

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00864

## 新型异黄酮类化合物的设计合成及抗肿瘤活性

董环文<sup>1</sup>, 张月莉<sup>2</sup>, 刘珏莹<sup>2</sup>, 权振华<sup>1</sup>, 李铁军<sup>3</sup>, 李科<sup>4</sup>, 刘超美<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433

2. 复旦大学附属华东医院内科, 上海 200040

3. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433

4. 第二军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 在苯并吡喃酮和其3位取代苯基、酯基和羟甲基之间插入双键或三键结构, 或将异黄酮类化合物的3'-或4'-氨基与去甲斑蝥素形成酰胺结构, 以发现抗肿瘤活性更强的异黄酮类化合物。**方法** 以丹皮酚和甲酸乙酯为原料, 经多步反应制得关键中间体3-碘-7-甲氧基苯并吡喃酮(**5**), 再经 Heck coupling 反应和 Sonogashira coupling 反应分别制得3位有双键和三键取代基的目标化合物; 经 Suzuki coupling 反应制得3'-或4'-氨基化合物, 并与去甲斑蝥素反应制得酰胺目标化合物; 通过<sup>1</sup>HNMR、MS和IR方法确定目标化合物的结构。选择人结肠癌细胞株 HCT116 和人肝癌细胞株 SMMC 7721 为实验瘤株, 以姜黄素和大豆异黄酮为阳性对照测定体外抗肿瘤活性。**结果** 设计合成的17个目标化合物均有一定的体外抗肿瘤活性, 其中化合物**7b**和**7e**的活性较好, 与对照品姜黄素的IC<sub>50</sub>值相当, 明显优于对照品大豆异黄酮的IC<sub>50</sub>值。**结论** 在苯并吡喃酮和其3位取代苯基、酯基和羟甲基之间插入双键或三键不会降低目标化合物的抗肿瘤活性, 可能会提高其抗肿瘤活性; 但将异黄酮类化合物的3'-或4'-氨基与去甲斑蝥素形成酰胺似乎对提高其抗肿瘤活性没有多大帮助。

**[关键词]** 苯并吡喃酮; Heck coupling 反应; Sonogashira coupling 反应; Suzuki Coupling 反应; 抗肿瘤药

**[中图分类号]** R 979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)08-0864-06

### Synthesis of novel 3-(substituted phenyl) chromone derivatives and their anti-tumor activities

DONG Huan-wen<sup>1</sup>, ZHANG Yue-li<sup>2</sup>, LIU Jue-ying<sup>2</sup>, QUAN Zhen-hua<sup>1</sup>, LI Tie-jun<sup>3</sup>, LI Ke<sup>4</sup>, LIU Chao-mei<sup>1\*</sup>

1. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Internal Medicine, Huadong Hospital of Fudan University, Shanghai 200040, China

3. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

4. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To search for new isoflavones with more potent antitumor activities from the target compounds synthesized by inserting a double bond or an acetylene bond between chromone and its 3-substituted phenyl, ester and hydroxymethyl groups, or by formation of an amide of 3' or 4'-amino group of isoflavones with norcantharidin. **Methods** The key intermediate 3-iodo-7-methoxyl-4H-chromen-4-one (**5**) was prepared with 2-hydroxyl-4-methoxyl-acetophenone and ethyl formate. The target compounds with 3-substituted double bond or acetylene groups were synthesized by Heck coupling and Sonogashira coupling reaction; the amide compounds were synthesized by Suzuki coupling reaction and amide formation of 3' or 4'-amino group of isoflavones with norcantharidin. All of the target compounds were confirmed by <sup>1</sup>HNMR, MS and IR spectra. The IC<sub>50</sub> values of target compounds were determined by the standard method using two kinds of human tumor cell lines, colon cancer cell line HCT116 and liver cancer cell line SMMC 7721 to study their anti-tumor activities. **Results** All the 17 target compounds obtained had certain anti-tumor effect *in vitro*, with compounds **7b** and **7e** showing better anti-tumor effects, which were similar to that of control curcumin and more potent than that of genistein *in vitro*. **Conclusion** The insertion of a double bond or an acetylene bond between chromone and its 3-substituted phenyl, ester and hydroxymethyl groups may promote the anti-tumor activities of isoflavone analogues. It seems that the formation of an amide of 3'- or 4'-amino group of isoflavones with norcantharidin has no noticeable promotion effect on the anti-tumor activities.

