

AHPN 衍生物的合成及其与 RAR γ 的结合活性研究

张彬山¹, 沈宇飞¹, 耿春晨¹, 王碧燕¹, 王海燕^{2*}, 韩大雄^{1*} (1. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361102; 2. 国家海洋局第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 目的 本实验以 6-(3-(1-金刚烷基)-4-羟基苯基)-2-萘甲酸(AHPN)母核为结构基础,设计、合成一系列 AHPN 衍生物,并对这些衍生物做初步的活性筛选,期望找到活性显著的衍生物。方法 以对溴苯酚和 1-金刚烷醇为原料经取代、缩合、氧化、还原等反应合成 AHPN 衍生物,经过¹H-NMR、¹³C-NMR、HR-MS 表征,并利用 Biacore 技术检测衍生物与蛋白质之间的结合能力。结果 衍生物 7c、6c、6e、6h 显示出了显著优于先导化合物 AHPN 与视黄酸核受体 γ (RAR γ)的结合能力,亚磷酸二甲酯基与氮杂环的引入提高了该类化合物的活性。结论 该类 AHPN 衍生物与 RAR γ 结合能力显著,有进一步研究的价值。**关键词:** 视黄酸核受体 γ ; 6-(3-(1-金刚烷基)-4-羟基苯基)-2-萘甲酸; 靶向结合; 化学合成

doi: 10.11669/cpj.2018.04.002 中图分类号: R962; R914.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2018)04-0249-09

Synthesis of AHPN Derivatives and Their Combining Activities with RAR γ

ZHANG Bin-shan¹, SHEN Yu-fei¹, GENG Chun-chen¹, WANG Bi-yan¹, WANG Hai-yan^{2*}, HAN Da-xiong^{1*} (1. School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 2. Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the synthesis and activities of AHPN derivatives. **METHODS** Starting from p-bromophenol and 1-adamantanol, a series of AHPN derivatives were synthesized by substitution reaction, condensation reaction, oxidation reaction and reduction reaction. These new compounds were characterized by ¹H-NMR, ¹³CNMR and HR-MS. Biacore technique was used to test the derivatives' combining activities with RAR γ . **RESULTS** Four compounds, 7c, 6c, 6e, and 6h, exhibited significant combining activities with RAR γ compared with AHPN. The introduction of phosphoric acid groups and nitrogen heterocyclic ring increased the activities of these compounds. **CONCLUSION** Compounds 7c, 6c, 6e, and 6h show significant combining activities with RAR γ , which are worthy of further study.

KEY WORDS: RAR γ ; AHPN; targeted binding; synthesis

在体内核受体(nuclear receptor, NR)可以被相应的配体以及一些共调节因子所调节,与乳腺癌、前列腺癌、糖尿病等多种疾病相关^[1]。视黄酸核受体(retinoic acid receptor, RAR)属于核受体类固醇超家族成员,有3种亚型,分别为 α 、 β 、 γ 。研究表明,多种 RAR 在正常组织和肿瘤组织中的表达水平存在明显差异^[2-3],这意味着 RAR 在肿瘤的发生进程中起着重要的作用,是药物开发的重要靶点。

6-(3-(1-金刚烷基)-4-羟基苯基)-2-萘甲酸(AHPN)是已经报道的 RAR γ 选择性激动剂^[4],可以选择性的结合到 RAR γ 配体结合口袋,对急性和

慢性淋巴细胞白血病有潜在的治疗活性^[5],同时还对一些天然耐药的肿瘤细胞具有诱导凋亡活性。但由于其溶解性差以及在体内存在代谢毒性^[6-7],限制了其成药的可能。AHPN 分子主要由4部分构成,具体包括一个金刚烷基,一个羟苯基环,一个萘环和一个羧基。结构式见图1。

Biacore(biomolecular interaction analysis)技术是基于表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)开发的一种新型生物分析传感技术,是研究生物分子之间相互作用的理想手段。样品以恒定的流速和浓度流过芯片表面,样品中的待分析物和偶联

基金项目:扬州市邗江区科技计划项目资助;福建省基金项目资助(2014Y0044);国家海洋局第三海洋研究所基本科研业务费专项资金资助项目(海三科2016044)

作者简介:张彬山,男,硕士研究生 研究方向:化学生物学 * 通讯作者:韩大雄,男,副教授 研究方向:药物化学 Tel: (0592) 2188681 E-mail: daxiong@xmu.edu.cn, why@xmu.edu.cn

在芯片上的分子发生结合,芯片表面物质的质量发生改变,仪器记录下对应的响应值(response unit, RU)的改变,响应值与分子间的结合能力成正比。本实验以核受体RAR γ 为靶点,以AHPN为先导化合物,设计合成一系列AHPN衍生物,利用Biacore技术检测衍生物与RAR γ 的结合活性,期望找到能与RAR γ 特异性结合的衍生物。AHPN衍生物的合成路线见图2。

1 主要仪器与试剂

AVANCE III 600 MHz 全数字化超导核磁共振谱仪(Bruker公司,德国),Q-Exactive 质谱仪(Thermo Scientific公司)。金刚烷醇,对溴苯酚,硫酸二甲酯,硼酸三甲酯,6-溴萘甲酸甲酯,三溴化硼,四三苯基磷钼,亚磷酸二丙酯,亚磷酸二甲酯,亚磷酸二乙酯,正丁基锂,乙酸钼,碳酸钾,磷酸钾,硼氢化钠,碘,硼酸,邻碘苯甲酸,过硫酸氢钾,N,N-二甲基甲酰胺,N-己基-N-二甲基-氨基丙碳二亚胺(EDC)、N-

羟基琥珀酰亚胺活化试剂(NHS)、乙醇胺、HBS-N缓冲液、醋酸钠缓冲液、Glycine-HCl及传感生物芯片CM5(GE公司),RAR γ (自制)。

2 合成及结构表征

2.1 中间体2-(1-金刚烷基)-4-溴苯酚(1)的合成

将17.2 g (0.1 mol) 对溴苯酚,15.2 g (0.1 mol) 1-金刚烷醇和200 mL 二氯甲烷依次加入到250 mL的单口圆底烧瓶中,于-10℃的低温反应仪中搅拌,待固体完全溶解,用注射器缓慢滴入5 mL 浓硫酸(约30 min 滴毕),于-10℃搅拌

