

- 7 赵晓瑜,等. 中国生物化学与分子生物学报, 1998, 14(4): 407
- 8 Nakajima N, *et al.* Biosci Biotechnol Biochem, 1996, 60(2): 293
- 9 Ryu G H, *et al.* J Biomed Mater Res, 1994, 28(9): 1069
- 10 Ryu G H, *et al.* J Biomed Mater Res, 1995, 29(3): 403
- 11 杨喜树,等. 中国生物化学与分子生物学报, 1998, 14(2): 293, 164; 14(4): 407, 417
- 12 王采芹,等. 北京大学学报(自然科学版), 1996, 32(2): 741
- 13 王立波,等. 生物物理学报, 1997, 13(2): 167
- 14 张燕红,等. 北京大学学报(自然科学版), 1997, 3(3): 246
- 15 丁诗华,等. 应用环境生物学报, 1997, 3(3): 246
- 16 徐炜虹,等. 华东师范大学学报(自然科学版), 1996, (4): 95
- 17 李俊娥,等. 中国海洋药物, 1997, 18(3): 119
- 18 Cho J H, *et al.* Biochim Biophys Acta, 1998, 1408(1): 67
- 19 Beschin A, *et al.* J Biol Chem, 1998, 273(38): 24948
- 20 Milochau A, *et al.* Biochim Biophys Acta, 1997, 1337(1): 123
- 21 Sekizawa Y, *et al.* Gene, 1997, 191(1): 97
- 22 Eue I, *et al.* Dev Comp Immunol, 1998, 22(1): 13
- 23 Lange S, *et al.* J Biol Chem, 1997, 272(33): 20884
- 24 Yamaji A, *et al.* J Biol Chem, 1998, 273(9): 5300
- 25 Popovic M, *et al.* Gen Pharmacol, 1998, 30(5): 795
- 26 Tsunoda S, *et al.* Anticancer Res, 1997, 17(5A): 3349

(1999-09-07收稿)

4'-去甲表鬼臼毒素衍生物 β -取代结构修饰研究进展

第一军医大学南方医院药学部(广州 510515) 许重远* 贾江滨 陈振德

摘要 在保留反式内酯环及 C-4' 游离酚羟基的基础上,对 C-4位取代氧原子或其电子等排体同系物 S N Se 的 β 构型取代基的变换修饰是国内外学者近年来主要的研究方向,显示出良好的前景。基于 DNA 拓扑异构酶结构的 4'-去甲表鬼臼毒素衍生物的设计和合成将更加有助于寻找高效、低毒的新化合物。

关键词 4'-去甲表鬼臼毒素衍生物 β -取代 结构修饰

鬼臼毒素 (podophyllotoxin) 是从盾叶鬼臼 *Podophyllum peltatum* 和西藏鬼臼 *P. emodi* 等植物中提取分离的一种具有抗肿瘤作用的活性成分^[1],在我国资源丰富。60年代,瑞士山道士公司先后半合成了鬼臼毒素的主体异构体 4'-去甲表鬼臼毒素 (a) 的 β -D-葡萄糖衍生物,即依托泊苷 (Etoposide, VP16) 和特尼泊苷 (Teniposide, VM26),并证明是高活性的抗肿瘤药物,已相继上市^[2,3]。多年来,国内外学者对鬼臼毒素及其衍生物的结构修饰做了大量工作,合成了许多化合物并进行了活性研究。文献积累的构效关系显示,鬼臼毒素衍生物具有产生活性所必需的基本结构与活性部位: 1) 分子中由 3~4 个环组成的稠环平面刚性结构,是嵌入 DNA 分子的重要功能区。2) C-4 位是一个很关键的手性部位,是母核结构上 4 个手性碳原子中唯一存在碳氧的手性碳原子,许多化学反应都易在此部位发生并影响构型,该位置碳氧为 β 构型,若为 α 构型则活性显著降低。3) 反式内酯环也为抗肿瘤活性所必需,任何改变内酯环构型的新化合物皆减低或丧失抗肿瘤活性^[4]。4) E 环中的 C-4' 酚羟基若被烷基、酰基保护,活性显著下降,即使以磷酸酯基封闭也如此^[5]。只有当被封闭的 C-4' 酚羟

