

文章编号 1006-8147(2016)05-0381-05

论 著

## 呋喃鬼臼毒素衍生物及其抗肿瘤活性研究

成伟华<sup>1,2</sup>, 牛 聪<sup>3</sup>, 孙强稳<sup>4</sup>, 陈 虹<sup>5</sup>, 邹忠梅<sup>2</sup>

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 原子高科股份有限公司, 北京 102413; 3. 武警总医院医务部, 北京 100039; 4. 武警 8720 部队医院药械科, 无锡 214000; 5. 武警后勤学院生药学教研室, 天津 300309)

**摘要** 目的: 获得抗肿瘤活性更强的鬼臼毒素衍生物。方法: 以鬼臼毒素为起始原料, 通过把取代呋喃和鬼臼毒素拼接, 设计并合成 5 个 4β-N-取代呋喃鬼臼毒素衍生物, 目标产物的结构通过 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 和 HRMS 的确证, 同时采用 MTT 法评价新化合物对 HeLa, K562 和 K562/A02 的细胞毒活性。结果: 合成的 5 个化合物均具有确切的细胞毒活性, 其中化合物 7c 和 11b 对于耐药肿瘤细胞 K562/A02 的活性明显优于阳性对照依托泊苷。结论: 把取代呋喃连接到鬼臼毒素可以增加抗肿瘤活性。

**关键词** 鬼臼毒素; 结构修饰; 抗肿瘤活性。

中图分类号 R9

文献标志码 A

### Synthesis and evaluation of furanoid podophyllotoxin derivatives with anticancer activity

CHENG Wei-hua<sup>1,2</sup>, NIU Cong<sup>3</sup>, SUN Qiang-wen<sup>4</sup>, CHEN Hong<sup>5</sup>, ZOU Zhong-mei<sup>2</sup>

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. Atom High Tech Co. LTD., Beijing 102413, China; 3. General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China; 4. 8720 Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Wuxi 214000, China; 5. Pharmacognosy Division, Medical College of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China)

**Abstract** **Objective:** To acquire novel podophyllotoxin derivatives with higher antitumor activity. **Methods:** The podophyllotoxin derivatives were synthesized using podophyllotoxin as the starting material through substituted furfuran and success split joint podophyllotoxin. Five 4β-N-substituted furfuran podophyllotoxin derivatives were designed, synthesized, and confirmed by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and HRMS. *In vitro*, cytotoxicities were tested against three human tumor cells (HeLa, K562, K562/A02) by MTT. **Results:** All compounds showed improved activities against HeLa and K562 when compared with VP-16. In particular, compound 7c, 11b exhibited the most potent activity toward drug-resistant K562/A02 cells, as compared to VP-16. **Conclusion:** Substituted furan connected to the podophyllotoxin could increase antitumor activity.

**Key words** podophyllotoxin; structure modification; antitumor activity.

癌症严重威胁人类的健康和生命,已成为人类第一位的致死性病因,现有的肿瘤化学治疗药物存在疗效低、毒性大、难于吸收、价格昂贵及易于产生耐药性等缺点,因此,全球每年投入大量的人力及物力寻找和开发防治癌症的新药<sup>[1]</sup>。鬼臼毒素是从鬼臼属(*Dysosma*)植物中分离得到的具有显著抗肿瘤活性的芳基四氢萘类木脂素内酯。由于鬼臼毒素的毒性较大在应用上受到很大的限制,此后经过结构修饰合成得到鬼臼毒素衍生物依托泊苷(VP-16)和替尼泊苷(VM-26),并成为抗肿瘤临床药物<sup>[2]</sup>。但它们在临床使用中却常常受到限制,其中最主要的

问题是水溶性差和存在骨髓抑制等毒副作用<sup>[3-4]</sup>。构效关系研究表明保留反式内酯环的基础上,C-4位是比较有效的修饰位点,C-4位可以通过氧、硫、氮原子来连接。一般而言,以氮原子连接的衍生物的活性都比较好,而4β-氮取代鬼臼毒素衍生物对多种人类癌细胞株显示出比VP-16还要高的抗癌活性<sup>[5-7]</sup>。为进一步寻找更为高效和低毒的抗肿瘤新药,本研究分析鬼臼毒素类化合物构效关系,在保留C-4位取代基的β构型及内酯环的反式取向的基础上,集中在C-4位上设计合成了一系列4β-氮取代鬼臼毒素衍生物,其结构经<sup>1</sup>H-NMR,<sup>13</sup>C-NMR和HRMS的确证,并经MTT法筛选了该类衍生物的体外抗肿瘤和抗多药耐药活性。

