

# 咕吨酮并吡啶季铵盐的合成及其生物活性

覃江克<sup>a</sup> 兰文丽<sup>a</sup> 韩留玉<sup>a</sup> 唐煌<sup>a</sup> 苏桂发<sup>a\*</sup> 戴支凯<sup>b</sup> 徐庆<sup>b</sup>

(<sup>a</sup>广西师范大学化学化工学院, 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室 桂林 541004;

<sup>b</sup>桂林医学院药理实验中心 桂林)

**摘要** 以邻碘苯甲酸和8-羟基喹啉为原料,通过Ullmann反应合成了咕吨酮并吡啶(**2**),再将其进行季铵化反应合成了它的甲基及乙基季铵盐化合物**3a**和**3b**,用IR、NMR、MS及元素分析等测试技术对其结构进行了表征。运用四甲基偶氮唑盐微量酸反应比色法(MTT法)测得化合物**3a**和**3b**对体外培养人卵巢癌(A2780)、宫颈癌(Hela)、肺癌(SPC-A)和口腔上皮癌(KB)细胞的抑制作用均优于阳性对照药5-氟尿嘧啶(5-Fu)。溴乙锭置换荧光探针法测得化合物**3a**和**3b**与小牛胸腺DNA(CT-DNA)的表现结合常数分别为 $3.91 \times 10^5$ 和 $2.72 \times 10^5$  L/mol,揭示目标化合物的抗癌活性可能与其跟DNA的相互作用有关。化合物**3a**和**3b**对乙酰胆碱酯酶(AChE)和丁酰胆碱酯酶(BuChE)均具有良好的选择性抑制活性,IC<sub>50</sub>值达 $\mu\text{mol/L}$ 以下,与阳性对照药氢溴酸加兰他敏(Galantamine·HBr)近似,它们对AChE的抑制作用为非竞争性抑制。

**关键词** 咕吨酮并吡啶,季铵盐,合成,胆碱酯酶,抗癌,DNA

中图分类号:O625

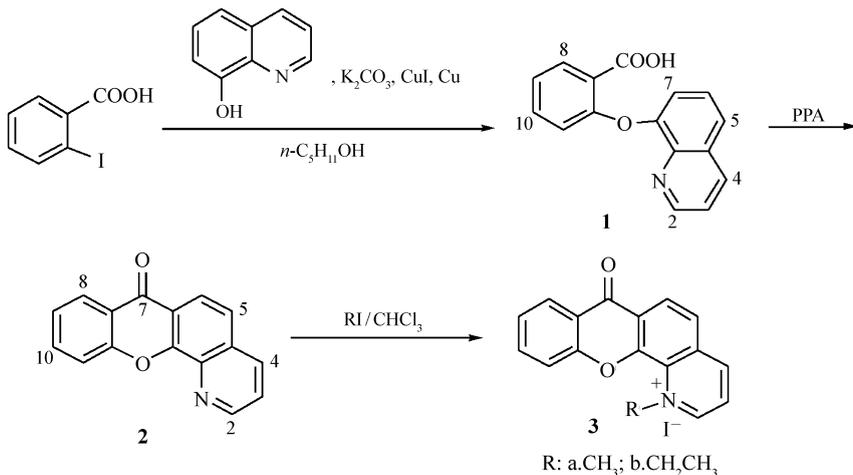
文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2010)05-0528-05

DOI:10.3724/SP.J.1095.2010.90520

咕吨酮(二苯并 $\gamma$ -吡喃酮)是多种科属药用植物主要活性成分的基本分子骨架<sup>[1]</sup>。其衍生物具有抗肿瘤、抑制胆碱酯酶等多种药理活性,对这类化合物的提取分离、合成及药理活性研究已引起关注<sup>[2-4]</sup>。因为喹啉环是许多临床药物的活性结构<sup>[5]</sup>。小分子化合物经喹啉基修饰后,明显改善了药理活性,其修饰后的化合物具有新月形的刚性共轭结构,其衍生物可能具有良好的抗癌活性<sup>[6]</sup>。

