

- [4] Wang Y ,Zhang DM ,Ye WC ,*et al.* Triterpenoid saponins from *Androsace umbellata* and their anti - proliferative activities in human hepatoma cells [J]. *Planta Med* ,2008 ,74(10) : 1280 - 1284.
- [5] Lei J ,Xiao YC ,Huang J ,*et al.* Two new kaempferol glycosides from *Androsace umbellata* [J]. *Helv Chim Acta* ,2009 ,92(7) : 1439 - 1444.
- [6] 郑瑞霞 ,杨峻山. 中国沙棘果实化学成分的研究 [J]. *中草药* 2006 ,37(8) : 1154 - 1155.
- [7] 王玉杰 ,孙启时. 金田草的化学成分研究 [J]. *中国药物化学杂志* 2005 ,15(6) : 357 - 359.
- [8] 邱林刚 ,连敏 ,马忠武 ,等. 西藏红豆杉的双黄酮 [J]. *植物学报* ,1989 ,31(1) : 54 - 56.
- [9] Li SH ,Zhang HJ ,Niu XM ,*et al.* Chemical constituents from *Amentotaxus yunnanensis* and *Torreya yunnanensis* [J]. *J Nat Prod* 2003 ,66: 1002 - 1005.
- [10] 范晓磊 ,徐嘉诚 ,林幸华 ,等. 翠云草中双黄酮类成分研究 [J]. *中国药学期刊* 2009 ,44(1) : 15 - 19.
- [11] 王武宝 ,巴杭 ,阿吉艾克拜尔 • 艾萨 ,等. 新疆圆柏化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发* 2005 ,17(5) : 588 - 591.
- [12] 江雪平 ,陈科力. 江南卷柏中双黄酮类化合物的研究 [J]. *中国药学期刊* 2009 ,44(2) : 96 - 98.
- [13] 徐丽珍 ,陈真 ,孙南君. 脉叶罗汉松化学成分的研究 [J]. *植物学报* ,1993 ,35(2) : 138 - 143.
- [14] Adolfo M ,Iribarren B ,Pomilio A. Components of *Bauhinia candicans* [J]. *J Nat Prod* ,1983 ,46(5) : 752 - 753.
- [15] 李宝强 ,宋启示. 云南蕊木枝叶化学成分研究 [J]. *中草药* ,2008 ,39(9) : 1299 - 1301.
- [16] Leitao SG ,Kaplan MAC ,Monache FD ,*et al.* Sterols and sterol glucosides from two *Aegiphila species* [J]. *Phytochemistry* ,1992 ,31(8) : 2813 - 2817.

收稿日期:2011 - 01 - 03

薯蓣皂苷元抗肿瘤衍生物的设计和合成(II)

曾春玲 耿 倩 吴亚克 范举正*

(四川大学华西药学院 四川 成都 610041)

摘要: 目的 合成薯蓣皂苷元衍生物并进行其体外抗肿瘤活性的研究。方法 运用 Autodock 进行目标分子辅助设计。薯蓣皂苷元通过 Mitsunobu 反应合成 1 - (3 α - 薯蓣皂苷元) - 1 2 β - 三氮唑和 1 - (3 α - 薯蓣皂苷元) - 1 2 β - 三氮唑两个中间体 ,再分别与不同的溴代物反应得到一系列的盐。采用 MTT 法对人恶性黑色素瘤细胞 A375、人肺腺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG - 2 进行体外抗肿瘤活性试验。结果 共合成了 14 个化合物 ,其中有 10 个为新化合物 ,结构均经¹HNMR、¹³CNMR 鉴定。所测化合物均具有一定的抗肿瘤活性。结论 化合物 I、XIII 的抗肿瘤活性与阳性对照品相当。

关键词: 薯蓣皂苷元衍生物; 分子对接; 合成; 抗肿瘤活性

中图分类号:R914

文献标志码:A

文章编号:1006 - 0103(2011) 05 - 0423 - 06

The design and synthesis of diosgenin anti - tumor derivatives(II)

ZENG Chun - ling ,GENG Qian ,WU Ya - ke ,FAN Ju - zheng*

(West China School of Pharmacy ,Sichuan University ,Chengdu ,Sichuan ,610041 ,China)

Abstract: **OBJECTIVE** To design and synthesize the diosgenin derivatives and investigate their antitumor activity *in vitro*. **METHODS** The target molecules were designed by Autodock based on the mechanism. 1 - (3 α - diosgenin) - 1 2 β - triazole and 1 - (3 α - diosgenin) - 1 2 β - triazole ,which then obtained from diosgenin via Mitsunobu reaction reacted with different bromide complex compounds to give a series of salts. The antitumor activity of all the compounds against human malignant melanoma A375 cells ,human lung adenocarcinoma A549 cells ,human hepatoma HepG - 2 cells *in vitro* by MTT assay. **RESULTS** 10 compounds were new among these 14 compounds. The structures of the ten new compounds were characterized by ¹HNMR ,¹³CNMR. All the tested compounds showed antitumor effects to a certain degree. **CONCLUSION** The anti - tumor activity of compounds I and XIII was comparable with the positive reference substance.