### 1 仪器与方法

1.1 仪器与试剂 熔点测定仪:Fisher-Johns 熔点仪(温度计未校正)。核磁共振光谱用 BRUKER

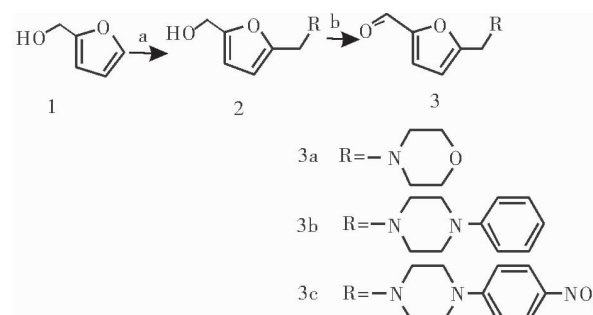
基金项目 国家自然科学基金资助项目(30873363);国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09307-002-01,2013ZX09508104)

作者简介 成伟华(1985-),男,助理研究员,博士,研究方向:天然产物结构修饰及放射性药物研究;通信作者:邹忠梅,E-mail:zmzou@implad.ac.cn。

BRUKER ARX-600 型核磁仪测定,采用  $\text{CDCl}_3$  为溶剂,四甲基硅烷(TMS)为内标,偶合常数(J)以赫兹(Hz)为记录单位。高分辨质(HR-ESI-MS)在 Quattro Micro<sup>TM</sup> API(Waters, Milford, MA)质谱仪上测定,比旋光度在 Perkin-Elmer 241 MC 旋光仪上于室温(25 °C)测定,光源选择钠灯 D 线。薄层色谱(TLC)(GF254, 0.5 mm, 青岛产),柱层色谱硅胶:60-100 目,100-200 目,200-300 目均为青岛海洋化工厂产品,薄层层析硅胶:GF 254(青岛海洋化工厂)。MQX-200 酶标仪;Bio-Tek. Instruments Inc.,USA。鬼臼毒素(98%)购自南京青泽医药科技开发有限公司。若无特殊说明,实验试剂均为市售化学纯或分析纯,未经说明没有另外纯化。

**1.2 合成路线** 本路线采用糠醇为起始原料,首先在冰醋酸条件下与  $\text{R}_2\text{NR}_3$  发生 Mannich 反应生成 N-取代呋喃中间体,然后经过氧化生成 N-取代呋喃

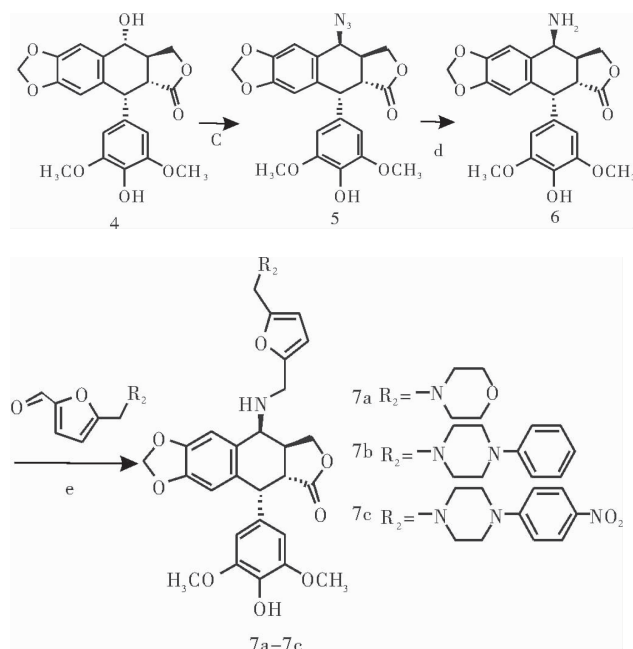
喃甲醛中间体 3a-3c(图 1),该中间体在常温条件下与 4 $\beta$ -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素或 4 $\beta$ -氨基-4'-去甲基-4-脱氧表鬼臼毒素发生反应后,再经还原反应生成目标化合物 7a-7c 和 11a-11b(图 2)。



