熊果酸-3'-取代丙醇酯衍生物的合成及抗肿瘤活性研究

李霞^a 白雪^a 吴科^a 王裕军^a 石万棋^b
李颖^{*,a} 尹述凡^{*,a}^(a) 四川大学化学学院 成都 610064^(b) 四川国康药业有限公司 成都 610041

摘要 熊果酸与 1,3-二溴丙烷反应制得中间体熊果酸-3'-溴代丙醇酯(**1**), 含溴醇酯 **1** 与含氮化合物反应, 合成了系列熊果酸含氮衍生物 **2a~2j**, 均未见文献报道, 其结构经 ¹H NMR, ¹³C NMR, IR, MS 确认. 初步的抗肿瘤生物活性研究表明, 部分化合物的抗肿瘤活性与熊果酸相比均有提高, 其中化合物 **2e** 具有更强的抑制活性.

关键词 熊果酸; 3'-溴代丙醇酯; 合成; 抗肿瘤

Synthesis and Antitumor Activities of 3'-Substituted Propanolursolates

Li, Xia^a Bai, Xue^a Wu, Ke^a Wang, Yujun^a Shi, Wangqi^b Li, Ying^{*,a}
Yin, Shufan^{*,a}^(a) College of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610064^(b) Sichuan Guokang Pharmaceutical Co., Ltd, Chengdu 610041

Abstract 3'-Substituted propanolursolates (**1**) were obtained by a reaction of ursolic acid with trimethylene bromide. This intermediate reacted with several N-containing compounds to afford a series of new derivatives **2a~2j**. The structures of new products were characterized by means of ¹H NMR, ¹³C NMR, IR and MS techniques. The preliminary bioassay test shows that several compounds give a good antitumor activity, and most of them are better than that of parent ursolic acid. Among them, compound **2e** shows the best activity.

Keywords ursolic acid; 3'-substituted propanolursolate; synthesis; antitumor activity

熊果酸(UA)化学名 3β-羟基-熊果-12-烯-28-酸, 是一种广泛存在于自然界中的五环三萜化合物, 具有抗肝炎、保肝、抗炎、抗艾滋病病毒、降血糖及抗肿瘤等丰富的生物活性^[1], 且副作用小、毒性低, 具有较大的临床应用潜力. 特别是其抗炎^[2]、抗肿瘤活性及其作用机制更是受到重视并开展了相关的研究^[3~7]. 研究表明, 熊果酸不仅可以抵抗多种致肿瘤物、促肿瘤物, 而且可以抑制多种恶性肿瘤细胞的生长, 有望成为低毒、高效的新型抗肿瘤药物. 由于熊果酸自身作用强度较弱, 加上其水溶性和脂溶性均较差, 生物利用率也低, 限制了其在临床上的应用. 因此有必要对熊果酸的结构进行化学修饰, 以期得到活性更高、毒性更小的新药. 本文在既往研究的基础上, 通过在熊果酸结构中引入类氨基醇结构的含氮分子片段, 合成了十个新型熊果酸-3'-取代丙

醇酯类衍生物(Scheme 1), 并对所得目标化合物进行了 NCI-H1975, MCF-7, SMMC-7721, HepG2, A549 和 SKOV3 细胞的抑制活性试验. 结果表明新化合物均具有不同程度的抗肿瘤活性, 且部分化合物抑制活性强于熊果酸, 其中化合物 **2e** 具有更强的抑制活性. 所合成的十个新化合物均未见文献报道, 并经过 HRMS, IR, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 表征确证其结构, 合成路线见 Scheme 1.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

IR 用 Perkin-Elmer 16PC-FT 型红外分光光度计测定 (KBr 压片); ¹H NMR, ¹³C NMR 用 Bruker VA-400 磁共振

* E-mail: chuandayouji217@163.com

Received September 25, 2011; revised November 29, 2011; published online December 23, 2011.

