

### 【基础研究】

通信作者:闫福林(1957-),男,河南辉县人,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:天然药物化学;E-mail: yannz2009@163.com。

tetrazolium, MTT) 对合成的 9 种衍生物进行食管癌细胞 (EC9706)、胃癌细胞 (MGC-803) 及黑色素瘤细胞 (B16) 的体外抗肿瘤活性研究。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞株、试剂与仪器** 人食管癌 EC9706 细胞、胃癌 MGC-803 细胞及黑色素瘤 B16 细胞 (广州吉妮欧生物科技有限公司), 溴化苄、氰基氯化苄、4-甲基氯化苄、4-乙基氯化苄、对叔丁基氯化苄、4-溴丁酸乙酯、溴己烷 (上海 Sigma Aldrich 公司), 对硝基氯化苄、对氟氯化苄 (上海阿拉丁试剂有限公司), 柱层析用硅胶 (200 ~ 300 目)、薄层层析用硅胶 GF254 (青岛海洋化工厂), 达尔伯克改良伊格尔培养基 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)、胰蛋白酶培养基 (美国 Gibco 公司), 胎牛血清 (杭州四季青生物技术公司), MTT 试剂盒、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) (美国 Sigma 公司), 氟尿嘧啶 (fluorouracil, FU) (山东普德有限公司), 石油醚 (petroleum ether, PE)、乙酸乙酯 (ethyl acetate, EA) (天津科密欧试剂公司); Bruker-400 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司)。

**1.2 独一味素 A 衍生物的合成** 取独一味素 A 和 B 混合物 48 mg 及 3-丁炔-1-醇 1 mL 于 5 mL 干燥圆底烧瓶中, 室温搅拌至样品完全溶解, 滴加  $12.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸 1 mL, 室温下反应 12 h, 薄层色谱法 (thin-layer chromatography, TLC) 检测, 反应结束后有机相用 EA 萃取, 萃取液用过量的  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  粉末干燥 15 min, 过滤、减压浓缩, 粗产品经硅胶柱层析分离纯化, 用 PE 和 EA 在不同比例 (PE : EA 为 5 : 1, 3 : 1) 中洗脱, 得到单一独一味素 A 结构的炔基取代中间物 1A (图 1), 产率为 50%, 白色固体, 命名为 (1R, 4aS, 5S, 6S, 7R, 7aR)-methyl 1-(but-3-yn-1-yloxy)-7-chloro-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1, 4a, 5, 6, 7, 7a-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-carboxylate, 核磁共振氢谱 (proton nuclear magnetic resonance,  $^1\text{H}$  NMR) (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm, TMS):  $\delta$  7.41 (d,  $J = 1.0 \text{ Hz}$ , 1H), 5.06 (d,  $J = 1.9 \text{ Hz}$ , 1H), 4.27 (dd,  $J = 6.1, 3.9 \text{ Hz}$ , 1H), 4.02 (d,  $J = 3.8 \text{ Hz}$ , 1H), 3.88 ~ 3.81 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.74 ~ 3.66 (m, 2H), 2.99 (dd,  $J = 11.8, 1.8 \text{ Hz}$ , 1H), 2.84 (dd,  $J = 11.7, 5.3 \text{ Hz}$ , 1H), 2.51 ~ 2.41 (m, 3H), 1.74 (s, 3H); 核磁共振碳谱 (nuclear magnetic resonance,  $^{13}\text{C}$  NMR) (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.9, 151.9, 110.4, 98.0, 81.1, 78.7, 77.5, 75.4, 67.1, 69.8, 52.1, 48.7, 38.1, 25.1, 20.1。

取 1 mmol 溴化苄和 2 mmol 叠氮化钠于 5 mL 干燥的圆底烧瓶中, 加 2 mL 二甲基甲酰胺 (N, N-

dimethylformamide, DMF), 30 °C 下反应 10 h, TLC 检测反应是否结束。向反应液中加入 10 mL 乙醚和 10 mL 蒸馏水进行萃取, 有机相用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥 15 min, 过滤, 浓缩得苄基取代的叠氮化合物 (图 1)。

