, 得化合物 2d。

1.3 MTT 法检测体外抗肿瘤活性 取对数生长期的 Hela 及 K562 细胞接种于 96 孔培养板内, 每孔约含 4 000 个细胞, 置 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 细胞培养箱中培养。24 h 后给药组加入待测药物, 每组设 3 个平行孔, 阴性对照组加入与给药组等体积的溶剂, 共孵育 48 h 后弃培养液, 每孔加 50 μL 1 mg/mL MTT 的 PBS 溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h, 弃上清, 每孔加入 150 μL DMSO 溶解甲臞颗粒, 轻度振荡溶解。以酶标仪 490 nm 下测定光密度值, 用下面公式计算化合物对细胞生长的抑制率, 并以 SPSS13.0 统计软件计算 IC_{50} 值, 实验平行 3 次。

抑制率 = (阴性对照组 OD 值 - 加药组 OD 值) / (阴性对照组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) $\times 100\%$

1.4 统计学方法 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 化合物的表征数据

1a: 白色固体, 产率 35%, m.p.145~146 °C; ¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ7.73 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-2'', 5''), 7.42 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.81 (s, 1H, H-5), 6.53 (s, 1H, H-8), 6.32 (s, 2H, H-2', 5'), 6.01-5.94 (s, 2H, H-OCH₂O-), 5.43 (dd, *J*=6.9, 4.4Hz, 1H, H-4), 4.63 (d, *J*=4.8Hz, 1H, H-1), 4.50 (m, 1H, H-11), 3.95-3.87 (m, 1H, H-11), 3.86 (s, 2H, H-Ar-CH₂), 3.81 (s, 3H, H-4'), 3.76 (s, 6H, H-3', 5'), 3.06 (m, 2H, H-2, 3), 2.68 (s, 2H, H-2CH-), 2.11-1.92 (m, 4H, H-NCH₂CH₂N-), 1.06 (d, *J*=6.6Hz, 12H, H-2C (CH₃)₂); HR-ESI-MS: *m/z* 674.3436 for [M+H]⁺ (calcd for C₃₈H₄₈N₃O₈⁺, 674.3436)。

1b: 白色固体, 产率 33%, m.p.173~174 °C; ¹HNMR (400MHz, CDCl₃) δ7.70 (d, *J*=8.3Hz, 2H, H-2'', 5''), 7.43 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.82 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 6.31 (s, 2H, H-2', 5'), 5.98 (dd, *J*=7.8, 1.2Hz, 2H, -OCH₂O-), 5.43 (dd, *J*=7.0, 4.2Hz, 1H, H-4), 4.62 (d, *J*=4.5Hz, 1H, H-1), 4.50 (dd, *J*=9.2, 6.9Hz, 1H, H-11), 3.93 (dd, *J*=25.3, 15.9Hz, 1H, H-11), 3.81 (s, 3H, H-4'), 3.76 (s, 6H, H-3', 5'), 3.63 (s, 2H, Ar-CH₂), 3.10-2.93 (m, 2H, H-2, 3), 2.89 (m, 1H, N-CH-), 2.70-2.51 (m, 2H, H-2'''), 2.38 (dd, *J*=9.1, 6.2Hz, 6H, H-2'', 6'', 1'''), 1.66-1.53 (m, 4H, H-3''', 5'''), 1.42 (s, 2H, H-4'''), 1.05-0.93 (m, 6H, -C (CH₃)₂); HR-ESI-MS: *m/z* 700.3601 for [M+H]⁺ (calcd for C₄₀H₅₀N₃O₈⁺, 700.3592)。

