白藜芦醇衍生物的合成及抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性

杜 成^a 任玉杰^{*,a,b} 王庆伟^a 金 鹭^a^(a) 上海应用技术学院化学与环境工程学院 上海 201418)^(b) 中国科学院上海有机化学研究所 天然产物有机合成化学重点实验室 上海 200032)

摘要 以白藜芦醇、氯乙酰氯、对甲苯磺酰氯、对甲苯甲酰氯为原料, 合成 9 种新的白藜芦醇衍生物, 其结构经 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HRMS 所表征。用 3-(4,5-二甲苯噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)法测试了目标化合物抑制宫颈癌 HeLa 细胞的肿瘤活性, 结果表明: 化合物 **4a**, **6a**, **7b**, **8b** 和 **11c** 对 HeLa 细胞的抑制活性比白藜芦醇高, 其中化合物 **6a** 和 **8b** 的抑制效果最明显, 其 IC₅₀ 值分别为 22.7 和 18.0 μmol/L, 活性高于白藜芦醇(IC₅₀=114 μmol/L), 且在 150 μmol/L 浓度下对 HeLa 细胞的抑制率达 95.5%和 87.7%。

关键词 白藜芦醇; 衍生物; 合成; HeLa 细胞; 抗肿瘤活性

Synthesis and Anti-tumor Activities of Resveratrol Derivatives on Cervical Cancer HeLa Cells

Du, Cheng^a Ren, Yujie^{*,a,b} Wang, Qingwei^a Jin, Lu^a^(a) School of Chemical and Environmental Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418)^(b) Key Laboratory Synthetic Chemistry of Natural Substances, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

Abstract Nine novel resveratrol derivatives were synthesized from resveratrol, chloroacetyl chloride, *p*-toluenesulfonyl chloride and *p*-methyl benzoyl chloride. These structures were confirmed by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and HR-MS techniques. The target compounds were evaluated for their anti-tumor activities against cervical cancer HeLa cells by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) method, and the results indicated that compounds **4a**, **6a**, **7b**, **8b** and **11c** of all the derivatives displayed better activities than resveratrol against HeLa cells, the compounds **6a** and **8b** displayed excellent inhibition effect, with IC₅₀ values of 22.7 and 18.0 μmol/L, respectively, even higher than that of resveratrol (IC₅₀=114 μmol/L). The inhibitory ratio of compounds **6a** and **8b** were 95.5% and 87.7% against HeLa cells at the concentration of 150 μmol/L.

Keywords resveratrol; derivative; synthesis; HeLa cell; anti-tumor activities

白藜芦醇是一种天然的含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物, 广泛存在于葡萄、花生和中药虎杖等植物中, 具有良好的抗肿瘤^[1~3]、抗氧化^[4,5]、抗炎^[6]、抗菌^[7]、心血管保护^[8]、神经保护^[9]、保护肝细胞^[10]、抗衰老^[11,12]及抗自由基^[13]等多种药理活性。在抗肿瘤方面白藜芦醇被喻为继紫杉醇之后的又一新的绿色抗癌药物。大量研究表明白藜芦醇衍生物具有与白藜芦醇相似的药理活性, 其中有些化合物的活性要强于白藜芦醇, 且选择

性和稳定性也好于白藜芦醇。宫颈癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤, 在全球妇女中仅次于乳腺癌和结直肠癌的第 3 个常见的恶性肿瘤。如文献[14~16]报道白藜芦醇及其衍生物能抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖, 且部分衍生物对人宫颈癌 HeLa 细胞有较好的抑制活性或者与白藜芦醇本身抑制 HeLa 细胞活性相当。因此, 本研究旨在寻找抗宫颈癌活性更强, 选择性、稳定性更好的白藜芦醇衍生物。

* E-mail: clab@sit.edu.cn

Received March 23, 2013; revised April 26, 2013; published online May 6, 2013.

