

苺氧基肉桂酸衍生物的合成及抗癌活性研究^{*}

徐虹¹ 秦天福² 马今朝¹ 文秀姨¹ 姜祎¹ 冯改利¹ 邓翀¹ 程玥¹ 张化为¹
曹瑞¹ 宋小妹¹ 李敏¹ 郭琦¹

(1. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 城固县中医医院, 陕西 城固 723200)

摘 要: **目的** 研究肉桂酸衍生物对 A549、SGC7901 细胞增殖和分化的影响。**方法** 以肉桂酸和取代苺基为药效基团, 经氧原子连接, 利用 Wittig、Williamson 反应合成了 5 个具有苺氧基结构的肉桂酸衍生物, 结构经¹H NMR、¹³C NMR、MS 和 IR 确认。所有化合物对 A549、SGC7901 两种细胞模型进行了体外抗肿瘤活性测试。**结果** 化合物 a、e 能够抑制 A549、SGC7901 细胞增长, 表现出较高的抗癌活性。**结论** 化合物 a、e 具有潜在的抗癌。
关键词: 肉桂酸衍生物; 抗癌活性; 苺氧基
中图分类号: R284.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-168X(2014)04-0077-04

Synthesis and anti-cancer activity of cinnamic acid derivatives with benzyloxy group

Xu Hong¹ Qin Tianfu² Ma Jinzhao¹ Wen Xiuyi¹ Jiang Yi¹ Feng Gaili¹ Deng Chong¹
Cheng Yue¹ Zhang Huawei¹ Cao Rui¹ Song Xiaomei¹ Li Min¹ Guo Qi¹

(1. Shaanxi University of Chinese Medicinal, Xianyang, Shaanxi, 712046;
2. Chenggu Chinese Medicine Hospital, Chenggu, Shaanxi, 723200)

Abstract: **Objective** To study the effect of cinnamic acid derivatives on cell proliferation and differentiation. **Method** Five cinnamic acid derivatives were synthesized with benzyloxy and cinnamic acid groups, all structures of these compounds were conformed by ¹H NMR, ¹³C NMR, MS and IR. The anti-cancer activities of these compounds in vitro were tested preliminarily on A549 and SGC7901 cells. **Result** Compound a and e were the most active in suppressing the growth of both screened cancer cells. **Conclusion** The Mixture with a and e exhibited anti-cancer activity.
Keywords: Cinnamic acid derivatives; anti-cancer activity; benzyloxy group

肉桂酸是中药桂皮 (Cinnamomum tamala (Bauch. - Ham.) Nees et Eberm) 的主要化学成分之一, 具有抗菌、升高白细胞、利胆^[1]、抗癌^[2-4]等活性, 肉桂酸及其衍生物可用于生产局部麻醉剂、杀菌剂、止血药等^[5-6], 还广泛应用于药品、香料、农药、塑料和感光树脂等。另外, 苺氧基苯类化合物从海洋生物中分离获得^[7], 具有一定的抗癌作用^[7-9], 而具有苺氧基结构的肉桂酸衍生物尚未见报道, 为了探索新的抗肿瘤药物, 本实验以肉桂酸为母核结构, 设计合成了具有苺氧基结构的肉桂酸衍生物 (见图 1), 以 MTT 法体外实验测试其抗肿瘤活性, 为探索新的抗肿瘤药提供实验依据。

^{*} 基金项目: 陕西省科技厅项目 (2011K12-03-18)

