

文章编号:2095-7386(2016)04-0031-06

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2016.04.006

高良姜素结构修饰及对 K562 细胞的抑制活性

赵玲¹, 吴斐华²

(1. 武汉轻工大学 生物与制药工程学院, 湖北 武汉 430023; 2. 中国药科大学中药药理教研室, 江苏 南京 211198)

摘要: 对高良姜素进行结构修饰, 期望得到活性更好的抑制 K562 细胞增殖的衍生物, 并初步总结结构效关系。通过化学法以高良姜素为母核进行结构修饰得到了 12 个衍生物, 经 MTT 法测定了高良姜素及其衍生物在 5 种不同浓度下培养 48 h 对 K562 细胞的抑制活性。12 个衍生物中有 10 个为新化合物。化合物 A-1、A-6、A-7、A-8、A-9、A-11 和高良姜素活性良好, 在浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 K562 细胞的抑制率均大于 50%, 其中 A-1、A-6、A-7 这 3 个衍生物的活性较高良姜素活性好, 且 A-1 活性最强, 其 IC_{50} 为 16.7 $\mu\text{mol/L}$ 。通过本研究发现了活性较强的高良姜素衍生物, 并发现在高良姜素 3 位羟基进行适当的结构修饰可以大大增强对 K562 细胞的抑制活性, 但因所做衍生物数目有限, 深入的构效关系总结还有待进一步研究。

关键词: 高良姜素; 结构修饰; K562 细胞; 抑制活性

中图分类号: R 914

文献标识码: A

Structural modification of galangin and the study of inhibition activity on K562 cells

ZHAO Ling¹, WU Fei-hua²

(1. School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Department of Pharmacology for Chinese Materia Medica,
China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

Abstract: To obtain some galangin derivatives with better inhibitory proliferation activity on K562 cells, and make preliminary summary of the structure-effect relationship. Use chemical methods to gain 12 derivatives from galangin, and by MTT assay measure galangin and its derivatives' proliferation inhibition effect in five different concentrations on K562 cells. There were 10 new compounds form the 12 derivatives. A-1, A-6, A-7, A-8 and A-9, A-11 and galangin showed good activities with more than 50% inhibition rate in the concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$ on K562 cells. Three derivatives A-1, A-6 and A-7 showed better activity than galangin, and A-1 had the strongest activity with the IC_{50} 16.7 $\mu\text{mol/L}$. Through this study, strong active derivatives were found, and it can greatly enhance the inhibitory activities on K562 cells if appropriate structural modification is made through 3-hydroxyl on the mother nucleus of galangin. But due to the limited number of the derivatives, deep structure-effect relationship summary is still in need of further study.

Key words: galangin; structural modification; k562 cells; inhibition activity

收稿日期:2016-09-23.

作者简介:赵玲(1982-),女,副教授。博士研究生,E-mail:zhaolingcpu@126.com.

1 引言

高良姜素(galangin, 3, 5, 7-三羟基黄酮)是一种天然的黄酮醇类化合物,现已发现可从中药高良姜(*Alpinia officinarum* Hance.)的根茎^[1,2]、植物*Helichrysum aureonitens*的地上部分^[3,4]及多个地区的蜂胶^[5-6]中提取分离得到。近年来国内外对该成分的药理药效活性进行了大量研究,发现其具有显著的抗肿瘤活性^[7-16]。Xiaoliang Liu^[16]等研究发现,高良姜素对多种白血病细胞具有直接的抑制作用,且能增强抗白血病药物——甲磺酸伊马替尼对白血病细胞的细胞毒性^[13]。鉴于此,结合前期从高良姜中分离得到的大量的高良姜素单体化合物,对其进行一系列的结构修饰,并进行人髓系白血病 K562 细胞增殖抑制作用的研究,期待发现活性更好的高良姜素衍生物,并进行构效关系研究,为抗白血病新药研发奠定基础。

