

5-羟基-4'-硝基-7-取代苄氧基-异黄酮的合成及抗肿瘤活性

王晓华¹, 王巍², 刘超美³ (1. 解放军第202医院, 辽宁 沈阳 110003; 2. 解放军第455医院, 上海 200052; 3. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 设计合成7-取代苄氧基-5-羟基-4'-硝基金雀异黄酮衍生物, 并进行体外抗肿瘤活性测试。方法 以氯苄为起始原料, 经取代、硝化、Friedel-Crafts反应、环合和苄基化得到目标化合物。结果 合成了2类重要中间体: 4'-硝基脱氧安息香和4'-硝基金雀异黄酮和7个目标化合物, 并经元素分析和¹H NMR确证其结构。结论 7位羟基引入苄基不能提高该类化合物的抗肿瘤活性。

[关键词] 异黄酮; 金雀异黄酮; 化学合成; 抗肿瘤活性

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)06-0427-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.06.008

Synthesis and antitumor activities of 5-hydroxy-4'-nitro-7-substituted benzyloxy-isoflavone

WANG Xiao-hua¹, WANG Wei², LIU Chao-mei³ (1. The 202nd Hospital of PLA, Shenyang, 110003, China; 2. The 455th Hospital of PLA, Shanghai, 200052, China; 3. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To design and synthesize genistein's derivatives: 5-hydroxy-4'-nitro-7-substituted benzyloxy-isoflavones and evaluate the antitumor effects *in vitro*. **Methods** Benzyl chloride was used as the starting reagent, to obtain title compounds by multi-step reaction: substitution, nitration, Friedel-Crafts reaction, cyclation reaction and benzylation. **Results** Two important intermediates: 4'-nitrodeoxybenzoin and 4'-nitrogenistein and seven title compounds were synthesized, which had been identified by elemental analysis and ¹H NMR. **Conclusion** Introduction of simple substituted benzyl group to 7-position hydroxy could not enhance the antitumor effects of this type of compounds.

[Key words] isoflavone; genistein; chemical synthesis; antitumor activity

金雀异黄酮(genistein)是一种来自大豆的天然异黄酮类化合物,也是一种强力酪氨酸蛋白激酶(PTK)抑制剂,体外能抑制多种PTK活性。近年来研究发现它还具有抑制DNA拓扑异构酶II活性及抑制肿瘤细胞的DNA合成,诱发肿瘤细胞凋亡^[1],增强对肿瘤细胞的免疫反应^[2],抑制肿瘤新生血管生成等多效的抗肿瘤作用^[3]。

天然黄酮和异黄酮的抗肿瘤构效关系研究表明,C-7和C-5位有羟基或苯环上有3个羟基者活性最好^[4,5]。并且异黄酮的4'-OH被F、NO₂取代后可提高抗肿瘤活性^[6]。因此,我们设计合成了4'羟基以硝基代替,同时7位引入取代苄基的金雀异黄酮类似物,并进行了体外抗肿瘤活性测试,研究7位引入的基团对活性的影响。

1 材料与方 法

[作者简介] 王晓华(1975-)女,主管药师。Tel: (024) 28853800, E-mail: wangxiaohua737@sina.com.

[通讯作者] 王巍。Tel: (021) 81815099, E-mail: krick1998@yahoo.com.cn.

1.1 主要试剂和仪器 合成所用试剂均为Fluka或上海化学试剂公司化学纯或分析纯试剂,熔点采用ZMD-1型熔点测定仪测定(温度计未经校正);¹H NMR采用Varian INOVA-400型核磁共振仪测定,TMS为内标;元素分析采用MOD-4106型自动元素分析仪测定。药理实验所用试剂材料除外均为Sigma公司产品。

1.2 化合物的合成 以氯苄(1)为起始原料,经取代、硝化得到对硝基苄乙腈(2),再与间苯三酚反应得到脱氧安息香(3),然后在甲烷磺酰氯、DMF和三氟化硼乙醚作用下环合得到异黄酮(4),异黄酮(4)与各种氯苄反应(5A~5F)得到目标化合物(6A~6F)(合成路线见图1)。

