

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.07.007

萘查耳酮类化合物的设计合成及对 CYP1B1 酶的抑制活性评价

靖 铮 宋化龙 王汝冰 李绍顺[△]

(上海交通大学药学院 上海 200240)

摘要 目的:设计并合成几类新型的萘查耳酮衍生物,初步测定其对 CYP1B1 酶的抑制活性,筛选具有良好抗癌作用的 CYP1B1 抑制剂。**方法:**以 1,5-二羟基萘为原料,首先合成两个重要的中间体 2-乙酰基-1,4,5,8-四甲氧基萘、1,5,6-三甲氧基-2-萘乙酮,然后利用羟醛缩合反应合成所需要的化合物。**结果:**合成了 19 个目标化合物,其结构均经过核磁共振氢谱确证,所有化合物均为全新化合物。对所合成的新化合物均进行了 EROD 酶实验测定。**结论:**所合成的化合物均具有较强的 CYP1B1 酶一抑制活性,其中 4-1、4-2、5'-1 对 CYP1B1 的抑制活性强于 CYP1B1 强抑制剂 α -萘黄酮 ($IC_{50}=11$ nmol/L),他们的 IC_{50} 分别为 6.5、0.47、8 nmol/L。

关键词:萘查耳酮;CYP1B1 酶抑制剂;合成;抗肿瘤

中图分类号:R914 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)07-1229-06

Synthesis and CYP1B1 Inhibitory Activity of Benzo-chalcone Derivatives

JING Zheng, SONG Hua-long, WANG Ru-bing, LI Shao-shun^A

(School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200240, China)

ABSTRACT Objective: A series of benzo-chalcone derivatives were designed and synthesized, and then they were tested for their CYP1B1 inhibitory activities to find some potent CYP1B1 inhibitors which might have good anticancer effects. **Methods:** 1, 5-dihydroxy-naphthalene was used as the starting material, then two important intermediates (2-acetyl-1, 4, 5, 8-tetramethoxy-naphthalene and 1, 5, 6-trimethoxy-2-acetonaphthone) were synthesized. Finally, target compounds were synthesized through aldol reaction. **Results:** Nineteen novel benzo-chalcone derivatives were synthesized, and their structures were confirmed by ¹H-NMR. Moreover, their enzyme inhibitory activities were also tested through enzyme assay. **Conclusion:** The CYP1B1 inhibitory activities of the target compounds were evaluated and the results demonstrated that most of them had potent inhibition against CYP1B1. Among all these compounds, 4-1, 4-2 and 5'-1 were the most potent CYP1B1 inhibitors with the IC_{50} value of 6.5, 0.47, 8 nmol/L, which even better than α -naphthoflavone ($IC_{50}=11$ nmol/L).

Key words: Benzo-chalcone; CYP1B1; Synthesis; Antitumor

Chinese Library Classification(CLC): R914 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)07-1229-06

前言

细胞色素 P450(cytochrome P450, CYPs), 又称混合功能氧化酶(mixed function oxidase, MFO)或单加氧酶(monooxygenase), 位于细胞内质网膜上, 是一组结构和功能相关的超家族基因编码的同工酶, 它是自然界中含量最丰富、分布最广泛、底物谱最广的 I 相代谢酶系^[1,2]。CYP450 不仅可以催化众多内源性物质如脂肪酸、类固醇激素和外源性物质如药物、毒物、前致癌物、致畸物质在体内的 I 相代谢反应, 而且与疾病、肿瘤易感性及机体耐药性的产生有密切关系, 因此成为近年来肿瘤研究的热点之一^[3-9]。涉及调控大多数药物和外来物代谢的 P450 酶系的基因主要有 3 个系, 即 CYP1~3^[10]。

CYP1B1 是 CYP1 酶家族在人体中的第三种表达类型, 这

种酶的大小和氨基酸数目在已知 CYP 中都是最大的, 但结构却是最简单的, 更为奇特的是这种酶在大多数人类肿瘤组织中高表达, 但是在无瘤组织中低表达或者不表达^[11,12]。利用这点, 我们可以尝试研究并开发以 CYP1B1 为靶向的抗肿瘤药物。以这些酶为靶点的化学药物设计思路主要分为两类: 第一类, 设计出细胞色素 CYP1B1 抑制剂; 第二类, 设计出能够被细胞色素 CYP1B1 激活的前药。

