

# Biacyl Substituted Monocycle $\beta$ -Lactam Derivative for Evaluation as Anticancer Agents

Haitao Gao<sup>1,2</sup>, Xiaohua Zeng<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Hubei University of Medicine, Shiyan Hubei

<sup>2</sup>Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research and Institute of Medical Chemistry, Hubei University of Medicine, Shiyan Hubei

Email: \*fflm99@sina.com

Received: Dec. 12<sup>th</sup>, 2018; accepted: Jan. 1<sup>st</sup>, 2019; published: Jan. 8<sup>th</sup>, 2019

## Abstract

**Objective:** To study antitumor activities of diacyl substituted monocyclic  $\beta$ -Lactam derivatives against U87, HeLa and HepG2 human tumor cell lines and MSC human normal cell lines. **Method:** The antitumor activities of diacyl substituted monocyclic  $\beta$ -Lactam derivatives were screened using cis-platinum as positive control by MTT method. **Results:** Among them 5a stood out as the most potent showing an IC<sub>50</sub> of 8.15  $\mu$ mol/L against human tumor cell lines (HepG2). **Conclusion:** Bioassay of the compounds indicated that diacyl substituted monocyclic  $\beta$ -Lactam derivatives showed potential antitumor activities, which these compounds can be established as lead molecules for developing novel antitumor drugs.

## Keywords

Diacyl Substituted  $\beta$ -Lactam, Antitumor

# 双酰基单环 $\beta$ -内酰胺衍生物的体外抗肿瘤活性研究

高海涛<sup>1,2</sup>, 曾小华<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>湖北医药学院药学院, 湖北 十堰

<sup>2</sup>湖北省武当特色中药研究重点实验室及湖北医药学院医学化学研究所, 湖北 十堰

Email: \*fflm99@sina.com

收稿日期: 2018年12月12日; 录用日期: 2019年1月1日; 发布日期: 2019年1月8日

\*通讯作者。

## 摘要

目的: 研究双酰基取代单环 $\beta$ -内酰胺类化合物对脑胶质瘤细胞(U87)、宫颈癌细胞(HeLa)、肝癌细胞(HepG2)3种肿瘤细胞和1种正常细胞间充质干细胞(MSC)的体外抗肿瘤活性。方法: 采用MTT法测定了不同药物浓度对细胞的抑制作用, 以半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)评价目标化合物的抗肿瘤活性。结果: 实验结果表明双酰基取代单环 $\beta$ -内酰胺对U87、HeLa、HepG2和MSC正常细胞都具有一定的抑制作用, 其中, 化合物5a对HepG2细胞增殖的抑制活性最强, 其IC<sub>50</sub>值为8.15  $\mu\text{mol/L}$ 。结论: 初步的体外抗肿瘤活性测试显示双酰基取代单环 $\beta$ -内酰胺类化合物具有抑制肿瘤细胞的生长, 表现出潜在的抗肿瘤活性。

## 关键词

双酰基取代单环 $\beta$ -内酰胺, 体外抗肿瘤活性研究

Copyright © 2019 by author(s) 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

## 1. 引言

肿瘤对人类的健康和生存构成重大威胁, 是世界面临的最重要的社会问题之一。目前, 在临床上对于肿瘤的治疗手段主要是化疗方法, 然而常用的抗肿瘤药普遍存在疗效低、毒副作用大、易产生多药耐药性等缺点[1] [2], 因此研究新型抗肿瘤新药是一项迫切且意义重大的任务。 $\beta$ -内酰胺作为一类重要的四元杂环骨架, 是抗生素化合物的核心部分, 具有杀菌能力强、毒性低和临床疗效好等优点。单环 $\beta$ -内酰胺是分子内含有吡丁啉-2-酮结构的化合物, 它除在抗细菌方面的应用外, 还具有抗肿瘤、抗结核以及各种酶的抑制剂[3]。如单环 $\beta$ -内酰胺 Combretastatin A-4 类似物对乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 具有较强的细胞抑制活性(图 1)。因此其合成方法也备受人们的关注[4] [5], 特别是多组分反应合成 $\beta$ -内酰胺。例如, 通过 $\beta$ -氨基酸、醛和异脲[6] [7]或 $\beta$ -酮酸、胺和异脲[8] [9]的 Ugi 4C-3CR)一步合成 $\beta$ -内酰胺, 也有应用 Passerini 或 Ugi 的缩合中间体合成 $\beta$ -内酰胺[10] [11]等。但 2-芳酰基-2-氨酰基单环 $\beta$ -内酰胺的抗肿瘤活性少见报道, 这里我们在前期研究基础上[12], 采用 MTT (3-(4, 5-二甲基噻唑-2) 2, 5-二苯基四氮唑溴盐)法研究新型双酰基取代的单环 $\beta$ -内酰胺抑制肿瘤细胞增殖活性。

