

查尔酮类天然产物 2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3',5'-二甲基查耳酮的研究进展

李 旭,苏晓彤,王文君,莫镇涛,肖 璐,李文娜
(遵义医科大学珠海校区,珠海 519090)

[摘要] 2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3',5'-二甲基查耳酮(DMC)是一种来源于多种植物的查尔酮类天然产物,具有良好的药理活性。本文从理化性质、来源、提取与检测、化学合成、药理活性等方面对 DMC 的国内外研究进展进行综述,为 DMC 的前药设计和开发提供参考依据。

[关键词] 2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3',5'-二甲基查耳酮;生物活性;炎症反应;药理作用;靶基因

[中图分类号] R961 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)07-0703-09

Progress in research of chalcone-type natural product 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone

LI Xu, SU Xiao-tong, WANG Wen-jun, MO Zhen-tao, XIAO Lu, LI Wen-na
(Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai 519090, China)

[Abstract] 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone (DMC) is a natural product of chalcone type isolated from diverse plants with a variety of great pharmacological properties. This article reviews the research progress from physicochemical properties, sources, extraction and detection, chemical synthesis, and pharmacological activities, in order to provide a theoretical basis for the development or prodrug design of DMC.

[Key words] 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone; biological activity; inflammatory response; pharmacological action; target gene

从天然产物中寻找并分离出新活性单体已成为发现新药的重要来源。查尔酮是一种含有 α, β 双键和不饱和羰基结构的开链黄酮类化合物^[1]。这类化合物是许多天然黄酮类和异黄酮类化合物的合成前体,也是天然产物中常见的次级代谢产物^[2]。2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3',5'-二甲基查耳酮(2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone, DMC)是其中最具代表性的查尔酮类化合物,具有抗糖尿病、抗肿瘤和保肝等多种药理功效^[3]。但因 DMC

在天然产物中含量低、提取工艺落后且溶解性不佳,导致其药理活性和大规模临床试验研究受限。因此本研究将从理化性质、来源、提取与检测、化学合成、药理活性等方面对 DMC 的国内外研究进展进行综述,为 DMC 的前药设计和开发提供理论依据。

1 DMC 的理化性质

DMC 分子式为 $C_{18}H_{18}O_4$, 相对分子质量为 298.33, 熔点为 124.2 °C ~ 125.6 °C (二氯甲烷/正己烷)^[4], PubChem CID (identifier from database of chemical) 为 10424762。橙黄色针状晶体,微溶于水,易溶于甲醇、乙醇。紫外光谱在 338 nm 处有主要吸收带,在 225 nm 处有次要吸收带^[5]。DMC 的化学结构由 2 个苯环、1 个羰基碳和 1 个 α, β 双键构成基本骨架。其中 2 个羟基、2 个甲基和 1 个甲氧基连接在同一个苯环上(见图 1)。DMC 的结构中具有羰基结构 ($C=O, Ar-COCH=CH-Ar$), 能发生颜色反应^[6]。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81760697);贵州省教育厅-基础药理教育部重点实验室(遵义医科大学)开放课题资助项目(黔教合 K1 字[2020]253)

[作者简介] 李旭,男,硕士在读,研究方向:心血管药理学与新药研发。E-mail:1961123364@qq.com。

[通讯作者] 李文娜,女,教授,硕士生导师,研究方向:心血管药理学与新药研发。E-mail:lielizab@126.com。

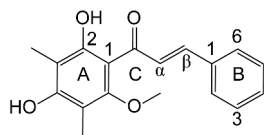


图1 DMC的化学结构

2 DMC的来源

1977年 Malterud 等^[7]在香杨梅 (*Myrica gale*) 叶中首次分离出 DMC,目前自然界已发现 9 种含有 DMC 的植物(见表 1)。

表1 含有 DMC 的植物种属及部位

| 序号 | 科属 | 植物 | 拉丁名 | 部位 |
|----|------|---------|------------------------------------|--------------------|
| 1 | 桃金娘科 | 水翁/水翁蒲桃 | <i>Syzygium nervosum</i> | 花蕾 ^[8] |
| 2 | 桃金娘科 | 钟花蒲桃 | <i>Syzygium campanulatum</i> Korth | 叶子 ^[9] |
| 3 | 桃金娘科 | 水莲雾 | <i>Eugenia aquea</i> Burm f | 叶子 ^[10] |
| 4 | 桃金娘科 | — | <i>Campomanesia reitziana</i> | 果实 ^[11] |
| 5 | 玉蕊科 | 炮弹树 | <i>Couroupita guianensis</i> | 叶子 ^[12] |
| 6 | 豆科 | — | <i>Psoralea polydenius</i> | 叶子 ^[13] |
| 7 | 杨梅科 | 香杨梅 | <i>Myrica gale</i> | 叶子 ^[7] |
| 8 | 杨梅科 | 锯齿杨梅 | <i>Myrica serrata</i> | 叶子 ^[14] |
| 9 | 金星蕨科 | 华南毛蕨 | <i>Cyclosorus parasiticus</i> | 叶子 ^[15] |

3 水翁花蕾中 DMC 的提取工艺

与其他植物相比,因在桃金娘科水翁的花蕾中含量较高、提取成本低,所以多从水翁花蕾中提取 DMC^[3]。提取方法主要包括有机溶剂萃取法、超声波法和微波辅助法。

3.1 有机溶剂萃取法

早期从水翁花蕾中提取 DMC 的工艺主要参考 Ye 等^[16]的提取方法进行:70% 甲醇水溶液提取 4.0 kg 的水翁花粉末,减压浓缩后,用一定比例的石油醚和乙酸乙酯萃取得粗提物,然后联用硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离及甲醇重结晶得高纯度 DMC 约 0.604 g,得率约为 0.015%。该操作流程繁琐、试剂消耗大、不经济实用,因此不适合大规模提取。

刘文君等^[17]对提取工艺优化:使用 70% 乙醇水溶液萃取 500 g 的水翁花粉末,减压浓缩后得粗提物;然后用乙酸乙酯萃取并经减压浓缩得浸膏;乙醇溶解浸膏后用石油醚萃取,取上清液减压浓缩得干膏;干膏经制备型液相色谱法分离和无水乙醇重结晶得高纯度 DMC 1.21 g,得率约为 0.242% ;该法虽能大幅提升得率,但操作流程繁琐、试剂消耗大,仍然不适合大规模提取。

