文章编号:1001-6880(2016)5-0749-05

三七二醇型皂苷氧化降解产物衍生物的合成及其抗肿瘤活性研究

蒲 洪[1,2],董成梅[1],邹 澄[1*],赵 庆[3],段文越[1],陈 丹[1],郭巍怡[1],胡建林[1]

[1]昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室,昆明 650500;

[2]湖南医药学院药学院,怀化 418000;[3] 云南中医学院中药学院,昆明 650500

摘 要:本研究以三七二醇型皂苷原料,通过琼斯氧化得到化合物 **1**,将化合物 **1** 的 **3** 位羰基经还原胺化反应转化为氨基得到化合物 4,再用化合物 **4** 与酰化试剂反应得到化合物 **5**~**8**,此外还通过其它两种反应得到化合物 **2** 和 **3**,总共 8 个化合物,其中 6 个化合物未见文献报道,结构均经过核磁共振、质谱确证。所得化合物用 MTS 法对人白血病细胞株 HL-60、肝癌细胞株 SMMC-7721、肺癌细胞株 A-549、乳腺癌细胞株 MCF-7、结肠癌细胞株 SW480 等肿瘤细胞株进行抗肿瘤活性评价。药理活性评价结果显示,化合物 **3** 有一定的抗肿瘤活性,值得进一步研究。

关键词:三七二醇型皂苷;皂苷元;抗肿瘤活性

中图分类号:R284.3;R965.1 **文献标识码**:A DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.5.020

Synthesis and Anti-tumor Activity of Derivatives of Oxidation Degradation Products from Panaxadiol Sapogenin

PU Hong[1,2],DONG Cheng-mei[1],ZOU Cheng[1*],ZHAO Qing[3],
DUAN Wen-yue[1],CHEN Dan[1],GUO Wei-yi[1],HU Jian-lin[1]

[1]*School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China*;[2]*School of Pharmaceutical Science, Hunan University of Medicine, Huaihua 418000, China*;[3]*School of Chinese Materia Medica, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China*

Abstract: In this study, Jones oxidation of the diol-type saponins of *Panax notoginseng* afforded compound **1**. Its 3-carbonyl group was converted into amino group by reductive amination to give compound **4**, and then compound **4** was reacted with acyl reagent to give compounds **5**-**8**. In addition, compounds **2** and **3** were obtained by the other two reactions. The syntheses of the 6 derivatives had not been reported. Their structures were identified by ^{1}H NMR, ^{13}C NMR and MS. Their *in vitro* anti-tumor activities against HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7 and SW480 cancer cells were evaluated by MTS assay. The evaluation results showed that compound **3** had some anti-tumor activity and wass worthy of further study.

Key words: panaxadiol type saponin of *Panax notoginseng*; sapogenins; anti-tumor activity

三七二醇型皂苷是三七、人参的主要活性成分,其主要具有抗肿瘤、免疫调节、抗炎镇痛等作用[1],经水解可以分离得到人参二醇。目前国内外对人参二醇类皂苷元的结构修饰主要集中在 3 位羟基的酰化修饰,已报道的脂肪酸类、氨基酸类人参二醇的衍生物中均有出现比人参二醇更有效的抗肿瘤活性化合物[2-5]。为此笔者利用生物电子等排原理制备 3 位氨基,而氨基制备的中间体是人参二醇类皂苷元的氧化产物,之前我们主要通过先水解成人参二醇,再将 3 位羟基氧化成羰基,这一方法需要两步反应,较麻烦。为此我们试图通过琼斯氧化将三七二醇型皂苷的水解和苷元的氧化一步完成,得到这一类人参二醇的降解氧化产物。本课题组在前期研究中已制备得到三七二醇型皂苷元衍生物 11 个,有些化合物具有一定的抗肿瘤活性[6]。本文继续对化合物 **1** 和化合物 **4** 进行结构修饰得到 6 个衍生物。