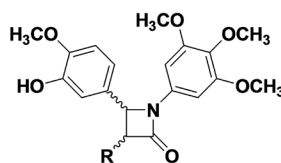


Figure 1.  $\beta$ -Lactam CA-4 analogues

图 1.  $\beta$ -内酰胺 Combretastatin A-4 类似物

## 2. 实验材料

### 2.1. 实验材料

人脑胶质瘤细胞(U87)、宫颈癌细胞(HeLa)、肝癌细胞(HepG2)间充质干细胞(MSC)由湖北医药学院胚

胎干细胞湖北省重点实验室研究所科研工作站传代保种; 实验药物参考文献方法[12], 以伯胺 1、芳基酮醛 2、异脞 3 和  $\alpha$ -溴乙酸 4 各个组分的结构变化合成结构多样性的 2-芳酰基-2-氨基酰基吡啶-4-酮衍生物 5, 合成路线和药物结构见图 2。

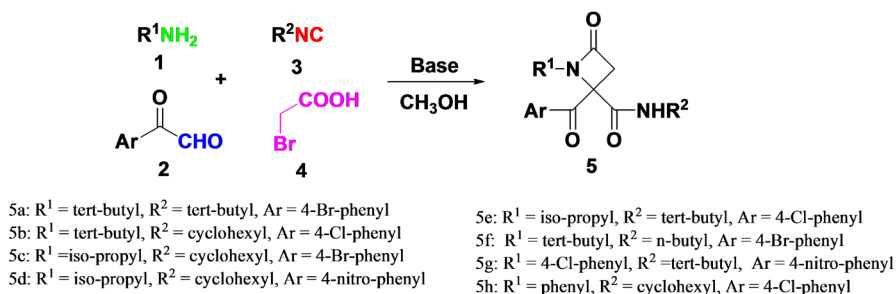


Figure 2. Preparation of diacyl substituted  $\beta$ -Lactam derivatives 5

图 2. 双酰基单环  $\beta$ -内酰胺衍生物 5 的制备

## 2.2. 方法

### 2.2.1. 细胞培养

脑胶质瘤细胞(U87)、宫颈癌细胞(HeLa)、肝癌细胞(HepG2)和间充质干细胞(MSC, 正常细胞)用 RPMI-1640 培养液于 CO<sub>2</sub> 孵箱中 37°C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度下培养。贴壁细胞用 0.25%胰蛋白酶消化传代。

### 2.2.2. MTT 比色法

将处于对数生长期的细胞制成单细胞悬液, 调整细胞浓度为  $5 \times 10^4$  个/mL, 接种于 96 孔培养板, 每孔接种 100  $\mu$ L, 加入测试药物 5a-5 h (用培养液稀释 10  $\mu$ mol/L、30  $\mu$ mol/L、50  $\mu$ mol/L、100  $\mu$ mol/L 不同浓度), 同时设阴性对照组(不加药)和阳性对照(顺铂), 每组均设 4 个复孔, 37°C 培养 24 h, 弃上清后加 MTT (5 mg/mL) 100  $\mu$ L, 弃去上清液, 加 DMSO 100  $\mu$ L, 在平板摇床上摇匀, 用全自动酶联免疫检测仪于 495 nm 波长处测定吸光度(OD)值, 求出 IC<sub>50</sub>。整个试验操作都在湖北医药学院干细胞研究湖北省重点实验室完成。

$$\text{抑制率(\%)} = [\text{A495(阴性对照)} - \text{A495(加药组)}] / \text{A495(阴性对照)} \times 100$$