Project Supported by the Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission (No. 12ZZ188), the Science and Technology Commission of Shanghai Municipal (No. 11430502500), the Professor of Special Appointment (Eastern Scholar) at Shanghai Institutions of Higher Learning (No. 405ZK110060002).

上海市教委科研创新重点(No. 12ZZ188)、上海市科委(No. 11430502500)、上海高校特聘教授(东方学者)岗位计划(No. 405ZK110060002)资助项目。

由于成酯是前药设计中最常用的修饰手段, 已上市的前药中大约 49% 是由酶的水解产生活性的. 酯类前药常用来掩蔽水溶性药物中的羧酸、磷酸等带电荷基团, 从而增加原药的脂溶性, 提高被动膜渗透性. 当酯类前药进入人体以后, 血液、肝脏及其他组织器官中普遍存在的酯酶将酯键水解从而释放出原药发挥作用^[17]; 另外, 白藜芦醇等二苯乙烯化合物对癌症有抑制乃至逆转作用^[18]. 故本文以天然产物白藜芦醇为原料, 保留了白藜芦醇结构中二苯乙烯抗肿瘤活性结构骨架, 主要对苯环上的酚羟基进行修饰, 从而引入氯乙酰基、对甲苯磺酰基及对甲基苯甲酰基, 合成了 3 类 9 种未见文献报道的白藜芦醇酯类衍生物(Eq. 1), 并对新化合物进行初步的体外抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性测试. 在此基础上进一步讨论化合物的结构与抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性之间的关系, 目的是探讨由氯乙酰基、对甲苯磺酰基及对甲基苯甲酰基三类取代基修饰后的白藜芦醇衍生物对抑制 HeLa 细胞肿瘤活性的影响, 以寻找到抗宫颈癌活性更好的候选化合物.

1 结果与讨论

1.1 目标化合物的合成

由于白藜芦醇 3 个酚羟基上的氢具有一定的活性, 需在碱或酸的催化作用下与酰氯(2a~2c)反应形成酯.

选用氢氧化钠作碱, 分别使用四氢呋喃、丙酮、二氯甲烷和水作反应溶剂在室温或回流温度下探索反应条件, 结果表明反应均不能发生; 当使用三乙胺作催化剂和缚酸剂时, 二氯甲烷作溶剂, 控制温度在 25 °C 时, 反应效果最好, 提高温度会使白藜芦醇氧化, 不利于反应进行, 降低温度则反应时间延长. 最终使用三乙胺为催化剂和缚酸剂, 二氯甲烷为溶剂, 控制温度在 25 °C, 反应时间为 4 h, 经硅胶柱层析纯化后得到目标化合物, 收率在 20.0%~92.2% 之间.

由于白藜芦醇中的 3 个羟基按结构与性质可分为两种类型, 所以白藜芦醇与酰氯成酯会同时生成两个同分异构体, 如化合物 3a 和 4a, 两者的结构类似, 极性相近, 主要通过改变酰氯的用量使其生成单酯化合物.