**[Key words]** chromone; Heck coupling reaction; Sonogashira coupling reaction; Suzuki coupling reaction; antineoplastic agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(8):864-869]

**[收稿日期]** 2010-01-17 **[接受日期]** 2010-05-25

**[作者简介]** 董环文, 博士, 现为上海药明康德研发公司研究员. E-mail: donghuanwen@126.com

\* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-81871227, E-mail: cmliu@smmu.edu.cn

异黄酮类化合物是许多中草药的活性成分,具有抗肿瘤、抗氧化、保护心血管、防辐射和抗衰老等多种生物活性<sup>[1-2]</sup>。在异黄酮类化合物中研究最多的是大豆异黄酮(genistein, Gen),其化学结构与雌二醇有一定的相似性,在体内有弱雌激素样作用和抗雌激素作用;也是一个特异性的酪氨酸蛋白激酶(PTK)抑制剂,可与ATP竞争酪氨酸蛋白激酶上的结合位点;并有很强的抗氧化活性。它在肿瘤的发生、发展阶段存在着多重抑制效应,其主要机制为调节雌激素受体、增加抗氧化酶的活性、抑制热休克蛋白、诱导细胞分化、促进细胞凋亡、抑制细胞代谢关键酶活性、阻止某些因子的作用而抑制肿瘤细胞生长及抑制血管生成<sup>[3]</sup>。近年来关于Gen衍生物的合成报道较多,多是在3个羟基上连接各种取代基,合成的化合物多具有较好的抗肿瘤和抗氧化活性<sup>[4-6]</sup>。

## 1 合成路线设计

为了寻找抗肿瘤活性更强的异黄酮类化合物,本文在7-甲氧基或7位无取代基的苯并吡喃酮3位引入各种取代基,如带有双键和三键的取代基,以及将异黄酮的3'-或4'-氨基用抗肿瘤药物小分子去甲斑蝥素单酰胺化,设计合成了17个异黄酮类衍生物。7-甲氧基化合物的合成方法为在钠砂作用下将丹皮酚(1)与甲酸乙酯经羟醛缩合生成3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-氧代丙醛,它可以互变为烯醇式异构体(2);(2)在酸性条件下加热环合就得到7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(3),(3)和哌啶在甲醇溶液中回流就得到(E)-N-[3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]哌啶(4),在吡啶催化下(4)与碘反应就生成关键中间体3-碘-7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(5)<sup>[7]</sup>。(5)与末端双键化合物发生Heck coupling偶联反应<sup>[8-9]</sup>就得到3位含双键取代基的异黄酮类化合物6a~6c;(5)与末端三键化合物发生Sonogashira coupling偶联反应<sup>[10-11]</sup>就得到3位含三键取代基的异黄酮类化合物7a~7f;(5)与对氨基或间氨基苯硼酸通过Suzuki coupling偶联反应<sup>[12-13]</sup>就得到目标化合物8a~8d,8a~8d分别与去甲斑蝥素反应就得到单酰胺目标化合物9a~9b。合成路线见图1。

## 2 材料、方法和结果

2.1 仪器和试剂 核磁共振谱用Bruker Spectrospin AC-P 300型共振仪测定,CDCl<sub>3</sub>、DMSO-d<sub>6</sub>为溶剂,TMS为内标;ESI-MS由Finnigan LCQ<sup>EDCA</sup>质谱仪测定;红外光谱用Shimadzu-435型红外光谱仪测定,KBr压片;熔点用Yamato model MP-21型熔

