

文章编号 1006-8147(2016)03-0195-04

论 著

新型吲哚类衍生物的合成及体外免疫抑制活性的初步研究

赵阳¹, 王翼腾², 李楠^{1,2}, 陈诗雅², 李覃², 陈虹^{1,2}, 刘艳霞¹

(1. 天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070; 2. 中国人民武装警察部队后勤学院生药与药剂学教研室, 天津 300309)

摘要 目的: 以土槿乙酸结构特征为模板, 吲哚为母核合成类土槿乙酸化合物, 以期得到有更高免疫抑制活性的吲哚类衍生物。方法: 对5-醛基吲哚和5-羧基吲哚的1,3,5位进行改造。1位进行烷基化改造, 3位通过维尔斯迈尔-哈克反应与醛胺缩合反应进行延长, 5位通过克脑文格反应与缩合酰化反应进行延长, 得到吲哚类衍生物。经氢谱和高分辨质谱对其进行结构表征。采用噻唑蓝(MTT)法检测目标化合物对小鼠T、B淋巴细胞增殖的抑制作用。**结果:** 合成得到两个系列共7个化合物, 所有的化合物都经过HR-ESI-MS和¹H-NMR验证, 其中化合物5c对T细胞和B细胞有一定的增殖抑制活性, 化合物9a, 9b对B细胞有一定增殖抑制活性。**结论:** 通过模拟土槿乙酸的长链结构合成了新的吲哚的类似物, 发现了具有一定的免疫抑制活性的先导化合物。

关键词 5-醛基吲哚; 5-羧基吲哚; 土槿乙酸; 免疫抑制活性

中图分类号 R9

文献标志码 A

Synthesis and evaluation of novel indole derivatives as potential immunosuppressive drugs

ZHAO Yang¹, WANG Yi-teng², LI Nan^{1,2}, CHEN Shi-ya², LI Tan², CHEN Hong^{1,2}, LIU Yan-xia¹

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmacognosy, Logistic University of PAP, Tianjin 300309, China)

Abstract Objective: To obtain indole derivatives with higher immunosuppressive activity, by synthesizing indole derivatives. **Methods:** Structural modifications of indole-5-carboxaldehyde and 5-carboxy-indole were obtained through alkylation on N-1, Vilsmeier-Haack reaction and aldehyde-amine condensation on C-3, Knoevenagel reaction and acylated condensation on C-5. All the compounds were characterized by ¹H-NMR and HR-MS. Meanwhile, MTT assay was used to test their inhibiting activities on murine T and B cells. **Results:** Seven compounds of the two series were obtained; all of them were confirmed by HR-ESI-MS and ¹H-NMR validation. Compound 5c showed a certain degree of inhibiting activity against T cells and B cells. Compounds 9a and 9b showed a certain degree of inhibitory activity against B cells. **Conclusion:** By simulating the structures of two long chains of pseudolaric acid B, new indole analogues are synthesized and some of them may show a certain degree of immunosuppressive activity.

Key words indole-5-carboxaldehyde; 5-carboxy-indole; pseudolaric acid B; immuno suppressive activity

土槿皮是松科植物金钱松的根皮及近根皮, 其在我国作为抗真菌的中药已有悠久的历史^[1]。土槿乙酸(pseudolaric acid B)是从土槿皮中分离得到的新型二萜酸化合物, 本课题组系列研究显示土槿乙酸具有良好的抑制淋巴细胞增殖的作用, 作用机制新颖^[2-3]。金钱松为我国特有松科植物, 生长周期较长使土槿乙酸来源受限导致其进一步的研究受阻。其次, 土槿乙酸全合成步骤繁琐, 产率低, 无实用价值^[4-5]。所以亟需探索它的类似结构的新化合物。非甾体抗炎药吲哚美辛(indomethacin)通过对环氧合

