

## NO 供体型硝酸酯类甘草次酸衍生物的合成及抗肿瘤活性

申利红<sup>1,2</sup>, 张奕华<sup>1</sup>, 赖宜生<sup>1\*</sup>, 罗旭馨<sup>3</sup>, 袁胜涛<sup>3</sup>, 张陆勇<sup>3</sup><sup>1</sup>中国药科大学新药研究中心, 南京 210009; <sup>2</sup>邯郸学院化学系, 邯郸 056005; <sup>3</sup>中国药科大学新药筛选中心, 南京 210009

**摘要** 甘草次酸的 3 位羟基和 30 位羧基通过脂肪链连接基团引入硝酸酯结构片段, 合成了 9 个新的 NO 供体型硝酸酯类甘草次酸衍生物(4a~4f, 8a~8c)。目标化合物的结构均经红外光谱、质谱、磁共振氢谱确证。体外采用 MTT 法测定了目标化合物对 4 种人肿瘤细胞株增殖的抑制活性, 结果表明部分目标化合物对人肝癌细胞(HepG2 和 BEL-7402)、人乳腺癌细胞 MCF-7 和人早幼粒细胞白血病细胞 HL-60 的增殖具有较好的抑制活性。

**关键词** 甘草次酸; NO 供体; 硝酸酯; 合成; 抗肿瘤活性

中图分类号 R914.5 文献标识码 A 文章编号 1000-5048(2011)01-0034-05

## Synthesis and antitumor activity of nitric oxide-donating glycyrrhetic acid derivatives coupled with nitrate moiety

SHEN Li-hong<sup>1,2</sup>, ZHANG Yi-hua<sup>1</sup>, LAI Yi-sheng<sup>1\*</sup>, LUO Xu-xin<sup>3</sup>, YUAN Sheng-tao<sup>3</sup>, ZHANG Lu-yong<sup>3</sup><sup>1</sup>Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>2</sup>Department of Chemistry, Handan College, Handan 056005; <sup>3</sup>Center of Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Nine new nitric oxide-donating derivatives of glycyrrhetic acid coupled with nitrate moieties were designed, synthesized, and evaluated for their *in vitro* cytotoxicity against four cancer cell lines by MTT assay. Nitrate moieties were conjugated with C3-OH or/and C30-COOH of glycyrrhetic acid via a variety of aliphatic linkers, affording the target compounds 4a-4f and 8a-8c, respectively, and their structures were confirmed by MS, IR and <sup>1</sup>H NMR. The MTT assay demonstrated that some of the target compounds exhibited potential cytotoxicity against human hepatocellular carcinoma cells(HepG2 and BEL-7402), human breast cancer MCF-7 cells and human promyelocytic leukemia HL-60 cells.

**Key words** glycyrrhetic acid; NO donor; nitrate; synthesis; antitumor activity

一氧化氮(NO)作为体内重要的信使物质及效应分子,参与多种生理和病理过程<sup>[1-2]</sup>。研究表明<sup>[3]</sup>,高浓度的NO具有诱导肿瘤细胞凋亡、阻止癌细胞扩散和转移等作用。有机硝酸酯类化合物是一类重要的NO供体<sup>[4]</sup>。前期研究发现,甘草次酸(GA)30位羧基通过连接基团与硝酸酯偶联形成的衍生物部分具有较强的抗肿瘤活性<sup>[5]</sup>。为了进一步了解NO供体型硝酸酯类GA衍生物的构效关系,本研究通过不同的脂肪链连接基团,一方面将GA分子中的3位羟基与硝酸酯片段偶联;另一方面,在GA的3位羟基和30位羧基同时引入两个硝酸酯片段,以便考察化合物的抗肿瘤活性是