1.2.1 苄乙腈(1)和对硝基苄乙腈(2)的合成 按文献^[6]的方法制备。产率以氯苄计算为75%,熔点114~115℃。文献^[6]值116~117℃。

1.2.2 2',4',6'-三羟基-2-(p-硝基苯基)-苯乙酮(3)的合成 参考文献^[7]方法,收率90%,mp 243~244℃。文献值^[7]249~250℃。

1.2.3 5,7-二羟基-4'-硝基异黄酮(4)的合成 参

参考文献^[7]方法,收率 86%,mp 299 ~ 300 °C,文献值^[7]299 ~ 300 °C。

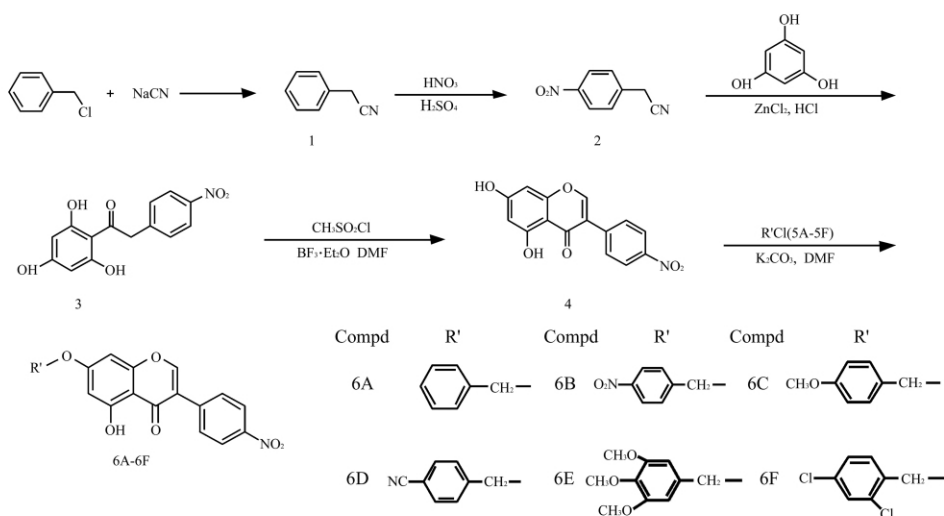


图 1 目标化合物的合成路线

1.2.4 7-(*p*-甲氧基苄氧基)-5-羟基-4'-硝基异黄酮(6D)的合成 取化合物(4) 500 mg (1.7 mmol), K_2CO_3 1 g, DMF 5 ml, *p*-甲氧基苄氯 320 mg (2 mmol) 通氮气保护下于 110 °C 反应 2 h。反应

毕 将反应物倒入 10 ml 水中 析出沉淀 过滤 将所得固体烘干后柱层析分离(氯仿:甲醇 = 70:1), 得到淡黄色产物。化合物 6A、6B、6C、6E、6F 同法制备。物理性质和¹H NMR 数据见表 1。

