8-异戊基取代的黄酮类化合物的合成及其抑制 MDA-MB-231 细胞增殖的活性评价

涂浪^{a,b} 麻巧宁^a 寇鑫晖^a 孙萍^{*,b,c} 杨永华^a 雷新胜^{*,a}

(^a 复旦大学药学院 上海 201203)

(^b 江西中医药大学药学院 南昌 330004)

(^c 江中药业股份有限公司 南昌 330096)

摘要 以 3,5-二甲氧基苯酚为起始原料, 经 5~6 步反应, 合成了 8-异戊基取代的 8 个桑皮素类似物, 经体外对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制作用测试. 结果显示: 相对于槲皮素(IC₅₀ 69.3 μmol/L), 桑皮素具有较大的抑制活性(IC₅₀ 22.5 μmol/L); 将桑皮素分子结构中的稠合环醚打开, 即在 8 位引入异戊基、且对酚羟基甲醚化可进一步提高活性(IC₅₀ 12.1 μmol/L); 在 3 位上分别引入不同大小的疏水性基团(氢、苄基、烯丙基和异戊烯基)可保持高活性; 5 位引入疏水性基团可能是有利的; B 环对位的甲氧基对活性影响显著; 最高活性化合物 **7g** 的 IC₅₀ 值达到 8.26 μmol/L.

关键词 槲皮素; 异戊烯基黄酮; 桑皮素; 合成; 细胞毒性

Synthesis of 8-Pentanyl Flavonoids and Evaluation of Their Inhibition against MDA-MB-231 Cell Proliferation

Tu, Lang^{a,b} Ma, Qiaoning^a Kou, Xinhui^a Sun, Ping^{*,b,c}

Yang, Yonghua^a Lei, Xisheng^{*,a}

(^a School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203)

(^b School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004)

(^c Jiangzhong Pharmaceutical Co., Ltd, Nanchang 330096)

Abstract Starting from 3,5-dimethoxyphenol, eight morusin analogues bearing *iso*-pentanyl at the C-8 position have been synthesized through 5~6 steps, and their inhibitory activities against MDA-MB-231 cell proliferation have been evaluated *in vitro*. The tested results indicated: (1) morusin displayed more potent activity than quercetin (IC₅₀: 22.5 μmol/L vs 69.3 μmol/L); (2) the activity could be increased (IC₅₀: 12.1 μmol/L) if the cycloolefin ether in morusin was disconnected, namely, *iso*-pentanyl was installed at the C-8 position, and all the phenolic hydroxyl groups were methoxylated; (3) the potent activity could be retained when the substituent at C-3 position was replaced by the different bulky hydrophobic groups (H, Bn, allyl and prenyl), respectively; (4) the introduction of the hydrophobic groups to the C-5 position might be favorable to the inhibitory activity; (5) the *para* methoxy group at B cycle in the flavonoid seemed to have an important effect on the activity; (6) finally, the most potent compound was **7g** with IC₅₀ value of 8.26 μmol/L.

Keywords quercetin; prenylflavonoids; morusin; synthesis; cytotoxicity

黄酮(flavonoids)是广泛存在于植物王国中的一大类活性天然产物, 至今从中草药中已分离得到约 6500 个黄酮类化合物, 它们结构类型复杂多样、药理活性丰富而独特以及对人体无害或低毒, 因此一直受到天然产物化学、药物化学和药理学等领域研究者的高度重视^[1].

但黄酮类活性天然产物往往作用靶点多、活性不够强, 加之在水溶解性和脂溶性等方面不良的理化性质^[2], 因此限制了它们的药物开发和临床应用. 尽管如此, 随着槲皮素(quercetin, 图 1)和芦丁的临床应用以及半合成的黄酮类化合物弗拉平度(flavopiridol)进入 II 期临床研

* E-mail: leixs@fudan.edu.cn; sp@jzjt.com

Received January 12, 2015; revised March 3, 2015; published online March 9, 2015.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21472024).

国家自然科学基金(No. 21472024)资助项目.

究^[3], 黄酮类天然产物的开发也逐渐引起学者们的关注, 尤其是关于结构与独特活性的相关性研究.

异戊烯基黄酮类化合物作为天然黄酮中的一类, 迄今已发现超过 400 余种, 它们常作为植物防卫素, 在植物抵御外来生物的侵袭过程中发挥重要作用, 近年来, 药理研究发现新型的异戊烯基黄酮类化合物也表现出多种药理活性^[4], 尤其是在抗肿瘤活性方面, 如 Manosroi 等^[5]发现 8-异戊烯基型黄酮化合物(8-prenyl-naringenin, 图 1)对 HL60、A549 及 SKBR-3 细胞有显著的细胞毒作用; Ishibashi 等^[6]报道 3,6,8-三异戊烯基型黄酮 artoheterophyllin D 和 heterophyllin 是肿瘤坏死因子(TNF)诱导细胞凋亡的配体, 可选择性地杀死癌细胞; Lee 等^[7]发现 3,6-二异戊烯基型黄酮 cudraflavone B 可以抑制 OSCC 细胞的有丝分裂; Dat 等^[8]发现 3,8-二异戊烯基型黄酮 cyclomulberrin、cyclomorusin、morusin 等对 HeLa、MCF-7、Hep3B 癌细胞具有强的细胞毒作用; Shimizu 课题组^[9]在该领域做了许多的工作, 他们发现数十个在 3、6 或 8 位上有一个或多个异戊烯基的黄酮化合物对多种癌细胞具有细胞毒作用; 侯爱君课题组^[10]也有类似发现. 它们显著的抗肿瘤活性可能是由

于 C-异戊烯基化增强了分子的亲脂性以及生物膜的亲和性, Barron 和 Higashiyama 等^[11]的工作证实 C-异戊烯基化可以明显改善黄酮的抗肿瘤活性.