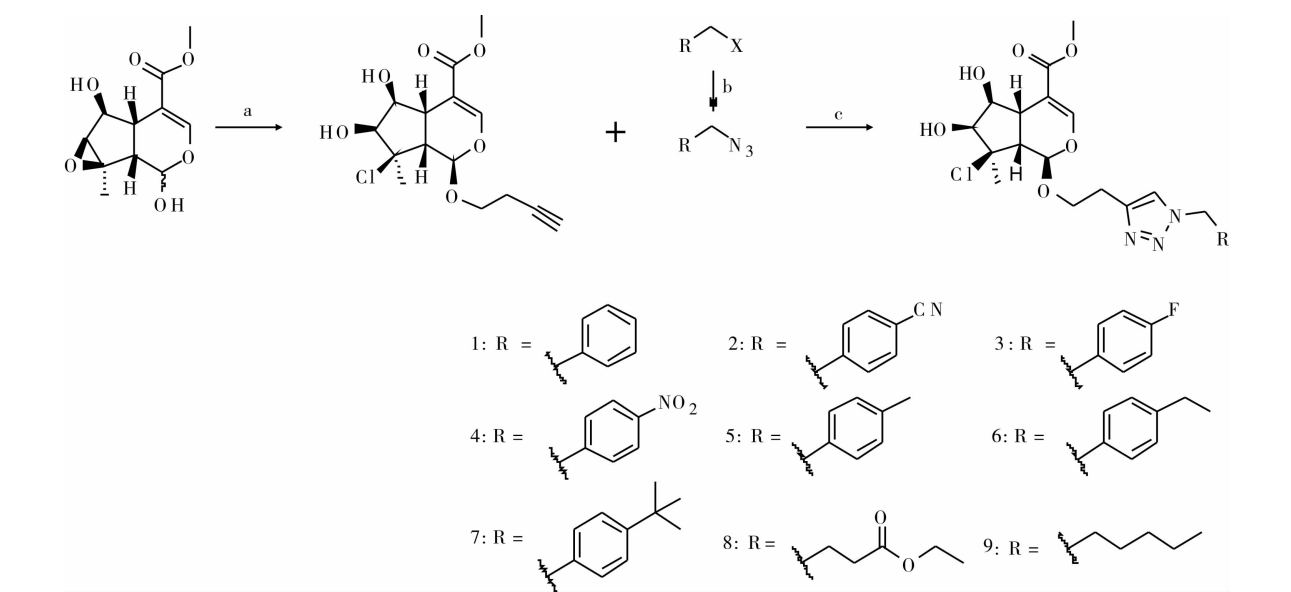
取中间产物 1A 62.4 mg、叠氮化合物 0.3 mmol、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  5 mg 和维生素 C 钠 5 mg 置于 25 mL 干燥的圆底烧瓶中, 于 40 °C 下在 4 mL THF- $\text{H}_2\text{O}$  ( $V/V = 1:1$ ) 反应溶剂中反应 4 h, 用 TLC 检测反应是否结束。反应溶液冷却至室温, 用 EA 萃取, 萃取液用过量的  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  粉末干燥 15 min, 过滤、减压浓缩, 粗产品经硅胶柱层析分离纯化, 在 PE 和 EA 的混合物 (PE : EA 为 5 : 1, 3 : 1) 中洗脱, 得到化合物 1 (图 1), 无色油状物, 产率为 97%。

化合物 2 ~ 9 的合成方法 (图 1) 同化合物 1, 区别在于中间产物 1A 与不同的叠氮化合物进行 Click 反应。

### 1.3 抗肿瘤活性的筛选

**1.3.1 细胞培养** 人食管癌 EC9706 细胞、胃癌 MGC-803 细胞及黑色素瘤 B16 细胞等细胞株用含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 培养, 同时加入  $0.01 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  链霉素与  $0.10 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  青霉素, 于 37 °C、体积分数 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中饱和湿度培养, 每 2 ~ 3 d 换液 1 次, 正常传代 3 次。