本文以咕吨酮为先导化合物,设计合成了咕吨酮并吡啶**2**的2种季铵盐化合物**3**。化合物**3**分子中同时包含喹啉环和咕吨酮,是具有新月形平面刚性结构的季铵盐,可期望提高其与带负电荷的DNA磷酸骨架的静电相互作用,并改善其在生物体系中的油-水分配而提高生物利用度。用四甲基偶氮唑盐微量酸反应比色法(MTT法)初步测试了2种化合物对A2780、Hela、SPC-A和KB等4种体外培养癌细胞株的抑制活性,并用溴乙锭(EB)置换荧光探针法测定了其与小牛胸腺DNA的表现结合常数 $K_{app}$ ,考察了它们对AChE和BuChE的抑制作用。合成路线见Scheme 1。



Scheme 1 Synthetic route of quaternary ammonium salts of xanthono-pyridine

2009-08-06 收稿,2009-10-21 修回

广西科技开发计划应用基础研究专项(桂科基 0639030\_0731054)和广西师大科研基金资助项目

通讯联系人:苏桂发,男,教授;E-mail:edward\_su75@163.com;研究方向:药物合成

## 1 实验部分

### 1.1 试剂和仪器

乙酰胆碱酯酶(AChE,从电鳗中提取)、硫代乙酰胆碱、丁酰胆碱酯酶(BuChE,从马血清中提取)、硫代丁酰胆碱、5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)、噻唑兰(MTT)、小牛胸腺DNA(CT-DNA)、溴乙锭(EB)、氢溴酸加兰他敏等均购自Sigma公司。除 $K_2CO_3$ 使用前在200℃烘箱中烘2h外,其余试剂直接使用。生物测试实验用水为去离子水。

WRS-1A型数字熔点仪(上海精密科学仪器有限公司),温度计未校正;AVANCE AV 500 MHz型超导核磁共振仪(瑞士Bruker公司);E. F. P. 360 FI-IR型傅里叶红外分光光度计(美国Nicolet公司);ESQUIRE HTC型离子阱质谱仪(德国布鲁克道尔顿公司);TU-1901型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);RF-5301PC型荧光光度计(日本岛津公司);PB-10型pH计(德国Sartorius公司);Microplate reader 550型酶标仪(美国Bio-Rad公司);Microplate reader ELX808™型酶标仪(美国BioTek公司)。

### 1.2 化合物1的合成

向25 mL圆底烧瓶中加入1.24 g(5 mmol)邻碘苯甲酸,5 mL正戊醇,搅拌至邻碘苯甲酸完全溶解,加入1.38 g(10 mmol)无水 $K_2CO_3$ ,有大量白色不溶物析出并且伴随有气泡产生。在剧烈搅拌下,依次加入0.726 g(5 mmol)8-羟基喹啉,0.063 5 g(1 mmol)铜粉和0.190 g(1 mmol)碘化亚铜,160℃搅拌回流2.5 h(TLC跟踪反应进程)。将反应液倒入200 mL热水中,趁热抽滤,得深黄色固体及浅绿色母液。母液冷却至室温,分层,油层用15 mL饱和 $K_2CO_3$ 水溶液洗涤3次。洗液与水层合并,用稀盐酸调pH值至1~2,析出大量沉淀,静置过夜,抽滤,用甲醇重结晶,得0.51 g黄色块状晶体

### 1.3 化合物2的合成

向圆底烧瓶中加入3.5 g多聚磷酸(PPA),油浴加热至75℃,在搅拌下加入0.50 g化合物1,升温至140℃反应2 h(TLC跟踪反应进程)。趁热将反应混合物倒入200 mL冰水中,用浓氨水调pH值至7~8,析出大量白色絮状沉淀。冷却,抽滤,烘干。用甲醇重结晶2次,得浅黄色针状晶体0.39 g,产率83.5%,熔点220~221℃(文献值<sup>[7]</sup>:221~222℃),<sup>1</sup>H NMR数据与文献<sup>[7]</sup>一致。