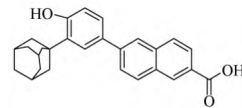
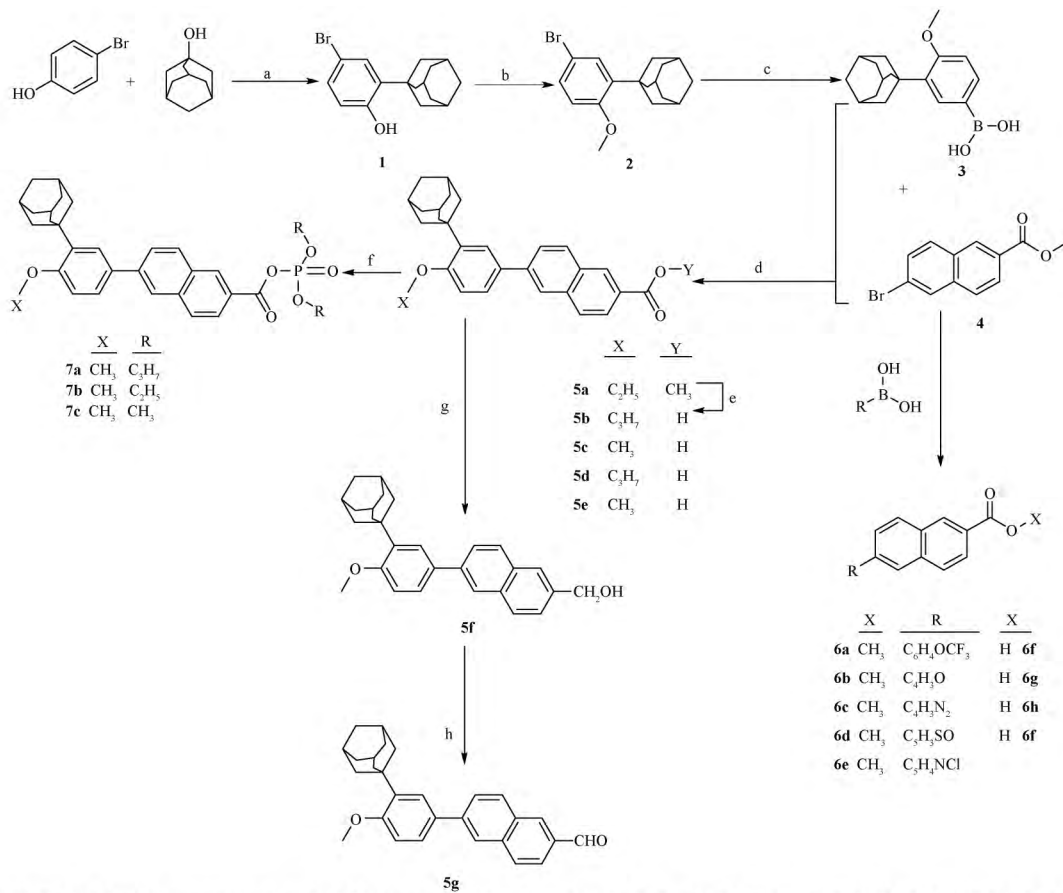


图1 6-{3'-(1-金刚烷基)-4'-羟基苯基}-2-萘甲酸(AHPN)结构

Fig. 1 Structure of AHPN



*(a)H₂SO₄,CH₂Cl₂,-10℃,overnight. (b)Me₂SO,K₂CO₃, Acetone, 65℃, reflux. (c)(MeO)₃B, n-BuLi,-78℃-0℃. (d)K₃PO₄, Pd(Ph₃P)₄, THF,93℃,reflux. (e)NaOH,H₂O, THF,CH₃OH,65℃,reflux. (f)phosphite ester, CCl₄, Et₃N, THF, overnight. (g)NaBH₄,I₂,THF. (h)IBX

图2 AHPN 衍生物的合成路线

Fig. 2 Synthetic routes of AHPN derivatives

反应 8 h, TLC 检测反应完全, 过滤后粗产物用正己烷重结晶, 得白色固体 27.5 g, 产率: 90% (图 3)。

2.2 中间体 2-(1-金刚烷基)-4-溴苯甲醚(2)的合成

取 15.2 g (0.05 mol) 上述反应的产物 2-(1-金刚烷基)-4-溴苯酚(1), 14.7 g (0.18 mol) 碳酸钾和 100 mL 丙酮, 依次加入到 250 mL 的单口圆底烧瓶中, 待固体完全溶解, 搅拌, 用注射器缓慢滴加 5 mL (0.05 mol) 硫酸二甲酯, 滴毕, 于 65 °C 油浴中反应 8 h。将反应混合液冷却至室温, 抽滤, 滤液减压蒸馏除去溶剂, 残余物倒入冷的 250 mL 5% NaOH 溶液中, 充分搅拌 30 min, 有大量白色固体析出, 抽滤, 滤饼用蒸馏水洗涤至中性, 再用乙酸乙酯重结晶, 得到白色固体 14.8 g, 产率: 92.7% (图 4)。

2.3 中间体 3-(1-金刚烷基)-4-甲氧基苯基硼酸(3)的合成

氮气保护条件下, 取 1.6 g (0.05 mol) 上述反应产物 2-(1-金刚烷基)-4-溴苯甲醚(2), 5 mL 无水四氢呋喃于 50 mL 圆底烧瓶中, 搅拌。在 -78 °C 条件下用干燥注射器缓慢滴入 2.5 mL 正丁基锂。反应 30 min 后, 再用另一干燥注射器缓慢滴入 2 mL 硼酸三甲酯, 继续反应 1 h, 关闭低温反应仪, 自然升温至室温, 反应过夜。反应完毕向混合体系中加 0.1 mol · L⁻¹ HCl 溶液搅拌反应 30 min, 淬灭反应, 再用乙酸乙酯(100 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 加无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂, 经硅胶柱色谱纯化 (V_{正己烷}:V_{乙酸乙酯} = 10:1) 得到白色固体 0.94 g, 产率: 60% (图 5)。