Key words: Diosgenin derivatives; Molecular docking; Synthesis; Antitumor activity

CLC number: R914

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103(2011) 05 - 0423 - 06

薯蓣皂苷元(diosgenin) 是从薯蓣科植物穿山龙 的根中分离出来的一种植物甾体化合物 ,具有广谱

作者简介:曾春玲(1985—) ,男 ,正攻读药物化学专业的硕士学位。Email: zengchunling01@ 163. com

* 通信作者(Correspondent author) ,Email: david - 811@ 163. com

的抗肿瘤活性^[1-2]。薯蓣皂苷元主要通过诱导细胞凋亡而发挥抗肿瘤作用^[3-5]。通过对文献中薯蓣皂苷元诱导细胞凋亡的机制分析,选择细胞凋亡线粒体途径中的 Bcl-2 蛋白为作用靶点,运用 Autodock4.0 等软件分析其结合位点氨基酸残基的特征并进行分子对接研究,以指导薯蓣皂苷元抗肿瘤衍生物的设计。作者在已有研究结果^[6]的基础上,针对 Bcl-2 受体蛋白活性位点中疏水区域的特征,在 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-1,2,3-三氮唑和 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-1,2,4-三氮唑中引入不同类型的取代基团,考察其占据疏水区域对分子抗肿瘤活性的影响;计算并分析其与 Bcl-2 受体蛋白的结合自由能(EFEB)和抑制常数(Ki 值),根据结合自由能(EFEB)的大小选择化合物并进行合成。所合成的化合物均以专利化合物 1-(3 β -薯蓣皂苷元)-3-苄基咪唑溴盐为阳性对照,采用 MTT 法测定其对多种细胞株的体外抗肿瘤活性。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

¹HNMR、¹³CNMR 用 Varian Unity Nova 400/54 核磁型核磁共振仪(美国 Varian,以 CDCl₃ 和 DMSO-d₆ 为溶剂,TMS 为内标)测定;熔点用 X4 数字显微熔点仪(北京福凯科技发展有限公司)测定,温度未校正。薯蓣皂苷元(南京青泽医药科技有限公司,纯度 98%);溶剂为分析纯。

1.2 分子对接

采用 Autodock4.0 分子对接软件,预测化合物与受体大分子蛋白的结合情况。用于对接的 Bcl-2 蛋白晶体结构取自蛋白质 PDB 晶体结构数据库(<http://www.rcsb.org/pdb>),代码为 2O21。用 autogrid4.0 计算格点能量,网格大小设为 60×60×60,格点间隔设为 0.375 Å,中心坐标为原复合物配体的中心坐标:3.375,7.033,3.388。采用拉马克遗传算法进行优化;化合物和受体之间的结合情况用半经验的自由能计算方法评价。对接进行 2 次计算,第一次得到 50 个构象,选出最优的构象进行第二次对接,得到 200 个构象。其余参数均为默认值。

1.3 制备方法

1.3.1 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-三氮唑溴盐类衍生物(I~IV) 按文献^[7]方法合成 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-苄基-1,2,3-三氮唑溴盐(I)、1-(3 α -薯蓣皂苷元)-苄基-1,2,4-三氮唑溴盐(II)、1-(3 α -薯蓣皂苷元)-对溴苄基-1,2,3-三氮唑溴盐(III)、1-(3 α -薯蓣皂苷元)-对溴苄基-1,2,4-三氮唑溴盐(IV)。

1.3.2 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-3-对硝基苄基-1,2,3-三氮唑溴盐(V)的制备 在 50 mL 反应瓶中加入 1 g(2.42 mmol)薯蓣皂苷元、0.33 g(4.83 mmol)1,2,3-三氮唑、1.27 g(4.830 mmol)三苯基磷、15 mL THF,0 °C 下滴加 0.97 g(4.83 mmol)偶氮二甲酸二异丙酯(DIAD)。滴毕,保温 10 min,恢复至室温继续反应 1 h。反应完毕后,减压蒸除溶剂,加入 20 mL Et₂O 滤出不溶物,将滤液减压旋干,固体经柱层析纯化[石油醚-乙酸乙酯(4:1)],得到 0.55 g 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-1,2,3-三氮唑(A)白色固体。收率 48.8%,mp 220~222 °C。

