

斑蝥素及其衍生物的合成及结构修饰的研究进展

董环文,刘超美,何秋琴,赵荔华(第二军医大学药学院有机化学教研室 上海 200433)

摘要 本文以近年来国内外发表的论文及专利为依据,综述了斑蝥素及其衍生物的化学合成和结构修饰研究成果。为斑蝥素衍生物的进一步结构优化,提高其抗肿瘤选择性,降低毒副作用提供参考。

关键词 药物化学;斑蝥素;抗肿瘤;结构修饰

中图分类号: R282.74

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2008)02-0097-06

斑蝥素 (cantharidin, 图 1-a) 是我国民间治疗恶性肿瘤药物——斑蝥的主要有效成分。现代研究证明,斑蝥素对腹水肝癌和原发性肝癌瘤珠有一定的抑制作用,而且有升高白细胞、不抑制免疫系统等优点^[1,2],因此,引起了人们的广泛关注。近年临床发现斑蝥素有多种新用途,治疗一些疑难杂症具有独特的疗效,如治疗风湿痛、神经痛、梅核气、斑秃、乳腺增生、鼻炎、传染疣和肝炎等。由于斑蝥素制剂对恶性肿瘤尤其是晚期癌症有相当强的治疗效果,因而有必要对斑蝥素进行深入的研究,但斑蝥素对泌尿系统有较大副作用^[3],天然斑蝥素资源短缺,不能满足需要,并且人工合成比较困难。于是人们不断开发新的斑蝥素衍生物产品,期望提高其抗肿瘤选择性,降低毒副作用,其中去甲斑蝥素 (norcantharidin 图 1-b) 成为研究的热点。研究表明,去甲斑蝥素不仅能保持较强的抗肿瘤活性和独特的升高白细胞作用,而且能明显减轻斑蝥素对泌尿系统强烈的刺激性,主要适用于原发性肝癌的治疗。然而,由于去甲斑蝥素仍有一定的脏器毒性,限制了其临床使用的剂量,影响了抗癌效果。因此斑蝥素的结构改造工作正在不断深入。本文综述了近几年来国内外学者对斑蝥素、去甲斑蝥素及其衍生物的合成和结构优化,并对斑蝥素衍生物的进一步结构改造提出了建议。

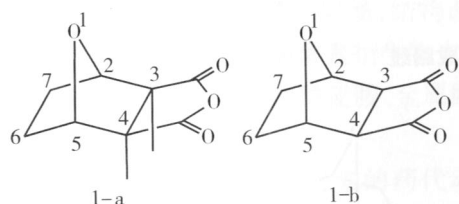


图 1 斑蝥素 (1-a) 和去甲斑蝥素 (1-b) 化学结构式

1 斑蝥素的全合成

1.1 Stork 合成法^[4,5] 美国化学家 Stork 于 1951 年首次成功的完成了斑蝥素的化学全合成 (图 2)。该方法以呋喃和 1,4-二羧酸二甲酯-2-丁炔为原料,经过 11 步反应完成了斑蝥素的合成。该法中虽然每一步都是经典反应,但反应步骤太长,并且有的步骤反应条件要求苛刻,操作困难。

1.2 Schenk 合成法^[6] 在 Schenk 合成法中,首先应用 Diels-Alder 反应以 1,4-丁二烯和二甲基马来酸酐为原料,构造出斑蝥素的六元环骨架,然后再经过 6 步反应成功的在六元环上引入氧桥,从而完成斑蝥素的合成 (图 3)。该合成路线的第 1 个关键步骤是二烯与氧分子的 [4+2] 环加成反应;第 2 个关键步骤是内酯的开环重排,在六元环上形成氧桥,同时溴负离子离去。该方法虽然较 Stork 合成法步骤减少,在有机合成技术上有较大提高,但是其中的两个关键步骤的反应条件苛刻,操作困难,仍然不适于大规模生产。