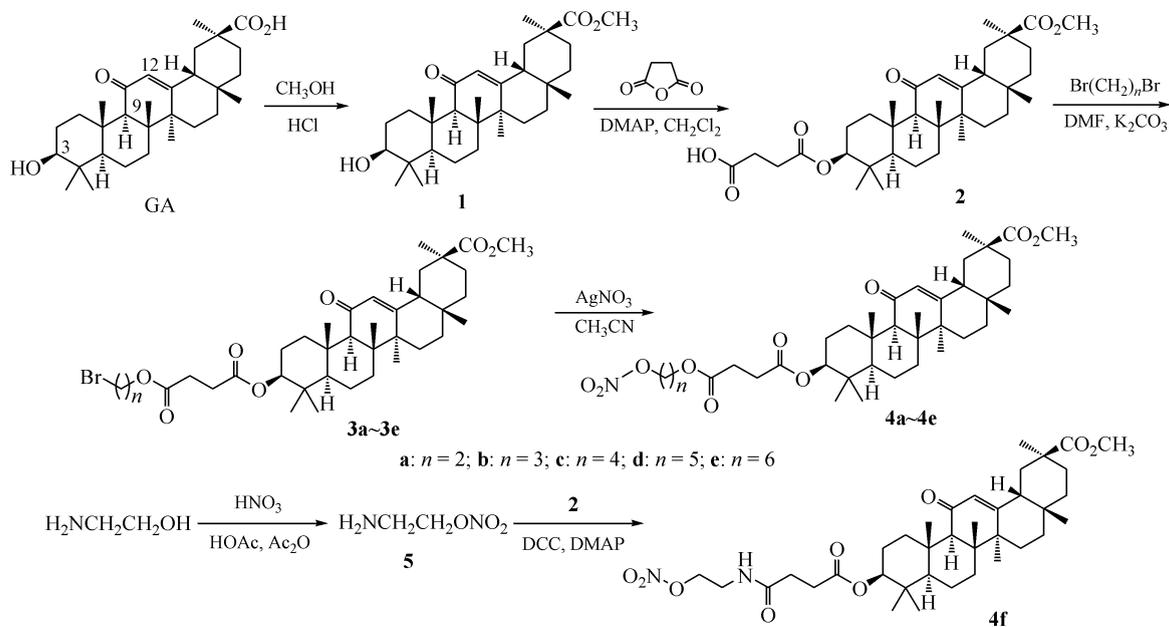
否会随NO供体数目的增加而增强。为此,本研究共设计、合成了9个未见文献报道的NO供体型硝酸酯类GA衍生物,并采用MTT法体外测定了目标化合物对4种人肿瘤细胞株增殖的抑制作用。

## 1 合成路线

GA在酸性条件下与甲醇反应得甘草次酸甲酯(1),化合物1在4-二甲氨基吡啶(DMAP)作用下与丁二酸酐反应制得3β-(3-羧基-丙酰基)氧基-甘草次酸甲酯(2),化合物2与相应的二溴烷烃反应生成酯类中间体3a~3e,化合物3a~3e于乙腈中与硝酸银反应得目标化合物4a~4e;乙醇胺经