2 材料和仪器

2.1 试剂与药品

高良姜素为武汉轻工大学生物与制药工程学院自制;桂皮酸为化学纯,第二军医大学朝晖制药厂生产;二环己基碳二亚胺(DCC)为分析纯,中国余山化工厂生产;醋酐、吡啶、溴化苄均为分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司生产;碘化钠为化学纯,南翔试剂厂生产;氯化钠、碳酸氢钠、碳酸钾均为分析纯,南京化学试剂厂生产;石油醚、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷均为分析纯,天津化学试剂厂生产。柱色谱硅胶 100—200 目、200—300 目(青岛海洋化工厂产品)和薄层色谱硅胶 GF254(烟台化工研究所)。RPM I-1640 培养基(美国 Gibco 公司);胎牛血清(杭州四季青生物制品研究所);噻唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司)。细胞株:K562 细胞(美国 ATCC 公司)。

2.2 仪器与器材

Brucker ACF-300,500 型核磁共振波谱仪;HP-100 型质谱仪(LC/MSD System,ESI Mode)。Multiskan spectrum MSS1500-320 酶标仪、3111 型细胞培养箱(Thermo Electron 公司);SW-CJ-IF 超净台(苏州安泰空气技术公司);XSZ-D2 倒置显微镜(重庆光学仪器厂);1-15K 低温离心机(Sigma 公司)。

3 实验和方法

3.1 化合物的合成方法

3.1.1 化合物 A-1 和化合物 A-2

称取高良姜素 1.0 g 溶于 25 mL 丙酮中,加入

0.5 g 碳酸钾和 0.45 mL 溴化苄,回流 12 h 后,停止反应。过滤,回收丙酮,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯梯度洗脱,得黄色粉末 A-1(13.4 mg, 收率 10%),A-2(670 mg, 收率 80%)。

3.1.2 化合物 A-3

称取 A-2 225 mg 溶于 25 mL 丙酮中,加入 690 mg 碳酸钾和 0.2 mL 硫酸二甲酯,回流 11 h 停止反应。过滤,回收丙酮,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯洗脱,得砖红色粉末 A-3(40.4 mg, 收率 17.4%)。

3.1.3 化合物 A-4

称取 A-2 225 mg 溶于 25 mL 丙酮中,加入 1 g 碳酸钾和 0.5 mL 2-溴丙烷,200 mg 碘化钠催化,回流 36 h 停止反应。过滤,回收丙酮,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯洗脱,得黄色粉末 A-4(35.8 mg, 收率 14.6%)。

3.1.4 化合物 A-5

称取高良姜素 135 mg 溶于 20 mL 吡啶中,加入 51 mg 醋酐,室温搅拌 4 h 停止反应。反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液,乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯层再用饱和氯化钠溶液洗 2 次。乙酸乙酯层回收溶剂,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯洗脱,得黄色粉末 A-5(39.2 mg, 收率 25.1%)。

3.1.5 化合物 A-6

称取高良姜素 135 mg 溶于 20 mL 丙酮中,加入 0.3 g 碳酸钾和 0.5 mL 2-溴丙烷,回流 60 h 停止反应。过滤,回收丙酮,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯洗脱,得黄色粉末 A-6(96.0 mg, 收率 54.2%)。

3.1.6 化合物 A-7

称取高良姜素 135 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中,加入 124 mg 肉桂酸和 123.6 mg 二环己基碳二亚胺(DCC),18.4 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作催化剂。室温搅拌 20 h 停止反应。反应液过滤,回收溶剂,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯洗脱,得黄色粉末 A-7(80.0 mg, 收率 40%)。

3.1.7 化合物 A-8

称取高良姜素 135 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中,加入 108 mg 三氟肉桂酸和 123.6 mg 二环己基碳二亚胺(DCC),20.0 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作催化剂。室温搅拌 20 h 停止反应。反应液过滤,回收溶剂,固体经硅胶柱层析,石油醚乙酸乙酯洗脱,得黄色粉末 A-8(98.3 mg, 收率 42.0%)。

3.1.8 化合物 A-9

称取高良姜素 135 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中,

加入 104 mg 3,4-二甲氧基肉桂酸和 123.6 mg 二环己基碳二亚胺(DCC), 19.2 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作催化剂。室温搅拌 20 h 停止反应。反应液过滤, 回收溶剂, 固体经硅胶柱层析, 石油醚乙酸乙酯洗脱, 得黄色粉末 A-9 (92.0 mg, 收率 40.0%)。