酶的抑制而起到抗炎作用, 除了用于解热、镇痛、抗炎外, 还广泛地应用于泌尿生殖系统、消化系统、神经系统以及眼科、小儿科疾病的治疗, 吲哚母核为人体内源性物质, 具有良好的生物相容性^[6-8]。此外, 与吲哚环相似的其它类型的苯并五元环结构如苯并咪唑也被发现具有一定的免疫抑制活性^[9-10]。因此, 基于土槿乙酸结构特征, 探索与土槿乙酸结构类似的且有一定免疫抑制活性的吲哚母核类似物, 具有重要的意义。本文根据土槿乙酸和吲哚美辛结构特点对5-醛基吲哚和5-羧基吲哚的1,3,5位进行结构改造, 设计合成了两个系列共7个化合物, 以期得到具有一定免疫抑制活性的吲哚类衍生物。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 核磁共振仪: Bruker Advance 2B/

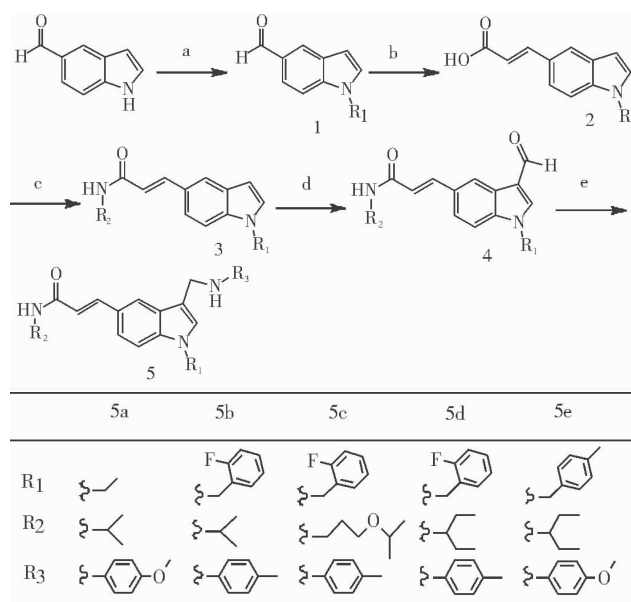
基金项目 国家自然科学基金资助项目(30873363); 天津市应用基础项目基金资助(08JCYBJC070000)

作者简介 赵阳(1993-), 男, 硕士在读, 研究方向: 天然产物结构改造; 通信作者: 刘艳霞, E-mail: liu_yanxia126@126.com。

400M;XT 显微熔点仪; 高分辨质谱仪:Agilent 6210 LC-TOF;酶标仪:美国,BIORAD 550;土槿乙酸系武警后勤学院生药学实验室从金钱松根皮中提取分离得到;霉酚酸酯、1-羟基苯并三唑(HOBT)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺(EDCI)盐酸盐、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(分子筛干燥)、CH₂Cl₂(钠块回流干燥)、CH₃OH(镁粉回流干燥)等所用药品及化学合成溶剂均购自天津康科德科技有限公司。

1.2 合成方法

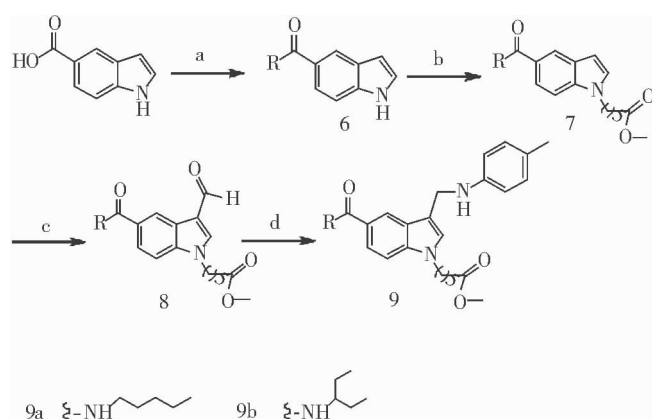
1.2.1 合成路线 见图1、2。



反应条件: (a) R-X, NaH, DMF, 0 °C -r.t., 4 h; (b) CH₂(COOH)₂, Piperidine, DMF, 90 °C, 8 h, Reflux; (c) Amines, Et₃N, EDCI, HOBT, CH₂Cl₂, r.t., 8 h; (d) POCl₃, DMF, 70 °C, 6 h; (e) Aromatic amines, NaBH₃CN, CH₃OH, 0 °C -r.t., 2 h