取 0.116 g(0.25 mmol)化合物 A、0.081 g(0.375 mmol)对硝基苄溴,溶解于 15 mL 乙腈中,60 °C 下搅拌反应,得到 132 mg 白色无定形粉末。收率 77.5%,mp 198~199 °C。¹HNMR(DMSO-d₆, 400 MHz): δ 9.09(s,1H,Triazole,CH-4), δ 8.97(s,1H,Triazole,CH-5), δ 8.30(d,J=8.4 Hz,2H,C₆H₄-), δ 7.69(d,J=8.4 Hz,2H,C₆H₄-), δ 6.04(s,2H,PhCH₂-), δ 5.17(s,1H,H-6), δ 5.07(s,1H,H-3), δ 4.33~4.27(dd,J=7.2,4.8 Hz,1H,H-16), δ 3.34(s,1H,H-26eq), δ 3.25~3.19(t,J=11.2 Hz,1H,H-26ax), δ 2.97~2.93(m,1H), δ 1.77(m,3H), δ 1.00(s,3H), δ 0.91(m,3H), δ 0.74(m,3H), δ 0.70(s,3H), δ 0.45(m,1H)。¹³CNMR(DMSO-d₆, 50 MHz): δ 147.89(Ph-C), δ 140.43(Ph-C), δ 136.27(C-5), δ 131.44(Triazole,C-5), δ 130.57(Triazole,C-4), δ 124.17(C-6), δ 123.61(Ph-C), δ 108.55(C-22), δ 80.30(C-16), δ 66.08(C-26), δ 61.87(C-17), δ 61.41(C-3), δ 55.97(C-14), δ 55.20(C-4), δ 49.55(C-9), δ 38.45(C-12), δ 36.45(C-1), δ 34.63(C-10), δ 32.74(C-7), δ 31.46(C-15), δ 31.10(C-2), δ 30.62(C-8), δ 29.96(C-23), δ 28.63(C-25), δ 25.06(C-24), δ 20.09(C-11), δ 19.12(C-19), δ 17.22(C-27), δ 16.07(C-18), δ 14.80(C-21)。

1.3.3 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-4-对硝基苄基-1,2,4-三氮唑溴盐(VI)的制备 在 50 mL 反应瓶中加入 1.00 g(2.42 mmol)薯蓣皂苷元、0.33 g(4.83 mmol)1,2,4-三氮唑、1.27 g(4.830 mmol)三苯基磷、15 mL THF,0 °C 下滴加 0.97 g(4.83 mmol)DIAD。滴毕,保温 10 min,恢复至室温继续反应 1 h。反应完毕后,后处理方法同 I,得到 0.580 g 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-1,2,4-三氮唑(B)的白色固体。收率 51.5%,mp 175~176 °C。

取 0.80 g(0.172 mmol)化合物 B、0.056 g(0.258 mmol)对硝基苄溴溶解于 10 mL 乙腈中,于

60 °C 下搅拌反应。得到 97 mg 白色无定形粉末。收率 82.7% ,mp 233 ~ 235 °C。¹H NMR(DMSO - d₆ , 400 MHz) : δ 10.09(s ,1H ,Triazole ,CH - 5) ,9.38(s ,1H ,Triazole ,CH - 3) ,8.30(d ,J = 8.4 Hz ,2H ,C₆H₄ -) ,7.72(d ,J = 8.4 Hz ,2H ,C₆H₄ -) ,5.74(d ,J = 7.2 Hz ,2H) ,5.61(d ,J = 4.8 Hz ,1H ,PhCH₂ -) ,5.46(s ,1H ,H - 6) ,4.72(s ,1H ,H - 3) ,4.33 ~ 4.27(dd ,J = 7.2、4.6 Hz ,1H ,H - 16) ,3.24(m ,1H ,H - 26ax) ,2.96(m ,1H) ,2.68(d ,J = 16.4 Hz ,1H) ,1.78(m ,3H) ,1.03(s ,3H) ,0.72(m ,6H)。¹³C NMR(DMSO - d₆ ,50 MHz) : δ 147.80(Triazole ,C - 3) ,144.59(Triazole ,C - 5) ,142.85(Ph - C) ,141.45(Ph - C) ,136.28(C - 5) ,130.09(Ph - C) ,124.40(C - 6) ,124.11(Ph - C) ,108.52(C - 22) ,80.28(C - 16) ,66.06(C - 26) ,61.87(C - 17) ,59.56(C - 3) ,55.98(C - 14) ,49.76(C - 9) ,49.38(C - 4) ,41.21(C - 20) ,38.43(C - 12) ,36.58(C - 1) ,33.49(C - 10) ,32.32(C - 7) ,31.46(C - 15) ,31.06(C - 2) ,30.66(C - 8) ,29.94(C - 23) ,28.61(C - 25) ,24.27(C - 24) ,20.11(C - 11) ,19.06(C - 19) ,17.20(C - 27) ,16.08(C - 18) ,14.77(C - 21)。

