

· 论 文 ·

阿朴菲类生物碱的合成、抗黑色素瘤活性及其斑马鱼急性毒性评价

万怡莉, 仲 辉, 陈 莉*, 孙建博**

(中国药科大学中药学院, 南京 210009)

摘 要 以A环1,2-亚甲二氧基为取代,合成了一系列在D环9,10,11位含不同取代基的共10个阿朴菲类生物碱,其结构均经ESI-MS、¹³C NMR和¹H NMR确认。通过MTT实验探究此类化合物对B16F10黑色素瘤细胞的潜在抗肿瘤活性,并进一步分析其构效关系,同时采用斑马鱼体内急性毒性实验对活性化合物进行安全性评价。结果表明,部分化合物对肿瘤细胞具有较强的抑制活性,可以显著抑制B16F10黑色素瘤细胞的增殖,其中化合物IVa的抗黑色素瘤活性最强且安全范围大,可作为抗B16F10黑色素瘤细胞增殖的先导化合物进一步研究。

关键词 阿朴菲类生物碱;合成;黑色素瘤;安全性评价;构效关系

中图分类号 R914.5;R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2021)05-0529-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20210503

引用本文 万怡莉,仲辉,陈莉,等.阿朴菲类生物碱的合成、抗黑色素瘤活性及其斑马鱼急性毒性评价[J].中国药科大学学报,2021,52(5):529–535.

Cite this article as: WAN Yili, ZHONG Hui, CHEN Li, *et al.* Synthesis, anti-melanoma activity and acute toxicity of aporphine alkaloids in zebrafish[J]. *J China Pharm Univ*, 2021, 52(5): 529–535.

Synthesis, anti-melanoma activity and acute toxicity of aporphine alkaloids in zebrafish

WAN Yili, ZHONG Hui, CHEN Li*, SUN Jianbo**

School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract In this study, 10 aporphine alkaloids were synthesized with 1, 2-methylenedioxy substituent in ring A and 9, 10, 11-position with different substituents in ring D. Their structures were determined by ESI-MS, ¹³C NMR and ¹H NMR. The potential antitumor activity of these compounds against B16F10 melanoma cells were evaluated by MTT assay, and their structure-activity relationship was further analyzed. Meanwhile, zebrafish acute toxicity test was conducted to evaluate the safety of the active compounds. The results showed that some compounds had strong inhibitory activity on tumor cells, and could significantly inhibit the proliferation of B16F10 melanoma cells. Compound IVa has the best anti-melanoma activity with wide safety range, and can be used as a lead compound for further study on anti-proliferation of B16F10 melanoma cells.

Key words aporphine alkaloids; synthesis; melanoma; safety evaluation; structure activity relationship

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31870325, No. 31500277)

阿朴菲类生物碱是天然生物碱的一个重要类型,在自然界中广泛分布并具有重要生物学活性^[1]。天然阿朴菲类生物碱具有多种生物活性,包括抗氧化、抗炎、抗血小板凝聚、抗惊厥、抗痉挛、