收稿日期:2015-07-13 接受日期:2016-03-15

基金项目:国家自然科学基金(81160388);云南省应用基础研究计划(2011FZ097);云南省科技厅与昆明医科大学联合专项(2011FB245)

*通讯作者 E-mail:zouchengkm@126.com

本文经还原胺化反应将氧化物的 3 位羰基转变成氨基,再与酰化试剂反应,得到一系列降解人参二醇的衍生物 7 个,其中 6 个化合物未见文献报道。用 ^{1}H NMR、^{13}C NMR、MS 等鉴定这些化合物的结构,采用 MTS 法评价其中 6 个化合物对人白血病细胞株 HL-60、肝癌细胞株 SMMC-7721、肺癌细胞株 A-549、乳腺癌细胞株 MCF-7、结肠癌细胞株 SW480 的抑制活性。

1 仪器与材料

AV-400 核磁共振仪(美国 Bruker 公司);LCQ-Advantage LC-MS(Thermo Finnigan);RE-2000A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);FA2004 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限公司);KQ-100 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);SHZ-D 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司)。

GF_{254} 薄层层析板;柱层析用硅胶(青岛海洋化工厂);高效薄层层析板(默克);三七二醇型皂苷(云南红云生物工程技术有限公司);化学合成试剂主要为优级纯,少量分析纯,均购买于上海晶纯实业有限公司和上海泰坦科技股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 化合物 1 的制备[6]

称取三七二醇型皂苷 20 g,量取 250 mL 蒸馏水、200 mL 丙酮加入到 1000 mL 的烧瓶中,搅拌使其充分溶解后,加入自制总量 140 mL 琼斯试剂(分批加入),接上冷凝装置,室温下搅拌反应 4 h,减压蒸干反应液中的丙酮,加入 100 mL 水后,乙酸乙酯萃取(3×200 mL),萃取液合并水洗(3×200 mL),无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,减压浓缩,得淡绿色稠状粗产品,通过柱色谱纯化得到化合物 **1**。

白色粉末,收率 6.7%;^{1}H NMR(400 MHz,$CDCl_3$)δ:0.76(3H,s,H-18),1.03(3H,s,H-19),1.05(3H,s,H-27),1.09(3H,s,H-25),1.24(3H,s,H-26),1.24(3H,s,H-21);^{13}C NMR($CDCl_3$,100 MHz)δ:216.4(s,C-3),209.8(s,C-12),176.7(s,C-24),88.4(s,C-20),56.7(d,C-13),55.8(s,C-14),54.8(d,C-5),53.4(d,C-9),47.1(s,C-4),42.5(d,C-17),40.1(s,C-8),38.9(t,C-1),37.1(t,C-11),33.6(s,C-10),33.3(t,C-7),32.8(t,C-2),32.2(t,C-22),31.4(t,C-15),28.7(t,C-23),26.4(t,C-16),24.7(q,C-21),20.8(q,C-25),20.8(t,C-6),19.5(q,C-26),16.2(q,C-27),15.6(q,C-18),15.2(q,C-19);ESI-MS(*m/z*):429.3 $[M+H]^+$。

2.2 化合物 2 的合成[7]

在带有加热、搅拌、回流冷凝管等装置的 50 mL 二颈瓶中分别加入化合物 **1**(65 mg,0.15 mmol)、甲酸铵(10 g,0.16 mol),缓慢升温至 135 ℃搅拌反应,1 h 后升温至 165 ℃,反应 5 h 后,TLC 检测原料点消失,停止反应,冷却至室温后,加入 20 mL 蒸馏水搅拌 10 min,然后用乙酸乙酯萃取(3×50 mL),

