4-二甲氨基黄酮衍生物的合成及其活性评价

苏亚彬 洪琛 李骞 罗稳* 王超杰*

(河南大学 天然药物与免疫工程重点实验室 开封 475004)

摘要 设计合成了 10 个 4-二甲氨基黄酮衍生物, 产物结构均经 ^1H NMR, ESI-MS 和元素分析确认. 采用噻唑蓝(MTT)法测试了化合物对 HepG2(人肝癌细胞)的抑制作用, 结果表明目标化合物在 30 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 HepG2 细胞损伤均有一定的抑制作用, 大部分化合物优于对照药物槲皮素, 其中化合物 **5c**, **5e**, **5f** 和 **5j** 活性最强, 抑制率分别为 91.0%, 90.1%, 95.7%和 92.1%, 而且化合物 **5f** 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 HepG2 的抑制率为 93.1%, 具有深入研究的价值.

关键词 黄酮; 衍生物; 合成; 抗肿瘤

Synthesis and Biological Evaluation of 4-Dimethylamino Flavonoid Derivatives

Su, Yabin Hong, Chen Li, Qian Luo, Wen* Wang, Chaojie*

(Key Laboratory of Natural Medicine and Immuno-Engineering of Henan Province, Henan University, Kaifeng 475004)

Abstract Ten novel 4-dimethylamino flavonoid derivatives were designed and synthesized. The structures of these compounds were confirmed by ^1H NMR, ESI-MS and elemental analysis. Their preliminary antitumor activity was evaluated by measuring their cytotoxic activity against the HepG2 cell line using thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) assay. All ten compounds exhibited potent antitumor activity at 30 $\mu\text{mol/L}$. Some of the compounds displayed higher activity than the reference compound, quercetin. Compounds **5c**, **5e**, **5f** and **5j** were the most potent with inhibition rates of 91.0%, 90.1%, 95.7% and 92.1%, respectively. Moreover, compound **5f** at 10 $\mu\text{mol/L}$ showed an inhibition rate of 93.1%. Further investigation is needed.

Keywords flavonoid; derivative; synthesis; antitumor

黄酮(Flavonoids)是一类普遍存在于自然界的天然产物, 具有抗肿瘤^[1]、抗氧化^[2]、抗病毒^[3]、抗真菌^[4]等多种生理活性, 而且黄酮性质温和、毒副作用较低^[5], 在医药领域具有广阔的应用前景. 黄酮衍生物的合成及其生物活性方面的研究一直十分活跃, 特别是在预防慢性疾病和发病机制复杂的疾病, 如肿瘤、阿尔茨海默症等方面引起了人们广泛关注^[6]. 然而天然黄酮常常存在活性不够强、水溶性不好、生物利用度差等缺点, 因此对其结构改造和修饰一直是药物化学领域的研究热点.

我们实验室长期以来一直从事抗肿瘤药物的研究^[7,8], 而且前期报道了一些具有较强抗肿瘤作用的黄酮类衍生物^[9,10]. 近来, 我们在进行体外抗肿瘤活性筛选时, 发现 4-二甲氨基黄酮衍生物具有较好的抑制肿瘤

细胞增值活性, 而且此类黄酮衍生物具有较好的水溶性. 因此本文报道了 10 个新的 4-二甲氨基黄酮衍生物的合成及其初步的抗肿瘤活性评价, 希望对今后黄酮类抗肿瘤药物的设计提供依据. 其合成路线见图 1.

1 结果与讨论

1.1 合成与结构

我们曾尝试查尔酮路线合成黄酮母核 **3**, 以 2,4-二羟基苯乙酮为起始原料, 在碱性条件下与芳香醛缩合^[11], 然而由于酚羟基的存在, 收率很低, 小于 10%. 我们曾参考文献^[12]方法, 以硼酸为催化剂合成查尔酮, 产率有所提高, 为 41%, 但是蒸干溶剂后为红色粘稠固体, 萃取时乳化严重, 而且需要柱层析分离. 所得

* E-mail: luowen83@hehu.edu.cn

Received September 26, 2013; revised October 29, 2013; published online November 5, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21172053, 21302041), the Postdoctoral Science Foundation of China (No. 2012M521391) and the Postdoctoral Science Foundation of Henan Province (No. BH2011043).