### 2.2.3. 结果与讨论

实验数据以  $\chi \pm s$  表示, 数据分析采用 SPSS17.0 统计软件进行。用 Origin 软件, 通过半对数拟合直线求 IC<sub>50</sub> 值, 结果见表 1。

Table 1. Antitumor activities of diacyl substituted  $\beta$ -Lactam derivatives 5 (IC<sub>50</sub>,  $\mu$ mol/L)

表 1. 双酰基单环  $\beta$ -内酰胺衍生物 5 的抗肿瘤活性(IC<sub>50</sub>,  $\mu$ mol/L)

Compound	Anti-proliferative effect (IC <sub>50</sub> , $\mu$ mol/L)			
	U87	HeLa	HepG2	MSC
5a	29.58	81.92	8.15	55.00
5b	68.11	82.71	36.76	62.35
5c	52.90	76.62	33.16	53.18
5d	41.80	83.92	17.75	12.00
5e	46.58	80.12	16.64	55.94
5f	58.00	75.00	11.30	31.18
5g	39.00	47.95	32.34	45.18
5h	16.64	42.35	20.66	18.94
Cis-platinum	38.12	47.31	17.27	19.15

<sup>a</sup>Positive control.

根据测试数据显示双酰基取代单环  $\beta$ -内酰胺类化合物对脑胶质瘤细胞(U87)、宫颈癌细胞(HeLa)、肝癌细胞(HepG2)三中肿瘤细胞和一种正常细胞间充质干细胞(MSC)都能一定程度抑制细胞的生长, 其中U87、HeLa 表现出中等程度的细胞毒性, 对 HepG2 肿瘤细胞表现较为突出,  $IC_{50}$  值在  $8.15 \mu\text{mol/L} \sim 36.76 \mu\text{mol/L}$ , 基本与抗肿瘤药物顺铂活性一致( $IC_{50}$  值  $17.27 \mu\text{mol/L}$ ), 对间充质干细胞(MSC)正常细胞  $IC_{50}$  值多数在  $40 \mu\text{mol/L} \sim 50 \mu\text{mol/L}$  范围, 表现出比 HepG2 细胞较低毒性。基本构效关系分析显示  $R^1$  和  $R^2$  为叔丁基或正丁基的活性较好(如: 5a、5f),  $R^1$  和  $R^2$  为异丙基或环己基活性稍差一点(如: 5c、5d), 但  $R^1$  为苯基,  $R^2$  为环己基时, 也表现较好的活性(5 h)。

### 3. 结论

本文在前期研究基础上, 通过体外药物活性试验, 采用 MTT 法测定了双酰基取代单环  $\beta$ -内酰胺类化合物分别对 U87、HeLa、HepG2 和正常细胞 MSC 生长的抑制活性, 结果显示该类化合物具有潜在的抗肿瘤活性。此研究结果为单环  $\beta$ -内酰胺衍生物的抗肿瘤药物研究奠定了一定的研究基础, 对于开发新的先导化合物具有重要意义。