Scheme 1

仪测定, TMS 作内标, CDCl_3 作溶剂; MS 用 Finnigan LCQDECA 和 Bruker Daltonics ESI-BioTOF Q(用内标法测定高分辨质谱)测定; 熔点用 Yanaco 显微熔点测定仪测定(温度计未经校正)。

所用试剂和溶剂均为市售分析纯或化学纯, 除特别说明外, 未进一步处理; 硅胶 H 和 G: 青岛海洋化工厂生产, 未经活化。熊果酸: 西安江兴生物科技有限公司提供, 纯度为 95%或以上; 哌嗪: 天津市科密欧化学试剂开发中心; *N*-甲基苯胺: 上海金山亭新化工试剂厂。六氢吡啶, 吗啉: 成都科龙化工试剂厂; 咪唑, 5-氟尿嘧啶: 爱斯特(成都)医药技术有限公司。

1.2 合成

1.2.1 熊果酸 3'-溴代丙醇酯(1)的合成

于 100 mL 圆底烧瓶中依次加入熊果酸 4.65 g (10

mmol), 碳酸钾 2.76 g (20 mmol), 碘化钾 0.05 g, DMF 40 mL, 4 mL 三乙胺, 1,3-二溴丙烷 4.04 g (20 mmol), 60 °C 搅拌 3.5 h, 反应完毕后冷却至室温, 加入 120 mL 水, 析出白色固体, 抽滤得到粗品, 柱层析纯化[$V(\text{乙酸乙酯})=4:1$], 得到目标化合物 **1**。产率 42%, 白色固体, m.p. 78~79 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.76 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J=6.4$ Hz, 3H, CH_3), 0.94 (t, $J=6.2$ Hz, 2- CH_3), 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.08 (s, 3H, CH_3), 1.21~1.72 (m, 18H, 7 CH_2 +4CH), 1.73~1.83 (m, 1H, H-11), 1.92 (dd, $J=3.5, 8.8$ Hz, 2H, CH_2), 1.96~2.05 (m, 1H, H-11), 2.11~2.18 (m, 2H, H-22), 2.21 (d, $J=11.48$ Hz, 1H, H-18), 3.21 (dd, $J=5.1, 10.9$ Hz, 1H, H-3), 3.46 (t, $J=6.5$ Hz, 2H, CH_2Br), 4.05~4.19 (m, 2H, OCH_2), 5.24 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12); ^{13}C

NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.34, 138.28, 125.65, 79.02, 61.80, 55.23, 52.94, 48.21, 39.08, 36.76, 28.15, 24.25; IR (KBr) ν : 3377, 2927, 2868, 1720, 1454, 1229 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{BrO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 577.3206, found 577.3381.

1.2.2 熊果酸-3'-取代丙醇酯衍生物 **2a**~**2g** 的合成

于 25 mL 圆底烧瓶中依次加入 **1** 0.5 g (0.85 mmol), 碳酸钾 0.35 g (2.55 mmol), 碘化钾少量, DMF 5 mL, 5 滴三乙胺, 伯胺类化合物 (1.7 mmol), 60 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应, TCL 跟踪反应. 反应完毕后, 冷却至室温, 加入 20 mL 水, 析出白色固体, 抽滤, 得到白色粗产物, 用硅胶柱层析纯化, 得到目标化合物 **2a**, 同法制得 **2b**~**2g**.

2a: 白色絮状固体, 产率 73%. m.p. 91~93 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.74 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J=6.0$ Hz, 3H, CH_3), 0.91 (s, 3H, CH_3), 0.94 (s, 3H, CH_3), 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.08 (s, 3H, CH_3), 1.25~1.68 (m, 30H, $13\text{CH}_2+4\text{CH}$), 1.84~2.02 (m, 6H, 3NCH_2), 2.21 (d, $J=11.43$ Hz, 1H, H-18), 3.21 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 3.99~4.06 (m, 2H, OCH_2), 5.25 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.58, 138.24, 125.52, 78.93, 62.89, 55.23, 52.79, 49.40, 38.74, 36.75, 33.03, 28.15, 24.22; IR (KBr) ν : 3546, 2923, 2862, 2769, 1705, 1646, 1456, 1047 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{63}\text{O}_3\text{N}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 582.4816, found 582.4797.