国家自然科学基金(Nos. 21172053, 21302041)、中国博士后基金(No. 2012M521391)、河南省博士后基金(No. BH2011043)资助项目.

图1 黄酮衍生物的合成路线
Figure 1 Synthesis of flavonoid derivatives

到的查尔酮在碘和浓硫酸的催化下关环, 没有得到预期产物 **3**。因此我们通过文献调研^[13], 选择本文采用的路线进行黄酮母核 **3** 的合成, 产率较高, 处理方便。

图1路线是以廉价的间苯二酚 **1** 为起始原料, 在氯化锌、盐酸气体作用下与氯乙腈反应, 后水解生成化合物 **2**, 产率 87%, 纯度较高, 水重结晶后可直接进行下一步反应。化合物 **2** 在乙醇中, 稀氢氧化钠存在下, 与 4-二甲氨基苯甲醛反应, 直接生成黄酮母核 **3**, 产率为 92%, 乙醇重结晶, 直接用于下一步反应。黄酮母核 **3** 在丙酮中, 无水碳酸钾的作用下与过量的二溴烷烃作用, 生成中间体 **4a~4d**, 柱层析产品损失较多, 因此采用乙醇重结晶方法提纯。目标化合物 **5a~5j** 的合成是将中间体 **4a~4d** 加入到乙腈中, 在无水碳酸钾和不同的仲胺反应生成, 产率 46%~88%, 用氯仿/甲醇/氨水柱层析可得到纯品, 部分化合物需要再用乙醇重结晶。

由 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据可以确定化合物的结构, 元素分析结果显示 C, H, N 元素含量均在误差范围内。质谱分子离子峰也显示出与预期相符的结果。

1.2 生理活性测试

采用噻唑蓝(MTT)法^[14]测试了化合物 **5a~5j** 对人肝癌细胞 HepG2 的体外抑制率, 测试浓度为 10 和 30 $\mu\text{mol/L}$, 槲皮素作为对照药物, 结果如表 1 所示。由表可以看出, 化合物 **5a~5j** 和槲皮素在测试浓度下对 HepG2 细胞均有不同程度的抑制作用, 且呈浓度依赖性; 大部分化合物的活性高于对照药物槲皮素, 其中化合物 **5c**, **5e**, **5f** 和 **5j** 活性最好, 30 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下损伤抑制率分别为 91.0%, 90.1%, 95.7%和 92.1%, 化合物 **5f** 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下抑制率仍为 93.1%, 具有深入研究的价值。

表1 化合物 **5a~5j** 对 HepG2 细胞抑制率

Table 1 The inhibition activity of compounds **5a~5j** for HepG2 cell lines *in vitro*

Compd.	<i>n</i>	NR ¹ R ²	抑制率 ^a	
			10 $\mu\text{mol/L}$	30 $\mu\text{mol/L}$
5a	4		19.9±4.1	77.3±3.8
5b	4		15.6±6.2	76.5±9.4
5c	6		41.2±8.3	91.0±3.8
5d	6		0.6±0.5	35.0±3.8
5e	8		51.7±9.7	90.1±2.7
5f	8		93.1±1.3	95.7±0.5
5g	8		14.9±1.2	26.2±1.0
5h	8		2.8±0.4	7.8±1.1
5i	10		7.0±0.8	18.5±4.9
5j	10		17.3±2.9	92.1±1.6
Quercetin	—	—	16.5±1.2	33.2±2.8

^a抑制率 = $(A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$, 每个实验平行测 3 次, 取平均值。

比较化合物的结构与活性, 可以发现, 碳链的长度

对化合物的活性有影响, 链中碳的个数在 8 的时候活性最好, 如化合物 **5e** 和 **5f**, 太长或太短均使活性降低. 长链末端的取代基对活性也有影响, 碳链相同时, 二乙胺和吡咯烷取代的化合物活性优于哌啶和 *N*-甲基苄胺取代的化合物.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Bruker AV-400 型核磁共振仪(美国); Esquire3000 型 LC-MS 质谱仪(德国); X-6 型显微熔点仪(中国, 温度计未校正); VarioEL III 型元素分析仪(德国); WFH-204B 型手提式紫外灯; BIO-TEKELX-800 型酶标仪(美国); XD-101 型倒置生物显微镜(中国); H-B11600 型电热恒温培养箱(中国).