3.2 超声辅助萃取法

近期尹田鹏等^[18]优化了一种超声辅助萃取水翁花蕾中 DMC 的提取工艺:在料液比为 1 g 生药:93 mL 70% 乙醇水溶液,室温超声 30 min(功率为 100 W)的提取条件下获得水翁花蕾粗提物;然后以一定比

例的乙酸乙酯和石油醚洗脱粗提物,经硅胶柱色谱分离和甲醇重结晶得 400 mg 的高纯度 DMC,得率约为 0.800% ;该方案是目前从水翁花中提取 DMC 得率最高的方法,且溶剂和能源消耗减少、提取流程简便,适用于大规模提取。

3.3 微波辅助萃取法

近期 Choommongkol 等^[8]开发了一种微波辅助萃取水翁花蕾中 DMC 的提取工艺:在料液比为 1 g 生药:35 mL 95% 乙醇水溶液,微波时间为 38 min(功率为 350 W)的提取条件下,从水翁花蕾中提取 DMC 的得率为 0.141% ,高于相同条件下的常规热回流法(0.134%)和浸提法(0.123%) ;该方法能大幅缩短提取时间和减少溶剂用量,也可用于大规模提取。

4 纯度检查和含量检测

目前对于 DMC 的纯度检查和含量测定的方法主要以薄层色谱法(TLC)和反向高效液相色谱法(RP-HPLC)为主。

TLC 法^[18]:主要使用石油醚/乙酸乙酯(5:1, v/v)、正己烷/乙酸乙酯(10:1, v/v)、二氯甲烷/甲醇(300:1, v/v)3 种展开剂体系共同对目标产物进行定性检查,目标产物与 DMC 在 3 种展开剂体系上均呈现为一个黄色斑点且比移值(Rf 值)相同,比移值分别为 0.5,0.6 和 0.8,可初步判断为同一物质。

RP-HPLC 法:目前对于 DMC 的含量检测,根据检测条件要求的不同可分为等度洗脱和梯度洗脱法。等度洗脱方法建立相对简便,但对单体纯度要求高、洗脱时间相对较长,且随洗脱时间延长色谱峰

峰形逐渐变宽;而梯度洗脱规避了等度洗脱的缺点,但是洗脱参数及方法的建立和优化较为复杂。

Choommongkol 等^[8]采用反相 HPLC 法测定 DMC 含量,参数如下:Brownlee-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),甲醇和 0.1% 磷酸水溶液为流动相(80:20, v/v)、等度洗脱、流速 1.0 mL·min⁻¹、检测波长 340 nm、柱温 35 °C、进样量 10 μL;DMC 溶液在 0.25 ~ 100 μg·mL⁻¹ 浓度范围内线性良好($R^2 = 0.9999$),检测限(LOD)和定量限(LOQ)分别为 1.56 和 4.74 μg·mL⁻¹。

邱宏聪等^[19]采用反向 HPLC 法测定 DMC 含量,参数如下:Diomonsil-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、乙腈-0.05% 磷酸水溶液为流动相、梯度洗脱、流速 1.0 mL·min⁻¹、检测波长 254 nm、柱温 25 °C、进样量 10 μL;DMC 溶液在 5 ~ 100 μg·mL⁻¹ 浓度范围内线性良好($R^2 = 0.999$),平均加样回收率为 100.26% [相对标准偏差(RSD) = 2.47];同时,邱宏聪等^[19]还使用上述检测方法构建了不同产地、不同批次的水翁花中 DMC 的指纹图谱,为水翁花提供了中药材的质量标准。

5 DMC 的药动学和靶点预测

药动学能反映药物在机体内的动态变化规律,除了可作为药效学和毒理学的研究参考外,也对新药研究与开发、先导化合物的设计和筛选具有指导意义。此外,靶点预测是基于一定的计算方法对化合物的潜在作用靶点或代谢通路进行预测,能减

少研究成本的投入与消耗,目前 DMC 尚无相关的报道,因此我们采用 Swiss ADME^[20] 和 Swiss Target Prediction^[21] 数据库对其药动学和作用靶点进行虚拟计算,为其药物研发和作用机制的研究提供理论参考。

通过 Swiss ADME 数据库计算 DMC 的药动学(见表 2),其中 DMC 的结构符合 Lipinski 类药五原则,具有成为药物的潜质。

表 2 DMC 的药动学预测(主要参数)

| 序号 | 参数 | 预测结果 |
|----|-------------------------------------|--------------------------|
| 1 | Lipinski 类药五原则 | 满足 |
| 2 | 氢键受体(H-bond acceptors) | 4 个 |
| 3 | 氢键供体(H-bond donors) | 2 个 |
| 4 | 油水分配系数(Log P) | 3.35 |
| 5 | 溶解度(Log S) | -4.7(微溶) |
| 6 | 拓扑极性表面积(TPSA) | 66.76 Å ² |
| 7 | 可旋转键(rotatable bonds) | 4 个 |
| 8 | 经皮渗透(Log Kp) | -5.12 cm·s ⁻¹ |
| 9 | 合成难度(synthetic accessibility score) | 2.85(容易) |
| 10 | 胃肠道吸收(gastrointestinal absorption) | 高 |
| 11 | 血脑屏障(BBB) | 是 |
| 12 | 生物利用度(bioavailability) | 0.55 |