3.1.9 化合物 A-10

称取高良姜素 135 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中, 加入 142 mg 3-甲氧基-4-苄基肉桂酸和 123.6 mg 二环己基碳二亚胺(DCC), 20.1 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作催化剂。室温搅拌 20 h 停止反应。反应液过滤, 回收溶剂, 固体经硅胶柱层析, 石油醚乙酸乙酯洗脱, 得黄色粉末 A-10 (99.7 mg, 收率 37.2%)。

3.1.10 化合物 A-11

称取高良姜素 135 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中, 加入 127.0 mg 4-苄基肉桂酸和 123.6 mg 二环己基碳二亚胺(DCC), 20.1 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作催化剂。室温搅拌 20 h 停止反应。反应液过滤, 回收溶剂, 固体经硅胶柱层析, 石油醚乙酸乙酯洗脱, 得黄色粉末 A-11 (93.6 mg, 收率 37.0%)。

3.1.11 化合物 A-12

称取高良姜素 135 mg 溶于 25 mL 二氯甲烷中, 加入 142 mg 4-甲氧基-3-苄基肉桂酸和 123.6 mg 二环己基碳二亚胺(DCC), 20.1 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP)作催化剂。室温搅拌 20 h 停止反应。反应液过滤, 回收溶剂, 固体经硅胶柱层析, 石油醚乙酸乙酯洗脱, 得黄色粉末 A-12 (95.7 mg, 收率 35.7%)。

3.2 MTT 法检测化合物对 K562 细胞的增殖抑制实验方法

K562 细胞(人慢性粒细胞白血病细胞)常规培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液(青霉素 100 U/mL、链霉素 100 U/mL)中, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。每 2—3 d 传代 1 次, 取对数生长期细胞进行实验。

取对数生长期 K562 配制成密度为 10⁵/mL 细胞悬液, 接种于 96 孔细胞培养板 (2 × 10⁴ cell/孔) 内, 实验分组如下: 空白对照组为 K562 细胞与 0.4% 的 DMSO 共培养, 药物组为 K562 细胞与化合物 (10 μmol/L, 20 μmol/L, 30 μmol/L, 60 μmol/L, 100 μmol/L) 共培养。分别培养 48 h 后, 每孔加入 20 μL MTT 溶液 5 mg/L, 再培养 4 h 后, 弃培养液, 加入 150 μL 的 DMSO 原液, 振荡 10 min, 待结晶完全溶解后, 在酶标仪 570 nm 处测定吸光度 A 值。实验至少重复 3 次, 每次 3 个复孔。细胞增殖的抑制率按以下公式计算: 抑制率 = (空白对照组 A570 - 化合物组 A570) / 空白组 A570 × 100%

3.3 统计学处理

所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验进行组间比较。

4 实验结果

4.1 化合物结构数据

本实验共合成了 12 个高良姜素衍生物, 结构如图 1 所示。除了 A-1 和 A-5 不是新化合物外, 其余 10 个衍生物均为新化合物, 结构均经氢谱和质谱确定。具体数据如下。

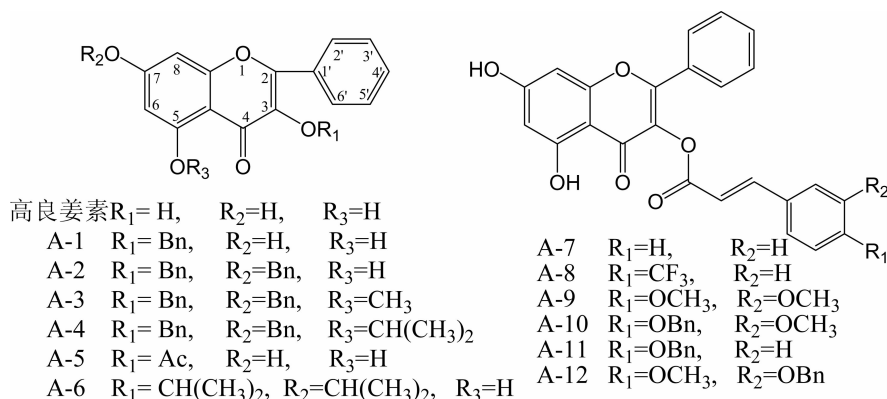


图 1 高良姜素衍生物

A-1: 黄色粉末, 分子式 C₂₂H₁₆O₅。ESI-MS m/z 359 [M-H]⁻, 分子量为 360。¹H-NMR (DMSO-d₆, 500MHz): 12.60 (1H, s, 5-OH), 10.90 (1H, s, 7-

OH), 7.28-7.32 (5H, m, H-3'', 4'', 5'', 6'', 7''), 6.25 (1H, d, J=2.1, H-6), 6.46 (1H, d, J=2.1, H-8), 7.95 (2H, dd, J=6.6, 1.7, H-2', H-

6'), 7.52-7.56 (3H, m, H-3', 4', 5'), 5.06 (2H, s, H-1'').

