



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106565718 A

(43)申请公布日 2017.04.19

(21)申请号 201610876379.1

(22)申请日 2016.10.09

(71)申请人 深圳福山生物科技有限公司
地址 518057 广东省深圳市南山区高新中
一道10号生物孵化器2-315

(72)发明人 贺贤然

(51) Int. Cl.

C07D 475/14(2006.01)

A61K 31/525(2006.01)

A61K 31/095(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

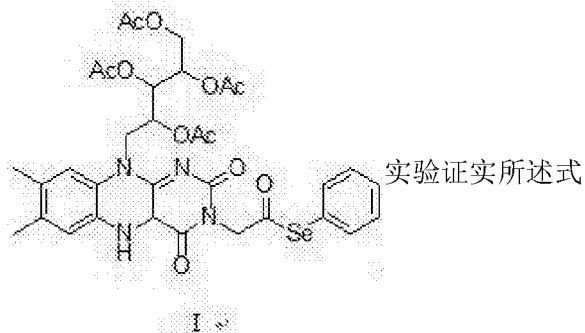
权利要求书1页 说明书8页

(54)发明名称

含硒化合物及其用途

(57)摘要

本发明涉及一种如式I所示的含硒化合物在制备癌症化学预防剂和治疗剂中的应用。



(I)化合物能够显著诱导醌还原酶的表达,并且在具有醌还原酶诱导活性的浓度条件下(20 μM)无明显细胞毒作用,可作为有效的癌症化学预防剂或治疗剂。

含硒化合物及其用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体地涉及一种含硒化合物及其制备方法和用途。

背景技术

[0002] 癌症是全世界罹患疾病和导致死亡的首要原因,并且由于现代技术延长了预期寿命,因此预计癌症仍会增加。在细胞的生命期中,偶尔会发生被称为“突变”的DNA微小变化。在这些突变中,某些突变(称为“沉默突变”)不导致细胞功能的任何本质变化,而另一些突变可改变细胞的作用方式。多种机制均可以阻止已发生突变的细胞继续进行细胞周期,并且如果遗传错误得不到纠正,这些细胞将通过被称为“细胞凋亡”的过程而“自杀”。然而,如果突变发生在参与细胞周期调控的蛋白质中,这可导致失控的细胞增殖(称为肿瘤形成),其可进一步发展成癌症。

[0003] 癌细胞通常对机体具有不利影响。癌症可通过恶性肿瘤细胞侵入邻近组织来扩散,也可通过已知为“转移”的过程来扩散,在“转移”过程中恶性细胞从肿瘤块脱离并扩散至较远的部位。在许多不同类型的组织中,癌症表现为多种形式,并可以其侵入和侵袭程度来表征。

[0004] 癌症作为活宿主生物中的异常组织块而发生,它从宿主中接收营养而不依赖于宿主地过度增殖,并且破坏宿主机体。人体器官由大量细胞构成。当人体的正常细胞变成异常细胞并且该异常细胞不加检查地分裂和增殖时,就发生癌症。尽管遗传因素与癌症的发病密切相关,但环境因素也对个体是否发生癌症产生重要影响。癌症在发达国家尤其普遍。有报道称,导致癌症的原因是对农药、杀虫剂等的使用增加(因此这类物质在食品中的残留量增加),对包含添加剂(如食品防腐剂和着色剂)的加工食品的消费增加,对水、土壤和空气的污染的增加,现代生活的压力,活动的减少,油腻的饮食习惯所引起的肥胖,等等。近年来,还有人指出,当正常细胞的细胞信号系统发生故障,当癌症基因被激活,或当抑癌基因发生故障时,就引发癌症。

[0005] 目前存在多种癌症治疗方法,如手术治疗,化学疗法和放射疗法。手术治疗方法在早期阶段有效地去除癌症,但是,缺点是有时不得不摘除器官,这会导致副作用,并且具有癌症扩散至其他器官的不确定性。放射治疗有利于有效地治疗在一个特定器官发生的癌症,但是有以下缺点:因为辐射而使患者暴露于其他癌症风险,无法防止癌细胞扩散到其他器官,并且在治疗过程中患者要承受很大的痛苦。化学疗法通常使用抗癌药物进行,但是已知抗癌药物的毒性不仅作用于癌细胞,也作用于患者的正常细胞,造成副作用。因此,要开发有更高的癌细胞选择性和尽可能小的毒性的新抗癌药物。