间苯二酚、氯乙腈、4-二甲氨基苯甲醛(上海阿拉丁试剂有限公司), 槲皮素(中国药品生物制品检定所), 硅胶(青岛海浪硅胶厂, 200~300 目, HepG2 细胞(中国科学院上海细胞库), 其他试剂均为市售分析纯, 未做进一步处理.

2.2 合成部分

2.2.1 2-氯-1-(2,4-二羟基苯基)乙酮(**2**)的合成

将间苯二酚(11.3 g, 0.1 mol)、氯乙腈(15.1 g, 0.2 mol)与无水氯化锌(5.4 g, 0.4 mol)混合, 加入无水乙醚 50 mL, 用冰盐浴冷却, 通入干燥的氯化氢气体, 2 h 后将反应瓶于冰箱中放置 1 d, 再通氯化氢 2 h, 冰箱中放置 3 d, 倾出乙醚, 用热水把粗提物转到圆底烧瓶中, 回流 1 h, 静置过夜, 过滤, 滤饼用水重结晶, 得化合物 **3** (16.2, 87%).

2.2.2 4-二甲氨基黄酮(**3**)的合成

将化合物 **2** (1.9 g, 10.0 mmol)与 4-二甲氨基苯甲醛(1.5 g, 20.0 mmol)混合, 加入 95%乙醇 40 mL, 搅拌下滴加 10% NaOH (15 mL), 室温下反应 2 d, 反应完毕, 用 10%盐酸调 pH=7, 再于室温下搅拌 6 h, 抽滤, 滤饼用 95%乙醇重结晶, 得黄酮母核 **3** (2.5 g, 92%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.80 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.78 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.70 (dd, $J=8.4, 1.9$ Hz, 1H), 3.02 (s, 6H); MS (ESI) m/z : 282.1 ($M+H$) $^+$.

2.2.3 中间体 **4a~4e** 的合成通法

将化合物 **3** (0.56 g, 2.0 mmol), 无水 K_2CO_3 (1.38 g, 10.0 mmol), 二溴烷烃(6.0 mmol)加入到 10 mL 丙酮中, 加热回流 10 h, TLC 检测反应至原料消失. 减压蒸除溶剂, 加入 30 mL 水, 乙酸乙酯萃取 3 次, 无水 Na_2SO_4 干燥后, 蒸干溶剂, 乙醇重结晶得中间体 **4a~4e**, 不用提

纯直接用于下一步反应.

2.2.4 目标化合物 **5a~5j** 的合成通法

将 **4a~4e** (1.0 mmol)溶于 10 mL 乙腈中, 加入无水 K_2CO_3 (0.69 g, 5.0 mmol)和不同的仲胺(2.0 mmol), 60 $^\circ\text{C}$ 搅拌 8 h, 反应完毕, 减压蒸除溶剂, 加入 30 mL 氯仿, 依次用水和饱和食盐水洗涤, 有机层用无水 Na_2SO_4 干燥, 蒸干溶剂, 氯仿/甲醇/氨水(30:1:0.5%)柱层析, 然后乙醇重结晶可得目标化合物 **5a~5j**.

7-[4-(二乙基氨基)丁氧基]-2-[4-(二甲氨基)苯基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5a**): 产率 61%. 黄色固体, m.p. 114~116 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.83 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.79~6.71 (m, 4H), 4.10 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.07 (s, 6H), 2.60~2.48 (m, 6H), 1.86 (dd, $J=14.5, 6.9$ Hz, 2H), 1.83~1.64 (m, 2H), 1.05 (t, $J=7.1$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.60, 167.69, 166.24, 151.09, 145.90, 133.28, 125.39, 120.11, 115.42, 113.87, 112.13, 111.90, 96.85, 68.64, 58.33, 52.46, 46.81, 40.11, 27.08, 23.53, 18.48, 11.67; MS (ESI $^+$) m/z : 409.1 [$M+H$] $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$: C 73.50, H 7.90, N 6.86; found C 73.54, H 7.90, N 6.76.