### 1.4 化合物3a和3b的合成

向25 mL圆底烧瓶中加入0.2 g化合物2,加10 mL  $CHCl_3$ 将其完全溶解,再加入1 mL  $CH_3I$ 或 $C_2H_5I$ 。室温搅拌1~3 d后有固体析出,抽滤, $CHCl_3$ 洗涤(10 mL×3),干燥得化合物3a或3b。

### 1.5 MTT法测试化合物的抗癌活性

采用噻唑盐还原法<sup>[8]</sup>(MTT法)测试目标化合物对人卵巢癌(A2780)、宫颈癌(Hela)、肺癌(SPC-A)和口腔上皮癌(KB)4种体外培养癌细胞株的凋亡作用。取对数生长期细胞,接种于96孔板中,约 $5 \times 10^4$ 个/孔,置于37℃,体积分数为5%  $CO_2$ 培养箱内,培养24 h后分别加入不同浓度的目标化合物和阳性对照品5-氟尿嘧啶(5-Fu),设5个平行孔和空白对照孔,继续培养72 h后,测定其吸光度(OD),计算 $OD_{产物}/OD_{空白对照} \times 100\%$  = 50%时的化合物浓度 $IC_{50}$ 值,结果见表1。

### 1.6 溴乙锭置换法测定化合物与DNA的表现结合常数

称取一定量的CT-DNA用缓冲液稀释(0.01 mol/L, pH = 7.0的磷酸盐-EDTA缓冲液),于4℃下透析48 h,稀释100倍,测量在260和280 nm处的紫外吸收。验证结果显示, $A_{260 nm}/A_{280 nm} > 1.8$ ,表明基本上不含蛋白。然后根据260 nm处吸光度除以吸光系数6 600 L/(mol·cm)求CT-DNA浓度。

固定荧光分光光度计的激发波长为546 nm,向3 mL的样品池中加入2.5 mL溴乙锭-CT-DNA被滴定液,用微量进样器加入一定体积浓度为200  $\mu$ mol/L的化合物溶液到样品池中(化合物溶液预先加入一定量的CT-DNA,使化合物溶液中的CT-DNA浓度与被滴定液的CT-DNA浓度相同),观察595 nm处荧光强度的变化;继续滴加化合物,使样品池中化合物的浓度逐步变大,直到荧光强度为未加化合物时的荧光强度一半时,停止滴加。

$K_{app} = (1.26/c_{50}) \times 10^7$ 式中,1.26为溴乙锭在溴乙锭-CT-DNA复合物中的浓度( $\mu$ mol/L), $c_{50}$ 为使

溴乙锭的荧光强度降低 50% 时的化合物浓度,  $10^7$  为溴乙锭在复合物中的常数<sup>[9]</sup>。

### 1.7 化合物 3a 和 3b 对胆碱酯酶的抑制活性测试

采用改进的 Ellman 法<sup>[10]</sup>测试化合物对酶的抑制活性,以硫代乙酰胆碱为底物,5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)为显色剂,在 96 孔板中测定样品对 AChE 或 BuChE 的抑制活性。

1.7.1 乙酰胆碱酯酶的抑制活性分析方法 向 96 孔板中加入 6  $\mu\text{L}$  质量浓度为 4 g/L 的 5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)溶液,再分别加入 15  $\mu\text{L}$  不同浓度的样品溶液,再加入 0.1 mol/L pH = 8.0 磷酸盐缓冲溶液至 139  $\mu\text{L}$ ,然后加入 5  $\mu\text{L}$  质量浓度为 0.1 g/L 的 AChE 溶液,在 37  $^{\circ}\text{C}$  的酶标仪中保温 12 min,立即加入 6  $\mu\text{L}$  质量浓度为 2 g/L 硫代乙酰胆碱溶液,摇匀,立即测  $\lambda = 405 \text{ nm}$  处的吸光度( $A_n$ )。参比液为 0.1 mol/L pH = 8.0 磷酸盐缓冲溶液。计算相对不加样品溶液酶活力(%):