点测定仪测定,温度未经校正。对照品购于Sigma公司;所用化学试剂均为市售分析纯。

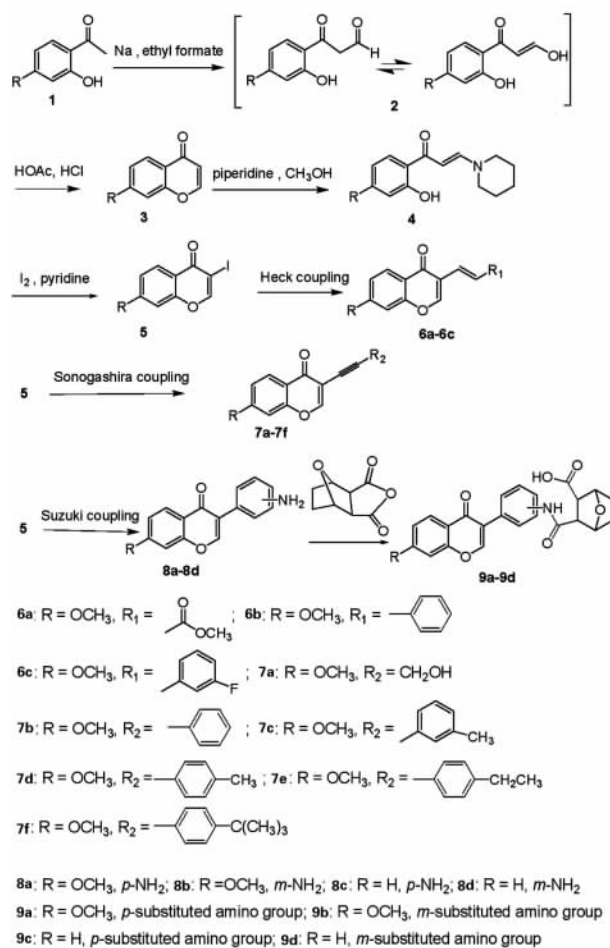


图1 目标化合物的合成路线图

Fig 1 Synthetic route of target compounds

2.2 3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-氧代丙醛(2)的合成 将金属钠(12.7 g, 552.2 mmol)放入干燥过的二甲苯(100 ml)中,在剧烈搅拌条件下加热至钠熔融,降至室温,倒出二甲苯,用无水乙醚洗涤(50 ml×2)。将新制备的钠砂置于无水乙醚(100 ml)中,剧烈搅拌,降至0℃。氮气保护,向该混合液中慢慢滴加丹皮酚(1)(30.7 g, 184.9 mmol)和甲酸乙酯(40.9 g, 552.2 mmol)的无水乙醚溶液(100 ml)。滴加完毕,继续在0℃搅拌1 h,然后升至室温搅拌过夜。将反应液倒入含12.5%醋酸的冰水(400 ml)中,乙酸乙酯(200 ml×3)萃取,合并有机相,饱和NaCl溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,滤除干燥剂后滤液经减压浓缩得淡黄色固体32.9 g,收率92.2%,m. p. 121~122℃。<sup>1</sup>HNMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.85 (d, J = 9.0 Hz, 1H, ArH), 6.60 (dd, J = 9.0 Hz, 1.8 Hz, 1H, ArH), 6.43 (d, J = 1.8 Hz, 1H, ArH), 5.84 (s, 1H, OH), 3.84

(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.50 (s, 1H, OH), 2.93~2.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>CNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 196.5, 192.3 (C=O), 163.2, 160.8, 130.7, 112.5, 106.8, 101.6 (Ar), 55.6 (CH<sub>3</sub>), 52.5 (CH<sub>2</sub>); ESI-MS *m/z*: 194 [M+H]<sup>+</sup>.

2.3 7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(3)的合成 将3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-氧代丙醛(2) (33.0 g, 170.9 mmol)与醋酸(150 ml)和浓盐酸(10 ml)混合,在100℃条件下加热30 min。减压蒸除醋酸,加入水(300 ml),碳酸氢钠调节pH值为8。二氯甲烷(200 ml×3)萃取,合并有机相,饱和NaCl溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,滤除干燥剂后滤液经减压浓缩得黄色固体,倒入无水乙醚(100 ml)中,搅拌10 min,过滤得到淡黄色固体28.0 g,收率93.1%,m.p. 105~106℃。<sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.12 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, ArH), 7.78 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, C=CH-O), 6.98 (dd, *J* = 9.0 Hz, 2.4 Hz, 1H, ArH), 6.84 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 6.28 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, O=C-CH=C), 3.90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 179.6 (C=O), 163.2, 157.6 (Ar), 142.1 (CH=CH), 128.7, 116.2, 110.6 (CH=CH), 107.5, 102.6 (Ar), 55.2 (CH<sub>3</sub>); ESI-MS *m/z*: 177 [M+H]<sup>+</sup>.

2.4 (*E*)-*N*-[3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]哌啶(4)的合成 7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(3) (4.3 g, 24.4 mmol)和哌啶(6.2 ml, 62.5 mmol)溶解到甲醇(50 ml)中,回流3 h,减压蒸干溶剂得固体,倒入无水乙醚(20 ml)中,搅拌10 min,过滤得到淡黄色固体6.3 g,收率98.9%,mp 102~103℃。<sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 14.5 (s, 1H, OH), 7.81 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, C=CH-N), 7.58 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, ArH), 6.41 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 6.37 (dd, *J* = 9.0 Hz, 2.4 Hz, 1H, ArH), 5.78 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H, O=C-CH=C), 3.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.38~3.40 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.66~1.69 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>CNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 182.7 (C=O), 166.8, 160.2 (Ar), 151.7 (CH=CH), 130.2, 114.7, 102.8, 100.4 (Ar), 91.7 (CH=CH), 54.9 (CH<sub>3</sub>), 48.7, 25.6 (CH<sub>2</sub>); ESI-MS *m/z*: 262 [M+H]<sup>+</sup>.

2.5 3-碘-7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(5)的合成 (*E*)-*N*-[3-(2-羟基-4-甲氧基苯基)-3-氧代-1-丙烯基]哌啶(4) (6.4 g, 24.5 mmol)溶解到氯仿(40 ml)中,然后依次加入吡啶(2 ml, 25 mmol)、碘(12.7 g, 50.0 mmol),室温搅拌过夜。加入饱和硫代硫酸钠溶液(15 ml),搅拌30 min。分出有机相,水相用氯

仿萃取(30 ml×3),合并有机相,饱和NaCl溶液洗涤,无水硫酸钠干燥,滤除干燥剂后滤液经减压浓缩得粗产品。经硅胶柱层析[V(二氯甲烷):V(乙酸乙酯)=5:1],得淡黄色晶体6.8 g,产率92.3%,m.p. 158~159℃。<sup>1</sup>HNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.23 (s, 1H, O-CH=C), 8.15 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, ArH), 7.01 (dd, *J* = 9.0 Hz, 2.4 Hz, 1H, ArH), 6.84 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 3.91 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>CNMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 186.5 (C=O), 163.2 (Ar), 158.7 (CH=CH), 153.4, 130.7, 113.2, 106.5, 101.3 (Ar), 67.8 (CH=CH), 55.3 (CH<sub>3</sub>); ESI-MS *m/z*: 303 [M+H]<sup>+</sup>.