在异戊烯基黄酮类天然产物中, 值得注意的是桑皮素(morusin, 图 1), 一种桑科植物中富含的异戊烯基黄酮化合物, 它与槲皮素类似, 对人的某些癌细胞具有广谱的细胞毒作用, 如结肠癌 HT-29、乳腺癌 MCF-7、人肝癌 Hep3B、宫颈癌 HeLa 细胞等^[12]. 与槲皮素(quercetin, 图 1)不同的是, 桑皮素的 3 位是羟基而不是羰基, 即其结构特征是在 3、8 位有二个异戊烯基, 其中 8 位的异戊烯基与 7 位的酚羟基环合形成环醚(图 2). 2010 年 Lee 课题组^[13]首次完成了它的全合成, 但对桑皮素的结构改造及其抗肿瘤活性的研究尚未见报道. 最近, 周英课题组^[14]合成并初步研究了一些 C-或 O-烷基化黄酮的抗肿瘤活性, 研究结果提示: 酚羟基可以甲醚化而不影响抗肿瘤活性; 3 位可允许不同大小的烷基; 环醚内的双键不是必要的. 为此, 我们设计将桑皮素中与 A 环耦合的环醚打开, 在 8 位引入异戊基, 减少其刚性结构; 芳环上的酚羟基甲醚化, 或仅保留 A 环 5 位的酚羟基, 避免因其抗氧化等活性而引起脱靶效应(off-

图 1 槲皮素和一些代表性的异戊烯基黄酮类化合物结构式
Figure 1 The structures of quercetin and some representative prenylflavonoids

target effect); 将 B 环上的甲氧基置于不同位置, 以及在 3 位引入不同大小的烃基, 通过这些结构改造, 初步考查其对抗肿瘤活性的影响, 设计的目标分子如图 2 所示.

图 2 设计的桑皮素类似物分子结构式

Figure 2 Structures of the designed morusin analogues

1 结果与讨论

目标分子的合成路线如 Scheme 1. 即以 3,5-二甲氧基苯酚(**1**)为起始原料, 在三氯化硼的催化下, 与异戊酰氯经傅-克酰基化反应, 在酚羟基邻位引入异戊酰基, 得到化合物 **2**; 随后尝试室温酸性条件下 Pd/C 催化氢化法, 将化合物 **2** 的酮羰基还原成亚甲基, 但经多次实验, 反应太慢、效果不佳, 于是, 采用三乙基硅氢在三氟乙酸存在下还原酮羰基, 顺利制备化合物 **3**; 接着, 化合物 **3** 经傅-克酰基化反应, 可在酚羟基邻位引入乙酰基, 产生化合物 **4**; 尝试用经典的 Baker-Venkataraman 反应条件($\text{ArCOCl/Pyridine, KOH/pyridine}$)^[15], 由化合物 **4** 制

备 β -二酮类化合物 **5**, 但反应效果不良, 后经改进的反应条件^[13], 即化合物 **4** 用 LDA 处理后, 分别在低温下与取代的苯甲酰氯反应, 可以制备 β -二酮类化合物 **5a**~**5c**. 核磁数据显示分离纯化的 **5a**~**5c** 存在明显的烯醇式和酮式异构体, 且烯醇式异构体为主要成分; β -二酮类化合物在碱性条件下分别与卤代烃反应, 可在亚甲基上引入不同烃基, 所得粗品可不经纯化, 直接在酸性条件下发生分子内环合, 得到黄酮类目标产物 **7a**, **7b**, **7c**, **7e**, **7g**, **7h**; 化合物 **7c** 和 **7e** 经三溴化铝作用, 选择性地将 5 位甲氧基脱除甲基, 产生相应的酚羟基 **7d** 和 **7f**. 所有化合物经 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 、MS-ESI 表征, 目标化合物 **7a**~**7h** 另经 HRMS (ESI) 表征, 确认其分子结构.

基于槲皮素(querccetin)具有广谱、确切的抗肿瘤活性以及商业上易得, 于是以槲皮素为阳性对照品, 初步评价桑皮素(morusin)及其合成目标物的体外抗肿瘤活性. 体外抗肿瘤活性采用 CCK8 法, 考察测试化合物对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制作用, 计算 8 个药物浓度下相对细胞增殖抑制率, 通过 SPSS 软件拟合抑制率曲线后计算得出 IC_{50} 值, 结果如表 1 所示.

从表 1 中可以发现, 相对于槲皮素(IC_{50} 69.3 $\mu\text{mol/L}$), 桑皮素在黄酮的 3 位引入异戊烯基、8 位引入异戊烯基且与 7 位的酚羟基稠合形成环醚后, 对肿瘤细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制活性提高至 3 倍(IC_{50} 22.5 $\mu\text{mol/L}$); 将桑皮素分子结构中的稠合环醚打开, 即在黄酮 8 位引入异戊基、且对酚羟基甲基化后, 抑制活性

Reagents and conditions: (a) BCl_3 , $\text{Me}_2\text{CHCH}_2\text{COCl}$, CH_2Cl_2 , 0 $^\circ\text{C}$ ~r.t., 3 h, reflux; (b) $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SiH}$, CF_3COOH , r.t., overnight; (c) CH_3COCl , BCl_3 , CH_2Cl_2 , 0 $^\circ\text{C}$ ~r.t., 3 h, reflux; (d) ArCOCl , LDA, THF, -25 $^\circ\text{C}$, 1 h, -78 $^\circ\text{C}$, 3 h; (e) R^2Br , K_2CO_3 , DMF, r.t., overnight; (f) AcOH , conc. H_2SO_4 , r.t., 1.5 h; (g) AlBr_3 , CH_3CN , r.t., 1.5 h.