$$\text{相对酶活力}(\%) = (A_n/A_{\text{control}}) \times 100\%$$

并以相对活力对抑制剂浓度作图,绘制抑制曲线求得各种化合物抑制酶活力 50% 时的浓度  $\text{IC}_{50}$  值。

1.7.2 乙酰胆碱酯酶的抑制动力学分析方法 向 96 孔板中分别加入 6  $\mu\text{L}$  质量浓度为 4 g/L 的 5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)溶液,118  $\mu\text{L}$  浓度为 0.1 mol/L pH = 8.0 磷酸盐缓冲液(保证最终测试溶液的体积为 150  $\mu\text{L}$ ),15  $\mu\text{L}$  的一定浓度的化合物溶液,再加入 5  $\mu\text{L}$  质量浓度为 0.1 g/L 的 AChE 溶液,并在 37  $^{\circ}\text{C}$  酶标仪中保温 15 min,立刻加入 6  $\mu\text{L}$  不同浓度的硫代乙酰胆碱溶液,摇匀,立即测  $\lambda = 405 \text{ nm}$  处的时间扫描曲线。曲线的斜率即为反应的初速度 $[v]$ ,然后以  $1/[v]$  对  $1/[\text{ACh}]$  作图,以不加抑制剂的测试曲线作为控制线。

以硫代丁酰胆碱为底物,采用同样方法可测得对 BuChE 的抑制作用。

## 2 结果与讨论

### 2.1 化合物的表征

化合物 1: 黄色晶体,产率 38.5%, mp 169 ~ 172  $^{\circ}\text{C}$ ;  $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NO}_3$  元素分析(计算值)/%: C 72.40 (72.45), H 4.10 (4.18), N 5.31 (5.28);  $^1\text{H NMR}$ ,  $\delta$ :  $\text{CDCl}_3$ , 8.77 (1H, dd,  $J = 1.0, 3.8 \text{ Hz}$ , H-2), 8.36 (1H, dd,  $J = 1.0, 8.3 \text{ Hz}$ , H-8), 7.89 (1H, dd,  $J = 1.4, 7.7 \text{ Hz}$ , H-4), 7.82 ~ 7.83 (2H, m, H-11 and H-7), 7.71 (1H, t,  $J = 7.9 \text{ Hz}$ , H-10), 7.54 (1H, dd,  $J = 4.4, 8.3 \text{ Hz}$ , H-3), 7.27 ~ 7.35 (1H, m, H-6), 7.15 (1H, t,  $J = 7.5 \text{ Hz}$ , H-9), 6.95 (1H, d,  $J = 8.3 \text{ Hz}$ , H-5);  $^{13}\text{C NMR}$ ,  $\delta$ : 168.2, 156.4, 150.9, 149.2, 140.4, 138.0, 132.3, 131.9, 130.2, 127.1, 125.3, 124.8, 123.8, 123.7, 122.2, 117.1; IR (KBr),  $\sigma/\text{cm}^{-1}$ : 3417, 3064, 1714, 1602, 1574, 1499, 1448, 1245, 1200, 762, 698; ESI-MS  $m/z$ : 266.15 [M + H]。

化合物 3a: 黄色固体,产率 73.0%, mp 224 ~ 225  $^{\circ}\text{C}$ ;  $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{NO}_2\text{I}$  元素分析(计算值)/%: C 52.61 (52.46), H 3.20 (3.11), N 3.48 (3.60);  $^1\text{H NMR}$ ,  $\delta$ : DMSO- $d_6$ , 9.65 (d, 1H,  $J = 5.7 \text{ Hz}$ , H-2), 9.42 (d, 1H,  $J = 8.3 \text{ Hz}$ , H-4), 8.63 (d, 1H,  $J = 8.6 \text{ Hz}$ , H-6), 8.43 (dd, 1H,  $J = 5.7, 7.9 \text{ Hz}$ , H-3), 8.38 (d, 1H,  $J = 8.6 \text{ Hz}$ , H-5), 8.33 (dd, 1H,  $J = 1.1, 7.9 \text{ Hz}$ , H-8), 8.15 (d, 1H,  $J = 8.4 \text{ Hz}$ , H-11), 8.09 (td, 1H,  $J = 1.4, 8.4 \text{ Hz}$ , H-10), 7.69 (t, 1H,  $J = 7.6 \text{ Hz}$ , H-9), 5.20 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$ ,  $\delta$ : 175.5, 155.3, 153.8, 148.7, 147.8, 136.9, 134.3, 131.3, 126.7, 126.3, 126.0, 125.7, 125.5, 123.8, 121.5, 119.6, 53.1; IR (KBr),  $\sigma/\text{cm}^{-1}$ : 3029, 1659, 1629, 1608, 1527, 1483, 1468, 1388, 1230, 755, 695; ESI-MS  $m/z$ : 261.93 [M - I]。