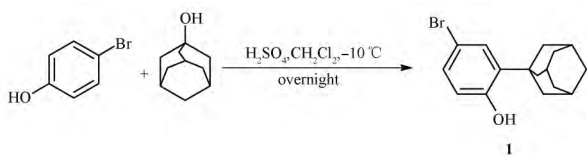


图 3 2-(1-金刚烷基)-4-溴苯酚的合成

Fig. 3 Synthetic route of 2-(adamantan-1-yl)-4-bromophenol

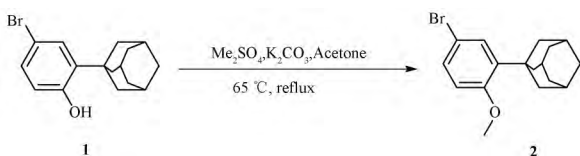


图 4 2-(1-金刚烷基)-4-溴苯甲醚的合成

Fig. 4 Synthetic route of 1-(5-bromo-2-methoxyphenyl) adamantane

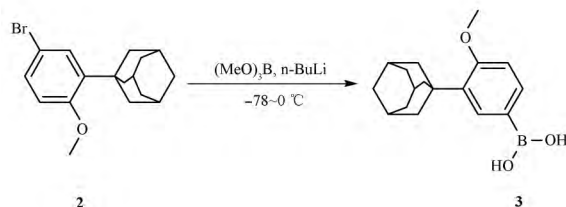


图 5 3-(1-金刚烷基)-4-甲氧基苯基硼酸的合成

Fig. 5 Synthetic route of (3-(adamantan-1-yl)-4-methoxyphenyl) boronic acid

2.4 目标化合物 6a、6b、6c、6d、6e 的合成

氮气保护下, 取 5 mmol 硼酸原料, 5.5 mmol 6-溴萘甲酸甲酯于 250 mL 二口反应瓶中, 再依次加入 630 mg (3 mmol) 磷酸钾、250 mg (0.25 mmol) 四三苯基磷钼、无水四氢呋喃溶液 150 mL, 密闭反应体系, 氮气置换 3 次, 排除体系中剩余空气。反应混合体系置于 93 °C 油浴中回流反应 21 h, TLC 检测反应完全。反应完毕, 加入饱和氯化钠溶液淬灭反应, 再用乙酸乙酯(100 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂得粗产物, 粗产物经硅胶柱色谱纯化 (V_{正己烷}:V_{乙酸乙酯} = 5:1) (图 6)。

2.5 目标化合物 5b、5c、5d、6f、6g、6h、6i 合成

取 0.5 mmol 待水解的酯, 50 mg (1.25 mmol) NaOH 于 50 mL 圆底烧瓶中, 再依次加入四氢呋喃、甲醇、水各 3 mL, 于 65 °C 油浴中回流反应 3 h, TLC 监测反应完全。反应完毕, 加入 0.1 mol · L⁻¹ HCl 溶液 10 mL, 有大量沉淀析出, 乙酸乙酯(15 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂得粗产物, 粗产物经硅胶柱色谱纯化 (V_{正己烷}:V_{乙酸乙酯} = 10:1) (图 7)。

2.6 目标化合物 5a 的合成

氮气保护条件下, 取 1 mmol 待水解的酯, 加入到 25 mL 二口反应瓶中, 再加入 5 mL 二氯甲烷溶液。密闭反应体系, 氮气置换 3 次。将反应混合体系移至 -78 °C 低温反应仪中搅拌反应 10 min, 再用注射器缓慢滴加溶有 0.11 mL (1.2 mmol) 三溴化硼的 8 mL 二氯甲烷溶液, 滴毕, 继续反应 2 h, 关停低温反应仪, 自然升温至室温, 反应过夜。反应完毕, 冰浴条件下, 加入 0.1 mol · L⁻¹ HCl 溶液淬灭反应, 乙酸乙酯(20 mL × 3) 萃取, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂得粗产物, 粗产物经硅胶柱色谱纯化 (V_{正己烷}:V_{乙酸乙酯} = 20:1) (图 8)。