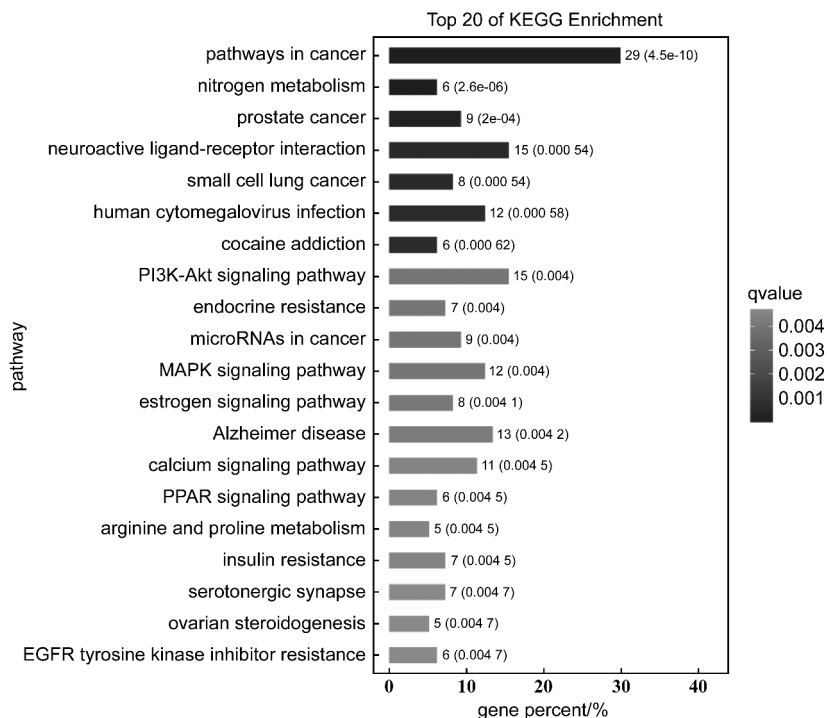
通过 Swiss Target Prediction 数据库预测 DMC 的潜在作用靶点(见表 3),其中 DMC 的潜在作用靶点多集中在炎症反应相关靶点上。

表 3 DMC 的潜在靶点预测(得分高的前 10 个靶点)

| 序号 | 靶点名 | 基因名 | 靶点类别 |
|----|---|------------|-----------|
| 1 | ATP 结合盒亚家族 G 蛋白 2(ATP-binding cassette sub-family G member 2) | ABCG2 | 原发性主动转运 |
| 2 | 花生四烯酸 5-脂氧合酶(arachidonate 5-lipoxygenase) | ALOX5 | 氧化还原酶 |
| 3 | 电压门控钾通道(voltage-gated potassium channel subunit Kv1.3) | KCNA3 | 电压门控性离子通道 |
| 4 | 3-磷酸肌醇依赖蛋白激酶(3-phosphoinositide dependent protein kinase-1) | PDPK1 | 激酶 |
| 5 | 醛糖还原酶(aldose reductase) | AKR1B1 | 酶 |
| 6 | β 淀粉样蛋白 A4(beta amyloid A4 protein) | APP | 细胞膜受体 |
| 7 | 单胺氧化酶 B(monoamine oxidase B) | MAOB | 氧化还原酶 |
| 8 | P-糖蛋白 1(P-glycoprotein 1) | ABCB1 | 原发性主动转运 |
| 9 | 微管蛋白 β1(tubulin beta-1 chain) | TUBB1 | 结构蛋白 |
| 10 | 诱导型一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, inducible) | NOS2(iNOS) | 酶 |

经 KEGG 通路分析,发现 DMC 的潜在靶点多集中在肿瘤通路(pathways in cancer)、神经活动配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)、磷酸肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B(PI3K-AKT)和

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等代谢通路中(见图 2),上述通路调控神经系统、肿瘤、炎症和能量代谢相关,其中 DMC 调控 PI3K-AKT 和 MAPK 代谢通路已有相关报道^[22-23]。



通过基迪奥生物 (<https://www.genedenovo.com/>) 的 KEGG 工具进行分析和可视化; $qvalue$ (校正的 P 值) ≤ 0.05 时, 认为此 KEGG 通路存在显著富集情况; $gene\ percent$: 该通路中 DMC 潜在作用靶点占该通路所有靶点的比例

图 2 DMC 的 KEGG 代谢通路预测前 20 条代谢通路

6 DMC 及其类似物的化学合成和生物转化

天然产物中 DMC 含量低、提取分离困难, 不足以进行大量的药理活性研究和临床试验, 而通过生物转化或化学合成获得单体是解决这一困境的主要途径, 目前已取得阶段性突破。

6.1 DMC 的生物转化

2013 年, Wang 等^[24] 通过微生物发酵的方法从水翁的芽中分离出一种新的内生 DMC 生产真菌 DMC1106, 能将 DMC 的产量提高到 $(100.24 \pm 1.60) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 约为初始水平的 7 倍。但该野生菌株的发酵滴度仍处于较低水平, 进一步优化发酵条件和借助遗传工具育种将有助于提升产量。

6.2 DMC 及其衍生物的化学合成

6.2.1 半合成 DMC 的 A 环结构中具有 2 个芳羟基, 其中 C-2'-OH 与外接基团藕联不利于化学结构修饰, 因为它与相邻的羰基容易形成分子内氢键, 导致反应活性降低。与 C-2'-OH 相比, 外接基团与 C-4'-OH 的反应活性相对要高得多, 能更方便地藕联外接基团形成衍生物。

Wang 等^[25] 以 DMC 为原料加入丙酮和 K_2CO_3 , 与 1,4-二溴丁烷反应获得溴化丁基取代的合成中间体 (A), 产率为 59%。然后将中间体加入 K_2CO_3 和 CHCl_3 中, 与含不同仲胺的取代基进行反应, 获得一系列叔胺基衍生物, 产率为 40% ~ 88% (见图 3)。活性研究表明, 大部分叔胺基衍生物与 DMC 相比, 水溶性、抗肿瘤活性和对肿瘤的选择性提高。

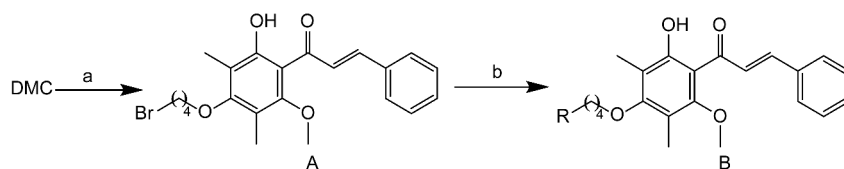


图 3 Wang 等^[25] 提出的 DMC 衍生物化学合成路线

此外, Khamto 等^[26]在弱碱性条件下将各种酰化剂、烷基化剂和磺酰化剂与 DMC 的 C-4'-OH 进行亲核取代反应, 获得一系列 4'-O-单取代-DMC, 7-O-