3-碘苯并吡喃-4-酮也按此法合成。

2.6 目标化合物6a的合成 在氮气保护下,将3-碘-7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(5) (300 mg, 1.0 mmol)、丙烯酸甲酯(103 mg, 1.2 mmol)、Pd(OAc)<sub>2</sub>(20 mg)和Cu(OAc)<sub>2</sub>(900 mg, 1.5 mmol)依次加入盛有无水DMSO/DMF(2 ml/18 ml)的单口烧瓶中,在搅拌条件下,将反应液加热到120℃,搅拌过夜。TLC跟踪反应,原料反应完后,降至室温,将反应液倒入水(20 ml)中,并搅拌10 min。过滤去除固体,滤饼用乙酸乙酯洗涤(3×20 ml),母液用乙酸乙酯萃取(3×20 ml),合并有机相,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,减压浓缩得到粗产物。经硅胶柱层析分离[V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:20]得到产品181 mg,收率70.6%。

目标化合物6b和6c均按此法合成。

2.7 目标化合物7a的合成 在氮气保护下,将3-碘-7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(5) (300 mg, 1.0 mmol)、丙炔醇(66.7 mg, 1.2 mmol)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>(20 mg)和CuI(40 mg)依次加入盛有无水THF(20 ml)的单口烧瓶中,在搅拌条件下,用冰盐浴冷却该反应体系到0℃以下后,向该混合液中逐滴加入干燥的三乙胺(10 ml)。滴加完毕后,将反应液慢慢升到室温,继续搅拌3 h。TLC跟踪反应,原料反应完后,将反应液倒入水(20 ml)中,并搅拌10 min。过滤去除固体,滤饼用乙酸乙酯(3×20 ml)洗涤,母液用乙酸乙酯(3×20 ml)萃取,合并有机相,饱和NaCl溶液洗,无水硫酸钠干燥,减压浓缩得到粗产物。经硅胶柱层析分离[V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:2]得到产品166 mg,收率73.9%。

目标化合物7b~7f均按此法合成。

2.8 目标化合物8a的合成 在氮气保护下,依次向配有回流冷凝装置的50 ml干燥圆底瓶中加入3-碘-7-甲氧基苯并吡喃-4-酮(5) (300 mg, 1.0 mmol)、对氨基苯硼酸(163 mg, 1.2 mmol)、

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (catalystical amount, 20 mg)、C<sub>2</sub>S<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (972 mg, 3.0 mmol) 和干燥的 1,4-二氧六环(20 ml)。加料完毕后,将该混合液在 90℃ 条件下搅拌过夜。将反应液冷却到室温,向该反应液中加入水(10 ml),搅拌 10 min。用乙酸乙酯萃取(20 ml×3)该混合液,合并有机相,先用水洗(10 ml×2),再用饱和 NaCl 溶液洗(10 ml×2),无水硫酸钠干燥,过滤去除固体,减压浓缩母液,得到粗产品,用硅胶层析柱分离[V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:20]得到纯品,淡黄色固体 159 mg,收率 59.5%。目标化合物 **8b**~**8d** 均按此法合成。

2.9 目标化合物 **9a** 的合成 在氮气保护下,将 **8a**

(200 mg, 0.75 mmol)溶解到无水 DMF(2 ml)中,将该溶液冷却到 0℃。然后将钠氢(60%, 60 mg, 1.5 mmol)分批加入该反应液,继续搅拌 30 min。将去甲基螫素(188 mg, 1.12 mmol)的 DMF(2 ml)溶液慢慢滴加到反应液中。滴加完毕,将反应液在室温下搅拌 20 h。TLC 检测反应完毕,将反应液倒入水(10 ml)中,乙酸乙酯萃取(10 ml×3),合并有机相,饱和 NaCl 溶液洗(10 ml×4),无水硫酸钠干燥,过滤去除干燥剂,浓缩母液得到粗产品。经硅胶柱层析分离[V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:1]得到产品 198 mg,收率 61.7%。目标化合物 **9b**~**9d** 均按此法合成。各目标化合物的物理数据和光谱数据见表 1。