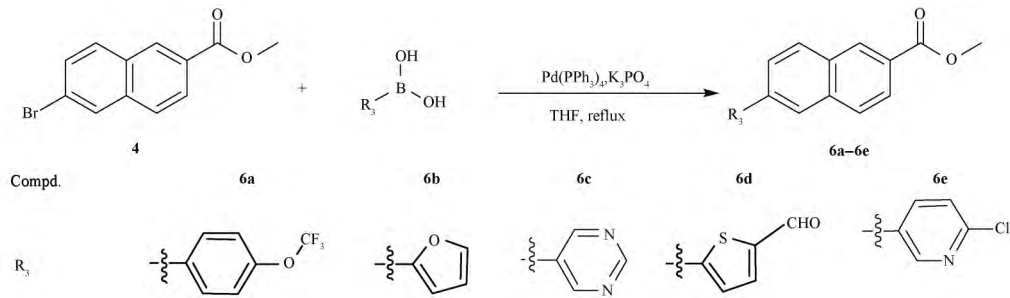


图6 AHPN 衍生物 6a ~ 6e 的合成

Fig. 6 Synthetic route of AHPN derivatives 6a – 6e

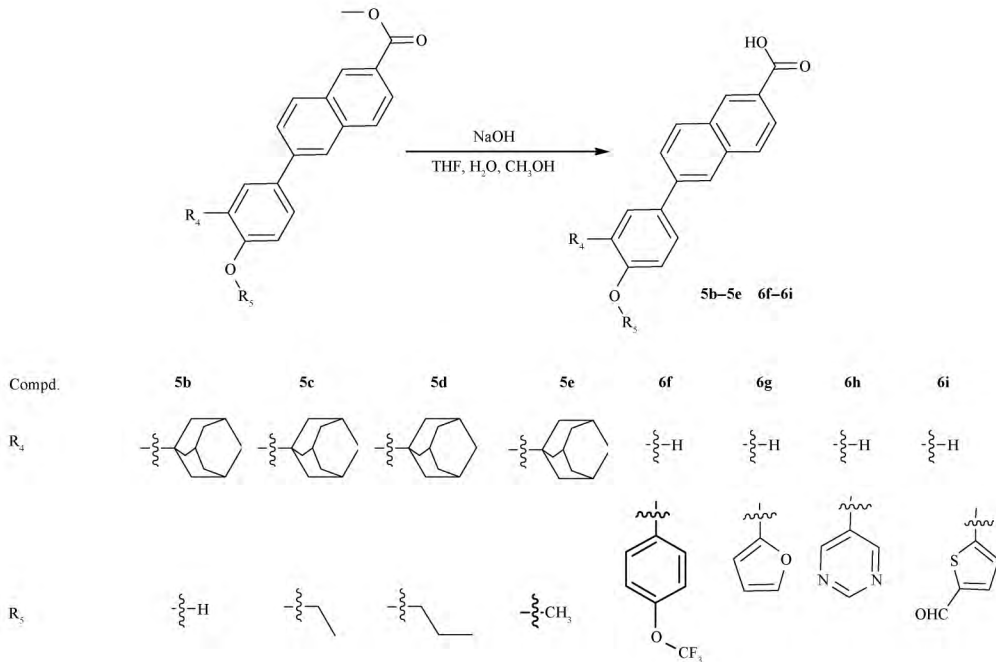


图7 AHPN 衍生物 5b ~ 5e、6f ~ 6i 的合成

Fig. 7 Synthetic route of AHPN derivatives 5b – 5e and 6f – 6i

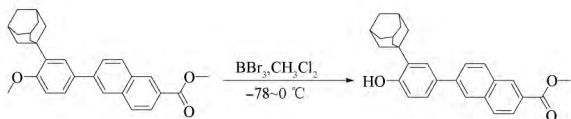


图8 AHPN 衍生物 5a 的合成

Fig. 8 Synthetic route of AHPN derivatives 5a

2.7 目标化合物 7a、7b、7c 合成

取 0.5 mmol 的羧酸类化合物于 50 mL 圆底烧瓶中,依次加入 2 mL 四氯化碳溶液、0.2 mL 三乙胺以及 15 mL 四氢呋喃。冰浴反应 15 min。再用注射器缓慢滴加 0.6 mmol 亚磷酸酯溶液,撤去冰浴。常温反应 20 h。TLC 监测反应完全,反应完毕,加入饱和氯化钠溶液,乙酸乙酯(25 mL × 3)萃取,合并有机相,加入无水硫酸钠干燥,减压蒸馏除去溶剂得粗产物。粗

产物经硅胶柱色谱纯化($V_{\text{正己烷}}-V_{\text{乙酸乙酯}} = 15:1$) (图 9)。

2.8 目标化合物 5f、5g 的合成

2-碘酰基苯甲酸(2-iodoxybenzoic acid, IBX)试剂的合成: IBX 化合物参照文献[8]的方法合成(图 10)。①合成目的产物 5f: 取 20 mg(0.5 mmol) 硼化钠于 50 mL 圆底烧瓶中,密闭反应,氮气置换 3 次。同时取 40 mg(0.25 mmol) 碘单质溶于 2 mL 无水四氢呋喃,冰浴条件下缓慢滴加到上述圆底烧瓶中,冰浴反应 2.5 h。再加入 1 mmol 6-{3'-(1-金刚烷基)-4'-羟基苯基}-2-萘甲酸溶于 8 mL 无水四氢呋喃的混合液,撤去冰浴,转移至室温反应 2 h。反应完毕,加入饱和氯化钠溶液,乙酸乙酯(20 mL × 3)萃取,合并有机相,加入无水硫酸钠干燥,减压蒸馏除去溶剂得粗产物,粗产物经硅胶柱色谱纯化($V_{\text{正己烷}}-V_{\text{乙酸乙酯}} = 10:1$)。

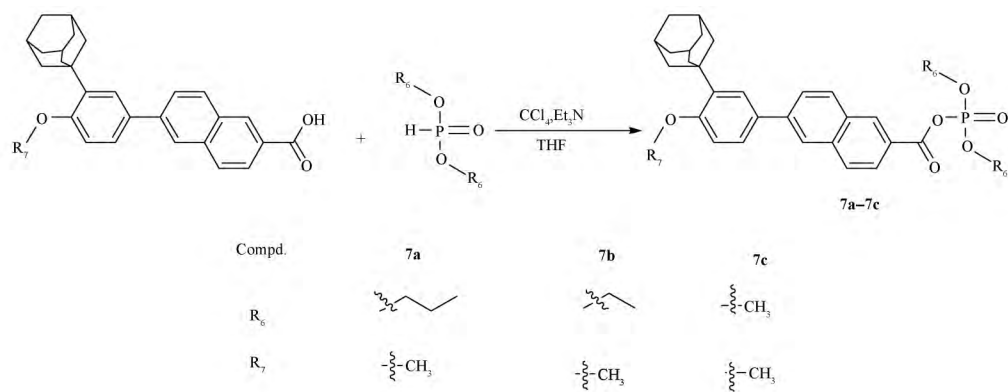


图9 AHPN 衍生物 7a~7c 的合成

Fig.9 Synthetic route of AHPN derivatives 7a-7c

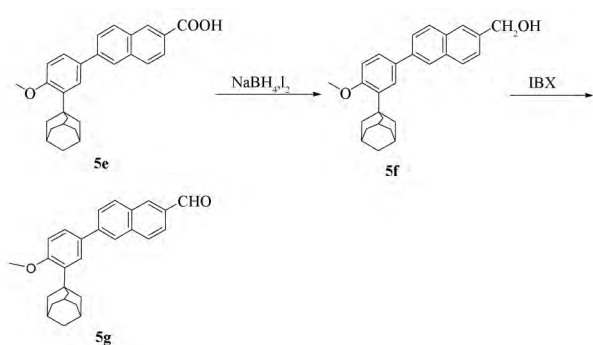


图10 AHPN 衍生物 5f,5g 的合成

Fig.10 Synthetic route of AHPN derivatives 5f and 5g

②合成目的产物 5g: 取 0.2 g 上述合成的 5f (0.5 mmol), 加入到 50 mL 圆底烧瓶中, 再加入 0.28 g IBX 试剂(1 mmol)、15 mL *N,N*-二甲基甲酰胺, 常温反应 3 h, TLC 检测反应完全, 依次用乙酸乙酯(25 mL×3)、水(25 mL×3)萃取, 合并有机相, 加入无水硫酸钠干燥, 减压蒸馏除去溶剂得粗产物, 粗产物经硅胶柱色谱纯化($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{乙酸乙酯}}=10:1$)。