1.3 Dauben 合成法^[6,7] 美国化学家 Dauben 于 1976 年提出了两步合成斑蝥素的方法,大大简化了斑蝥素的化学全合成工艺。第 1 步,以呋喃和用硫原子修饰过的二甲基马来酸酐为原料,在 15kbar 压力下经 Diels-Alder 反应构造出斑蝥素母核;第 2 步,经加氢还原,消除硫原子,同时还还原碳碳双键,得到斑蝥素 (图 4)。该合成方法较 Stork 合成法和 Schenk 合成法有明显的改进。首先,合成步骤减少,总产率得以提高;其次,两步均为经典反应,反应条件温和,操作简单。但该方法第 1 步反应得到的是内型和外型两种化合物的混合物,需要进行多次重结晶拆分,才能得到单一构型的化合物。

2 斑蝥素衍生物的合成

2.1 斑蝥酸盐 主要是将斑蝥素与含有钠、钾、镁、钙、铜、锌、钴和锆等金属元素的氢氧化物或氧化物

反应,分别制备得到相应的斑蝥酸盐(图5)^[8]。斑蝥酸盐显著提高了水溶性,已有制剂应用于临

床^[9,10],其中斑蝥酸钠抗肿瘤作用明显优于斑蝥素,毒性、刺激性较斑蝥素轻。

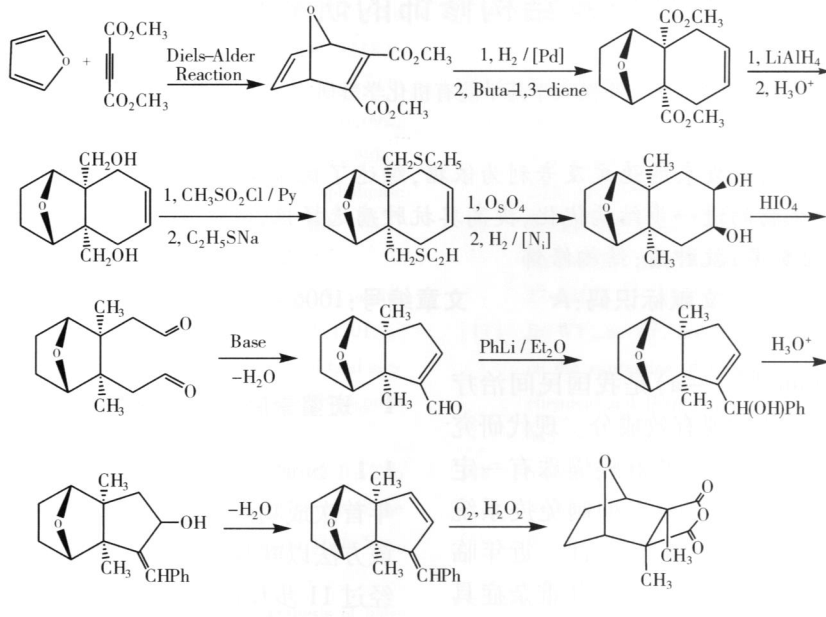


图2 Stork 法斑蝥素全合成路线

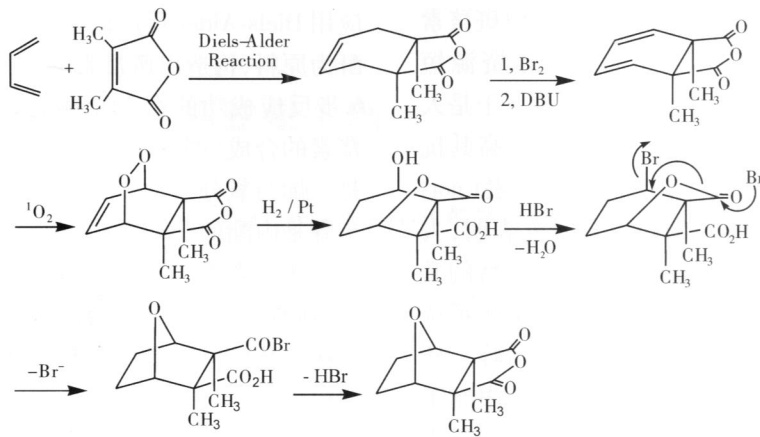


图3 Schenk 法斑蝥素全合成路线