收稿日期 2021-03-29 **通信作者** *Tel:025-83271447 E-mail:chenli627@cpu.edu.cn

**Tel:025-83271415 E-mail:sunjianbo@cpu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 31870325, No. 31500277)

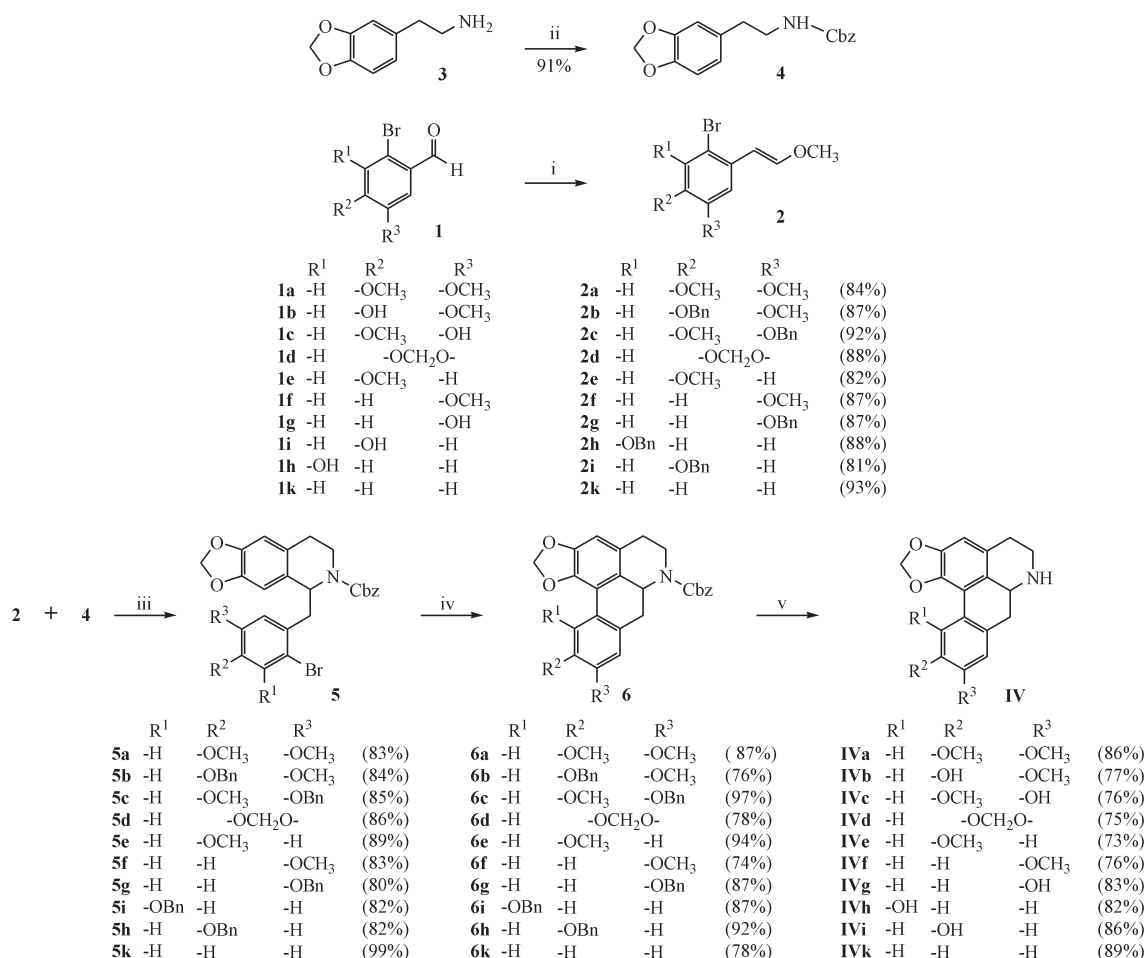
抗肿瘤等^[2-8]。已有研究报道A环1,2-亚甲二氧基取代后有助于提高阿朴菲类生物碱的抗肿瘤活性^[6,9]。目前阿朴菲类生物碱对肺癌细胞株A549、子宫癌细胞株HeLa、乳腺癌细胞株MCF-7、肝癌细胞系HepG-2、人类结肠癌细胞株HCT-116等几种较常见癌细胞的抑制作用报道较多^[6,10],对黑色素瘤相关的抗肿瘤活性尚未见系统报道。

为了研究阿朴菲类生物碱对黑色素瘤的调控作用,本研究以A环1,2-亚甲二氧基为取代,合成了一系列在D环9,10,11位含不同取代基的阿朴菲类生物碱,以天然产物中较常见的羟基和甲氧基取代为主,采用B16F10黑色素瘤细胞对10个合

成阿朴菲生物碱进行抗肿瘤活性评价,并进一步分析其构效关系,对活性较好的化合物采用斑马鱼进行体内安全性评价,以期阿朴菲类生物碱治疗色素相关疾病提供参考。

1 合成路线

以邻溴苯甲醛衍生物(**1**)为原料,通过 Wittig 反应得到苯乙烯甲基醚(**2**),**2**与酰化苯乙胺(**4**)通过 Pictet-Spengler 反应得到苄基四氢异喹啉(**5**),而后通过 Heck 反应关环得关环产物(**6**),最后经钨碳氢解脱保护得到目标化合物(**IV**)。



Scheme 1 Synthesis of aporphine alkaloids **IVa-IVk**

Reagents and conditions: (i) iA: BnBr, K₂CO₃, DMF or CH₃CN, 60 °C, reflux; iB: MeOCH₂PPh₃Cl, NaOtBu, CH₂Cl₂, 0 °C; (ii) CbzCl, K₂CO₃, CH₂Cl₂, 35 °C, reflux; (iii) TFA, CH₃CN, N₂, r. t.; (iv) Xphos, Pd(OAc)₂, Cs₂CO₃, DMA, 130 °C, reflux; (v) Pd/C, H₂, THF-MeOH (1:2-1:4), r. t.