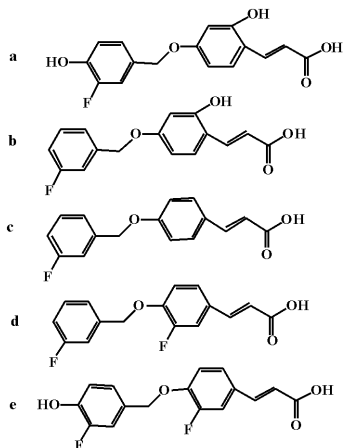
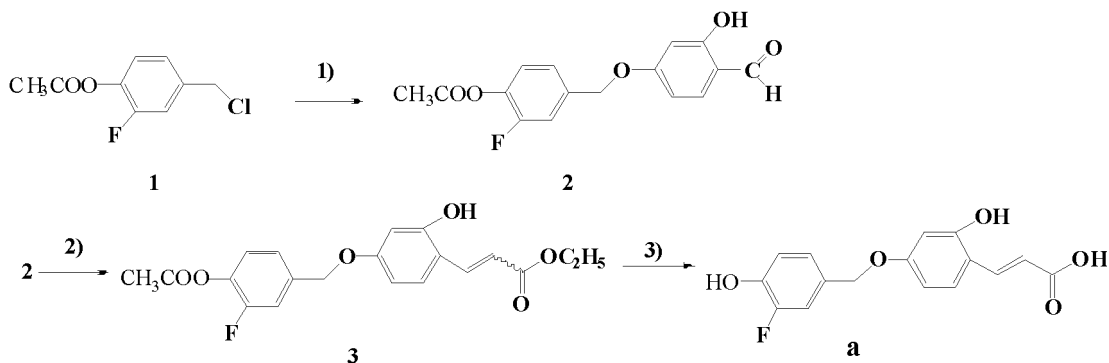


图 1 目标化合物结构



1): 2,4-二羟基苯甲醛、丙酮、碳酸钾,回流,10 h;2): 三苯基膦烯乙酸乙酯、四氢呋喃,室温,2 h;
3): 氢氧化钠、乙醇、水,回流,4 h; 盐酸。

图 2 目标化合物合成路线

2.1 化合物 2 的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中,加入化合物 1(4.05 g, 0.02 mol)、丙酮(20 mL)、碳酸钾(1.40 g, 0.01 mol)、2,4-二羟基苯甲醛(2.80 g, 0.02 mol),回流反应 10 h 后,趁热倒入分液漏斗中,乙酸乙酯萃取,回收溶剂,残留物用无水乙醇重结晶,得化合物 2,白色针状晶体 3.65 g,产率 60%。

化合物 2: m. p. 79.7 – 80.9℃. IR (KBr) cm^{-1} : 3438, 3079, 3066, 2985, 2942, 2870, 1692, 1591, 1489, 1206, 1100, 925, 863. ^1H -NMR (CDCl_3): δ 10.2 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.84 – 6.87 (m, 2H), 6.73 – 6.74 (m, 2H), 5.35 (s, 1H), 5.16 (s, 1H), 2.26 (3H, s). MS m/z (RI, %): 304 (M^+ , 19), 167 (100). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 194, 169, 167, 162, 159, 139, 136, 135, 124, 123, 114, 113, 107, 103, 71, 20.

2.2 化合物 3 的合成 在 100 mL 圆底烧瓶中,加入化合物 2(3.04 g, 0.01 mol)、四氢呋喃(10 mL)、

1 仪器与试剂。

1.1 仪器 WC-1 型显微熔点仪(温度计未校正); Bruker AV300 型核磁共振仪; Nicolet Avatar360E 型红外光谱仪; Thermo DSQ II (m/z 50 to 650) 型气质联用仪。

1.2 主要试剂 4-(氯甲基)-2-氟苯酚乙酸酯、2,4-二羟基苯甲醛、三苯基膦烯乙酸乙酯购自萨恩化学技术(上海)有限公司;二甲基亚砜(DMSO) 购自 Sigma 公司;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果 见图 2。

三苯基膦烯乙酸乙酯(3.50 g, 0.01 mol), 室温反应 2 h 后,倒入分液漏斗中,乙酸乙酯萃取,回收溶剂,残留物用硅胶柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯 = 1 : 1),回收溶剂,得白色固体 3.00 g,产率 80%。

化合物 3: m. p. 109.7 – 108.9℃. IR (KBr) cm^{-1} : 3430, 3077, 3066, 2983, 2947, 1621, 1591, 1489, 1350, 1206, 1100, 925, 863. ^1H -NMR (CDCl_3): δ 8.02 (d, J = 15.1, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.84 – 6.87 (m, 2H), 6.49 – 6.50 (m, 2H), 6.14 (d, J = 15.1, 1H), 5.35 (s, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.20 (s, 2H), 2.26 (s, 3H), 1.36 (s, 3H). MS m/z (RI, %): 374 (M^+ , 16), 167 (100). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 194, 169, 167, 162, 159, 139, 136, 135, 124, 123, 114, 113, 107, 103, 71, 20.