图式 1 目标化合物的合成路线

Scheme 1 The synthetic route of target compounds

表 1 桑皮素及其类似物 **7a~7h** 对体外肿瘤细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制活性

Table 1 The inhibitory activities of morusin and its analogues **7a~7h** against MDA-MB-231 cell proliferation *in vitro*

Compd.	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ /(μmol · L ⁻¹)
Quercetin	—	—	—	69.3
Morusin	—	—	—	22.5
7a	Me	CH ₂ CH=CMe ₂	2,4-(MeO) ₂	12.1
7b	Me	CH ₂ CO ₂ CH ₂ CH ₃	2,4-(MeO) ₂	46.4
7c	Me	H	2,4-(MeO) ₂	11.4
7d	H	H	2,4-(MeO) ₂	29.4
7e	Me	CH ₂ Ph	2,4-(MeO) ₂	11.1
7f	H	CH ₂ Ph	2,4-(MeO) ₂	>300
7g	Me	CH ₂ CH=CH ₂	4-MeO	8.26
7h	Me	CH ₂ CH=CH ₂	2-MeO	136

进一步提高(**7a**, IC₅₀ 12.1 μmol/L); 随后对 3 位的异戊烯基用类似大小的含酯基的烃基取代(**7b**, IC₅₀ 46.4 μmol/L), 活性有所降低, 但是用 H 或苄基取代后, 活性保持不变(**7c**, **7e**), 提示在 3 位上可以允许不同大小的疏水性基团存在, 而极性基团可能不利; 如果 5 位甲氧基用酚羟基替换后, 则活性有所降低(**7d**, **7f**), 尤其是当 3 位上同时带有大的疏水性基团时, 活性几乎消失(**7f**, IC₅₀>300 μmol/L), 说明 5 位甲氧基对活性有较大影响; 如果在 3 位引入烯丙基、保留 B 环对位的甲氧基、但去除邻位的甲氧基, 则不影响活性(**7g**, IC₅₀ 8.26 μmol/L), 反之, 如果保留 B 环邻位的甲氧基、但去除对位的甲氧基, 则活性显著降低(**7h**, IC₅₀ 136 μmol/L), 说明 B 环的对位甲氧基对保持活性是非常重要的。

2 结论

综上所述, 我们以 3,5-二甲氧基苯酚为起始原料, 经 5~6 步反应, 合成了 8-异戊基-3-羟基取代的 8 个桑皮素类似物, 考察了其对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制作用。发现桑皮素, 相对于槲皮素, 具有较大的抑制活性, 将桑皮素分子结构中的稠合环醚打开且对酚羟基甲醚化能明显提高活性; 另外, 发现在其 3 位上可以允许不同大小的疏水性基团存在; 5 位引入疏水性基团可能是有利的; B 环对位的甲氧基对活性影响显著, 最优化化合物的 IC₅₀ 值达到 8.26 μmol/L。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

¹H NMR(400 MHz)和 ¹³C NMR (100 MHz)谱用 Bruker 核磁共振仪检测, 氘代氯仿为溶剂, 四甲基硅为内标室温下测定; 质谱由 Agilent 1100 测得; 高分辨质谱使用 Bruker micro TOF II (ESI)测得; WC-1 型显微熔点仪测定熔点(温度未经校正)。薄层层析分析(TLC)通

过紫外、高锰酸钾、磷钼酸、碘缸等显色进行, 薄层层析板及柱层析用硅胶 H (300~400 目以及 100~200 目)均购自烟台黄海公司。

甲苯, THF, DMSO, 二氯甲烷, DMF 和乙醇等溶剂使用前均按标准操作进行无水无氧处理。柱层析所用溶剂乙酸乙酯和石油醚等为国药集团化学试剂公司的分析级纯度, 其他试剂主要购自 Acros, 国药, 阿拉丁, 韶远和安耐吉等几家国内试剂公司。

3.2 实验方法

3.2.1 用 Friedel-Crafts 酰化反应制备 1-(2-羟基-4,6-二甲氧基苯基)-3-甲基-1-丁酮(**2**)

250 mL 干燥的三口圆底瓶先装上冷凝管, 在氩气保护下, 于冰盐浴中冷却至 -5 °C 以下, 向其中加入预先冷却的 1 mol/L BCl₃ 的 CH₂Cl₂ 溶液(20 mmol, 20 mL); 溶解反应物 3,5-二甲氧基苯酚(3.08 g, 20 mmol)于 20 mL 的无水 CH₂Cl₂ 中, 将其滴入圆底瓶中, 升至室温并搅拌 15 min; 将异戊酰氯(26 mmol)溶于 10 mL 无水 CH₂Cl₂ 中, 缓慢滴入圆底瓶中, 滴加时间在 20 min 以上; 加毕, 将其放置 60 °C 油浴锅中, 小心加热回流 3 h, 随后冷却至室温, 用盐酸(20 mL, 1 mol/L)淬灭反应, CH₂Cl₂ 萃取(20 mL×3), 水洗(20 mL), 饱和食盐水洗涤(20 mL), 无水硫酸钠干燥过夜, 过滤, 减压浓缩, 残留物柱层析纯化[柱层析淋洗剂: V(石油醚): V(二氯甲烷)=2:1], 得白色固体 4.33 g, 收率 92%。R_f=0.66 [V(石油醚): V(乙酸乙酯)=3:1]。m.p. 49~51 °C(与文献值一致^[16]); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 14.17 (s, 1H, OH), 6.07 (d, J=2.4 Hz, 1H, Ar-H), 5.92 (d, J=2.4 Hz, 1H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 2.86 (d, J=6.7 Hz, 2H, COCH₂), 2.33~2.06 (m, 1H, CH), 0.97 (d, J=6.7 Hz, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 205.56, 167.71, 165.72, 162.55, 105.89, 93.57, 90.74, 55.49, 53.02, 25.29, 22.80; ESI-MS *m/z*: 239.0 [M+H]⁺。