2 实验部分

2.1 仪器及试剂

AV-300 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司, TMS 为

内标)、Waters Q-TOF Micro 质谱仪(美国沃特世公司)、智能光照培养箱(宁波赛福实验仪器有限公司)、SZX-16 斑马鱼体视镜(日本奥林巴斯公司)、

多功能酶标仪(美国伯腾 Synergy 公司)、所有试剂未经特别说明均为市售化学纯或分析纯产品。石油醚的沸程为 60~90℃。除特别说明外,未经处理直接使用,部分溶剂经实验室严格无水处理后使用。

2.2 化学合成

2.2.1 目标化合物合成步骤(以 IVc 为例)

步骤 i: Wittig 反应。iA: 在 250 mL 单颈瓶中,加入 6-溴异香草醛(45 mmol, 10.4 g)、 K_2CO_3 (90 mmol, 12.4 g),加入乙腈 100 mL 溶解,60℃加热反应,溶液由无色变为淡黄色悬浊物,而后少量多次加入溴化苄(50 mmol, 6 mL),有大量白色物质析出,60℃加热回流 6 h;浓缩反应液至 5~10 mL,水洗,抽滤,得白色粉末 13.8 g,产率 95.8%。iB: 在 250 mL 二颈瓶中,加入上述白色粉末(40 mmol, 13.8 g),甲氧基甲基三苯基氯化磷(60 mmol, 20.52 g)、 $NaOtBu$ (60 mmol, 5.76 g),氮气保护,冰浴,用注射器快速加入无水 CH_2Cl_2 50 mL,约 3~5 min 溶液由无色变为淡黄色再至红棕色,TLC 检测反应,反应结束后立即用水淬灭,经硅胶柱色谱(100~200 目硅胶,洗脱剂为石油醚-乙酸乙酯(30:1)纯化得白色粉末(化合物 2c)14.4 g,产率 96.8%。

步骤 ii: 氨基保护。将 3,4-亚甲二氧基苯乙胺(50 mmol, 8.25 g)溶于 CH_2Cl_2 50 mL,依次加入 K_2CO_3 (60 mmol, 8.28 g),氯甲酸苄酯(50 mmol, 8.55 g),回流,TLC 监测,约 6 h 反应完毕,水洗, CH_2Cl_2 萃取,浓缩后用少量 EtOAc 溶解,再缓慢多次加入石油醚,析出固体,抽滤,得白色粉末(化合物 4c)13.65 g,产率 91.3%。

步骤 iii: Pictet-Spengler 反应。在 100 mL 茄型瓶中加入 CH_3CN 25 mL,依次加入三氟乙酸(4 mmol, 300 μ L)、化合物 4c(3.3 mmol, 0.98 g)、化合物 2c(3.0 mmol, 1.04 g),氮气保护,常温搅拌 2 d,可见大量白色粉末析出,抽滤,得到产物(化合物 5c)1.58 g,产率 85.6%。

步骤 iv: Heck 反应。在 50 mL 二颈瓶中依次加入化合物 5c(2 mmol, 1.23 g)、 $Pd(OAc)_2$ (0.2 mmol, 45 mg)、Xphos(2-二环己基磷-2',4',6'-三异丙基联苯,0.4 mmol, 190 mg)、 Cs_2CO_3 (3 mmol, 0.97 g),氮气保护,用注射器加入二甲基乙酰胺(DMA)15 mL,回流反应 2 h,TLC 监测,反应结束后,冷却

至室温,加入 CH_2Cl_2 45 mL,混匀,加入水 90 mL, CH_2Cl_2 萃取,浓缩,经硅胶柱色谱纯化[100~200 目硅胶,洗脱剂为石油醚-乙酸乙酯(10:1)]得白色粉末(化合物 6c)1.04 g,产率 97.5%。

步骤 v: 脱保护。在 50 mL 二颈瓶依次加入化合物 6c(1.0 mmol, 535 mg)、10% Pd/C 55 mg,氢气置换,用注射器加入 THF 5 mL 溶解样品,而后加入 MeOH 10 mL,常温搅拌 2 h,TLC 监测,反应结束后,硅藻土过滤,滤液浓缩,经硅胶柱色谱[100~200 目硅胶,洗脱剂为二氯甲烷-甲醇(15:1)]纯化得终产物(IVc)237.3 mg,产率 76.3%。总收率 58.1%。ESI-MS: 312.2 $[M+H]^+$, 310.1 $[M-H]^-$,分子式为 $C_{18}H_{17}NO_4$ 。 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.57(1H, s, H-11), 6.72(1H, s, H-8), 6.59(1H, s, H-3), 6.11(each 1H, d, $J = 1.0$ Hz, $-OCH_2O-$), 5.97(each 1H, d, $J = 1.0$ Hz, $-OCH_2O-$), 3.77(3H, s, 10- OCH_3), 3.76(1H, m, H-6a), 3.22(1H, m, H-5a), 2.90~2.80(2H, m, H-5b, 7a), 2.74(1H, dd, $J = 14.4, 5.0$ Hz, H-7b), 2.66~2.52(2H, m, H-4a, 4b)。 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 146.4, 146.2, 146.2, 140.9, 128.4, 126.6, 126.6, 121.5, 115.9, 115.4, 111.6, 106.6, 100.4, 56.0, 53.1, 42.3, 35.1, 28.3。