α -萘黄酮(α -Naphthoflavone)为 7, 8-苯并黄酮衍生物, 是文献中报道最为广泛的 CYP1B1 酶专属强抑制剂^[13,14]。与其他含有 2-苯基-色原酮(2-phenyl-4h-chromen-4-one)母核的黄酮类相比, 对人重组的 CYP1B1 酶的抑制强度显著提高, 而两类化合物结构上的主要区别在于 A 环上结构的不同, α -萘黄酮 A 环为萘环而 2-苯基-色原酮母核中 A 环却为苯环(结构见图 1)。该结果提示可能萘环在空间结构上可以更好地与作用位点结合^[15,16]。

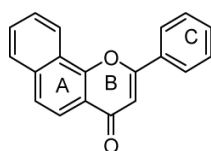
查耳酮类属于黄酮类化合物, 广泛存在于各种天然植物中, 在生源上常被看作是黄酮类化合物的前体, 其结构与黄酮类化合物很相似, 从天然植物提取的查耳酮类化合物对

作者简介: 靖铮(1988-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 抗肿瘤药物的设计与合成, 电话: 18049958592,

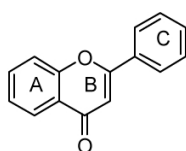
E-mail: jingzh1988@hotmail.com

[△]通讯作者: 李绍顺, 电话: 021-34204775, E-mail: ssls@sjtu.edu.cn

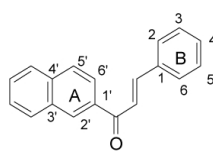
(收稿日期: 2013-07-17 接受日期: 2013-08-12)



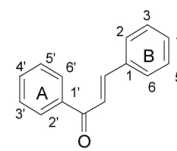
Naphthoflavone



2-phenyl-4H-chromen-4-one

图1 α -萘黄酮和2-苯基色原酮结构示意图Fig.1 Structure of α -naphthoflavone and 2-phenyl-4h-chromen-4-one

Benzo-chalcone



Chalcone

图2 萘查耳酮和查耳酮结构示意图

Fig.2 Structure of benzochalcone and chalcone

CYP1B1 也具有抑制作用^[7]。而与 α -萘黄酮这种 CYP-1B1 强抑制剂的结相似查耳酮是 A 环为萘环的苯并查耳酮 - 萘查耳酮,为了寻找到对 CYP1B1 有更好抑制活性的化合

物,我们设计并合成了一系列萘查耳酮类衍生物(化合物结构如图 3 所示)19 个,并对其进行生物活性筛选,并探讨其构效关系。

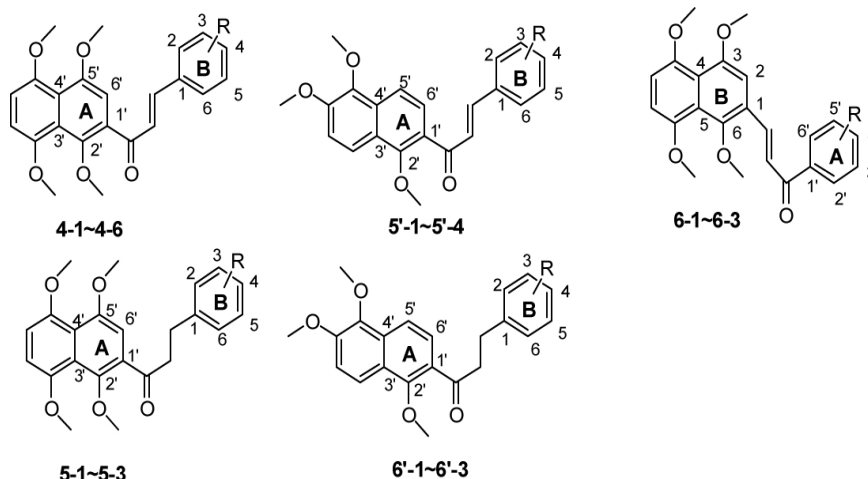


图3 所合成的化合物母核

Fig.3 Core structure of synthesized compounds

1 材料与方法

化学实验材料:试剂均为市售化学纯或分析纯产品,除特殊说明外,不经处理直接使用。干法上样柱层析用硅胶为 100-200 目硅胶(青岛海浪硅胶干燥剂厂),洗脱剂为二氯甲烷,甲醇,乙酸乙酯,石油醚和三乙胺等,其中常用洗脱体系为石油