3.2.2 制备 2-异戊基-3,5-二甲氧基苯酚(**3**)

在氩气保护的干燥的 100 mL 反应瓶中加入酰化物(11 mmol), 溶解于三氟乙酸(16 mL); 室温下搅拌, 缓慢滴加三乙基硅氢(4.5 mL, 28 mmol), 过夜反应完全后, 减压蒸除三氟乙酸, 部分残留用饱和碳酸氢钠溶液(70 mL)稀释, 乙酸乙酯萃取(50 mL×3), 水洗(50 mL), 饱和食盐水洗涤(50 mL), 无水硫酸钠干燥过夜, 过滤, 减压浓缩, 残留物柱层析纯化[柱层析淋洗剂: V(石油醚): V(二氯甲烷): V(甲醇)=20:10:0.1], 得白色固体 5.03 g, 收率 89%。R_f=0.56 [V(石油醚): V(乙酸乙酯)=5:1]; m.p. 55~57 °C(与文献值一致^[16]); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.08 (d, J=2.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.03 (d, J=2.0 Hz, 1H, Ar-H), 4.85 (s, 1H, OH), 3.77 (s, 3H,

OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 2.57~2.49 (m, 2H, CH₂), 1.63~1.51 (m, 1H, CH), 1.39~1.30 (m, 2H, CH₂), 0.94 (d, $J=5.8$ Hz, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 159.01, 158.80, 154.55, 109.57, 93.23, 91.26, 55.56, 55.24, 38.55, 28.15, 22.55, 20.53; ESI-MS m/z : 225.0 [M+H]⁺.

3.2.3 制备 1-(2-羟基-3-异戊基-4,6-二甲氧基苯基)-1-乙酮(4)

按照前文所述 Friedel-Crafts 酰化反应制备该化合物, 酰氯改用乙酰氯. 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=50:1:1$, 得淡黄色固体, 收率 63%. $R_f=0.73$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷})=1:1$]. m.p. 101~102 °C (与文献值一致^[17]); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 13.94 (s, 1H, OH), 5.94 (s, 1H, Ar-H), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 2.61 (s, 3H, COCH₃), 2.59~2.51 (m, 2H, CH₂), 1.62~1.50 (m, 1H, CH), 1.36~1.28 (m, 2H, CH₂), 0.93 (d, $J=6.4$ Hz, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 203.33, 163.56, 163.33, 161.48, 110.86, 105.74, 85.60, 55.37, 55.27, 38.05, 33.18, 28.20, 22.57, 20.06; ESI-MS m/z : 267.2 [M+H]⁺.

3.2.4 制备 β -二酮类化合物的一般程序

在氩气保护的干燥的 100 mL 反应瓶中加入取代的苯甲酸(4.8 mmol)和重蒸的二氯亚砷(15 mL), 加热回流 2 h 后冷却至室温, 减压蒸除二氯亚砷并用甲苯(10 mL $\times$ 2)蒸除残余二氯亚砷, 得到的酰氯化合物; 将酰氯溶解于 15 mL 无水四氢呋喃(THF)中备用.

在氩气保护下取另一个干燥的 100 mL 反应瓶, 加入乙酮类化合物(4 mmol)溶解于 10 mL 无水 THF 中, 冷却至-40 °C, 滴加 2.0 mol/L 的 5 mL LDA 溶液, 待升温至-25 °C 后冷却, 保持温度在 -30~-40 °C; 约 1 h 后继续冷却保持至-78 °C, 缓慢滴入备用酰氯溶液, 搅拌 3~4 h; 用盐酸(10 mL, 1 mol/L)淬灭反应, 升至室温; 用乙酸乙酯萃取(50 mL $\times$ 3), 水洗(50 mL $\times$ 2), 饱和食盐水洗涤(50 mL $\times$ 2), 无水硫酸钠干燥过夜, 过滤, 减压浓缩, 残留物柱层析得产品.

1-(2,4-二甲氧基苯基)-3-(2-羟基-3-异戊基-4,6-二甲氧基苯基)丙烷-1,3-二酮(5a): 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=35:5:7$, 黄色固体, 收率 54%(烯醇式/酮式=5/1). $R_f=0.72$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=2:1:1$]; m.p. 115~117 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 15.97 (s, 1H, C-OH), 13.63 (s, 0.2H, OH), 13.31 (s, 1H, OH), 7.94 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, Ar-H), 7.64 (s, 1H, CHCO), 6.57 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.49 (s, 1H, Ar-H), 6.43 (s, 0.2H, Ar-H), 5.98 (s, 1H, Ar-H), 5.87 (s, 0.2H, Ar-H), 4.50 (s, 0.2H, COCH₂CO), 3.92 (s, 6H, 2OCH₃), 3.86 (s, 6H,

2OCH₃), 3.75 (s, 0.6H, 2OCH₃), 3.60 (s, 0.6H, 2OCH₃), 2.65~2.49 (m, 2H, CH₂), 1.61~1.51 (m, 1H, CH), 1.40~1.30 (m, 2H, CH₂), 0.94 (d, $J=6.4$ Hz, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 200.26, 193.89, 193.80, 174.08, 164.90, 163.72, 163.61, 163.53, 162.77, 162.52, 160.98, 160.87, 160.25, 160.16, 132.98, 131.56, 120.19, 116.26, 111.56, 111.17, 105.66, 105.52, 105.15, 104.96, 102.27, 98.93, 98.27, 86.72, 85.79, 60.13, 55.71, 55.66, 55.63, 55.53, 55.44, 55.34, 38.29, 38.16, 28.37, 28.31, 22.74, 20.42, 20.20; ESI-MS m/z : 431.2 [M+H]⁺.