2.2.2 化合物 IVa 的合成 参照化合物 IVc 的制法,以 6-溴藜芦醛替为原料,去除 iA 合成步骤,得红棕色固体 280.2 mg,产率 53.0%。ESI-MS: 326.2 $[M+H]^+$,分子式为 $C_{19}H_{19}NO_4$ 。 1H NMR (300 MHz, Chloroform- d) δ : 7.68(1H, s, H-11), 6.76(1H, s, H-8), 6.53(1H, s, H-3), 6.08(each 1H, d, $J = 1.4$ Hz, $-OCH_2O-$), 5.93(each 1H, d, $J = 1.4$ Hz, $-OCH_2O-$), 3.97(1H, dd, $J = 13.7, 5.5$ Hz, H-6a), 3.92(3H, s, 10- OCH_3), 3.91(3H, s, 9- OCH_3), 3.39(1H, dt, $J = 10.0, 4.9$ Hz, H-5a), 3.11~2.90(2H, m, H-5b, 7a), 2.89~2.74(2H, m, H-7b, 4a), 2.67(1H, t, $J = 14.0$ Hz, H-4b)。 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 148.2, 147.2, 145.9, 141.0, 128.7, 127.9, 127.1, 123.0, 115.5, 111.9, 111.0, 107.0, 100.3, 55.8, 55.5, 53.3, 42.8, 35.9, 29.0。

2.2.3 化合物 IVb 的合成 参照化合物 IVc 的制法,以 6-溴香兰素为原料,得白色粉末 241.6 mg,产率 43.9%。ESI-MS: 312.2 $[M+H]^+$, 310.1 $[M-H]^-$,分子式为 $C_{18}H_{17}NO_4$ 。 1H NMR (300 MHz,

DMSO- d_6) δ : 8.87 (1H, s, 10-OH), 7.50 (1H, s, H-11), 6.86 (1H, s, H-8), 6.58 (1H, s, H-3), 6.09 (each 1H, s, -OCH₂O-), 5.97 (each 1H, s, -OCH₂O-), 3.80 (3H, s, 9-OCH₃), 3.74 (1H, dd, J = 14.2, 5.0 Hz, H-6a), 3.19 (1H, m, H-5a), 2.91 ~ 2.71 (3H, m, H-5b, 7a, 7b), 2.63 ~ 2.53 (2H, m, H-4a, 4b)。
¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.0, 146.0, 144.8, 141.0, 127.6, 126.8, 126.6, 123.0, 115.7, 114.1, 112.0, 106.8, 100.2, 55.6, 53.4, 42.6, 35.7, 28.8。

2.2.4 化合物IVd的合成 参照化合物IVc的制法,以6-溴-3,4-亚甲基二氧苯甲醛为原料,去除iA合成步骤,得白色粉末233.3 mg,产率41.4%。ESI-MS: 310.1 [M+H]⁺, 分子式为C₁₈H₁₅NO₄。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.42 (1H, s, H-11), 6.84 (1H, s, H-8), 6.54 (1H, s, H-3), 6.02 (each 1H, s, 9, 10-OCH₂O-), 5.95 (each 1H, s, 9, 10-OCH₂O-), 5.93 (each 1H, s, 1, 2-OCH₂O-), 5.88 (each 1H, s, 1, 2-OCH₂O-), 3.67 (1H, dd, J = 14.0, 4.9 Hz, H-6a), 3.12 (1H, m, H-5a), 2.79 ~ 2.66 (3H, m, H-5b, H-7a, H-7b), 2.46 ~ 2.40 (2H, m, H-4a, 4b)。
¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.1, 146.7, 146.4, 141.8, 127.8, 125.3, 123.5, 122.8, 115.4, 108.8, 107.1, 106.6, 101.2, 101.0, 52.1, 41.1, 33.4, 26.1。

2.2.5 化合物IVe的合成 参照化合物IVc的制法,以2-溴-4-甲氧基苯甲醛为原料,去除iA合成步骤,得红棕色固体215.9 mg,产率51.1%。ESI-MS: 296.2 [M+H]⁺, 分子式为C₁₈H₁₇NO₃。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.57 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-11), 7.23 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-8), 6.85 (1H, dd, J = 8.2, 2.6 Hz, H-9), 6.69 (1H, s, H-3), 6.15 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 5.99 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 3.83 (1H, dd, J = 13.8, 4.9 Hz, H-6a), 3.77 (3H, s, 10-OCH₃), 3.25 (1H, m, H-5a), 2.95 ~ 2.79 (3H, m, H-5b, 7a, 7b), 2.67 ~ 2.52 (2H, m, H-4a, 4b)。
¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 158.1, 146.3, 142.0, 131.3, 128.8, 127.2, 126.9, 126.6, 115.2, 112.7, 112.5, 107.9, 100.7, 55.1, 53.1, 42.2, 34.7, 28.1。