2b: 白色絮状固体, 产率 51%. m.p. 80~82 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.75 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J=6$ Hz, 3H, CH_3), 0.92 (s, 3H, CH_3), 0.94 (s, 3H, CH_3), 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.08 (s, 3H, CH_3), 1.22~1.78 (m, 25H, $10\text{CH}_2+5\text{CH}$), 2.21~2.46 (m, 6H, $(\text{CH}_2)_3\text{N}$), 3.21 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 3.73 (s, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{O}$), 4.02 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, COOCH_2), 5.30 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.58, 138.29, 125.51, 79.00, 66.86, 62.42, 55.23, 53.23, 52.79, 48.09, 38.74, 36.75, 33.03, 28.15, 24.22; IR (KBr) ν : 3431, 2927, 2870, 1724, 1615, 1457, 1039 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{61}\text{O}_4\text{N}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 584.4609, found 584.4585.

2c: 白色粉末固体, 产率 55%. m.p. 62~63 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.75 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J=6$ Hz, 3H, CH_3), 0.92 (s, 3H, CH_3), 0.95 (s, 3H, CH_3), 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.08 (s, 3H, CH_3), 1.20~1.79 (m, 29H), 1.91 (t, $J=4.0$ Hz, 2H, CH_2), 2.2~2.61 (m, 6H, $(\text{CH}_2)_3\text{N}$), 3.21 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 4.03 (d, $J=2.4$ Hz, 2H, OCH_2), 5.24 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.51, 138.24, 125.53, 78.96, 62.57, 55.22, 52.84, 49.40, 39.08, 36.75, 33.03, 28.15,

24.22; IR (KBr) ν : 3431, 2927, 2870, 1724, 1457, 1039 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{63}\text{O}_3\text{N}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 570.4816, found 570.4755.

2d: 白色絮状固体, 产率 42%. m.p. 70~71 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.75 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.86 (d, $J=15.2$ Hz, 3H, CH_3), 0.92 (s, 3H, CH_3), 0.94 (d, $J=11.9$ Hz, 3H, CH_3), 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.08 (s, 3H, CH_3), 1.21~1.83 (m, 23H, $9\text{CH}_2+5\text{CH}$), 1.91 (t, $J=4.0$ Hz, 2H, CH_2), 2.25 (s, 6H, NCH_3), 2.29~2.42 (m, 2H, NCH_2), 3.21 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 3.99~4.06 (m, 2H, OCH_2), 5.24 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.52, 138.26, 125.52, 78.95, 62.54, 55.23, 52.84, 48.21, 39.08, 36.72, 28.15, 24.22; IR (KBr) ν : 3432, 2927, 2867, 2767, 1724, 1460, 1042 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{59}\text{O}_3\text{N}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 542.4503, found 542.4506.

2e: 白色絮状固体, 产率 57%. m.p. 55~56 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.75 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J=6$ Hz, 3H, CH_3), 0.91 (s, 3H, CH_3), 0.94 (s, 3H, CH_3), 0.98 (s, 3H, CH_3), 1.07 (s, 3H, CH_3), 1.18~1.85 (m, 22H, $9\text{CH}_2+4\text{CH}$), 1.91 (t, $J=4.0$ Hz, 2H, CH_2), 2.21 (d, $J=11.43$ Hz, 1H, H-18), 2.41 (s, 6H, NCH_2), 2.89 (s, 4H, NHCH_2), 3.21 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 3.99~4.06 (m, 2H, OCH_2), 5.28 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.52, 138.22, 125.49, 78.70, 62.58, 55.23, 52.84, 48.21, 47.51, 39.08, 36.72, 28.15, 26.16; IR (KBr) ν : 3325, 2924, 1722, 1591, 1455, 1140 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{62}\text{O}_3\text{N}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 583.4768, found 583.4796.