反应条件:(a)  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{HCHO}/\text{amines}$ ; (b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MnO}_2$

图1 化合物 3a-3c 的合成路线

Fig 1 Synthesis of compound 3a-3c



反应条件:(c)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ; (d)  $\text{EtOAc}$ , 10%  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{HCOONH}_4$ ; (e)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{MeOH}$

图2 化合物 7a-7c, 11a-11b 的合成路线

Fig 2 Synthesis of compound 7a-7c, 11a-11b

合成中间体 4 $\beta$ -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素采用在三氟乙酸条件下,鬼臼毒素与叠氮化钠发生取代反应制得中间体 4 $\beta$ -叠氮基-4-脱氧表鬼臼毒素,中间体 4 $\beta$ -叠氮基-4-脱氧表鬼臼毒素在 10%  $\text{Pd/C}$  催化下被甲酸铵还原为 4 $\beta$ -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素<sup>[8-9]</sup>。

### 1.3 合成实验

#### 1.3.1 鬼臼毒素类衍生物中间体的合成

**1.3.1.1 4 $\beta$ -氨基-4-脱氧表鬼臼毒素 10 的合成:** 将鬼臼毒素 8(4.14 g, 10 mmol)溶于 50 mL 干燥二氯甲烷中,小心加入  $\text{NaN}_3$ (2.60 g, 40 mmol)搅拌使其溶解,0 °C 下将 10 mL  $\text{CF}_3\text{COOH}$  缓慢滴加到反应

液中,反应1 h后,室温反应4 h。TLC检测反应完成,0℃下,滴入NaHCO<sub>3</sub>饱和溶液至无气泡为止,分出有机层,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,减压蒸干,粗品用二氯甲烷:乙酸乙酯(1:1)重结晶,得白色晶体4β-叠氮-4'-脱氧表鬼臼毒素9 3.99 g,收率89%。将4β-叠氮-4'-脱氧表鬼臼毒素9(4.39 g,10 mmol)溶于50 mL乙酸乙酯中,加入10% Pd/C(1.00 g),HCOONH<sub>4</sub>(2.52 g,40 mmol),加热回流搅拌5 h,TLC检测反应完全,过滤回收Pd/C,滤液用饱和食盐水洗3遍,减压蒸干得白色泡沫状固体粗产物4β-氨基-4'-脱氧表鬼臼毒素10 3.63 g,收率88%,不经进一步分离纯化可直接用于下一步反应<sup>[10]</sup>。

1.3.1.2 4β-氨基-4'-去甲基-4'-脱氧表鬼臼毒素6的合成:将4'-去甲基鬼臼毒素4(4.00 g,10 mmol)溶于50 mL干燥二氯甲烷中,小心加入NaN<sub>3</sub>(2.60 g,40 mmol)搅拌使其溶解,0℃下将10 mL CF<sub>3</sub>COOH缓慢滴加到反应液中,反应1 h,室温反应4 h。TLC检测反应完成,0℃下,滴入NaHCO<sub>3</sub>饱和溶液至无气泡为止,分出有机层,无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,减压蒸干,粗品用二氯甲烷:乙酸乙酯(1:1)重结晶,得白色晶体4β-叠氮-4'-去甲基-4'-脱氧表鬼臼毒素5 3.82 g,收率90%。将4β-叠氮-4'-去甲基-4'-脱氧表鬼臼毒素5(4.25 g,10 mmol)溶于50 mL乙酸乙酯中,加入10% Pd/C(1.00 g),HCOONH<sub>4</sub>(2.52 g,40 mmol),加热回流搅拌5 h,TLC检测反应完全,过滤回收Pd/C,滤液用饱和食盐水洗3遍,减压蒸干得白色泡沫状固体粗产物4β-氨基-4'-去甲基-4'-脱氧表鬼臼毒素6 3.63 g,收率88%,不经进一步分离纯化可直接用于下一步反应<sup>[10]</sup>。

1.3.2 中间体3a-3c的合成 将1 mmol糠醇1、1.2 mmol不同的二级胺和1.5 mmol甲醛水溶液溶于15 mL冰醋酸中,40℃反应2~4 h,TLC检测反应完全,减压尽量回收冰醋酸,然后用饱和NaOH溶液调节pH值为10~11,用乙酸乙酯萃取3次(3×30 mL),无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,减压旋干后,溶于10 mL干燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中,加入10 mmol活性MnO<sub>2</sub>室温反应2 h,减压旋干后,柱层析得到N-取代呋喃甲醛中间体3a-3c。