**1.3.2 MTT 法检测独一味素 A 和 B 及合成的 9 种化合物对肿瘤细胞的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration,  $\text{IC}_{50}$ )** 分别取对数期生长、状态良好的食管癌 EC9706 细胞、胃癌 MGC-803 细胞及黑色素瘤 B16 细胞, 制成单细胞悬液, 调节细胞密度为  $1 \times 10^2 \text{ L}^{-1}$ , 接种于 96 孔板, 每孔加入细胞悬液 100  $\mu\text{L}$ , 置于 37 °C 含体积分数 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h, 待细胞贴壁后分为给药组、对照组及空白组。给药组按预设的浓度梯度分别加入独一味素 A 和 B 及合成的 9 种化合物待测样品, 每个梯度测 6 次, 取均值。对照组加等体积的溶剂, 空白组加三蒸水, 培养 48 h 后, 每孔加入 20  $\mu\text{L}$  MTT, 然后置于 37 °C 培养箱中温育 4 h, 弃去上清液后加入 200  $\mu\text{L}$  DMSO, 震荡 10 min, 溶解沉淀, 然后用酶标仪于 492 nm 波长处检测吸光度值, 计算一定浓度下样品对细胞的抑制率。抑制率 = [(对照组吸光度值 - 空白组吸光度值) - (给药组吸光度值 - 空白组吸光度值)] / (对照组吸光度值 - 空白组吸光度值)  $\times 100\%$ , 以抑制率为横坐标, 药物浓度为纵坐标作图, 计算每个样品的  $\text{IC}_{50}$ ,  $\text{IC}_{50} \leq 100.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  为有抑制肿瘤细胞作用,  $\text{IC}_{50} > 100.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  为无抑制肿瘤细胞作用, 数据测定无意义。本实验重复 3 次, 取均值。



a:1 mL 3-丁炔-1-醇,1 mL HCl;b:2 mmol NaN<sub>3</sub>,2 mL DMF;c:5 mg CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O,5 mg 维生素 C 钠,4 mL THF-H<sub>2</sub>O。

图 1 化合物 1~9 的合成

Fig.1 Synthesis of compounds 1-9

2 结果

2.1 化合物 1~9 的结构特征 化合物 1:(1R, 4aS,5S,6S,7R,7aR)-methyl 1-(2-(1-benzyl-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl) ethoxy)-7-chloro-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopenta[ c ]pyran-4-carboxylate,产率为 97%,无色油状物。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 7.39~7.33 ( m,4H),7.28 ( s,1H),7.23 ( s,1H),7.22 ( s,1H),5.49 ( d,J=1.4 Hz,2H),4.98 ( d,J=1.7 Hz,1H),4.25 ( dd,J=5.9,3.9 Hz,1H),4.06~4.00 ( m,1H),3.99 ( d,J=3.81 Hz,1H),3.86~3.79 ( m,1H),3.75 ( s,3H),3.01 ( t,J=6.3 Hz,2H),2.84 ( dd,J=11.7,1.4 Hz,1H),2.77 ( dd,J=11.7,6.0 Hz,1H),1.65 ( s,3H);<sup>13</sup>C NMR (100 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 169.9,152.1,144.8,134.5,129.6×2,129.3,128.4×2,122.4,110.1,98.2,81.1,78.6,75.2,67.6,54.8,52.1,48.7,38.3,26.3,25.1;C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Na [ M + Na ]<sup>+</sup>高分辨质谱 (high-resdution mass spectrometer,HRESIMS)实测值 486.141 2,计算值 486.140 2。

化合物 2:(1R,4aS,5S,6S,7R,7aR)-methyl 7-chloro-1-(2-(1-(4-cyanobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl) ethoxy)-5,6-dihydroxy-7-methyl-1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopenta[ c ] pyran-4-carboxylate,产率为 87%,无色油状物。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 7.65 ( d,J=7.7 Hz,2H),7.41~7.31 ( m,4H),5.57(s,2H),5.13 ( s,1H),4.06 ( d,J=8.3 Hz,1H),4.01~3.95 ( m,1H),3.82~3.76 ( m,1H),3.74 ( s,3H),3.69 ( dd,J=9.2,4.3 Hz,1H),