表 1 合成目标化合物的物理性质及光谱数据

编号	分子式	熔点(°C)	产率(%)	¹ H NMR(DMSO- <i>d</i> ₆ , δ, ppm)	元素分析(%) 计算值(实测值)		
					C	H	N
6A	C ₂₂ H ₁₅ NO ₆	227 ~ 229	54	5.27 (s, 2H, -CH ₂ -), 6.58 (d, 1H, 6-H, <i>J</i> = 2 Hz), 6.81 (d, 1H, 8-H, <i>J</i> = 2 Hz), 7.36 ~ 7.49 (m, 5H, H-Ph), 7.90 ~ 7.92 (d, 2H, 2'-H, <i>J</i> = 8.8 Hz), 8.28 ~ 8.30 (d, 2H, 3'-5'-H, <i>J</i> = 8.8 Hz), 8.67 (s, 1H, 2-H), 12.66 (s, 1H, 5-OH)	67.86(67.78)	3.88(3.86)	3.60(3.48)
6B	C ₂₃ H ₁₄ N ₂ O ₆	251 ~ 253	58	5.39 (s, 2H, -CH ₂ -), 6.58 (d, 1H, 6-H, <i>J</i> = 2.4 Hz), 6.82 (d, 1H, 8-H, <i>J</i> = 2.4 Hz), 7.66 ~ 7.68 (d, 2H, 2''-H, <i>J</i> = 8 Hz), 7.87 ~ 7.99 (m, 2H, 3''-H, <i>J</i> = 8 Hz), 7.90 ~ 7.92 (m, 2H, 2', 6'-H, <i>J</i> = 8.8 Hz), 8.29 ~ 8.31 (m, 2H, 3'-5'-H, <i>J</i> = 8.8 Hz), 12.66 (s, 1H, 5-OH)	66.67(66.87)	3.41(3.40)	6.76(6.81)
6C	C ₂₂ H ₁₄ N ₂ O ₈	221 ~ 224	67	5.44 ~ 5.47 (m, 2H, -CH ₂ -), 6.59 ~ 6.60 (d, 1H, 6-H, <i>J</i> = 2 Hz), 6.85 ~ 6.86 (d, 1H, 8-H, <i>J</i> = 2 Hz), 7.75 ~ 7.77 (m, 2H, 2''-H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 7.85 ~ 7.88 (d, 2H, 3''-H, <i>J</i> = 8.4 Hz), 7.90 ~ 7.92 (d, 2H, 2'-H, <i>J</i> = 8 Hz), 8.29 ~ 8.31 (m, 2H, 3'-5'-H, <i>J</i> = 8 Hz), 8.69 (s, 1H, 2-H), 12.68 (s, 1H, 5-OH)	60.83(59.92)	3.25(3.18)	6.45(6.81)
6D	C ₂₃ H ₁₇ NO ₇	195 ~ 197	80	3.77 (s, 3H, CH ₃ O-), 5.17 (s, 2H, -CH ₂ -), 6.53 (d, 1H, 6-H, <i>J</i> = 2 Hz), 6.81 (d, 1H, 8'-H, <i>J</i> = 2 Hz), 6.96 ~ 6.98 (m, 2H, 2''-H, <i>J</i> = 8.8 Hz), 7.40 ~ 7.42 (m, 2H, 3''-H, <i>J</i> = 8.8 Hz), 7.90 ~ 7.92 (m, 2H, 2'-H, <i>J</i> = 7.2 Hz), 8.26 ~ 8.32 (m, 2H, 3'-5'-H, <i>J</i> = 7.2 Hz), 8.68 (s, 1H, 2-H), 12.67 (s, 1H, 5-OH)	65.87(66.71)	4.09(4.24)	3.34(3.22)

编号	分子式	熔点(°C)	产率(%)	¹ H NMR(DMSO-d ₆ , δ, ppm)	元素分析(%) 计算值(实测值)		
					C	H	N
6E	C ₂₅ H ₂₁ NO ₉	201~203	75	3.68 (s, 3H, 4"-CH ₃ O-), 3.79 (s, 6H, 3" 5"-CH ₃ O-), 5.17 (s, 2H, -CH ₂ -), 6.56 (d, 1H, 6-H, J=2 Hz), 6.82 (d, 1H, 8-H, J=2 Hz), 7.90~7.92 (d, 2H, 2' 6'-H, J=8.8 Hz), 8.29~8.31 (d, 2H, 3', 5'-H, J=8.8 Hz), 8.68 (s, 1H, 2-H), 12.67 (s, 1H, 5-OH)	62.63(62.29)	4.41(4.40)	2.92(3.00)
6F	C ₂₂ H ₁₃ C ₁₂ NO ₆	231~233	67	5.26~5.34 (m, 2H, -CH ₂ -), 6.58 (d, 1H, 6-H, J=1.6 Hz), 6.86 (d, 1H, 8-H, J=1.6 Hz), 7.50~7.52 (m, 1H, 3"-H), 7.65~7.71 (m, 2H, 5" 6"-H), 7.84~7.86 (m, 2H, 2' 6'-H, J=8.8 Hz), 8.27~8.29 (m, 2H, 3' 5'-H, J=8.8 Hz), 8.67 (s, 1H, 2-H), 12.69 (s, 1H, 5-OH)	57.66(57.81)	2.86(2.74)	3.06(3.12)