2.9 化合物的合成与表征

本实验以对溴苯酚、金刚烷醇为原料合成中间体 3-(1-金刚烷)-4-甲氧基苯基硼酸(3), 中间体 3-(1-金刚烷)-4-甲氧基苯基硼酸与 6-溴萘甲酸甲酯反应合成 5 系列、7 系列化合物, 以 6-溴萘甲酸甲酯为原料合成 6 系列化合物。共得到 19 个目标化合物。

1: 白色粉末, 产率: 92%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 1.77 (brs, 6H, CH₂), 2.08 (s, 9H, CH₃), 4.83 (s, 1H, OH), 6.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.15 (dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.29 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 28.9, 36.9, 40.3, 13.2, 118.3, 129.3, 130.2, 138.7,

153.5。HRMS(ESI *m/z*) calcd for C₁₆H₁₉BrO [M + H]⁺: 307.0698; found: 307.0694。

2: 白色粉末, 产率 92.7%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 1.76 (brs, 6H, CH₂), 2.05 (s, 9H, CH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 6.72 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.24~7.27 (m, 1H, Ar-H), 7.28 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 29.0, 37.0, 40.3, 55.2, 113.3, 113.3, 129.3, 129.8, 140.8, 157.9。HRMS(ESI *m/z*) calcd for C₁₇H₂₁BrO [M + H]⁺: 321.0854; found: 321.0855。

3: 白色粉末, 产率: 60%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 1.82 (brs, 6H, CH₂), 2.09~2.13 (m, 3H, CH), 2.21 (d, *J* = 1.65 Hz, 6H, CH₂), 3.91 (s, 3H, CH₃), 7.00 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Ar-H), 8.05 (dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz, 1H, Ar-H), 8.15 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 28.3, 37.3, 40.5, 54.6, 113.2, 113.3, 129.6, 129.8, 140.6, 157.8。HRMS(ESI *m/z*) calcd for C₁₇H₂₃BO₃ [M + Na]⁺: 309.1638; found: 309.1644。

5a: 白色粉末, 产率: 72%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.76 (brs, 6H, CH₂), 2.07 (brs, 3H, CH), 2.18 (brs, 6H, CH₂), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 6.93 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.50 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.53 (brs, 1H, Ar-H), 7.88 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 8.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 8.18 (s, 1H, Ar-H), 8.62 (s, 1H, Ar-H), 9.61 (s, 1H, OH)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 28.9, 36.8, 37.1, 52.6, 117.5, 124.1, 125.5, 125.7, 125.9, 126.5, 126.7, 128.9, 130.3, 130.4, 130.7, 131.1, 136.1, 136.6, 141.4, 157.0, 166.9。HRMS

(ESI, m/z) calcd for $C_{28}H_{28}O_3 [M - H]^-$: 411.1966; found: 411.1969.

5b: 白色粉末, 产率: 53%。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.71 ~ 1.78 (m, 6H, CH_2), 2.06 (brs, 3H, CH), 2.17 (brs, 6H, CH_2), 6.92 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, Ar-H), 7.49 (dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.52 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.85 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.95 ~ 7.98 (m, 1H, Ar-H), 8.05 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 8.12 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 8.16 (s, 1H), 8.58 (s, 1H, Ar-H), 9.58 (brs, 1H, OH), 12.64 ~ 13.26 (m, 1H, COOH)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 28.6, 37.8, 44.6, 113.0, 121.9, 123.8, 126.9, 128.2, 128.9, 129.5, 129.9, 131.4, 132.1, 133.9, 134.8, 135.9, 136.8, 137.9, 158.8, 166.6。HRMS (ESI, m/z) calcd for $C_{27}H_{26}O_3 [M - H]^-$: 398.1809; found: 397.1808。

5c: 白色粉末, 产率: 86%。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.76 (brs, 6H, CH_2), 2.08 (brs, 3H, CH), 2.17 (m, 3H, CH_3), 2.51 (brs, 6H, CH_2), 4.11 (m, 2H, CH_2), 7.03 ~ 7.18 (m, 2H, Ar-H), 7.54 ~ 7.67 (m, 1H, Ar-H), 7.86 ~ 7.94 (m, 1H, Ar-H), 7.96 ~ 8.02 (m, 1H, Ar-H), 8.04 ~ 8.11 (m, 1H, Ar-H), 8.13 ~ 8.18 (m, 1H, Ar-H), 8.19 ~ 8.25 (m, 1H, Ar-H), 8.57 ~ 8.64 (m, 1H, Ar-H)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 14.3, 22.3 ~ 22.8, 27.5, 28.9, 37.4, 69.3, 114.4, 124.6, 125.9, 126.1, 126.6, 128.9, 130.3, 130.7, 131.7, 131.9 ~ 132.3, 133.4, 136.2, 138.8, 140.4 ~ 142.7, 156.9, 169.6。HRMS (ESI, m/z) calcd for $C_{29}H_{30}O_3 [M - H]^-$: 425.2122; found: 425.2125。

5d: 白色粉末, 产率: 83%。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.33 ~ 1.39 (m, 6H, CH_2), 1.75 (brs, 6H, CH_2), 2.06 (brs, 3H, CH), 2.10 ~ 2.23 (m, 2H, CH_2), 2.11 ~ 2.29 (m, 2H, CH_2), 2.16 (d, $J = 1.5$ Hz, 3H, CH_3), 7.08 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.57 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.60 (dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.87 (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 1H, Ar-H), 7.97 ~ 8.00 (m, 1H, Ar-H), 8.06 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 8.14 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 8.20 (s, 1H, Ar-H), 8.59 (s, 1H, Ar-H)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 14.4, 22.1 ~ 22.4, 27.0, 28.9, 37.1, 69.0, 114.0, 124.4, 125.8, 126.0, 126.4, 128.8, 130.1, 130.3, 130.7, 131.2 ~ 131.3, 131.3 ~ 131.4, 136.0, 138.6, 140.1 ~ 142.4, 156.6, 166.8 ~ 168.6。

HRMS (ESI, m/z) calcd for $C_{30}H_{32}O_3 [M + Na]^+$: 463.2279; found: 463.2282。