3.26~2.86 ( m,4H),2.74 ( dd,J=11.6,4.2 Hz,1H),2.67 ( d,J=11.9 Hz,1H),1.17 ( s,3H);<sup>13</sup>C NMR (100 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 168.9,151.4,145.5,139.8,133.0×2,128.7×2,122.7,118.4,113.1,110.1,96.4,81.6,77.5,72.4,67.6,53.8,52.1,46.3,35.8,26.4,19.6;C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>Na [ M + Na ]<sup>+</sup>HRESIMS 实测值 511.135 4,计算值 511.135 5。

化合物 3:(1R,4aS,5S,6S,7R,7aR)-methyl 7-chloro-1-(2-(1-(4-fluorobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl) ethoxy)-5,6-dihydroxy-7-methyl-1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopenta[ c ] pyran-4-carboxylate,产率为 88%,无色油状物。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 7.49 ( s,1H),7.32 ( s,1H),7.29 ( dd,J=8.5,5.2 Hz,2H),7.06 ( t,J=8.5 Hz,2H),5.50 ( s,2H),5.16 ( s,1H),4.09 ( d,J=6.5 Hz,1H),3.41~3.94 ( m,1H),3.83~3.76 ( m,1H),3.74 ( s,3H),3.68 ( d,J=9.3 Hz,1H),3.09~2.93 ( m,2H),2.74 ( d,J=1.5 Hz,2H),1.17 ( s,3H);<sup>13</sup>C NMR (100 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 168.7,151.2,144.3,130.3×2,129.8,122.7,116.2×2,109.8,96.2,81.1,77.1,72.0,67.1,54.1,51.9,46.2,35.5,25.8,19.3;C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>FCIN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Na [ M + Na ]<sup>+</sup>HRESIMS 实测值 504.129 6,计算值 504.130 8。

化合物 4:(1R,4aS,5S,6S,7R,7aR)-methyl 7-chloro-5,6-dihydroxy-7-methyl-1-(2-(1-(4-nitrobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl) ethoxy)-1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopenta[ c ] pyran-4-carboxylate,产率为 82%,无色油状物。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,CDCl<sub>3</sub>):δ 8.22 ( d,J=8.7 Hz,2H),7.54 ( s,1H),7.42 ( d,J=8.6 Hz,2H),7.31 ( s,1H),5.66 ( s,2H),5.13

(s, 1H), 4.07 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 3.98 (dt,  $J = 9.7, 5.9$  Hz, 1H), 3.81 ~ 3.74 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.66 (dt,  $J = 9.3, 1.9$  Hz, 1H), 3.11 ~ 2.96 (m, 2H), 2.71 (d,  $J = 1.7$  Hz, 2H), 1.18 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.9, 151.4, 148.5, 145.2, 141.5, 129.0  $\times$  2, 124.6  $\times$  2, 110.2, 96.4, 81.5, 77.5, 72.4, 67.4, 53.8, 52.1, 46.3, 35.8, 31.3, 19.4;  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_8\text{Na}$  [M + Na] $^+$  HRESIMS 实测值 531.125 8, 计算值 531.125 3。

化合物 5: (1R, 4aS, 5S, 6S, 7R, 7aR)-methyl 7-chloro-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1-(2-(1-(4-methylbenzyl)-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl)ethoxy)-1, 4a, 5, 6, 7, 7a-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-carboxylate, 产率为 81%, 无色油状物。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.31 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.18 ~ 7.11 (m, 4H), 5.42 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 4.05 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 3.98 ~ 3.91 (m, 1H), 3.80 ~ 3.75 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.68 (dd,  $J = 9.2, 3.6$  Hz, 1H), 3.58 ~ 3.21 (m, 2H), 2.98 ~ 2.86 (m, 2H), 2.71 (dd,  $J = 11.8, 4.5$  Hz, 1H), 2.61 (d,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 1.16 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.7, 151.3, 144.7, 138.9, 131.5, 131.0  $\times$  2, 128.4  $\times$  2, 122.2, 110.1, 96.4, 81.6, 77.3, 72.4, 67.8, 54.4, 52.1, 46.4, 35.7, 26.3, 21.5, 19.5;  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_6\text{Na}$  [M + Na] $^+$  HRESIMS 实测值 500.154 5, 计算值 500.155 9。