酰化-4-羟基 DMC 和 2',4'-O-二取代-DMC 衍生物(见图 4), 活性研究表明大多数衍生物表现出更高的细胞毒性和对癌细胞系的选择性。

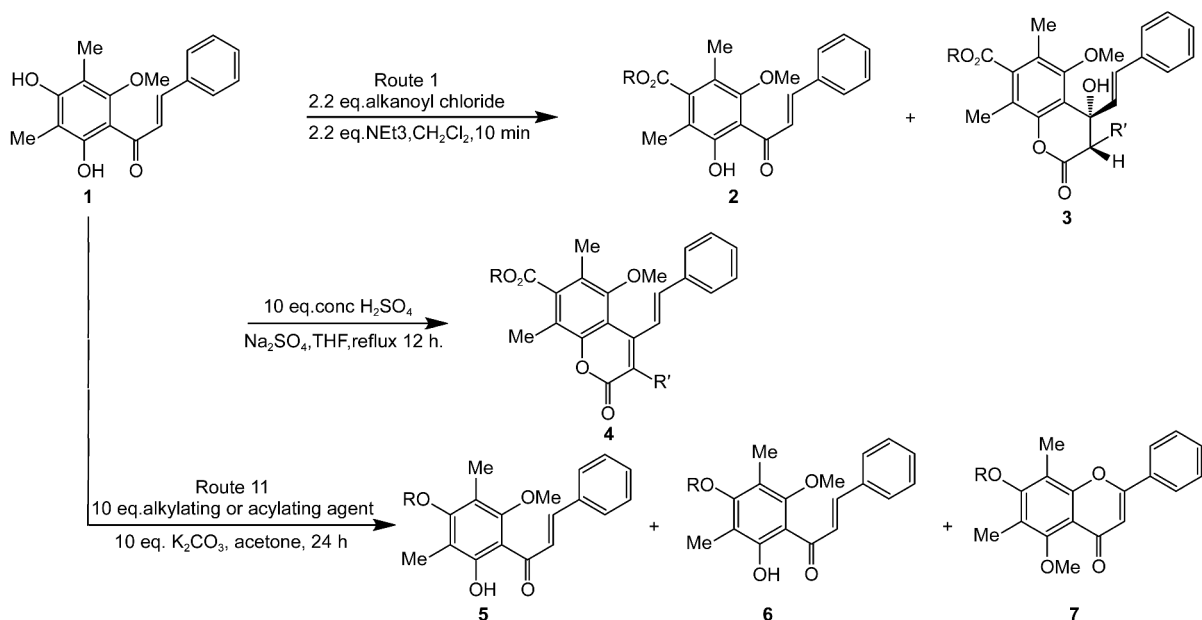


图 4 Khamto 等^[26]提出的 DMC 衍生物化学合成路线

许多带有苯并呋喃[3,2-B]吡啶结构的杂环化合物被发现具有抗过敏、抗炎、抗菌和镇痛等活性^[27]。DMC 结构中的 C-2'-OH 能在一定条件下发生羟汞化脱汞反应生成苯并呋喃结构。刘文君等^[17]受此启发, 将 DMC 与醋酸汞在一定条件下反应合成一种产率高达 86.5% 的新橙酮, (Z)-6-羟基-

4-甲氧基-5,7-二甲基橙酮(见图 5), 其抗炎活性极大增强, 对脂多糖(LPS)诱导的巨噬细胞释放前列腺素 E2(PGE₂)的半数最大抑制浓度(IC₅₀) = 6.12 nmol·L⁻¹, 其 IC₅₀远小于阳性对照药布洛芬(IC₅₀ = 68.66 nmol·L⁻¹)。

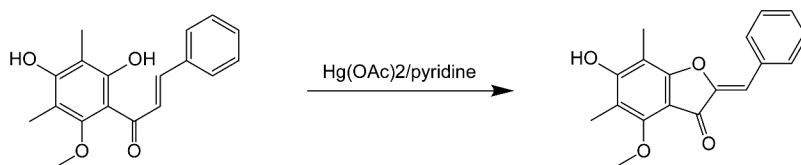
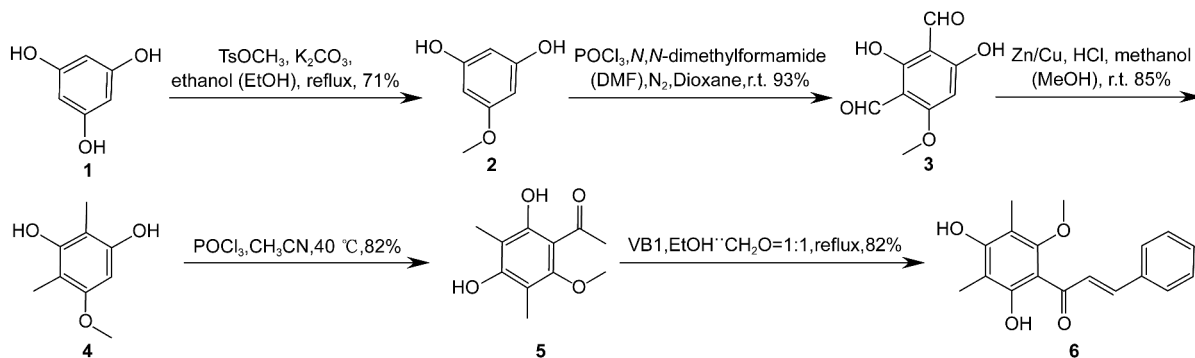


