

Synthesis of Lupanol Cinnamate and Its Anticancer Activities

Wei jie Li

School of Chemical and Environmental Engineering, Hanshan Normal University, Chaozhou Guangdong
Email: weijieli1688@126.com

Received: Feb. 11th, 2016; accepted: Mar. 4th, 2016; published: Mar. 7th, 2016

Copyright © 2016 by author and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Lupanol was reacted with cinnamic acid for 24 h in dichloromethane at room temperature to give lupanol cinnamate at 81.6% yield in the presence of *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) as dehydrating agent and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) as catalyst. It was evaluated for *in vitro* antitumor activities against the human esophageal squamous cell carcinoma cell lines Eca-109, TE-1 and EC-9706. The results showed that lupanol cinnamate had good inhibitory activities against the above three tested cancer cell lines and its anticancer activities were near to those of adriamycin.

Keywords

Lupanol Cinnamate, Synthesis, Anticancer Activity

肉桂酸羽扇烷醇酯的合成及其抗癌活性

李伟杰

韩山师范学院化学与环境工程学院, 广东 潮州
Email: weijieli1688@126.com

收稿日期: 2016年2月11日; 录用日期: 2016年3月4日; 发布日期: 2016年3月7日

摘要

以*N,N'*-二环己基碳二亚胺(DCC)为缩合剂, 4-二甲氨基吡啶(DMAP)为催化剂, 羽扇烷醇和肉桂酸在二氯

甲烷中室温反应24 h，合成了新化合物肉桂酸羽扇烷醇酯，产率为81.6%。研究了肉桂酸羽扇烷醇酯体外对食管鳞癌细胞Eca-109、TE-1和EC-9706增殖的抑制活性。结果表明肉桂酸羽扇烷醇酯对上述3株实验癌细胞的增殖均有良好的抑制活性，其抗癌活性与阿霉素相近。

关键词

肉桂酸羽扇烷醇酯，合成，抗癌活性

1. 引言

羽扇烷醇属于五环三萜类天然产物，其衍生物显示出多种生物活性[1]-[4]。Tolstikova 等报道羽扇烷醇二元羧酸单酯具有抑制淋巴细胞中 HIV-1 复制的作用。笔者合成了系列羽扇烷醇二元羧酸单酯，研究了其对癌细胞 A549、LAC、HepG2 和 HeLa 增殖的抑制活性，其中丁二酸、2,2-二甲基丁二酸、戊二酸、2,2-二甲基戊二酸和 3,3-二甲基戊二酸等的羽扇烷醇单酯均有很强的抑制 A549，HepG2 和 HeLa 增殖的能力，而丁二酸羽扇烷醇单酯和戊二酸羽扇烷醇单酯对 LAC 的增殖有良好的抑制活性[4]。目前，肉桂酸羽扇烷醇的合成及其抗癌活性仍未见文献报道。以羽扇烷醇为原料，本文报道了肉桂酸羽扇烷醇酯的合成(见图 1)，并以阿霉素(见图 2)作阳性对照药物，研究了其体外对食管鳞癌细胞 Eca-109、TE-1 和 EC-9706 增殖的抑制活性。

2. 实验方法

2.1. 主要仪器与试剂

熔点测定用毛细管熔点法，温度计未校正；Brucker DRX-400 核磁共振仪，TMS 为内标；MDS Sciex API 2000 LC/GC/MS 质谱仪；美国 BioTek 公司 Synergy HT 多功能酶标仪；按文献报道方法，羽扇烷醇

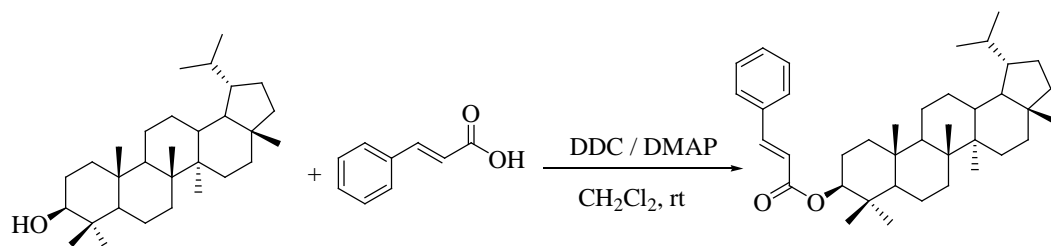


Figure 1. Synthesis of lupanol cinnamate

图 1. 肉桂酸羽扇烷醇酯的合成

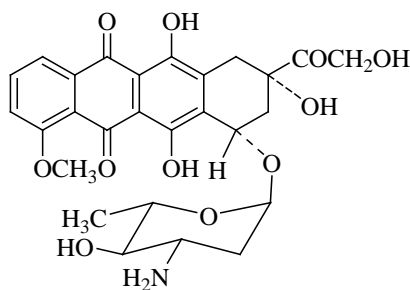


Figure2. Chemical structure of adriamycin

图 2. 阿霉素的化学结构

通过羽扇豆醇催化还原获得[5]; 3-(4',5'-二甲基噻唑-2')-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT) (广州博强生物科技有限公司); 青霉素、链霉素、PRMI-1640 培养基和胎牛血清(杭州四季青生物工程材料公司); 阿霉素(深圳万乐药业有限公司); 肉桂酸(Alfa Aesar Co.); 其它试剂均为分析纯。