醚/乙酸乙酯系统(100:0 - 100:100),非特别指明下文均采用该体系及配比;薄层层析(TLC)板采用硅胶 GF254(青岛海洋化工厂生产),经烘箱 105℃ 下活化 30 分钟后置于干燥箱中保存备用,于紫外灯下(波长 254 nm)显色或碘显色;TLC 展开剂常用为石油醚/乙酸乙酯系统(100:0 - 100:100),非特别指明下文均采用该体系及配比;TLC 在 ZF7 型三用紫外分析仪(河

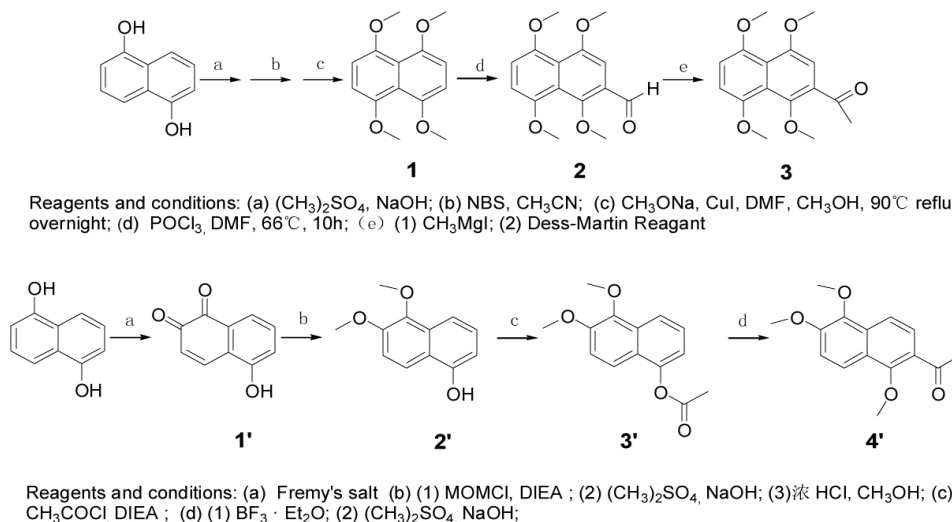


图4 中间体的合成路线

Fig.4 Synthetic routes of intermediates

南市巩义予华仪器有限责任公司)下照射检测。¹H-NMR 是在 MERCURY plus 300MHz 核磁共振仪上测定(TMS 为内标物)。

生物实验材料:牛血清白蛋白(BSA)、酶源(CYP1A1, CYP1B1)、7-乙氧基-3H-吩恶嗪-3-酮(7-ER)、NADPH 再生系统(MgCl₂、NADP⁺、葡萄糖 6-磷酸 G-6-P、葡萄糖 6-磷酸脱氢酶 G-6-PDA)、Tris-HCl 缓冲液(pH=7.4)。

对目标化合物的合成,本文首先按照下图所示的合成路线分别合成了中间体 3, 4'^[18]。

得到这两种中间体之后,我们再将这几种中间体与由不同取代基取代的各种苯甲醛在碱性条件下(10% KOH)进行羟醛缩合,得到我们所需要的苯查耳酮及其衍生物。另外为了考察 A 环的芳香环的不同是否会影响其生物活性,我们还以化合物 2 作为中间体,将其与各种不同取代基取代的苯乙酮进行羟醛缩合得到另外一类的苯查耳酮类衍生物(合成路线如图 5 所示)。为了考察查耳酮的碳碳双键对其生物活性的影响,我们还将所合成的苯查耳酮类化合物进行还原得到其所对应的二氢查耳酮类衍生物(合成路线如图 6 所示)。