1.3.3 目标化合物7a-7c的合成 将0.6 mmol取代呋喃甲醛中间体3a-3c、4β-氨基-4'-去甲基-4'-脱氧表鬼臼毒素6(0.5 mmol)溶于10 mL无水甲醇中,加入3滴冰乙酸做为催化剂,室温搅拌反应4~8 h,TLC检测反应完全。将反应液温度降至0℃,加入3 mmol NaBH<sub>4</sub>。加入完毕后,补加适量无水甲醇,0℃搅拌反应3~6 h,直至原料全部反应完毕(TLC检测)。滴加5%稀盐酸调节pH至7.5,减压旋干,

加入20 mL蒸馏水超声使其呈混悬状态,加入等体积二氯甲烷萃取,有机相无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,减压旋干得到粗品,粗品经柱层析(二氯甲烷:甲醇)纯化得到目标产物7a-7c,收率58%~75%。

1.3.4 目标化合物11a和11b的合成 将0.6 mmol取代呋喃甲醛中间体3a和3c、4β-氨基-4'-脱氧表鬼臼毒素10(0.5 mmol)溶于10 mL无水甲醇中,加入3滴冰乙酸做为催化剂,室温搅拌反应4~8 h,TLC检测反应完全。将反应液温度降至0℃,加入3 mmol NaBH<sub>4</sub>。加入完毕后,补加适量无水甲醇,0℃搅拌反应3~6 h,直至原料全部反应完毕(TLC检测)。滴加5%稀盐酸调节pH至7.5,减压旋干,加入20 mL蒸馏水超声使其呈混悬状态,加入等体积二氯甲烷萃取,有机相无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,减压旋干得到粗品,粗品经柱层析(二氯甲烷:甲醇)纯化得到目标产物11a-11b,收率69%~71%。

1.4 MTT法检测体外抗肿瘤活性 对数生长期细胞培养于96孔培养板内,每孔100 μL(含5 000~6 000个肿瘤细胞),置37℃,5% CO<sub>2</sub>温箱中培养。次日,给药组加入含有不同浓度的化合物,每种细胞设4~5个剂量组,每组至少设3个平行孔。对照组加入与给药组等体积的溶剂。置37℃,5% CO<sub>2</sub>温箱中培养。48 h后弃培养液,每孔加20 μL 5 mg/mL MTT溶液(培养基配制)。37℃孵育4 h,弃上清液,每孔加入DMSO 150 μL溶解甲皱颗粒,轻度振荡溶解。用酶标仪在参考波长450 nm、检测波长570 nm条件下测定光密度值(OD),以溶剂对照处理的细胞为对照组,用下面公式计算药物对细胞的抑制率,根据计算得到的各浓度的抑制率通过Logit方法计算得到半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>),重复测试3次,取平均值为最终结果<sup>[11]</sup>。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组平均 OD 值} - \text{给药组平均 OD 值}}{\text{对照组平均 OD 值}} \times 100\%$$

## 2 结果

### 2.1 化合物的表征数据

7a:白色固体,收率:68%,mp:218~219℃; <sup>1</sup>H NMR(600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.45(s, 1H, 5-H), 6.34(s, 1H, 8-H), 6.27(s, 2H, 2',6'-H), 6.23(d, J = 3.1 Hz, 1H, 4-Furan-H), 6.21(d, J = 3.1 Hz, 1H, 3-Furan-H), 5.93(d, J = 1.4 Hz, 1H, α-OCH<sub>2</sub>O), 5.91(d, J = 1.4 Hz, 1H, β-OCH<sub>2</sub>O), 4.51(d, J = 5.2 Hz, 1H, 1-H), 4.32-4.19(m, 2H, 11-CH<sub>2</sub>-), 3.91(d, J = 3.9 Hz, 1H, 4-H), 3.89(d, J = 15.0 Hz, 1H, α-CH<sub>2</sub>-Morpholine), 3.76-3.73(m, 4H, 3,5-Morpholine-H), 3.74(s, 6H, 3',5'-OCH<sub>3</sub>), 3.60(d, J = 15.0 Hz, 1H, β-CH<sub>2</sub>-Morpholine), 3.57