5e: 白色粉末, 产率: 85%。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.76 (brs, 6H, CH_2), 2.07 (brs, 3H, CH), 2.14 (brs, 6H, CH_2), 3.87 (s, 3H, CH_3), 7.12 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 7.58 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.65 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H, Ar-H), 7.87 ~ 7.92 (m, 1H, Ar-H), 7.96 ~ 8.01 (m, 1H, Ar-H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 8.16 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, Ar-H), 8.22 (s, 1H, Ar-H), 8.61 (s, 1H, Ar-H), 13.04 (brs, 1H, COOH)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 28.2, 37.4, 44.2, 56.3, 112.5, 121.6, 123.5, 126.5, 127.6, 128.5, 129.4, 129.7, 130.9, 131.5, 133.6, 133.9, 135.7, 136.5, 137.9, 158.8, 166.4。HRMS (ESI, m/z) calcd for $C_{28}H_{28}O_3 [M - H]^-$: 411.1966; found: 411.1967。

5f: 白色粉末, 产率: 84%。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.74 ~ 1.80 (m, 6H, CH_2), 2.07 (brs, 3H, CH), 2.14 (d, $J = 2.0$ Hz, 6H, CH_2), 3.84 ~ 3.88 (m, 3H, CH_3), 4.68 (s, 2H, CH_2), 7.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 7.48 (dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz, 1H, Ar-H), 7.55 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.61 (dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz, 1H, Ar-H), 7.77 (dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.82 (s, 1H, Ar-H), 7.94 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 8.10 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, Ar-H)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 28.3, 36.3, 43.4, 56.4, 65.3, 114.5, 125.6, 127.0, 127.3, 128.0, 129.6, 131.4, 131.9, 132.6, 133.7, 134.6, 135.2, 158.7。HRMS (ESI, m/z) calcd for $C_{28}H_{30}O_2 [M + Na]^+$: 421.2138; found: 421.2132。

5g: 白色粉末, 产率: 85%。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.72 ~ 1.78 (m, 6H, CH_2), 2.08 (brs, 3H, CH), 2.12 (d, $J = 2.0$ Hz, 6H, CH_2), 3.80 ~ 3.84 (m, 3H, OCH_3), 7.07 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.50 (dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz, 1H, Ar-H), 7.52 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.60 (dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz, 1H, Ar-H), 7.85 (dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.93 (m, 1H, Ar-H), 8.07 (s, 1H, Ar-H), 8.13 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 8.46 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, Ar-H), 9.88 (s, 1H, CHO)。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ : 28.2, 36.2, 43.5, 56.5, 114.8, 125.8, 126.2, 127.1, 128.2, 129.3, 131.2, 131.9, 132.8, 133.5, 134.7, 138.6, 158.2, 191.0。HRMS (ESI, m/z) calcd for $C_{28}H_{28}O_2 [M + Na]^+$: 419.1982; found: 419.1979。

6a: 白色粉末,产率:66%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 3.99(d, *J* = 1.1 Hz, 3H, OCH₃), 7.34(d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.70 ~ 7.77(m, 3H, Ar-H), 7.92(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.00 ~ 8.04(m, 2H, Ar-H), 8.09(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.63(s, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 52.3, 112.7 ~ 123.7, 121.4, 125.7, 125.9, 126.1, 127.7, 128.4, 128.8, 130.1, 130.8, 131.8, 135.7, 139.3, 139.5, 149.1, 167.1。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₉H₁₃F₃O₃ [M + Na]⁺: 369.0714; found: 369.0707。

6b: 白色粉末,产率:62%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 3.97(s, 3H, OCH₃), 6.48 ~ 6.57(m, 1H, CH), 6.82(d, *J* = 3.3 Hz, 1H, CH), 7.54(d, *J* = 1.3 Hz, 1H, CH), 7.82(s, 1H, Ar-H), 7.87(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.92(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.04(s, 1H, Ar-H), 8.14(s, 1H, Ar-H), 8.55(s, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 52.2, 106.7, 112.0, 121.7, 123.1, 125.9, 127.3, 128.3, 129.8, 130.1 ~ 131.1, 131.6, 135.8, 142.9, 153.5, 167.2。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₆H₁₂O₃ [M + Na]⁺: 275.0684; found: 275.0679。

6c: 白色粉末,产率:63%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.94(s, 3H, OCH₃), 8.06(d, *J* = 1.3 Hz, 2H, CH), 8.11(s, 1H, CH), 8.30(d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 8.50(s, 1H, Ar-H), 8.70(s, 1H, Ar-H), 9.26(s, 1H, Ar-H), 9.33(s, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 52.8, 125.9, 126.0, 126.5, 128.0, 129.4, 130.8, 131.0, 132.3, 133.2, 134.1, 135.6, 155.6, 158.1, 166.7。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₆H₁₂N₂O₂ [M + Na]⁺: 287.0972; found: 287.0973。

6d: 白色粉末,产率:62%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.93(s, 3H, OCH₃), 7.95(d, *J* = 3.9 Hz, 1H, CH), 8.03(d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CH), 8.22 ~ 8.26(m, 1H, Ar-H), 8.47(s, 1H, Ar-H), 8.65(s, 1H, Ar-H), 9.96(s, 1H, CHO)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 52.8, 125.3, 125.4, 126.3, 127.0, 128.0 ~ 128.2, 129.4, 130.8, 131.0, 132.6 ~ 132.7, 132.7 ~ 132.8, 134.6 ~ 136.6, 139.7, 143.2, 149.4 ~ 154.2, 165.5 ~ 168.0, 184.7。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₇H₁₂O₃S [M + Na]⁺: 319.0399; found: 319.0394。

6e: 白色粉末,产率:56%。¹H-NMR(600 MHz,

DMSO-*d*₆) δ: 3.94(s, 3H, OCH₃), 7.67 ~ 7.70(m, 1H, CH), 7.99 ~ 8.02(m, 1H, CH), 8.03 ~ 8.06(m, 1H, CH), 8.10 ~ 8.14(m, 1H, Ar-H), 8.26 ~ 8.30(m, 1H, Ar-H), 8.33 ~ 8.36(m, 1H, Ar-H), 8.42 ~ 8.45(m, 1H, Ar-H), 8.68 ~ 8.71(m, 1H, Ar-H), 8.91 ~ 8.94(m, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 52.5, 120.4, 125.2, 125.9, 128.0, 128.3, 128.7(s, 1C), 130.7, 132.6, 133.5, 135.0, 135.4, 135.9, 136.8, 143.8, 150.3, 165.9。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₇H₁₂ClNO₂ [M + Na]⁺: 320.0454; found: 320.4050。