图 5 刘文君等^[17]提出的 DMC 衍生物化学合成路线

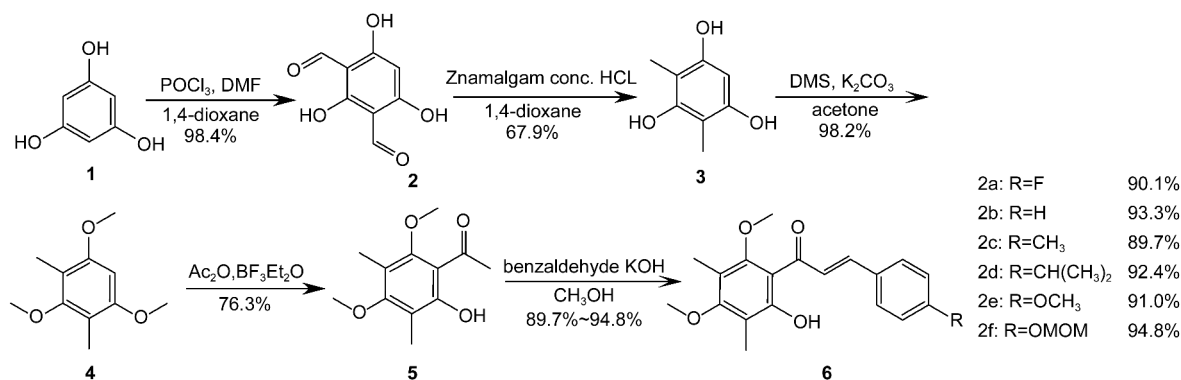
6.2.2 全合成 由化学结构类似的黄酮、黄烷酮糖苷或查耳酮化学合成相应的二氢查尔酮是不经济的, 因为它至少需要 2 步有效反应、分离相应的中间体产物并在高压下进行复杂的加氢过程^[28]。因此, 探索大规模全合成 DMC 及其衍生物操作相对简单、无毒且产率较高的合成方案具有经济且实用的意义。

Yin 等^[29]以间苯三酚为原料, 经 4 步有效反应合成 DMC 的关键中间体(5), 反应产率约为 0.46%。然后在酒精和水的混合溶剂中, 中间体经盐酸硫胺(thiamine hydrochloride, VB1)催化发生缩合反应一步合成 DMC 单体, 产率为 82%(见图 6)。该方案采用 VB1 作为催化剂, 是一种高效无毒的新方法。

图6 Yin等^[29]提出的DMC全合成路线

近期, Lee等^[30]同样使用间苯三酚为原料, 通过不同的4步有效反应合成DMC的关键中间体(5), 反应产率约为50.1% (见图7)。这种方法的优点

是可以在44.9%~47.5%的反应产率下以间苯三酚为前体构建各种DMC衍生物。

图7 Lee等^[30]提出的DMC衍生物化学合成路线

7 DMC的药理活性

目前已发现DMC具有保护神经细胞、抗肿瘤、抗糖尿病、抗肥胖和保护肝脏等多种活性, 但因提取工艺和溶解性不佳等因素制约, 目前DMC的药理活性研究多集中在体外实验。

7.1 保护神经细胞

Su等^[31]研究发现, DMC以剂量依赖性的方式增加H₂O₂诱导的PC12细胞存活率和降低细胞凋亡率, 作用机制可能为: ①通过抑制乳酸脱氢酶的释放、清除形成的活性氧(ROS)、降低半胱氨酸蛋白酶3(Caspase-3)活性、减轻线粒体膜电位下降进而预防细胞膜损伤。②通过增加超氧化物歧化酶1(SOD)和谷胱甘肽(GSH)等抗氧化酶的活性和含量, 降低氧化应激产物丙二醛(MDA)的含量, 下调细胞内脂质过氧化物的产生进而抗氧化应激保护神经细胞。

7.2 肝保护

DMC主要通过抗炎和抗氧化途径对肝脏产生保护作用。Yu等^[32]发现, 在20 mg·kg⁻¹同等剂量下, DMC抗四氯化碳诱导昆明种小鼠急性肝损伤的保护作用优于阳性药物水飞蓟素。Tran等^[33]发现DMC不仅能抑制体外LPS诱导的巨噬细胞促炎介质的表达和产生, 还能降低LPS诱导的小鼠内毒性休克模型的致死率, 减轻肺部和肝脏的损伤。

DMC对肝脏的保护机制为^[32-36]: ①激活核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶-1(HO-1)通路抑制核转录因子κB(NF-κB)和MAPK活化, 减少炎症介质的表达和产生。②抑制NO和PGE₂的产生, 降低炎症肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白介素1β(IL-1β)、白介素6(IL-6)、iNOS和环氧合酶-2(COX-2)的表达, 并抑制NF-κB p65的核转移。③干扰PI3K-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1(PDK1)和磷酸

烯醇式丙酮酸羧激酶 α (PCK α) 通路,降低炎症因子 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 及高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 的表达。④ 抑制 Caspase-3 蛋白的表达,减少细胞凋亡。

7.3 抗肿瘤

研究发现 DMC 能够多靶点、多途径抑制多种实体瘤细胞的增殖和荷瘤小鼠的生长,如胰腺癌、肝癌、结直肠癌、乳腺癌、肺癌等,具有良好的抗肿瘤作用。

7.3.1 抗胰腺癌 Tuan 等^[37] 发现,DMC 浓度依赖性抑制人胰腺癌细胞系如 PANC-1 和 MIA PACA-2 的增殖, IC₅₀ 值分别为 (10.5 \pm 0.8) 和 (12.2 \pm 0.9) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其作用机制是通过激活 Caspase-3/Caspase-9 蛋白水解、增加促凋亡 Bax 蛋白水平、降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达进而促进细胞凋亡。

7.3.2 抗肝癌 DMC 可以抑制肝癌细胞生长,抑制肝癌细胞耐药性,促进细胞凋亡。此外,还发现 DMC 能有效降低人肝癌组织裸鼠移植瘤模型中瘤体的重量^[38]。

DMC 抗肝癌的机制^[22,39-43]: ① 通过线粒体依赖性途径提高 ROS 的产生促进细胞凋亡。② 下调细胞周期素 D1 (cyclin D1) 和周期素依赖性激酶 4 (CDK4) 诱导 G1 细胞周期停滞。③ 抑制 PI3K/AKT 信号通路,增加 p53 水平和抑制 NF- κ B 的核转移,减少炎症。④ 通过抑制原癌基因 *C-myc* 和人端粒酶逆转录酶 (*h TERT*) 基因的表达水平促进细胞凋亡。⑤ 抑制耐药细胞中 Nr2f2 的表达及其核转移下调谷氨酸半胱氨酸连接酶 (GCLC) 催化亚基和谷氨酸半胱氨酸连接酶 (GCLM) 的表达,下调抗氧化酶 GSH 的含量和谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 的活性,提高 ADP/ATP 比率,减少药物外排。⑥ 抑制 Nr2f2/ARE 通路,降低细胞耐药性。⑦ 降低多药耐药关联蛋白 1 (MRP1)、谷胱甘肽转移酶- π (GAT- π) 以及增加 Caspase-3 的表达,从而逆转肝癌细胞的多药耐药性并提高肝癌细胞对 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 和阿霉素 (DOX) 的敏感性。