1-(2-羟基-3-异戊基-4,6-二甲氧基苯基)-3-(4-甲氧基苯基)丙烷-1,3-二酮(5b): 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{甲醇})=40:8:0.2$, 得黄色固体, 收率 67% (烯醇式/酮式=2/1). $R_f=0.38$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=35:5:7$]; m.p. 107~109 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 15.80 (s, 1H, COH), 13.68 (s, 0.5H, OH), 13.28 (s, 1H, OH), 7.95 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.84 (d, $J=9.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (s, 1H, CHCO), 6.93~7.00 (m, 2H; 1H, Ar-H), 6.01 (s, 1H, Ar-H), 5.84 (s, 0.5H, Ar-H), 4.50 (s, 1H, COCH₂CO), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 1.5H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 1.5H, OCH₃), 3.50 (s, 1.5H, OCH₃), 2.63~2.49 (m, 2H; 1H, 2CH₂), 1.78~1.49 (m, 1H; 0.5H, CH), 1.40~1.28 (m, 2H; 1H, 2CH₂), 0.98~0.90 (m, 6H; 3H, 2CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 199.15, 193.58, 193.55, 175.98, 164.09, 164.01, 163.68, 162.94, 162.75, 162.70, 160.84, 160.24, 130.54, 129.93, 128.65, 126.89, 114.10, 113.98, 111.77, 111.50, 105.64, 104.71, 97.35, 86.76, 85.88, 55.97, 55.65, 55.59, 55.34, 54.87, 38.30, 38.14, 28.40, 28.36, 22.76, 20.43, 20.22; ESI-MS m/z : 401.0 [M+H]⁺.

1-(2-羟基-3-异戊基-4,6-二甲氧基苯基)-3-(2-甲氧基苯基)丙烷-1,3-二酮(5c): 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=5:1$, 得黄色固体, 收率 36% (烯醇式/酮式=9/1). $R_f=0.33$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=3:1$]; m.p. 116~119 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 15.73 (s, 1H, COH), 13.61 (s, 0.1H, OH), 13.25 (s, 1H, OH), 7.91 (dd, $J=7.8, 1.7$ Hz, 1H, Ar-H), 7.87 (dd, $J=7.8, 1.7$ Hz, 0.1H, Ar-H), 7.61 (s, 1H, CHCO), 7.49 (t, $J=7.8$ Hz, 0.1H, Ar-H), 7.47~7.40 (m, 1H, Ar-H), 7.05 (dd, $J=11.6, 4.3$ Hz, 1H, Ar-H), 6.99 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.00 (s, 1H, Ar-H), 5.87 (s, 0.1H, Ar-H), 4.55 (s, 0.2H, COCH₂CO), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 0.3H, OCH₃), 3.80 (s, 0.3H, OCH₃), 3.59 (s, 0.3H, OCH₃), 2.62~2.54 (m, 2H; 0.2H,

CH₂), 1.63~1.51 (m, 1H; 0.1H, CH), 1.40~1.30 (m, 2H; 0.2H, CH₂), 0.97~0.91 (m, 6H; 0.6H, Me₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 199.75, 195.56, 163.85, 163.72, 160.83, 159.06, 134.30, 132.47, 130.94, 130.09, 127.10, 120.91, 120.84, 111.76, 111.34, 105.64, 85.78, 60.30, 55.82, 55.58, 55.51, 55.34, 38.18, 28.34, 22.76, 20.23; ESI-MS *m/z*: 401.0 [M+H]⁺.

3.2.5 β-二酮类化合物的烷基化反应和环合脱水反应制备黄酮类化合物的一般程序

在氩气保护的干燥的 100 mL 反应瓶中, 加入 β-二酮类化合物(0.215 g, 0.50 mmol)和无水碳酸钾(76 mg, 0.55 mmol), 溶解于 5 mL 的 DMF 中, 滴入卤代物(0.55 mmol), 搅拌过夜; 用 30 mL 水淬灭反应; 乙酸乙酯萃取(30 mL×3), 水洗(30 mL×2), 饱和食盐水洗涤(30 mL×2), 无水硫酸钠干燥过夜, 过滤, 减压浓缩, 得烷基化粗品。

在 50 mL 反应瓶中, 加入上述产品, 溶解于 5 mL 冰醋酸中, 滴入浓硫酸(0.02 mL, 约 1~2 滴), 室温 (25 °C) 搅拌 1.5 h; 用 30 mL 水淬灭反应; 二氯甲烷萃取 (20 mL×3), 水洗, 饱和食盐水洗涤, 无水硫酸钠干燥过夜, 过滤, 减压浓缩, 残留物柱层析得产品。

2-(2,4-二甲氧苯基)-8-异戊基-5,7-二甲氧苯基-3-(3-甲基-2-丁烯-1-基)-4*H*-色烯-4-酮(**7a**): 柱层析淋洗剂: *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:4, 得淡黄色糖浆状固体, 收率 71%. *R*_f=0.41 [*V*(石油醚): *V*(二氯甲烷): *V*(乙酸乙酯): *V*(甲醇)=35:5:4:1]. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.28 (d, *J*=7.9 Hz, 1H, Ar-H), 6.60~6.50 (m, 2H, 2Ar-H), 6.37 (s, 1H, Ar-H), 5.21 (t, *J*=6.8 Hz, 1H, CH=C), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.04 (s, 2H, CH₂), 2.67~2.59 (m, 2H, CH₂), 1.59 (s, 3H, C=CH₃), 1.54~1.44 (m, 1H, CH), 1.41 (s, 3H, C=CH₃), 1.38~1.29 (m, 2H, CH₂), 0.84 (d, *J*=6.8 Hz, 6H, Me₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 178.17, 162.29, 160.66, 159.16, 158.58, 157.89, 156.90, 131.72, 131.05, 122.87, 122.80, 115.64, 110.99, 108.58, 104.25, 98.63, 91.11, 56.38, 55.87, 55.61, 55.53, 38.50, 28.12, 25.85, 25.12, 22.64, 20.52, 17.76; ESI-MS *m/z*: 481.3 [M+H]⁺; HRMS (ESI) calcd for C₂₉H₃₅O₆ [M+Na]⁺ 503.2404, found 503.2403.

