

· 论 著 ·

N-取代苯基-2-(4-取代苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-酰胺的设计、合成及抗肿瘤活性

陈 煊, 耿冬平, 李 科 (第二军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 设计、合成 N-取代苯基-2-(4-取代苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-酰胺类化合物, 并进行抗肿瘤活性研究。方法 采用微波反应, 经缩合、环化、水解以及酰胺化等反应合成目标化合物。所合成化合物经¹H NMR 谱图和质谱进行确证, 并对其进行体外抗肿瘤活性筛选。结果 设计、合成了 20 个环丙烷酰胺类化合物。体外药理活性实验显示, 所合成的目标化合物具有较好的抗肿瘤活性, 其中 5b 对 A549 细胞的 IC₅₀ 值为 6.8 μM, 具有进一步研究的价值。结论 对氯苯基取代化合物比对三氟甲基苯基取代化合物有更好的抗肿瘤活性; 酰胺芳香环吸电子基团化合物活性优于供电子基团化合物。

[关键词] 环丙烷酰胺; 抗肿瘤活性; 构效关系

[中图分类号] R914

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2012)06-0422-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.06.007

Design, synthesis and anti-tumor activity of N-Phenyl-2-(4-phenyl)-cyclopropane-1-carboxylic acid-1-amide

CHEN Huan, GENG Dong-ping, LI Ke (Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To design, synthesize and study the anti-tumor activity in vitro of N-Phenyl-2-(4-phenyl)-cyclopropane-1-carboxylic acid-1-amide compounds. **Methods** The target compounds were obtained through Knoevenagel condensation, cyclization, hydrolysis and amidation reaction, microwave reaction equipment contributed to improve efficiency. Structure of the target compounds were determined by ¹H NMR and LC-MS. **Results** Design, synthesis of 20 novel cyclopropyl-amide compounds and anti-tumor assay showed all of the target compounds had significant anticancer activity in vitro. Compound 5b had the best activity in A549 cell with IC₅₀ 6.8 μM. **Conclusion** 4-trifluoromethyl substituted phenyl compounds had better anticancer activity than 4-chlorine substituted phenyl compounds. Electron-withdrawing group made more contributed than electron-donating group for anticancer activity in vitro.

[Key words] cyclopropyl-amide; anti-tumor activity; structure-activity relationships

肿瘤特别是恶性肿瘤严重威胁人类健康。据世界卫生组织调查, 由恶性肿瘤引起的死亡每年约占所有疾病死亡人数的 13%, 并且呈逐年增长趋势^[1]。恶性肿瘤预后差、造成患者痛苦、治疗费用高, 不仅严重影响人们身心健康, 而且给家庭、社会造成沉重经济负担, 成为影响社会和谐发展的不容忽视的因素。临床化学药物治疗是抗肿瘤的主要手段之一, 因此, 研发抗肿瘤药物是国内外药物研究的重要方向, 也是我国“十一五”、“十二五”连续规划的重点药物研发领域。

从中药中获取有效成分, 进而对其进行化学、药理和临床研究, 是现代科技对中药的巨大发展之

—^[2]。周大铮等从香榧假皮中提取分离得到了具有一定抗肿瘤活性的单体 2-芳基-4-苄基四氢呋喃木脂素 TG-10^[3,4] (图 1)。为了获取更高抗肿瘤活性

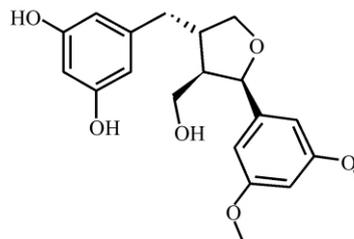


图 1 TG-10 的结构

的 TG-10 类衍生物, 笔者对 TG-10 进行了结构改造和结构修饰, 获得了比较满意的结果^[5-7]。构效关系研究发现, TG-10 的呋喃环非药效必需基团且该环合成

[基金项目] 国家自然科学基金 (21172259)。

[作者简介] 陈 煊 (1973-) 男, 硕士研究生, E-mail: disco7685@163.com.cn.

[通讯作者] 李 科. Tel: (021) 81871237 E-mail: proflike@sina.com.

复杂。因此,笔者采用微波反应,经缩合、环化、水解及酰胺化等反应设计,合成了20个未见文献报道的反式构型的N-取代苯基-2-(4-取代苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-酰胺系列化合物,目标化合物的结构通过¹H NMR和MS确定。采用MTT法筛选体外抗肿瘤

活性。实验结果显示,所合成的目标化合物具有较好的抗肿瘤活性。其中5b对A549细胞的IC₅₀值达到6.8 μM,具有进一步研究的价值。微波反应实验结果与文献报道^[8]相对比,在保证收率的同时,节约了原材料和防护了环境污染。合成路线见图2。