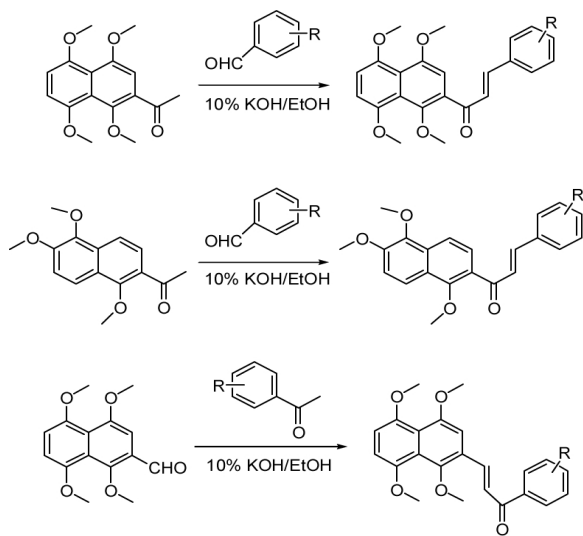


图 5 苯查耳酮的合成路线

Fig.5 Synthetic route of benzochalcones

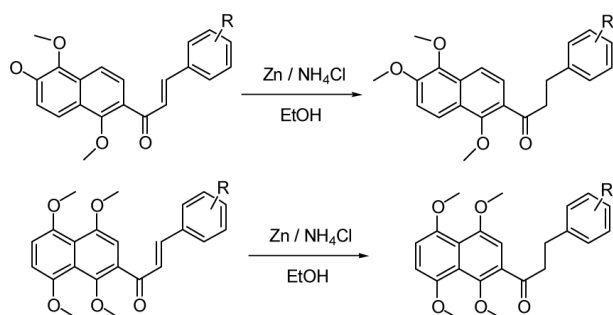


图 6 二氢苯查耳酮的合成路线

Fig.6 Synthetic route of dihydro-benzochalcones

1.1 化合物 4-1~4-6 的合成通法

在 100 mL 三颈瓶中加入取代的 2-乙酰基-1,4,5,8-四甲氧基萘(0.29 g, 1 mmol),以及取代的苯甲醛(1 mmol),用适量乙醇将它们充分溶解,抽真空,N₂ 保护。向反应体系中加入约 2 mL 已配制好的 10% KOH 水溶液,反应体系的颜色很快变为

金黄色,室温搅拌约 5 h,反应进行完全,乙酸乙酯萃取,合并有机层,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,经硅胶柱层析进行纯化(乙酸乙酯-石油醚,体积比为 1:2),得到化合物 4-1~4-6,一般为橘红色固体。

1.2 化合物 5-1~5-3,6'-1~6'-3 的合成通法

1.07 g(20 mmol)氯化铵溶于 8 mL 水中,然后加入到取代的(E)-3-苯基-1-(1,4,5,8-四甲氧基萘)-2-丙烯-1-酮(0.5 mmol)的乙醇溶液中,强力搅拌,分二等份加入锌粉 0.195 g,每次加入锌粉 0.0975 g(1.5 mmol),每次加入的量与查耳酮的摩尔比为(2.5:1),加入时间相隔 15 min,反应完全时,过滤除去溶液中的悬浮杂质,乙酸乙酯萃取,合并有机层,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,经硅胶柱层析进行纯化(乙酸乙酯-石油醚,体积比为 1:3),得到化合物 5-1~5-3,一般为淡黄色固体。

1.3 化合物 5'-1~5'-4 的合成通法

同 4-1~4-6 的合成通法。

1.4 化合物 6-1~6-3 的合成通法

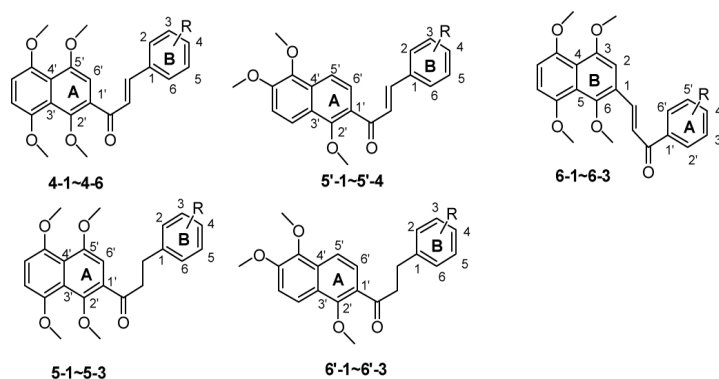
在 100 mL 三颈瓶中加入 1,4,5,8-四甲氧基萘甲醛(0.276 g, 1 mmol),以及取代的苯乙酮(1 mmol),用适量乙醇将它们充分溶解,抽真空,N₂ 保护。向反应体系中加入约 2 mL 已配制好的 10% KOH 水溶液,反应体系的颜色很快变为金黄色,室温搅拌约 3 h,反应进行完全,乙酸乙酯萃取,合并有机层,饱和食盐水洗涤,无水硫酸钠干燥,经硅胶柱层析进行纯化(乙酸乙酯-石油醚,体积比为 1:2),得到化合物 6-1~6-3,一般为橘红色固体。