化合物 3b: 黄色固体,产率 64.6%, mp 225 ~ 226  $^{\circ}\text{C}$ ;  $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{I}$  元素分析(计算值)/%: C 53.45 (53.62), H 3.38 (3.50), N 3.61 (3.47);  $^1\text{H NMR}$ ,  $\delta$ : DMSO- $d_6$ , 9.74 (d, 1H,  $J = 5.6 \text{ Hz}$ , H-2), 9.45 (d, 1H,  $J = 7.7 \text{ Hz}$ , H-4), 8.66 (d, 1H,  $J = 8.6 \text{ Hz}$ , H-6), 8.46 (dd, 1H,  $J = 5.6, 8.0 \text{ Hz}$ , H-3), 8.40 (d, 1H,  $J = 8.6 \text{ Hz}$ , H-5), 8.34 (dd, 1H,  $J = 1.2, 8.0 \text{ Hz}$ , H-8), 8.05 ~ 8.11 (m, 2H, H-10 and H-11), 7.70 (td, 1H,  $J = 1.0, 7.8 \text{ Hz}$ , H-9), 5.59 (q, 2H,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 1.89 (t, 3H,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$ ,  $\delta$ : 175.0, 154.7, 152.9, 147.5, 147.3, 136.4, 134.2, 129.6, 126.1, 125.7, 125.5, 125.4, 125.3, 123.5, 121.1, 118.7, 59.8, 17.0; IR (KBr),  $\sigma/\text{cm}^{-1}$ : 3033, 2926, 1663, 1628, 1606, 1525, 1495, 1468, 1396, 1225, 756, 696; ESI-MS  $m/z$ : 275.90 [M - I]。

## 2.2 合成条件对产率的影响

利用 Skraup 法合成,从 4-氨基咕吨酮出发合成咕吨酮并吡啶已有文献<sup>[7]</sup>报道,但 4-氨基咕吨酮是由多步反应合成而得且产率很低<sup>[11]</sup>。从邻碘苯甲酸(如用邻氯苯甲酸则反应温度相对较高)和 8-羟基喹啉出发,利用 Ullmann 反应合成化合物 **1**,再利用多聚磷酸(PPA)脱水关环得到咕吨酮并吡啶(**2**),将化合物 **2** 溶于氯仿,在室温下与碘代烷反应,由于生成的季铵盐不溶于氯仿而沉淀出来,过滤、洗涤即可得目标化合物 **3**。合成方法简单,原料易得。

化合物 **1** 是合成目标化合物 **3** 的关键中间体,碱的用量、催化剂、溶剂及后处理方法等对产率均有影响。碱的用量至少是邻碘苯甲酸的 2 倍,确保 8-羟基喹啉上的酚羟基成为氧负离子,从而有利于其对碘元素的亲核取代;铜粉必须是多孔性的新制铜粉(市售铜粉的催化活性很低),助催化剂 CuI 可以提高反应的产率。反应溶剂对产率有很大影响,用 DMF 和 1,4-二氧六环为反应溶剂的产率均不高。反应必须在无水条件下进行,所有试剂和原料均要干燥;另外,在反应的后处理过程中,溶液的 pH 值也是关键的因素,pH 值太低则吡啶环容易成盐而残留于滤液中造成产率低;pH 值太高产物很可能以钾盐的形式存在,造成沉淀不完全而影响产率。