7-[4-(吡咯烷-1-基)丁氧基]-2-[4-(二甲基氨基)苯基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5b**): 产率 56%. 黄色固体, m.p. 124~126 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.82 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.79~6.69 (m, 4H), 4.10 (t, $J=6.4$ Hz, 2H), 3.07 (s, 6H), 2.53 (t, $J=7.1$ Hz, 6H), 1.91~1.70 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.56, 167.66, 166.21, 151.07, 145.88, 133.27, 125.34, 120.08, 115.41, 113.84, 112.13, 111.88, 96.84, 68.55, 56.02, 54.23, 40.09, 27.09, 25.47, 23.42; MS (ESI $^+$) m/z : 407.1 [$M+H$] $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0.4\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 0.1\text{CHCl}_3$: C 71.20, H 7.50, N 6.41; found C 71.46, H 7.23, N 6.44.

7-[6-(二乙基氨基)己氧基]-2-[4-(二甲氨基)苯基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5c**): 产率 60%. 黄色固体, m.p. 109~112 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.82 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.78~6.69 (m, 4H), 4.07 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 3.07 (s, 6H), 2.54 (q, $J=7.2$ Hz, 4H), 2.48~2.40 (m, 2H), 1.87~1.82 (m, 2H), 1.56~1.47 (m, 4H), 1.42~1.36 (m, 2H), 1.04 (t, $J=7.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.56, 167.68, 166.28, 151.07, 145.90, 133.26, 125.35, 120.12, 115.40, 113.80, 112.13, 111.89, 96.83, 68.74, 52.85, 46.90, 40.10, 28.98, 27.43, 26.99, 26.00, 11.69; MS (ESI $^+$) m/z : 437.3 [$M+H$] $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$: C 74.28, H 8.31, N

6.42; found C 74.53, H 8.33, N 6.41.

7-[6-(吡咯烷-1-基)己氧基]-2-[4-(二甲基氨基)苯基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5d**): 产率 88%. 黄色固体, m.p. 139~141 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.75 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.64 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 6.77 (s, 1H), 6.67 (d, $J=9.3$ Hz, 4H), 3.99 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 2.99 (s, 6H), 2.48 (d, $J=6.4$ Hz, 4H), 2.46~2.39 (m, 2H), 1.86~1.67 (m, 6H), 1.56~1.50 (m, 2H), 1.48~1.42 (m, 2H), 1.41~1.31 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.47, 167.62, 166.24, 151.03, 145.83, 133.24, 125.26, 120.02, 115.34, 113.82, 112.12, 111.84, 96.78, 68.70, 56.51, 54.23, 40.04, 28.91, 27.40, 25.94, 23.37; MS (ESI^+) m/z : 435.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0.4\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot 0.1\text{CHCl}_3$: C 72.07, H 7.91, N 6.03; found C 72.55, H 7.70, N 6.25.

2-[4-(二甲基氨基)苯基]-7-[8-(二乙基氨基)辛氧基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5e**): 产率 65%. 黄色固体, m.p. 100~102 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.83 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.77~6.70 (m, 4H), 4.07 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 3.07 (s, 6H), 2.57 (q, $J=7.1$ Hz, 4H), 2.49~2.42 (m, 2H), 1.89~1.80 (m, 2H), 1.48 (d, $J=7.1$ Hz, 4H), 1.37~1.31 (m, 8H), 1.05 (t, $J=7.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.58, 167.71, 166.32, 151.09, 145.92, 133.26, 125.37, 120.16, 115.40, 113.79, 112.13, 111.91, 96.84, 68.81, 52.94, 46.86, 40.10, 29.52, 29.30, 28.97, 27.63, 26.89, 25.93, 11.57; MS (ESI^+) m/z : 465.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0.4\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$: C 74.09, H 8.85, N 5.80; found C 74.02, H 8.68, N 5.81.

2-[4-(二甲基氨基)苯基]-7-[8-(吡咯烷-1-基)辛氧基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5f**): 产率 61%. 黄色固体, m.p. 89~91 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.80 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.76~6.65 (m, 4H), 4.04 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 3.04 (s, 6H), 2.51 (s, 4H), 2.46~2.37 (m, 2H), 1.87~1.74 (m, 6H), 1.57~1.43 (m, 4H), 1.35 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.53, 167.68, 166.31, 151.08, 145.90, 133.25, 125.33, 120.14, 115.39, 113.77, 112.12, 111.90, 96.84, 68.80, 56.67, 54.24, 40.07, 29.48, 29.24, 29.01, 28.96, 27.64, 25.91, 23.40; MS (ESI^+) m/z : 463.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_3$: C 75.29, H 8.28, N 6.06; found C 74.98, H 8.28, N 5.93.