1.3.4 1-(3α-薯蓣皂苷元)-3-邻硝基苄基-1,2,3-三氮唑溴盐(VII)的制备 按化合物V的方法合成。取0.030 g(0.064 mmol)化合物A、0.021 g(0.097 mmol)邻硝基苄溴溶解于5 mL 乙腈中,于60 °C 下搅拌反应,得到38 mg 白色无定形粉末。收率86.7% ,mp 153 ~ 154 °C。¹H NMR(DMSO - d₆ , 400 MHz) : δ 9.07(s ,1H ,Triazole ,CH - 4) ,8.99(s ,1H ,Triazole ,CH - 5) ,8.25(d ,J = 7.2 Hz ,1H ,C₆H₄ -) ,7.87(m ,1H ,C₆H₄ -) ,7.74(m ,1H ,C₆H₄ -) ,7.63(d ,1H ,C₆H₄ -) ,6.17(s ,2H ,PhCH₂ -) ,5.13(s ,1H ,H - 6) ,5.05(s ,1H ,H - 3) ,4.36 ~ 4.30(dd ,J = 7.2 Hz ,1H ,H - 16) ,3.36(s ,1H ,H - 26eq) ,3.25 ~ 3.19(t ,J = 10.8 Hz ,1H ,H - 26eq) ,2.95 ~ 2.92(d ,J = 14.8 Hz ,1H ,H - 4) ,1.00(s ,3H) ,0.71(m ,6H) ,0.52(m ,1H)。¹³C NMR(DMSO - d₆ ,50 MHz) : δ 147.85(Ph - C) ,136.24(C - 5) ,134.93(Ph - C) ,133.27(Ph - C) ,131.38(Triazole ,C - 5) ,131.21(Ph - C) ,130.51(Triazole ,C - 4) ,127.18(Ph - C) ,125.69(C - 6) ,123.62(Ph - C) ,108.55(C - 22) ,80.32(C - 16) ,66.06(C - 26) ,61.82(C - 17) ,61.28(C - 3) ,55.77(C - 14) ,54.02(C - 4) ,49.29(C - 9) ,41.24(C - (PhCH₂)) ,36.43(C - 1) ,34.55(C - 10) ,32.60(C - 7) ,31.46(C - 15) ,31.04(C - 2) ,30.72(C - 8) ,29.94(C -

23) ,28.61(C - 25) ,25.01(C - 24) ,20.08(C - 11) ,19.04(C - 19) ,17.21(C - 27) ,16.06(C - 18) ,14.76(C - 21)。

1.3.5 1-(3α-薯蓣皂苷元)-4-邻硝基苄基-1,2,4-三氮唑溴盐(VIII)的制备 按化合物VI的方法合成。取0.050 g(0.107 mmol)化合物B、邻硝基苄溴0.035 g(0.161 mmol)溶解于5 mL 乙腈中,于60 °C 下搅拌反应,得到67 mg 白色无定形粉末。收率91.5% ,mp 195 ~ 196 °C。¹H NMR(DMSO - d₆ , 400 MHz) : δ 10.20(s ,1H ,Triazole ,CH - 5) ,9.30(s ,1H ,Triazole ,CH - 3) ,8.23(d ,1H ,C₆H₄ -) ,7.83(m ,1H ,C₆H₄ -) ,7.73(m ,1H ,C₆H₄ -) ,7.50(d ,1H ,C₆H₄ -) ,5.84(d ,2H ,PhCH₂ -) ,5.47(s ,1H ,H - 6) ,4.74(s ,1H ,H - 3) ,4.32 ~ 4.27(dd ,J = 7.2、4.6 Hz ,1H ,H - 16) ,3.34(s ,1H ,H - 26eq) ,3.18(m ,1H ,H - 26ax) ,3.01 ~ 2.97(d ,J = 15.2 Hz ,1H) ,1.05(s ,3H) ,0.90(m ,6H) ,0.74(m ,6H)。¹³C NMR(DMSO - d₆ ,50 MHz) : δ 144.71(Triazole ,C - 3) ,143.01(Triazole ,C - 3) ,136.31(C - 5) ,134.88(Ph - C) ,131.51(Ph - C) ,130.72(Ph - C) ,128.72(Ph - C) ,125.62(Ph - C) ,124.41(C - 6) ,108.53(C - 22) ,80.28(C - 16) ,66.01(C - 26) ,61.89(C - 17) ,59.52(C - 3) ,55.90(C - 14) ,49.16(C - 9) ,48.34(C - 4) ,41.83(C - 20) ,37.40(C - 12) ,36.65(C - 1) ,33.61(C - 7) ,31.47(C - 2) ,31.02(C - 8) ,29.93(C - 23) ,28.60(C - 25) ,24.38(C - 24) ,20.15(C - 11) ,19.03(C - 19) ,17.19(C - 27) ,16.08(C - 18) ,14.73(C - 21)。

1.3.6 1-(3α-薯蓣皂苷元)-3-正丁基-1,2,3-三氮唑溴盐(IX)的制备 按化合物V的方法合成。取0.100 g(0.215 mmol)化合物A、溴代正丁烷0.060 g(0.430 mmol)溶解于10 mL 乙腈中,于60 °C 下搅拌反应,用柱层析纯化得到75 mg 白色无定形粉末。收率57.9% ,mp 216 ~ 218 °C。¹H NMR(CDCl₃ ,400 MHz) : δ 9.83(s ,1H ,Triazole ,CH - 4) ,9.11(s ,1H ,Triazole ,CH - 5) ,5.52(s ,1H ,H - 6) ,5.14(s ,1H ,H - 3) ,4.87 ~ 4.75(m ,2H ,NCH₂ -) ,4.43 ~ 4.37(dd ,1H ,J = 11.0、7.2 Hz ,H - 16) ,3.47 ~ 3.45(m ,1H ,H - 26eq) ,3.38 ~ 3.33(m ,1H ,H - 26ax) ,3.05 ~ 3.01(d ,J = 16.0 Hz ,1H ,H - 4) ,2.84 ~ 2.80(d ,J = 16.0 Hz ,1H ,H - 4) ,2.40 ~ 2.37(m ,1H) ,2.31 ~ 2.24(t ,1H) ,1.10(s ,3H) ,0.98 ~ 0.95(t ,6H) ,0.78 ~ 0.77(m ,6H)。¹³C NMR(CDCl₃ ,100 MHz) : δ 135.69(C - 5) ,131.57(Triazole ,C - 5) ,30.54(Triazole ,C - 4) ,125.46(C - 6) ,109.22(C - 22) ,80.61(C - 16) ,66.75(C - 26) ,61.84