基能恢复,从而使它在体内容易氧化成邻醌衍生物,才有可能显示强抗肿瘤活性。国内学者用激光光解和脉冲辐射技术也证实了去甲表鬼臼毒素的活性点在 C-4 和 C-4' 位^[6]。为此,国内外研究者大多在保留 C-4 位取代的 β 构型、反式内酯环及 C-4' 位游离酚羟基的基础上,着眼于 C-4 位的氧原子上修饰或换上氧原子的电子等排体同系物 S N Se 等后再修饰。现分别介绍如下。

1 β -O-取代 4'-去甲表鬼臼毒素衍生物

1.1 侧链为糖基的衍生物: 这类化合物(图 1)以 VP16(I)、VM26(II)为代表。VP16的合成以鬼臼毒素为原料,经溴化氢处理和水-丙酮水解获得鬼臼毒素的立体异构体(图 1-a),其 4-O-苯氧羰基衍生物与 2,3,4,6-四-O-乙酰 β -D-葡萄糖在 BE-Et₂O 存在下进行糖苷化,经氢解脱除苯氧羰基及乙酰基后,和乙醛形成缩醛 VP16,总产率以 a 计为 18%。若用同一保护基团保护糖的醇羟基和 4' 位酚羟基,并首先进行亚乙基反应,可显著提高总产率,以 a 计为 35%。目前国内多数生产厂家使用该路线,但 a 的选择性酰化较难控制。后来有人发现由于 C-1 上的芳环和 C1a 位联结的 γ -内酯同处一侧,占据了 α 面较大的空间,亲核试剂经位阻较小的 β 面进攻,

* Address Xu Chongyuan, Department of Pharmacy, Nanfang Hospital of the First Military Medical University, Guangzhou

许重远 男,1969年 6 月出生,汉族,主管药师、讲师、药学硕士。主要从事天然药物研究与开发。近年来先后承担省部级以上研究基金项目 3 项,获得军队科技进步三等奖 1 项,在核心期刊上发表学术论文 20 余篇。

形成 β -构型衍生物,且 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ 催化的亲核取代对 C-4' 位酚羟基无影响,所以直接用未保护的 **a** 和保护了醇羟基的 β -D-葡萄糖在 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ 催化下反

应,再经醋酸锌催化甲醇分解制得 **V P16**,总产率以 **a** 计可达到 54%~63%^[7]。

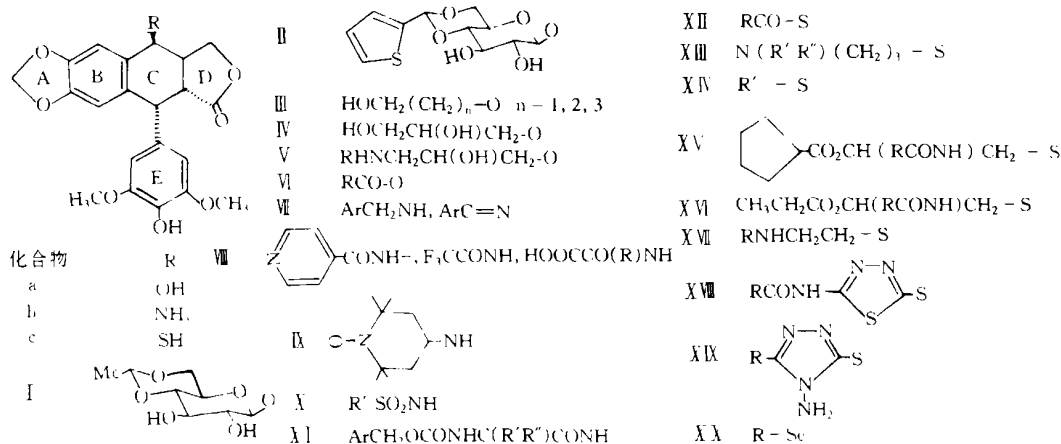


图 1 4'-取代-4'-去甲基表鬼臼毒素衍生物结构

近年来以 **V P16** **VM26** 为前体合成了一系列新的糖基衍生物^[8],以 **V P16** 为前体合成的 **Bodipy-Etoposide** 就是其中一个代表,其生物活性与 **V P16** 近似,且选择性高,目前尚在进一步研究中^[9]。