2.2. 肉桂酸羽扇烷醇酯的合成

在 100 mL 圆底烧瓶中加入 42.87 mg (0.10 mmol) 羽扇烷醇、17.78 mg (0.12 mmol) 肉桂酸、22.68 mg (0.11 mmol) DCC、2.69 mg (0.022 mmol) DMAP 和 20 mL 二氯甲烷, 在室温下搅拌 24 h。过滤, 滤液浓缩, 以二氯甲烷与甲醇按体积比 25:1 配制获得的混合液为洗脱剂, 残留物进行柱层析(硅胶为 200~300 目)获得 45.60 mg 白色固体, 产率为 81.6%。mp: 145~147°C; $[\alpha]_D^{20} = +5.6$ ($c = 0.10, \text{CH}_2\text{Cl}_2$); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 0.75 (3H, s), 0.77 (3H, s), 0.84 (3H, s), 0.85 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.91 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.97~1.03 (3H, m), 1.04 (3H, s), 1.08~1.14 (1H, m), 1.17~1.45 (10H, m), 1.46~1.55 (4H, m), 1.56~1.75 (8H, m), 1.86~1.96 (1H, m), 6.43 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.38 (3H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.49~7.56 (2H, m), 7.68 (1H, d, $J = 16.0$ Hz); ESI-MS, m/z : 560 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 582 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。

2.3. 肉桂酸羽扇烷醇酯的抗癌活性

2.3.1. 细胞培养

食管鳞癌细胞 Eca-109、TE-1 和 EC-9706 来源于汕头大学医学院第二附属医院。它们分别在含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素的 RPMI-1640 培养基(pH 7.4)中生长。

2.3.2. 细胞毒理试验

收集对数期细胞接种于 96 孔板, 置于 37°C, 5% CO_2 培养箱培养使细胞贴壁。加入不同浓度的待测样品, 实验组每个浓度做 3 个平行孔, 37°C, 5% CO_2 条件下培养 72 h。加入 20 μL MTT 溶液(5 mg/mL, 即终浓度为 0.5% MTT)继续培养 4 h。终止培养, 吸去孔内培养液, 每孔加入 150 μL DMSO, 置于摇床上振荡 10 min, 使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪 570 nm 处测量各孔的吸光度值。实验同时设调零孔(培养基, MTT, DMSO), 对照孔(细胞, 培养液, MTT, DMSO)和阳性对照孔(阿霉素)。计算细胞生长抑制率的公式如下:

$$\text{细胞生长抑制率} = (\text{A}_{\text{对照}} - \text{A}_{\text{样品}}) / (\text{A}_{\text{对照}} - \text{A}_{\text{空白}}) \times 100\%$$

其中 $\text{A}_{\text{样品}}$ 、 $\text{A}_{\text{对照}}$ 和 $\text{A}_{\text{空白}}$ 分别表示样品、对照和空白试验的吸光度。

2.3.3. 统计分析

样品对癌细胞生长的抑制率实验重复 3 次, 求平均值。使用统计软件 SPSS11.5 处理实验数据, 获得样品或药物对癌细胞生长抑制 50% 所需要的浓度, 即是 IC_{50} 。实验结果见表 1。

Table 1. IC_{50} values of lupanol cinnamate against human esophageal squamous cell carcinoma cell lines
表 1. 肉桂酸羽扇烷醇酯对食管鳞状癌细胞系的 IC_{50} 值

排序	化合物	IC_{50} (μM) Eca-109	IC_{50} (μM) TE-1	IC_{50} (μM) EC-9706
1	阿霉素	8.73 \pm 0.36	5.28 \pm 0.23	36.09 \pm 0.54
2	羽扇烷醇	> 50	> 50	> 50
3	肉桂酸 羽扇烷醇酯	9.18 \pm 0.56	7.45 \pm 0.31	40.13 \pm 0.68