2.3 化合物 a 的合成 在 100 mL 圆底烧瓶中,加入化合物 3(1.50 g, 0.005 mol)、氢氧化钠(1.20 g, 0.03 mol),乙醇(5 mL),加水 10 mL,回流反应 4 h 后,倒入分液漏斗中,加盐酸至酸性,乙酸乙酯萃

取,回收溶剂,残留物用乙酸乙酯重结晶,得化合物 a,白色针状晶体 1.20 g,产率 85 %。

化合物 a: m. p. 185.6 – 186.8℃. IR (KBr) cm^{-1} : 3260, 3050, 2970, 2528, 1680, 1612, 1578, 1450, 1239, 1166, 1070, 925, 863, 834, 776. ^1H – NMR (CDCl_3): δ 8.04 – 7.99 (m, 2H), 6.86 (dd, J = 7.1, 1H), 6.70 – 6.73 (m, 2H), 6.49 – 6.51 (m, 2H), 6.15 (d, J = 15.1, 1H), 5.16 (s, 2H). MS m/z (RI, %): 304 (M^+ , 9), 125 (100). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 172, 163, 153, 151, 147, 141, 135, 130, 124, 117, 116, 115, 114, 107, 103, 71.

化合物 b、c、d 的合成同化合物 a,结构数据如下:

化合物 b: 收率 37%,白色针状晶体, m. p. 179.7 – 180.9 °C. IR (KBr) cm^{-1} : 3438, 3079, 3066, 2985, 2942, 2530, 1692, 1621, 1591, 1489, 1460, 1275, 1206, 925, 863. ^1H – NMR (CDCl_3): δ 8.04 – 7.99 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.50 – 6.49 (s, 1H), 6.16 (d, J = 15, 1H), 5.16 (2H, s). MS m/z (RI, %): 288 (M^+ , 19), 109 (100), 83 (8). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173, 164, 162, 161, 143, 142, 131, 130, 123, 117, 115, 114, 107, 103, 71.

化合物 c: 收率 25%,白色晶体, m. p. 169.7 – 170.9℃. IR (KBr) cm^{-1} : 3378, 3060, 2970, 2581, 1692, 1674, 1621, 1600, 1590, 1488, 1460, 1315, 1248, 1206, 925, 863, 834, 776, 685. ^1H – NMR (CDCl_3): δ 7.62 (2H, s), 7.45 (d, J = 15.7, 1H), 7.17 – 7.36 (m, 3H), 6.94 – 6.90 (m, 2H), 6.33 (d, J = 15.7, 1H), 5.16 (2H, s). MS m/z (RI, %): 272 (M^+ , 19), 227 (12), 109 (100), 83 (9). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 173, 164, 158, 144, 142, 131, 130, 127, 123, 117, 115, 114, 71.

化合物 d: 收率 29%,白色固体, m. p. 160.5 – 161.4℃. IR (KBr) cm^{-1} : 3060, 2970, 2581, 1692, 1674, 1621, 1600, 1590, 1488, 1460, 1248, 1206, 925, 863, 834, 776, 685. ^1H – NMR (CDCl_3): δ 10.8 (1H, s), 7.46 (d, J = 15.7,

1H), 7.37 – 7.39 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.84 – 6.91 (m, 3H), 6.33 (d, J = 15.7, 1H), 5.16 (2H, s). MS m/z (RI, %): 290 (M^+ , 19), 109 (100). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 175, 164, 162, 152, 149, 148, 142, 130, 129, 125, 123, 116, 114, 112, 71.