A-2: 黄色粉末, 分子式 $C_{29}H_{22}O_5$ 。ESI-MS m/z 485 $[M + Cl]^-$, 分子量为 450。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500MHz): 12.58 (1H, s, 5-OH), 7.97 (2H, dd, $J = 5.3, 1.0$, H-2', 6'), 7.53-7.57 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.56 (1H, d, $J = 2.1$, H-6), 6.85 (1H, d, $J = 2.1$, H-8), 5.07 (2H, s, H-1''), 7.28-7.32 (5H, m, H-3'', 4'', 5'', 6'', 7''), 5.25 (2H, s, 1'''), 7.47 (2H, m, H-3''', 7'''), 7.42 (2H, m, H-4''', 6'''), 7.36 (1H, m, H-5''').

A-3: 黄色粉末, 分子式 $C_{30}H_{24}O_5$ 。ESI-MS m/z 465 $[M + H]^+$, 分子量为 464。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 7.99 (2H, dd, $J = 7.5, 2.3$, H-2', 6'), 7.52-7.55 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.64 (1H, d, $J = 2.2$, H-6), 6.94 (1H, d, $J = 2.2$, H-8), 5.03 (2H, s, H-1''), 7.31-7.37 (5H, m, H-3'', 4'', 5'', 6'', 7''), 5.28 (2H, s, 1'''), 7.52-7.55 (2H, m, H-3''', 7'''), 7.39-7.48 (3H, m, H-4''', H-5''', 6'''), 3.90 (3H, s, 5-OCH₃).

A-4: 黄色粉末, 分子式 $C_{32}H_{28}O_5$ 。ESI-MS m/z 493 $[M + H]^+$, 分子量为 492。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 8.00 (2H, dd, $J = 7.5, 2.2$, H-2', 6'), 7.50-7.52 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.60 (1H, d, $J = 2.2$, H-6), 6.89 (1H, d, $J = 2.2$, H-8), 5.00 (2H, s, H-1''), 7.28-7.34 (5H, m, H-3'', 4'', 5'', 6'', 7''), 5.25 (2H, s, 1'''), 7.45-7.50 (2H, m, H-3''', 7'''), 7.38-7.45 (3H, m, H-4''', H-5''', 6'''), 4.72 (1H, m, 5-CH(CH₃)₂), 1.33 (6H, d, $J = 6.0$, 5-CH(CH₃)₂).

A-5: 黄色粉末, 分子式为 $C_{17}H_{12}O_6$ 。EI-MS (m/z): 312 (分子离子峰), 1H -NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 5.98 (1H, d, $J = 2.1$, H-6), 6.19 (1H, d, $J = 2.1$, H-8), 7.80 (2H, m, H-2', H-6'), 7.56-7.59 (3H, m, H-3', 4', 5'), 2.28 (3H, s, 3-OCOCH₃).

A-6: 黄色粉末, 分子式 $C_{21}H_{22}O_5$ 。ESI-MS m/z 353 $[M-H]^-$, 分子量为 354。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): 12.64 (1H, s, 5-OH), 8.00 (2H, dd, $J = 7.5, 2.5$, H-2', 6'), 7.46-7.50 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.32 (1H, d, $J = 2.1$, H-6), 6.42 (1H, d, $J = 2.1$, H-8), 4.60 (2H, m, 3,7-CH(CH₃)₂), 1.17, 1.39 (6H, d, $J = 6.1, 3$, 7-CH(CH₃)₂).

A-7: 黄色粉末, 分子式 $C_{24}H_{16}O_6$ 。ESI-MS m/z 399 $[M-H]^-$, 分子量为 400。 1H -NMR (DMSO- d_6 ,

300MHz): 12.08 (1H, s, 5-OH), 6.15 (1H, d, $J = 2.1$, H-6), 6.39 (1H, d, $J = 2.1$, H-8), 7.81-7.93 (5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 6.94 (1H, d, $J = 16.0$, H-1''), 7.90 (1H, d, $J = 16.0$, H-2''), 7.57-7.59 (2H, m, H-4'', 8''), 7.46-7.49 (3H, m, H-5'', 6'', 7'').