(C-17) δ 1.48(C-3) δ 6.22(C-14) δ 3.78(C-4) δ 9.83(C-9) δ 1.49(C-20) δ 0.10(C-1') , 39.44(C-12) δ 36.91(C-10) δ 34.95(C-1) , 32.82(C-2') δ 31.89(C-7) δ 31.63(C-15) , 31.25(C-2) δ 31.02(C-8) δ 30.17(C-23) δ 28.68(C-25) δ 25.92(C-24) δ 20.34(C-11) δ 19.27(C-3') δ 19.21(C-19) δ 17.07(C-27) δ 16.20(C-18) δ 14.44(C-21) δ 13.37(C-4')。

1.3.7 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-4-正丁基-1,2,4-三氮唑溴盐(X)的制备 按化合物VI的方法合成。取0.100 g(0.215 mmol)化合物B、0.060 g(0.430 mmol)溴代正丁烷溶解于10 mL乙腈中,于60℃下搅拌反应,用柱层析纯化得到96 mg白色无定形粉末。收率74.1%, mp 271~272℃。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ 11.98(s, 1H, Triazole, CH-5) δ 8.52(s, 1H, Triazole, CH-3) δ 5.49~5.48(d, J =4.4 Hz, 1H, H-6) δ 4.62~4.57(m, 2H, NCH₂-) δ 4.50(m, 1H, H-3) δ 4.44~4.39(dd, J =7.2、14.8 Hz, 1H, H-16) δ 3.48~3.46(m, 1H, H-26eq) δ 3.40~3.34(t, 1H, H-26) δ 2.89~2.83(t, 1H, H-4) δ 2.62~2.60(m, 1H, H-4) δ 2.20(s, 2H) δ 1.11(s, 3H) δ 1.01~0.98(t, 3H) δ 0.97~0.96(d, J =2.8 Hz, 3H) δ 0.79~0.78(m, 6)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ 143.43(Triazole, C-3) , 141.91(Triazole, C-5) , 137.79(C-5) , 128.76(C-6) , 109.24(C-22) , 80.67(C-16) , 66.78(C-26) , 63.34(C-17) , 61.95(C-3) , 56.26(C-14) δ 49.68(C-9) δ 48.46(C-4) δ 41.72(C-20) δ 40.16(C-1') δ 39.54(C-12) δ 37.89(C-1) , 37.07(C-10) δ 36.66(C-2') δ 32.05(C-7) , 31.90(C-15) δ 31.74(C-2) δ 31.30(C-8) δ 30.72(C-23) δ 27.99(C-25) δ 26.09(C-24) δ 20.70(C-11) δ 19.47(C-3') δ 19.28(C-19) δ 17.09(C-27) δ 16.24(C-18) δ 14.49(C-21) δ 13.45(C-4')。

1.3.8 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-3-(2-苯乙基)-1,2,3-三氮唑溴盐(XI)的制备 按化合物V的方法合成。取0.080 g(0.172 mmol)化合物A、0.065 g(0.35 mmol)溴代苯乙烷溶解于10 mL乙腈中,于60℃下搅拌反应。用柱层析纯化得到66 mg白色无定形粉末。收率60.0%, mp 138~140℃。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ 9.76(s, 1H, Triazole, CH-4) δ 9.01(s, 1H, Triazole, CH-5) , 7.24~7.15(m, 5H, C₆H₅-) δ 5.50(s, 1H, H-6) , 5.16~4.98(m, 3H, H-3, NCH₂-) δ 4.67(s, 2H, PhCH₂-) δ 4.43~4.37(dd, J =6.8、10.6 Hz, 1H,

H-16) δ 3.47~3.45(m, 1H, H-26) δ 3.37~3.35(m, 1H, H-26ax) δ 2.98~2.94(m, 1H, H-4) , 2.79~2.75(m, 1H, H-4) δ 1.01(s, 3H) δ 0.97~0.95(d, J =6.4 Hz, 3H) δ 0.78~0.76(m, 6H)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): 135.55(C-5) , 135.16(Ph-C) , 131.50(Triazole, C-5) , 130.18(Triazole, C-4) , 128.88(Ph-C) , 128.77(Ph-C) , 128.67(Ph-C) , 127.31(Ph-C) , 125.48(C-6) , 109.16(C-22) , 80.55(C-16) , 66.72(C-26) , 61.83(C-17) δ 61.34(C-3) δ 56.15(C-14) δ 54.85(C-4) δ 49.57(C-9) δ 41.46(C-20) δ 40.06(C-1') , 39.42(C-12) δ 36.83(C-10) δ 35.65(C-2') , 34.49(C-1) δ 31.82(C-7) δ 31.59(C-15) δ 31.21(C-2) δ 30.94(C-8) δ 30.14(C-23) δ 28.65(C-25) δ 25.96(C-24) δ 20.27(C-11) δ 19.08(C-19) δ 17.02(C-27) δ 16.14(C-18) δ 14.41(C-21)。