2.2.6 化合物IVf的合成 参照化合物IVc的制法,以2-溴-5-甲氧基苯甲醛6-溴藜芦醛为原料,去

除iA合成步骤,得红棕色固体225.0 mg,产率37.7%。ESI-MS: 296.2 [M+H]⁺, 分子式为C₁₈H₁₇NO₃。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.91 (1H, dd, J = 9.4 Hz, H-11), 6.89 (1H, d, J = 9.4, 2.3 Hz, H-10), 6.87 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-8), 6.60 (1H, s, H-3), 6.10 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 5.96 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 3.79 (3H, s, 9-OCH₃), 3.74 (1H, dd, J = 14.0, 4.8 Hz, H-6a), 3.19 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5a), 2.93 ~ 2.74 (3H, m, H-5b, 7a, 7b), 2.66 ~ 2.53 (2H, m, H-4a, 4b)。
¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 158.5, 146.0, 141.1, 137.2, 127.8, 127.6, 126.9, 123.3, 115.3, 113.5, 112.2, 106.9, 100.3, 55.0, 53.0, 42.6, 36.5, 28.8。

2.2.7 化合物IVg的合成 参照化合物IVc的制法,以2-溴-5-羟基苯甲醛为原料,得白色粉末233.5 mg,产率51.1%。ESI-MS: 282.2 [M+H]⁺, 280.1 [M-H]⁻, 分子式为C₁₇H₁₅NO₃。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.54 (1H, s, 9-OH), 7.80 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-11), 6.71 (1H, dd, J = 8.2, 2.6 Hz, H-10), 6.68 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-8), 6.55 (1H, s, H-3), 6.07 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 5.93 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 3.68 (1H, dd, J = 13.9, 4.9 Hz, H-6a), 3.16 (1H, m, H-5a), 2.84 ~ 2.64 (3H, m, H-5b, 7a, 7b), 2.61 ~ 2.51 (2H, m, H-4a, 4b)。
¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.8, 145.9, 140.8, 137.3, 127.9, 127.9, 127.0, 121.8, 115.7, 114.9, 113.5, 106.5, 100.2, 53.2, 42.8, 36.7, 29.0。

2.2.8 化合物IVh的合成 参照化合物IVc的制法,以2-溴-3-羟基苯甲醛为原料,得黄绿色粉末231.0 mg,产率52.3%。ESI-MS: 282.2 [M+H]⁺, 分子式为C₁₇H₁₅NO₃。 ¹H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.54 (s, 1H, 11-OH), 7.15 (1H, t, J = 7.7 Hz, H-9), 6.86 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-10), 6.81 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-8), 6.79 (1H, s, H-3), 6.10 (each 1H, d, J = 1.1 Hz, -OCH₂O-), 5.96 (each 1H, d, J = 1.0 Hz, -OCH₂O-), 4.14 (1H, dd, J = 13.6, 3.9 Hz, H-6a), 3.55 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-5a), 3.23 ~ 3.10 (2H, m, H-5b, 7a), 3.03 (1H, dd, J = 14.0, 4.0 Hz, H-7b), 2.92 ~ 2.71 (2H, m, H-4a, 4b)。
¹³C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 154.40, 147.50, 142.75, 135.25, 128.95, 123.59, 122.94, 118.30, 116.89,

115.78, 113.34, 106.48, 100.39, 51.91, 42.3, 33.88, 24.79。

2.2.9 化合物 **IVi** 的合成 参照化合物 **IVc** 的制法,以 2-溴-4-羟基苯甲醛为原料,得黄绿色粉末 242.2 mg,产率 53.7%。ESI-MS: 282.2 $[M+H]^+$, 280.1 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{17}H_{15}NO_3$ 。 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.31 (1H, s, 10-OH), 7.48 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-11), 7.08 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8), 6.66 (1H, dd, $J = 8.1, 2.5$ Hz, H-9), 6.65 (1H, s, H-3), 6.13 (each 1H, s, -OCH₂O-), 5.99 (each 1H, s, -OCH₂O-), 3.78 (1H, dd, $J = 13.9, 4.8$ Hz, H-6a), 3.21 (1H, m, H-5a), 2.98 ~ 2.71 (3H, m, H-5b, 7a, 7b), 2.67 ~ 2.51 (2H, m, H-4a, 4b)。 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.0, 146.2, 141.9, 131.2, 128.7, 127.5, 126.6, 125.2, 115.5, 114.5, 113.5, 107.7, 100.5, 53.3, 42.3, 34.9, 28.3。