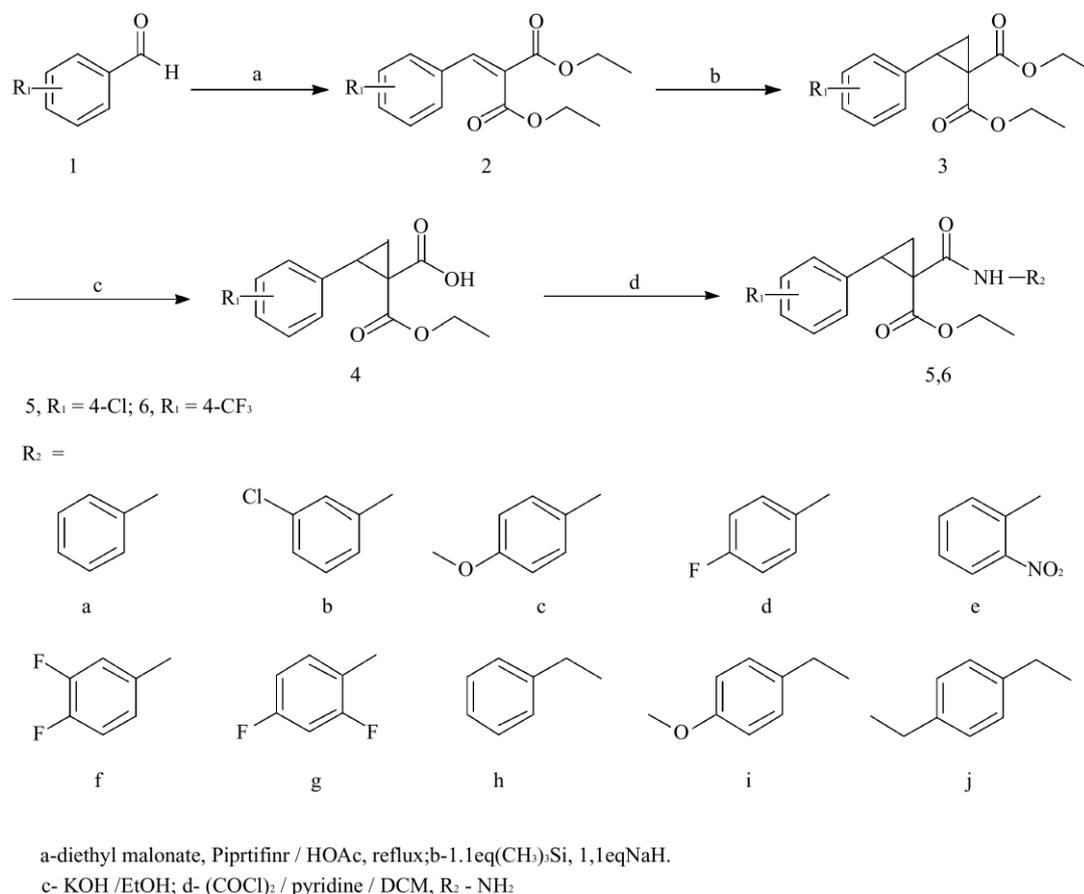


图2 目标化合物的合成路线

1 实验部分

1.1 仪器和材料 熔点由RY-2型熔点仪进行测定,温度未经校正;核磁共振谱由Bruker AC-300P型仪器测定,TMS为内标,溶剂为DMSO;质谱由Finigan LCQ Deca XP MAX质谱仪测定;层析柱采用青岛海洋化工厂生产的HSGF254型硅胶H(10~40 μM);所用试剂均为分析纯试剂。

1.2 试剂干燥 无水CH₂Cl₂:CH₂Cl₂中加入CaH₂(5 g/L),回流5 h,蒸馏后分子筛(4Å)保存;无水三乙胺:三乙胺中加入CaH₂(5 g/L),回流16 h,蒸馏后分子筛(4Å)保存;无水DMSO:DMSO中加入CaH₂(5 g/L),回流5 h,蒸馏后分子筛(4Å)保存。

1.3 目标化合物的合成

1.3.1 4-氯苯基次甲基丙二酸二乙酯的制备

氯苯甲醛(14.57 g,0.1 mol)、丙二酸二乙酯(16.81 g,0.105 mol)、冰乙酸(3 ml,5.0 mmol)、哌啶(1.8 ml,3 mmol)、硅胶(1 g)依次加入干燥的甲苯(200 ml)中,搅拌回流反应12 h,分馏生成的水。减压蒸去甲苯,残留物用二氯甲烷(200 ml)和水(200 ml)分别萃取3次,合并有机相,减压蒸去二氯甲烷,残留固体用乙酸乙酯:石油醚=2:1(v/v)结晶。滤取结晶,真空干燥,得4-氯苯基次甲基丙二酸二乙酯。称重得27.05 g(95.0 mmol),收率95%。MP:33.2~34.5 °C。¹H NMR(DMSO-d₆,300 MHz):δ 8.15(s,1H),7.34(s,2H),6.56(s,2H),4.32~4.26(m,4H),1.21~1.16(m,6H)。