(d,  $J = 1.9$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Furan-}$ ), 3.30 (dd,  $J = 13.8$ , 5.3 Hz, 1H, 2-H), 2.79–2.70 (m, 1H, 3-H), 2.55–2.49 (m, 4H, 2,6-Morpholine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.51, 153.36, 147.63, 147.25, 146.39, 133.99, 132.38, 131.82, 131.13, 110.09, 108.54, 108.37, 108.00, 101.29, 68.45, 66.73, 56.43, 55.44, 54.63, 53.36, 46.61, 43.52, 41.36, 38.62. HR-ESI-MS  $m/z$ : 579.2352  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 理论值: 579.2343  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

7b: 白色固体, 收率: 75 %, mp: 212–223 °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.31–7.27 (m, 2H, 3,5-ArH), 6.95 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H, 2,6-ArH), 6.89 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H, 4-ArH), 6.48 (s, 1H, 5-H), 6.39 (s, 1H, 8-H), 6.31 (s, 1H, 4-Furan-H), 6.29 (s, 2H, 2',6'-H), 6.25 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, 3-Furan-H), 5.91 (d,  $J = 1.4$  Hz, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O-}$ ), 4.55 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, 1-H), 4.35–4.25 (m, 2H, 11- $\text{CH}_2\text{-}$ ), 3.95 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1H, 4-H), 3.94 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\alpha\text{-CH}_2\text{-Piperazine}$ ), 3.78 (s, 6H, 3',5'- $\text{OCH}_3$ ), 3.70 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Furan-}$ ), 3.66 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\beta\text{-CH}_2\text{-Piperazine}$ ), 3.34 (dd,  $J = 13.8$ , 5.2 Hz, 1H, 2-H), 3.32–3.26 (m, 4H, 3,5-Piperazine-H), 2.83–2.78 (m, 1H, 3-H), 2.78–2.68 (m, 4H, 2,6-Piperazine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.46, 151.09, 149.60, 147.65, 147.24, 146.39, 146.30, 133.93, 132.32, 131.82, 131.14, 129.12, 129.10, 119.90, 116.17, 116.14, 110.11, 108.62, 108.35, 108.03, 107.97, 101.25, 68.43, 68.01, 67.60, 56.48, 56.44, 54.72, 52.74, 48.77, 46.64, 43.52, 41.35, 38.61. HR-ESI-MS  $m/z$ : 654.2818  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 理论值: 654.2815  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

7c: 黄色固体, 收率: 58 %, mp: 218–219 °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.15 (d,  $J = 9.4$  Hz, 2H, 3,5-ArH), 6.85 (d,  $J = 9.4$  Hz, 2H, 2,6-ArH), 6.49 (s, 1H, 5-H), 6.44 (s, 1H, 8-H), 6.31 (s, 1H, 4-Furan-H), 6.30 (s, 2H, 2',6'-H), 6.26 (s, 1H, 3-Furan-H), 5.93–5.91 (m, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O-}$ ), 4.54 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H, 1-H), 4.34–4.22 (m, 2H, 11- $\text{CH}_2\text{-}$ ), 3.95 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1H, 4-H), 3.92 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\alpha\text{-CH}_2\text{-Piperazine}$ ), 3.79 (s, 6H, 3',5'- $\text{OCH}_3$ ), 3.72 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\beta\text{-CH}_2\text{-Piperazine}$ ), 3.70–3.60 (d,  $J = 1.9$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Furan-}$ ), 3.56–3.45 (m, 4H, 3,5-Piperazine-H), 3.33 (dd,  $J = 13.8$ , 5.2 Hz, 1H, 2-H), 2.83–2.76 (m, 1H, 3-H), 2.77–2.63 (m, 4H, 2,6-Piperazine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.20, 152.56, 149.39, 148.01, 147.26, 137.21, 135.75, 132.14, 129.55, 125.91, 115.55, 112.79, 110.53, 108.81, 108.39, 101.43, 67.97, 67.61, 60.75, 56.29, 52.29, 46.92,

44.09, 41.44, 37.69. HR-ESI-MS  $m/z$ : 699.4907  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 理论值: 699.2666  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