图1 化合物5a-5e的合成路线

Fig 1 Schematic route of 5a-5e compound



反应条件: (a) Amines, Et₃N, EDCI, HOBT, CH₂Cl₂, r.t., 8 h; (b) Methyl 6-bromohexanoate, NaH, DMF, 0 °C -r.t., 4 h; (c) POCl₃, DMF, 70 °C, 6 h; (d) 4-Methylaniline, NaBH₃CN, CH₃OH, 0 °C -r.t., 2 h

图2 化合物9a、9b的合成路线

Fig 2 Schematic route of 9a, 9b compound

1.2.2 化合物5a-5e的合成通法 将5-醛基吲哚(0.145 g, 1 mmol)溶于10 mL DMF中,冰浴下缓慢加入NaH(0.048 g, 2 mmol),冰浴搅拌2 h,然后逐滴加入卤代烃(1.2 mmol),0.5 h后移至室温条件下反应2 h,TLC检测反应完全。在冰浴条件下向反应液中滴加蒸馏水,不断搅拌,直至析出固体不再增加,抽滤得固体即化合物1,40 °C减压干燥24 h。

将化合物1(1 mmol)溶于10 mL DMF中,加入CH₂(COOH)₂(0.312 g, 3 mmol)、哌啶(0.043 g, 0.5 mmol)后于90 °C条件下不断搅拌,回流反应8 h,TLC检测反应完全。于冰浴条件下向反应液中滴加蒸馏水,不断搅拌,直至析出固体不再增加,抽滤得固体即化合物2,40 °C减压干燥24 h。

将化合物2(1 mmol)溶于10 mL无水CH₂Cl₂中,冰浴下加入1.2倍量的HOBT和EDCI盐酸盐,滴加两滴三乙胺溶液,反应0.5 h后加入脂肪胺(1.2 mmol)置于常温反应8 h,TLC检测反应完全,依次用5%的盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液、蒸馏水以及饱和食盐水洗涤1次,减压蒸干,经柱层析分离,得化合物3。

将POCl₃(1.615 g, 10 mmol)逐滴滴入DMF(0.731 g, 10 mmol)中,15 °C混合搅拌0.5 h,将化合物3(1 mmol)溶于DMF中,然后逐滴滴加POCl₃和DMF的混合溶液,加热70 °C反应6 h,TLC检测反应完全。反应液稀释于冰水中,40%NaOH中和,搅拌3 h后静置于冰箱,直至固体析出,抽滤得固体即化合物4,40 °C减压干燥24 h。

将化合物4(1 mmol)和芳香胺(1.2 mmol)溶于10 mL无水CH₃OH中,滴加两滴冰醋酸,冰浴下缓慢加入NaBH₃CN(1.5 mmol, 0.095 g),0.5 h后移至常温反应2 h,TLC检测反应完全,向反应液中逐滴滴加蒸馏水,直至析出固体不再增加,抽滤得固体即终产物5,40 °C减压干燥24 h。

1.2.3 化合物9a、9b的合成通法 将5-羧基吲哚(0.161 g, 1 mmol)溶于10 mL无水CH₂Cl₂中,冰浴下加入1.2倍量的HOBT和EDCI盐酸盐,滴加两滴三乙胺溶液,反应0.5 h后加入正戊胺(此为化合物11a, 11b则加入2-乙基丙胺)(1.2 mmol)置于常温反应8 h,TLC检测反应完全,依次用5%的盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液、蒸馏水以及饱和食盐水洗涤1次,减压蒸干,经柱层析分离,得化合物6。

将化合物6溶于10 mL DMF中,冰浴下缓慢加入NaH(0.048 g, 2 mmol),冰浴搅拌2 h,然后逐滴加入6-溴己酸甲酯(1.2 mmol),0.5 h后移至室