2f: 白色絮状固体, 产率 33%. m.p. 186~188 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.75 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H, CH_3), 0.85 (d, $J=6$ Hz, 3H, CH_3), 0.89 (s, 3H, CH_3), 0.92 (s, 3H, CH_3), 1.04 (s, 3H, CH_3), 1.14 (s, 3H, CH_3), 1.91 (t, $J=4.0$ Hz, 2H, CH_2), 2.22 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, CH_2N), 3.02 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 4.02 (t, $J=2.4$ Hz, 2H, OCH_2), 5.30 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12), 6.78 (s, 1H, imidazole H-4), 7.22 (s, 1H, imidazole H-5), 7.96 (s, 1H, imidazole H-2); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.26, 138.34, 137.10, 129.72, 125.60, 118.78, 78.88, 60.50, 55.21, 52.97, 48.25, 47.49, 39.08, 38.75, 36.97, 30.35, 28.15, 23.30; IR (KBr) ν : 3381, 3113, 2924, 2873, 1714, 1517, 1457, 1235 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_3\text{N}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 565.4299, found 565.4307.

2g: 白色絮状固体, 产率 42%. m.p. 68~69 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.74 (s, 3H, CH_3), 0.78 (s, 3H,

CH₃), 0.86 (d, $J=6$ Hz, 3H, CH₃), 0.92 (s, 3H, CH₃), 0.95 (s, 3H, CH₃), 0.99 (s, 3H, CH₃), 1.08 (s, 3H, CH₃), 1.19~1.99 (m, 25H), 2.93 (s, 3H, NCH₃), 3.22 (dd, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 3.46 (s, 2H, CH₂N), 4.06 (t, $J=2.4$ Hz, 2H, OCH₂), 5.23 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12), 6.71 (s, 2H, α -ArH), 6.73 (s, 1H, γ -ArH), 7.23 (dd, $J=8.0, 15.2$ Hz, 2H, β -ArH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.55, 149.12, 138.21, 129.21, 125.63, 116.35, 112.28, 78.99, 61.98, 55.21, 52.94, 48.21, 47.55, 39.08, 38.75, 36.97, 30.35, 28.15, 23.30, 17.12; IR (KBr) ν : 3437, 2925, 2869, 1723, 1600, 1506, 1453, 1140 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₄₀H₆₁O₃N [M+H]⁺ 604.4659, found 604.4695.

1.2.3 熊果酸-3'-取代丙醇酯衍生物 **2h** 的合成

于 25 mL 圆底烧瓶中依次加入化合物 **1** 0.5 g (0.85 mmol), 碘化钾少量, DMF 5 mL, 1 mL 三乙胺, 氟尿嘧啶 0.25 g (1.7 mmol), 室温下搅拌反应, TCL 跟踪反应. 反应完毕后, 加入 20 mL 双蒸水, 析出白色固体, 抽滤, 得到白色粗产物, 用硅胶柱层析纯化 [V (石油醚): V (乙酸乙酯)=1:1], 得到目标化合物 **2h**.

2h: 白色固体, 产率 22%. m.p. 133~135 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.74 (d, $J=12$ Hz, 3H, CH₃), 0.78 (s, 3H, CH₃), 0.86 (d, $J=6$ Hz, 3H, CH₃), 0.91 (s, 3H, CH₃), 0.95 (s, 3H, CH₃), 0.99 (s, 3H, CH₃), 1.07 (s, 3H, CH₃), 2.01 (t, $J=4.8$ Hz, 2H, CH₂N), 3.21 (d, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 4.06 (t, $J=2.4$ Hz, 2H, OCH₂), 5.26 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12), 7.27 (d, $J=2$ Hz, 1H, NCH=CF), 9.58~9.62 (m, 1H, NH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.38, 157.16, 149.61, 141.12, 138.25, 128.88, 125.61, 78.92, 61.85, 55.21, 52.84, 48.21, 47.55, 39.08, 38.73, 36.59, 30.59, 28.15; IR (KBr) ν : 3443, 3073, 2925, 2866, 1719, 1456, 1238, 1140 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₃₇H₅₅O₅N₂F [M+H]⁺ 627.4103, found 627.4167.