11a: 白色固体, 收率: 69 %, mp: 219–220 °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.48 (s, 1H, 5-H), 6.37 (s, 1H, 8-H), 6.28 (s, 2H, 2',6'-H), 6.27 (s, 1H, 4-Furan-H), 6.23 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, 3-Furan-H), 5.96 (d,  $J = 1.3$  Hz, 1H,  $\alpha\text{-OCH}_2\text{O-}$ ), 5.95 (d,  $J = 1.3$  Hz, 1H,  $\beta\text{-OCH}_2\text{O-}$ ), 4.55 (d,  $J = 5.3$  Hz, 1H, 1-H), 4.35–4.24 (m, 2H, 11- $\text{CH}_2\text{-}$ ), 3.94 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H, 4-H), 3.92 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\alpha\text{-CH}_2\text{-Morpholine}$ ), 3.80–3.75 (m, 4H, 3,5-Morpholine-H), 3.78 (s, 3H, 4'- $\text{OCH}_3$ ), 3.76 (s, 6H, 3',5'- $\text{OCH}_3$ ), 3.66 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\beta\text{-CH}_2\text{-Morpholine}$ ), 3.61 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Furan-}$ ), 3.35 (dd,  $J = 13.8$ , 5.3 Hz, 1H, 2-H), 2.83–2.75 (m, 1H, 3-H), 2.64–2.48 (m, 4H, 2,6-Morpholine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.38, 152.44, 147.64, 147.28, 137.09, 135.63, 132.33, 131.63, 110.10, 108.56, 108.35, 108.30, 101.29, 68.41, 66.61, 60.72, 56.22, 54.67, 53.26, 46.62, 43.67, 41.24, 38.66. HR-ESI-MS  $m/z$ : 593.2569  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 理论值: 593.2499  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

11b: 黄色固体, 收率: 71 %, mp: 221–223 °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.13–8.09 (m, 2H, 3,5-ArH), 6.82–6.79 (m, 2H, 2,6-ArH), 6.45 (s, 1H, 5-H), 6.40 (s, 1H, 8-H), 6.25 (s, 2H, 2',6'-H), 6.24 (s, 1H, 4-Furan-H), 6.21 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, 3-Furan-H), 5.88 (s, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O-}$ ), 4.52 (d,  $J = 5.3$  Hz, 1H, 1-H), 4.31–4.21 (m, 2H, 11- $\text{CH}_2\text{-}$ ), 3.91 (d,  $J = 3.9$  Hz, 1H, 4-H), 3.89 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\alpha\text{-CH}_2\text{-Piperazine}$ ), 3.79 (s, 3H, 4'- $\text{OCH}_3$ ), 3.72 (s, 6H, 3',5'- $\text{OCH}_3$ ), 3.68 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H,  $\beta\text{-CH}_2\text{-Piperazine}$ ), 3.64 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{-Furan-}$ ), 3.46 (q,  $J = 5.9$ , 5.4 Hz, 4H, 3,5-Piperazine-H), 3.31 (dd,  $J = 13.8$ , 5.3 Hz, 1H, 2-H), 2.80–2.73 (m, 1H, 3-H), 2.70–2.60 (m, 4H, 2,6-Piperazine-H).  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.35, 154.75, 152.47, 147.66, 147.28, 135.58, 132.35, 131.72, 125.91, 112.65, 110.18, 108.58, 108.41, 108.32, 101.26, 68.41, 60.72, 56.28, 54.88, 52.29, 46.84, 46.72, 43.68, 41.25, 38.67. HR-ESI-MS  $m/z$ : 713.2826  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 理论值: 713.2823  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

2.2 细胞毒性测定 测试5个新的鬼臼毒素衍生物的细胞毒活性(表1)。结果显示所合成的5个新化合物都具有细胞毒活性, 其中化合物7c和11b对于耐药肿瘤细胞K562/A02的活性明显优于阳性对照依托泊苷。

表1 目标化合物对 HeLa, K562 和 K562/A02 细胞增殖的抑制活性 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 1 Inhibiting activity of target compounds against HeLa, K562 and K562/A02 proliferation ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Com.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	IC <sub>50</sub> / (μmol/L)		
			HeLa	K562	K562/A02
7a	-H		1.01±0.21	>100	>1 000
7b	-H		18.98±0.98	45.46±2.06	157.29±5.23
7c	-H		1.02±0.25	7.01±1.01	29.40±3.21
11a	-CH <sub>3</sub>		8.34±0.77	13.24±1.21	109.36±5.55
11b	-CH <sub>3</sub>		8.34±0.82	8.99±0.99	21.12±1.51
VP-16			6.27±0.62	3.39±0.45	234.7±6.67