化合物 e: 收率 35%, m. p. 181.1 – 182.0℃. IR (KBr) cm^{-1} : 3426, 3060, 2970, 2581, 1692, 1621, 1600, 1590, 1488, 1460, 1248, 1206, 925, 863, 834, 776. ^1H – NMR (CDCl_3): δ 10.8 (1H, s), 7.46 (d, J = 15.7, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.85 – 6.92 (m, 3H), 6.70 – 6.73 (m, 2H), 6.33 (d, J = 15.7, 1H), 5.71 (s, 1H), 5.16 (2H, s). MS m/z (RI, %): 306 (M^+ , 19), 125 (100). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 175, 154, 152, 149, 148, 147, 135, 129, 125, 117, 116, 114, 112, 71.

2.4 体外抗癌活性评价 化合物 a – e 用 MTT 法测试其对 A549 和 SGC7901 两种癌细胞的体外抑制率,以 5 – FU 为参照药物。具体操作参照文献方法^[9–12]。见表 1。

表 1 目标化合物抗癌活性($n = 3$)

化合物	IC_{50} (μmol)	
	A – 549	SGC – 7901
a	2.4 ± 1.2	2.6 ± 0.9
b	2.7 ± 1.6	3.0 ± 1.9
c	n. a.	6.3 ± 2.0
d	2.4 ± 1.1	2.5 ± 1.4
e	2.3 ± 1.3	2.0 ± 1.0
5 – FU	2.3 ± 1.0	1.9 ± 0.9

注:n. a.: 无活性;5 – FU: 5 – 氟尿嘧啶

3 结果与讨论

3.1 本研究中利用 Wittig、Williamson 反应合成了 5 个具有苄氧基结构的肉桂酸衍生物,结构经 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、MS 和 IR 确认,合成路线可行,收率高。化合物 a、e 能够抑制 A549, SGC7901 细胞增长,表现出较高的抗癌活性。

3.2 合成方法和结构确证 化合物 a – e 经合成路线 1 合成,其结构及中间产物结构均经 IR、 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、MS 确认无误,HPLC 测定其纯度达 99 %。

Williamson 反应是一种双分子亲核取代反应,以卤代烃与醇钠或酚钠为原料反应制得不对称醚,该法是制备不对称醚的常用方法。由于苄氯

具有良好的活性以制备相应的醚类化合物及酚羟基的保护,因此本实验中选择相应的取代苄氯为原料;另外,由于苄氯在强碱中易生成苄醇衍生物,为避免该副反应,本实验中采用弱碱性的 K_2CO_3 为原料,由于酚羟基具有一定的酸性,可顺利生成氧负离子,使得反应顺利进行。

Wittig 反应是利用醛或酮与磷叶立德作用生成烯烃的反应,常用于烯烃的合成。磷叶立德可分为活泼和稳定两类,使用活泼磷叶立德时所得产物一般是 Z 型,或 Z/E 异构体比例相当;而使用较稳定的磷叶立德时,产物则以 E 型为主。肉桂酸是 E 式的苯丙烯酸结构,因此本实验中以三苯基磷烯乙酸乙酯(稳定的磷叶立德)为原料,合成肉桂酸衍生物。

3.3 生理活性研究 在我国胃癌是癌症中发病率最高的,而肺癌则是发病增长率最快的,因此本实验所合成的化合物 a - e 用 MTT 法测试其对 A549 和 SGC7901 两种癌细胞的抑制率,以 5 - FU 为参照药物。化合物 a - e 对 A549 的 IC_{50} 分别为 2.4、2.7、n. a.、2.4 和 2.3 $\mu mol/L$;对 SGC7901 的 IC_{50} 分别为 2.6、3.0、6.3、2.5 和 2.0 $\mu mol/L$ 。所合成的目标化合物对 SGC7901 癌细胞均表现出抑制作用,化合物 c 对 A549 癌细胞未表现出抗癌活性,其余均有一定的活性,其中化合物 a 和 e 的抗癌活性与参照药物 5 - FU 相当。