1.2 侧链为含羟基、氨基的衍生物:侧链含羟基的衍生物 (III) 由 4'-去甲基-4-脱氧鬼臼毒素和过量的醇回流制得。¹H NMR (20 MHz) 谱显示 δ 3.4 Hz,提示烷氧基的 β -构型。该类化合物对 L1210 白血病细胞都有抑制活性,但多数弱于 **V P16**。

侧链含双羟基的衍生物 (IV) 由 **a** 和 4R-或 4S-(4-羟甲基)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环,同样在 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ 催化下缩合,然后脱异丙基后和不同的醛、酮进行缩酮化而制得。体外抗肿瘤试验中,部分化合物活性远超过 **V P16**。

若侧链同时含羟基和氨基 (V),此类化合物对 L1210 白血病细胞与 KB 细胞生长抑制作用普遍强于 **V P16**。此类化合物的合成通常以 **a** 为原料,在无水条件下,以 DMF 为溶媒,使之与金属钠反应,再与环氧氯丙烷作用制得 4,4'-O-双(2,3-环氧丙基)-4'-去甲基鬼臼毒素,加入等量的胺在低沸点溶剂 CH_2Cl_2 中回流制得^[10]。

1.3 侧链为羟酰基或卤代酰基 (VI): 此类化合物的合成主要通过 C-4 位的羟基进行酯化修饰得到。用普通的饱和或不饱和的脂肪酸酯化得到的化合物未表现出强的抗肿瘤活性,但一些取代芳酯的活性较强^[11]。当换上卤代羟酸后表现出强大的活性。在合成中,可利用 C-4 位羟基和 C-4 位酚羟基反应性的

差异,采用低温反应等控制手段,在 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ 催化下直接由 **a** 和卤代羟酸反应合成得到。当 R 为氯、溴或三氟甲基时,对 L1210 的抑制活性为 **V P16** 的 100 倍^[12]。其原因可能与酯羰基侧链连结有较强诱导效应的卤原子,从而影响化合物与生物大分子相互作用的活性有关。

1.4 侧链为烷基取代: 由 4-溴-4'-去甲基鬼臼毒素和过量的醇回流制得。该类简单醚对 L1210 白血病细胞都有抑制活性,但弱于 **V P16**,也弱于带有羟基的醚^[7,13]。

2 4'-N-取代 4'-去甲基表鬼臼毒素衍生物

2.1 侧链为氨基或烷氨基的衍生物 (VII): 关键中间体 4-氨基-4'-去甲基-4-脱氧表鬼臼毒素 (图 1-b) 由 4-溴-4'-去甲基-4-脱氧表鬼臼毒素和叠氮化合物反应得 4-叠氮衍生物 (4-N₃),再经氢化还原得到^[14]。该中间体与芳香醛或与芳香醛、 NaBH_4CN 等反应制得 VII,此类化合物活性大多弱于 **V P16**^[15]。但 4-烷氨基-4'-去甲基-4-脱氧表鬼臼毒素 (**Top-53**) 部分活性是 **V P16** 的两倍,且对肺癌有高选择性的抑制作用^[16]。

2.2 侧链为酰胺基的衍生物 (VIII): 国外报道了 VIII 合成的两条路线,但步骤长或需要柱层析分离立体异构体,不宜大量制备。王志光等将中间体 **b** 和羧酸在缩合剂 N -乙基-3-(3-二乙基磷酰基)丙二胺 (DEPC) 存在下可方便地制得 VIII。此类化合物大多数活性相当或超过 **V P16**^[17]。