表 1 目标化合物的物理数据和光谱数据

Tab 1 Physical and spectral data of target compounds

Compd.	m. p. θ/°C	Yield (%) <sup>a</sup>	<sup>1</sup> HNMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> , or DMSO-d <sub>6</sub> )	ESI-MS <i>m/z</i>	IR(KBr) σ/cm <sup>-1</sup>
<b>6a</b>	176-179	70.6	8.19 (d, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz, ArH), 8.04 (s, 1H, ArH), 7.31-7.38 (m, 2H, ArH), 7.03 (dd, 1H, <i>J</i> = 9.0 Hz, <i>J</i> = 2.1 Hz, =CH), 6.85 (d, 1H, <i>J</i> = 2.1 Hz, =CH), 3.90 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 3.79 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	261 [M+H] <sup>+</sup>	3 109, 1 751, 1 648, 1 616, 1 403, 1 159
<b>6b</b>	182-184	85.2	8.21 (d, 1H, <i>J</i> = 6.9 Hz, ArH), 8.04 (s, 1H, <i>J</i> = 6.9 Hz, ArH), 7.63 (d, 1H, <i>J</i> = 7.6 Hz, ArH), 7.50-7.53 (m, 2H, ArH), 7.26-7.37 (m, 3H, ArH), 6.94-7.01 (m, 2H, ArH), 6.84 (d, 1H, <i>J</i> = 7.6 Hz, ArH), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	279 [M+H] <sup>+</sup>	3 098, 1 653, 1 623, 1 421, 1 305, 1 157
<b>6c</b>	192-193	78.3	8.21 (d, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, ArH), 8.04 (s, 1H, ArH), 7.67 (d, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, ArH), 7.25-7.27 (m, 1H, ArH), 6.85-7.02 (m, 4H, ArH), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	297 [M+H] <sup>+</sup>	3 090, 1 678, 1 623, 1 415, 1 325, 1 260
<b>7a</b>	208-210	73.9	8.16 (d, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, ArH), 8.08 (s, 1H, ArH), 7.01 (dd, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, <i>J</i> = 2.1 Hz, ArH), 6.84 (d, 1H, <i>J</i> = 2.1 Hz, ArH), 4.51 (s, 2H, -CH <sub>2</sub> -), 3.90 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	231 [M+H] <sup>+</sup>	3 647, 3 071, 2 113, 1 615, 1 321, 1 213
<b>7b</b>	192-195	80.1	8.16-8.19 (m, 2H, ArH), 7.54-7.58 (m, 2H, ArH), 7.32-7.35 (m, 3H, ArH), 7.01 (dd, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, <i>J</i> = 2.1 Hz, ArH), 6.85 (d, 1H, <i>J</i> = 2.1 Hz, ArH), 3.90 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	277 [M+H] <sup>+</sup>	3 071, 2 204, 1 610, 1 582, 1 317, 1 227
<b>7c</b>	186-188	82.3	8.15-8.20 (m, 2H, ArH), 7.35-7.40 (m, 2H, ArH), 7.16-7.22 (m, 2H, ArH), 7.01 (dd, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, <i>J</i> = 2.1 Hz, ArH), 6.85 (d, 1H, <i>J</i> = 2.1 Hz, ArH), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 2.34 (s, 3H, -CH <sub>3</sub> )	291 [M+H] <sup>+</sup>	3 067, 2 115, 1 616, 1 586, 1 311, 1 103
<b>7d</b>	179-181	78.5	8.19 (d, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, ArH), 8.15 (s, 1H, ArH), 7.46 (d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, ArH), 7.16 (d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, ArH), 7.01 (dd, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, <i>J</i> = 2.4 Hz, ArH), 6.85 (d, 1H, <i>J</i> = 2.4 Hz, ArH), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 2.36 (s, 3H, -CH <sub>3</sub> )	291 [M+H] <sup>+</sup>	3 087, 2 167, 1 616, 1 580, 1 312, 1 219
<b>7e</b>	212-215	85.4	8.19 (d, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, ArH), 8.15 (s, 1H, ArH), 7.46 (d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, ArH), 7.16 (d, 1H, <i>J</i> = 7.5 Hz, ArH), 7.01 (dd, 1H, <i>J</i> = 9.3 Hz, <i>J</i> = 2.4 Hz, ArH), 6.85 (d, 1H, <i>J</i> = 2.4 Hz, ArH), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 4.02 (q, 2H, -CH <sub>2</sub> -), 1.32 (t, 3H, -CH <sub>3</sub> )	305 [M+H] <sup>+</sup>	3 101, 2 132, 1 621, 1 586, 1 201, 1 103
<b>7f</b>	216-218	83.1	8.16-8.20 (m, 2H, ArH), 7.64-7.66 (m, 1H, ArH), 7.46-7.53 (m, 2H, ArH), 7.27-7.38 (m, 1H, ArH), 7.02 (s, 1H, ArH), 6.86 (s, 1H, ArH), 3.92 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 1.33 (s, 9H, 3X-CH <sub>3</sub> )	333 [M+H] <sup>+</sup>	3 091, 2 154, 1 620, 1 583, 1 301, 1 203
<b>8a</b>	201-202	59.5	8.16-8.21 (m, 2H, ArH), 7.20-7.27 (m, 4H, ArH), 6.99-7.04 (m, 2H, ArH), 4.01 (s, 2H, -NH <sub>2</sub> ), 3.91 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	268 [M+H] <sup>+</sup>	3 560, 3 250, 1 673, 1 635, 1 581, 1 436