[0006] 硒是机体生命活动不可缺少的一种微量元素。近年来,人们对硒化合物特别是有有机硒化合物进行了研究,试图从中发现有抗癌或抗肿瘤活性的化合物。例如,EI-Bayoumy等[K EI-Bayoumy, Drugs Future, 1997, 22 (5) : 539~545]研究发现,苯基硒氰化物在DMBA诱导的乳腺癌小鼠模型中表现出抗肿瘤作用。与亚硒酸钠相比,苯基硒氰化物的抗癌活性更高,但其本身具有强烈的异味,且存在导致患者体重显著下降的副作用。

[0007] 依布硒啉 (ebselen, 2-苯基-1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮) 和乙烷硒啉 (1,2-[二(1,2-苯并异硒唑-3(2H)-酮)]乙烷) 是两个已经进入临床试验阶段的有机硒化合物。研究表明, 依布硒啉的作用机制主要是通过抑制靶酶-硫氧环蛋白还原酶的活性, 调节其下游信号传导通路及其抗肿瘤凋亡通路, 实现药物的抗肿瘤作用, 生物活性和低毒性则可能与其环状硒酰胺结构或苯并异硒唑酮含硒杂环有关 (H J Reich, 等 J. Am. Chem. Soc., 1987, 109 (18): 5549-5551); 乙烷硒啉是硫氧还蛋白还原酶抑制剂, 乙烷硒啉分子中含有2个苯并异硒唑酮结构, 收到了协同增效的效果, 活性优于依布硒啉。

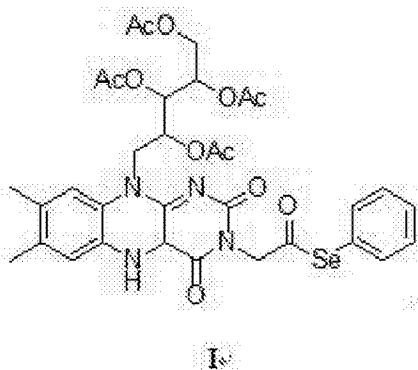
[0008] 尽管发现了上述有机硒化合物, 但现有的有机硒化合物仍存在抗癌效力有待进一步提高、抗癌谱有限, 以及化合物结构类型有限等问题, 远远不能满足人类对于癌症预防和治疗的日益增长的需求。因此, 开发出更好效果的抗癌药物, 特别是有机硒化合物已成为迫切的需要。