2.3 侧链含氮氧自由基的 4-氨基衍生物 (IX): 研

研究表明,将稳定的氮氧自由基引入抗癌药物分子中能使母体化合物的毒性降低,而抗癌活性保持,甚至增强,同时还可以借助电子自旋共振 (ESR) 技术来研究药物的运转机制。因此,药物的自旋标记近年来成为结构修饰的一个新方向。4-氨基-2,2,6,6-四甲基哌啶氮氧自由基标记的表鬼臼毒素衍生物 (GP-7) 很有希望成为新药上市。与 VP16 相比,GP-7 毒性较低而活性相近。合成中,将 2,2,6,6-四甲基-4-氨基哌啶氮氧自由基与溴代表鬼臼毒素溶于四氢呋喃中,加入乙胺回流 6 h 制得^[18]。

2.4 侧链为其它酰胺类的衍生物: 研究表明在酰胺结构中羰基如与不饱和键或芳香环形成共轭体系可增强抗肿瘤活性。马维勇等合成了 *N*-磺酰胺基衍生物 (X), 用 4-脱氧-4-氨基-4'-去甲基鬼臼毒素与相应的烷基或芳基磺酰氯在三乙胺存在下室温反应生成。在该条件下,磺酰氯不易与 E 环上的 4'-酚羟基发生反应。在抑制 L1210 白血病细胞和 KB 细胞的试验中,此类化合物大部分显示比 VP16 更强的活性^[19]。后又合成了 4-取代氨基酸酰胺基衍生物,如 XI,由中间体 b 和相应的 *N*-苯氧羰基保护的氨基酸在 DEPC 催化下制得。它们中大多数对 L1210 有强抑制活性,并超过 VP16。但数据显示此化合物活性与氨基酸酰胺基侧链的手性关系不大,而与侧链氨基酸的体积有关,体积较小的活性大,另外氨基酸侧链中取代基的电子性质也可能影响活性^[20]。

3 4-S-取代 4'-去甲基表鬼臼毒素衍生物

3.1 由中间体 4-巯基-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素 (图 1c) 出发: 该关键中间体有两条合成路线: 一是由 a 和 H₂S 在 BF₃-Et₂O 存在下低温反应,立体专一地得到 c; 二是由 a 和硫代乙酸在 BF₃-Et₂O 催化下首先生成 4-乙酰巯基衍生物,然后用 NH₄/CH₃CN 回流脱乙酰基制得^[21]。

c 和不同的羧酸在二乙氧基磷酸酐存在下缩合生成 4-取代酰巯基鬼臼毒素衍生物 (XII)。此类化合物中除个别活性与 VP16 相当外,其余均较低,且与相应的 C-4 位酰氨基的 a 衍生物相比活性也较弱^[22]; c 和丙烯醛或丙烯腈在碱存在下进行 Michael 加成制成烷巯基衍生物,再与不同的胺在 NaBH₄CN 存在下还原得到烷胺基衍生物 (XIII)。此类化合物大多数活性与 VP16 相当,有些超过 VP16^[23]。

3.2 从 a 出发直接合成: 当 a 和硫醇在 BF₃-Et₂O 催化下可得 4-取代烷基衍生物 (XIV)^[24]; 和半胱氨酸酯在三氟乙酸存在下缩合,再经 DEPC 酰化得到

酰化半胱氨酸酯巯基衍生物 (XV^[25]和 XVI)^[26]; 与巯基乙胺在三氟乙酸存在下缩合,再经 *N*-酰化或还原胺化得到氨基巯基衍生物 (XVII),活性较 VP16 差^[27]; 与 2-巯基-5-氨基-1,3,4-噻二唑在三氟乙酸存在下缩合,再经 *N*-酰化得到酰胺噻唑巯基衍生物 (XVIII)^[28],此类化合物有较强活性,大多强于 VP16 或相当,少数略低。酰胺官能团上取代基结构的变化对其抗肿瘤活性影响较小; 与三氮唑在三氟乙酸存在下缩合得到三氮唑巯基衍生物 (XIX)^[29],对人红白血病 K562 有较强活性。