1.3.2 4-三氟甲基苯基次甲基丙二酸二乙酯的制备 4-三氟甲基苯甲醛(18.81 g,0.1 mol)、丙二酸二乙酯(16.81 g,0.105 mol)、冰乙酸(3 ml,5.0

mmol)、哌啶(1.8 ml, 3 mmol)、硅胶(1 g)依次加入干燥的甲苯(200 ml)中,搅拌回流反应 12 h,分馏生成的水。减压蒸去甲苯,残留物用二氯甲烷(200 ml)和水(200 ml)分别萃取 3 次,合并有机相,减压蒸去二氯甲烷,残留固体用乙酸乙酯:石油醚=2:1(v/v)溶解,置冰箱中结晶。滤取结晶,真空干燥,得 4-三氟甲基苯基次甲基丙二酸二乙酯。称重得 29.6 g(93.0 mmol),收率 93%。MP: 51.3 ~ 52.5 °C。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.35(s, 1H), 7.65(s, 2H), 7.43(s, 2H), 4.39 ~ 4.34(m, 4H), 0.67 ~ 0.58(m, 6H)。

1.3.3 2-(4-氯苯基)环丙烷-1,1-二甲酸二乙酯的制备 NaH(2.38 g, 99 mmol)加入到无水 DMSO(200 ml)搅拌溶解,分批加入三甲基碘化亚砷(21.78 g, 99 mmol)室温搅拌至无气体放出。加入 4-氯苯基次甲基丙二酸二乙酯(25.6 g, 90 mmol);于 60 °C、400 W 微波反应器中反应 10 min。反应结束后反应液用二氯甲烷(200 ml)和水(300 ml)各萃取 3 次,合并有机相,减压蒸去二氯甲烷,残留固体用乙酸乙酯:石油醚=2:1(v/v)重结晶。过滤晶体后干燥,得 4-氯苯基环丙烷丙二酸二乙酯,称重得 25.37 g,收率 95%。MP: 77.7 ~ 78.5 °C。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.37(s, 2H), 6.54(s, 2H), 4.34 ~ 4.30(m, 4H), 3.10 ~ 3.04(t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 2.03 ~ 2.01(m, 1H), 1.64 ~ 1.59(m, 1H), 0.77 ~ 0.72(m, 6H)。

1.3.4 2-(4-三氟甲基苯基)环丙烷二甲酸二乙酯的制备 NaH(2.38 g, 99 mmol)加入到无水 DMSO(200 ml)搅拌溶解,分批加入三甲基碘化亚砷(21.78 g, 99 mmol)室温搅拌至无气体放出。加入 4-三氟甲基苯基次甲基丙二酸二乙酯(25.6 g, 90 mmol);60 °C、400 W 微波反应器中反应 10 min。反应结束后反应液用二氯甲烷(200 ml)和水(300 ml)各萃取 3 次,合并有机相,减压蒸除溶剂。残留物用乙酸乙酯:石油醚=2:1(v/v)重结晶。过滤晶体后干燥,得 4-三氟甲基苯基环丙烷丙二酸二乙酯,称重到 27.65 g,收率 93%。MP: 125.5 ~ 126.1 °C。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.68(s, 2H), 7.47(s, 2H), 4.36 ~ 4.30(m, 4H), 3.23 ~ 3.18(t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.16 ~ 2.12(m, 1H), 1.71 ~ 1.66(m, 1H), 0.76 ~ 0.71(m, 6H)。

1.3.5 2-(4-氯苯基)环丙烷-1,1-二甲酸单乙酯的制备 2-(4-氯苯基)环丙烷-1,1-二甲酸二乙酯(23.74 g, 80 mmol)、乙醇:水=10:1(v/v)混合液(200 ml)和 KOH(4.71 g, 84 mmol)于 30 °C 搅拌反应 3 ~ 4 h,然后先用 3% HCl 调 pH 至 7,再加水至总溶液的 2

倍,静置过夜,有大量白色固体析出,滤出固体,真空烘箱干燥,得 2-(4-氯苯基)环丙烷-1,1-二甲酸单乙酯 19.4 g,收率 90%。MP: 98.6 ~ 99.4 °C。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.02(s, 1H), 7.39(s, 2H), 6.57(s, 2H), 4.32 ~ 4.28(m, 2H), 3.11 ~ 3.07(t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 2.23 ~ 2.19(m, 1H), 1.60 ~ 1.56(m, 1H), 0.76 ~ 0.73(m, 3H)。