[0009] 因此, 现有技术仍迫切需要新的有良好效果的癌症预防剂或治疗剂。

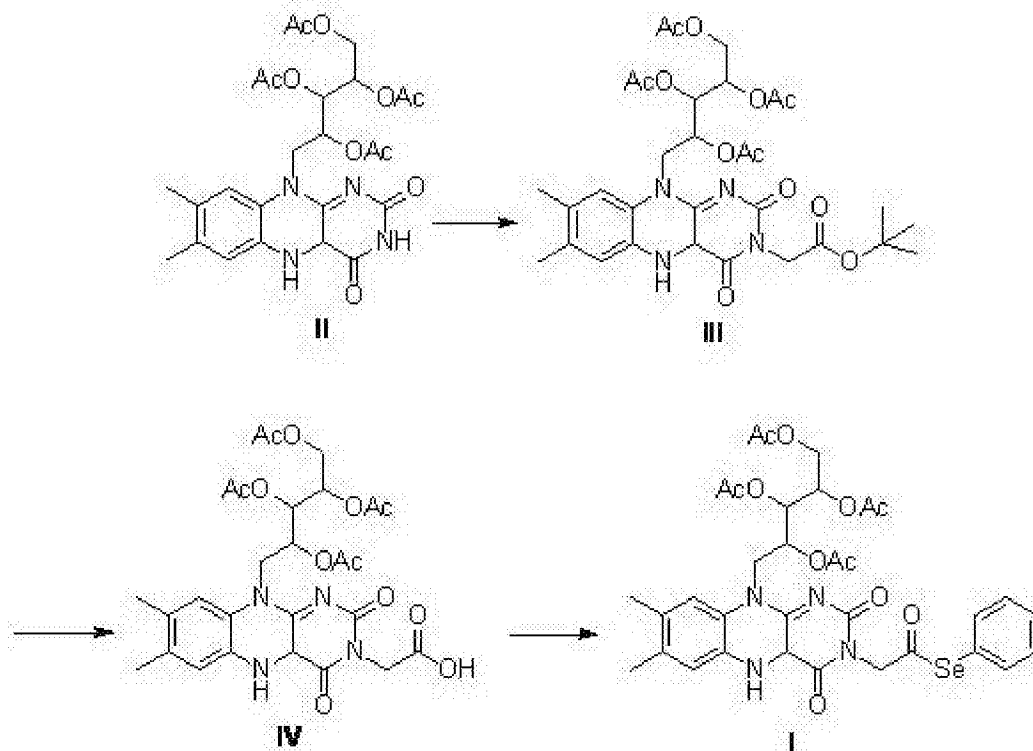
发明内容

[0010] 本发明人经过大量实验研究, 意外发现了一种含硒有机化合物, 具有出乎意料的预防和治疗癌症的生物活性。所述化合物可有效用于多种癌症的治疗和/或预防。

[0011] 本发明提供了化学名为2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸苯硒酯的下式I的化合物:



在另一方面, 本发明还提供了上述2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸苯硒酯的制备方法, 所述方法包括以下步骤:

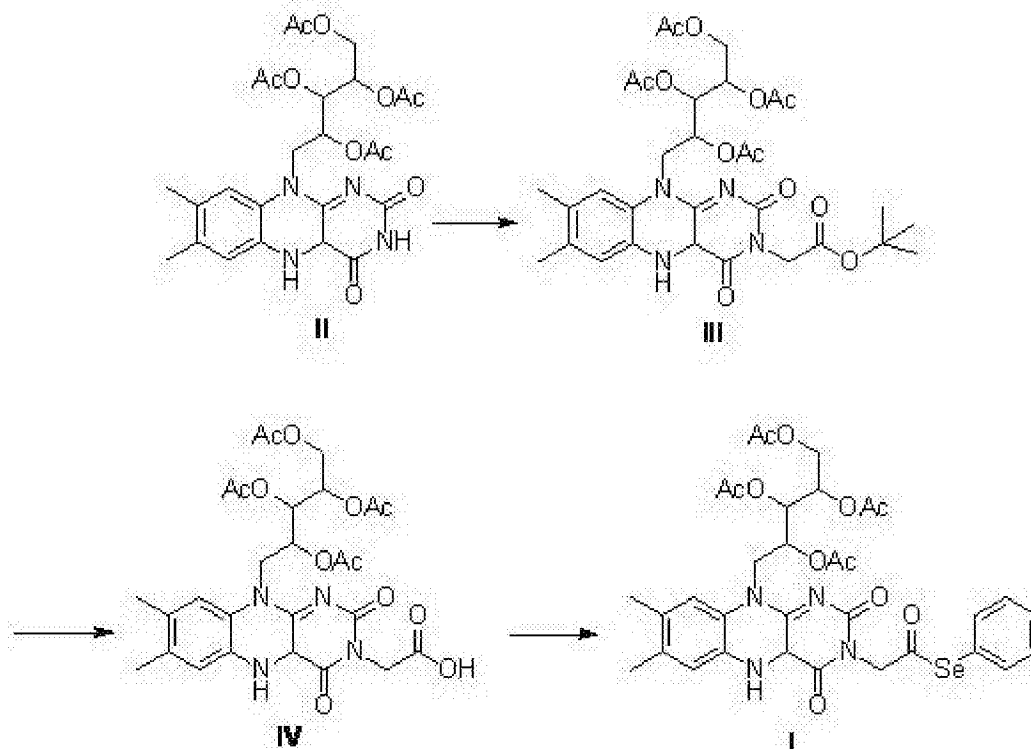


- (i) 使式II化合物转变为化合物III，
(ii) 使式III化合物水解得到化合物IV；和
(iii) 使式IV化合物与苯硒卤化物反应得到式I化合物。

[0012] 在本发明的制备方法中，优选地在步骤(i)中使式II化合物与2-溴乙酸叔丁酯反应得到化合物III。

[0013] 在一个特别优选的实施方案中，采用以下方法制备式I化合物：先将核黄素与醋酐/吡啶混合液反应得到化合物I，即2',3',4',5'-四乙酰基-核黄素，再与2-溴乙酸叔丁酯反应得到化合物II 即2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-叔丁氧乙酰基核黄素；核黄素与醋酐的摩尔比为1:1~4，反应温度为0~50℃，反应时间为24小时；2',3',4',5'-四乙酰基-核黄素与2-溴乙酸叔丁酯的摩尔比1:1~2，反应温度为0~40℃，反应时间为10~20小时；继而化合物II与三氟乙酸在二氯甲烷溶剂下反应制得化合物III 即2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸；化合物II与三氟乙酸的摩尔比为1:2~5，反应温度为0~50℃，反应时间为5~10小时；化合物III在二氯甲烷溶剂中与苯硒氯和三丁基磷反应制得化合物IV，化合物III 与苯硒氯的摩尔比为1: 1.2~2.5，化合物III与三丁基磷的摩尔比为1: 1~4，反应温度为-15℃~0℃，反应时间为0.5~2 小时。

[0014] 反应式如下：



本发明的制备方法简单、产率较高,而且能容易地制备2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸苯硒酯。

[0015] 在本发明的另一个方面,提供了包含本发明式I化合物或其可药用盐和任意的可药用赋形剂和/或载体的药物组合物。在本发明的药物组合物中,除了本发明的式I化合物或其可药用盐外,还可以另外包含其他药物活性成分。本发明的药物组合物可以通过常规技术制备,例如在Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第19版,1995中所描述的方法,其通过引用并入本文。所述组合物可以以常规形式出现,例如胶囊、片剂、气雾剂、溶液剂、混悬剂或局部施用形式。

[0016] 典型的组合物包含本发明化合物和可药用赋形剂或载体。例如,活性化合物通常与载体混合,或者被载体稀释,或者被密封在可以为安瓿、胶囊、小药囊(sachet)、纸或其它容器形式的载体内。当将活性化合物与载体混合时,或者当载体充当稀释剂时,所述载体可以为充当活性化合物的载体、赋形剂或介质的固体、半固体或液体材料。所述活性化合物可以吸附在颗粒状固体载体上(例如容纳在小药囊中)。合适的载体的一些实例为水、盐溶液、醇、聚乙二醇、聚羟基乙氧基化蓖麻油、花生油、橄榄油、明胶、乳糖、白土、蔗糖、糊精、碳酸镁、糖、环糊精、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、明胶、琼脂、果胶、阿拉伯胶、硬脂酸或纤维素的低级烷基醚、硅酸、脂肪酸、脂肪酸胺、脂肪酸甘油单酯和甘油二酯、季戊四醇脂肪酸酯、聚氧乙烯、羟甲基纤维素和聚乙烯吡咯烷酮。类似地,所述载体或稀释剂可以包括任何本领域已知的持续释放材料,例如单独的单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯或者其与蜡的混合物。

[0017] 所述制剂可以与不与所述活性化合物发生有害反应的辅助剂混合。这些添加剂可以包括润湿剂、乳化剂和助悬剂、影响渗透压的盐、缓冲剂和/或着色物质、防腐剂、甜味剂或调味剂。如果需要,还可以对所述组合物进行灭菌。

[0018] 施用途径可以是本发明活性化合物有效地转运到适当的或期望的作用部位的

任何途径,例如口服、经鼻、肺部、口含、皮下、皮内、透皮或肠胃外途径,例如直肠、贮库(depot)、皮下、静脉内、尿道内、肌内、鼻内、眼用溶液或软膏剂的途径,口服途径是优选的。

[0019] 如果使用固体载体用于口服施用,则该制剂可以是压片的,以粉剂或小丸形式置于硬明胶胶囊中,或者其可以是糖锭(troche)或锭剂的形式。如果使用液体载体,则所述制剂可以是糖浆剂、乳剂、软明胶胶囊或无菌可注射液体的形式,例如水性或非水性液体混悬剂或溶液剂。

[0020] 可注射的剂型通常包括水性混悬剂或油性混悬剂,其可以使用合适的分散剂或润湿剂和助悬剂来制备。可注射的形式可以是在溶液相中或者是用溶剂或稀释剂制备的混悬剂的形式。可接受的溶剂或载体包括无菌水、林格溶液或等渗盐水溶液。或者,可以应用无菌油作为溶剂或助悬剂。优选地,所述油或脂肪酸是不挥发性的,包括天然油或合成油、脂肪酸、甘油单酯、甘油二酯或甘油三酯。