3. 结果与讨论

3.1. 肉桂酸羽扇烷醇酯的合成

笔者曾经报道了天然产物羽扇豆醇肉桂酸酯的合成方法[6]。以 DCC 作缩合剂, DMAP 作催化剂, 羽扇豆醇和肉桂酸在二氯甲烷中室温反应 24 h, 合成了羽扇豆醇肉桂酸酯, 产率为 86.5%。在酸或酸酐和醇进行酯化反应中, 常采用 DCC 作缩合剂和 DMAP 作催化剂, 反应在比较温和的条件下合成了目标物, 反应产率高[3] [4] [7]-[11]。本文参照文献[6]的方法, 以 DCC 为缩合剂, DMAP 为催化剂, 在室温下羽扇烷醇和肉桂酸在二氯甲烷中搅拌反应 24 h, 成功地合成了肉桂酸羽扇烷醇酯, 产率为 81.6%。

3.2. 肉桂酸羽扇烷醇酯的体外抗癌活性

选用 Eca-109、TE-1 和 EC-9706 等 3 株食管鳞癌细胞, 羽扇烷醇和抗癌药物阿霉素作对照, 本文采用 MTT 法探讨了新化合物肉桂酸羽扇烷醇酯的体外抗癌活性, 其抗癌活性通过上述实验癌细胞生长的半数抑制浓度来表达, 即 IC_{50} 。实验结果见表 1。

以 $IC_{50} < 50 \mu M$ 作为评价化合物是否具有抗癌活性的标准。 IC_{50} 值越小, 表示化合物的抗癌活性越好。表 1 中的实验数据显示, 阿霉素对 Eca-109、TE-1 和 EC-9706 等 3 株食管鳞癌细胞的生长均有好的抑制活性。羽扇烷醇对上述 3 株实验癌细胞的生长均没有抑制活性, 而其衍生物肉桂酸羽扇烷醇酯对上述 3 株食管鳞癌细胞的增殖有良好的抑制活性, 该衍生物的抗癌活性与阿霉素的相近。

4. 结论

1) 以 DCC 为缩合剂, DMAP 为催化剂, 羽扇烷醇和肉桂酸在二氯甲烷中室温反应 24 h, 合成了新化合物肉桂酸羽扇烷醇酯, 产率为 81.6%。

2) 肉桂酸羽扇烷醇酯对 Eca-109、TE-1 和 EC-9706 等 3 株食管鳞癌细胞的增殖具有良好的抑制活性, 其抗癌活性与阿霉素的相近。

基金项目

国家级星火计划项目(2014GA780069)和广东省普通高校特色创新项目(2014KTSCX161)。

参考文献 (References)

- [1] 庾石山. 三萜化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 169-171.
- [2] Tolstikova, T.G., Sorokina, I.V., Tolstikov, G.A., Tolstikov, A.G. and Flekhter, O.B. (2006) Biological Activity and Pharmacological Prospects of Lupane Terpenoids: II. Semisynthetic Lupane Derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, **32**, 261-276. <http://dx.doi.org/10.1134/S1068162006030083>
- [3] Yu, D., Sakurai, Y., Chen, C.-H., Chang, F.-R., Huang, L., Kashiwada, Y. and Lee, K.-H. (2006) Anti-AIDS Agents 69. Moronic Acid and Other Triterpene Derivatives as Novel Potent Anti-HIV Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, **49**, 5462-5469. <http://dx.doi.org/10.1021/jm0601912>
- [4] Li, W.-J., Hao, J. and and Xiao, Y.-Y. (2013) Synthesis and *in Vitro* Antitumor Activities of Lupeol Dicarboxylic Acid Monoester Derivatives. *Archives of Pharmacal Research*, **36**, 1447-1453. <http://dx.doi.org/10.1007/s12272-013-0155-x>
- [5] 李伟杰. 羽扇烷醇的合成[J]. 科技创新导报, 2012, 219(3): 136, 138.
- [6] 李伟杰. 生物活性天然产物羽扇豆醇肉桂酸酯的合成[J]. 广东化工, 2012, 226(2): 43.
- [7] 薄采颖, 毕良武, 王玉民, 赵振东. DCC 及其在有机合成中的应用[J]. 化工时报, 2007, 21(10): 4-6, 13.
- [8] 宋秀美, 汪朝阳, 毛郑州, 罗玉芬, 赵海军. 胆甾醇酯的合成研究进展[J]. 2008, 33(1): 59-67.
- [9] 孟丽丽, 匡永清, 肖义军, 宿亮, 向顺, 谢斌. 二十二碳六烯酸双氢青蒿素酯的合成及其抗肿瘤活性的初步研究[J].

化学研究与应用, 2009, 21(1): 123-126.

[10] 周静, 王静, 孙宝国. 阿魏酸糖酯合成的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 392-395.

[11] 徐祥浩, 李和生, 葛燕燕, 刘漫, 张妹妹. DCC 缩合酯化法制备壳聚糖山梨酸酯的工艺研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(4): 29-36.