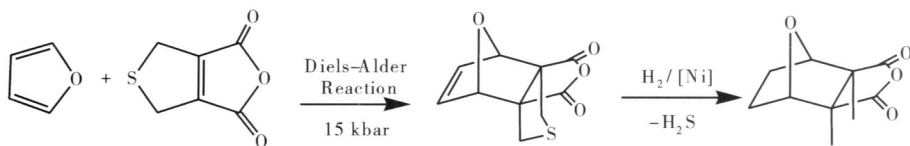
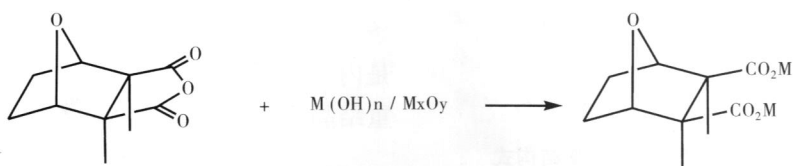


图4 Dauben 法斑蝥素全合成路线



M = Na, K, Mg, Ca, Cu, Zn, Co, Ge

图5 斑蝥酸盐合成路线

2.2 1位衍生物 对斑蝥素 1 位的结构改造,主要是根据生物电子等排原理,用其他原子或基团取代斑蝥素母核醚键的氧原子。可以取代该氧原子的原子或基团有硫原子、氮原子和亚甲基等^[9-11]。分别用噻吩,吡咯,1,3-环戊二烯为原料与相应的亲二烯体发生 Diels-Alder 反应制得对应的斑蝥素衍生物。实验表明,1 位的氧原子被其他原子或基团取代后,斑蝥素衍生物的抗肿瘤活性显著降低。可能是 1 位的氧原子需要与受体形成氢键作用。提示 1 位为药效团,不可以改变。

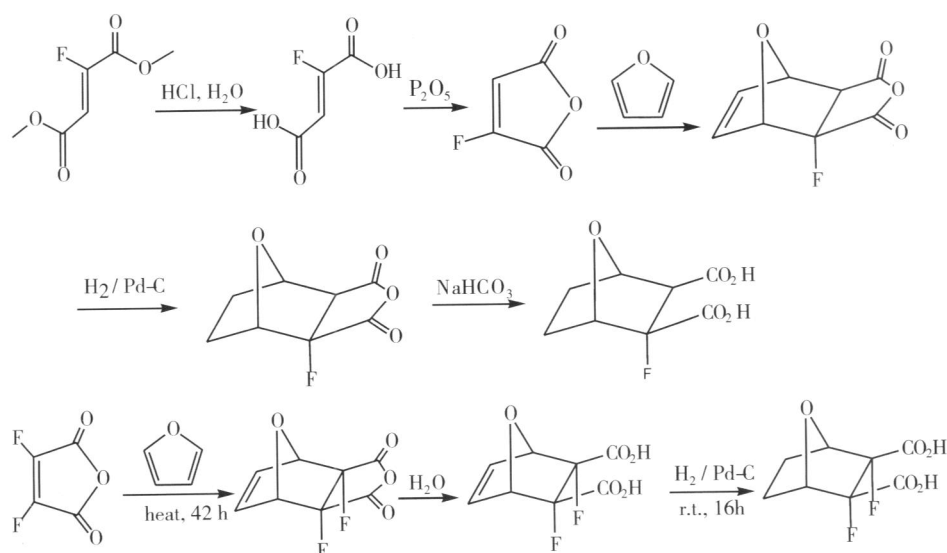


图 6 氟取代去甲斑蝥素及去甲斑蝥酸的合成路线

制备得到氟代斑蝥素衍生物。由于氟原子具有强吸电子性,降低了马来酸酐碳碳双键的电子云密度,有利于其作为亲双烯体参与 Diels-Alder 反应,同时氟原子半径与氢原子半径相近,故在反应过程中产生的位阻效应不明显,所以氟取代马来酸酐易于作为亲双烯体参与 Diels-Alder 反应。氟代斑蝥素衍生物的药理活性未见报道。