1.3.6 2-(4-三氟甲基苯基)环丙烷二甲酸单乙酯的制备 2-(4-氯苯基)环丙烷-1,1-二甲酸二乙酯(26.40 g, 80 mmol)、乙醇:水=10:1(v/v)混合液(200 ml)和 KOH(4.71 g, 84 mmol)于 30 °C 搅拌反应 3 ~ 4 h,然后先用 3% HCl 调 pH 至 7,再加水至总溶液的 2 倍,静置过夜,有大量白色固体析出,滤出固体,真空烘箱干燥,得 2-(4-三氟甲基苯基)环丙烷二甲酸单乙酯 21.5 g,收率 87%。MP: 134.8 ~ 136.1 °C。¹H NMR(DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.63(s, 1H), 7.71(s, 2H), 7.45(s, 2H), 4.33 ~ 4.29(m, 2H), 3.21 ~ 3.17(t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.17 ~ 2.11(m, 1H), 1.70 ~ 1.66(m, 1H), 0.75 ~ 0.70(m, 3H)。

1.3.7 (反式) N-苯基-2-(4-氯苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-甲酰胺(5a)的制备 2-(4-氯苯基)环丙烷-1,1-二甲酸单乙酯(1.34 g, 5 mmol)、无水二氯甲烷(20 ml)和草酰氯(0.48 ml, 5.05 mmol)室温搅拌反应 6 h,反应结束后减压蒸去反应液,得酰氯;苯胺(0.54 ml, 6 mmol)溶于无水二氯甲烷(10 ml)中,再加入无水吡啶(1.05 ml, 15 mmol),冰浴冷至 0 °C,搅拌下滴入酰氯,滴毕保温 30 min 后常温反应过夜。先用 3% HCl 调 pH 至 7.0,再用二氯甲烷和水萃取 3 次,合并有机相,用 2% 碱水洗涤 3 次,干燥后减压蒸馏有机相,残留物以乙酸乙酯:石油醚(v/v)为展开剂,经柱层析梯度洗脱(0% ~ 3%; 3% ~ 6%; 6% ~ 10%)得到(反式) N-苯基-2-(4-氯苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-甲酰胺 0.56 g,收率 65%。

同法制得 5b ~ 5j,化合物的理化性质及谱图数据见表 1。

1.3.8 (反式) N-苯基-2-(4-三氟甲基苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-甲酰胺(6a)的制备 2-(4-三氟甲基苯基)环丙烷二甲酸单乙酯(1.51 g, 5 mmol)、无水二氯甲烷(20 ml)和草酰氯(0.48 ml, 5.05 mmol)室温搅拌反应 6 h,反应结束后减压蒸去反应液,得酰氯;苯胺(0.54 ml, 6 mmol)、无水二氯甲烷(10 ml)和无水吡啶(1.05 ml, 15 mmol),冰浴冷至 0 °C,搅拌下滴入酰氯,滴毕保温 30 min 后常温反应过夜。先用 3% HCl 调 pH 至 7.0,合并有机相,用 2% 干燥后减压蒸馏有机相,残留物以乙酸乙酯:石油醚(v/v)为展开剂,经柱层析梯度洗脱

(0% ~ 3%; 3% ~ 6%; 6% ~ 10%) 得到反式结构 N-苯基-2-(4-三氟甲基苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-甲酰胺。0.70 g, 收率 74.1%。

所得目标化合物的纯度经高效液相检测, 使用 Agilent 1100 series LC system, 柱子规格为 4.6 mm

× 150 mm, 填充物为 C₈; 流动相为甲醇: 水 = 7: 3 (v/v); 流速为 1.0 ml/min; 每次进样体 20 μl; 在 254 nm 紫外监控。所有化合物的纯度 > 95%。