4 4-Se-取代表鬼臼毒素衍生物 (XX)

这类化合物的合成从 4-溴-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素出发,与硒脲反应生成相应的假硒脲盐,该化合物在三乙胺作用下转化为类似于硒醇的不稳定中间体,然后在氮气的保护下,与活泼卤代烷在室温下反应即可得到。体外活性试验显示良好的抑制 L1210 和 KB 细胞活性,部分超过 VP16^[30]。

5 小结

有关鬼臼毒素衍生物的结构修饰仍在不断地深入研究,具有强抗肿瘤活性而又低毒的新化合物不断涌现。到目前为止,在保留内酯环的反式取向和 C-4' 游离酚羟基的基础上,对 C-4 位氧原子或其电子等排同系物的 β-构型取代基的变换是主要研究方向,显示了良好的前景。应用 DNA 拓扑异构酶 II 探讨其作用模式与构效关系的工作也在展开,相信随着研究的深入,基于该酶结构的鬼臼毒素衍生物的设计和合成将更好地有助于寻找高效、低毒的新化合物。

参考文献

- 1 Damayanthi Y, *et al.* Curr Med Chem, 1998, 5(3): 205
- 2 Oskar M, *et al.* J Med Chem, 1995, 38: 2112
- 3 Hroshi S, *et al.* Chem Pharm Bull, 1986, 34(9): 3741
- 4 Gensler W J, *et al.* J Med Chem, 1977, 20(5): 635
- 5 Mark G S, *et al.* Brit UK Pat Appl, GB 1989 2, 207, 674
- 6 汪世龙,等. 中国科学 (B 辑), 1996, 26(5): 466
- 7 马维勇,等. 中国医药工业杂志, 1997, 28(2): 65
- 8 鲁宽科,等. 药科学报, 1998, 33(12): 948
- 9 John S L, *et al.* Biochem Pharm, 1997, 53: 715
- 10 尹述凡,等. 中国医药工业杂志, 1993, 24(11): 486
- 11 潘建林,等. 药科学报, 1997, 32(12): 898
- 12 尹述凡,等. 药科学报, 1993, 28(10): 758
- 13 Miguel J M, *et al.* J Nat Prod, 1995, 58(6): 870
- 14 Kurabayshi K, *et al.* Jpn KoKai Tokyo Koho JP, 1988 6323, 884
- 15 Wang Z G, *et al.* Chinese Chem Lett, 1993, 4(4): 289
- 16 Utsugi T, *et al.* Cancer Res, 1996, 56(12): 2809
- 17 王志光,等. 药科学报, 1993, 28(6): 422
- 18 杨维东,等. 中国药物化学杂志, 1996, 6(3): 210
- 19 马维勇,等. 中国医药工业杂志, 1993, 24(5): 198
- 20 马维勇,等. 中国药物化学杂志, 1995, 5(3): 169
- 21 王志光,等. 化学学报, 1992, 50(7): 698

22 王志光,等.药学报,1992,27(5): 345

23 王志光,等.药学报,1992,27(9): 656

24 王志光,等.中国医药工业杂志,1992,23(2): 65

25 尹述凡,等.中国医药工业杂志,1993,24(6): 250

26 尹述凡,等.药学报,1993,28(9): 668

27 王志光,等.中国医药工业杂志,1992,23(4): 159

28 尹述凡,等.药学报,1993,28(10): 762

29 鲁宽科,等.药学报,1999,34(1): 63

30 王志光,等.化学学报,1993,51: 933

(1999-11-02收稿)

蝉翼藤属药用植物的研究概况

中国医学科学院 药用植物研究所(北京 100094) 杨学东* 徐丽珍 杨世林
中国协和医科大学

摘 要 蝉翼藤属植物中存在有黄酮、 酮、生物碱、皂苷和有机酸等化学成分并具有抗 HIV、抗变异、抗白血病等多种药理活性,开发前景广阔。
关键词 蝉翼藤属 化学成分 药理作用