1.3.9 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-4-(2-苯乙基)-1,2,4-三氮唑溴盐(XII)的制备 按化合物VI的方法合成。取0.100 g(0.215 mmol)化合物B、0.065 g(0.430 mmol)溴代苯乙烷溶解于10 mL乙腈中,于60℃下搅拌反应,用柱层析纯化得到54 mg白色无定形粉末。收率38.6%, mp 224~226℃。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ 11.05(s, 1H, Triazole, CH-5) δ 8.40(s, 1H, Triazole, CH-3) , 7.33~7.28(d, 3H, C₆H₅-) δ 7.17~7.15(d, 2H, C₆H₅-) δ 5.85(s, 1H, H-6) δ 5.06~5.03(m, 1H, NCH₂-) δ 4.90~4.86(m, 1H, NCH₂-) δ 4.61(s, 1H, H-3) δ 4.44~4.38(dd, J =6.8、14.6 Hz, 1H, H-16) δ 3.48~3.46(m, 1H, H-26eq) δ 3.40~3.34(t, J =10.8 Hz, 1H, H-26ax) δ 3.32~3.31(m, 2H, PhCH₂-) δ 3.02~2.90(m, 2H) δ 2.45~2.41(d, J =14.4 Hz, 1H) δ 1.07(s, 3H) δ 0.98~0.97(d, J =6.8 Hz, 3H) δ 0.80~0.78(d, 6H)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ 143.72(Triazole, C-3) , 142.39(Triazole, C-5) , 135.48(C-5) , 135.04(Ph-C) , 128.87(Ph-C) , 127.39(Ph-C) , 125.97(C-6) , 109.13(C-22) , 80.54(C-16) , 66.68(C-26) , 61.87(C-17) δ 59.99(C-3) δ 56.20(C-14) δ 49.31(C-9) δ 41.42(C-20) δ 40.01(C-1') δ 39.12(C-12) , 36.77(C-1) δ 36.12(C-2') δ 33.61(C-10) , 32.31(C-7) δ 31.79(C-15) δ 31.17(C-2) δ 30.88(C-8) δ 30.11(C-23) δ 28.61(C-25) δ 24.66(C-24) δ 20.23(C-11) δ 19.00(C-19) δ 17.01(C-27) δ 16.10(C-18) δ 14.39(C-21)。

1.3.10 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-3-(2 α -蔡乙

基)-1,2,3-三氮唑溴盐(Ⅺ)的制备 按化合物V的方法合成。取0.100 g(0.215 mmol)化合物A、0.100 g(0.430 mmol) 萘乙烷溶解于10 mL 乙腈中,60℃下搅拌反应,用柱层析纯化得到79 mg 白色无定形粉末。收率52.4%,mp 134~136℃。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ10.04(s, 1H, Triazole, CH-4), 8.86(s, 1H, Triazole, CH-5), 7.97~7.95(d, *J*=7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.86~7.84(d, *J*=7.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.74~7.72(d, *J*=8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.56~7.47(m, 2H, Ar-H), 7.86~7.84(d, *J*=11.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.74~7.72(m, 1H, Ar-H), 7.56~7.47(m, 2H, Ar-H), 7.37~7.28(m, 2H, Ar-H), 5.40(s, 1H, C-6), 5.30~5.27(m, 1H, NCH₂-), 5.21~5.20(m, 1H, NCH₂-), 4.89(s, 1H, H-3), 4.45~4.40(dd, *J*=11, 8.4 Hz, 1H, H-16), 3.90~3.86(m, 2H, ArCH₂-), 3.49~3.47(d, *J*=6.8 Hz, 1H, H-26eq), 3.41~3.35(t, 1H, H-26ax), 2.93~2.89(1H, H-4), 2.59~2.55(d, 1H, H-4), 1.02(s, 3H), 0.99~0.98(d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.80~0.77(t, 6H)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ135.58(C-5), 133.75(Ar-C), 131.46(Triazole, C-5), 131.40(Ar-C), 130.34(Triazole, C-4), 129.06(Ar-C), 128.20(Ar-C), 127.42(Ar-C), 127.26(Ar-C), 126.72(Ar-C), 125.94(Ar-C), 125.44(Ar-C), 122.72(C-6), 109.25(C-22), 80.64(C-16), 66.80(C-26), 61.92(C-17), 61.24(C-3), 56.08(C-14), 54.34(C-4), 49.53(C-9), 41.54(C-20), 40.09(C-1'), 39.45(C-12), 36.79(C-10), 34.46(C-1), 32.78(C-2'), 32.31(C-7), 31.64(C-15), 31.29(C-2), 30.94(C-8), 30.21(C-23), 28.72(C-25), 26.20(C-24), 20.31(C-11), 19.06(C-19), 17.10(C-27), 16.19(C-18), 14.49(C-21)。