A-8: 黄色粉末, 分子式为 $C_{25}H_{15}O_6F_3$ 。ESI-MS m/z 467 $[M-H]^-$, 分子量为 468。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500MHz): 12.06 (1H, s, 5-OH), 5.90 (1H, d, $J = 2.1$, H-6), 6.11 (1H, d, $J = 2.1$, H-8), 8.05 (2H, dd, $J = 8.5, 2.0$, H-2', 6'), 7.55-7.56 (3H, m, H-3', 4', 5'), 7.08 (1H, d, $J = 16.0$, H-1''), 7.98 (1H, d, $J = 16.0$, H-2''), 7.83 (2H, d, $J = 8.0$, H-4'', 8''), 7.84-7.86 (2H, m, H-5'', 7'').

A-9: 黄色粉末, 分子式 $C_{26}H_{20}O_8$ 。ESI-MS m/z 459 $[M-H]^-$, 分子量为 460。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500MHz): 12.09 (1H, s, 5-OH), 6.08 (1H, brs, H-6), 6.22 (1H, brs, H-8), 7.85 (2H, m, H-2', 6'), 7.55-7.57 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.82 (1H, d, $J = 16.0$, H-1''), 7.81 (1H, d, $J = 16.0$, H-2''), 7.45 (1H, d, $J = 1.5$, H-4''), 7.02 (1H, d, $J = 8.0$, H-7''), 7.34 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$, H-8''), 3.82, 3.83 (6H, each s, 5'', 6''-OCH₃).

A-10: 黄色粉末, 分子式为 $C_{32}H_{24}O_8$ 。ESI-MS m/z 535 $[M-H]^-$, 分子量为 536。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500MHz): 12.09 (1H, s, 5-OH), 5.91 (1H, brs, H-6), 6.11 (1H, brs, H-8), 7.83 (2H, m, H-2', 6'), 7.55-7.57 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.81 (1H, d, $J = 16.0$, H-1''), 7.79 (1H, d, $J = 16.0$, H-2''), 7.45 (1H, d, $J = 1.5$, H-4''), 7.11 (1H, d, $J = 8.0$, H-7''), 7.31 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$, H-8''), 5.16 (2H, s, H-1'''), 7.47 (2H, m, H-3''', 7'''), 7.40 (2H, m, H-4''', 6'''), 7.35 (1H, m, H-5'''), 3.84 (3H, s, 5''-OCH₃).

A-11: 黄色粉末, 分子式为 $C_{31}H_{22}O_7$ 。ESI-MS m/z 505 $[M-H]^-$, 分子量为 506。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500MHz): 12.09 (1H, s, 5-OH), 5.59 (1H, brs, H-6), 5.75 (1H, brs, H-8), 7.77 (2H, m, H-2', 6'), 7.49-7.53 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.73 (1H, d, $J = 16.0$, H-1''), 7.80 (1H, d, $J = 16.0$, H-2''), 7.76 (2H, d, $J = 9.0$, H-4'', 8''), 7.08 (2H, d, $J = 9.0$, H-5'', 7''), 5.16 (2H, s, H-1'''), 7.47 (2H, d, m, H-3''', 7'''), 7.40 (2H, d, m, H-4''', 6'''), 7.33 (1H, m, H-5''').

A-12: 黄色粉末, 分子式为 $C_{32}H_{24}O_8$ 。ESI-MS

m/z 535[M-H]⁻, 分子量为 536。¹H-NMR (DMSO-d₆, 500MHz):12.20 (1H, s, 5-OH), 6.29 (1H, d, J=1.5, H-6), 6.54 (1H, d, J=1.5, H-8), 7.90 (2H, m, H-2', 6'), 7.55-7.60 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.83 (1H, d, J=16.0, H-1''), 7.82 (1H, d, J=16.0, H-2''), 7.59 (1H, d, J=1.5, H-4''), 7.06 (1H, d, J=8.5, H-7''), 7.32 (1H, dd, J=8.0, 1.5, H-8''), 5.16 (2H, s, H-1'''), 7.47 (2H, m, H-3''', 7'''), 7.41 (2H, m, H-4''', 6'''), 7.35 (1H, m, H-5'''), 3.84 (3H, s, 6''-OCH₃).