1.2.4 熊果酸-3'-取代丙醇酯衍生物 **2i, 2j** 的合成

于 25 mL 圆底烧瓶中依次加入化合物 **1** 1.0 g (1.7 mmol), 碳酸钾 0.50 g (5.1 mmol), 碘化钾少量, DMF 10 mL, 10 滴三乙胺, 哌嗪 0.075 g (0.85 mmol) 或氟尿嘧啶 0.125 g (0.85 mmol), 60 °C 下搅拌反应, TCL 跟踪反应. 反应完毕后, 冷却至室温, 加入 20 mL 双蒸水, 析出白色固体, 抽滤, 得到白色粗产物, 用硅胶柱层析纯化 [V (石油醚): V (乙酸乙酯)=1:3], 得到目标化合物 **2i** 或 **2j**.

2i: 白色絮状固体, 产率 50.6%. m.p. 82~84 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.74 (d, $J=12$ Hz, 6H, CH₃), 0.78 (s, 6H, CH₃), 0.85 (d, $J=6$ Hz, 6H, CH₃), 0.91 (s, 6H, CH₃), 0.95 (s, 6H, CH₃), 0.99 (s, 6H, CH₃), 1.08 (s, 6H,

CH₃), 2.20~2.42 (m, 12H, (CH₂)₃N), 3.21 (d, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 4.02 (d, $J=2.4$ Hz, 4H, OCH₂), 5.23 (t, $J=3.6$ Hz, 2H, H-12); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.52, 138.22, 125.49, 78.70, 62.58, 55.23, 52.84, 48.21, 47.51, 39.08, 36.72, 28.15, 26.16; IR (KBr) ν : 3449, 2925, 2865, 1724, 1458, 1038 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₇₂H₁₁₄-O₆N₂ [M+H]⁺ 1079.8693, found 1079.8727.

2j: 白色絮状固体, 产率 42%. m.p. 147~150 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.74 (s, $J=12$ Hz, 6H, CH₃), 0.78 (s, 6H, CH₃), 0.86 (d, $J=6$ Hz, 6H, CH₃), 0.91 (s, 6H, CH₃), 0.95 (s, 6H, CH₃), 0.98 (s, 6H, CH₃), 1.08 (s, 6H, CH₃), 1.91 (t, $J=4.0$ Hz, 4H, CH₂), 2.21 (t, $J=4.8$ Hz, 4H, CH₂N), 3.22 (d, $J=4.8, 5.0$ Hz, 1H, H-3), 4.06 (m, $J=2.4$ Hz, 4H, OCH₂), 5.24 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12), 7.24 (d, $J=4.8$ Hz, 2H, NCH=CF); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 177.38, 157.16, 149.61, 141.12, 138.25, 128.88, 125.61, 78.92, 61.85, 55.21, 52.84, 48.21, 47.55, 39.08, 38.73, 36.59, 30.59, 28.15; IR (KBr) ν : 3521, 2927, 2870, 1719, 1662, 1461, 1373, 1231, 1040 cm⁻¹; HRMS (ESI) calcd for C₇₀H₁₀₇O₈N₂F [M+Na]⁺ 1145.7888, found 1145.7867.

1.2.4 抗肿瘤活性实验

将生长良好的人肺癌细胞 A549、人卵巢癌 SKOV3 细胞、人肝癌细胞 Hep G2 分别接种于 96 孔板, 2×10³/孔. 24 h 后将不同浓度的试药分别加入板中, 100 μ L/孔, 培养 48 h. 然后加入 MTT 溶液 10 μ L (5 mg/mL), 37 °C 作用 4 h, 弃上清, 加入 DMSO 150 μ L/孔, 室温振摇 30 min, 测定 OD_{570 nm} 值. 根据细胞增殖抑制率公式计算: 抑制率(%)=(对照组 OD 值-实验组 OD 值)/对照组 OD 值×100%. IC₅₀ 值利用统计软件进行计算. 实验结果见表 1.

2 结果与讨论

2.1 合成

利用熊果酸在易溶的 DMF 中, 以碳酸钾做碱, 三乙胺作缚酸剂, 碘化钾作催化剂, 与两倍量的 1,3-二溴丙烷反应得到中间体熊果酸-3'-溴丙醇酯. 为防止发生双取代, 卤代烃需过量. 对于 **2a~2j**, 可用不同类型的氨基物或含氮杂环进行亲核取代得到目标化合物, 反应可通过控制氨基物或含氮杂环与中间体 **1** 的量的比例分别得到单取代和双取代的化合物.