同法制得 6b ~ 6j, 化合物的理化性质及谱图数据见表 1。

表 1 目标化合物的理化性质及谱图数据

Comp.	Mp. (°C)	Yield (%)	Purity (%)	MS (H ⁺)	¹ H NMR (DMSO-d ₆ /TMS, 300 MHz, δ ppm)
5a	120.0 ~ 120.2	65.0	>99	400.07	10.18 (s, 1H), 7.65 ~ 7.62 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.47 ~ 7.43 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.34 ~ 7.29 (m, 2H), 7.06 ~ 7.06 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.54 (s, 2H), 3.87 ~ 3.80 (m, 2H), 3.24 ~ 3.19 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 2.22 ~ 2.18 (m, 1H), 1.75 ~ 1.70 (m, 1H), 1.06 ~ 1.02 (t, J = 7.8 Hz, 3H).
5b	112.5 ~ 113.2	71.6	97.45	378.86	10.35 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.52 ~ 7.49 (d, J = 11.7 Hz, 1H), 7.36 ~ 7.26 (m, 3H), 7.10 (dd, J ₁ = 1.8 Hz, J ₂ = 1.2 Hz, 1H), 6.53 (s, 2H), 3.82 ~ 3.76 (m, 2H), 3.25 ~ 3.20 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 2.17 ~ 2.06 (m, 1H), 1.77 ~ 1.73 (m, 1H), 0.80 ~ 0.78 (t, J = 6.9 Hz, 3H).
5c	69.7 ~ 71.2	72.3	96.24	374.01	10.03 (s, 1H), 7.55 ~ 7.52 (dd, J ₁ = 2.1 Hz, J ₂ = 2.1 Hz, 2H), 7.50 ~ 7.47 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.24 ~ 7.21 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.52 (s, 2H), 3.84 ~ 3.77 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.22 ~ 3.17 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 2.16 ~ 2.12 (m, 1H), 1.76 ~ 1.71 (m, 1H), 0.82 ~ 0.81 (t, J = 8.1 Hz, 3H).
5d	88.1 ~ 89.3	69.8	98.21	362.01	10.25 (s, 1H), 8.72 ~ 8.69 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.47 ~ 7.44 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.33 ~ 7.29 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 7.18 ~ 7.11 (m, 4H), 3.76 ~ 3.72 (m, 2H), 3.10 ~ 3.04 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 2.03 ~ 2.01 (m, 1H), 1.64 ~ 1.59 (m, 1H), 0.77 ~ 0.72 (t, J = 7.2 Hz, 3H).
5e	132.2 ~ 132.4	73.5	>99	445.05	11.46 (s, 1H), 8.25 ~ 8.22 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 8.12 ~ 8.08 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 7.77 ~ 7.72 (m, 1H), 7.47 ~ 7.43 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.37 ~ 7.32 (m, 1H), 7.27 ~ 7.24 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.58 (s, 2H), 3.91 ~ 3.77 (m, 2H), 3.18 ~ 3.12 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 2.35 ~ 2.31 (m, 1H), 1.94 ~ 1.91 (m, 1H), 0.82 ~ 0.81 (t, J = 8.1 Hz, 3H).
5f	103.6 ~ 104.9	77.3	95.05	394.03	10.54 (s, 1H), 8.71 ~ 8.69 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 33 ~ 7.30 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 7.21 ~ 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.02 (dd, J ₁ = 4.8 Hz, J ₂ = 4.8 Hz, 1H), 6.94 (dd, J ₁ = 5.1 Hz, J ₂ = 5.1 Hz, 1H), 3.80 ~ 3.71 (m, 2H), 3.15 ~ 3.09 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 2.07 (dd, J ₁ = 5.1 Hz, J ₂ = 5.7 Hz, 1H), 1.57 (dd, J ₁ = 4.8 Hz, J ₂ = 4.8 Hz, 1H), 0.79 ~ 0.76 (t, J = 8.1 Hz, 3H).
5g	130.2 ~ 132.1	75.1	95.11	394.02	10.24 (s, 1H), 8.73 ~ 8.71 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 7.61 ~ 7.59 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.43 ~ 7.41 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39 ~ 7.34 (m, 1H), 6.58 (s, 2H), 3.57 ~ 3.51 (m, 2H), 3.10 ~ 3.07 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 2.10 ~ 2.06 (m, 1H), 1.78 ~ 1.72 (m, 1H), 0.78 ~ 0.73 (t, J = 8.1 Hz, 3H).
5h	73.5 ~ 73.8	74.9	>99	414.07	9.86 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 8.65 ~ 8.62 (m, 3H), 7.88 ~ 7.85 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.14 ~ 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.43 (s, 2H), 4.32 ~ 4.29 (m, 2H), 3.94 ~ 3.92 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.09 ~ 3.08 (t, J = 8.7 Hz, 1H), 1.98 ~ 1.96 (m, 1H), 1.48 ~ 1.46 (m, 1H), 0.78 ~ 0.74 (m, 3H).
5i	69.7 ~ 71.2	73.2	95.42	388.01	9.67 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 8.63 ~ 8.62 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.34 ~ 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.24 ~ 7.18 (m, 3H), 6.65 (s, 2H), 4.29 ~ 4.25 (t, J = 5.1 Hz, 2H), 3.75 ~ 3.71 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.11 ~ 3.05 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 2.06 ~ 2.03 (m, 1H), 1.65 ~ 1.60 (m, 1H), 0.77 ~ 0.73 (m, 3H).
5j	80.1 ~ 82.9	73.8	96.37	372.01	10.02 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 8.52 ~ 8.49 (t, J = 6.3 Hz, 1H), 7.45 ~ 7.42 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.42 ~ 7.40 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.21 (s, 2H), 6.89 (s, 2H), 4.36 ~ 4.29 (m, 2H), 3.76 ~ 3.70 (m, 2H), 3.23 ~ 3.19 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 2.14 ~ 2.11 (m, 1H), 1.71 ~ 1.65 (m, 1H), 0.72 ~ 0.68 (t, J = 8.7 Hz, 3H).
6a	118.4 ~ 118.9	74.1	>99	364.04	9.24 (s, 1H), 7.78 ~ 7.72 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.41 ~ 7.37 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.29 ~ 7.26 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 7.12 ~ 7.09 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.52 (s, 2H), 3.87 ~ 3.80 (m, 2H), 3.24 ~ 3.19 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 2.22 ~ 2.18 (m, 1H), 1.75 ~ 1.70 (m, 1H), 1.06 ~ 1.02 (t, J = 7.8 Hz, 3H).
6b	152.9 ~ 153.4	74.6	95.73	412.04	9.39 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.67 ~ 7.65 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.53 ~ 7.48 (m, 3H), 7.16 (s, 2H), 3.82 ~ 3.75 (m, 2H), 3.37 ~ 3.31 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 2.25 ~ 2.20 (m, 1H), 1.84 ~ 1.79 (m, 1H), 0.77 ~ 0.75 (t, J = 8.4 Hz, 3H).