1.3.11 1-(3 α -薯蓣皂苷元)-4-(2 α -萘基)-1,2,4-三氮唑溴盐(Ⅻ)的制备 按化合物VI的方法合成。取0.100 g(0.215 mmol)化合物B、0.100 g(0.430 mmol) 溴代萘乙烷溶解于10 mL 乙腈中,于60℃下搅拌反应,用柱层析纯化得到68 mg 白色无定形粉末。收率45.1%,mp 225~226℃。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ11.91(s, 1H, Triazole, CH-5), 7.97~7.95(d, *J*=8.0 Hz, 1H, Ar-H), 7.89~7.87(d, 1H, Ar-H), 7.86(s, 1H, Triazole, CH-3), 7.79~7.77(d, *J*=8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.59~7.51(m, 2H, Ar-H), 7.32~7.29(t, 1H, Ar-H), 7.13~7.11(d, *J*=6.8 Hz, 1H,

Ar-H), 5.75(s, 1H, H-6), 5.16(s, 1H, NCH₂-), 4.99(s, 1H, NCH₂-), 4.55(s, 1H, H-3), 4.44~4.38(dd, *J*=7.2, 14.8 Hz, 1H, H-16), 3.88~3.84(m, 1H, ArCH₂-), 3.76~3.73(m, 1H, ArCH₂-), 3.48~3.46(d, *J*=8.4 Hz, 1H, H-26eq), 3.40~3.35(t, *J*=4.8 Hz, 1H, H-26ax), 2.90(s, 1H, H-4), 2.36~2.32(d, *J*=14.8 Hz, 1H, H-4), 1.04(s, 3H), 0.98~0.97(d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.80~0.77(m, 6H)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ143.27(Triazole, C-3), 142.34(Triazole, C-5), 135.09(C-5), 133.62(Ar-C), 131.56(Ar-C), 131.24(Ar-C), 128.99(Ar-C), 128.31(Ar-C), 127.39(Ar-C), 126.95(Ar-C), 126.10(Ar-C), 125.89(C-6), 125.33(Ar-C), 122.86(Ar-C), 109.17(C-22), 80.58(C-16), 66.72(C-26), 61.93(C-17), 60.01(C-3), 56.03(C-14), 49.27(C-9), 41.46(C-20), 40.02(C-1'), 39.51(C-12), 36.75(C-1), 33.54(C-2'), 32.98(C-10), 32.20(C-7), 31.64(C-15), 31.21(C-2), 30.81(C-8), 30.15(C-23), 28.64(C-25), 24.74(C-24), 20.25(C-11), 18.95(C-19), 17.03(C-27), 16.09(C-18), 14.42(C-21)。

1.4 合成化合物的抗肿瘤活性

采用经典的MTT法对人恶性黑色素瘤细胞株A375、人肺腺癌细胞株A549、人肝癌细胞株HepG-2进行体外抗肿瘤活性试验。以专利文献报道的1-(3 β -薯蓣皂苷元)-3-苄基咪唑溴盐(由本实验室按文献^[7]的方法合成,所得化合物的¹H NMR和熔点都与文献一致)为阳性对照品。选择合成的14个化合物Autodock对接结果及其药理实验数据见表1。结果显示所测化合物均具有良好的抗肿瘤活性。其中化合物I和Ⅺ的3个细胞株的抗肿瘤活性数值都<10 μ mol,其他化合物的抗肿瘤活性数值为10~30 μ mol。三氮唑衍生物的药理数值整体比较:1,2,3-三氮唑>1,2,4-三氮唑。

2 讨论

1-(3 α -薯蓣皂苷元)-三氮唑类化合物采用Mitsunobu反应^[8]合成,与文献^[7]中先活化3位羟基再直接取代的方法相比,反应条件温和,副产物少,收率相对高且稳定。化合物I和Ⅺ对3个细胞株抗肿瘤活性数值为5~10 μ mol·L⁻¹,与阳性对照品相当。1-(3 α -薯蓣皂苷元)-3-取代基-1,2,3-三氮唑溴盐系列衍生物中,药理活性总体趋势为:苄基(I)> α -萘乙基(Ⅺ)>苯乙基(XI)>正丁基(IX)。从对接能量和构象分析看,合理占据Bcl-2

表 1 化合物(I ~ XIV)的 EBEF ,Ki 值和抗肿瘤活性(IC₅₀)

Table 1 The EBEF ,Ki *in vitro* and antitumour activity of compounds I – XIV(IC₅₀)