(续表)

Compd.	m. p. θ/°C	Yield (%) <sup>a</sup>	<sup>1</sup> HNMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> , or DMSO-d <sub>6</sub> )	ESI-MS m/z	IR(KBr) σ/cm <sup>-1</sup>
<b>8b</b>	198-199	71.2	8.19-8.25 (m, 2H, ArH), 7.21-7.29 (m, 4H, ArH), 6.91-7.02 (m, 2H, ArH), 4.12 (s, 2H, -NH <sub>2</sub> ), 3.93 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> )	268 [M+H] <sup>+</sup>	3 535, 3 210, 1 668, 1 579, 1 309, 1 132
<b>8c</b>	205-206	61.9	8.16 (d, 1H, J = 9.3 Hz, ArH), 7.82 (s, 1H, ArH), 7.50-7.53 (m, 1H, ArH), 7.48-7.51 (m, 1H, ArH), 6.90 (d, 1H, J = 9.3 Hz, ArH), 6.73-6.77 (m, 1H, ArH), 6.50-6.55 (m, 2H, ArH), 4.03 (s, 2H, -NH <sub>2</sub> )	237 [M+H] <sup>+</sup>	3 560, 3 265, 1 652, 1 610, 1 581, 1 210
<b>8d</b>	213-215	76.4	8.13 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 7.85 (s, 1H, ArH), 7.55-7.57 (m, 1H, ArH), 7.37-7.41 (m, 1H, ArH), 6.89 (d, 1H, J = 9.0 Hz, ArH), 6.71-6.73 (m, 1H, ArH), 6.51-6.53 (m, 2H, ArH), 4.11 (s, 2H, -NH <sub>2</sub> )	237 [M+H] <sup>+</sup>	3 480, 3 168, 1 648, 1 620, 1 587, 1 193
<b>9a</b>	211-213	61.7	11.8 (m, 1H, -NH-), 8.12 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 7.57-7.61 (m, 1H, ArH), 7.41-7.46 (m, 1H, ArH), 6.92 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 6.77-6.89 (m, 1H, ArH), 6.66-6.68 (m, 2H, ArH), 3.84 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 3.02-3.06 (m, 4H, 4X-CH-), 1.45-1.70 (m, 4H, 2X-CH <sub>2</sub> -)	436 [M+H] <sup>+</sup>	3 382, 3 298, 3 042, 1 720, 1 657, 1 603, 1 593, 1 133
<b>9b</b>	201-202	73.5	11.6 (m, 1H, -NH-), 8.14 (d, 1H, J = 8.7 Hz, ArH), 7.81 (s, 1H, ArH), 7.57-7.59 (m, 1H, ArH), 7.43-7.46 (m, 1H, ArH), 6.91 (d, 1H, J = 8.7 Hz, ArH), 6.83-6.86 (m, 1H, ArH), 6.61-6.63 (m, 2H, ArH), 3.87 (s, 3H, -OCH <sub>3</sub> ), 3.03-3.06 (m, 4H, 4X-CH-), 1.47-1.71 (m, 4H, 2X-CH <sub>2</sub> -)	436 [M+H] <sup>+</sup>	3 390, 3 276, 3 051, 1 713, 1 684, 1 610, 1 576, 1 119
<b>9c</b>	213-214	68.5	12.0 (m, 1H, -NH-), 8.14 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 7.80 (s, 1H, ArH), 7.51-7.53 (m, 1H, ArH), 7.47-7.49 (m, 1H, ArH), 6.89 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 6.73-6.76 (m, 1H, ArH), 6.51-6.53 (m, 2H, ArH), 3.03-3.05 (m, 4H, 4X-CH-), 1.48-1.69 (m, 4H, 2X-CH <sub>2</sub> -)	406 [M+H] <sup>+</sup>	3 391, 3 272, 3 112, 1 714, 1 639, 1 601, 1 587, 1 121
<b>9d</b>	198-200	70.8	11.2 (m, 1H, -NH-), 8.13 (d, 1H, J = 8.7 Hz, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 7.55-7.57 (m, 1H, ArH), 7.37-7.41 (m, 1H, ArH), 6.91 (d, 1H, J = 8.7 Hz, ArH), 6.71-6.73 (m, 1H, ArH), 6.51-6.53 (m, 2H, ArH), 3.03-3.05 (m, 4H, 4X-CH-), 1.48-1.69 (m, 4H, 2X-CH <sub>2</sub> -)	406 [M+H] <sup>+</sup>	3 381, 3 248, 3 012, 1 731, 1 667, 1 616, 1 572, 1 123