1.2 化合物光谱分析

在红外谱图中, 化合物 3a, 4a, 5a, 7b, 8b 和 11c 在 3300 cm^{-1} 附近有典型的酚羟基 O—H 伸缩振动特征吸收峰, 化合物 3a, 4a, 5a, 6a, 10c 和 11c 在 1735~1770 和 1012~1315 cm^{-1} 范围内有典型的 C=O 和 C—O—C 吸收峰, 表明化合物中含有酯键. 化合物 7b, 8b 和 9b 在 1170 cm^{-1} 附近和 1368~1374 cm^{-1} 范围内有典型的磺酰基的特征吸收峰. 在 3010~3090 cm^{-1} 有 C=C 的特征峰, 在 1605 cm^{-1} 附近有芳环特征吸收峰. 在 ^1H NMR 谱中, 通过核磁共振氢谱对比可以得知反应发生在酚羟基上面, 以化合物 3a, 4a, 5a, 6a 为例, 3a 在 δ 9.81 和 9.62 处有酚羟基 O—H 吸收单峰, 4a 在 δ 9.26 处为相同位置的两个酚羟基吸收单峰, 5a 在 δ 9.89 处有一个酚羟基 O—H 的吸收峰, 而化合物 6a 在此范围内没有此活泼氢的吸收峰, 由此判断反应发生在酚羟基上的; 以化合物 3a, 4a 为例, 在 ^1H NMR 谱中化合物 3a 在 δ 7.08 和 6.93 处的两组双重峰, 偶合常数均在 $J=16.0$ Hz 左右, IR 谱中 962 cm^{-1} 出现吸收, 说明化合物结构中的双键为反式构型, 化合物 4a 在 δ 7.18 处的一组双重峰, 偶合常数在 $J=10.0$ Hz 左右时为顺式构型. 从 ^{13}C NMR 谱可以看到在 δ 41.8 处为亚甲基上碳原子的吸收峰, δ 158.0 处为羧酸酯上碳原子的吸收峰. 这些光谱数据表征了化合物 3a~11c 的结构.

1.3 化合物抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性

目标化合物 3a~11c 对人宫颈癌细胞株(HeLa cells)的体外抗肿瘤活性见表 1. 由表 1 可知, 化合物 4a, 6a, 7b, 8b 和 11c 对 HeLa 细胞的抑制效果高于阳性对照药物白藜芦醇, 其余化合物 3a, 5a, 9b 和 10c 对 HeLa 细胞抑制作用不明显, 且化合物 6a 和 8b 在 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 HeLa 细胞的抑制率达 95.5% 和 87.7%, 其 IC_{50} 值分别为 22.7 和 18.0 $\mu\text{mol/L}$. 其中化合物 8b 对 HeLa 细胞的抑制效果最好, 是白藜芦醇 IC_{50} 值 114 $\mu\text{mol/L}$ 的 6.3

倍。从分子结构上看,含有对甲苯磺酰基和氯乙酰基的白藜芦醇衍生物抑制 HeLa 细胞活性要强于含有对甲基苯甲基酰基的白藜芦醇衍生物;且对于氯乙酰基取代的白藜芦醇衍生物中,没有羟基基团的化合物抑制 HeLa 细胞的生物活性要强于有羟基基团的,而对甲基苯磺酰基和对甲基苯甲基酰基取代的白藜芦醇衍生物则正好相反。由此可见,在取代母体白藜芦醇相同的时候,引入对甲基苯磺酰基和氯乙酰基,化合物 **6a** 和 **8b** 对抑制宫颈癌 HaLe 细胞肿瘤活性较白藜芦醇有明显提高。

表 1 目标化合物 **3a**~**11c** 抑制 HeLa 细胞肿瘤活性测试结果 (抑制率/%)

Table 1 Results of anti-tumor activities of the target compounds **3a**~**11c** on HeLa cells (inhibition ratio/%)

Compd.	IC ₅₀ / ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Concentration/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)						
		0	25	37.5	50	75	100	150
3a	— ^a	0	−7.7	1.1	−1.4	6.2	13.0	35.8
4a	58.7	0	32.0	32.8	50.9	57.2	60.8	75.2
5a	— ^a	0	26.1	38.5	32.8	37.7	36.0	25.2
6a	22.7	0	56.8	58.7	74.4	81.4	90.3	95.4
7b	70.0	0	−9.7	2.4	18.1	59.0	89.0	95.5
8b	18.0	0	71.5	77.6	89.9	89.1	89.9	87.7
9b	— ^a	0	5.0	14.5	11.8	12.8	15.6	13.6
10c	— ^a	0	9.6	18.8	9.0	−3.7	0	7.9
11c	91.3	0	36.2	38.0	39.3	47.2	55.8	82.9
Resvera- trol	114	0	3.4	6.2	9.8	15.0	40.6	82.9

^a Inhibition effect was not obvious.