温条件下反应 2 h, TLC 检测反应完全。于冰浴条件下向反应液中滴加蒸馏水, 不断搅拌, 直至析出固体不再增加, 抽滤得固体即化合物 7, 40 °C 减压干燥 24 h。

将 POCl_3 (1.615 g, 10 mmol) 逐滴滴入 DMF (0.731 g, 10 mmol) 中, 15 °C 混合搅拌 0.5 h, 将化合物 7 (1 mmol) 溶于 DMF 中, 然后逐滴滴加 POCl_3 和 DMF 的混合溶液, 加热 70 °C 反应 6 h, TLC 检测反应完全。反应液稀释于冰水中, 40% NaOH 中和, 搅拌 3 h 后静置于冰箱, 直至固体析出, 抽滤得固体即化合物 8, 40 °C 减压干燥 24 h。

将化合物 8 (1 mmol) 和对甲基苯胺 (1.2 mmol) 溶于 10 mL 无水 CH_3OH 中, 滴加两滴冰醋酸, 冰浴下缓慢加入 NaBH_3CN (0.095 g, 1.5 mmol), 0.5 h 后移至常温反应 2 h, TLC 检测反应完全, 向反应液中逐滴滴加蒸馏水, 直至析出固体不再增加, 抽滤得固体即终产物 9, 40 °C 减压干燥 24 h。

1.3 MTT 法检测化合物对小鼠 T 细胞和 B 细胞增殖的抑制作用活性 无菌条件下取小鼠脾脏并制备淋巴细胞悬液, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6/\text{mL}$, 加入 ConA (B 细胞则为 LPS) 至终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。以每孔 100 μL 培养于 96 孔板中, 每个药物设置 4 个浓度 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 每个浓度 3 个平行复孔, 以土槿乙酸和霉酚酸酯为阳性药, 并以 RPMI1640 培养液代替细胞为调零孔。阴性对照组加入与给药组等体积的培养基, 置于 37 °C, 5% CO_2 温箱中, 孵育 48 h。48 h 后, 每孔加 20 μL 5 mg/mL MTT 溶液 (PBS 配制)。37 °C 继续孵育 4 h, 吸弃上清, 每孔加入三联液 100 μL 溶解甲紫颗粒, 轻度振荡溶解, 放置过夜。用酶标仪检测, 以波长 490 nm 测定光密度值 (OD), 以 ConA (B 细胞则为 LPS) 处理的细胞为阴性对照组, 以 RPMI1640 培养液为空白对照组, 用以下公式计算抑制率:

抑制率 = (阴性对照组 OD 值 - 加药组 OD 值) / (阴性对照组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) $\times 100\%$ 。

1.4 统计学方法 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 化合物的表征数据

5a: 黄色固体, 产率 27%, m.p. 165 °C–166 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.73 (s, 1H, H-1'), 7.72–7.67 (m, 1H, H-3), 7.32 (m, $J = 26.1, 9.6, 1.6$ Hz, 2H, H-2, 2'), 7.11 (s, 1H, H-4), 6.83 (m, $J = 8.8, 2.9$ Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.76–6.71 (m, 2H, H-2'', 5''), 6.26 (dd, $J = 13.7, 6.4$ Hz, 1H, H-1), 4.43 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H, H-

CH_2-1''), 4.22 (m, $J = 13.7, 7.2$ Hz, 1H, H-3'), 4.12 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H, H- CH_2-1'''), 3.79–3.76 (s, 3H, H-OCH₃), 1.44 (dd, $J = 9.4, 5.2$ Hz, 3H, H- CH_3-2'''), 1.25–1.19 (s, 6H, H- $\text{CH}_3-4', 5'$)。HR-ESI-MS: m/z 414.214 4 for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2\text{Na}^+$, 414.215 2)。