<sup>a</sup>: From the last step

2.10 抗肿瘤活性测试 分别收集对数生长期的人结肠癌细胞株 HCT116、人肝癌细胞株 SMMC 7721, 种入 96 孔培养板, 每孔 100 μl, 培养 24 h 后细胞贴壁, 分别按设计加入药液, 阴性对照用相应培养液代之, 置 5%CO<sub>2</sub>、37℃ 的培养箱中继续培养 24 h。

处理后的细胞, 移去 DMEM 培养液, D-Hank's 液洗 2 次, 每孔加入 100 μl DMEM 培养液和 10 μl MTT (5 mg/ml), 37℃ 孵育 4 h。弃去液体, 每孔加入 100 μl DMSO, 放置数分钟, 使 MTT 结晶溶解, 用酶标仪测 540 nm 处光密度值(表 2)。

表 2 目标化合物的体外抗肿瘤活性

Tab 2 *In vitro* anti-tumor activities of target compounds

(c<sub>B</sub>/[mol · L<sup>-1</sup>])

Compd.	IC <sub>50</sub>		Compd.	IC <sub>50</sub>	
	HCT116	SMMC 7721		HCT116	SMMC 7721
<b>6a</b>	2.41 × 10 <sup>-5</sup>	2.72 × 10 <sup>-5</sup>	<b>8b</b>	3.26 × 10 <sup>-5</sup>	3.49 × 10 <sup>-5</sup>
<b>6b</b>	-	-	<b>8c</b>	3.58 × 10 <sup>-5</sup>	4.02 × 10 <sup>-5</sup>
<b>6c</b>	2.55 × 10 <sup>-5</sup>	3.05 × 10 <sup>-5</sup>	<b>8d</b>	3.51 × 10 <sup>-5</sup>	3.22 × 10 <sup>-5</sup>
<b>7a</b>	4.02 × 10 <sup>-5</sup>	3.53 × 10 <sup>-5</sup>	<b>9a</b>	1.87 × 10 <sup>-5</sup>	1.97 × 10 <sup>-5</sup>
<b>7b</b>	9.46 × 10 <sup>-6</sup>	7.39 × 10 <sup>-6</sup>	<b>9b</b>	1.94 × 10 <sup>-5</sup>	2.20 × 10 <sup>-5</sup>
<b>7c</b>	2.54 × 10 <sup>-5</sup>	2.94 × 10 <sup>-5</sup>	<b>9c</b>	2.59 × 10 <sup>-5</sup>	2.47 × 10 <sup>-5</sup>
<b>7d</b>	3.17 × 10 <sup>-5</sup>	2.49 × 10 <sup>-5</sup>	<b>9d</b>	2.78 × 10 <sup>-5</sup>	2.96 × 10 <sup>-5</sup>
<b>7e</b>	8.16 × 10 <sup>-6</sup>	1.08 × 10 <sup>-5</sup>	Genistein	3.15 × 10 <sup>-5</sup>	3.57 × 10 <sup>-5</sup>
<b>7f</b>	2.49 × 10 <sup>-5</sup>	1.30 × 10 <sup>-5</sup>	Curcumin	7.23 × 10 <sup>-6</sup>	8.30 × 10 <sup>-6</sup>
<b>8a</b>	2.83 × 10 <sup>-5</sup>	3.16 × 10 <sup>-5</sup>			

HCT116: Human colon cancer cell; SMMC 7721: Human liver cancer cell

### 3 讨论

以丹皮酚为初始原料,经四步反应得到关键中间体 **5**,总收率为 78.3%。在制备中间体 **2** 的过程中,首先要把钠块制成细小的钠砂,以保证其充分反应,并且有利于后处理操作;中间体 **2** 的亚甲基氢化学位移值范围较大(2.93~2.98),并且峰型裂分较复杂,推测可能是由于存在醇醛互变异构的原因。本研究中 Heck coupling 反应是关键中间体 **5** 与末端炔烃化合物的反应,反应条件是以 Pd(OAc)<sub>2</sub> 为催化剂,Cu(OAc)<sub>2</sub> 为碱,无水 DMSO/DMF 为溶剂。该反应系统为无配体偶联反应,本研究首次使用,未见文献报道。该条件的最大优点在于其成本较低,无需昂贵的配体,所用催化剂也相对廉价。但遗憾的是制得的产品为顺反异构体混合物,不能选择性的得到某种优势构型产物。本文作者曾在该反应条件下尝试羧基苯乙烯等具有吸电子基团的苯乙烯与 **5** 进行反应,但没有偶联反应发生,说明在该反应中末端炔烃双键具有较高的电子云密度是必需的,苯环上有吸电子基团时会使双键电子云密度降低,导致该反应难以发生。Sonogashira coupling 反应是关键中间体 **5** 与末端炔基化合物在 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub> 和 CuI 催化下、以无水 THF 为溶剂、三乙胺作为碱的反应,同末端炔烃的反应一样,该偶联反应受电子效应的影响非常明显,当炔基带有供电子基团时,三键上电子云密度较高,反应顺利进行,而当炔基连有吸电子基团时,三键上电子云密度较低,反应很难发生,如用对氟苯乙炔、对氯苯乙炔和 3-乙炔基吡啶进行该反应时,均未能得到目标化合物。Suzuki coupling 偶联反应的条件为中间体 **5** 与取代苯硼酸以 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 为催化剂、Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 为碱,干燥的 1,4-二氧六环为溶剂。该合成路线反应条件温和,纯化简单,收率理想。