6f: 白色粉末,产率:82%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.52(d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.95(dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.98(d, *J* = 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 8.02 ~ 8.07(m, 1H, Ar-H), 8.08 ~ 8.12(m, 1H, Ar-H), 8.23(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.34(s, 1H, Ar-H), 8.66(s, 1H, Ar-H), 13.12(brs, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 117.7 ~ 123.4, 122.0, 125.9, 126.2, 126.3, 128.8, 129.1, 129.5, 130.6, 130.7, 132.0, 135.7, 138.7, 139.3, 148.7, 167.8。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₈H₁₁F₃O₃ [M - H]⁻: 331.0588; found: 331.0590。

6g: 白色粉末,产率:54%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.68(dd, *J* = 3.3, 1.8 Hz, 1H, CH), 7.18(d, *J* = 3.3 Hz, 1H, Ar-H), 7.85(d, *J* = 1.1 Hz, 1H, Ar-H), 7.95(dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 7.97 ~ 8.01(m, 1H, Ar-H), 8.03 ~ 8.06(m, 1H, Ar-H), 8.15(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.28(s, 1H, Ar-H), 8.58(s, 1H, Ar-H), 12.10 ~ 13.73(m, 1H, COOH)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 108.2, 112.9, 121.5, 123.4, 126.4, 128.4, 128.8, 130.2, 130.5, 130.8, 131.8, 135.7, 144.3, 153.1, 167.8。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₅H₁₀O₃ [M - H]⁻: 237.0557; found: 237.0555。

6h: 白色粉末,产率:81%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.06(dd, *J* = 8.6, 1.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.10(dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H, Ar-H), 8.13 ~ 8.17(m, 2H, Ar-H), 8.27(d, *J* = 8.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.51(s, 2H, Ar-H), 8.56(s, 1H, Ar-H), 8.68(s, 1H, Ar-H), 13.17(brs, 1H, COOH)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 122.9, 124.7, 126.2, 126.3, 127.0, 128.2, 129.2 ~ 129.5, 130.7, 130.7, 132.5, 135.5, 136.8, 142.6, 167.8。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₅H₁₀N₂O₂ [M + H]⁺: 251.0815; found:

251.085 0。

6i: 白色粉末,产率:79%。¹H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.95(d, *J*=4.0 Hz, 1H, Ar-H) 8.00~8.05(m, 1H, Ar-H) 8.11(dd, *J*=6.2, 2.2 Hz, 2H, Ar-H) 8.20~8.25(m, 1H, Ar-H) 8.48(s, 1H, Ar-H) 8.63(s, 1H, Ar-H) 9.96(s, 1H, Ar-H) 12.02~14.15(m, 1H, CHO)。¹³C-NMR(151 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 125.4, 125.9, 127.2, 128.5, 129.6, 130.5, 132.6, 133.4, 134.6, 138.3, 141.2, 148.3, 169.3, 182.4。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₁₆H₁₀SO₃[M-H]⁻: 281.0278; found: 281.0280。

7a: 淡黄色粉末,产率:67%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 1.81(brs, 6H, CH₂) 2.11(brs, 3H, CH) 2.19(d, *J*=2.2 Hz, 6H, CH₂) 3.77~4.04(m, 3H, CH₃) 5.00(d, *J*=6.8 Hz, 2H, OCH₂) 7.00(d, *J*=8.4 Hz, 1H, Ar-H) 7.55(dd, *J*=8.3, 2.3 Hz, 1H, Ar-H) 7.60(d, *J*=2.2 Hz, 1H, Ar-H) 7.83(s, 1H, Ar-H) 7.94(d, *J*=8.6 Hz, 1H, Ar-H) 7.99(d, *J*=8.6 Hz, 1H, Ar-H) 8.01~8.05(m, 2H, Ar-H) 8.63(s, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 24.4, 28.4~28.8, 37.5, 44.6, 55.6, 72.4, 112.9, 122.6, 123.8, 127.6, 128.3, 129.4, 129.8, 130.1, 131.8, 132.2, 134.4, 134.3, 136.2, 136.8, 137.5, 158.4, 171.2。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₃₄H₄₁O₆P[M+Na]⁺: 599.2641; found: 599.2639。

7b: 淡黄色粉末,产率:72%。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 1.42~1.45(m, 6H, CH₂) 1.82(brs, 6H, CH₂) 2.10(brs, 3H, CH) 2.18(d, *J*=2.2 Hz, 6H, CH₃) 3.78(s, 3H, OCH₃) 5.10(d, *J*=6.8 Hz, 4H, OCH₂) 7.05(d, *J*=8.2 Hz, 1H, Ar-H) 7.58(dd, *J*=8.2, 2.2 Hz, 1H, Ar-H) 7.63(d, *J*=2.2 Hz, 1H, Ar-H) 7.85(s, 1H, Ar-H) 7.96(d, *J*=8.6 Hz, 1H, Ar-H) 7.99(d, *J*=8.6 Hz, 1H, Ar-H) 8.03~8.06(m, 2H, Ar-H) 8.63(s, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 21.6, 28.1~28.3, 37.6, 44.7, 55.6, 73.0, 112.8, 122.4, 123.9, 127.8, 129.0, 129.4, 129.9, 130.3, 131.8, 132.6, 134.5, 134.8, 135.2, 136.5, 137.9, 158.6, 170.8。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₃₂H₃₇O₆P[M+Na]⁺: 571.2220; found: 571.2211。

7c: 淡黄色粉末。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 1.82(brs, 6H, CH₂) 2.05(brs, 3H, CH) 2.16(brs, 6H, CH₂) 3.77(s, 3H, OCH₃) 5.02~5.06(m, 6H, OCH₂) 7.04(d, *J*=8.2 Hz, 1H, Ar-H) 7.50(dd,