[0021] 对于注射而言,所述制剂还可以是适于用上述的合适溶液重构的粉末。这些的实例包括但不限于冷冻干燥的、旋转干燥的或喷雾干燥的粉末,无定形粉末、颗粒、沉淀物或微粒。对于注射剂而言,所述制剂可以任选地包含稳定剂、pH调节剂、表面活性剂、生物利用度调节剂和这些试剂的组合。可以将所述化合物配制为用于通过注射进行胃肠外施用,例如通过推注或连续输注。用于注射的单位剂型可以在安瓿中或多剂量容器中。

[0022] 可以将本发明的制剂设计成在通过本领域熟知的方法施用至患者后能提供活性成分的快速、持续或延迟释放。因此,还可以将所述制剂配制为用于控释释放或缓慢释放。

[0023] 本发明的化合物在宽的剂量范围都是有效的。例如,在成年人的治疗中,可以使用每天约0.05至约5000 mg、优选约1至约2000 mg、更优选约2至约2000 mg的剂量。典型的剂量为每天约10 mg至约1000 mg。在选择患者治疗方案时,其可常常须从较高的剂量开始,并且当病症得到控制时减少剂量。精确的剂量将取决于化合物的活性、施用方式、期望的治疗、施用的形式、待治疗的对象和待治疗对象的体重、及主管医师或兽医的偏好和经验。

[0024] 通常,将本发明化合物分配在单位剂型中,其每单位剂量包含约0.05 mg至约1000 mg活性成分和可药用载体。

[0025] 通常,适于口服、经鼻、肺部或透皮施用的剂型包括约125 μ g至约1250 mg、优选约250 μ g至约500 mg、更优选约2.5 mg到约250 mg的与可药用载体或稀释剂混合的所述化合物。

[0026] 剂型可以是每日一次、或每日一次以上例如每日两次或每日三次施用。或者,剂型可以少于每日一次的频率施用,例如每隔一天或每周,如果开处方的医师认为合适的话。

[0027] 药物组合物可以片剂、胶囊、粉剂、颗粒剂、锭剂、液体或胶状物形式。供口服的片剂和胶囊可以适于单位剂量用药的形式,并且可以含常规的赋形剂,这些例子有:结合剂如糖浆、阿拉伯树胶、凝胶、山梨醇、黄著胶、聚乙烯吡咯烷酮(PVP);填料如乳糖、糖类、玉米粉、磷酸钙、山梨醇或甘氨酸;片剂润滑剂如硬脂酸镁、二氧化硅、滑石、聚乙二醇或二氧化硅;崩解剂如马铃薯淀粉;可接受的润滑剂如月桂基硫酸钠。片剂可按照已知的常规制药实践中的方法进行包衣。口服液体制剂可以使水状或油状悬浮液、溶液、乳剂、糖浆或酞剂,也可制成一种干物质,在使用之前再用水或其它合适的载体重新调制。这些液体制剂可含有常规的添加剂,例如悬浮剂(如:山梨醇、糖浆、甲基纤维素、葡萄糖浆、明胶、经氢化的食用油脂)。乳化剂(如卵磷脂,山梨醇单油酸盐或阿拉伯树胶),非水相载体(包括食用油如杏仁

油、精馏的椰子油、油脂如甘油、丙二醇或乙醇),防腐剂(如甲基或丙基对羟基苯甲酸或山梨酸),如果需要也可含有常规的风味剂或着色剂。

[0028] 剂量可随用药方法和剂型,以及年龄、体重,病人的状态和敏感性不同而变化。在口服用药的情况下,有效的日剂量范围,例如,可从20mg至1g。单剂量单位含2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸苯硒酯及其药物学上可接受的盐的量为20mg至200mg,可方便地用来符合日剂量的需要。使用的剂量和剂量单位可超出上述范围。

[0029] 本发明药物组合中活性物质的百分比是可变的,因为必须使药物调剂制成一定合适比例的剂量,以获得理想的疗效。总之,本发明的药物制剂经口服或注射给药应按每70kg体重每天1至15毫克活性物质。以下的实施例是为了说明本发明某些方面的目的,在任何方面都不应被认为是限制本发明的范围。

实施例

[0030] 制备实施例

实施例1: 2',3',4',5'-四乙酰基-核黄素(化合物II)的合成

在三口烧瓶中加入核黄素(5.0g, 13mmol),无水醋酐40ml和吡啶10 ml,加热至50°C,通入氩气保护,搅拌24小时后,加入氯化铵饱和溶液和乙酸乙酯,分层后水相用乙酸乙酯萃取(3×60ml),收集有机相,用无水硫酸镁干燥,抽滤,减压蒸馏得粗产物,柱层析(流动相:乙酸乙酯:石油醚 = 5:1(V:V))得黄色粉末状固体(化合物II)6.10g,产率 86%。

[0031] 核磁共振 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.11 (br s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 5.59 (br d, $J = 9$ Hz, 1H), 5.41-5.39 (m, 1H), 5.34-5.31 (m, 1H), 4.85 (br s, 2H), 4.36 (dd, $J_1=12$ Hz; $J_2=3$ Hz, 1H), 4.18(dd, $J_1=12$ Hz; $J_2=6$ Hz, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.14(s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.70(br s, 3H) .