化合物 6: (1R, 4aS, 5S, 6S, 7R, 7aR)-methyl 7-chloro-1-(2-(1-(4-ethylbenzyl)-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl)ethoxy)-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1, 4a, 5, 6, 7, 7a-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-carboxylate, 产率为 80%, 无色油状物。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.33 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.20 ~ 7.13 (m, 4H), 5.44 (s, 2H), 5.12 (s, 1H), 4.04 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 4.01 ~ 3.93 (m, 1H), 3.82 ~ 3.75 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.69 (dd,  $J = 9.3, 4.5$  Hz, 1H), 3.61 ~ 3.37 (m, 2H), 3.05 ~ 2.86 (m, 2H), 2.72 (dd,  $J = 11.9, 4.5$  Hz, 1H), 2.67 ~ 2.58 (m, 3H), 1.20 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 1.16 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.7, 151.3, 144.3, 135.4, 131.4, 128.8  $\times$  2, 128.6  $\times$  2, 122.5, 110.0, 96.2, 81.4, 77.3, 72.2, 67.3, 54.6, 52.0, 46.2, 35.6, 28.6, 26.0, 19.4, 15.5;  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_6\text{Na}$  [M + Na] $^+$  HRESIMS 实测值 514.171 3, 计算值 514.171 5。

化合物 7: (1R, 4aS, 5S, 6S, 7R, 7aR)-methyl 1-(2-(1-(4-(tert-butyl)benzyl)-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl)ethoxy)-7-chloro-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1, 4a, 5, 6, 7, 7a-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-carboxylate, 产率为 85%, 无色油状物。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.40 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.37 (s, 1H),

7.34 (s, 1H), 7.18 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 5.45 (d,  $J = 2.0$  Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 4.06 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 3.98 ~ 3.92 (m, 1H), 3.83 ~ 3.75 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.67 (dd,  $J = 9.3, 4.4$  Hz, 1H), 3.43 (br s, 2H), 3.04 ~ 2.90 (m, 2H), 2.73 (dd,  $J = 11.9, 4.1$  Hz, 1H), 2.67 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 1.27 (s, 9H), 1.17 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.7, 152.3, 151.3, 144.3, 131.2, 128.1  $\times$  2, 126.2  $\times$  2, 122.5, 110.0, 96.2, 81.4, 77.3, 72.2, 67.4, 54.4, 52.1, 46.2, 35.6, 34.8, 31.4  $\times$  3, 26.0, 19.4;  $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{ClN}_3\text{O}_6\text{Na}$  [M + Na] $^+$  HRESIMS 实测值 542.201 5, 计算值 542.202 8。

化合物 8: (1R, 4aS, 5S, 6S, 7R, 7aR)-methyl 7-chloro-1-(2-(1-(4-ethoxy-4-oxobutyl)-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl)ethoxy)-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1, 4a, 5, 6, 7, 7a-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-carboxylate, 产率为 80%, 无色油状物。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.33 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.35 (td,  $J = 6.8, 2.4$  Hz, 2H), 4.10 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.06 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 3.98 (dt,  $J = 9.8, 6.1$  Hz, 1H), 3.80 ~ 3.75 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.68 (dd,  $J = 9.3, 4.7$  Hz, 1H), 3.01 ~ 2.95 (m, 2H), 2.79 (dd,  $J = 11.9, 4.4$  Hz, 1H), 2.67 (d,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 2.30 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.21 ~ 2.12 (m, 2H), 1.23 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.19 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.7, 168.7, 151.5, 144.8, 122.3, 110.2, 96.4, 81.6, 77.4, 72.4, 67.8, 61.1, 52.1, 49.6, 46.5, 35.7, 31.1, 26.4, 25.6, 19.5, 14.5;  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_8\text{Na}$  [M + Na] $^+$  HRESIMS 实测值 510.160 7, 计算值 510.161 4。