1.5 酶抑制实验

目标化合物对 CYP1B1 酶的抑制活性是通过 EROD 试验测定^[19,20],阳性对照物为文献中被广泛报道的 CYP1B1 强抑制剂 α -萘黄酮。该实验设定测试(T)和空白(C)两组。测试组是将待评价化合物配制成不同浓度的二甲基亚砜溶液(保证二甲基亚砜在 200 μ L 终溶液中体积比不高于 1%),之后稀释到 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH=7.4)中,并按 50 μ L/孔加入 96 孔板中。然后每孔加入 75 μ L 混合液 2 (20 fmol/ μ L CYP1B1 1 μ L、150 nmol/L 7-乙氧基试卤灵 2 μ L 和 Tris-HCl 缓冲液 72 μ L)后 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 10 min。再加入 75 μ L 混合液 3 (3.3 mmol/L MgCl₂ 0.1 μ L、1.3 mmol/L NADP⁺ 0.13 μ L、3.3 mmol/L 葡萄糖-6-磷酸 0.1 μ L、0.5 U/mL 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 0.1 μ L 和 Tris-HCl 缓冲液 74.57 μ L)后 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 35 min。之后每孔加入 100 μ L 预冷的乙腈用于终止反应。空白组中使用二甲基亚砜代替待评价化合物的二甲基亚砜溶液,其他操作与实验组相同。采用酶标仪在激发波长 544 nm 和发射波长 590 nm 处测量荧光强度。抑制率(%)=(空白组荧光强度-测试组荧光强度)/空白组荧光强度。

2 结果

下图是所合成的五类化合物的母核结构,所合成的化合物的结构在形式上是在母核的 B 环(或 A 环)上进行不同取代基(以 R 表示)的取代。下表中列出了所合成的每一个化合物在母核的基础上是由什么取代基取代,“Compd.”—列代表化合物的编号,第二列“R”代表取代基(如 NO₂、F、Cl 等吸电子取代基以及 OMe、OBn 等给电子取代基),19 个化合物均由此列出。



Compd. ^⓪	R ^⓪	Compd. ^⓪	R ^⓪	Compd. ^⓪	R ^⓪	Compd. ^⓪	R ^⓪
4-1 ^⓪	2-NO ₂ ^⓪	4-6 ^⓪	3,4-OBn ^⓪	5'-2 ^⓪	2-Cl ^⓪	6'-3 ^⓪	3,4-OMe ^⓪
4-2 ^⓪	4-NO ₂ ^⓪	5-1 ^⓪	4-F ^⓪	5'-3 ^⓪	3,4-OMe ^⓪	6-1 ^⓪	4'-Br ^⓪
4-3 ^⓪	2-F ^⓪	5-2 ^⓪	3-F ^⓪	5'-4 ^⓪	4-OBn ^⓪	6-2 ^⓪	4'-OMe ^⓪
4-4 ^⓪	4-Cl ^⓪	5-3 ^⓪	2-Cl ^⓪	6'-1 ^⓪	4-F ^⓪	6-3 ^⓪	2'-NH ₂ ^⓪
4-5 ^⓪	3,4,5-OMe ^⓪	5'-1 ^⓪	4-F ^⓪	6'-2 ^⓪	2-Cl ^⓪		

图7 所合成的化合物

Fig.7 Synthesized compounds

所合成的 19 个化合物的收率以及核磁数据如表 1 所示。第一列“Compd.”代表化合物的编号,第二列“Yield/%”表示所合成的化合物的收率,第三列是化合物的核磁共振氢谱数据(包括化学位移、峰形以及偶合常数等)

酶抑制结果如表 2 所示。第一列“Compd.”代表化合物的编号,第二列“IC₅₀: nM”表示化合物进行 CYP1B1 酶抑制实验的结果,用 IC₅₀ 值表示(即抑制一半时抑制剂的浓度),单位是 nmol/L。