4.2 MTT 法检测结果

体外培养的 K562 细胞经 5 种不同浓度的 13 个化合物作用 48 h 后,MTT 结果显示,所有化合物对

K562 细胞均具有一定的抗增殖活性,且随着浓度的升高,抑制率逐渐增强。化合物 A-1、A-6、A-7、A-8、A-9、A-11 和高良姜素活性良好,在浓度为 100 μM 时,对 K562 细胞的抑制率均大于 50%;A-6 在浓度为 60 μM 时,其抑制率可达 54.4%;A-7 活性较 A-6 好,在较低浓度(30 μM)时,抑制率即可超过 50%;A-1 活性最强,不仅在 30 μM 低浓度下抑制率可达 65.5%,且当浓度增至 100 μM 时,其对 K562 细胞的抑制率更是高达 83.2%,活性最佳。具体抑制率数据见表 1。各化合物抑制 K562 细胞增殖的 IC₅₀ 经计算,A-1 为 16.7 μmol/L,A-6 为 50.5 μmol/L,A-7 为 33.0 μmol/L,高良姜素为 60.9 μmol/L,具体数据见表 2。

表 1 化合物对 K562 细胞的抑制率($\bar{x} \pm SD, n=3$)

化合物	抑制率/%				
	100 μM	60 μM	30 μM	20 μM	10 μM
A-1	83.2 ±3.6	75.8 ±2.6	65.5 ±5.2	49.9 ±4.5	40.0 ±7.7
A-2	17.6 ±2.7	14.7 ±2.8	1.7 ±0.3	1.6 ±1.9	1.3 ±3.3
A-3	39.2 ±6.3	32.2 ±5.7	27.6 ±2.4	9.9 ±2.3	5.7 ±2.2
A-4	23.2 ±4.2	11.7 ±3.2	8.4 ±3.0	7.1 ±3.2	3.6 ±2.4
A-5	39.5 ±5.4	31.9 ±5.2	19.5 ±4.2	17.8 ±2.2	13.1 ±4.2
A-6	71.8 ±4.7	54.4 ±3.6	39.3 ±4.0	17.0 ±2.8	11.3 ±3.9
A-7	75.8 ±3.4	67.7 ±3.9	53.7 ±7.8	28.1 ±2.4	23.6 ±1.3
A-8	73.7 ±4.5	47.0 ±6.5	22.3 ±3.8	9.1 ±3.3	7.1 ±3.3
A-9	60.4 ±59.2	24.8 ±3.4	14.9 ±4.6	12.5 ±2.9	8.4 ±3.2
A-10	34.1 ±3.3	23.7 ±4.0	8.0 ±3.6	5.7 ±3.6	2.1 ±3.4
A-11	54.9 ±5.0	36.6 ±6.4	29.8 ±2.6	21.4 ±2.2	13.3 ±4.4
A-12	36.0 ±3.5	27.8 ±4.8	14.5 ±3.7	12.0 ±2.8	5.0 ±2.7
高良姜素	61.7 ±3.5	46.9 ±6.3	36.5 ±3.7	26.2 ±9.6	11.8 ±3.8

表 2 化合物抑制 K562 细胞的 IC₅₀/(μmol/L)

化合物	IC ₅₀	化合物	IC ₅₀
A-1	16.7	A-8	61.6
A-2	308.4	A-9	107.8
A-3	123.9	A-10	152.6
A-4	514.8	A-11	90.8
A-5	205.8	A-12	163.3
A-6	50.5		
A-7	33.0	高良姜素	60.9