发烟硝酸硝化生成 2-硝基氧乙胺 (**5**), 在二环己基碳二亚胺 (DCC) 和 DMAP 作用下, 化合物 **2** 与 **5** 缩

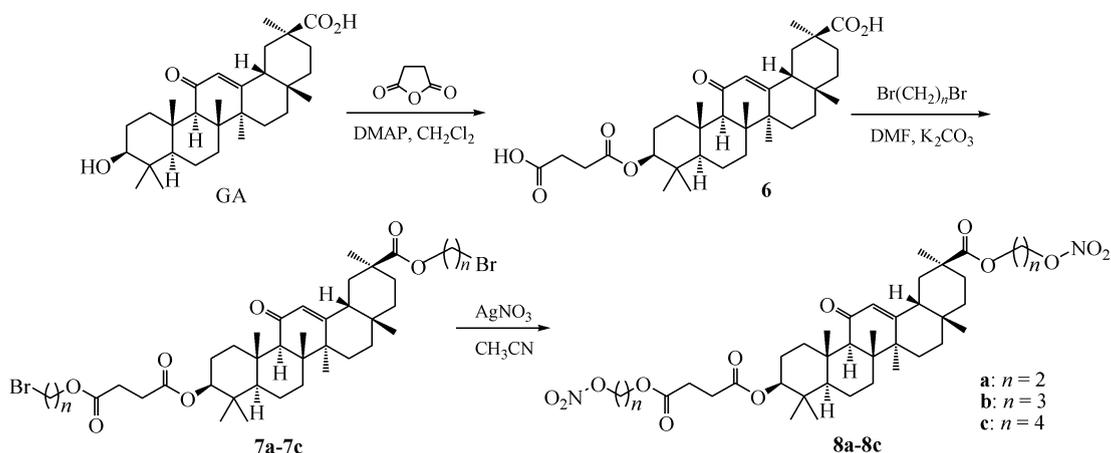
合制得化合物 **4f**。合成过程见路线 1。



Scheme 1 Synthetic route of the target compounds **4a ~ 4f**

GA 在 DMAP 作用下与丁二酸酐反应得甘珀酸 (**6**), 化合物 **6** 再与相应的二溴烷烃制得中间体 **7a ~ 7c**, 化合物 **7a ~ 7c** 与硝酸银于乙腈中回流得

目标化合物 **8a ~ 8c**。合成过程见路线 2。目标化合物 **4a ~ 4f** 和 **8a ~ 8c** 未见文献报道, 其结构均经 IR、MS 和  $^1\text{H}$  NMR 确证。



Scheme 2 Synthetic route of the target compounds **8a-8c**

## 2 化学部分

### 2.1 仪器与试剂

熔点用天津分析仪器厂 RY-1 型熔点仪测定, 温度计未经校正; IR 用 Nicolet Impact 410 型或岛津 FTIR-8400S 型红外光谱仪测定, KBr 压片;

$^1\text{H}$  NMR 用 ACF-300 MHz 型磁共振仪测定, TMS 为内标; MS 用 Agilent 1100 series LC/MSD Trap (SL) 型质谱仪测定。柱色谱使用青岛海洋化工厂粗孔 (ZCX-II) 型 100 ~ 200 目或 200 ~ 300 目柱色谱硅胶。所有溶剂均经严格无水处理, 试剂均为市售化学纯或分析纯产品, 甘草次酸 (>98%) 购于南京

清泽医药有限公司, 18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**1**)参照文献[6]方法合成, 化合物**5**参照文献[7]方法制备。

## 2.2 化学合成

3 $\beta$ -(3-羧基-丙酰基)-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**2**)的合成 将18 $\beta$ -甘草次酸甲酯10.48 g(1.00 mmol)、丁二酸酐0.60 g(6.00 mmol)、DMAP 0.16 g(1.30 mmol)、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 20 mL依次加入反应瓶中, 加热回流反应15 h, 反应液水洗3次, 浓缩, 甲醇-水重结晶得白色粉末0.57 g, 收率98.4%, mp: 260 ~ 262 °C(文献<sup>[8]</sup> 262 ~ 264 °C)。

3 $\beta$ -[[4-(2-溴)-乙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**3a**) 将化合物**2** 0.54 g(1.00 mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.28 g(2.00 mmol)、DMF 20 mL依次加入反应瓶中, 缓慢滴加1,2-二溴乙烷0.40 mL(4.60 mmol), 室温反应4 h, 往反应液中加入水200 mL, 用乙酸乙酯(50 mL  $\times$  3)萃取, 合并有机层, 饱和食盐水洗, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 浓缩, 柱色谱(乙酸乙酯-石油醚, 1:5)分离得白色固体0.50 g, 收率85%, mp: 169 ~ 171 °C, ESI-MS *m/z*: 692.2[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(3-溴)-丙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**3b**) 参照化合物**3a**的制备方法, 由1,3-二溴丙烷制得白色固体, 收率86%, mp: 158 ~ 160 °C, ESI-MS *m/z*: 706.4[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(4-溴)-丁氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**3c**) 参照化合物**3a**的制备方法, 由1,4-二溴丁烷制得白色固体, 收率87%, mp: 151 ~ 153 °C, ESI-MS *m/z*: 720.3[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(5-溴)-戊氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**3d**) 参照化合物**3a**的制备方法, 由1,5-二溴戊烷制得白色固体, 收率86%, mp: 128 ~ 130 °C, ESI-MS *m/z*: 734.4[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(6-溴)-己氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**3e**) 参照化合物**3a**的制备方法, 由1,6-二溴己烷制得白色固体, 收率85%, mp: 102 ~ 104 °C, ESI-MS *m/z*: 748.2[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(2-硝基氧基)-乙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**4a**) 将化合物**3a** 0.37 g(0.53 mmol)溶解于乙腈15 mL中, 加入硝酸银0.18 g(1.0 mmol), 避光回流反应6 h, 过滤, 浓缩, 柱色谱[乙酸乙酯-石油醚(60 ~ 90 °C), 1:5]分离得白色固体0.29 g, 收率81%, mp: 155 ~ 157 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ : 2 960, 1 741, 1 643, 1 461, 1 390; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.80 ~ 1.57(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 2.35(1H, s, H-9), 2.66 ~ 2.82(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 3.69(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.38(2H, t, *J* = 6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.55 ~ 4.59(1H, m, H-3), 4.66(2H, t, *J* = 6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 5.68(1H, s, H-12); ESI-MS *m/z*: 674.4[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(3-硝基氧基)-丙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**4b**) 参照化合物**4a**的制备方法, 由化