5b: 黄色固体, 产率 23%, m.p. 155 °C–156 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.79 (s, $J = 10.7$ Hz, 1H, H-1'), 7.71 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H-3), 7.38–7.17 (m, 3H, H-4, 4'', 5''), 7.11 (s, 1H, H-2), 7.09–7.03 (m, 1H, H-2'''), 7.00 (t, $J = 8.7$ Hz, 3H, H-2', 3'', 4''), 6.85 (m, $J = 22.1, 11.1, 4.3$ Hz, 1H, H-3'''), 6.61 (t, $J = 9.9$ Hz, 2H, H-2'', 5''), 6.32 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H-1), 5.25 (s, 2H, H- CH_2-1'''), 4.39 (s, 2H, H- CH_2-1''), 4.26–4.15 (m, 1H, H-3'), 2.24 (d, $J = 10.0$ Hz, 3H, H- CH_3-5''), 1.20 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H, H- $\text{CH}_3-4', 5'$)。HR-ESI-MS: m/z 478.226 5 for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{FN}_3\text{ONa}^+$, 478.226 1)。

5c: 黄色固体, 产率 21%, m.p. 143 °C–144 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.78 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H, H-1'), 7.75–7.62 (m, 1H, H-3), 7.33 (m, $J = 13.3, 8.5, 3.1$ Hz, 3H, H-2, 4, 4''), 7.16 (s, 1H, H-2''), 7.11–7.05 (m, 1H, H-2'), 7.01 (dd, $J = 6.7, 6.0$ Hz, 2H, H-4, 3''), 6.91–6.83 (m, 1H, H-5''), 6.64 (dd, $J = 17.9, 7.7$ Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.36–6.26 (m, 2H, H-2'', 5''), 5.30 (s, 2H, H- CH_2-1'''), 4.43 (s, $J = 7.8$ Hz, 2H, H- CH_2-1''), 3.63–3.52 (m, 3H, H-6, H- CH_2-5), 3.49 (dd, $J = 12.1, 5.9$ Hz, 2H, H- CH_2-3''), 2.30–2.20 (s, 3H, H- CH_3-6''), 1.82 (dt, $J = 11.9, 5.9$ Hz, 2H, H- CH_2-4'), 1.20–1.14 (m, 6H, H- $\text{CH}_3-7', 8'$)。HR-ESI-MS: m/z 536.267 8 for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{FN}_3\text{O}_2\text{Na}^+$, 536.268 4)。

5d: 黄色固体, 产率 25%, m.p. 166 °C–167 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (s, 1H, H-1'), 7.75–7.66 (m, 1H, H-3), 7.37–7.31 (m, 1H, H-2), 7.27–7.25 (m, 2H, H-4, 4''), 7.18–7.14 (s, 1H, H-2'), 7.11–7.04 (m, 2H, H-2'', 3''), 7.02 (d, $J = 8.6$ Hz, 3H, H-3'', 4'', 4'''), 6.72 (t, $J = 9.4$ Hz, 2H, H-2'', 5''), 6.41 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, H-1), 5.26 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H, H- CH_2-1'''), 4.49–4.40 (m, 2H, H- CH_2-1''), 4.01–3.88 (m, 1H, H-3'), 2.24 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H, H- CH_3-6''), 1.66–1.54 (m, 2H, H- CH_2-6'), 1.44 (td, $J = 14.4, 7.3$ Hz, 2H, H- CH_2-4'), 0.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H, H- $\text{CH}_3-5', 7'$)。HR-ESI-MS: m/z 506.255 4 for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{ONa}^+$, 506.257 8)。

5e: 黄色固体, 产率 19%, m.p. 171 °C–172 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.93 (s, 1H, H-1'), 7.87 (d, J