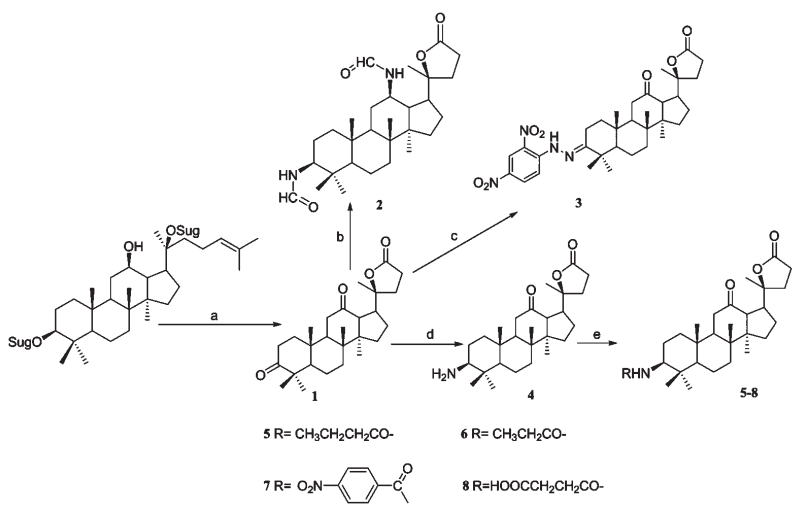

图 1 化合物 1~8 合成路线图

Fig. 1 Synthetic routes of compounds **1-8**

Reagents and conditions:(a) Jones reagent,4 h,rt;(b) $HCOONH_4$,5 h,135 ℃;(c) 2,4-Dinitrophenylhydrazine,ethyl alcohol absolute,24 h,50 ℃;(d) $NaBH_3CN$,CH_3COONH_4,CH_3OH;(e) DMAP,Pyridine,24 h,rt

收集有机相,依次用蒸馏水(4×30 mL)、饱和碳酸氢钠溶液(3×30 mL)、饱和食盐水(2×30 mL)洗涤,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,滤液减压蒸干得粗产品,经柱色谱纯化得化合物**4**(63 mg)。白色粉末,收率85%;^{1}H NMR(400MHz,CD_3OD) δ:0.79(3H,s,H-18),0.88(3H,s,H-19),0.93(3H,s,H-27),1.06(3H,s,H-25),1.14(3H,s,H-26),1.39(3H,s,H-21),4.41(1H,m,3-CH),7.47(1H,d,J = 8.48 Hz,H-3′,H-5′),7.80(1H,d,J = 8.5 Hz,H-2′,H-6′);^{13}C NMR(CD_3OD,100 MHz) δ:179.59(s,C-24),163.8(d,C-12),163.3(d,C-3),91.8(s,C-20),58.0(d,C-3),56.9(d,C-12),50.8(d,C-13),49.4(d,C-5),49.4(s,C-14),47.4(d,C-9),47.3(d,C-17),45.8(s,C-8),45.7(t,C-1),41.5(t,C-11),37.9(s,C-4),35.2(s,C-10),34.5(t,C-7),31.8(t,C-22),29.8(t,C-15),29.0(t,C-23),26.4(q,C-21),23.3(t,C-16),19.5(q,C-25),19.4(t,C-2),18.3(t,C-6),18.2(q,C-26),16.8(q,C-27),16.7(q,C-18),15.5(q,C-19);ESI-MS(m/z):486.3 [M+H]$^+$。

2.3　化合物3的合成[8]