### 参考文献

- [1] Chow, E., Cushing-Haugen, K.L., Cheng, G.-S., Boeckh, M., Khera, N., Lee, S.J., Leisenring, W.M., Martin, P.J., Mueller, B.A., Schwartz, S.M. and Baker, K.S. (2017) Morbidity and Mortality Differences between Hematopoietic Cell Transplantation Survivors and Other Cancer Survivors. *Journal of Clinical Oncology*, **35**, 306-313. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.68.8457>
- [2] Devlin, E.J., Denson, L.A. and Whitford, H.S. (2017) Cancer Treatment Side Effects: A Meta-Analysis of the Relationship between Response Expectancies and Experience. *Journal of Pain and Symptom Management*, **54**, 245-258. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2017.03.017>
- [3] Martins, P., Jesus, J., Santos, S., Raposo, L.R., Roma-Rodrigues, C., Baptista, P.V. and Fernandes, A.R. (2015) Heterocyclic Anticancer Compounds: Recent Advances and the Paradigm Shift towards the Use of Nanomedicine's Tool Box. *Molecules*, **20**, 16852-16891. <https://doi.org/10.3390/molecules200916852>
- [4] Zhou, P., Liu, Y., Zhou, L., Zhu, K., Feng, K., Zhang, H., Liang, Y., Jiang, H., Luo, C., Liu, M. and Wang, Y. (2016) Potent Antitumor Activities and Structure Basis of the Chiral  $\beta$ -Lactam Bridged Analogue of Combretastatin A-4 Binding to Tubulin. *Journal of Medicinal Chemistry*, **59**, 10329-10334. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01268>
- [5] Finke, P.E., Shah, S.K., Fletcher, D.S., Ashe, B.M., Brause, K.A., Chandler, G.O., Della, P.S., Hand, K.M., Maycock, A.L., Osinga, D.G., Underwood, D.J., Weston, H., Davies, P. and Doherty, J.B. (1995) Orally Active  $\beta$ -Lactaminhibitors of Human Leukocyte Elastase. 3. Stereospecific Synthesis and Structure-Activity Relationships for 3, 3-Dialkylazetid-2-ones. *Journal of Medicinal Chemistry*, **38**, 2449-2462. <https://doi.org/10.1021/jm00013a021>
- [6] Buynak, J.D., Rao, A.S., Fod, G.P., Carver, C., Carver, C., Adam, G., Geng, B., Bachmann, B., Shobassy, S. and Lackey, S. (1997) 7-Alkylidenecephalosporin Esters as Inhibitors of Human Leukocyte Elastase. *Journal of Medicinal Chemistry*, **40**, 3423-3433. <https://doi.org/10.1021/jm970351x>
- [7] Wu, G.G. (2000) A Concise Asymmetric Synthesis of a  $\beta$ -Lactam-Based Cholesterol Absorption Inhibitor. *Organic Process Research & Development*, **4**, 298-300. <https://doi.org/10.1021/op990196r>
- [8] O'Boyle, N.M., Greene, L.M., Bergin, O., Fichet, J.B., McCabe, T., Lloyd, D.G., Zisterer, D.M. and Meegan, M.J. (2011) Synthesis, Evaluation and Structural Studies of Antiproliferative Tubulin-Targeting Azetid-2-Ones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **19**, 2306-2325. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.02.022>
- [9] Carr, M., Knox, A.J.S., Lloyd, D.G., Zisterer, D.M. and Meegan, M.J. (2016) Development of the  $\beta$ -Lactam Type Molecular Scaffold for Selective Estrogen Receptor Modulator Action: Synthesis and Cytotoxic Effects in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **31**, 117-130. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1210136>
- [10] Xing, B., Rao, J. and Liu, R. (2008) Novel Beta-Lactam Antibiotics Derivatives: Their New Applications as Gene Reporters, Antitumor Prodrugs and Enzyme Inhibitors. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **8**, 455-471.
- [11] Nuzzi, A., Fiasella, A., Ortega, J.A., Pagliuca, C., Ponzano, S., Pizzirani, D., Bertozzi, S.M., Ottonello, G., Tarozzo, G., Reggiani, A., Bandiera, T., Bertozzi, F. and Piomelli, D. (2016) Potent  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -Lactam Carbamic Acid Ester as NAAA Inhibitors. Synthesis and Structure-Activity Relationship (SAR) Studies. *European Journal of Medicinal*

---

*Chemistry*, **111**, 138-159. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.01.046>

- [12] Zeng, X.-H., Wang, H.-M., Yan, Y.-M. and Ding, M.-W. (2014) One-Pot Regioselective Synthesis of  $\beta$ -Lactams by a Tandem Ugi 4CC/SN Cyclization. *Tetrahedron*, **70**, 3647-3652. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.04.033>

---

**Hans** 汉斯

**知网检索的两种方式:**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-9049, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [wjcr@hanspub.org](mailto:wjcr@hanspub.org)