7.3.3 抗结直肠癌 Memon 等^[6] 研究发现,DMC 剂量依赖性抑制人结肠癌细胞 HT-29 增殖 (IC₅₀ = 12.6 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 但作用机制未知。高贤锡等^[44] 发现,DMC 可能通过影响细胞周期分布和诱导自噬,抑制人结肠直肠癌细胞 HCT116 和 LOVO 的增殖。

7.3.4 抗乳腺癌 Subarnas 等^[5] 发现,DMC 可能通过活化多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 诱导细胞凋亡以及下调 Akt 通路,抑制乳腺癌 MCF-7 细

胞的增殖 (IC₅₀ = 74.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。此外, Li 等^[45] 研究发现,DMC 通过抑制受体酪氨酸蛋白激酶 (erbB-2) 磷酸化,并诱导 Bim 蛋白表达关闭其下游通路,触发乳腺癌细胞凋亡进而抑制乳腺癌 MDA-MB-453 细胞的生长 (IC₅₀ = 24.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

7.3.5 抗肺癌 Hadisaputri 等^[10] 研究发现,DMC 以时间和剂量依赖性的方式激活 Caspase-3/Caspase-9 凋亡蛋白,抑制 A549 肺癌细胞的增殖。

7.3.6 抗宫颈癌 Utama 等^[4] 研究发现,DMC 对 C-33A, HeLa 和 SiHa 这 3 种人宫颈癌细胞系具有抗增殖活性, IC₅₀ 值分别为 (15.76 \pm 1.49), (10.05 \pm 0.22) 和 (18.31 \pm 3.10) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中对 HeLa 细胞抗增殖活性更高。DMC 可能通过促进 DNA 损伤、诱导细胞周期停滞和凋亡,抑制 HeLa 细胞的增殖。

7.3.7 抗白血病 DMC 除抑制上述实体瘤细胞外,还能在不影响 P38 和细胞外信号调节激酶的表达下,抑制 c-Jun N 端激酶表达,增加 IL-2, 调节免疫系统,从而抑制急性 T 细胞白血病细胞系 Jurkat 细胞增殖^[23]。

7.4 抗糖尿病和抗肥胖

DMC 能保护胰岛细胞免受高血糖的毒性作用^[46],降低四氧嘧啶诱发的糖尿病小鼠的血糖水平^[47],改善高脂饮食引起的肥胖小鼠体重增加、葡萄糖耐量异常和肌肉中脂肪酸氧化过度增加^[48]。

DMC 改善肥胖和血糖机制^[46,48-50]: ① 抑制内源性 ROS 产生,改善线粒体膜电位,降低 Caspase-3 的活性。② 激活胰高血糖素样肽-1 (Glucagon-like peptide 1, GLP-1) 受体,促进 GLP-1 分泌。③ 激活胰岛素促进因子-1 (PDX-1)、前胰岛素 (PRE-INS) 和葡萄糖转运蛋白-2 (GLUT-2)-葡萄糖激酶 (GCK) 信号通路,增加胰岛素分泌,拮抗高糖毒性。④ 抑制 iNOS, NO 和单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 的表达和产生,保护细胞内损伤所致的胰岛失能。⑤ 是过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (ppar γ) 和 AMPK 的激活剂,具有抑制脂质异位沉积、调控能量代谢、抗肥胖和降血糖的作用。⑥ 作为胰脂肪酶的竞争性抑制剂和胰腺 α -淀粉酶的非竞争性抑制剂,能与底物结合抑制胰脂肪酶和胰腺 α -淀粉酶的活性,预防和治疗肥胖。

7.5 其他药理活性

7.5.1 治疗胃溃疡 De Oliveira 等^[11] 研究发现,口服 DMC (1 ~ 3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 可预防乙醇/盐酸诱导的

小鼠急性胃溃疡,其作用机制有待进一步研究。

7.5.2 治疗腹泻 Ghayur 等^[51]研究发现,DMC (145.9 ± 72.6) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 通过调节钾/钙离子浓度有效地松弛自发收缩的离体兔空肠平滑肌,具有解痉和钙拮抗剂活性,可治疗腹泻。

7.5.3 抗紫外线 Martinez 等^[12]研究发现,含 37% DMC 的炮弹树树叶提取物能刺激人皮肤成纤维细胞增殖,具有良好的抗氧化和抗紫外线等护肤特性。

7.5.4 抗流感 DMC 为神经氨酸酶的非竞争性抑制剂,显著抑制流感病毒株如 H1N1 和 H9N2 的神经氨酸酶,IC₅₀值分别是(20.45 ± 1.37)和(18.57 ± 1.37) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[52-53]。

7.5.5 抑制胆盐水解酶活性 Li 等^[54]研究发现,DMC (IC₅₀值为 $5.34 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)对胆盐水解酶的活性具有抑制作用。

7.6 DMC 的毒性研究

毒理学研究表明,DMC 对人正常肝细胞 LO-2、人正常胎肺成纤维细胞 HFL-1 以及 ICR 小鼠几乎无毒,IC₅₀值分别为(111.0 ± 4.57)和(152.0 ± 4.83) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,腹腔注射半数致死量(LD₅₀)为 $3800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[38,41]。

8 结语与展望

DMC 具有多种药理作用,且不良反应小。通过虚拟计算发现 DMC 的化学结构符合 Lipinski 类药五原则且生物利用度良好,具有成为药物的潜质。其次,通过靶点和通路预测发现 DMC 可能通过调控多个炎症反应相关靶点和多个代谢通路缓解疾病的发生/发展。

此外,目前 DMC 药理活性研究多停留在细胞水平上,主要原因是天然产物中 DMC 含量低、提取方法繁琐且能源消耗大,因此采用优化提取方案、生物转化或化学合成等方法解决这一困境的主要途径,目前已取得阶段性突破;其次,水溶性较差也影响了 DMC 活性研究,建议通过剂型改造等方法,如制备成自微乳给药系统、包合物、脂质体、微球、纳米粒等,改善 DMC 的溶解性和提高生物利用度。随着药物提取和化学合成等工艺的进步、药物制剂研究水平的提高和药理活性研究的深入,相信 DMC 拥有广阔的应用前景,有望成为治疗多种疾病的候选化合物之一。

[参 考 文 献]

[1] ZHANG EH, WANG RF, GUO SZ, *et al.* An update on antitu-

mor activity of naturally occurring chalcones [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 815621.