Comp.	Mp. (°C)	Yield(%)	Purity(%)	MS(H ⁺)	¹ H NMR(DMSO- <i>d</i> ₆ /TMS ,300 MHz ,δ ppm)
6c	139.7 ~ 140.0	75.4	98.71	408.10	8.68(s ,1H) ,7.67 ~ 7.64(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.56 ~ 7.48(m ,4H) ,6.90(s ,2H) ,3.82 ~ 3.72(m ,2H) ,3.72(s ,3H) ,3.42 ~ 3.41(t , <i>J</i> = 4.2 Hz ,1H) ,2.22 ~ 2.18(m ,1H) ,1.80 ~ 1.75(m ,1H) ,0.77 ~ 0.75(t , <i>J</i> = 8.4 Hz ,3H) .
6d	138.2 ~ 139.5	76.2	98.52	412.05	9.46(s ,1H) ,8.76 ~ 8.72(t , <i>J</i> = 6.0 Hz ,1H) ,7.65 ~ 7.62(d , <i>J</i> = 7.8 Hz ,2H) ,7.46 ~ 7.44(d , <i>J</i> = 7.8 Hz ,2H) ,7.35 ~ 7.31(m ,1H) ,7.18 ~ 7.12(t , <i>J</i> = 9.0 Hz ,2H) ,4.37 ~ 4.33(m ,2H) ,3.21 ~ 3.19(t , <i>J</i> = 8.7 Hz ,1H) ,2.15 ~ 2.11(m ,1H) ,1.71 ~ 1.67(m ,1H) ,0.71 ~ 0.67(t , <i>J</i> = 6.9 Hz ,3H) .
6e	146.3 ~ 146.9	81.3	95.36	423.09	11.39(s ,1H) ,8.15(dd , <i>J</i> ₁ = 1.2 Hz , <i>J</i> ₂ = 1.2 Hz ,1H) ,7.78 ~ 7.73(t , <i>J</i> = 7.8 Hz ,1H) ,7.70 ~ 7.67(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.54 ~ 7.52(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.38 ~ 7.34(m ,2H) ,3.84 ~ 3.75(m ,2H) ,3.30 ~ 3.29(t , <i>J</i> = 1.2 Hz ,1H) ,2.37 ~ 3.32(m ,1H) ,2.01 ~ 1.97(m ,1H) ,0.73 ~ 0.68(t , <i>J</i> = 7.2 Hz ,3H) .
6f	146.3 ~ 146.9	82.0	95.72	428.09	8.82(s ,1H) ,7.65 ~ 7.63(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.47 ~ 7.44(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.41 ~ 7.32(m ,4H) ,3.80 ~ 3.69(m ,2H) ,3.24 ~ 3.18(t , <i>J</i> = 8.4 Hz ,1H) ,2.16 ~ 2.11(m ,1H) ,1.71 ~ 1.66(m ,1H) ,0.73 ~ 0.71(t , <i>J</i> = 8.1 Hz ,3H) .
6g	102.1 ~ 102.3	78.4	95.47	414.09	8.87(s ,1H) ,7.47 ~ 7.39(m ,2H) ,7.33 ~ 7.30(t , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.25 ~ 7.22(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.12(dd , <i>J</i> ₁ = 4.8 Hz , <i>J</i> ₂ = 4.8 Hz ,1H) ,7.01(dd , <i>J</i> ₁ = 5.1 Hz , <i>J</i> ₂ = 5.1 Hz ,1H) ,3.80 ~ 3.71(m ,2H) ,3.15 ~ 3.09(t , <i>J</i> = 8.4 Hz ,1H) ,2.07(dd , <i>J</i> ₁ = 5.1 Hz , <i>J</i> ₂ = 5.7 Hz ,1H) ,1.67(dd , <i>J</i> ₁ = 4.8 Hz , <i>J</i> ₂ = 4.8 Hz ,1H) ,0.71 ~ 0.68(t , <i>J</i> = 8.1 Hz ,3H) .
6h	71.6 ~ 71.9	65.9	97.52	392.12	8.77 ~ 8.73(t , <i>J</i> = 6.0 Hz ,1H) ,7.65 ~ 7.62(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.47 ~ 7.44(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,7.36 ~ 7.21(m ,5H) ,4.39 ~ 4.35(m ,2H) ,3.76 ~ 3.70(m ,2H) ,3.24 ~ 3.18(t , <i>J</i> = 8.4 Hz ,1H) ,2.16 ~ 2.11(m ,1H) ,1.71 ~ 1.66(m ,1H) ,0.72 ~ 0.67(t , <i>J</i> = 7.2 Hz ,3H) .
6i	60.0 ~ 60.9	72.9	95.68	422.13	8.67(t , <i>J</i> = 8.1 Hz ,1H) ,7.65(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.46 ~ 7.43(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.23 ~ 7.20(d , <i>J</i> = 8.4 Hz ,2H) ,6.90 ~ 6.87(d , <i>J</i> = 8.7 Hz ,2H) ,4.31 ~ 4.27(t , <i>J</i> = 5.4 Hz ,2H) ,3.76 ~ 3.74(d , <i>J</i> = 7.2 Hz ,1H) ,3.72(s ,3H) ,3.54 ~ 3.43(d , <i>J</i> = 7.2 Hz ,1H) ,3.21 ~ 3.19(t , <i>J</i> = 8.1 Hz ,1H) ,2.15 ~ 2.10(m ,1H) ,1.70 ~ 1.66(m ,1H) ,0.70 ~ 0.68(t , <i>J</i> = 8.1 Hz ,3H) .
6j	74.2 ~ 74.6	74.5	96.51	406.14	8.72 ~ 8.68(t , <i>J</i> = 6.0 Hz ,1H) ,7.65 ~ 7.62(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.46 ~ 7.43(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.19 ~ 7.17(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,7.14 ~ 7.11(d , <i>J</i> = 8.1 Hz ,2H) ,4.39 ~ 4.25(m ,2H) ,3.78 ~ 3.67(m ,2H) ,3.23 ~ 3.17(t , <i>J</i> = 8.4 Hz ,1H) ,2.15 ~ 2.11(m ,1H) ,1.70 ~ 1.66(m ,1H) ,0.71 ~ 0.68(t , <i>J</i> = 8.7 Hz ,3H) .