化合物 9: (1R, 4aS, 5S, 6S, 7R, 7aR)-methyl 7-chloro-1-(2-(1-hexyl-1H-1, 2, 3-triazol-4-yl)ethoxy)-5, 6-dihydroxy-7-methyl-1, 4a, 5, 6, 7, 7a-hexahydrocyclopenta [c] pyran-4-carboxylate, 产率为 86%, 无色油状物。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.38 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 5.18 (s, 1H), 4.28 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 4.08 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H), 4.00 ~ 3.92 (m, 1H), 3.83 ~ 3.75 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.67 (dd,  $J = 9.2, 4.2$  Hz, 1H), 3.34 (br s, 2H), 3.07 ~ 2.93 (m, 2H), 2.76 (dd,  $J = 11.9, 4.3$  Hz, 1H), 2.70 (d,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 1.91 ~ 1.80 (m, 2H), 1.33 ~ 1.25 (m, 6H), 1.19 (s, 3H), 0.86 (t,  $J = 5.3$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  168.9, 151.5, 144.4, 122.4, 110.2, 96.4, 81.6, 77.5, 72.4, 67.7, 52.1, 50.8, 46.4, 35.8, 31.4, 30.5, 26.4, 26.0, 22.5, 19.6, 14.0;  $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{ClN}_3\text{O}_6\text{Na}$  [M + Na] $^+$  HRESIMS 实测值 480.188 3, 计算值 480.187 2。

**2.2 独一味素 A 和 B 及独一味素 A 结构衍生物的体外抗肿瘤活性** 结果见表 1。独一味素 A 和 B 有轻微的抗肿瘤活性,其 1,2,3-三氮唑衍生物中苯环、脂肪环的引入均能提高母体化合物的抗肿瘤活性。尤其是苯环对位被吸电子基及空间位阻比较大的叔丁基取代的衍生物 7 对胃癌 MGC-803 细胞抑制活性较好。

表 1 独一味素 A 衍生物的体外抗肿瘤活性

Tab.1 Antitumor activity of lamiophlomiol A derivants in vitro

化合物	IC <sub>50</sub> / (μmol · L <sup>-1</sup> )		
	EC9706	MGC803	B16
独一味素 A 和 B	>100.0	77.1 ± 1.9	68.6 ± 1.8
1	>100.0	94.3 ± 1.9	66.4 ± 1.8
2	65.2 ± 1.8	64.7 ± 1.8	84.8 ± 1.9
3	51.0 ± 1.7	>100.0	90.6 ± 1.9
4	35.5 ± 1.5	79.9 ± 1.9	60.9 ± 1.8
5	34.9 ± 1.5	31.6 ± 1.5	43.1 ± 1.6
6	33.6 ± 1.5	29.1 ± 1.4	20.1 ± 1.3
7	11.4 ± 1.0	2.3 ± 0.3	22.6 ± 1.3
8	>100.0	23.2 ± 1.3	96.3 ± 1.9
9	23.5 ± 1.3	12.1 ± 1.0	9.9 ± 0.9
FU	6.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.5 ± 2.6

注: FU 为阳性对照药。

3 讨论

为了提高独一味素 A 和 B 的生物活性,本实验探讨出独一味素 A 和 B 引入活性基团三氮唑的合成方法,并对合成的衍生物进行抗肿瘤活性的研究。本研究结果显示,独一味素 A 的 1,2,3-三氮唑衍生物的抗肿瘤活性明显强于原料独一味素 A 和 B。其中,1,2,3-三氮唑衍生物上取代基 R 官能团在抗肿瘤活性方面起着非常重要的作用,并且结构中苯环上取代基的电子属性及空间位阻对抗肿瘤活性方面也有不同程度的影响,苯环上无取代基的衍生物(化合物 1)未表现出很强的抗肿瘤活性,而苯环上含有吸电子基团如 4-CN,4-F,4-NO<sub>2</sub>(化合物 2、3、4)或者含有给电子基团如 4-CH<sub>3</sub> 和 4-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(化合物 5 和 6)的衍生物的抗肿瘤活性明显优于苯环上无取代基的衍生物(化合物 1),尤其是苯环上含有空间位阻比较大的 4-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>衍生物(化合物 7),对食管癌 EC9706 细胞和胃癌 MGC-803 细胞的抑制活性分别是独一味素 A 和 B 的 10 倍和 38 倍,对胃癌 MGC-803 细胞抑制活性优于阳性对照药品 FU。含酯基的脂肪链衍生物(化合物 8)对胃癌 MGC-803 细胞的抑制作用是独一味素 A 和 B 的 3 倍,含碳链较长的脂肪链衍生物(化合物 9)对食管癌 EC9706 细胞、胃癌 MGC-803 细胞和黑色素瘤 B16 细胞的抑制活性分别是独一味素 A 和 B 的 5 倍、6 倍和 7 倍。

参考文献:

[1] 易进海,钟炽昌,罗泽渊,等. 藏药独一味根化学成分的研究[J]. 药学学报,1991(1):37-41.