- [2] THAPA P, UPADHYAY SP, SUO WZ, *et al.* Chalcone and its analogs: therapeutic and diagnostic applications in Alzheimer's disease[J]. *Bioorg Chem*, 2021, 108: 104681.
- [3] BAILLY C, VERGOTEN G. Mechanistic insights into dimethyl cardamonin-mediated pharmacological effects: a double control of the AMPK-HMGB1 signaling axis [J]. *Life Sci*, 2020, 263: 118601.
- [4] UTAMA K, KHAMTO N, MEEPOWPAN P, *et al.* Effects of 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone from *Syzygium nervosum* seeds on antiproliferative, DNA damage, cell cycle arrest, and apoptosis in human cervical cancer cell lines[J]. *Molecules*, 2022, 27(4): 1154.
- [5] SUBARNAS A, DIANTINI A, ABDULAH R, *et al.* Apoptosis induced in MCF-7 human breast cancer cells by 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone isolated from *Eugenia aqua* Burm f. leaves[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(5): 2303-2306.
- [6] MEMON AH, ISMAIL Z, AISHA AFA, *et al.* Isolation, characterization, crystal structure elucidation, and anticancer study of dimethyl cardamonin, isolated from *Syzygium campanulatum* korth[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 470179.
- [7] MALTERUD KE, ANTHONSEN T, LORENTZEN GB. Two new C-methylated flavonoids from *Myrica gale* [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(11): 1805-1809.
- [8] CHOOMMONGKOL V, PUNTUREE K, KLUMPHU P, *et al.* Microwave-assisted extraction of anticancer flavonoid, 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethyl Chalcone (DMC), rich extract from *Syzygium nervosum* fruits [J]. *Molecules*, 2022, 27(4): 1397.
- [9] MEMON AH, ISMAIL Z, AL-SUEDE FSR, *et al.* Isolation, characterization, crystal structure elucidation of two flavanones and simultaneous RP-HPLC determination of five major compounds from *Syzygium campanulatum* korth[J]. *Molecules*, 2015, 20(8): 14212-14233.
- [10] HADISAPUTRI YE, CAHYANA N, MUCHTARIDI M, *et al.* Apoptosis-mediated antiproliferation of A549 lung cancer cells mediated by *Eugenia aqua* leaf compound 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone and its molecular interaction with caspase receptor in molecular docking simulation[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(5): 3551-3557.
- [11] DE OLIVEIRA CC, CAMPOS A, DA SILVA LM, *et al.* Gastro-protective potential of methanolic extract and dimethyl cardamonin from *Campomanesia reitziana* fruits in mice [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2017, 390(6): 661-666.
- [12] MARTÍNEZ A, CONDE E, MOURE A, *et al.* Protective effect against oxygen reactive species and skin fibroblast stimulation of *Couroupita guianensis* leaf extracts[J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(4): 314-322.
- [13] SALEM MM, WERBOVETZ KA. Antiprotozoal compounds from *Psoralea polydenius* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(1): 108-111.
- [14] GAFNER S, WOLFENDER JL, MAVI S, *et al.* Antifungal and antibacterial chalcones from *Myrica serrata* [J]. *Planta Med*, 1996, 62(1): 67-69.
- [15] WEI H, ZHANG XN, WU GH, *et al.* Chalcone derivatives from the fern *Cyclosorus parasiticus* and their anti-proliferative activity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 60: 147-152.
- [16] YE CL, LU YH, WEI DZ. Flavonoids from cleistocalyx operculatus[J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(4): 445-447.
- [17] 刘文君, 李兆亮, 程宁波, 等. 水翁花中 1 个抗炎活性的新橙酮[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1467-1470.
- [18] 尹田鹏, 李婷, 向灿辉, 等. 基于水翁花中查尔酮分离分析的药学综合实验设计[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(2): 165-168.
- [19] 邱宏聪, 陈昭, 柴玲, 等. 高效液相色谱法同时测定不同来源水翁花中的 2 种活性成分[J]. 世界中医药, 2017, 12(10): 2474-2477.
- [20] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42717.