2 结论

为了寻求抗宫颈癌活性好的新候选化合物,对白藜芦醇进行结构修饰,合成了 9 种新的白藜芦醇衍生物,其结构经 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 和 HR-MS 所表征;且在三乙胺为碱,二氯甲烷为溶剂的体系中反应条件温和、合成效果最好;初步抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性测试结果表明:所有衍生物与白藜芦醇对比,化合物 **4a**, **6a**, **7b**, **8b** 和 **11c** 对 HeLa 细胞的抑制作用提高了 1.2~6.3 倍,而化合物 **3a**, **5a**, **9b** 和 **10c** 对 HeLa 细胞没有明显的抑制作用,其中化合物 **6a** 和 **8b** 对 HeLa 细胞的抑制效果最明显。在取代母体白藜芦醇相同的时候,引入氯乙酰基和对甲基苯磺酰基,化合物 **6a** 和 **8b** 抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性较白藜芦醇有明显提高,为进一步寻找更加理想的抗宫颈癌的候选化合物提供思路。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

WPS-2A 数字熔点仪,温度计未经校正;核磁共振光谱:瑞士 Bruker Avance III 500M 型核磁共振仪, TMS

为内标;红外光谱仪:傅里叶变换红外光谱仪 6700, 美国 Nicolet 公司, KBr 压片;液相色谱质谱联用仪: LCMS-2020, 日本岛津公司;高分辨质谱: Solarix-70FT-MS 瑞士布鲁克公司;所用试剂均为市售的分析纯和化学纯。

3.2 目标化合物 **3a**~**11c** 的合成

以化合物 **3a** 的合成例,称取 1.0 g (4.4 mmol)白藜芦醇溶于 20 mL 的二氯甲烷中,加入 1 mL 三乙胺,搅拌片刻后缓慢滴加 2.9 g (4.4 mmol)氯乙酰氯(**2a**),室温搅拌 4 h, TLC 检测反应,反应结束后,减压浓缩除去多余溶剂,残余物经乙酸乙酯萃取、饱和食盐水洗涤,收集有机层,用无水硫酸钠干燥,减压浓缩后所得粗产品经柱层析[洗脱剂: *V*(石油醚):*V*(乙酸乙酯)=6:1]分离纯化得到化合物 **3a**。改变投料比例,同样的方法制得系列化合物 **4a**~**11c**。

(*E*)-3-羟基-5-(羟基苯乙烯基)-2-氯乙酸苯酯(**3a**) [*n*(白藜芦醇):*n*(氯乙酰氯)=1:1]: 白色固体 433.3 mg, 产率 32.4%. m.p. 167.0~168.4 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 9.81 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 7.43 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.08 (d, *J*=16.3 Hz, 1H), 6.93 (d, *J*=16.4 Hz, 1H), 6.83 (d, *J*=12.4 Hz, 2H), 6.77 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 6.45 (t, *J*=1.9 Hz, 1H), 4.68 (s, 2H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 166.7, 158.8, 158.0, 151.8, 140.3, 129.9, 128.5, 124.7, 116.0, 111.5, 109.8, 107.7, 41.8; IR (KBr) ν : 3386, 3020, 2936, 2853, 1738, 1605, 1513, 1449, 1319, 1192, 1121, 991, 962, 839, 812 cm⁻¹; ESI-MS *m/z*: 305.1 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₁₆H₁₃ClO₄ 305.0590, found 305.0575.

(*Z*)-4-羟基-(3,5-二羟基苯乙烯基)-2-氯乙酸苯酯(**4a**) [*n*(白藜芦醇):*n*(氯乙酰氯)=1:1]: 白色固体 334.4 mg, 产率 25.0%, m.p. 155.2~156.8 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 9.29 (s, 2H), 7.65 (d, *J*=10 Hz, 2H), 7.18 (d, *J*=10 Hz, 2H), 7.06 (s, 2H), 6.45 (d, *J*=2 Hz, 2H), 6.17 (s, 1H), 4.70 (s, 2H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 166.8, 159.0, 149.8, 135.7, 129.9, 128.0, 127.2, 122.2, 105.2, 102.9, 41.8; IR (KBr) ν : 3338, 3019, 2958, 1740, 1593, 1506, 1456, 1242, 1161, 1012, 957, 825, 765, 673 cm⁻¹; ESIMS *m/z*: 305.1 [M+H]⁺; HRMS calcd for C₁₆H₁₃ClO₄ 305.0589, found 305.0575.