## 2.3 化合物 3a 和 3b 的抗癌活性

化合物 **3a** 和 **3b** 对 4 种癌细胞的体外抗癌结果如表 1 所示。从表 1 可以看出,化合物 **3a**、**3b** 抑制体外培养 4 种癌细胞增殖的能力均优于阳性对照药 5-Fu,而化合物 **3a** 的抑制活性又高于化合物 **3b**。

表 1 化合物 3a,3b 对癌细胞的抑制活性

Table 1 Inhibitory activities of compound 3a and 3b against cancer cell lines

Compd.	IC <sub>50</sub> / (μmol·L <sup>-1</sup> )			
	A2780	Hela	SPC-A	KB
<b>3a</b>	55.0	62.3	20.3	84.0
<b>3b</b>	79.8	71.5	94.3	87.8
5-Fu	94.2	85.8	97.4	96.7

为了进一步探讨其机理,通过溴乙锭(EB)置换荧光法测定了化合物 **3a**、**3b** 与 CT-DNA 的表观结合常数  $K_{app}$  分别为  $3.91 \times 10^5$  和  $2.72 \times 10^5$  L/mol。前者的结合常数比后者稍大,可能与化合物 **3b** 为乙基季铵盐空间位阻大有关,表明了它们的抗癌活性可能与其对癌细胞 DNA 的相互作用有关。

## 2.4 化合物 3a,3b 对胆碱酯酶的抑制作用

化合物 **3a** 和 **3b** 对 AChE 和 BuChE 的抑制活性如表 2 所示。从表中可以看出,化合物 **3a** 和 **3b** 对 AChE 和 BuChE 均有很好的抑制作用,并且 2 个化合物对 AChE 的抑制活性基本相同,IC<sub>50</sub> 值在 μmol/L 以下,与阳性对照药 Galantamine·HBr 相当,化合物 **3b** 则对 BuChE 和 AChE 的抑制选择性优于化合物 **3a**。

表 2 化合物 3a,3b 对 AChE 和 BuChE 的抑制活性

Table 2 Inhibitory activities of compounds 3a and 3b against AChE and BuChE

Compd.	IC <sub>50</sub> / (μmol·L <sup>-1</sup> )		IC <sub>50</sub> selectivity BuChE/AChE
	AChE	BuChE	
<b>3a</b>	0.704	9.78	13.89
<b>3b</b>	0.731	36.49	49.92
Galantamine·HBr	0.53	14.31	27

化合物 **3b** 对 AChE 的抑制动力学曲线如图 1 所示。从图中可以看出,不同浓度 **3b** 对 AChE 的抑制动力学曲线均相交于横轴。化合物 **3a** 的动力学曲线与化合物 **3b** 的类似。表明 2 种化合物对 AChE 的抑制作用均为非竞争性抑制,可能是通过作用于

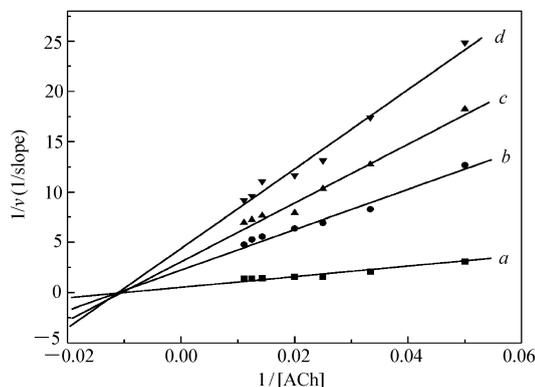


图 1 化合物 3b 对 AChE 的抑制动力学曲线

Fig. 1 Inhibition kinetics of AChE by compound 3b  
c (compound 3b) / (μmol·L<sup>-1</sup>): a. 0; b. 0.2; c. 0.4; d. 0.8