- [21] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (W1): W357 – W364.
- [22] JI X, WEI X, QIAN J, *et al.* 2', 4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone induced apoptosis and G1 cell cycle arrest through PI3K/AKT pathway in BEL-7402/5-FU cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 131: 110533.
- [23] BARLIANA MI, DIANTINI A, SUBARNAS A, *et al.* Inhibition of phosphorylated c-Jun NH (2)-terminal kinase by 2', 4'-dihydroxy-6-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone isolated from *Eugenia aqua burm f.* leaves in jurkat T-cells [J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13 (Suppl 3): S573 – S577.
- [24] WANG J, YAO LY, LU YH. *Ceriporia lacerata* DMC1106, a new endophytic fungus: Isolation, identification, and optimal medium for 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone production [J]. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2013, 18 (4): 669 – 678.
- [25] WANG C, WU P, SHEN XL, *et al.* Synthesis, cytotoxic activity and drug combination study of tertiary amine derivatives of 2', 4'-dihydroxyl-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(76): 48031 – 48038.
- [26] KHAMTO N, CHAICHUANG LD, RITHCHUMPON P, *et al.* Synthesis, cytotoxicity evaluation and molecular docking studies on 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone derivatives [J]. *RSC Adv*, 2021, 11(50): 31433 – 31447.
- [27] SUN W, WANG M, ZHANG YC, *et al.* Synthesis of benzofuro [3, 2-b]pyridines via palladium-catalyzed dual C-H activation of 3-phenoxy pyridine 1-oxides [J]. *Org Lett*, 2015, 17(3): 426 – 429.
- [28] STOMPOR M, BRODA D, BAJEK-BIL A. Dihydrochalcones: methods of acquisition and pharmacological properties-A first systematic review [J]. *Molecules*, 2019, 24(24): 4468.
- [29] YIN HH, SHI XM, WANG H, *et al.* VB1 promoted green synthesis of chalcones and its neuroprotection potency evaluation [J]. *Processes*, 2019, 7(4): 236.
- [30] LEE HN, PARK RY, PARK K. Total syntheses of 4', 6'-dimethoxy-2'-hydroxy-3', 5'-dimethylchalcone derivatives [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2021, 42(1): 66 – 71.
- [31] SU MY, HUANG HY, LI L, *et al.* Protective effects of 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone to PC12 cells against cytotoxicity induced by hydrogen peroxide [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(2): 521 – 527.
- [32] YU WG, QIAN J, LU YH. Hepatoprotective effects of 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone on CCl₄-induced acute liver injury in mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59 (24): 12821 – 12829.
- [33] TRAN PL, KIM O, TRAN HNK, *et al.* Protective effects of extract of *Cleistocalyx operculatus* flower buds and its isolated major constituent against LPS-induced endotoxic shock by activating the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 129: 125 – 137.
- [34] KIM YJ, KO H, PARK JS, *et al.* Dimethyl cardamonin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory factors through blocking NF-kappaB p65 activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10 (9): 1127 – 1134.
- [35] YU WG, HE H, YAO JY, *et al.* Dimethyl cardamonin exhibits anti-inflammatory effects via interfering with the PI3K-PDK1-PKCa signaling pathway [J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2015, 23 (6): 549 – 556.
- [36] LU Y, ZHANG YY, HU YC, *et al.* Protective effects of 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in hepatic L02 cell [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(9): 1211 – 1218.
- [37] TUAN HN, MINH BH, TRAN PT, *et al.* The effects of 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone from *cleistocalyx operculatus* buds on human pancreatic cancer cell lines [J]. *Molecules*, 2019, 24(14): 2538.
- [38] YE CL, LIU JW, WEI DZ, *et al.* *In vivo* antitumor activity by 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone in a solid human carcinoma xenograft model [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 56(1): 70 – 74.
- [39] WEI X, MO XJ, AN FL, *et al.* 2', 4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone, a potent Nrf2/ARE pathway inhibitor, reverses drug resistance by decreasing glutathione synthesis and drug efflux in BEL-7402/5-FU cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 119: 252 – 259.
- [40] 叶春林, 赖依峰, 刘宣淦, 等. 水翁花黄酮 DMC 诱导肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡的机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(15): 2942 – 2946.
- [41] YE CL, LAI YF. 2', 4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone, from buds of *Cleistocalyx operculatus*, induces apoptosis in human hepatoma SMMC-7721 cells through a reactive oxygen species-dependent mechanism [J]. *Cytotechnology*, 2016, 68(2): 331 – 341.
- [42] HUANG HY, NIU JL, LU YH. Multidrug resistance reversal effect of DMC derived from buds of *Cleistocalyx operculatus* in human hepatocellular tumor xenograft model [J]. *J Sci Food Agric*, 2012, 92(1): 135 – 140.
- [43] HUANG HY, NIU JL, ZHAO LM, *et al.* Reversal effect of 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone on multi-drug resistance in resistant human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402/5-FU [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(12): 1086 – 1092.
- [44] KO H, KIM YJ, AMOR EC, *et al.* Induction of autophagy by dimethyl cardamonin is associated with proliferative arrest in human colorectal carcinoma HCT116 and LOVO cells [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(9): 2471 – 2479.
- [45] LI DD, WU XQ, TANG J, *et al.* ON-III inhibits erbB-2 tyrosine kinase receptor signal pathway and triggers apoptosis through induction of Bim in breast cancer cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(8): 739 – 743.
- [46] HU YC, HAO DM, ZHOU LX, *et al.* 2', 4'-Dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone protects the impaired insulin secretion induced by glucotoxicity in pancreatic β -cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(7): 1602 – 1608.
- [47] RESURRECCION-MAGNO MHC, VILLASEÑOR IM, HARADA N, *et al.* Antihyperglycaemic flavonoids from *Syzygium samarangense* (blume) merr. and perry [J]. *Phytother Res*, 2005, 19(3): 246 – 251.
- [48] CHOI JW, KIM M, SONG H, *et al.* DMC (2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone) improves glucose tolerance as a potent AMPK activator [J]. *Metabolism*, 2016, 65(4): 533 – 542.
- [49] HU YC, ZHANG Z, SHI WG, *et al.* 2', 4'-dihydroxy-6'-methoxy-3', 5'-dimethylchalcone promoted glucose uptake and imposed a paradoxical effect on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(8): 1898 – 1904.
- [50] ZHANG LN, LU YH. Inhibitory activities of extracts from *Cleistocalyx operculatus* flower buds on pancreatic lipase and α -amylase [J]. *Eur Food Res Technol*, 2012, 235(6): 1133 – 1139.
- [51] GHAYUR MN, GILANI AH, KHAN A, *et al.* Presence of calcium antagonist activity explains the use of *Syzygium samarangense* in diarrhoea [J]. *Phytother Res*, 2006, 20(1): 49 – 52.
- [52] HA TKQ, DAO TT, NGUYEN NH, *et al.* Antiviral phenolics from the leaves of *cleistocalyx operculatus* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 110: 135 – 141.
- [53] DAO TT, TUNG BT, NGUYEN PH, *et al.* C-methylated flavonoids from *cleistocalyx operculatus* and their inhibitory effects on novel influenza A (H1N1) neuraminidase [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(10): 1636 – 1642.
- [54] LI CY, WANG HN, ZHU GH, *et al.* Discovery and characterization of naturally occurring chalcones as potent inhibitors of bile salt hydrolases [J]. *Acta Mater Med*, 2022, 1(2): 164 – 176.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2022-05-09