(*Z*)-5-(4-羟基苯乙烯基)-1,3-亚苯基-2-氯乙酸苯酯(**5a**) [*n*(白藜芦醇):*n*(氯乙酰氯)=1:1]: 白色固体 380.0 mg, 产率 23.0%. m.p. 114.3~116.2 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 9.89 (s, 1H), 7.68 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.26~7.14 (m, 4H), 6.90 (d, *J*=10.1 Hz, 2H), 6.52 (s, 1H), 4.70 (d, *J*=5.9 Hz, 4H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125

MHz) δ : 166.8, 158.9, 151.8, 150.1, 139.6, 135.4, 128.8, 122.2, 112.1, 110.2, 108.5, 41.8; IR (KBr) ν : 3468, 3025, 2956, 2853, 1769, 1622, 1588, 1507, 1463, 1408, 1315, 1252, 1147, 994, 843, 807, 760 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 381.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{O}_5$ 381.0318, found 381.0291.

(Z)-5-[4-(2-氯乙酰氧基)苯乙烯基]-1,3-亚苯基-2-氯乙酸苯酯(**6a**) [n (白藜芦醇): n (氯乙酰氯) = 1 : 5]: 白色固体 1.4 g, 产率 67.0%. m.p. 92~94 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.69 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.41 (s, 2H), 7.34 (d, $J=31.0$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.06 (s, 1H), 4.74 (s, 4H), 4.72 (s, 2H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 166.7, 151.3, 150.4, 140.2, 135.1, 130.3, 128.4, 127.3, 122.3, 117.7, 114.9, 41.7; IR (KBr) ν : 3050, 3010, 2954, 1759, 1611, 1583, 1506, 1430, 1291, 1147, 996, 968, 857, 806, 671 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 478.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{O}_6$ 457.0070, found 457.0042.

(Z)-3-羟基-5-(羟基苯乙烯基)-4-甲基苯磺酸苯酯(**7b**) [n (白藜芦醇): n (对甲基苯磺酰氯) = 1 : 1]: 白色固体 420.0 mg, 产率 25.0%. m.p. 127.5~128.9 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 9.87 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 7.78 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.95 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.77 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.66 (s, 1H), 6.27 (s, 1H), 3.36 (s, 2H), 2.43 (s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 158.9, 158.1, 150.6, 146.1, 140.6, 132.1, 130.6, 130.3, 128.6 (d, $J=7.2$ Hz), 128.0, 124.4, 116.0, 112.3, 110.4, 107.8, 21.6; IR (KBr) ν : 3184, 2955, 2691, 1601, 1513, 1445, 1368, 1270, 1175, 980, 812, 777, 678 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 383.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$ 383.0974, found 383.0974.

(E)-5-(4-羟基苯乙烯基)-1,3-亚苯基-4-甲基苯磺酸苯酯(**8b**) [n (白藜芦醇): n (氯乙酰氯) = 1 : 1]: 白色固体 354.0 mg, 产率 15.0%, m.p. 116.7~118.7 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 9.73 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J=8.0$ Hz, 4H), 7.50 (d, $J=7.9$ Hz, 4H), 7.39 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.18 (s, 2H), 7.03 (d, $J=16.3$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=16.4$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 6.53 (s, 1H), 2.43 (s, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 158.5, 149.8, 146.6, 141.6, 132.3, 131.3, 130.7, 128.9, 128.7, 127.5, 122.7, 118.7, 116.1, 114.0, 21.6; IR (KBr) ν : 3452, 3066, 2923, 2854, 1599, 1501, 1445, 1370.5, 1293, 1118, 980, 858, 742, 674 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 537.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{S}_2$ 537.1071, found 537.1038.