3 去甲斑蝥素衍生物的合成

去甲斑蝥素的合成较斑蝥素容易,结构改造的可能性较斑蝥素大,因此去甲斑蝥素衍生物也较多,具体有去甲斑蝥酸酯、去甲斑蝥酰亚胺、金属配合物及 2,5 位衍生物等。

3.1 羧酸酯 为了改善去甲斑蝥素的药代动力学特性,提高其抗肿瘤疗效,可以将去甲斑蝥素的五元酸酐开环,制备成羧酸单酯或双酯(图 7)^[9,13,14]。首先以呋喃和马来酸酐为原料经 Diels-Alder 反应在常温下制得不饱和去甲斑蝥素;接着在醇溶液中催化加氢,还原双键,同时打开五元酸酐环;最后,将去

2.3 3,4位衍生物 对斑蝥素 3,4 位的结构改造,主要是用氢原子取代甲基,即得到斑蝥素的衍生物——去甲斑蝥素。去甲斑蝥素及其衍生物是近年来研究的热点。其原因是:第一,斑蝥素及其衍生物的合成比较困难,而去甲斑蝥素及其衍生物通常只需要一步 Diels-Alder 反应就可以很容易的制备得到;第二,去甲斑蝥素与斑蝥素的药理活性相当,但是毒副作用比斑蝥素低。Michael 等报道^[12]了 3,4 位氟原子取代的斑蝥素衍生物(图 6)。分别以单取代或双取代氟代马来酸酐与呋喃经 Diels-Alder 反应

甲斑蝥酸与各种醇反应,用经典的成酯方法,如:对甲苯磺酸活化法,1,1-羰基二咪唑(CDI)或 N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)缩合法等,制得一系列去甲斑蝥酸单酯或双酯。成酯后的去甲斑蝥素脂水分配系数有所改变,但药理活性并没有显著提高。至今未见文献报道去甲斑蝥酸酯类药物应用于临床。

3.2 酰亚胺 对去甲斑蝥素的酰亚胺化修饰是斑蝥素衍生物结构优化的热点。酰亚胺的形成有两种方法,一种是羧酸酐直接与胺反应;一种是马来酰亚胺与呋喃经 Diels-Alder 反应形成去甲斑蝥素母核的同时引入酰亚胺。第一种方法中,常用 4-(N,N-二甲基)氨基吡啶(DMAP)作催化剂,三乙胺作碱,在甲苯体系中加热得到产物。当然,也可以用缩合剂,如 1-羟基苯并三氮唑(HOBT),N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)等来实现胺和羧酸酐的缩合。需要特别说明的是,由于去甲斑蝥素母核结构的不稳定性,不益将羧酸酐与胺直接加热到 150 以上制备产物。第二种方法中,由于胺中氮原子的推电子效应,使马来酸酐碳碳双键的电子云密度增加,降低了马

来酸酐作为亲二烯体的反应活性,故反应通常需要在加压条件下进行,但由于逆 Diels-Alder 反应的发生,该方法的得率通常比较低。去甲斑蝥素酰亚胺分子中的胺大体可以分为以下几种:氨、肼、氨基酸、氨基醇、氨基磷酸、取代苯胺、氨基萘类等(表

1)^[9~11,15]。其中甲基斑蝥胺活性较好,对动物实体瘤作用优于斑蝥素,毒性则较低,对肝脏毒性小,但对肾脏仍有一定毒性。临床研究发现甲基斑蝥胺对原发性肝癌有一定疗效,能使患者症状减轻,体征改善。