体外抗肿瘤活性结果表明,除一个目标化合物由于溶解度差无法测试外,大部分目标化合物对人结肠癌细胞株 HCT116 和人肝癌细胞株 SMMC 7721 表现出一定的抑制活性。化合物 **7b** 和 **7e** 的活性较好,其对人结肠癌细胞株 HCT116 的 IC<sub>50</sub> 值分别为  $9.46 \times 10^{-6}$  和  $8.16 \times 10^{-6}$  mol/L,对人肝癌细胞株 SMMC 7721 的 IC<sub>50</sub> 值分别为  $7.39 \times 10^{-6}$  和  $1.08 \times 10^{-5}$  mol/L,与对照品姜黄素的 IC<sub>50</sub> 值(分别为  $7.23 \times 10^{-6}$  和  $8.30 \times 10^{-6}$  mol/L)相当,明显优于对照品 Gen 的 IC<sub>50</sub> 值(分别为  $3.15 \times 10^{-5}$  和  $3.57 \times 10^{-5}$  mol/L)。

以上结果表明,与 Gen 结构相比较,在苯并吡

喃酮骨架与 3 位取代基之间插入双键或三键,并不影响异黄酮类化合物的抗肿瘤活性,有些时候还会增加其抗肿瘤活性。但将异黄酮类化合物的 3'-或 4'-氨基与去甲斑蝥素形成酰胺化合物会使化合物的抗肿瘤活性降低,这可能是由于水溶性更小的缘故。

(志谢 感谢第二军医大学药学院仪器测试中心及上海医药工业研究院仪器室老师对本研究给予的支持与帮助。)

### [参考文献]

- [1] 刘晓艳.大豆异黄酮抗氧化活性及构效关系[J].安徽农业科学,2009,37:8837-8839.
- [2] 朱海扬,曾慧兰.黄酮类化合物药理作用的研究进展[J].山东医药,2009,49:114-115.
- [3] 阿依恒·曲库尔汗,刘立中,亚力坤. Genistein 抗肿瘤研究进展[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2005,12:234-236.
- [4] 郑芳,向其德,姜浩,曹建国.5,4'-二-正辛烷氧基-7-二氟亚甲基异黄酮抑制人乳腺癌细胞生长和诱导凋亡的作用[J].吉首大学学报:自然科学版,2008,29:106-111.
- [5] 金永生,刘超美,姚彬,张鲁榕.金雀异黄酮类似物的合成及抗肿瘤活性研究[J].中国医药工业杂志,2008,39:85-87.
- [6] 陈战国,赵海霞,魏俊发,刘勃.2-甲基-7-[ω-(1-咪唑基)-烷氧基]异黄酮衍生物的全合成及其抗氧化活性[J].高等学校化学学报,2009,30:82-89.
- [7] 董环文,李科,郑灿辉,刘嘉,李铁军,刘超美,等.3-胺基取代苯并吡喃酮类化合物的设计合成及抗肿瘤活性[J].化学学报,2009,67:819-824.
- [8] Yi C, Hua R. An efficient palladium-catalyzed Heck coupling of aryl chlorides with alkenes[J]. Tetrahedron Lett, 2006, 47: 2573-2576.
- [9] Stewart S G, Spagnolo D, Polomska M E, Sin M, Karimib M, Abrahama L J. Synthesis and TNF expression inhibitory properties of new thalidomide analogues derived *via* Heck cross coupling[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17: 5819-5824.
- [10] Ngassa F N, Lindsey E A, Haines B E. The first Cu- and amine-free Sonogashira-type cross-coupling in the C-6-alkynylation of protected 20-deoxyadenosine[J]. Tetrahedron, 2009, 65: 4085-4091.
- [11] Chandra A, Singh B, Upadhyay S, Singh R M. Copper-free Sonogashira coupling of 2-chloroquinolines with phenyl acetylene and quick annulation to benzo[b][1,6]naphthyridine derivatives in aqueous ammonia[J]. Tetrahedron, 2008, 64: 11680-11685.
- [12] Ding K, Wang S. Efficient synthesis of isoflavone analogues *via* a Suzuki coupling reaction[J]. Tetrahedron Lett, 2005, 46: 3707-3709.
- [13] Eisnor C R, Gossage R A, Yadav P N. Oxazoline Chemistry. Part 11: Syntheses of natural and synthetic isoflavones, stilbenes and related species *via* C-C bond formation promoted by a Pd-oxazoline complex[J]. Tetrahedron, 2006, 62: 3395-3401.