= 15.3 Hz, 1H, H-3), 7.38 (dt, $J = 11.3, 5.6$ Hz, 1H, H-4), 7.31–7.26 (m, 1H, H-2), 7.14–7.06 (m, 3H, H-2', 3'', 4''), 6.96 (dd, $J = 12.3, 6.3$ Hz, 3H, H-1, 3'', 5''), 6.81–6.77 (m, 4H, H-2'', 3''', 4''', 5'''), 5.21 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, H-CH₂-1'''), 4.48 (s, 2H, H-CH₂-1''), 4.41–4.32 (m, 1H, H-3'), 3.75 (d, $J = 3.0$ Hz, 3H, H-OCH₃), 2.30 (d, $J = 12.1$ Hz, 3H, H-CH₃-6'''), 2.07–1.92 (m, 2H, H-CH₂-6'), 1.81–1.69 (m, 2H, H-CH₂-4'), 0.87 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H, H-CH₃-5', 7')。HR-ESI-MS: m/z 518.277 3 for $[M+Na]^+$ (calcd for C₃₂H₃₇N₃O₂Na⁺, 518.277 8)。

9a: 黄色固体, 产率 30%, m.p. 122 °C–123 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H, H-2), 7.71 (m, $J = 6.9, 3.5$ Hz, 1H, H-3), 7.36–7.29 (m, 1H, H-3), 7.11 (s, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-4), 7.02 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-3'', 4''), 6.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-2'', 5''), 4.46 (s, 2H, H-CH₂-1''), 4.09 (m, $J = 7.0$ Hz, 2H, H-CH₂-1'''), 4.05–3.99 (m, 1H, H-1'), 3.67–3.62 (m, 3H, H-CH₃-6'''), 2.30 (m, $J = 14.9, 6.4$ Hz, 2H, H-CH₂-5'''), 2.26 (s, 3H, H-CH₃-6''), 1.87–1.77 (m, 2H, H-CH₂-2'''), 1.69–1.60 (m, 4H, H-CH₂-2', 4'), 1.51 (m, $J = 14.4, 7.4$ Hz, 2H, H-CH₂-4'''), 1.34–1.25 (m, 2H, H-CH₂-3'''), 0.96 (m, $J = 7.4$ Hz, 6H, H-CH₃-3', 5')。HR-ESI-MS: m/z 500.288 0 for $[M+Na]^+$ (calcd for C₂₉H₃₉N₃O₃Na⁺, 500.288 4)。

9b: 黄色固体, 产率 32%, m.p. 128 °C–129 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H, H-2), 7.71 (dd, $J = 8.6, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.30 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-3), 7.11 (s, 1H, H-4), 7.01 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H-3', 4'), 6.64 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-2', 5'), 4.44 (s, 2H, H-CH₂-1''), 4.07 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, H-CH₂-1'''), 3.64 (s, $J = 3.7$ Hz, 3H, H-CH₃-6'''), 3.45 (dd, $J = 13.1, 7.2$ Hz, 2H, H-CH₂-1'), 2.28 (dd, $J = 12.1, 4.7$ Hz, 2H, H-CH₂-5'''), 2.25 (s, 3H, H-CH₃-6''), 1.82 (dt, $J = 14.8, 7.2$ Hz, 2H, H-CH₂-2'''), 1.66–1.59 (m, 4H, H-CH₂-2', 4'''), 1.40–1.31 (m, 6H, H-CH₂-2', 3', 3''), 0.92–0.88 (m, 3H, H-CH₃-5')。HR-ESI-MS: m/z 500.288 1 for $[M+Na]^+$ (calcd for C₂₉H₃₉N₃O₃Na⁺, 500.288 4)。

2.2 目标化合物体外免疫抑制活性测定 表 1 是合成化合物与阳性对照药霉酚酸酯 (MMF) 和土槿乙酸 (PB) 对 T 细胞和 B 细胞的药理活性结果, 可以看出化合物 5c 对 T 细胞和 B 细胞增殖有一定的抑制活性, 化合物 9a、9b 对 B 细胞增殖有一定抑制活性。

表 1 化合物对 T、B 细胞增殖的体外增殖抑制活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 *In vitro* inhibitory effects of novel indole derivatives($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物	抑制率($10^{-5} \mu\text{mol/L}$)	
	T Cell	B Cell
5a	-2.593±0.204	-9.820±0.587
5b	21.453±1.246	-6.757±0.254
5c	37.417±1.822	38.568±0.651
5d	24.393±0.843	10.000±0.472
5e	14.018±0.756	0.905±0.045
9a	7.187±0.367	43.455±1.309
9b	25.365±1.114	44.909±0.884
PB	50.773±1.965	43.604±1.449
MMF	60.241±1.624	55.128±1.804