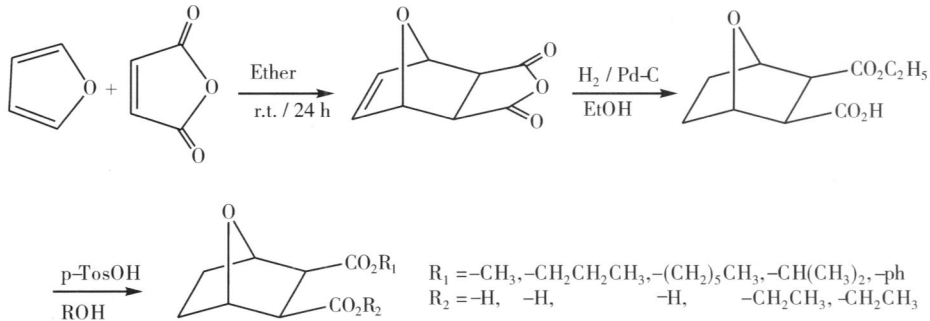


图 7 去甲斑蝥酸酯合成路线

表 1 斑蝥酰亚胺化合物中的胺化学结构式

化学名称	化学结构式	化学名称	化学结构式
氨	NH ₂ R	氨基磷酸	
肼	NH ₂ NH ₂	苯胺	
氨基酸	NH ₂ (CH ₂) _n COOH	氨基萘	
氨基醇	NH ₂ (CH ₂) _n CH ₂ OH		

注:R = alkyl or aryl; R' = -CH₃(o, m, p), -OH(o, m, p), -COOH(o, m, p), or -Br(o, m, p)

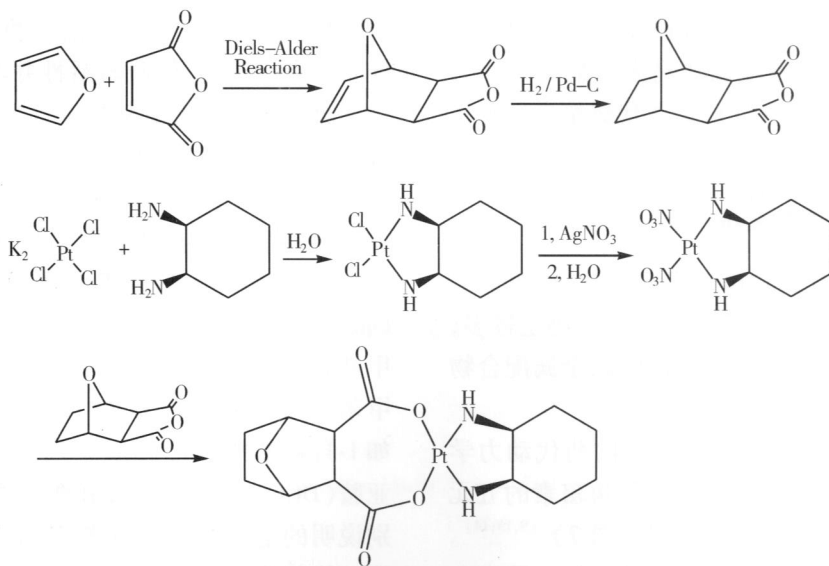


图 8 去甲斑蝥素与铂配合物合成路线

3.3 铂配合物 利用去甲斑蝥素衍生物与金属铂的协同抗癌作用,希望能减轻药物毒副作用。高倬等^[16]报道了具有抗肿瘤活性的系列斑蝥素衍生物铂配合物——斑铂。最近有专利报道^[17]了去甲斑蝥素铂配合物的结构式及其合成路线(见图8),该配合物可以抑制对顺铂、卡铂或奥沙利铂敏感或具有耐药性的肿瘤细胞的生长。但还应从剂型、溶解度等方面对去甲斑蝥素铂配合物改进,其抗肿瘤活性有望进一步提高,毒性可以进一步减小。