2 药理实验

2.1 材料与方 法 测试细胞株: 肺癌细胞(A549) , 肝癌细胞(QGY) , 宫颈癌细胞(HeLa) , 结肠癌细胞(SW480) 。阳性对照药: TG-10。测试方法: 采用 MTT 法进行体外抗肿瘤活性筛选。

2.2 药理实验操作

2.2.1 细胞培养 受试细胞在 5% CO₂、37 °C 条件下 ,用含 10% 小牛血清的 DMEM 溶液传代培养 ,实验所用细胞均处于对数生长期。

2.2.2 药液制备 受试药物分别用 DMSO 配成 10 g/L 溶液 , -20 °C 保存 ,实验前 将药液取出置室温融化 ,并用 10% 小牛血清的 DMEM 培养液溶解分别成 80、40、20、10.5、2.5 μg/ml 的药液样品 4 °C 冰箱保存。

2.3 实验步骤

步骤 1: 取对数生长期细胞 ,用含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液 制成单细胞悬液 1 × 10⁶ 个/ml 将该

悬液加到 96 孔板中 ,每孔加入 100 μl。

步骤 2: 在 37 °C 培养箱中培养 24 h 后 ,吸取上清液 ,分别加入各浓度的受试药物 ,设双复孔 ,继续培养 24 h。

步骤 3: 吸取上清液 ,加入 20 μl MTT 溶液(5 μg/ml) 继续培养 4 h 后 ,吸取上清液 ,加 100 μl 的 DM-SO 充分溶解后在 570 nm 处测定吸光值(OD 值) ,并按下列公式计算其抑制率。

步骤 4: 计算 IC₅₀ 抑制率(%) = (对照孔 OD 值 - 实验孔 OD 值) / 对照孔 OD 值 × 100% 然后由 SPSS 软件算出 IC₅₀ 值。

2.4 抗肿瘤实验结果 见表 2。

3 结果与讨论

采用微波反应 ,经 knoevenagel condensation 缩合、环化、水解及酰胺化等反应设计、合成了 20 个未
(下转第 461 页)

温 80 纯品保留时间一致的色谱峰,怀疑有些中药注射剂厂家在产品中非法添加吐温 80,建议对中药注射剂厂家的生产环节加强监管。

【参考文献】

- [1] 刘婷,赵雍,曹春雨,等.鱼腥草注射液致类过敏反应的物质及其作用机制研究[J].中国中药杂志,2010,35(12):

1603.

- [2] 中国药典 2005 版.二部[S].2005:918.
[3] 中国药典 2010 年版.二部[S].2010:1246.
[4] 孙会敏,杨锐,栾琳,等.聚山梨酯 80 质量分析与致敏原探究[J].药物分析杂志,2011,31(10):158.