称取化合物**1**(1eq,40 mg,0.093 mmol),2,4-二硝基苯肼(2eq,37 mg)放入25 mL反应瓶中,分别加入冰醋酸2 mL,无水乙醇6 mL,50 ℃条件下保温搅拌反应24 h,减压蒸干反应溶剂,加入70 mL蒸馏水后,用乙酸乙酯萃取(100 mL×3),合并萃取液,分别用水洗及饱和食盐水洗,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,滤液浓缩,经柱色谱纯化得化合物**3**(16.8 mg)。橙黄色粉末,收率29.7%;^{1}H NMR(400 MHz,$CDCl_3$) δ:0.78~1.26(18H,s,6×CH_3),7.53~8.30(3H,m,Ar-H);^{13}C NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:210.0(s,C-12),176.9(s,C-24),165.8(s,C-3),145.4(s,C-1′),137.5(s,C-4′),130.8(s,C-2′),129.9(d,C-5′),123.5(d,C-3′),116.3(d,C-6′),88.6(s,C-20),71.7(d,C-13),65.5(d,C-5),56.8(s,C-14),55.3(d,C-9),53.4(d,C-17),42.8(s,C-8),42.2(t,C-1),40.3(t,C-11),37.4(s,C-4),32.3(s,C-10),31.6(t,C-7),29.7(t,C-22),29.3(t,C-15),28.8(t,C-23),28.7(q,C-21),23.7(t,C-16),22.6(q,C-25),20.3(t,C-2),19.6(t,C-6),16.3(q,C-26),15.5(q,C-27),15.4(q,C-18),14.1(q,C-19;ESI-MS(m/z):608.3 [M+H]$^+$。

2.4　化合物4的合成[6]

在带有加热、搅拌、回流冷凝管等装置的50 mL二颈瓶中分别加入化合物**1**(1eq,300 mg,0.65 mmol)、氰基硼氢化钠(一定量),乙酸铵(一定量)、甲醇25mL,保温搅拌反应,TLC跟踪反应过程,反应完全后停止反应,减压蒸干甲醇,加入40 mL水后,用乙酸乙酯萃取(200 mL×3),合并萃取液,分别用饱和碳酸氢钠溶液、蒸馏水及饱和食盐水洗,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,滤液浓缩,经柱色谱纯化得化合物4。白色粉末,收率为47.3%;^{1}H NMR(400 MHz,CD_3OD) δ:0.77(3H,s,H-18),0.88(3H,s,H-19),0.95(3H,s,H-27),1.00(3H,s,H-25),1.01(3H,s,H-26),1.04(3H,s,H-21),3.81(1H,m,3-CH);^{13}C NMR(CD_3OD,100 MHz) δ:212.8(s,C-12),179.6 s,(C-24),90.8(s,C-20),64.3(d,C-3),60.9(d,C-13),57.9(d,C-5),56.9(s,C-14),55.5(d,C-9),43.9(d,C-17),40.2(s,C-8),39.4(t,C-1),39.1(t,C-11),38.1(s,C-4),37.2(s,C-10),33.9(t,C-7),32.9(t,C-22),31.4(t,C-15),28.9(t,C-23),28.1(q,C-21),24.7(q,C-25),24.7(t,C-2),19.9(t,C-6),18.9(t,C-16),16.8(q,C-26),16.2(q,C-27),16.1(q,C-18),15.9(q,C-19);ESI-MS(m/z):430.9[M+H]$^+$。

2.5　化合物5~7的合成[9]

在带有加热、搅拌、回流冷凝管等装置的25 mL二颈瓶中分别加入化合物**4**(1eq,50 mg,0.12 mmol)、丁酸酐(一定量)、DMAP(一定量)、吡啶8 mL,保温反应24 h。减压蒸干吡啶后,加入30 mL水后用乙酸乙酯萃取(100 mL×3),合并萃取液,用10%盐酸洗3次、饱和食盐水洗3次,无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,滤液浓缩,柱色谱纯化得化合物**5**。白色粉末,收率40.5%;^{1}H NMR(400 MHz,$CDCl_3$) δ:0.76(3H,s,H-18),0.79(3H,s,H-19),0.87(3H,s,H-27),0.91(3H,s,H-25),1.16(3H,s,H-26),1.20(3H,s,H-21),1.22(3H,s,H-4′),3.64-3.71(1H,m,3-CH);^{13}C NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:210.6(s,C-12),177.0(s,C-24),171.9(s,C-1′),88.8(s,C-20),56.7(d,C-3),56.7(d,C-13),56.6(d,C-5),55.9(s,C-14),54.0(d,C-9),42.6(d,C-17),40.2(s,C-8),39.7(t,C-1),39.0(t,C-11),38.6(s,C-4),37.8(s,C-10),37.4(t,C-2′),33.9(t,C-7),33.7(t,C-22),31.4(t,C-15),29.6(t,C-23),28.3(q,C-21),28.2(t,C-16),24.8(q,C-25),24.2(t,C-