J=8.1, 2.6 Hz, 1H, Ar-H) 7.63(d, *J*=2.6 Hz, 1H, Ar-H) 7.88(s, 1H, Ar-H) 7.96(d, *J*=8.4 Hz, 1H, Ar-H) 8.04(d, *J*=8.4 Hz, 1H, Ar-H) 8.05~8.08(m, 2H, Ar-H) 8.66(s, 1H, Ar-H)。¹³C-NMR(151 MHz, CDCl₃) δ: 28.1~28.3, 37.2, 43.9, 57.6, 73.0, 111.9, 122.8, 123.6, 127.9, 129.4, 129.7, 130.2, 130.7, 132.4, 132.9, 134.5, 134.9, 135.4, 136.7, 137.6, 158.9, 171.6。HRMS(ESI, *m/z*) calcd for C₃₀H₃₃O₆P[M+Na]⁺: 543.1907; found: 543.1900。

3 活性评价

选择 HBS-N 缓冲液为工作缓冲液,用 pH 值分别为 5.5、5.0、4.5、4.0,浓度为 10 mmol·L⁻¹ 乙酸钠缓冲液稀释 RAR γ 蛋白至 10 μ g·mL⁻¹,在 Biacore 控制软件中,选择手动进样模式,筛选出偶联值最大的 pH 值。

运用氨基偶联的方式将 RAR γ 偶联到 CM5 传感芯片上, HBS-N 缓冲液为工作缓冲液,用上述最佳 pH 值的 10 mmol·L⁻¹ 乙酸钠缓冲液稀释 RAR γ 蛋白至 10 μ g·mL⁻¹。0.3 mol·L⁻¹ 的 EDC 和 50 mmol·L⁻¹ 的 NHS 以 1:1 比例配成混合液,用混合液活化芯片表面,以 10 μ L·min⁻¹ 流速进样,连续进样 7 min 后注射 RAR γ 溶液,以 1 mol·L⁻¹ 的乙醇胺封闭液(pH 8.5)进样 7 min,封闭活化的芯片表面。以 HBS-N 为衍生液稀释液,进样后记录响应值,实验结束后,用 Glycine-HCl(10 mmol·L⁻¹, pH 2.5)冲洗感应片表面。

在我们设计合成的所有 AHPN 衍生物中(图 11),化合物 5c、5d、5e、6a、6b、6c、6d、6e、6f、6g、6h、7b、7c 可以很好的与 RAR γ 结合,其中化合物 7c、6c、6e、6h 与 RAR γ 的结合能力与 AHPN 相比显著提高。化合物 5c、5e、6f、7b 与 RAR γ 的结合能力与 AHPN 相当,化合物 5a、5f、5g、6i、7a 与 RAR γ 结合能力较弱,结果见表 1。

4 结论

本实验通过在 AHPN 的苯环和萘环上引入不同类型的取代基,设计合成了一系列 AHPN

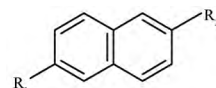


图 11 AHPN 衍生物结构

Fig. 11 Structure of AHPN derivatives

表 1 AHPN 衍生物与 RAR γ 结合响应值

Tab. 1 Response units (RU) that AHPN derivatives bind to RAR γ

Compd.	R ₁	R ₂	RU
AHPN(5b)			24.0
5a			1.2
5c			23.6
5d			18.3
5e			25.5
5f			0.3
5g			1.3
7a			3.4
7b			23.2
7c			119.2
6a			19.6
6b			16.8
6c			49.6
6d			18.6
6e			45.8
6f			23.8
6g			14.6
6h			43.8
6i			6.8

衍生物, 并利用 Biacore 技术检测化合物的活性。初步构效关系表明, 苯环上的酚羟基烷基化对衍生物的活性影响不大, 如 5c、5d、5e, 其响应值分别为 23.6、18.3、25.5; 咪喃环、噻吩环的引入降低了衍生物的活性, 如 6b、6d, 其响应值分别为 16.8、18.6; 吡啶环、噻啶环的引入却提高了衍生物的活性, 如 6c、6e、6h, 其响应值分别为 49.6、45.8、43.8; 萘环上引入亚磷酸酯基时, 衍生物活性变化明显, 引入亚磷酸酯基活性顺序为, 亚磷酸甲酯基 > 亚磷酸乙酯基 > 亚磷酸丙酯基, 引入亚磷酸二甲酯基所得衍生物 7c 响应值为 119.2, 较先导化合物 AHPN(24.0) 提高了 4~5 倍。这些为今后研究与 RAR γ 特异性结合的药物提供了新的思路。

REFERENCES

- [1] BUNCE C M, CAMPBELL M J. Nuclear receptors: current concepts and future challenges [J]. *Springer Sci Bus Med*, 2010, 86: 46-60.
- [2] HUANG G L, LUO Q, RUI G, *et al.* Oncogenic activity of retinoic acid receptor gamma is exhibited through activation of the Akt/NF-kappa B and Wnt/beta-catenin pathways in cholangiocarcinoma [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(17): 3416-3425.
- [3] MOISON C, ASSEMAT F, DAUNAY A, *et al.* Synergistic chromatin repression of the tumor suppressor gene RARB in human prostate cancers [J]. *Epigenetics-Us*, 2014, 9(4): 477-482.
- [4] MARTIN B, BERNARDON J M, CAVEY M T, *et al.* Selective synthetic ligands for human nuclear retinoic acid receptors [J]. *Skin Pharmacol*, 1992, 5(1): 57-65.
- [5] ZHANG Y, DAWSON M I, MOHAMMAD R, *et al.* Induction of apoptosis of human B-CLL and ALL cells by a novel retinoid and its nonretinoid analog [J]. *Blood*, 2002, 100(8): 2917-2925.
- [6] DAWSON M I, XIA Z, JIANG T, *et al.* Adamantyl-substituted retinoid-derived molecules that interact with the orphan nuclear receptor small heterodimer partner: effects of replacing the 1-adamantyl or hydroxyl group on inhibition of cancer cell growth, induction of cancer cell apoptosis, and inhibition of src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2 activity [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(18): 5650-5662.
- [7] CHEN L, WANG Z G, ALESHIN A E, *et al.* Sulindac-derived RXRalpha modulators inhibit cancer cell growth by binding to a novel site [J]. *Chem Biol*, 2014, 21(5): 596-607.
- [8] FRIGERIO M, SANTAGOSTINO M, SPATORE S, *et al.* A user-friendly entry to 2-iodoxybenzoic acid (IBX) [J]. *J Org Chem*, 1999, 64(12): 4537-4538.

(收稿日期: 2017-02-27)