3 讨论

3.1 合成方法 由 5-醛基吲哚得到目标化合物 5a–5e 共经过了 5 步化学反应, 5-羧基吲哚得到目标化合物 9a、9b 共经过 4 步化学反应, 它们的反应类型是基本一致的, 区别在于吲哚环 1 位进行烷基化的顺序不一样。对于 5-醛基吲哚来说, 其应该首先进行烷基化反应, 原因在于 5 位的醛基需要在高温条件下进行克脑文格尔反应, 而吲哚环是不稳定的, 1 位经过烷基化后吲哚母核会有较好的稳定性。对于 5-羧基吲哚来说, 烷基化反应必须在羧基经过缩合酰化后才能进行, 如果首先进行烷基化反应, 活化 1 位所用的氢化钠会与羧基反应, 从而导致氢化钠用量的增加, 产率的降低。这两条合成路线的缺点在于反应步数较多, 产物难处理, 有的反应还需在高温条件下进行, 以至于产率降低、副产物增多以及分离难度加大。

3.2 药理活性 药理活性结果显示: 通过与化合物 5b、5d 相比较可以看出, 化合物 5c 3 位的异丙氧基丙烷长链结构可能是其产生 T 细胞抑制活性的原因; 与化合物 5d 相比较可知 9a、9b 1 位的己酸甲酯长链结构可能是其产生 B 细胞抑制活性的原因。因此, 可以考虑在接下来的试验中尝试将异丙氧基丙烷和己酸甲酯长链结构同时引入吲哚环结构中。

本文通过两种不同的反应路线模拟土槿乙酸的两个长臂结构合成了 7 个目标化合物, 其中 5c、9a、9b 分别对 T 细胞和 B 细胞产生了一定的增殖抑制活性, 虽然与霉酚酸酯还有差距, 但是吲哚类衍生物显示出了很好的研究前景。

参考文献:

- [1] 李晓翠, 苗爱东, 张洪峰, 等. 土荆皮的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(29): 3301
- [2] Li T, Chen H, Yang Z, et al. Topical application of Pseudolaric acid

(下转第 203 页)

3 讨论

3.1 合成方法 本文采用 CDI 缩合法合成脲类鬼臼毒素衍生物,相比于其他脲类化合物的合成方法,如异氰酸酯法、三光气法、氯甲酸酯法,CDI 缩合法合成步骤少、处理反应简单、合成产率相对较高。缺点是对试剂和反应底物的无水要求较高,CDI 自身在空气中容易吸潮失效,不易把握用量标准。反应中所接基团不宜太大,否则空间位阻影响产率和产物纯度;中间体化合物 4 不稳定容易分解,应及时监测反应进度。

3.2 构效关系 VP-16 又名依托泊苷,拓扑异构酶 II 抑制剂,临床上应用于小细胞肺癌的一线化疗药物,以 VP-16 作为阳性药是由于其在临床上的广泛应用,以及其基本母核与鬼臼毒素相关,能够说明改造后的效果是否显著。根据表 1 所示药理结果可以看出,化合物 5 b 和化合物 5 g 抑制肿瘤细胞增殖作用较差,推测是正丙胺基和甲氧基的引入降低了抗肿瘤活性。其中 6 a 和 5 f 的体外抗肿瘤活性较好,提示哌嗪环的引入利于提高鬼臼毒素抗肿瘤活性,且其位阻相对适当,引入苯环等芳香环状结构将降低衍生物的抗肿瘤活性,化合物 6 a 活性最好,具有进一步研究前景。

参考文献:

- [1] 杨显志,邵华,张玲琪.鬼臼毒素资源研究现状[J].中草药,2001,23(11):85
- [2] Liu X, Zhang L L, Xu X H, et al. Synthesis and anticancer activity of

dichloroplatinum (II) complexes of podophyllotoxin[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23(13): 3780

- [3] Choi J Y, Cho H J, Hwang S G, et al. Podophyllotoxin acetate enhances γ -ionizing radiation-induced apoptotic cell death by stimulating the ROS/p38/caspase pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2015, 70: 111
- [4] Kamal A, Telukutla S, Polepalli S, et al. Synthesis and biological evaluation of 4-aza-2, 3-dihydropyridophenanthrolines as tubulin polymerization inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(15): 3356
- [5] Liu J F, Sang C Y, Xu X H, et al. Synthesis and cytotoxic activity on human cancer cells of carbamate derivatives of 4 β -(1, 2, 3-triazol-1-yl) podophyllotoxin[J]. Eur J Med Chem, 2013, (64): 621
- [6] Kamal A, Suresh P, Ramaiah M J, et al. 4 β -[4'-(1-(Aryl) ureido) benzamide] podophyllotoxins as DNA topoisomerase I and II α inhibitors and apoptosis inducing agents[J]. Bioorg Med Chem, 2013, 21(17): 5198
- [7] Zhang Z J, Tian J, Wang L T, et al. Design, synthesis and cytotoxic activity of novel sulfonylurea derivatives of podophyllotoxin [J]. Bioorg Med Chem, 2014, 22(1): 204
- [8] Ai T, Shi S Y, Chen L T, et al. Synthesis and anti-tumor activity evaluation of novel podophyllotoxin derivatives[J]. Chinese Chemical Letters, 2013, 24(1): 37
- [9] Cheng W H, Cao B, Shang H, et al. Synthesis and evaluation of novel podophyllotoxin derivatives as potential antitumor agents[J]. Eur J Med Chem, 2014, 85: 498
- [10] Zhang Z H, Zhang L M, Luo G, et al. Synthesis and biological evaluation of novel podophyllotoxin analogs as antitumor agents[J]. J Asian Nat Prod Res, 2014, 16(5): 527

(2015-10-08 收稿)

(上接第 198 页)

- B improve DNFB-induced contact hypersensitivity via regulating the balance of Th1/Th17/Treg cell subsets[J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 45(5): 668
- [3] Wei N, Li T, Chen H, et al. The immunosuppressive activity of pseudolaric acid B on T lymphocytes in vitro[J]. Phytother Res, 2013, 27(7): 980
- [4] Padwa A. Intramolecular cycloaddition of carbonyl ylides as a strategy for natural product synthesis[J]. Tetrahedron, 2011, 67(42): 8057.
- [5] Pan B C, Chang H Y, Cai G L, et al. Synthetic studies on pseudolaric acid A[J]. Pure Appl Chem, 1989, 61(3): 389
- [6] 孔令春. 吡啶美辛的临床应用进展[J]. 海峡药学, 2006, 18(2): 116
- [7] Busbee P B, Nagarkatti M, Nagarkatti P S. Natural indoles, indole-3-carbinol and 3,3'-diindolymethane, inhibit T cell activation by

staphylococcal enterotoxin B through epigenetic regulation involving HDAC expression[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2014, 274(1): 7

- [8] Carbonnelle D, Lardic M, Dassonville A, et al. Synthetic N-pyridinyl (methyl)-indol-3-ylpropanamides as new potential immunosuppressive agents[J]. Eur J Med Chem, 2007, 42(5): 686
- [9] Rajasekaran S, Rao G A. Chatterjee, synthesis, anti-inflammatory and antioxidant activity of some substituted benzimidazole derivatives[J]. Int J Drug Dev Res, 2012, 4 (3): 303
- [10] Mohammed A F, Abdel-Moty S G, Hussein M A, et al. Design, synthesis and molecular docking of some new 1,2,4-triazolobenzimidazol-3-yl acetohydrazide derivatives with anti-inflammatory-analgesic activities[J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(12): 1465

(2015-12-18 收稿)