乙基 2-(2-(2,4-二甲氧苯基)-8-异戊基-5,7-二甲氧基-4-羧基-4*H*-色烯-3-基)乙酸酯(**7b**): 柱层析淋洗剂: *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:4, 溶解度不佳, 最后用二氯甲烷淋洗, 得黄色固体, 两步整体收率 69%, m.p. 127~129 °C. *R*_f=0.31 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=1:1]; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.42 (d, *J*=8.3 Hz, 1H, Ar-H),

6.64~6.52 (m, 2H, 2Ar-H), 6.39 (s, 1H, Ar-H), 4.12 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, OCH₂), 3.97 (s, 3H, OCH₃), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.32 (s, 2H, CH₂CO), 2.74~2.58 (m, 2H, CH₂), 1.58~1.45 (m, 1H, CH), 1.41~1.30 (m, 2H, CH₂), 1.23 (t, *J*=7.1 Hz, 3H, CH₃), 0.86 (d, *J*=6.4 Hz, 6H, Me₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 177.43, 171.66, 162.67, 161.00, 159.14, 158.41, 156.86, 131.83, 117.60, 114.69, 111.07, 108.06, 104.58, 98.68, 91.42, 60.65, 56.48, 55.94, 55.59, 55.49, 38.45, 32.21, 28.14, 22.58, 20.53, 14.30; MS (ESI) *m/z*: 498.8 [M+H]⁺; HRMS (ESI) calcd for C₂₈H₃₄O₈ [M+H]⁺ 499.2326, found 499.2323.

2-(2,4-二甲氧苯基)-8-异戊基-5,7-二甲氧苯基-4*H*-色烯-4-酮(**7c**): 按照一般程序, 省去烷基化步骤并直接在酸性条件下环合, 柱层析淋洗剂: *V*(二氯甲烷): *V*(甲醇)=40:1~4:1, 得白色固体收率 96%. *R*_f=0.27 [*V*(二氯甲烷): *V*(甲醇)=40:1]; m.p. 121~123 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.86 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 6.98 (s, 1H, Ar-H), 6.59 (d, *J*=8.8 Hz, 1H, Ar-H), 6.55 (s, 1H, Ar-H), 6.37 (s, 1H, Ar-H), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 2.83~2.73 (t, *J*=7.6 Hz, 2H, CH₂), 1.69~1.58 (m, 1H, CH), 1.48~1.36 (m, 2H, CH₂), 0.96 (d, *J*=6.8 Hz, 6H, Me₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 179.17, 162.91, 160.96, 159.61, 158.90, 158.11, 156.55, 130.04, 113.61, 111.97, 111.09, 108.62, 105.01, 98.87, 91.30, 56.41, 55.83, 55.65, 55.60, 38.49, 28.60, 22.72, 21.11; ESI-MS *m/z*: 413.3 [M+H]⁺; HRMS (ESI) calcd for C₂₄H₂₈O₆ [M+H]⁺ 413.1959, found 413.1958.

3-苄基-2-(2,4-二甲氧苯基)-8-异戊基-5,7-二甲氧苯基-4*H*-色烯-4-酮(**7e**): 柱层析淋洗剂: *V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:4, 得黄色固体, 两步整体收率 81%. *R*_f=0.27 [*V*(石油醚): *V*(乙酸乙酯)=5:4]; m.p. 129~131 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.22~7.02 (m, 6H, 6Ar-H), 6.57~6.47 (m, 2H, Ar-H), 6.37 (s, 1H, Ar-H), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 2H, CCH₂), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 2.70~2.57 (m, 2H, CH₂), 1.54~1.42 (m, 1H, CH), 1.38~1.29 (m, 2H, CH₂), 0.83 (d, *J*=6.8 Hz, 6H, Me₂); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 177.84, 162.39, 160.78, 159.20, 158.98, 158.46, 156.86, 140.97, 131.50, 128.65, 127.95, 125.45, 122.61, 115.47, 111.02, 108.56, 104.29, 98.68, 91.22, 56.38, 55.87, 55.59, 55.36, 38.48, 31.10, 28.08, 22.62, 20.51; ESI-MS *m/z*: 502.8 [M+H]⁺; HRMS (ESI) calcd for C₃₁H₃₄O₆ [M+H]⁺ 503.2428, found

503.2428.

3-烯丙基-8-异戊基-5,7-二甲氧基-2-(4-甲氧苯基)-4*H*-色烯-4-酮的制备(**7g**): 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=5:4$, 得淡黄色固体, 收率 84%. $R_f=0.26$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=2:2:1$]; m.p. 115~117 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.50~6.95 (m, 4H, Ar-H), 6.41 (s, 1H, Ar-H), 6.23~6.04 (m, 1H, CH), 5.19~4.97 (m, 2H, CH_2), 3.99 (s, 3H, OCH_3), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.30 (d, $J=4.3$ Hz, 2H, CH_2), 2.82~2.62 (m, 2H, CH_2), 1.74 (s, 2H), 1.64~1.49 (m, 1H, CH), 1.47~1.32 (m, 2H, CH_2), 0.91 (d, $J=6.0$ Hz, 6H, Me_2); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.85, 161.03, 160.95, 159.65, 159.17, 156.39, 136.92, 130.20, 125.85, 118.72, 115.16, 113.71, 110.79, 107.93, 91.25, 56.32, 55.86, 55.48, 38.61, 30.27, 28.43, 22.68, 20.78; ESI-MS m/z : 423.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423.2166, found 423.2174.