HRMS [ESI]: 计算值($\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_{10}$)⁺, 545.1884; 实测值:545.1886.

实施例2:2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-叔丁氧乙酰基核黄素(化合物III)的合成

在三口烧瓶中加入5ml无水DMF,依次加入化合物II(544 mg,1.0 mmol),碳酸钾(166mg,1.2mmol),催化量碘化钾,在氩气保护下搅拌30min,然后缓慢滴加溶有2-溴乙酸叔丁酯(1 mL, 6.9 mmol)的无水DMF10mL,升温至40°C避光反应20h。反应完全后,用二氯甲烷萃取(3×20ml),收集有机相,依次用饱和碳酸氢钠(10mL),水(10mL),饱和食盐水(10mL)洗涤,有机相加入无水硫酸镁干燥,抽滤减压蒸馏得粗产物,柱层析(流动相:乙酸乙酯:二氯甲烷 = 1:1(V:V))得黄色粉末状固体(化合物III)0.52g,产率 79%。

[0032] 核磁共振 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.01 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 5.60 (d, $J=9$ Hz, 1H), 5.42-5.33(m, 2H), 4.83 (br s, 2H), 4.68 (s, 2H), 4.39 (dd, $J_1 = 12$ Hz; $J_2 = 3$ Hz, 1H), 4.20 (dd, $J_1=12$ Hz; $J_2=6$ Hz, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.70 (s, 3H), 1.41 (br s, 9H) .

HRMS [ESI]:计算值($\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_{12}+\text{Na}$)⁺, 681.2384; 实测值: 681.2386

实施例3:2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸(化合物IV)的合成

在100ml三口烧瓶中加入化合物III(200mg, 0.3 mmol),无水二氯甲烷1ml,通入氩气

保护冷却至0℃,加入三氟乙酸0.3ml,升温至50℃搅拌5h。反应结束后将反应溶液倒入冰水中,用饱和碳酸氢钠溶液调节pH至5,加入二氯甲烷萃取,收集有机相用饱和食盐水洗,然后用水洗,收集有机相用无水硫酸镁干燥,抽滤,真空干燥,蒸干柱层析(乙酸乙酯:乙醇=1:1(V:V))得到淡黄色固体(化合物IV)120mg,产率:66%。

[0033] 核磁共振¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ: 7.88 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 5.69-5.64 (m, 1H), 5.54 (t, *J* = 6 Hz, 1H), 5.51-4.47 (m, 1H), 5.10 (br s, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.53 (dd, *J*₁=12 Hz; *J*₂ = 3 Hz, 1H), 4.39 (dd, *J*₁ = 12 Hz; *J*₂ = 6 Hz, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.71 (s, 3H) .

HRMS [ESI]: 计算值(C₂₇H₃₀N₄O₁₂)⁺: 603.1939; 实测值: 603.1936

实施例4:2',3',4',5'-四乙酰基-N(3)-核黄素乙酸苯硒酯(化合物I)的合成

在25ml双口烧瓶中加入苯硒氯(76.8 mg,0.4 mmol)和无水二氯甲烷20ml,冰盐浴冷却至-15℃搅拌,依次加入三丁基磷(125.8 mg,0.48 mmol),化合物IV(100 mg,0.16 mmol),通入高纯氩气保护,保持-15℃搅拌反应2.0小时,TLC监测反应完全,减压蒸馏除去溶剂,硅胶柱层析分离,用乙酸乙酯:石油醚 = 1:20(V:V)作为流动相,得黄色固体(化合物I)223 mg,产率 75%。

[0034] 核磁共振¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.88 (s,1H), 7.72-7.64 (m, 5H), 7.33 (s, 1H), 5.71-5.68 (m, 1H), 5.43 (br t, *J*=6 Hz, 1H), 5.42-5.24 (m, 1H), 5.00 (br s, 2H), 4.43 (s, 2H), 4.38 (dd, *J*₁=12 Hz; *J*₂=3 Hz, 1H), 4.33 (dd, *J*₁=12; *J*₂=6.4 Hz, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.66 (s, 3H) .