1c: 白色固体, 产率 41%, m.p.156~157 °C; ¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ7.70 (d, *J*=8.3Hz, 2H, H-2'', 5''), 7.37 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-3'', 4''), 7.13 (dd, *J*=5.1, 1.2Hz, 1H, 5'''), 6.92 (dd, *J*=5.1, 3.4Hz, 1H, 4'''), 6.82 (d, *J*=3.4Hz, 1H, H-3'''), 6.81 (d, *J*=3.5Hz, 1H, H-5), 6.54 (s, 1H, H-8), 6.29 (s, 2H, H-2', 5'), 5.98 (dd, *J*=5.3, 1.2Hz, 2H, H-OCH₂O-), 5.41 (dd, *J*=6.8, 4.3Hz, 1H, H-4), 4.62 (d, *J*=4.7Hz, 1H, H-1), 4.49 (dd, *J*=9.1, 7.1Hz, 1H, H-11), 4.09 (m, 1H, H-11), 3.83 (m, 3H, H-4', H-N-CH₂-Ar), 3.80 (s, 3H, H-4'), 3.75 (s, 6H, H-3', 5'), 3.04 (t, *J*=6.7Hz, 2H, H-2, 3), 2.99-2.85 (m, 4H, H-NCH₂CH₂-); HR-ESI-MS: *m/z* 657.2279 for [M+H]⁺ (calcd for C₃₆H₃₇N₂O₈S⁺, 657.2265)。

1d: 白色固体, 产率 42%, m.p.181~182 °C; ¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ7.77-7.61 (m, 2H, Ar), 7.37 (t, *J*=7.3Hz, 2H, Ar), 6.79 (s, 1H, H-5), 6.47 (d,

J=19.8Hz, 1H, H-8), 6.29 (s, 2H, H-2', 5'), 5.95 (dd, *J*=6.9, 1.0Hz, 2H, -OCH₂O-), 5.42 (d, *J*=3.6Hz, 1H, H-4), 4.59 (d, *J*=3.2Hz, 1H, H-1), 4.51-4.38 (m, 1H, H-11), 3.93-3.82 (m, 1H, H-11), 3.81-3.75 (m, 3H, H-4'), 3.74 (s, 6H, H-3', 5'), 3.58 (s, 2H, N-CH₂-Ar), 3.02 (d, *J*=9.6Hz, 2H, H-2, 3), 2.77 (d, *J*=36.2Hz, 4H), 2.59 (d, *J*=18.1Hz, 4H), 2.54 (s, 3H, N-CH₃); HR-ESI-MS: *m/z* 630.2846 for [M+H]⁺ (calcd for C₃₅H₄₀N₃O₈⁺, 630.2810)。

2a: 白色固体, 产率 37%, m.p.138~140 °C; ¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ7.65 (d, *J*=15.5Hz, 1H, H-HC=), 7.40 (d, *J*=8.3Hz, 2H, H-2'', 5''), 7.34 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.80 (s, 1H, H-5), 6.50 (s, 1H, H-8), 6.40 (d, *J*=15.5Hz, 1H, H-CH=), 6.27 (s, 2H, H-2', 5'), 5.95 (d, *J*=1.1Hz, 1H, -OCH₂O-), 5.91 (d, *J*=1.1Hz, 1H, -OCH₂O-), 5.37 (dd, *J*=7.2, 3.8Hz, 1H, H-4), 4.55 (d, *J*=4.1Hz, 1H, H-1), 4.50-4.36 (m, 1H, H-11), 3.88 (t, *J*=9.6Hz, 1H, H-11), 3.78 (s, 3H, H-4'), 3.72 (s, 6H, H-3', 5'), 3.54 (s, 2H, Ar-CH₂), 3.06-2.95 (m, 2H, H-2, 3), 2.92 (m, 1H, H-N-CH-), 2.42-2.29 (m, 2H, H-1'''), 1.37 (s, 2H, H-2'''), 1.22 (dt, *J*=10.5, 3.5Hz, 6H, H-3''', 4''', 5'''), 0.97 (dd, *J*=18.7, 7.0Hz, 6H, H-(CH₃)₂), 0.84 (t, *J*=6.7Hz, 3H, H-6'''); HR-ESI-MS: *m/z* 684.3159 for [M+H]⁺ (calcd for C₄₀H₄₈FN₂O₈⁺, 684.3144)。