2.2 化合物结构表征

2.2.1 ¹H NMR 谱图

所合成的化合物中, 熊果酸 C-12 的化学位移出现

表 1 目标化合物对肿瘤细胞的抑制活性^a
Table 1 Antitumor activities for target compounds

Compd.	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)					
	人肺癌 A549	人卵巢癌 SKOV3	人肝癌 SMMC-7721	人肺癌 NCI-H1975	人肝癌 Hep G2	乳腺癌 MCF-7
UA	45.8	46.4	>40	>40	28.5	34.1
1	52.8	44.1	>40	34.4	33.3	30.4
2a	34.4	38.7	>40	24.5	26.5	26.1
2b	32.3	30.2	>40	>40	24.6	26.5
2c	35.6	28.9	>40	30.5	30.3	25.1
2d	51.5	39.6	>40	38.2	28.1	34.3
2e	27.4	25.1	>40	28.2	18.8	19.0
2f	>20	>20	>20	>40	29.4	19.5
2g	61.6	45.7	>40	>40	48.6	47.8
2h	75.3	79	>40	>40	72.9	60.9
2i	>40	>40	>40	>40	>40	>40
2j	>80	>80	>40	>40	>80	>80

^a 空白组作为对照组.

在 δ 5.24 附近;熊果酸 C-3 位质子的化学位移出现在 δ 3.21 附近,熊果酸多个甲基的化学位移出现在 δ 0.69~1.20 范围内,熊果酸 C-28 位由于酯基中氧的诱导效应使亚甲基的化学位移出现在 δ 4.08 附近;所合成的化合物 **1** 中, δ 3.46 为 CH₂Br 的化学位移;化合物 **2a**~**2e** 中,出现在 δ 5.23 左右的质子化学位移是熊果酸的 H-12;在 δ 4.01 左右出现的质子化学位移是 OCH₂ 的;在 δ 3.22 附近出现的质子化学位移是熊果酸的 H-3; **2a** 中在 δ 2.33 附近的化学位移为 N(CH₃)₂ 的; **2b**~**2d**, **2e** 中 δ 2.23~2.47 附近出现的质子化学位移是 N(CH₂)₂; **2d**, **2e** 分别在 δ 3.73 和 2.25 附近出现了质子化学位移分别是 O(CH₂)₂ 和 HN(CH₂)₂; δ 1.10~2.10 范围内出现的是熊果酸的多个亚甲基和次甲基质子化学位移; δ 0.70~1.08 范围内是熊果酸的多个甲基质子化学位移. 化合物 **2f**~**2j** 中,除了含有 **2a**~**2e** 中熊果酸结构中的特征质子化学位移,还有各自芳香环上的特征质子化学位移,如 **2f** 中 δ 6.89, 7.15, 7.59 就是咪唑环上 3 个 H 的质子化学位移; **2j** 中 δ 7.25 为氟尿嘧啶环上的 CH 的质子化学位移.

2.2.2 ¹³C NMR 谱图

在所合成的化合物中均有熊果酸结构的特征化学位移, δ 177.50 附近的化学位移为 COOH 的,在 δ 138 附近的化学位移为 C-13,在 δ 125 附近的化学位移为 C-12,在 δ 78.90 附近的化学位移为 C-3,在 δ 61.80 附近的化学位移为 OCH₂ 的; **2a**~**2j** 中的 CH₂N 的化学位移出现在 δ 47.50 附近. 每个化合物均有自己的特征化学位移. 如 **2d** 中在 δ 66.82 出现的化学位移为吗啉环 O(CH₂)₂; **2f** 中在 δ 118.78, 129.72, 137.10 出现的化学位移为咪唑环上的 3 个 C; **2g** 中在 δ 112.28, 116.30, 125.66, 129.21,

138.23, 149.20 出现的化学位移为苯环上的 6 个 C.