2.2.10 化合物 **IVk** 的合成 参照化合物 **IVc** 的制法,以邻溴苯甲醛为原料,去除 iA 合成步骤,得红棕色固体 236.1 mg,产率 58.6%。ESI-MS: 266.2 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{17}H_{15}NO_2$ 。 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.98 (1H, m, H-11), 7.38 ~ 7.10 (3H, m, H-8, 9, 10), 6.65 (1H, s, H-3), 6.12 (each 1H, d, $J = 1.0$ Hz, -OCH₂O-), 5.97 (each 1H, d, $J = 1.0$ Hz, -OCH₂O-), 3.72 (1H, dd, $J = 13.9, 4.7$ Hz, H-6a), 3.16 (1H, m, H-5a), 2.89 ~ 2.75 (3H, m, H-5b, 7a, 7b), 2.67 ~ 2.53 (2H, m, H-4a, 4b)。 ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 146.1, 141.8, 135.5, 130.7, 128.5, 128.0, 127.4, 127.1, 126.7, 126.4, 115.2, 107.8, 100.4, 53.0, 42.7, 36.3, 28.9。

2.3 体外抗黑色素瘤活性测试

采用 MTT 法^[11]测试目标化合物 **IVa** ~ **IVk** 对 B16F10 黑色素瘤的抗增殖活性。用 DMSO 配成 1.0×10^{-2} mol/L 的母液,用 DMEM 培养液稀释至所需浓度 (0, 2.5, 5, 10, 20, 40 μ mol/L) 即为供试液。取对数生长期细胞接种到 96 孔板中,接种浓度为每孔 3 000 个细胞,接种体积为每孔 100 μ L,用含有体积分数为 10% 的胎牛血清的培液培养 24 h,然后暴露于不同浓度的药物中。孵育 48 h 后,每孔加入 MTT 溶液 (5 mg/mL, 用灭菌磷酸盐缓冲液溶解) 10 μ L,孵育 4 h,吸出上清液,每孔加入 DMSO 150 μ L,平板摇床震摇 10 min 以溶解甲臞晶

体。在 570 nm 下用酶标仪测量每孔吸收度 (A)。化合物的抑制率计算公式为:抑制率 (%) = $(1 - A_{\text{treated}}/A_{\text{control}}) \times 100$,以 IC_{50} 评价化合物的活性,结果如表 1 所示。

Table 1 IC_{50} of target compounds against B16F10 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Compd.	$IC_{50}^a/(\mu\text{mol/L})$
IVa	4.89 ± 0.18
IVb	10.22 ± 0.28
IVc	18.51 ± 0.48
IVd	5.92 ± 0.21
IVe	5.41 ± 0.12
IVf	6.74 ± 0.34
IVg	21.09 ± 1.30
IVh	> 40
IVi	10.86 ± 0.26
IVk	16.56 ± 0.52

^aMTT assay, cells were incubated with corresponding compounds for 48 h

2.4 斑马鱼体内急性毒性实验

斑马鱼源于国家斑马鱼资源中心,按照《The Zebrafish Book》中方法进行斑马鱼饲养^[12]循环水系统水温为 28.5 $^{\circ}C$,每天固定光照时间为 14 h,早晚饲喂丰年虾一次。收集胚胎前一天晚上将斑马鱼雌鱼、雄鱼等比例放置于产卵缸中,以隔板将雌雄分开,按照正常光照时间,22:00 关灯,第 2 天 8:00 光照刺激并抽离隔板使雌雄交配。30 min 后收集胚胎并利用 Eggwater 清洗,饲养于 28.5 $^{\circ}C$ 的光照培养箱中。收集斑马鱼胚胎并在其发育至受精后 6 h (6 hpf) 时将胚胎浸泡至已配好的相应浓度梯度的药物溶液中。在斑马鱼发育至 24 hpf, 48 hpf, 72 hpf, 96 hpf, 120 hpf 时任选 3 条斑马鱼拍照,观察其是否有心包水肿、畸形、体长、黑色素异常等毒性^[13]。结果如图 1 所示。

3 结果与讨论

从表 1 可见,此类目标化合物具有较好的抗黑色素瘤活性,其中化合物 **IVa** 的活性最强, IC_{50} 为 $(4.89 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$ 。初步构效关系分析表明,1,2-亚甲二氧基取代的阿朴菲生物碱,当 R_2, R_3 (即 9, 10 位) 取代为烷氧基或亚甲二氧基时可显著增加抗肿瘤活性,而 R_2 或 R_1 (即 9, 11 位) 羟基取代则不利于活性增强,其中以 9, 10 位烷氧基双取代活性最佳 (化合物 **IVa**), IC_{50} 为 $(4.89 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$ 。