2-[4-(二甲基氨基)苯基]-7-[8-(哌啶-1-基)辛氧基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5g**): 产率 63%. 黄色固体, m.p. 130~132 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.83 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.70 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.79~6.68 (m, 4H), 4.07 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 3.07 (s, 6H), 2.36 (d,

$J=28.0$ Hz, 4H), 2.29 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 1.88~1.79 (m, 2H), 1.65~1.58 (m, 4H), 1.56~1.43 (m, 6H), 1.40~1.29 (m, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.55, 167.69, 166.31, 151.08, 145.91, 133.25, 125.34, 120.15, 115.39, 113.77, 112.12, 111.90, 96.84, 68.80, 59.66, 54.68, 40.09, 29.50, 29.25, 28.97, 27.68, 26.94, 26.00, 25.91, 24.51; MS (ESI^+) m/z : 477.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_3$: C 75.59, H 8.46, N 5.88; found C 74.97, H 8.47, N 5.76.

7-[8-(苄基(甲基)氨基)辛氧基]-2-[4-(二甲氨基)苯基]-4*H*-苯并吡喃-4-酮(**5h**): 产率 46%. 黄色固体, m.p. 80~82 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.81 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.68 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J=4.4$ Hz, 4H), 7.24 (d, $J=4.3$ Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.76~6.71 (m, 4H), 4.05 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 3.48 (s, 2H), 3.05 (s, 6H), 2.45~2.29 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.87~1.78 (m, 2H), 1.51~1.47 (m, 4H), 1.34 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.57, 167.71, 166.33, 151.10, 145.93, 133.27, 129.11, 128.21, 126.93, 125.37, 120.16, 115.41, 113.79, 112.14, 111.92, 96.86, 68.82, 62.31, 57.50, 42.26, 40.10, 29.47, 29.31, 28.98, 27.35, 25.93; MS (ESI^+) m/z : 513.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0.4\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$: C 76.44, H 8.05, N 5.27; found C 76.46, H 7.95, N 5.27.

7-[10-(二乙基氨基)癸氧基]-2-[4-(二甲氨基)苯基]-4*H*-色烯-4-酮(**5i**): 产率 58%. 黄色固体, m.p. 101~102 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.91~7.76 (m, 2H), 7.76~7.62 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.81~6.68 (m, 4H), 4.06 (t, $J=6.6$ Hz, 2H), 3.06 (s, 6H), 2.53 (q, $J=7.2$ Hz, 4H), 2.43~2.39 (m, 2H), 1.92~1.75 (m, 2H), 1.46~1.42 (m, 4H), 1.40~1.26 (m, 10H), 1.03 (t, $J=7.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.56, 167.71, 166.33, 151.09, 145.93, 133.25, 125.36, 120.18, 115.41, 113.74, 112.12, 111.91, 96.85, 68.83, 53.03, 46.90, 40.09, 29.63, 29.55, 29.51, 29.33, 28.99, 27.73, 27.03, 25.96, 11.68; MS (ESI^+) m/z : 493.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_3$: C 75.57, H 9.00, N 5.69; found C 75.25, H 9.03, N 5.54.

7-[10-(吡咯烷-1-基)癸氧基]-2-[4-(二甲氨基)苯基]-4*H*-色烯-4-酮(**5j**): 产率 47%. 黄色固体, m.p. 98~100 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.81 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 7.68 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.76~6.69 (m, 4H), 4.05 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 3.05 (s, 6H), 2.54 (s, 4H), 2.48~2.42 (m, 2H), 1.87~1.75 (m, 6H), 1.58~1.43 (m, 4H), 1.35~1.31 (m, 10H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.58, 167.70, 166.32, 151.07, 145.90, 133.26, 125.35, 120.12, 115.37, 113.81, 112.15, 111.89, 96.82, 68.82,

56.70, 54.24, 40.10, 29.57, 29.50, 29.32, 28.97, 28.93, 27.69, 25.95, 23.38; MS (ESI⁺) m/z : 491.3 [M+H]⁺. Anal. calcd for C₃₁H₄₂N₂O₃•0.5C₂H₅OH: C 74.82, H 8.83, N 5.45; found C 74.88, H 8.57, N 5.71.