(Z)-5-[4-(对甲苯磺酰)苯乙烯基]-1,3-亚苯基-4-甲基苯磺酸苯酯(**9b**) [n (白藜芦醇): n (对甲基苯磺酰氯) = 1 : 5]: 白色固体 2.8 g, 产率 92.2%. m.p. 125.8~126.0 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.75 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.71 (d, $J=8.2$ Hz, 4H), 7.56 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.49 (t, $J=8.5$ Hz, 6H), 7.26 (d, $J=1.9$ Hz, 2H), 7.15 (s, 2H), 7.04 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 6.58 (s, 1H), 2.43 (s, 9H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 149.9, 149.2, 146.6, 146.3, 140.7, 135.8, 131.3, 130.7 (d, $J=12.1$ Hz), 129.2~128.6 (m), 127.3, 122.9, 119.3, 115.0, 21.6; IR (KBr) ν : 3092, 2923, 2854, 1601, 1498, 1436, 1374, 1354, 1177, 974, 868, 750, 681 cm^{-1} ; ESIMS m/z : 713.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{O}_9\text{S}_3$ 713.0981, found 713.0944.

(E)-5-{4-[(4-甲基苯甲酰基)氧基]苯乙烯基}-1,3-亚苯基-4-甲基苯甲酸苯酯(**10c**) [n (白藜芦醇): n (对甲基苯甲酰氯) = 1 : 1]: 白色固体 896.0 mg, 产率 35.0%. m.p. 156.7~158.3 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 8.13 (d, $J=7.8$ Hz, 6H), 7.58 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.35 (d, $J=7.8$ Hz, 8H), 7.25 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.18 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J=3.6$ Hz, 2H), 2.49 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 164.9, 151.7, 150.8, 144.6, 139.6, 134.5, 130.2, 129.7, 129.3, 127.7, 127.3, 126.7, 126.5, 122.1, 117.1, 114.8, 21.8; IR (KBr) ν : 3124, 3029, 2920, 1738, 1609, 1577, 1505, 1438, 1408, 1249, 1125, 962, 838, 746, 679 cm^{-1} ; ESIMS m/z : 605.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{30}\text{O}_6$ 605.1986, found 605.1943.

(Z)-5-(4-甲基苯乙烯基)-1,3-亚苯基-4-甲基苯甲酸苯酯(**11c**) [n (白藜芦醇): n (对甲基苯甲酰氯) = 1 : 1]: 白色固体 408.0 mg, 产率 20.0%. m.p. 173.8~175.3 $^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 9.84 (s, 1H), 8.04 (t, $J=8.0$ Hz, 4H), 7.69 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J=7.9$ Hz, 5H), 7.29 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.24 (d, $J=23.9$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 2.44 (s, 6H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 165.0, 158.9, 152.3, 144.9, 139.6, 130.47~130.17 (m), 130.0, 128.8, 128.4, 128.1, 122.6, 116.1, 111.8, 110.7, 21.7; IR (KBr) ν : 3387, 3030, 2922, 1738, 1610, 1507, 1262, 1017, 962, 839, 747, 679 cm^{-1} ; ESIMS m/z : 465.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_5$ 465.1730, found 465.1696.