2.2.3 IR 谱图

所合成的化合物 **2a**~**2e** 中, 3440~3420 cm⁻¹ 附近出现 OH 的伸缩振动吸收峰, 在 3100 cm⁻¹ 范围内出现 C=N 的伸缩振动吸收峰, 在 2860~2920 cm⁻¹ 左右区域系甲基、亚甲基、次甲基碳氢键伸缩振动吸收峰, 在 1710~1724 cm⁻¹ 范围内出现羰基 C=O 的中等强度吸收峰, 在 1640 cm⁻¹ 范围内出现—NH 的弯曲振动吸收峰, 在 1600~1500 cm⁻¹ 范围内出现苯环骨架的吸收峰.

2.2.4 MS 谱图

目标化合物 **2a**~**2e** 质子峰都以所预想的准分子离子峰[M+H]⁺的形式出现,说明该类化合物均比较稳定,HRMS 检测结果与目标化合物的分子组成一致.

2.3 抗肿瘤活性实验

表 1 显示, 化合物 **2a**, **2b**, **2c**, **2d** 和 **2e** 对人肺癌 A549、人卵巢癌 SKOV3、人肝癌 SMMC-7721、人肺癌 NCI-H1975、人肝癌 Hep G2 和人乳腺癌 MCF-7 细胞的抑制活性较熊果酸均有所增强,其中化合物 **2e** 的抑制活性最高. 化合物 **2f**, **2g**, **2h**, **2i** 和 **2j** 的抑制活性均没有熊果酸强. 由实验结果显示,分子量较小的化合物 **2a**~**2e** 的生物活性比分子量较大的化合物 **2f**~**2j** 的抑制活性高,结构中含有二级未饱和氮(化合物 **2e**)的抑制活性比其他化合物的抑制活性高,脂肪族或脂肪环族含氮结构比芳香族、杂环抑制活性高. 进一步深入研究正在进行中.

致谢 本文中的抗肿瘤活性实验由四川大学华西药学院药理教研室包旭老师等完成,所有谱图和相关数据由

四川大学分析测试中心提供, 在此表示衷心的感谢.

References

- [1] Song, X.-K.; Wu, L.-J. *Textbook of Natural Medicinal Chemistry*, Chemical Industry Press, Beijing, **2004**, pp. 198~200 (in Chinese). (宋晓凯, 吴立军, 天然药物化学, 化学工业出版社, 北京, **2004**, pp. 198~200.)
- [2] Yang, D.-J.; Li, Y.; Yin, S.-F. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1055 (in Chinese). (杨定菊, 李颖, 尹述凡, 有机化学, **2008**, *28*, 1055.)
- [3] Huang, J.; Sun, Y.; Lu, S.-X.; Su, T.; Jiao, S.-C. *Chin. J. Integr. Trad. Western Med.* **1999**, *19*, 296 (in Chinese). (黄镜, 孙燕, 陆士新, 苏涛, 焦顺昌, 中国中西医结合杂志, **1999**, *19*, 296.)
- [4] Barry, M. A.; Behnek, C. A.; Eastman, A. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *40*, 2353.
- [5] Zhang, Q.-P.; Xie, L.-K.; Deng, T.; Hu, Z.-F.; Chen, H.-M.; Tan, J.-Q. *Basic Clinics Med.* **2004**, *24*, 414 (in Chinese). (张秋萍, 谢路琨, 邓涛, 胡志芳, 陈会敏, 谭锦泉, 基础医学与临床, **2004**, *24*, 414.)
- [6] Li, J.; Xu, L.-Z.; Zhu, W.-P.; Zhang, T.-M.; Li, X.-M.; Jin, A.-P.; Huang, K.-M.; Li, D.-L.; Yang, Q.-Y. *China Oncol.* **1999**, *9*, 395 (in Chinese). (李杰, 许良中, 朱伟萍, 张太明, 李小妹, 金爱萍, 黄抗美, 李栋良, 杨庆尧, 中国癌症杂志, **1999**, *9*, 395.)
- [7] Knighton, D. R.; Silver, I. A.; Hunt, T. K. *Surgery* **1981**, *90*, 261.
- [8] Wu, Q.-N.; Huang, W.; Huang, M.-S. *J. Oncol.* **2004**, *10*, 145 (in Chinese). (吴其年, 黄炜, 黄敏珊, 肿瘤学杂志, **2004**, *10*, 145.)

(Lu, Y.)