由于结构不同,所合成化合物的活性也不相同。化合物 a 和 e 的抗癌活性分别强于化合物 b 和 d,可能是由于结构中引入了酚羟基,提高了抗癌活性^[9]。另外氟原子可增强药物活性,延长代谢时间^[10-12],化合物 d 与 c 相比分子中多引入了一个氟原子,抗癌效果也有增强,对 SGC - 7901 的 IC_{50} 从 6.3 降至 2.5 $\mu mol/L$,而对 A - 549 从无活性到 2.4 $\mu mol/L$ 。由于药物作用于机体是个复杂的过程,本实验采用 MTT 法对化合物活性进行初步筛选,对于化合物 a 和 e 的抗癌活性及机理将进一步研究。

参考文献

[1] Li L., Huang W., Jun F., et al. NCAE - UV Detection method determin cinnamon's cinnamic acid and cinnamal. [J]. J. Instrum Anal, 2007, 26 (2):274 - 276.
[2] Liu L., Hudgins W., Shack S., et al. Cinnamic acid: A natural product with potential use in cancer intervention

[J]. Int. J. Cancer, 1995, 629(3):345 - 350.
[3] 卢娟,汪晖,卢方安. 肉桂酸对胃癌癌细胞诱导分化的实验研究[J]. 中国药理学通报,2007,23(2):237 - 240.
[4] Zhang Y.. Cinnamic acid and its derivatives with the tumor [J]. Cancer Res. Clin., 2001, 13 (5): 353 - 355.
[5] Bu S., Kim Y., Kim S., et al. Effects of enzyme inducers and inhibitor on the pharmacokinetic of intravenous 2 - (allythio) pyrazine, a new chemoprotective agent, in rats [J]. Biopharm Drug Dispos, 2000, 21(4):157 - 169.
[6] Palamanda J., Feng W., Lin C., et al. Stimulation of tolbutamide hydroxylation by acetone and acetonitrile in human liver microsomes and in a cytochrome P - 450 2C9 - reconstituted system[J]. Drug Metab Dispos, 2000, 28 (1):38 - 46.
[7] Chen L., Fang Y., Zhu T., et al. Nine New Gentisyl Alcohol Derivatives from the Marine - Derived Fungus Penicillium terrestre [J]. J. Nat. Prod. 2008, 71(1):66 - 70.
[8] Dai H., Liu W., Xu H. Yang L., et al. Anti human immunodeficiency virus - 1 (HIV - 1) agents 1. Discovery of benzyl phenyl ethers as new HIV - 1 inhibitors in vitro [J]. Chem. Pharm. Bull. 2009, 57(1):84 - 86.
[9] Marshall, M. E., Kervin, K., et al. Growth - inhibitory effects of coumarin (1, 2 - benzopyrone) and 7 - hydroxycoumarin on human malignant cell lines in vitro [J]. J. Cancer Res. Clin. Oncol., 1994, 120(1):S3 - S10.
[10] Hale, J. J., Mills, S. G., MacCoss, M., et al. Structural optimization affording 2 - (R) - (1 - (R) - 3,5 - bis(trifluoromethyl) phenylethoxy) - 3 - (S) - (4 - fluoro) phenyl - 4 - (3 - oxo - 1,2,4 - triazol - 5 - yl) methylmorpholine, a potent, orally active, long - acting morpholine acetal human NK - 1 receptor antagonist[J]. J. Med. Chem., 1998, 41(23):4607 - 4614.
[11] Kim, D., Kowalchick, J. E., Edmondson, S. D., et al. A glucose - selective fluorescence sensor based on boronicacid - diol recognitio [J]. Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 17(12):3373 - 3377.
[12] Evans, D. C., Watt, A. P., Nicoll - Griffith, D. A., et al. Drug - Protein Adducts: An Industry Perspective on Minimizing the Potential for Drug Bioactivation in Drug Discovery and Development [J]. Chem. Res. Toxicol., 2004, 17(1):3 - 16.