No.	EBEF/kcal•mol ⁻¹	Ki/nm	IC ₅₀ /μmol		
			A375	A549	HepG-2
对照	-0.93	52.52	3.33	5.75	4.4
I	-10.09	40.19	6.19	6.25	7.49
II	-9.66	82.61	6.97	10.62	14.88
III	-10.07	14.24	10.39	12.73	9.11
IV	-10.08	41.02	-	10.13	14.27
V	-10.51	19.83	10.83	-	24.64
VI	-10.47	21.11	16.45	18.56	-
VII	-11.00	8.69	11.53	11.61	13.02
VIII	-10.55	18.48	10.65	11.96	17.14
IX	-8.45	635.17	15.84	7.83	-
X	-8.97	265.22	27.76	27.35	-
XI	-10.14	37.15	12.30	13.24	14.41
XII	-10.11	39.00	12.61	23.68	9.19
XIII	-10.47	21.06	8.52	7.92	8.92
XIV	-10.62	16.35	13.54	23.68	19.53

活性位点中 P2 位点疏水口袋可能是其抗肿瘤活性高的原因之一,对薯蓣皂苷元的结构修饰研究有启示作用。但 Autodock 对接结果(结合自由能和 Ki 值)和药理活性 IC₅₀ 数据无很好的相关性。可能是疏水作用不是其具有抗肿瘤活性的惟一作用方式。有必要针对 Bel-2 活性位点的特征作进一步的结 构修饰来阐明薯蓣皂苷元及其衍生物抗肿瘤活性的 构效关系。

致谢 承四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室何谷老师课题组协助完成化合物体外抗肿瘤细胞实验。

参考文献:

[1] Cecile C ,Bertrand L. Induction of antiproliferative effect by diosgenin through activation of p53 ,release of apoptosis – inducing factor(AIF) and modulation of caspase – 3 activity in different human cancer cells[J]. Res 2004 ,14(3) : 188 – 196.

[2] 王丽娟 ,王岩 ,陈声武 ,等. 薯蓣皂苷元体内、外的抗肿瘤作用 [J]. 中国中药杂志 2002 27 (10) : 777 – 779.

[3] Srinivasan S ,Koduru S ,Kumar R ,et al. Diosgenin targets Akt – mediated prosurvival signaling in human breast cancer cells [J]. Int J Cancer 2009 ,125(4) : 961 – 967.

[4] Raju J ,Mehta R. Cancer chemopreventive and therapeutic effects of diosgenin a food saponin [J]. Nutrition Cancer Inter J 2009 6 (1) : 127 – 135.

[5] Clementine C ,Bertrand L ,et al. A proteomic Approach to the identification of molecular targets in subsequent apoptosis of HEL cells after diosgenin – induced megakaryocytic differentiation [J]. J Cell Biochem 2009 ,107: 785 – 796.

[6] 耿倩 ,曾春玲 ,傅微微 ,等. 薯蓣皂苷元衍生物的制备及其抗肿瘤活性 [J]. 华西药学杂志 2009 24(5) : 475 – 478.

[7] 张洪彬 ,羊晓东 ,卿晨 ,等. 甾体咪唑盐类化的物及其制备方法 [P]. CN 2006 10011025. 7 2006.

[8] Kumara SKC ,Bhuvan KNN ,Balaraman E. Mitsunobu and related reactions: advances and applications [J]. Chem Rev 2009 ,109 (6) : 2551 – 2651.

收稿日期:2011 – 04 – 07

《华西药学杂志》2012 年征订征稿启事

《华西药学杂志》是由教育部主管,四川大学和四川省药学会联合主办的药学类综合性学术刊物。国内外公开发行,CN 51 – 1218/R,ISSN 1006 – 0103。

本刊于 1988 年至今被中国科技情报研究中心作为科技论文期刊源期刊;1993 年起被美国《化学文摘》(CA)收录并进入千刊表,2006 年被俄罗斯《文摘杂志》收录;2008 年被英国皇家化学学会系列数据库收录;被《中国药学文摘》《医学文摘》《中国生物学文摘》等摘录;入选中国期刊方阵双效期刊;为药学类中文核心期刊。

主要内容有药物化学、天然药物化学、中药学、药剂学和生物药剂学、临床药学、药理与毒理、药物分析、生化药物、药事管理及部分边缘学科。同时,还报道国内外药学领域的最新研究成果、动向及信息。欢迎从事药物研究的科学工作者、医药院校师生、工程技术人员、医师、药师和药事管理干部及其它药学工作者订阅和投稿。

投稿时请将投稿打印件、单位介绍信、基金项目批准文号的复印件和 50 元审稿费一起寄往编辑部。请在稿件上注明详细通讯地址、联系手机及电子邮箱。编辑部收到这三样后,文章才能尽快进入审稿程序。

本刊为双月刊,大 16 开,96 个版面,定价 10 元。如需订阅,请:1. 到当地邮局办理订购手续,邮发代号:62 – 79;2. 可直接汇款到编辑部订购,全年订价 60 元。为准确投递,务请工整书写详细地址、姓名和邮编。

电话:028 – 85501400 Email: hxyxzz@scu.edu.cn 网址: http://www.sbcpa.org.cn

地址:成都市武侯区人民南路三段 17 号华西药学杂志编辑部(610041)