1.3 体外抑制肿瘤细胞增殖活性 采用 [³H]-TdR 掺入法, 选用人乳腺癌细胞株 MDA-MB-435 进行体外抗肿瘤细胞增殖活性测试^[8]。通过测定比放射性(Bq), 由数据作图求得 IC₅₀ 值, 结果见表 2。

表 2 合成目标化合物的体外抗肿瘤活性

化合物	MDA-MB-435
6A	>50
6B	25
6C	>50
6D	50
6E	50
6F	>50
4	13

2 结果与讨论

在我们的前期研究中, 对母体化合物 4 的 7 位羟基进行酯化或者引入取代胺甲酰甲基基团后, 对抗肿瘤活性影响较大^[9,10], 而 7 位羟基苯基化对活性的影响缺少系统的研究。尽管对 7 位羟基进行苯基化修饰可以防止被代谢, 但从化合物的体外抗肿瘤活性可以看出, 7 位苯基化的产物 6A~6F 的抗肿瘤活性与母体化合物 4 比较均有所下降。相对而言, 引入对位氟基取代的化合物 6B 活性比其它取代基活性略好, 但对位引入同样吸电子的硝基 6C 却没有表现出更好的活性, 相反还不如其它供电子基取代的活性。而其它供电子基团取代的化合物也没有表现出较好的活性。结合前面的研究结果^[11], 7 位羟基是产生活性的重要基团, 7 位羟基进行简单的苯基化修饰会导致活性降低, 不宜进行简单苯基化修饰。

【参考文献】

- [1] Ji C, Yang YL, He L, *et al.* Increasing ceramides sensitizes genistein-induced melanoma cell apoptosis and growth inhibition [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2012, 421(3): 462.
- [2] Sakai T, Kogiso M. Soy isoflavones and immunity [J]. *J Med Invest* 2008, 55(3-4): 167.
- [3] Luo LJ, Liu F, Lin ZK, *et al.* Genistein regulates the IL-1 beta induced activation of MAPKs in human periodontal ligament cells through G protein-coupled receptor 30 [J]. *Arch Biochem Biophys* 2012, 522(1): 9.
- [4] Cushman M, Zhu HL, Geahlen RL, *et al.* Synthesis and biochemical evaluation of a series of aminoflavones as potential inhibitors of protein-tyrosine kinase p56lck, EGFR, and p60v-src [J]. *J Med Chem*, 1994, 37(20): 3353.
- [5] Cushman M, Nagarathnam D, Burg DL, *et al.* Synthesis and protein-tyrosine kinase inhibitory activities of flavonoid analogues [J]. *J Med Chem*, 1991, 34(2): 798.
- [6] 盛伟城. 对羟基苯乙酸合成工艺改进 [J]. *中国医药工业杂志*, 1993, 24(6): 276.
- [7] Moersch GW, Morrow DF, Neuklis WA. The antifertility activity of isoflavones related to genistein [J]. *J Med Chem*, 1967, 10(2): 154.
- [8] 丁雁, 邢善田, 周金黄. 淫羊藿多糖促进小鼠 T 和 B 细胞 [³H]-TdR 掺入和诱导干扰素作用的研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 1985, 1(6): 42.
- [9] 金永生, 刘超美, 吴秋业, 等. 新型金雀异黄素衍生物, 5-羟基-4'-硝基-7-取代酰氧基异黄酮的合成及抗肿瘤活性研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2005, 26(2): 182.
- [10] 金永生, 刘超美, 姚斌, 等. 金雀异黄素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(2): 85.
- [11] 金永生, 刘超美, 戴阳, 等. 金雀异黄素衍生物, 5-羟基-4'-硝基-7-取代酰氧基异黄酮的合成及抗肿瘤活性研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2004, 25(1): 111.

[收稿日期] 2012-04-22

[修回日期] 2012-07-23