2.2.4 体外抗肿瘤活性测试

使用MTT染色法对合成的黄酮衍生物对HepG2(人肝癌细胞)进行了体外抗肿瘤活性的初步筛选,以槲皮素为阳性对照药物。取对数生长周期的肿瘤细胞,调整细胞数为 5×10^3 个/mL加于96孔培养板中,每孔100 μ L,分样品组、对照组和空白组,每组4个复孔。于饱和湿度,5% CO₂, 37 °C条件下培养48 h,每孔加入5 mg/mL MTT溶液10 μ L,继续培养4 h后,弃去上清液,小心用PBS冲洗3遍,然后每孔加入DMSO 100 μ L,置摇床上低速震荡10 min,使结晶充分溶解。用酶联免疫检测仪于570 nm测量各孔的吸光值。由公式:抑制率 = $(A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$ 来计算不同浓度的抑制率,实验重复3次,取平均值。

References

- [1] Fang, X.-W.; Zhou, L.-Z.; Chen, Z.; Yang, M.-P.; Yang, B.-Q. *Chin. J. Org. Chem.* **2013**, *33*, 523 (in Chinese). (方线文, 周丽珍, 成昭, 杨美盼, 杨秉勤, 有机化学, **2013**, *33*, 523.)
- [2] Hyun, J.; Woo, Y.; Hwang, D.-S.; Jo, G.; Eom, S.; Lee, Y.; Park, J. C.; Lim, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5510.
- [3] Casano, G.; Dumetre, A.; Pannecouque, C.; Hutter, S.; Azas, N.; Robin, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6012.
- [4] Fang, F.; Huang, W.-D. *J. Nucl. Agric. Sci.* **2011**, *25*, 313 (in Chinese). (方芳, 黄卫东, 核农学报, **2011**, *25*, 313.)
- [5] Dong, X.-W. *Ph.D. Dissertation*, Zhejiang University, Hangzhou, **2009** (in Chinese). (董晓武, 博士论文, 浙江大学, 杭州, **2009**.)
- [6] Yan, X.; Liu, H.-Q.; Zou, Y.-Q.; Ren, Z.-H. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1534 (in Chinese). (延玺, 刘会青, 邹永青, 任占华, 有机化学, **2008**, *28*, 1534.)
- [7] Xie, S.-Q.; Li, Q.; Zhang, Y.-H.; Wang, J.-H.; Mei, Z.-H.; Zhao, J.; Wang, C.-J. *Apoptosis* **2011**, *16*, 27.
- [8] Wang, Y.-X.; Zhang, X.-B.; Zhao, J.; Xie, S.-Q.; Wang, C.-J. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3502.
- [9] Zhao, J.; Liu, Y.; Zheng, M.-H.; Xie, S.-Q.; Wang, C.-J. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 84 (in Chinese). (赵瑾, 刘洋, 郑梅花, 谢松强, 王超杰, 有机化学, **2008**, *28*, 84.)
- [10] Zheng, M.-H.; Gan, Y.; Xie, S.-Q.; Wang, C.-J.; Zhao, J. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, *29*, 1445 (in Chinese). (郑梅花, 甘莹, 谢松强, 王超杰, 赵瑾, 有机化学, **2009**, *29*, 1445.)
- [11] Chen, W.-M.; Guo, H.-X. *Chin. J. Synth. Chem.* **1999**, *7*, 422 (in Chinese). (陈万木, 郭宏雄, 合成化学, **1999**, *7*, 422.)
- [12] Guan, L.-P.; Yin, X.-M.; Quan, H.-M.; Quan, Z.-S. *Chin. J. Org. Chem.* **2004**, *24*, 1274 (in Chinese). (关丽萍, 尹秀梅, 全红梅, 全哲山, 有机化学, **2004**, *24*, 1274.)
- [13] Hu, Y.; Yang, Y.; Yu, Y.; Wen, G.; Shang, N.; Zhuang, W.; Lu, D.; Zhou, B.; Liang, B.; Yue, X.; Li, F.; Du, J.; Bu, X. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6033.
- [14] Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55.

(Li, L.; Lu, Z.)