合物**3b**制得白色固体, 收率84%, mp: 144 ~ 146 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ : 2 958, 1 733, 1 637, 1 461, 1 388; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.80 ~ 1.55(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 2.05 ~ 2.09(2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.35(1H, s, H-9), 2.63 ~ 2.75(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 3.68(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.21(2H, t, *J* = 6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.52 ~ 4.56(3H, m, OCH<sub>2</sub>, H-3), 5.66(1H, s, H-12); ESI-MS *m/z*: 688.5[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(4-硝基氧基)-丁氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**4c**) 参照化合物**4a**的制备方法, 由化合物**3c**制得白色固体, 收率88%, mp: 158 ~ 160 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ : 2 960, 2 860, 1 728, 1 625, 1 458, 1 388; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.80 ~ 1.56(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 1.85 ~ 1.97(4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 2.35(1H, s, H-9), 2.63 ~ 2.74(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 3.69(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.15(2H, t, *J* = 6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.48 ~ 4.55(3H, m, OCH<sub>2</sub>, H-3), 5.66(1H, s, H-12); ESI-MS *m/z*: 702.4[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(5-硝基氧基)-戊氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**4d**) 参照化合物**4a**的制备方法, 由化合物**3d**制得, 白色固体, 收率81%, mp: 120 ~ 122 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ : 2 954, 2 869, 1 731, 1 627, 1 461, 1 386; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.82 ~ 1.57(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 1.80 ~ 1.99(6H, m, 3CH<sub>2</sub>), 2.37(1H, s, H-9), 2.64 ~ 2.75(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 3.70(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.10 ~ 4.14(2H, t, *J* = 6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.45 ~ 4.56(3H, m, OCH<sub>2</sub>, H-3), 5.68(1H, s, H-12); ESI-MS *m/z*: 716.3[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(6-硝基氧基)-己氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**4e**) 参照化合物**4a**的制备方法, 由化合物**3e**制得, 白色固体, 收率81%, mp: 98 ~ 100 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ : 2 954, 2 869, 1 731, 1 627, 1 461, 1 386; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.82 ~ 1.57(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 1.84 ~ 2.09(8H, m, 4CH<sub>2</sub>), 2.37(1H, s, H-9), 2.64 ~ 2.76(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 3.70(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.12(2H, t, *J* = 6 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.46 ~ 4.58(3H, m, OCH<sub>2</sub>, H-3), 5.67(1H, s, H-12); ESI-MS *m/z*: 730.3[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(2-硝基氧基)-乙胺基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸甲酯(**4f**) 将化合物**2** 0.31 g(0.51 mmol)和化合物**5** 0.06 g(0.56 mmol)溶解于CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 15 mL中, 加入DCC 0.12 g(0.58 mmol)和催化量的DMAP, 室温反应24 h, 过滤, 浓缩, 柱色谱[乙酸乙酯-石油醚(60 ~ 90 °C), 1:2]分离得白色固体0.17 g, 收率50%, mp: 166 ~ 168 °C; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ : 3 442, 2 954, 2 871, 1 730, 1 658, 1 460, 1 384; <sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.80 ~ 1.56(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 2.37(1H, s, C<sub>9</sub>-H), 2.67(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 3.69(3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.39 ~ 3.51(2H, m, OCH<sub>2</sub>), 4.42 ~ 4.58(3H, m, OCH<sub>2</sub>, H-3), 5.65(1H, s, H-12); ESI-MS *m/z*: 673.0[M + H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -(3-羧基-丙酰基)-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸(**6**) 将 18 $\beta$ -GA 0.47 g(1.0 mmol)、丁二酸酐 0.6 g(6.0 mmol)、DMAP 0.16 g(1.3 mmol)、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 20 mL 依次加入反应瓶中,加热回流反应 15 h,反应液水洗 3 次,浓缩,甲醇-水重结晶得白色固体 0.56 g,收率 98%,mp:294 ~ 296 °C(文献<sup>[9]</sup> 293.5 ~ 295.5 °C)。