2b: 白色固体, 产率 39%, m.p.147~149 °C; ¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ7.64 (d, *J*=15.6Hz, 1H, H-HC=), 7.40 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-2'', 5''), 7.32 (d, *J*=8.2Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.80 (s, 1H, H-5), 6.47 (s, 1H, H-8), 6.42 (d, *J*=15.6Hz, 1H, H-HC=), 6.27 (s, 2H, H-2', 5'), 5.95 (d, *J*=1.1Hz, 1H, H-OCH₂O-), 5.92 (d, *J*=1.1Hz, 1H, H-OCH₂O-), 5.37 (d, *J*=3.9Hz, 1H, H-4), 4.56 (d, *J*=3.5Hz, 1H, H-1), 4.48-4.38 (m, 1H, H-11), 3.8 (dd, *J*=12.4, 7.4Hz, 1H, H-11), 3.77 (d, *J*=3.7Hz, 3H, H-4'), 3.73 (s, 6H, H-3', 5'), 3.57 (s, 2H, H-Ar-CH₂), 2.99 (d, *J*=10.8Hz, 2H, H-2, 3), 2.9 (m, 1H, N-CH(CH₃)₂), 2.62 (dd, *J*=9.2, 5.9Hz, 2H, H-2'''), 2.40 (dd, *J*=8.9, 5.8Hz, 6H, H-2''', 6'', 1'''), 1.57 (dd, *J*=10.7, 5.4Hz, 4H, H-3''', 5'''), 1.41 (d, *J*=4.4Hz, 2H, H-4'''), 1.01 (d, *J*=6.6Hz, 6H, H-(CH₃)₂); R-ESI-MS: *m/z* 726.3767 for [M+H]⁺ (calcd for C₄₂H₅₂N₃O₈⁺, 726.3749)。

2c: 白色固体, 产率 38%, m.p.165~167 °C; ¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ7.41 (d, *J*=15.6Hz, 1H, H-HC=), 7.34 (d, *J*=7.8Hz, 2H, H-2'', 5''), 7.27 (d, *J*=

9.5Hz, 2H, H-3'', 4'), 7.10(d, $J=5.0$ Hz, 1H, 5'''), 6.86(dd, $J=10.4, 5.5$ Hz, 3H, H-5, 3'', 4'''), 6.43(s, 1H, H-8), 6.44(d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-HC=), 6.27(s, 2H, H-2', 5), 5.89(d, $J=12.2$ Hz, 2H, -OCH₂O-), 5.34(s, 1H, H-4), 4.55(s, 1H, H-1), 4.36(s, 1H, H-11), 3.90(m, 3H, H-11, H-NCH₂-Ar), 3.71(d, $J=8.4$ Hz, 9H, H-3', 4', 5'), 3.12(m, $J=6.4$ Hz, 6H, H-2, 3, N-CH₂CH₂-); HR-ESI-MS: m/z 683.2433 for [M+H]⁺(calcd for C₃₇H₃₈N₂O₈⁺, 683.2422)。

2d: 白色固体, 产率 30%, m.p. 172~173 °C; ¹HNMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.58(d, $J=15.5$ Hz, 1H, H-HC=), 7.42(d, $J=8.1$ Hz, 2H, H-Ar), 7.33(d, $J=8.1$ Hz, 2H, H-Ar), 6.79(s, 1H, H-5), 6.53-6.45(d, 15.5, 1H, H-HC=), 6.44(s, 1H, H-8), 6.27(s, 2H, H-2'', 5''), 5.92(d, $J=11.9$ Hz, 2H, H-OCH₂CH₂O-), 5.36(dd, $J=7.4, 4.4$ Hz, 1H, H-4), 4.54(d, $J=4.6$ Hz, 1H, H-1), 4.39(t, $J=8.0$ Hz, 1H, H-11), 3.86(d, $J=12.1$ Hz, 3H, H-4, -NCH₂-Ar), 3.74(d, $J=4.3$ Hz, 3H, H-4'), 3.71(s, 6H, H-3', 5'), 3.67-3.61(m, 4H, -CH₂-N-CH₂-), 3.14-2.99(m, 2H, H-2, 3), 2.77(t, $J=5.6$ Hz, 2H, N-CH₂CH₂-), 2.53(t, $J=5.7$ Hz, 2H), 2.39(s, 4H, H-CH₂-O-CH₂)。HR-ESI-MS: m/z 686.3090 [M+H]⁺(calcd for C₃₈H₄₄N₃O₉⁺, 686.3072)。