[收稿日期]2012-01-16

[修回日期]2012-06-13

(上接第 426 页)

表 2 目标化合物体外抗肿瘤活性(IC_{50} , μM)

Comp.	A549	HeLa	QGY	SW480
5a	34.1	27.6	113.4	/
5b	6.8	12.40	23.1	67.34
5c	53.5	89.9	167.5	90.5
5d	44.5	97.9	>400	53.4
5e	94	134.8	234.5	89.3
5f	36.5	132.4	176.3	62.71
5g	78.8	>400	87.7	85.4
5h	18.3	24.6	56.2	>400
5i	34.2	38.1	49.6	56.4
6j	24.3	42.9	129.7	/
6a	54.3	36.1	98.4	76.4
6b	47.9	29.5	70.14	62.22
6c	68.4	167.8	/	56.44
6d	31.5	113.4	/	37.5
6e	63.2	142.3	167.3	98.1
6f	41.7	56.4	156.4	78.3
6g	82.4	123.4	53.4	46.2
6h	46.2	36.1	>400	86.3
6i	58.8	48.7	98.8	73.6
6j	43.5	69.9	400	>400
TG-10	12.8	18.3	17.3	16.4

见文献报道的反式构型的 N-取代苯基-2-(4-取代苯基)环丙烷-1-甲酸乙酯-1-酰胺系列化合物,化合物的结构经¹H NMR 和 LC-MS 确证。合成中利用微波反应,比文献报道^[8]的合成方法在保持收率情况下,节省了原材料,降低了环境污染及提高了合成效率。体外抗肿瘤活性筛选实验结果显示:20 个目标化合物对 4 种肿瘤细胞具有一定的抑制活性。其中,对 A549 非小细胞肺癌的抗肿瘤活性最好。对氯苯基取代系列化合物(5a~5j)比对三氟甲基苯基取代系列化合物(6a~6j)有更好的抗肿瘤活性(5h 对 A549、HeLa、QGY 肿瘤细胞的 IC_{50} 分别为 18.3、24.6、56.2 μM ,而 6h 相对应的肿瘤细胞活性 IC_{50} 分别为 46.2、36.1 μM 和大于 400 μM ;苯胺取代比苯胺取代的活性较优,5i 对 4 种肿瘤细胞株的 IC_{50} 分别为 34.2、38.1、49.6、56.4 μM ,相对比 5c 的 IC_{50} 分别为 53.5、89.9、167.5、90.5 μM ;在酰胺芳香环上的不同取代基对抗肿瘤活性体现出一定的规律性:吸电子基团优于

供电子基团,化合物 5b 的化合物活性比 5a 活性较高,6b 的化合物活性比 6a 较高。综合所有的化合物抗肿瘤活性结果,化合物 5b 具有最好的活性,对 A549、HeLa 细胞的 IC_{50} 分别达到了 6.8、12.40 μM ,优于阳性对照药 TG-10(12.8、18.3 μM)。

笔者对 TG-10 进行了结构修饰,合成了 20 个全新的环丙烷酰胺类化合物,并进行了体外抗肿瘤活性筛选。肿瘤活性筛选结果表明,该类化合物具有一定的抗肿瘤活性,并具有一定的药物构效关系。其中,化合物 5b 对 A549、HeLa 的活性优于 TG-10,取得了较好的效果。但由于所合成的化合物数量有限,尚未对该类化合物药效关系进行更全面的研究。因此,有待我们对该类化合物进行更深层次的研究,建立环丙烷酰胺类化合物的数据库,为该类化合物研究奠定基础。

【参考文献】

- [1] 王甜甜,李科.四氢喹啉木脂素、四氢喹啉并[3,4-c]吡喃-4-酮、2,5-二氢喹啉以及喹啉衍生物的设计、合成和抗肿瘤活性研究[D].第二军医大学博士学位论文,2011.
[2] 姜殿君,赵丽妮,崔晶.抗肿瘤药物治疗的研究进展[J].中国现代医药杂志,2009,11(4):8.
[3] 周大铮,易杨华,毛士龙.香榧假种皮中的木脂素成分[J].药学报,2004,39(4):269.
[4] 周大铮,易杨华.香榧中抗艾滋病病毒活性先导化合物的研究和结构修饰[D].第二军医大学博士学位论文,2004.
[5] Wang TT, Liu J, Li K, et al. Efficient and mild synthesis of highly substituted 2,5-dihydrofuran and furan derivatives via step-wise reaction[J]. Tetrahedron, 2011, 67(7):3476.
[6] Sun HL, Wang TT, Li K, et al. Synthesis, chiral resolution, and determination of novel furan lignan derivatives with potent anti-tumor activity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(11):1961.
[7] Wang TT, Liu J, Li K, et al. Synthesis and anti-tumor activity of novel ethyl 3-aryl-4-oxo-3,3a,4,6-tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyran-3a-carboxylates[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21(9):3381.
[8] He XR, Qiu GP, Yang J, et al. Synthesis and anticonvulsant activity of new 6-methyl-1-substituted-4,6-diazaspiro[2.4]heptane-5,7-diones[J]. Eur J Med Chem, 2010, 45(6):3818.

[收稿日期]2012-04-16

[修回日期]2012-06-08