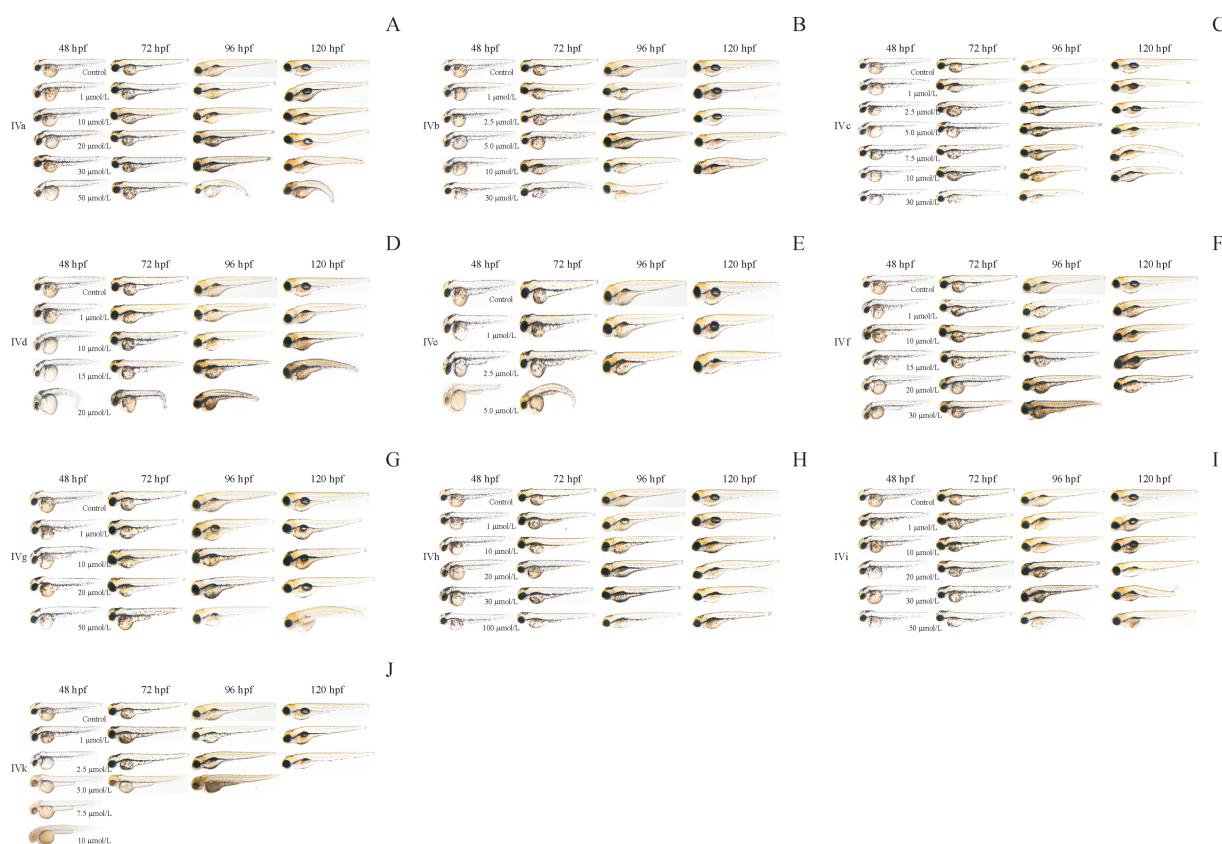


Figure 1 Morphological effects of different concentrations of compounds on zebrafish at different developmental stages

A: Compound **IVa**; B: Compound **IVb**; C: Compound **IVc**; D: Compound **IVd**; E: Compound **IVe**; F: Compound **IVf**; G: Compound **IVg**; H: Compound **IVh**; I: Compound **IVi**; K: Compound **IVk**

为进一步评价此类化合物的安全性,进行了斑马鱼体内急性毒性实验。由图1可知,不同化合物的体内毒性相差较大,化合物**IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVd**, **IVe**, **IVf**, **IVg**, **IVi**, **IVk**作用于斑马鱼后分别于50, 10, 7.5, 15, 5, 30, 50, 30, 5 $\mu\text{mol/L}$ 出现明显的毒性,化合物**IVa**, **IVb**, **IVc**, **IVi**, **IVe**主要表现为发育畸形,如体长降低,脊背弯曲。化合物**IVd**, **IVf**, **IVg**主要毒性为心脏毒性,即出现心包水肿,而化合物**IVk**毒性主要表现为色素异常缺失。结合上述化合物 IC_{50} 可知,化合物**IVa**的抗肿瘤活性最强且安全范围大,可作为抗B16F10黑色素瘤细胞增殖的先导化合物进一步研究。

4 结论

本研究以A环1,2-亚甲二氧基为取代,合成了一系列在D环9,10,11位含不同取代基的共10个阿朴菲类生物碱,通过MTT实验探究此类化合物对B16F10黑色素瘤细胞潜在的抗肿瘤活性,并进