2.2 细胞毒性测定 所测试的 8 个化合物均显示出不同程度的抑制 Hela 和抗 K562 的生长作用, 其中 1d 和 2b 活性较强, 且优于阳性对照药物依托泊苷 (VP-16)。见表 1。

表 1 目标化合物对 Hela 和 K562 细胞增殖的抑制活性($\bar{x} \pm s, n=3$)
Tab 1 Inhibitory activity of target compounds against Hela cell and K562 proliferation($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物	IC ₅₀ /(μmol/L)	
	K562	Hela
1a	>100	>100
1b	49.26	5.47
1c	>100	7.16
1d	10.9	3.36
2a	3.09	82.4
2b	3.01	1.56
2c	5.34	>100
2d	>100	4.78
VP-16	19.5	5.98

3 讨论

3.1 合成方法 根据化学合成中的逆推法, 计划采

用 3 种合成目标产物的方法, 首先, 由于 4-甲酰基苯甲酸和 4-甲酰基肉桂酸类化合物的甲酰基比较活泼, 其羧基不能和氨基直接成酰胺, 经缩合剂法或酰氯法成酰胺都失败, 故选择化合物 7 和 10 为原料; 其次, 考虑如图 2 所示合成化合物 1a 的方法, 由于中间体 6 属于氨基酸具有两性(酸性和碱性), 既能溶于酸又能溶于碱, 另外此类化合物具有溶解性差、不易分离以及反应复杂的特点, 因而多次实验失败。最后设计如图 2 中所示路线, 在氰基硼氢化钠的催化下经还原胺化, 采用“一锅法”成功地合成仲胺和叔胺, 其反应条件温和, 后处理简单, 产率高。

3.2 构效关系 化合物 1d 与 2b 比较, 2b 的活性较好, 推测引入肉桂酰基具有较好的生物活性; 化合物 1d, 2b 对 Hella 和 K562 均显示较好的活性, 提示引入异丙基可能提高细胞毒活性。以上两个系列化合物的构效关系正在进一步研究中。

参考文献:

- [1] 刘长军, 侯嵩生. 抗癌活性物质鬼臼类木脂素的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(3): 81
- [2] 陈毓亨. 我国鬼臼类植物资源的研究[J]. 药学报, 1979, 14(2): 101
- [3] Lautens M, Fang Y Q. Synthesis of novel tetracycles via an intramolecular heck reaction with anti-hydride elimination[J]. Org Lett, 2003, 5(20): 3679
- [4] Kamal A, Tamboli J R, Vishnuvardhan M V, et al. Synthesis and anticancer activity of heteroaromatic linked 4β-amidopodophyllotoxins as apoptotic inducing agents[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23(1): 273
- [5] Zhang Z H, Zhang L M, Luo G, et al. Synthesis and biological evaluation of novel podophyllotoxin analogs as antitumor agents[J]. J Asian Nat Prod Res, 2014, 16(5): 527
- [6] Cho S J, Tropsha A, Suffness M, et al. Antitumor agents. 163. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship study of 4'-O-demethylepipodophyllotoxin analogs using the modified CoMFA/q2-GRS approach[J]. Med Chem, 1996, 39(7): 1383
- [7] Cheng W H, Cao B, Shang H, et al. Synthesis and evaluation of novel podophyllotoxin derivatives as potential antitumor agents[J]. Eur J Med Chem, 2014, 85: 498
- [8] 蒋卫华, 崔爱军. 肉桂酸合成方法研究进展[J]. 精细石油化工进展, 2013, 14(2): 34
- [9] 段华鑫, 张殊佳, 周鹏. 喜树碱肉桂酸衍生物的合成及其抗肿瘤活性的研究[J]. 有机化学, 2009, 29(5): 724
- [10] 卢娟, 汪晖, 卢方安. 肉桂酸对胃腺癌细胞诱导分化的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(2): 237

(2014-11-04 收稿)