Table 1 The yields, ¹H-NMR data of the target compounds

Compd.	Yield/%	¹ H-NMR(CDCl ₃ , 300MHz) δ
4-1	88.5	8.12(d, 1 H, J=15.6 Hz, H _A), 8.06~8.03 (d, 1 H), 7.78 (d, 1 H, J=7.5 Hz, H _A), 7.70~7.64 (m, 1 H), 7.58(d, 1 H, J=15.6 Hz, H _A), 7.52 (d, 1 H, J=7.5 Hz, H _A), 7.13(s, 1 H), 6.98 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 6.91 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.78 (s, 3 H, OCH ₃)
4-2	87.1	8.25 (d, 2 H), 7.80 ~ 7.76 (m, 4 H), 7.12 (s, 1 H), 7.00 (d, 1 H, J=9.0 Hz, HAr), 6.93 (d, 1 H, J=9.0 Hz, HAr), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.99 (3 H, OCH ₃), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.75 (3 H, OCH ₃)
4-3	85.2	7.89 (d, 1 H), 7.74-7.67 (m, 2 H), 7.39-7.33 (m, 1 H), 7.19-7.07 (m, 3 H), 6.97 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 6.90 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 3.98 (s, 6 H, OCH ₃ × 2), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.76 (s, 3 H, OCH ₃)
4-4	86.5	7.65 (d, 2 H), 7.57 (d, 2 H), 7.36 (d, 2 H), 7.08 (s, 1 H), 6.97 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 6.91 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 3.99 (s, 3 H, OCH ₃), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.91 (s, 3 H, OCH ₃), 3.75 (s, 3 H, OCH ₃)
4-5	79	7.61 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 7.48 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 7.04 (s, 1 H), 6.92 (t, 2 H), 6.85 (s, 2 H), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.78 (s, 3 H, OCH ₃), 3.91 (m, 12 H, OCH ₃ × 4), 3.77 (s, 3 H, OCH ₃)
4-6	70	7.63 (d, 1 H), 7.51-7.30 (m, 11 H), 7.27 (d, 1 H), 7.19 (d, 1 H), 7.06 (s, 1 H), 6.99-6.90 (m, 3 H), 5.31-5.22 (m, 4 H), 4.01 (s, 3 H, OCH ₃), 3.99 (s, 3 H, OCH ₃), 3.93 (s, 3 H, OCH ₃), 3.76 (s, 3 H, OCH ₃)
5-1	78.2	7.96 (d, 1 H), 7.88 (d, 1 H), 7.66-7.61 (m, 1 H), 7.37-7.33 (m, 2 H), 7.24-7.21 (m, 1 H), 7.03-6.94 (m, 2 H), 4.03(3 H, s), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.89 (s, 3 H, OCH ₃), 3.41 (t, 2 H, CH ₂ CO-), 3.06 (t, 2 H, CH ₂ CH=)

5-2	76.9	7.23-7.19 (m, 1 H), 7.02 (d, 1 H), 6.98-6.93 (m, 3 H), 6.88 (d, 2 H), 3.96 (s, 3 H, OCH ₃), 3.94 (s, 3 H, OCH ₃), 3.89 (s, 3 H, OCH ₃), 3.70 (s, 3 H, OCH ₃), 3.47 (t, 2 H, CH ₂ CO-), 3.07 (t, 2 H, CH ₂ CH=)
5-3	75	7.35-7.28 (m, 2 H), 7.20-7.13 (m, 2 H), 7.00 (s, 1 H), 6.94 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _A), 6.87 (d, 1 H, J=8.7 Hz, H _B), 3.95 (s, 3 H, OCH ₃), 3.94 (s, 3 H, OCH ₃), 3.90 (s, 3 H, OCH ₃), 3.72 (s, 3 H, OCH ₃), 3.50 (t, 2 H, CH ₂ CO-), 3.19 (t, 2 H, CH ₂ CH=)
5'-1	88	8.03 (d, 1 H), 7.93 (d, 1 H), 7.76-7.71 (m, 2 H), 7.66-7.56 (m, 3 H), 7.37 (d, 1 H), 7.10 (t, 2 H), 4.04 (s, 3 H, OCH ₃), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.94 (s, 3 H, OCH ₃)
5'-2	84.1	8.19 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 8.04 (d, 1 H), 7.93 (d, 1 H), 7.80-7.75 (m, 2 H), 7.66 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 7.46-7.43 (m, 1 H), 7.38-7.31 (m, 3 H), 4.04 (s, 3 H, OCH ₃), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.95 (s, 3 H, OCH ₃)
5'-3	78.2	8.04 (d, 1 H), 7.92 (d, 1 H), 7.71 (s, 1 H), 7.67 (d, 1 H), 7.47 (d, 1 H), 7.37 (d, 1 H), 7.23 (d, 1 H), 7.16 (s, 1 H), 6.90 (d, 1 H), 4.04 (s, 3 H, OCH ₃), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.95 (s, 3 H, OCH ₃), 3.95 (s, 3 H, OCH ₃), 3.93 (s, 3 H, OCH ₃)
5'-4	70.5	8.02 (m, 2 H), 7.90 (m, 2 H), 7.75 (m, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.60 (d, 2 H), 7.51 (d, 1 H), 7.45-7.35 (m, 6 H), 7.00 (d, 2 H), 5.12 (s, 2 H), 4.04 (s, 3 H, OCH ₃), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.94 (s, 3 H, OCH ₃)
6'-1	69.9	7.96 (d, 1 H), 7.88 (d, 1 H), 7.65 (d, 1 H), 7.33 (d, 3 H), 7.24-7.18 (m, 2 H), 4.03 (s, 3 H, OCH ₃), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.90 (s, 3 H, OCH ₃), 3.41 (t, 2 H, CH ₂ CO-), 3.05 (t, 2 H, CH ₂ CH=)
6'-2	70.1	7.97 (d, 1 H), 7.87 (d, 1 H), 7.69 (d, 1 H), 7.35 (d, 3 H), 7.19-7.15 (m, 2 H), 4.02 (s, 3 H, OCH ₃), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.91 (s, 3 H, OCH ₃), 3.47 (t, 2 H, CH ₂ CO-), 3.21 (t, 2 H, CH ₂ CH=)
6'-3	65.9	7.97 (d, 1 H), 7.88 (d, 1 H), 7.65 (d, 1 H), 7.42-7.33 (m, 2 H), 6.79 (s, 3 H), 4.03 (s, 3 H, OCH ₃), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.90 (s, 3 H, OCH ₃), 3.86 (s, 3 H, OCH ₃), 3.85 (s, 3 H, OCH ₃), 3.42 (t, 2 H, CH ₂ CO-), 3.04 (t, 2 H, CH ₂ CH=)
6-1	89.2	8.30 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 7.90 (d, 2 H), 7.66 (d, 2 H), 7.47 (d, 2 H), 7.47 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 7.08-7.03 (m, 2 H), 6.96-6.88 (m, 2 H), 4.00 (s, 3 H, OCH ₃), 3.98 (s, 3 H, OCH ₃), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.80 (s, 3 H, OCH ₃)
6-2	88	8.29 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 8.07 (d, 2 H), 7.55 (d, 1 H, J=15.9 Hz, CH=), 7.11 (s, 1 H), 7.00 (d, 2 H), 6.92-6.90 (m, 2 H), 4.01 (s, 3 H, OCH ₃), 3.97 (s, 3 H, OCH ₃), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.90 (s, 3 H, OCH ₃), 3.80 (s, 3 H, OCH ₃)
6-3	87.5	8.24 (d, 1 H), 7.92 (d, 1 H), 7.64 (d, 1 H), 7.32 (d, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 6.91 (d, 2 H), 6.74-6.71 (m, 2 H), 4.01 (s, 3 H, OCH ₃), 3.97 (s, 3 H, OCH ₃), 3.92 (s, 3 H, OCH ₃), 3.82 (s, 3 H, OCH ₃)