3.4 2,5位衍生物 有文献报道^[15,18]了去甲斑蝥素的2,5位结构改造(见图9)。未见文献报道在去甲斑蝥素的2位或5位直接引入取代基团的方法,

通常采用2位或5位取代的呋喃与马来酸酐发生Diels-Alder反应制备2位或5位取代的去甲斑蝥素衍生物。由于2位或5位取代基的引入,至少会生成一对光学异构体,需要进行多次重结晶才能拆分得到单一构型的化合物。去甲斑蝥素的2位或5位有取代基时,对磷酸蛋白酶1(PP1)和磷酸蛋白酶2A(PP2A)的抑制活性通常会降低,并且不同构型的化合物对PP1或PP2A的选择性显著不同;但不同构型的化合物对磷酸蛋白酶2B(PP2B)的选择性和抑制活性都明显增强。提示对2位或5位的结构修饰可能获得磷酸蛋白酶2B(PP2B)选择性抑制剂。

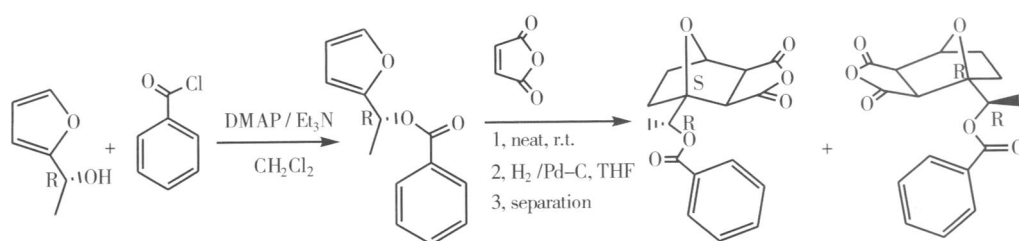


图9 2位取代去甲斑蝥素合成路线

4 展望

从上述对斑蝥素、去甲斑蝥素及其衍生物的合成及结构优化的策略可以看出:斑蝥素的化学全合成比较困难,对其结构修饰的重点主要是制备斑蝥酸盐,其中斑蝥酸钠已经应用于临床,其他位点的改造较少;而去甲斑蝥素及其衍生物的合成容易的多,可以修饰的位点也较多,并且不同位点的衍生物有不同的抗肿瘤活性及选择性,但比较成功的改造主要集中在对五元酸酐环的结构优化,尤其是衍生物酰亚胺成为研究的热点,其中甲基斑蝥胺取得了良好的临床效果。总之,对斑蝥素衍生物的结构优化还有大量的工作可以做。随着研究的不断深入,斑蝥素及其衍生物的临床价值必将得到充分挖掘。

参考文献:

- [1] McCluskey A, Bowyer MC, Collins E, *et al* Anhydride modified cantharidin analogues: synthesis, inhibition of protein phosphatases 1 and 2A and anticancer activity[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10: 1687.
- [2] 安巍巍,王敏伟,龚显峰,等. 去甲斑蝥素通过半胱氨酸天冬氨酸酶诱导 Hela 细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(3): 417.
- [3] 邹建军,张胜强,冯瑞祥. 斑蝥素毒性及其药(毒)动力学研究[J]. *中国药科大学学报*, 2002, 33(5): 393.
- [4] Stork G, Tamelen EE, Friedman LJ, *et al* Cantharidin a ste-

reospecific total synthesis[J]. *J Am Chem Soc*, 1951, 73(9): 4501.