HRMS [ESI]: 计算值(C₃₃H₃₆N₄O₁₁Se+Na)⁺: 767.1546; 实测值: 767.1548

体外药理学

实验例 1: 细胞毒活性实验

取对数期的细胞每孔 3×10^4 接种于96孔板上,每孔加入200μL的DMEM培养基,12h 后,弃上清液,然后在复孔中加入实施例4制备的化合物I,按空白组和加药组(浓度分别为0, 2.5, 5, 10, 20, 30和50μM),培养24h 后,弃上清液。加入含有MTT的溶液50μL培养4h,MTT的溶液由MTT(噻唑蓝,碧云天试剂公司)溶解在磷酸缓冲液(PBS,pH=7.3)中制成,MTT浓度为0.5mg/mL,再向各孔分别加入100μL二甲基亚砷(DMSO),振荡1h,于酶标仪上570nm 处测OD(光密度)值。将各株肿瘤细胞系的梯度加药剂量与其对应的增殖抑制率进行拟合计算,得到非线性回归方程,IC₅₀值指肿瘤细胞系增殖抑制率为50% 时的加药剂量。其中,增殖抑制率%=(空白组OD值- 给药组OD值)/空白组OD值。)结果显示,加药后,肿瘤细胞活性明显下降。本实验分别对人结肠癌细胞HCT8、SW480、HT29进行细胞毒活性的检测,上述细胞株均购置于ATCC,具体的结果如表1所示。

[0035] 表 1

化合物	IC ₅₀ (μg/mg)		
	HTC8	SW480	HT29
I	97.62	267.65	329.36

实验结果显示,实施例4 制备的的化合物I对不同的肿瘤细胞具有细胞毒活性,尤其对HTC8细胞株具有良好的细胞毒活性,能够起到较好的癌症预防作用。

[0036]

实验例 2: 醌还原酶诱导实验

取对数期的小鼠肝癌细胞(Hepa1c1c7,购置于ATCC),按每孔 3×10^4 接种于96孔板上,每孔加入200μL的DMEM 培养基,12h 后,弃上清液,然后在复孔中加入实施例4 制备的化合物I, 按对照组和加药组培养24h 后,弃上清液。加入4'-溴黄酮(0.106mg),为阳性对照加药组;加入二甲基亚砷(0.106mg),为阴性对照组;空白组为不加药的200μL的DMEM培养基。培养24h后,弃上清液。分别向化合物I加药组、阳性对照加药组、阴性对照组和空白组中加入洋地黄皂苷使细胞裂解,再加入含有MTT的溶液200μL培养5min,MTT的溶液由MTT(噻唑蓝, 碧云天试剂公司) 溶解在磷酸缓冲液(PBS, pH=7.3)中形成,MTT浓度为0.5mg/mL,于酶标仪上550 nm处测IR值。

[0037] 诱导倍数;IR=[(加药组OD值-空白组OD值)/(阴性对照组OD值-空白组OD值)]/(1-增殖抑制率%);其中,增殖抑制率%=(空白组OD值-加药组OD值)/空白组OD值。结果显示,在实施例4制备的化合物I的给药浓度下IR值分别为2.52(阳性对照药4'-溴黄酮的IR值为2.21),结果显示化合物能够有效诱导醌还原酶的表达,可以认为在肿瘤发生的起始阶段具有癌症预防作用。具体结果如表2所示。

[0038] 表 2

化合物	筛选浓度(μM)	醌还原酶诱导活性	细胞存活率(%)
		CD (μg/mL) ± SD (Hepa 1c1c7)	
I	20	2.52±0.04	86.9±5.0
空白组	20	1.08±0.07	102±3.2
阴性对照组	20	< 1	82.4±6.7
4'-溴黄酮 ^a	20	2.21±0.05	101.4±3.6

^a 4'-溴黄酮为阳性对照

实验结果显示,实施例4制备的化合物I的IR值大于阳性对照药4'-溴黄酮,表明具有癌症预防作用的化合物I具有良好的醌还原酶诱导活性,在肿瘤起始阶段具有较好的癌症预防作用。