Table 2 Results of enzyme inhibition

Compd.	IC ₅₀ : nM	Compd.	IC ₅₀ : nM	Compd.	IC ₅₀ : nM
4-1	6.5	5-2	40	6'-2	19
4-2	0.47	5-3	225.5	6'-3	90
4-3	93.3	5'-1	8	6-1	58
4-4	60.7	5'-2	24	6-2	80.7
4-5	83.5	5'-3	5.8	6-3	390
4-6	174	5'-4	15	α- 萆黄酮	11
5-1	90	6'-1	15		

3 讨论

在所合成的五类化合物中,当萆查耳酮的 A 环为萆环时,其对 CYP1B1 抑制活性普遍强于 A 环为苯环的萆查耳酮的活

性。这也再次验证前言中所提到的萆环在空间结构上可以更好地与作用位点结合的事实。比较所合成的两类查耳酮及其所对应的二氢萆查耳酮,可以看出它们对 CYP1B1 的抑制活性相当,这说明查耳酮的双键对其活性的影响不大。具体比较每一

类萘查耳酮类衍生物 B 环(6-1~6-4 是 B 环)上的取代基对其活性的影响可以发现: 当环上的取代基是吸电子取代基时, 其对 CYP1B1 抑制活性明显强于给电子取代基取代的同类化合物。

所合成的绝大部分萘查耳酮对 CYP1B1 有较强的抑制活性, 其中化合物 4-1、4-2、5'-1 对 CYP1B1 的抑制活性甚至强于文献中所报道的 CYP1B1 强抑制剂 α -萘黄酮。尤其是化合物 4-2, 其 IC_{50} 值为 0.47 nmol/L, 对 CYP1B1 具有极强的抑制活性, 我们将进一步在体外、体内对这些化合物进行生物活性评价。