3-烯丙基-8-异戊基-5,7-二甲氧基-2-(2-甲氧苯基)-4*H*-色烯-4-酮(**7h**): 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=5:2:1$, 得淡黄色糖浆状固体, 收率 64%. $R_f=0.22$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{乙酸乙酯})=5:2:1$]. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.50~7.42 (m, 1H, Ar-H), 7.37 (dd, $J=7.5, 1.7$ Hz, 1H, Ar-H), 7.07~6.96 (m, 2H, 2Ar-H), 6.39 (s, 1H, Ar-H), 5.98~5.85 (m, 1H, CH), 4.92~4.80 (m, 2H, CH_2), 3.98 (s, 3H, OCH_3), 3.92 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.08 (s, 2H, CH_2), 2.69~2.57 (m, 2H, CH_2), 1.54~1.42 (m, 1H, CH), 1.38~1.29 (m, 2H, CH_2), 0.81 (d, $J=6.4$ Hz, 6H, Me_2); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 177.69, 160.81, 159.19, 158.39, 157.14, 156.88, 136.33, 131.48, 130.69, 122.34, 121.27, 120.20, 114.89, 111.10, 111.04, 108.48, 91.26, 56.36, 55.87, 55.51, 38.46, 30.11, 28.05, 22.57, 20.47; ESI-MS m/z : 423.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423.2166, found 423.2168.

3.2.6 制备 2-(2,4-二甲氧苯基)-5-羟基-8-异戊基-7-甲氧基-4*H*-色烯-4-酮(**7d**)

取 50 mL 干燥的反应瓶投入(2.79 mmol)的原料, 充入氩气保护; 取另一个干燥反应瓶氩气保护下, 投入 AlBr_3 2.90 g (10.9 mmol), 注入 58 mL 的乙腈配成 5% (g/mL) 的溶液备用; 将乙腈溶液注入原料中, 搅拌溶解反应. 室温环境搅拌 1.5 h 后, 将反应液倒入盐酸(100 mL, 1 mol/L)中淬灭反应; 硅藻土过滤处理, 二氯甲烷萃取(50 mL $\times$ 3), 有胶体用少量盐酸处理, 水洗(50 mL $\times$ 2), 饱和食盐水洗涤(50 mL $\times$ 2), 无水硫酸钠干燥过夜, 过滤, 减压浓缩, 残留物柱层析得产品. 柱层析

淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=50:6:1$, 得白色固体 0.115 g, 收率 56%. $R_f=0.79$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=2:1$]; m.p. 155~156 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.99 (s, 1H), 7.89 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.01 (s, 1H, Ar-H), 6.60 (dd, $J=8.8, 2.1$ Hz, 1H, Ar-H), 6.54 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, Ar-H), 6.37 (s, 1H, Ar-H), 3.92 (s, 3H, OCH_3), 3.88 (s, 6H, 2OCH_3), 2.82~2.70 (m, 2H, Ar- CH_2), 1.70~1.60 (m, 1H, CH), 1.47~1.37 (m, 2H, CH_2), 0.98 (d, $J=6.8$, 6H, Me_2); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 183.46, 163.30, 162.65, 161.12, 160.08, 159.73, 154.34, 130.22, 113.32, 108.84, 108.71, 105.15, 104.83, 98.85, 94.59, 55.86, 55.58, 55.54, 38.48, 28.37, 22.57, 20.66; ESI-MS m/z : 399.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 399.1802, found 399.1805.

3.2.7 制备 3-苯甲基-2-(2,4-二甲氧苯基)-5-羟基-8-异戊基-7-甲氧基-4*H*-色烯-4-酮(**7f**)

制备方法同化合物 **7d**, 柱层析淋洗剂: $V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=50:5:1$, 得淡黄色固体, 收率 83%. $R_f=0.26$ [$V(\text{石油醚}):V(\text{二氯甲烷}):V(\text{甲醇})=50:5:1$]; m.p. 108~109 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 12.99 (s, 1H, OH), 7.23~7.00 (m, 6H, Ar-H), 6.56~6.50 (m, 2H, 2Ar-H), 6.38 (s, 1H, Ar-H), 3.87 (s, 6H, 2OCH_3), 3.74 (s, 2H, CH_2), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 2.66~2.58 (m, 2H, Ar- CH_2), 1.55~1.44 (m, 1H, CH), 1.38~1.30 (m, 2H, CH_2), 0.84 (d, $J=6.8$ Hz, 6H, Me_2); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 182.86, 162.76, 162.75, 162.16, 160.30, 158.51, 154.94, 140.15, 131.42, 128.31, 128.21, 125.89, 120.01, 115.02, 108.94, 104.98, 104.53, 98.77, 94.62, 56.03, 55.64, 55.41, 38.61, 30.73, 28.03, 22.66, 20.25; ESI-MS m/z : 489.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 489.2272, found 489.2269.