3 $\beta$ -[[4-(2-溴)-乙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸-2-溴乙酯(**7a**) 将化合物 **6** 0.30 g(0.53 mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.20 g(1.45 mmol)、DMF 15 mL 依次加入反应瓶中,缓慢滴加 1,2-二溴乙烷 0.5 mL(5.3 mmol),室温搅拌反应 4 h,往反应液中加入水 200 mL,乙酸乙酯(50 mL×3)萃取,合并有机层,饱和食盐水洗,无水硫酸钠干燥,过滤,浓缩,柱色谱[乙酸乙酯-石油醚(60~90 °C),1:4]分离得白色固体 0.35 g,收率 85%,mp:140 ~ 142 °C,ESI-MS  $m/z$ :785.4[M+H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(3-溴)-丙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸-(3-溴)-丙酯(**7b**) 参照化合物 **7a** 的制备方法,由 1,3-二溴丙烷制得白色固体,收率 86%,mp:125 ~ 127 °C,ESI-MS  $m/z$ :813.3[M+H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(4-溴)-丁氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸-(4-溴)-丁酯(**7c**) 参照化合物 **7a** 的制备方法,由 1,4-二溴丁烷制得白色固体,收率 85%,mp:102 ~ 104 °C,ESI-MS  $m/z$ :841.4[M+H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(2-硝基氧基)-乙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸-(2-硝基氧基)-乙酯(**8a**) 将化合物 **7a** 0.25 g(0.32 mmol)溶解于乙腈 12 mL 中,加入硝酸银 0.21 g(1.25 mmol),避光回流反应 20 h,过滤,浓缩,柱色谱[乙酸乙酯-石油醚(60~90 °C),1:5]分离得白色固体 0.20 g,收率 82%,mp:112 ~ 114 °C;IR(KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ :2 960, 2 869, 1 733, 1 641, 1 460, 1 380;<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :0.81 ~ 1.51(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 2.35(1H, s, H-9), 2.66 ~ 2.74(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 4.38 ~ 4.41(4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 4.51 ~ 4.67(5H, m, 2CH<sub>2</sub>, H-3), 5.65(1H, s, H-12);ESI-MS  $m/z$ :749.4[M+H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(3-硝基氧基)-丙氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸-(3-硝基氧基)-丙酯(**8b**) 参照化合物 **8a** 的制备方法,由化合物 **7b** 制得白色固体,收率 82%,mp:60 ~ 62 °C;IR(KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ :2 966, 1 731, 1 631, 1 461, 1 388;<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :0.81 ~ 1.57(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 2.07 ~ 2.11(2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.35(1H, s, H-9), 2.64 ~ 2.74(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 4.19 ~ 4.23(4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 4.52 ~ 4.67(5H, m, 2CH<sub>2</sub>, H-3), 5.62(1H, s, H-12);ESI-MS  $m/z$ :777.3[M+H]<sup>+</sup>。

3 $\beta$ -[[4-(4-硝基氧基)-丁氧基]-1,4-丁二酰基]-氧基-18 $\beta$ -甘草次酸-(4-硝基氧基)-丁酯(**8c**) 参照化合物 **8a** 的制备方法,由化合物 **7c** 制得白色固体,收率 92%,mp:

76 ~ 78 °C;IR(KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$ :2 958, 2 873, 1 730, 1 627, 1 460, 1 386;<sup>1</sup>H NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :0.80 ~ 1.50(21H, m, 7CH<sub>3</sub>), 1.97 ~ 2.10(4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 2.36(1H, s, H-9), 2.63 ~ 2.74(4H, m, -C(=O)-CH<sub>2</sub>-), 4.11 ~ 4.15(4H, m, 2CH<sub>2</sub>), 4.46 ~ 4.56(5H, m, 2CH<sub>2</sub>, H-3), 5.62(1H, s, H-12);ESI-MS  $m/z$ :805.4[M+H]<sup>+</sup>。

### 3 抗肿瘤活性测试

采用 MTT 法测试了目标化合物 **4a** ~ **4f** 和 **8a** ~ **8c** 对人肝癌细胞(HepG2 和 BEL-7402)、人乳腺癌细胞 MCF-7 和人早幼粒细胞白血病细胞 HL-60 的体外抗肿瘤活性。阿霉素为阳性对照药。

实验方法如下:取处于指数生长期状态良好的细胞 1 瓶,加入 0.25% 胰蛋白酶消化,使贴壁细胞脱落,制成每毫升含  $2 \times 10^4 \sim 4 \times 10^4$  个细胞的悬液。取细胞悬液接种于 96 孔板上,每孔 180  $\mu$ L,置恒温 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h。换液,加入系列浓度的受试化合物,每孔 20  $\mu$ L,培养 48 h。将 MTT 加入 96 孔板中,每孔 20  $\mu$ L,培养箱中反应 4 h。吸去上清液,加入 DMSO,每孔 150  $\mu$ L,平板摇床上振摇 5 min。用酶联免疫检测仪在波长为 570 nm 处测定每孔的吸收度,并计算细胞抑制率,结果如表 1 所示。

**Table 1** *In vitro* inhibitory activity of the target compounds against human cancer cells

Compd.	IC <sub>50</sub> /( $\mu$ mol/L)			
	HepG2	BEL-7402	HL-60	MCF-7
Adriamycin	2.03	0.90	1.11	0.86
<b>4a</b>	70.06	89.18	$\geq 100$	$\geq 100$
<b>4b</b>	50.64	63.00	85.99	$\geq 100$
<b>4c</b>	18.00	16.86	49.63	20.00
<b>4d</b>	$\geq 100$	$\geq 100$	$\geq 100$	$\geq 100$
<b>4e</b>	$\geq 100$	$\geq 100$	$\geq 100$	$\geq 100$
<b>4f</b>	48.18	59.85	40.73	68.58
<b>8a</b>	33.41	26.22	20.54	55.68
<b>8b</b>	20.03	19.03	19.41	45.15
<b>8c</b>	16.52	9.20	8.13	16.60

### 4 结果与讨论

本文测定了 9 个目标化合物的体外抗肿瘤活性,初筛结果显示,部分化合物具有不同程度的抑制肿瘤细胞增殖的活性,其中,化合物 **4c** 对人肝癌细胞(BEL-7402 和 HepG2)的抑制活性较强(IC<sub>50</sub> 分别为 16.86 和 18.00  $\mu$ mol/L),而含有两个硝酸酯片段的目标化合物 **8c** 对 4 种人肿瘤细胞株均具

有较强的抑制活性 ( $IC_{50} = 8.13 \sim 16.60 \mu\text{mol/L}$ ), 因此化合物 **8c** 可作为先导化合物进一步深入研究。