蝉翼藤属 *Securidaca* Mill. 植物属远志科 (*Polygalaceae*),在全世界约有 43种,主产于热带美洲,少数种分布于热带亚洲和非洲。我国仅有两种:蝉翼藤 *S. inappendiculata* Hassk. 和瑶山蝉翼藤 *S. yaoshanensis* Hao,分布于云南、广东、广西和海南^[1]。蝉翼藤属植物中,民间作为药物应用的主要有 3种:

(1)蝉翼藤,广西民间又称丢了棒、五味藤、一摩消等。其根茎味辛、甘、苦,性微寒。有活血化瘀、消肿止痛、清热利尿的功效,用于跌打损伤、风湿骨痛、腰肌劳损、急慢性肠胃炎、产后恶露不净等^[2-4]。其茎叶常用于治疗过敏性皮疹^[3]。

(2)长梗蝉翼藤 *S. longipedunculata* Fres. 是非洲传统药物,用于抗菌消炎,并且在宗教仪式上用作精神治疗药物,被当地人称为“Tchunfki”^[5,6]。

(3)长梗蝉翼藤变种 *S. longipedunculata* var. *parvifolia* 产于非洲的刚果、安哥拉、罗德西亚和莫桑比克。在刚果,其粗提物作止痛、泻药、流产、抗风湿和麻醉剂。部落妇女还将其用作自杀药物^[7]。

笔者旨在对蝉翼藤属植物化学成分方面的研究成果作一概述,以期今后更加深入地研究该属植物及合理地开发利用该属植物资源。

1 化学成分

迄今为止,从蝉翼藤属植物中已确证的化学成分主要有黄酮与 酮、生物碱、皂苷和有机酸及其衍生物等 4类。

1.1 黄酮与 酮类化合物^[8,9]:主要是黄酮醇苷类的槲皮素苷和山柰酚苷,包括单糖苷和双糖苷。经水解鉴定糖的种类有葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖和芹糖等。此外, Galeffi 等人还分离得到了一个 酮化合物^[9]。从本属中得到的黄酮及 酮化合物列于表 1中。

表 1 蝉翼藤属植物中的黄酮与 酮类成分

名 称	分子式	性状	熔点(℃)
槲皮素-3-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	黄色结晶	252~ 256
槲皮素-阿拉伯吡喃糖苷	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	黄色结晶	
槲皮素-3-木糖苷	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	黄色结晶	
槲皮素-3-鼠李糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	黄色结晶	
槲皮素-3-半乳糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂		
槲皮素-3-槐糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇		
槲皮素-3-2''-芹糖基半乳糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₂₆	黄色粉末	183~ 188
槲皮素-3-2''-芹糖基葡萄糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	黄色粉末	171~ 175
槲皮素-3-2''-芹糖基阿拉伯糖苷	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₅	黄色粉末	162~ 166
槲皮素-3-2''-芹糖基木糖苷	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₅	黄色粉末	164~ 168
山柰酚-3-阿拉伯糖苷	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	黄色粉晶	240~ 244
山柰酚-3-芹糖基葡萄糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	黄色粉末	165~ 170
2-羟基-1,7-二甲氧基 酮	C ₁₅ H ₁₂ O ₁₅		

1.2 皂苷类化合物:目前从文献上看仅有皂苷元的报道。苷元主要有 3种: a. 远志皂苷元 (presenegenin)^[10,11],又称细叶远志皂苷元 (tenuigenin),即 β , β , 27-trihydroxy- Δ^{12} -oleanene-23, 28-dioic acid; b. 美远志皂苷元 (senegenin)^[11~13],即 12-(chloromethyl)- β , β -dihydroxy-27-norolean-13-ene-23, 28-dioic acid; c. 金合欢酸 (acacic acid)^[11,14]。此外,还有甾体皂苷

* Address: Yang Xuedong, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing
杨学东 男,现在中国医学科学院、中国协和医科大学药用植物研究所攻读天然产物化学博士学位。主要从事中草药活性成分的分析、提取分离、鉴定和结构修饰;新药质量标准 and 中药复方研究。