4 结论

通过萘查耳酮类化合物的设计、合成及活性研究发现了一些活性强的化合物, 有进一步研究价值, 为开发新的以 CYP1B1 酶为靶点的抗肿瘤耐药新药奠定了基础。构效关系的分析为进一步的结构优化及新抑制剂的研究提供了依据。

参考文献(References)

- [1] de Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical Guidelines for Psychiatrists for the Use of Pharmacogenetic Testing for CYP4502D6 and CYP4502C19[J]. Psychosomatics, 2006, 47(1): 75-85
- [2] Wong L. Cytochrome P450 monooxygenases [J]. Current Opinion in Chemical Biology, 1998, 2(2): 263-268
- [3] Bruno RD, Njar VCO. Targeting cytochrome P450 enzymes: A new approach in anti-cancer drug development[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2007, 15(15): 5047-5060
- [4] McFadyen MCE, Melvin WT, Murray GI. Cytochrome P450 CYP1B1 protein expression: A novel mechanism of anticancer drug resistance [J]. Biochemical Pharmacology, 2001, 62(2): 207-212
- [5] Guengerich FP. Role of Cytochrome P450 Enzymes in Drug-Drug Interactions[J]. Advances in pharmacology, 1997, 43: 7-35
- [6] Pavanello S, Mastrangelo G, Placidi D, et al. CYP1A2 polymorphisms, occupational and environmental exposures and risk of bladder cancer [J]. European Journal of Epidemiology, 2010, 25(7): 491-500
- [7] Sergentanis T, Economopoulos K. Four polymorphisms in cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) gene and breast cancer risk: a meta-analysis[J]. Breast Cancer Research and Treatment, 2010, 122(2): 459-469
- [8] B'Chir F, Pavanello S, Knani J, et al. CYP1A2 genetic polymorphisms and adenocarcinoma lung cancer risk in the Tunisian population [J]. Life Sciences, 2009, 84(21-22): 779-784
- [9] Ang JE, Olmos D, de Bono JS. CYP17 blockade by abiraterone: further evidence for frequent continued hormone-dependence in castration-resistant prostate cancer [J]. British journal of cancer, 2009, 100(5): 671-675
- [10] Singh AP, Shah PP, Ruwali M. Polymorphism in Cytochrome P4501A1 is Significantly Associated with Head and Neck Cancer Risk [J]. Cancer Investigation, 2009, 27(8): 869-876
- [11] Murray GI, MC Taylor, MCE McFadyen, et al. Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1 [J]. Cancer research, 1997, 57(14): 3026-3031
- [12] Tokizane T, Shiina H, Igawa M, et al. Cytochrome P4501B1 is over-expressed and regulated by hypomethylation in prostate cancer [J]. Clinical cancer research, 2005, 11(16): 5793-5801
- [13] Henderson MC, Miranda CL, Stevens JF, et al. In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, Humulus lupulus [J]. Xenobiotica, 2000, 30(3): 235-251
- [14] Frank DJ, Denisov IG, Sligar SG. Analysis of Heterotropic Cooperativity in Cytochrome P450 3A4 Using α -Naphthoflavone and Testosterone [J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(7): 5540-5545
- [15] Murray IA, Flaveny CA, Chiaro CR, et al. Suppression of Cytokine-Mediated Complement Factor Gene Expression through Selective Activation of the Ah Receptor with 3',4'-Dimethoxy- α -naphthoflavone [J]. Molecular Pharmacology, 2011, 79(3): 508-519
- [16] Wang A, Savas U, Stout CD, et al. Structural Characterization of the Complex between α -Naphthoflavone and Human Cytochrome P450 1B1 [J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(7): 5736-5743
- [17] Rochat B, Morsman JM, Murray GI, et al. Human CYP1B1 and anti-cancer agent metabolism: mechanism for tumor-specific drug inactivation [J]. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 2001, 296(2): 537-541
- [18] Wang R, Zheng X, Zhou W, et al. An efficient synthesis of 2-formyl-1,4,5,8-tetramethoxynaphthalene [J]. Journal of Chemical Research, 2010, 34(9): 520-521
- [19] Yamaori S, Kushihara M, Yamamoto I, et al. Characterization of major phytocannabinoids, cannabidiol and cannabinol, as isoform-selective and potent inhibitors of human CYP1 enzymes [J]. Biochemical Pharmacology, 2010, 79(11): 1691-1698
- [20] Wessel N, Santos R, Menard D, et al. Relationship between PAH biotransformation as measured by biliary metabolites and EROD activity, and genotoxicity in juveniles of sole (Solea solea) [J]. Marine Environmental Research, 2010, 69 (1): S71-S73