- [5] Stork G, Tamelen EE, Friedman LJ, *et al* A stereospecific synthesis of cantharidin[J]. *J Am Chem Soc*, 1953, 75(2): 384.
- [6] Dauben WG, Kessel CR, Takemura KH. Simple, efficient total synthesis of cantharidin via a high - pressure Diels - Alder reaction[J]. *J Am Chem Soc*, 1980, 102(22): 6893.
- [7] Dauben WG, Krabbenhoft HO. Organic reactions at high pressure. Cycloadditions with furans[J]. *J Am Chem Soc*, 1976, 98(7): 1992.
- [8] 郭宗华,张之军,张沛. 斑蝥酸钠的制备工艺[P]. 中国专利: 1374310A, 2002-10-16.
- [9] Sin Alistair TR, Ackland S, Sakoff J. Anhydride modified cantharidin analogues useful in the treatment of cancer[P]. Australian Patent 2004203476, 2004-08-26.
- [10] McCluskey A, Jella AK, Cecilia CW, *et al* The First Two Cantharidin Analogues Displaying PP1 Selectivity[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 391.
- [11] Zhou YZ, Jiang T, Ren SM, *et al* Synthesis, crystal structure and in vitro antitumor activity of di-n-butyltin 40-(7-oxabicyclo[2,2,1]-5-heptan-2,3-dicarboximide) benzoates[J]. *J Organometal Chem*, 2005, 690: 2186.
- [12] Michael E, Birgit W, Gunter H. Synthesis of the first fluorinated cantharidin analogues[J]. *Tetra Lett*, 2001, 42: 5429.
- [13] McCluskey A, Stephen PA, Michael CB, *et al* Cantharidin analogues: synthesis and evaluation of growth inhibition in a panel of selected tumour cell lines[J]. *Bioorg Chem*, 2003, 31: 68.
- [14] Sakoff JA, Ackland SP, Baldwin ML, *et al* Anticancer activity and protein phosphatase 1 and 2A inhibition of a new generation

- of cantharidin analogues[J]. *Invest New Drugs*, 2002, 20(1): 1.
- [15] Yoshiyasu B, Nozomu H, Mikiko S. Optically active cantharidin analogues possessing selective inhibitory activity on Ser/Thr protein phosphatase 2B (calcineurin): Implications for the binding mode[J]. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13: 5164.
- [16] 高倬, 姜平, 熊惠周. 斑蝥素衍生物与铂络合物体外耐药性初探[J]. *时珍国医国药*, 2000, 11(5): 385.
- [17] 何涛萍, 欧阳植勋, 杜建华, 等. 去甲斑蝥素铂配合物异构体及其应用[P]. 国际专利: 2005097813, 2005-10-20.
- [18] Sodeoka M, Baba Y. Substituted 7-oxabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylic acid derivative, protein dephosphorylation enzyme inhibitor and medicine [P]. Japanese patent: 2000309590, 2000-11-07.

收稿日期: 2006-06-19

(上接第 92 页)

抑制剂与肿瘤的关系不仅是为了更好的揭示肿瘤发生的机制, 而更重要的意义在于应用 COX-2 抑制剂防治肿瘤, 有关机制有待进一步研究。目前, 比起传统的 NSAIDs, COX-2 抑制剂的不良反应在一定程度上有所减少, 但其安全性尚未确定, 尤其是心血管方面的安全性问题仍是争论的热点, 故还需进行多中心、长期的临床观察和实验研究来进一步规范 COX-2 抑制剂的使用, 且在具体应用时要根据病情权衡利弊。随着对 COX-2 及其抑制剂相关理论的不深入, 将会使 COX-2 抑制剂更好的服务于人类。

参考文献:

- [1] Bazan NG, Flower RJ. Medicine: Lipid signals in pain control [J]. *Nature*, 2002, 420(6912): 135.
- [2] Wallace JL. Distribution and expression of cyclooxygenase (COX) isoenzymes, their physiological roles, and the categorization of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [J]. *Am J Med*, 1999, 107(6A): 11S.
- [3] Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21): 13926.
- [4] Lane NE. Pain management in osteoarthritis: the role of COX-2 inhibitors [J]. *J Rheumatol*, 1997, (Suppl 49): S20.
- [5] Anon. Scientific data on the efficacy of parecoxib [J]. *Scrip*, 2001, (2625): 24.
- [6] 关振鹏, 冯艺, 吕厚山. 围手术期使用选择性环氧化酶-2 抑制剂对双膝关节置换术后疼痛、出血量以及关节功能恢复的影响 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(6): 4.
- [7] Keith M, Robert T. Are COX-2 selective inhibitors effective analgesics? [J]. *Pain Reviews*, 2001, 8: 13.
- [8] Rugg C, Dommond O, Mariotti A. Endothelial cell integrins as COX-2: mediators and therapeutic targets of tumorigenesis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1654(1): 51.
- [9] Eiko M, Akata M, Kathryn A, et al. Potentiation of tumor response to radiation or chemoradiation by selective cyclooxygenase-2 enzyme inhibitors [J]. *Int J Radiation Oncol Biol*, 2004, 58(2): 369.
- [10] Yona D, Arber N. Coxibs and cancer prevention [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2006, 47(Suppl 1): S76.
- [11] 方维丽, 王邦茂, 刘文天, 等. 环氧化酶-2 和前列腺素 E 合酶与反流性食管炎的关系研究 [J]. *中华消化杂志*, 2004, 24: 629.
- [12] Harris SG, Padilla J, Koumsd L, et al. Prostaglandins as modulators of immunity [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(3): 144.
- [13] Lahiri T, Laporte JD, Moore PE, et al. Am J Physiol Lung Cell [J]. *Mophysiol*, 2001, 280(6): L1225.
- [14] Belton O, Byrne D, Keamey D, et al. COX-1 and COX-2 dependent prostacyclin formation in patients with atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2000, 102(8): 840.
- [15] Saito T, Rodger W, Hu F, et al. Inhibition of COX-2 improves cardiac function in myocardial infarction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273(2): 772.
- [16] Risnick OK, Nguyen P, Cechvola CF, et al. Selective Cyclooxygenase-2 inhibition lowers spinal cord prostaglandin concentrations after injury [J]. *Spine J*, 2001, 11(6): 437.
- [17] Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, et al. COX-2: a synaptically induced enzyme is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 2317.
- [18] McGeer PL, Rogers J, McGeer EG. Inflammation, anti-inflammatory agents and Alzheimer disease [J]. *Alzheimers Dis*, 2006, 9(3 Suppl): 271.
- [19] Wang JL, Cheng HF, Shappell S, et al. A selective cyclooxygenase-2 inhibitor decrease proteinuria and retards progressive renal injury in rats [J]. *Kidney Int*, 2000, 57(6): 2334.
- [20] Steinbrech DS, Mehrara BJ, Saadeh PB, et al. VEGF expression in an osteoblast-like cell line is regulated by a hypoxia response mechanism [J]. *Am J Physiol*, 2000, 278(4): C853.
- [21] Luo C, Kallajoki M, Gross R, et al. Cellular distribution and contribution of cyclooxygenase COX-2 to diabetogenesis in NOD mouse [J]. *CELL Tissue Res*, 2002, 310: 169.
- [22] Rainsford KD. The ever emerging anti-inflammatories: Have there been any real advances? [J]. *J Physiol Paris*, 2001, 95(1-6): 11.
- [23] Marwali MR, Mehta JL. COX-2 inhibitors and cardiovascular risk: Inferences based on biology and clinical studies [J]. *Thromb Haemost*, 2006, 96(4): 401.
- [24] Moore RA, Derry S, Phillips CJ, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), cyclooxygenase-2 selective inhibitors (coxibs) and gastrointestinal harm [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2006, 20(7): 79.
- [25] Zhang J, Ding EL, Song Y. Adverse effects of cyclooxygenase 2 inhibitors on renal and arrhythmia events [J]. *JAMA*, 2006, 296(13): 1653.

收稿日期: 2007-04-29