### 3 讨论

以天然产物鬼臼毒素结构为基础,设计并合成了5个未见文献报道的4β-N-取代呋喃鬼臼毒素衍生物,化合物结构经<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR和HR-ESI-MS确证,以依托泊苷为阳性对照,MTT法测试了所合成的5个4β-N-取代呋喃鬼臼毒素衍生物对HeLa, K562和K562/A02肿瘤细胞的细胞毒活性,结果表明,与阳性对照VP-16相比,所合成化合物细胞毒活性均较强,其中末端取代基为NO<sub>2</sub>的化合物,对于耐药的K562/A02细胞具有较强的活性,值得进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 柳青.全球影响癌症发病的9种行为与环境危险因素[J].中华医学杂志, 2006, 86(1):44

- [2] Imbert T F. Discovery of podophyllotoxins[J]. Biochimie,1998, 80(3): 207
- [3] Gordaliza M, García P A, del Corral J M, et al. Podophyllotoxin: distribution, sources, applications and new cytotoxic derivatives [J]. Toxicon, 2004, 44(4):441
- [4] Hande K R. Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor[J]. Eur J Cancer, 1998, 34(10):1514
- [5] Xiao Z, Xiao Y D, Feng J, et al. Antitumor agents. 213. Modeling of epipodophyllotoxin derivatives using variable selection k nearest neighbor QSAR method[J]. J Med Chem, 2002, 45(11):2294
- [6] Vanvliet D S, Tachibana Y, Bastow K F, et al. Antitumor agents. 207. Design, synthesis, and biological testing of 4β-anilino-2-fluoro-4'-demethylpodophyllotoxin analogues as cytotoxic and antiviral agents[J]. J Med Chem, 2001, 44(9):1422
- [7] Zhou X M, Wang Z Q, Chang J Y, et al. Antitumor agents. 120. New 4-substituted benzylamine and benzyl ether derivatives of 4'-O-demethylepipodophyllotoxin as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II[J]. J Med Chem,1991,34(12):3346
- [8] 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
- [9] Cheng W H, Shang H, Niu C, et al. Synthesis and evaluation of new podophyllotoxin derivatives with in vitro anticancer activity [J]. Molecules, 2015, 20(7):12266
- [10] Kamal A, Laxman N, Ramesh G. Facile and efficient one-pot synthesis of 4 beta-arylamino podophyllotoxins:synthesis of DNA topoisomerase II inhibitors(NPF and W-68)[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2000,10(18):2059
- [11] Jin J M, Zhang Y J, Yang C R. Spirostanol and furostanol glycosides from the fresh tubers of Polianthes tuberosa[J]. J Nat Prod, 2004,67(1):5

(2016-03-01 收稿)

(上接第 380 页)

- [11] Thompson D B, Siref L E, Feloney M P, et al. Immunological basis in the pathogenesis and treatment of bladder cancer[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2015, 11(2):265
- [12] Rajala P, Kaasinen E, Rintala E, et al. Cytostatic effect of different strains of Bacillus Calmette-Guérin on human bladder cancer cells in vitro alone and in combination with mitomycin C and interferon-α[J]. Urol Res, 1992, 20(3):215
- [13] Garcia C, Jina H, Bergersen P, et al. Bladder contracture - A rare and serious side effect of intravesical bacillus Calmette-Guérin therapy[J]. Urol Case Rep, 2016,4:22
- [14] Moriwaki Y, Begum N A, Kobayashi M, et al. Mycobacterium bovis

Bacillus calmette-Guerin and its cell wall complex induce a novel lysosolipopo-lysaccharide and p53-inducible gene, LITAF (PIG7), and estrogen-inducible gene, EET-1[J]. J Biol Chem, 2001, 276(25): 23065

- [15] Ryll R, Watanabe K, Fujiwara N, et al. Mycobacterial cord factor, but not sulfolipid, causes depletion of NKT cells and upregulation of CD1d1 on murine macrophages[J]. Microbes Infect, 2001, 3(8):611
- [16] 董亚利, 白景文, 沈伟, 等. BCG 对体外培养人癌细胞直接作用的扫描电镜观察[J]. 天津医科大学学报, 1995, 1(2):23

(2016-03-08 收稿)