3.2.8 体外抗肿瘤活性测试

体外试验采用 CCK8 法, 取对数生长期细胞 MDA-MB-231, 用完全培养液调整细胞浓度为 1.0×10^4 mL^{-1} , 接种于 96 孔板上, 每孔 200 μL , 在 37 °C、5% CO_2 下孵育 24 h. 设置对半稀释的 8 个药物浓度梯度 (0.06、0.12、0.23、0.47、0.94、1.88、3.75、7.50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 以空白培养基做阴性对照, 以 quercetin 做阳性对照. 每种处理设 3 个复孔, 每孔 200 μL 试液, 在 37 °C、5% CO_2 下孵育 72 h. 每孔加入 CCK8 试剂 20 μL , 孵育 1 h. 用酶标仪测定 450 nm 的吸光度, 计算相对细胞增殖抑制率. IC_{50} 值通过 SPSS 软件拟合抑制率曲线后计算得出.

辅助材料(Supporting Information) 目标化合物和中间体的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] 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.)
- [2] (a) Yan, X.; Liu, H.-Q.; Zou, Y.-Q.; Ren, Z.-H. *Chin. J. Org. Chem.* **2014**, *34*, 600 (in Chinese).
(苏亚彬, 洪琛, 李骞, 罗稳, 王超杰, 有机化学, **2014**, *34*, 600.)
(b) Zheng, M.; Gan, Y.; Xie, S.; Wang, C.; 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.)
- [3] (a) Sedlacek, H. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2001**, *139*, 169.
(b) Abbs, G. M.; Bar, F. M. A.; Baraka, H. N.; Gohar, A. A.; Lahloub, M.-F. *Nat. Prod. Res.* **2014**, *28*, 952.
(c) Hegazy, M.-E. F.; Mohamed, A. E.-H. H.; El-Halawany, A. M.; Djemgou, P. C.; Shahat, A. A.; Pare, P. W. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 937.
(d) Hosek, J.; Bartos, M.; Chudik, S.; Dall'Acqua, S.; Innocenti, G.; Kartal, M.; Kokoska, L.; Kollar, P.; Kutil, Z.; Landa, P.; Marek, R.; Zavalova, V.; Zemlicka, M.; Smejkal J. *Nat. Prod.* **2011**, *74*, 614.
(e) Arung, E. T.; Shimizu, K.; Konda, R. *Fitoterapia* **2010**, *81*, 640.
(f) Zhao, P.; Zhang, Y. J.; Hirobumi, Y.; Yang, C.-R. *Nat. Prod. Res. Dev.* **2004**, *16*, 172 (in Chinese).
(赵平, 张颖君, 山本浩文, 杨崇仁, 天然产物研究与开发, **2004**, *16*, 172.)
- [4] Rullah, K.; Aluwi, M. F. F. M.; Yamin, B. M.; Bahari, M. N. A.; Wei, L. S.; Ahmad, S.; Abas, F.; Ismail, N. H.; Jantan, I.; Wai, L. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 3826.
- [5] Kitdamrongtham, W.; Ishii, K.; Ebina, K.; Zhang, J.; Ukiya, M.; Koike, K.; Akazawa, H.; Manosroi, A.; Manosroi, J.; Akihisa, T. *Chem. Biodiversity* **2014**, *11*, 73.
- [6] Minakawa, T.; Toume, K.; Arai, M. A.; Koyano, T.; Kowithayakorn, T.; Ishibashi, M. *Phytochemistry* **2013**, *96*, 299.
- [7] Lee, H.-J.; Auh, Q.-S.; Lee, Y.-M.; Kang, S.-K.; Chang, S.-W.; Lee, D.-S.; Kim, Y.-C.; Kim, E.-C. *Planta Med.* **2013**, *79*, 1298.
- [8] Dat, N. T.; Binh, P. T. X.; Quynh, L. T. P.; Minh, C. V.; Huong, H. TT.; Lee, J. J. *Fitoterapia* **2010**, *81*, 1224.
- [9] Arung, E. T.; Yoshikawa, K.; Shimizu, K.; Konda, R. *Fitoterapia* **2010**, *81*, 120.
- [10] Ma, J.-P.; Qiao, X.; Pan, S.; Shen, H.; Zhu, G.-F.; Hou, A.-J. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2010**, *12*, 586.
- [11] (a) Daskiewicz, J.-B.; Depeint, F.; Viornery, L.; Bayet, C.; Comte-Sarrasin, G.; Comte, G.; Gee, J. M.; Johnson, I. T.; Ndjoko, K.; Hostettmann, K.; Barron, D. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2790.
(b) Poerwono, H.; Sasaki, S.; Hattori, Y.; Higashiyama, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2086.
- [12] Wang, L.; Guo, H.; Yang, L.; Dong, L.; Lin, C.; Zhang, J.; Lin, P.; Wang, X. *Mol. Cell Biochem.* **2013**, *379*, 7.
- [13] Tseng, T.-H.; Chuang, S.-K.; Hu, C.-C.; Chang, C.-F.; Huang, Y.-C.; Lin, C.-W.; Lee, Y.-J. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 1335.
- [14] Chen, B.; Liu, X.-W.; Chen, S.-Y.; Guo, F.-M.; Liu, X.-L.; Zou, Y. *Chin. J. Synth. Chem.* **2014**, *22*, 30 (in Chinese).
(陈斌, 刘雄伟, 陈诗尧, 郭丰敏, 刘雄利, 周英, 合成化学, **2014**, *22*, 30.)
- [15] Yang, B.; Wu, Q.; Li, Z.; You, Q. *Chemistry* **2009**, (1), 20 (in Chinese).
(杨博, 吴茜, 李志裕, 尤启冬, 化学通报, **2009**, (1), 20.)
- [16] Finnegan, R. A.; Gilbert, B.; Eisenbraun, E. J.; Djerassi, C. *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 2169.
- [17] Radhakrishnan, P. V.; Rao, A. V. R. *Indian J. Chem.* **1966**, *4*, 406.

(Li, L.; Lu, Z.)