AChE 的外周阴离子结合位点(PAS)而起作用。因而,可能抑制体内 $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )的沉积而预示其对老年痴呆症(AD)的治疗潜力<sup>[12]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 FU Fan(傅芑),ZHANG Chuan(张川),ZHANG Wei-Dong(张卫东),LIU Run-Hui(柳润辉),XU Xi-Ke(徐希科). *J Pharm Prac*(药学实践杂志)[J],2005,**23**(1):6
- 2 Kolokythas G,Kostakis I K,Pouli N,Marakos P,Skaltsounis A L,Pratsinis H. *Bioorg Med Chem Lett*[J],2002,**12**(11):443
- 3 Piazza L,Belluti F,Bisi A,Gobbi S,Rizzo S,Bartolini M,Andrisano V,Recanatini M,Rampa A. *Bioorg Med Chem*[J],2007,**5**(1):5
- 4 Overy D,Calati K,Kahn J N,Hsu M J,Martín J,Collado J,Roemer T,Harris G,Parish G A. *Bioorg Med Chem Lett*[J],2009,**9**(4):24
- 5 DU Ding(杜鼎),FANG Jian-Xin(方建新). *Chinese J Org Chem*(有机化学)[J],2007,**7**(11):318
- 6 Neidle S,Harrison R J,Eszka A P,Read M A. *Pharmacol Therap*[J],2000,**85**(3):3
- 7 Fujiwara H,Okabayashi I. *Heterocycles*[J],1994,(38):541
- 8 Mosmann T. *J Immunol Methods*[J],1983,**65**:5
- 9 Antonini I,Polucci P,Kelland L R,Menta E,Pescalli N,Martelli S. *J Med Chem*[J],1999,**42**(14):2535
- 10 Ellman G L,Courtney K D,Andres V Jr,Featherstone R M. *Biochem Pharmacol*[J],1961,**7**:88
- 11 Goldberg A A,Walker H A. *J Chem Soc*[J],1953:1348
- 12 De Ferrari G V,Canales M A,Shin I,Weiner Lev M,Silman I,Inestrosa C. *Biochem*[J],2001,**40**(35):10447

## Synthesis and Bioactivity of Quaternary Ammonium Salts of Xanthono-pyridine

QIN Jiang-Ke<sup>a</sup>, LAN Wen-Li<sup>a</sup>, HAN Liu-Yu<sup>a</sup>, TANG Huang<sup>a</sup>, SU Gui-Fa<sup>a\*</sup>, DAI Zhi-Kai<sup>b</sup>, XU Qing<sup>b</sup>

(<sup>a</sup>Key Laboratory for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources of State Education Ministry, College of Chemistry & Chemical Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004; <sup>b</sup>Pharmacological Experiment Center of Guilin Medical College, Guilin)

**Abstract** Xanthono-pyridine(**2**) was synthesized by means of Ullmann method from *o*-iodobenzoic acid and 8-hydroxyquinoline; then compound **2** was treated with methyl iodide, ethyl iodide to afford quaternary ammonium salts **3a** and **3b**, respectively. Their structures were confirmed by IR, NMR, MS and elemental analysis. The two target compounds' cytotoxic activities against four human cancer cell lines including A2780 (ovarian cancer), Hela (cervical cancer), SPC-A (liver cancer) and KB (oral epithelial carcinoma), were evaluated *in vitro* by MTT method, the results show that the activities of both salts **3a** and **3b** were better than that of the positive control 5-Fu. Ethidium bromide displacement assay showed that the apparent binding constants( $K_{app}$ ) of compound **3a** and **3b** with CT-DNA (calf thymus) were  $3.91 \times 10^5$  L/mol and  $2.72 \times 10^5$  L/mol, respectively, which suggests that their anti-cancer capabilities might be associated with their interactions with DNA. Their inhibitory activities on acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) were studied as well. The two compounds showed better and almost equivalent inhibitory activity on AChE. The IC<sub>50</sub> values reach  $\mu$ mol/L level, which are close to that of Galantamine·HBr; enzyme kinetic study indicates that the type of their inhibition on AChE was non-competitive action.

**Keywords** xanthono-pyridine, quaternary ammonium salt, synthesis, cholinesterase, anti-cancer activity, DNA