[2] DING M M, YAN F L, TAN J, et al. Two new dammarane-type glycosides from *Phlomis umbrosa*[J]. *Nat Prod Res*,2014,28(1):18-23.

[3] SHANG X F, WANG J H, LI M X, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Phlomis umbrosa* Turcz extract [J]. *Fitoterapia*,2011,82(4):716-721.

[4] KROHN K, GEHLE D, DEY S K, et al. Prismatomerin a new iridoid from prismatomeris tetrandra. structure elucidation, determination of absolute configuration, and cytotoxicity [J]. *J Nat Prod*,2007,70(8):1339-1343.

[5] ISMAILOGLU U B, SARACOGLU I, HARPUT U S, et al. Effects of phenylpropanoid and iridoid glycosides on free radical-induced impairment of endothelium-dependent relaxation in rat aortic rings [J]. *J Ethnopharmacol*,2002,79(2):193-197.

[6] CHANG II-MOO. Antiviral activity of aucubin against hepatitis B virus replication[J]. *Phytother Res*,2015,11(3):189-192.

[7] CHANG I M, RYU J C, PARK Y C, et al. Protective activities of aucubin against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice [J]. *Drug Chem Toxicol*,1983,6(5):443-453.

[8] WEST B J, PALMER S K, DENG S, et al. Antimicrobial activity of an iridoid rich extract from morinda citrifolia fruit [J]. *Curr Res J Biol Sci*,2012,4(1):52-54.

[9] SANGHVI Y S, BHATTACHARYA B K, KINI G D, et al. Growth inhibition and induction of cellular differentiation of human myeloid leukemia cells in culture by carbamoyl congeners of ribavirin [J]. *J Med Chem*,1990,33(1):336-344.

[10] AUFORT M, HERSCOVICI J, BOUHOURS P, et al. Synthesis and antibiotic of a small molecules library of 1,2,3-triazole derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*,2008,18:1195-1198.

[11] ZHU X F, CHEN X B, YAN M, et al. Stereoselective synthesis and biological activities of O-(E)-1-[1-[(6-chloropyridin-3-yl)methyl]-5-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-ylethyleneamino-O-ethyl-O-arylphosphorothioates [J]. *Cheminform*,2008,39(19):15-20.

[12] BANU K M, DIANAKAR A, ANANTHANARAYANAN C. Synthesis and characterization antimicrobial studies and pharmacological screening of some substituted 1,2,3-triazoles [J]. *Indian J Pharm Sci*,1999,61(4):202-205.

[13] GALLARDO H, CONTE H, RYK G, et al. Synthesis and evaluation of 1-alkyl-4-phenyl-[1,2,3]-triazole derivatives as antimycobacterial agent [J]. *J Bras Che Soc*,2007,18(6):1285-1291.

[14] JULION M, STEVENS M F G. Antitumour polycyclic acridines. Part 5. 1 Synthesis of 7H-pyrido [4,3,2-kl] acridines with exploitable functionality in the pyridine ring [J]. *J Chem Soc Perkin Trans*,1998,10(10):1677-1684.

[15] KAMAL A, SHANKARAI AH N, DEVAIAH V, et al. Synthesis of 1,2,3-triazole-linked pyrrolobenzodiazepine conjugates employing "click" chemistry: DNA-binding affinity and anticancer activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*,2008,18(4):1468-1473.

[16] THIRUMURUGAN P, MATOSIUK D, JOZWIAK K. Click chemistry for drug development and diverse chemical-biology applications [J]. *Chem Rev*,2013,113(7):4905-4979.