3.3 抑制宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤活性测定

用 MTT 法测定合成的目标化合物对人宫颈癌细胞株(HeLa 细胞株)体外抗肿瘤活性, 收集对数期细胞, 调整细胞悬液浓度, 每孔加入 100 μL , 铺板使待测细胞调密度为 1000~10000 孔, (边缘孔用无菌 PBS 填充). 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 体积分数为 5% CO_2 培养箱中培养 24 h 至细胞单层

铺满孔底(96 孔平底板), 加入浓度梯度的药物, 设 7 个梯度浓度 0, 25, 37.5, 50, 75, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$, 每孔 100 μL , 设 3 个平行孔. 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 体积分数为 5% CO_2 培养箱中培养 24 h, 倒置显微镜下观察. 弃去上清液, 每孔加入 20 μL MTT 溶液(5 mg/mL, 即 0.5% MTT), 继续培养 4 h. 弃去上清液, 每孔加入 150 μL 二甲基亚砜, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解. 在全自动多功能酶标仪检测在 OD570 和 630 nm 处测量各孔的吸光值.

致谢 感谢华东理工大学药学院刘建文教授课题组对本研究中活性测试部分的支持.

References

- [1] Pan, M. H.; Lin, C. L.; Tsai, J. H.; Ho, C. T.; Chen, W. J. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 226.
- [2] Juan, M. E.; Wenzel, U.; Daniel, H.; Planas, J. M. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 4813.
- [3] Kundu, J. K.; Surh, Y. J. *Cancer Lett.* **2008**, *269*, 243.
- [4] Selvaraj, S.; Mohan, A.; Narayanan, S.; Sethuraman, S.; Krishnan, U. M. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 970.
- [5] Agrawal, M.; Kumar, V.; Singh, A. K.; Kashyap, M. P.; Khanna, V. K.; Siddiqui, M. A.; Pant, A. B. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 285.
- [6] Udenigwe, C. C.; Ramprasath, V. R.; Aluko, R. E.; Jones, P. J. H. *Nutr. Rev.* **2008**, *66*, 445.
- [7] Li, L.; Henry, G. E.; Seeram, N. P. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 7282.
- [8] Yap, S.; Qin, C. X.; Woodman, O. L. *Biofactors* **2010**, *36*, 350.
- [9] Albani, D.; Polito, L.; Signorini, A.; Forloni, G. *Biofactors* **2010**, *36*, 370.
- [10] Bishayee, A.; Darvesh, A. S.; Politis, T.; McGory, R. *Liver Int.* **2010**, *30*, 1103.
- [11] Joseph, J. A.; Fisher, D. R.; Cheng, V.; Rimando, A. M.; Shukitt-Hale, B. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 10544.
- [12] Mouchiroud, L.; Molin, L.; Dallire, N.; Solari, F. *Biofactors* **2010**, *36*, 377.
- [13] Chen, W. P.; Hung, L. M.; Hsueh, C. H.; Lai, L. P.; Su, M. J. *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *157*, 381.
- [14] Zhu, Z. Q.; Zhang, X. Y.; Chen, J. W.; Xia, J.; Zhai, W. G.; Hu, T. X. *J. East China Normal Univ. (Nat. Sci.)* **2002**, *2*, 98 (in Chinese). (朱振勤, 张小轶, 陈季武, 夏晶, 翟万垠, 胡天喜, 华东师范大学学报(自然科学版), **2002**, *2*, 98.)
- [15] Liu, S. J.; Hu, Y. L.; Wang, X. L.; Zhong, J.; Lin, Z. P. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 8082.
- [16] Reddy, M. A.; Jain, N.; Yada, D.; Kishore, C.; Vangala, J. R.; P. Surendra R.; Addlagatta, A.; Kalivendi, S. V.; Sreedhar, B. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 6751.
- [17] Lv, Y. J.; Zhou, N.; Meng, Q. G. *J. Int. Pharm. Res.* **2008**, *35*, 377. (in Chinese). (吕玉健, 周宁, 孟庆国, 国际药学杂志, **2008**, *35*, 377.)
- [18] Liu, H. C.; Dong, A. J.; Gao, C. M.; Jiang, Y. Y. *Prog. Chem.* **2009**, *21*, 1500 (in Chinese). (刘华臣, 董爱君, 高春梅, 蒋宇扬, 化学进展, **2009**, *21*, 1500.)

(Qin, X.)