从体外抗肿瘤活性测试结果分析可知目标化合物存在如下构效关系: ①总体而言, 文献[5]报道的 GA 分子 30 位羧基引入硝酸酯片段的衍生物(化合物 **2a** ~ **2d**) 相比, GA 甲酯 3 位羟基通过相应连接基团引入硝酸酯片段的衍生物(**4a** ~ **4d**) 抗肿瘤活性均有所减弱。②在所测试的 4 种人肿瘤细胞株中, 目标化合物分子中作为连接基团的脂肪链长度与抗肿瘤活性密切相关。当连接基团的脂肪碳链  $n = 2 \sim 4$  时, 化合物的抗肿瘤活性随着碳链的增长而明显增强, 如 **4c** > **4b** > **4a**, **8c** > **8b** > **8a**。然而, 当脂肪碳链  $n > 4$  时, 化合物的活性则明显降低, 如 **4d** < **4c** 和 **4e** < **4c**。无论是 **4a** ~ **4f** 或 **8a** ~ **8c** 系列均是脂肪碳链  $n = 4$  的化合物活性最强(**4c**, **8c**)。③连接基团与 NO 供体硝酸酯片段的偶联方式对化合物的活性有一定影响, 当连接基团的脂肪碳链  $n = 2$  时, 与酰胺键偶联的化合物活性强于与酯键偶联的化合物(**4f** > **4a**)。④在 GA 分子的 3 位和 30 位同时引入硝酸酯片段(**8a** ~ **8c**) 有助于提高化合物的抗肿瘤活性(**8a** > **4a**, **8b** > **4b**, **8c** > **4c**)。

## 参考文献

- [1] Pervin S, Chaudhuri G, Singh R. NO to breast: when, why and why not[J]? *Curr Pharm Des*, 2010, **16**(4): 451 - 462.
- [2] Martínez MC, Andriantsitohaina R. Reactive nitrogen species; molecular mechanisms and potential significance in health and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, **11**(3): 669 - 702.
- [3] Mocellin S. Nitric oxide: cancer target or anticancer agent[J]? *Curr Cancer Drug Targets*, 2009, **9**(2): 214 - 236.
- [4] Wang PG, Cai TB, Taniguchi N. *Nitric oxide donors* [M]. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005: 33 - 54.
- [5] 申利红(Shen LH), 赖宜生(Lai YS), 张奕华(Zhang YH), 等. 硝酸酯类甘草次酸衍生物的合成及抗肿瘤活性[J]. 中国药科大学学报(*J China Pharm Univ*), 2008, **39**(2): 103 - 107.
- [6] 谢凯(Xie K), 韩冬酶(Han DM), 金玲(Jin L). 甘草次酸衍生物的合成研究[J]. 天然产物研究与开发(*Nat Prod Res Dev*), 1997, **10**(2): 21 - 25.
- [7] Endres S, Hacker A, Noack E, et al. NO-Donors, part 3: nitroxy-acylated thiosalicylates and salicylates-synthesis and biological activities[J]. *Eur J Med Chem*, 1999, **34**(11): 895 - 901.
- [8] Kondratenko RM, Mustafina SR, Baltina LA, et al. Synthesis and antiulcer activity of 3-O-acylated glycyrrhetic acid methylates [J]. *J Pharm Chem*, 2001, **35**(5): 243 - 246.
- [9] 彭宇(Peng Y), 韩永生(Han YS), 王彩兰(Wang CL), 等. 甘珀酸钠的合成[J]. 中国医药工业杂志(*Chin Pharm J*), 1994, **25**(3): 106 - 107.

## · 新进展 ·

### 2010 年跨国制药公司新药研发进展(3)

推迟批准的在研新药

2010 年 FDA 推迟批准的新药, 见附表。

附表 2010 年 FDA 推迟批准的新药

药物	FDA 咨询委员会推荐意见(支持-反对-弃权)和时间	推迟时间/月	批准时间
Egrifta	16-0(2010-5-27)	6	2010-11-12
Prevnar 13	10-1(2009-11-19)	3	2010-2-24
Gilenya	25-0(2010-6-11)	3	2010-9-21
Acthar	20-1-2(2010-5-6)	3(2010-9-8 再次因标签修订推迟)	2010-10-15
Benlysta	13-2(2010-11-16)	处方药申报者付费法案(PDUFA)日期从 2010-9-12 推迟至 2011-3-10	
Halaven	未经 FDA 咨询委员会评议	3	2010-11-18
Afrezza	FDA 于 2010-12-29 决定推迟评审决议 4 周至 2011-1-29		
Brilinta	FDA 要求公司提供此药对 18 000 例患者与 Plavix 对比研究的新分析, 说明对美国患者疗效较差而对其他地区患者疗效较好的原因, 在 2010 年 3 ~ 4 季度进行再次评审		

(中国医药报, 本刊有删改)