一步分析其构效关系。同时采用斑马鱼体内急性毒性实验对活性化合物进行安全性评价。构效关系显示当A环1,2位取代亚甲二氧基时,9,10位双取代或单取代烷氧基团有助于抗肿瘤活性的提高。结合细胞毒性和体内安全性评价,化合物**IVa**的抗肿瘤活性最强且安全范围大。本研究的初步研究结果提示,阿朴菲类生物碱可能有望用于色素相关疾病的治疗,值得进一步研究。

References

- [1] Xin AY, Liu JX, Di DL. Research progress on aporphine alkaloids [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2018, **49**(3): 712-724.
- [2] Lin XW, Wang RQ, Tan YF, et al. Advances on pharmacokinetic researches on aporphine alkaloids [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2020, **44**(6): 451-458.
- [3] Liu X, Sun Y, Dou LM, et al. Research progress in anti-diabetic activities of aporphine alkaloids [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2017, **41**(9): 704-709.

- [4] Zhao QZ, Zhao YM. Progress in biological activities of aporphine alkaloids[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2006, **18**(2): 316-324.
- [5] Zhang A, Zhang Y, Branfman AR, *et al.* Advances in development of dopaminergic aporphinoids[J]. *J Med Chem*, 2007, **50**(2): 171-181.
- [6] Liu YJ, Liu JX, Di DL. Progress on anticancer activity of aporphine alkaloids[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2012, **43**(4): 806-814.
- [7] Wang B, Zhao YJ, Zhao YL, *et al.* Exploring aporphine as anti-inflammatory and analgesic lead from *Dactylicapnos scandens* [J]. *Org Lett*, 2020, **22**(1): 257-260.
- [8] Wang R, Zhou J, Shi G, *et al.* Aporphine and phenanthrene alkaloids with antioxidant activity from the roots of *Stephania tetrandra*[J]. *Fitoterapia*, 2020, **143**: 104551.
- [9] Tran TD, Pham NB, Fechner G, *et al.* Chemical investigation of drug-like compounds from the Australian tree, *Neolitsea dealbata*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, **20**(19): 5859-5863.
- [10] Jin Q, Yang D, Dai Z, *et al.* Antitumor aporphine alkaloids from *Thalictrum wangii*[J]. *Fitoterapia*, 2018, **128**: 204-212.
- [11] Bai Z, Shang FY, Dai WG, *et al.* Synthesis and antitumor activities of NO-donating rhein derivatives[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2021, **52**(1): 38-43.
- [12] Liu L, Pei S, Wu H, *et al.* Drug screening model of treating pigmentation disorders in tyrla transgenic zebrafish [J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2016, **47**(6): 740-743.
- [13] Dai MZ, Huang YF, Peng Y, *et al.* Advances in zebrafish experimental research on developmental toxicity and teratogenicity [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*(中国实验动物学报), 2020, **28**(1): 137-142.

· 校园信息 ·

中国药科大学在首届全国教材建设奖评选中喜获佳绩

2021年10月12日,全国教材工作会议暨首届全国教材建设奖表彰会在北京召开。会上,国家教材委员会发布了《关于首届全国教材建设奖奖励的决定》。经学校统筹谋划,学院积极参与,研究生院、教务处等相关部门精心组织,我校4种教材获得全国优秀教材奖,2位教师荣获“全国教材建设先进个人”称号。其中,来茂德教授主编的《病理学》(第1版)、姚文兵教授主编的《生物化学》(第8版)两部教材获全国优秀教材(高等教育类)二等奖,孔令义教授副主编的《中药化学》(新世纪第三版)获全国优秀教材(高等教育类)一等奖,黄家利副教授副主编的《药物制剂技术》(第三版)获全国优秀教材(职业教育与继续教育类)二等奖。尤启冬和吴梧桐2位教授荣获全国教材建设先进个人。

全国教材建设奖是教材领域的最高奖,每4年评选一次,是检阅、展示教材建设服务党和国家人才培养成果,增强教材工作者荣誉感、责任感,推动构建中国特色、世界水平教材体系的一项重大制度。学校始终注重教材核心育人功能,以有效服务国家战略和社会经济发展为建设导向,保证教材内容形式的原创性、创新性、高阶性,充分发挥药学院院校优秀教材的示范带动、标杆建设作用。

首届全国教材建设奖共评选全国优秀教材奖(高等教育类)399种,全国教材建设先进个人200名,我校在本次评选中取得的成绩在同类院校中居于首位,在江苏省高校中位于前列。学校将以此为契机,继续推进教材改革创新,用心打造更多培根铸魂、启智增慧的精品教材,为加快推进药学教育现代化,培养具有家国情怀、药大品格、领导能力、创新精神和国际化视野的德智体美劳全面发展的新时代药界英才提供有力支持。

(教务处、研究生院,本刊有删改)