5 讨论

从以上实验结果可以看出,12 个高良姜素衍生物中,A-1、A-6、A-7 活性较高良姜素好,A-8 与高良姜素活性相当。从结构上分析可以看出,仅在高良

姜素 3 位羟基引入苄基(A-1)时,活性显著增强,其 IC₅₀ 值为 16.7 μmol/L,比高良姜素活性高出 3.6 倍,同时对比化合物 A-2、A-3、A-4 的活性和结构可以看出,高良姜素母核 3 位和 7 位羟基同时引入苄基取代时,活性锐减,说明 7 位羟基的保留对活性很重要;3 位羟基引入的取代基的结构对活性亦有很大影响,比较 A-1、A-5 和 A-7 的结构和活性可以看出,3 位引入苄基活性显著增强,而引入乙酰基则活性显著降低很多,引入肉桂酰基活性亦增强,但是在肉桂酰基上有取代基时(A-8—A-11),活性均降低,可能跟基团的空间结构有一定的关系。在 3,7 位羟基同时引入异丙基时(A-6),活性反而略有增强,其原因是否为受短链烷烃的供电子效应和空间效应影响,并不清楚,因此关注短链烷烃取代基对活性的影响,也是后续研究的一个重点方向。

本论文结构修饰物的数目有限,但从目前活性

数据可以看出,高良姜素在 3 位羟基进行适当的结构修饰可以大大增强对 K562 细胞的抑制活性,这为进一步构效关系的研究和发现活性更好的抗白血病药物奠定了基础。

参考文献:

- [1] 赵玲,杨博,梁敬钰. 高良姜根茎的化学成分及抗口腔菌活性测定. [J] 武汉工业学院学报,2012,31(3): 6-9.
- [2] 侯红瑞,黄吉东,陈玲等. 制备色谱法分离纯化高良姜黄酮中高良姜素和山柰素. [J] 色谱,2016,34(6):591-596.
- [3] Meyer J J, Afolayan A J, Taylor M B, et al. Antiviral activity of galangin isolated from the aerial parts of *Helichrysum aureonitens*. [J] J Ethnopharmacol, 1997, 56 (2):165-169.
- [4] Afolayan A J, Meyer J J M. The antimicrobial activity of 3, 5, 7-rihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. [J] J Ethnopharmacol, 1997, 57 (3): 177-181.
- [5] Krol W, Scheller S, Czuba Z, et al. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of *p. ropolis* (EEP) and its phenolic components. [J] J Ethnopharmacol, 1996, 55 (1): 19-25.
- [6] 王小平,林励,陈振霖,等. HPLC 法测定不同产地蜂胶中高良姜素的含量. [J] 中药材, 2007,30(5):560-562.
- [7] 罗辉,马超,汪亚君,等. 高良姜素诱导肝癌 BEL-7402 细胞凋亡的研究. [J] 中药材, 2008,31(8):1024-1027.
- [8] Zhang I T, Luo H, Wu J, et al. Galangin induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells via the mitochondrial pathway [J]. world J Gastroenterol, 2010,16(27):3377-3384.
- [9] 宋宇,赵琦,曹阳,等. 高良姜素对人骨肉瘤 MG-63 细胞增殖的影响及其机制的研究[J]. 中国医学工程,2012,20(5):56-58.
- [10] 伍俊,文敏,张海涛,等. 高良姜素诱导肺癌 A549 细胞凋亡的研究[J]. 肿瘤防治研究, 2011,38(11):1228—1231.
- [11] Kim D A, Jeon Y K, Nam M J. Galangin induces apoptosis in gastric cancer cells via regulation of ubiquitin carboxy-terminal hydrolase isozyme L1 and glutathione S-transferase P [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50 (34): 684-688.
- [12] Moon Y H, Su J S, William W A. Anti-genotoxicity of galangin as cancer chemopreventive agent. [J]. Candidate. Mutation Res. 2001, 488:135-150.
- [13] Manlio Tolomeo, Stefania Grimaudo, Antonietta Di Cristina, et al. Galangin increases the cytotoxic activity of imatinib mesylate in imatinib-sensitive and imatinib-resistant Bcr-Abl expressing leukemia cells. Cancer Letters 2008, 265 (2): 289-297.
- [14] Zhang W J, Huang Q L, Hua Z C. Galangin and TRAIL cooperate to suppress A549 lung cancer proliferation via apoptosis and p38 MAPK activation [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2012,6(2):569-574.
- [15] Wen M, Wu J, Luo H, et al. Galangin induces autophagy through upregulation of p53 in HepG2 cells [J]. Pharmacology, 2012, 89 (5-6):247-255.
- [16] Xiaoliang Liu, Fei Ye, Josephine Wu, et al. Signaling Proteins and Pathways Affected by Flavonoids in Leukemia Cells. [J] Nutrition and Cancer, 2015, 67(2), 238 - 249.