2),19.1(t,C-3′),18.5(t,C-6),16.3(q,C-26),16.2(q,C-27),15.9(q,C-18),15.6(q,C-19),13.1(q,C-4′);ESI-MS(m/z):499.4 [M+H]$^+$。

2.5.1 化合物**6**的合成

合成过程中,除用丙酸酐代替丁酸酐外,其余实验方法同化合物**5**。

白色粉末,收率52.4%;^{1}H NMR(400 MHz,$CDCl_3$) δ:0.76(3H,s,H-18),0.78(3H,s,H-19),0.92(3H,s,H-27),0.98(3H,s,H-3′),1.16(3H,s,H-25),1.18(3H,s,H-26),1.24(3H,s,H-21),3.65-3.71(1H,m,3-CH);^{13}C NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:210.6(s,C-12),177.0(s,C-24),173.1(s,C-1′),88.7(s,C-20),56.7(d,C-3),56.3(d,C-13),56.2(d,C-5),55.8(s,C-14),54.1(d,C-9),42.6(d,C-17),39.7(s,C-8),39.4(t,C-1),39.0(t,C-11),38.6(s,C-4),37.8(s,C-10),37.4(t,C-2′),33.9(t,C-7),32.3(t,C-22),31.4(t,C-15),30.1(t,C-23),28.9(q,C-21),28.3(t,C-16),24.8(q,C-25),24.2(t,C-2),18.5(t,C-6),16.3(q,C-26),16.3(q,C-27),15.9(q,C-18),15.6(q,C-19),10.0(q,C-3′);ESI-MS(m/z):485.3 [M+H]$^+$。

2.5.2 化合物**7**的合成

合成过程中,除用对硝基苯甲酰氯代替丁酸酐外,其余实验方法同化合物**5**。

淡黄色粉末,收率51.1%;^{1}H NMR(400 MHz,$CDCl_3$) δ:0.75(3H,s,H-18),0.86(3H,s,H-19),0.92(3H,s,H-27),0.93(3H,s,H-3′),1.16(3H,s,H-25),1.18(3H,s,H-26),1.24(3H,s,H-21),3.83-3.86(1H,m,3-CH),8.24(1H,d,J = 8.5 Hz,H-3′,H-5′),7.87(1H,d,J = 8.5 Hz,H-2′,H-6′);^{13}C NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:210.8(s,C-12),177.3(s,C-24),165.4(s,Ar-C=O),149.4(s,C-4′),140.6(s,C-1′),128.0(d,C-3′),128.0(d,C-5′),123.7(d,C-2′),123.7(d,C-6′),89.0(s,C-20),57.1(d,C-3),56.8(d,C-13),56.3(d,C-5),56.0(s,C-14),54.1(d,C-9),42.6(d,C-17),39.4(s,C-8),38.9(t,C-1),38.2(t,C-11),38.1(s,C-4),37.5(s,C-10),34.0(t,C-7),32.3(t,C-22),31.4(t,C-15),30.1(t,C-23),28.9(q,C-21),28.5(t,C-16),24.8(q,C-25),24.2(t,C-2),18.5(t,C-6),16.4(q,C-26),16.3(q,C-27),15.9(q,C-18),15.6(q,C-19);ESI-MS(m/z):578.4 [M+H]$^+$。

2.6 化合物8的合成[9]

在带有加热、搅拌、回流冷凝管的装置25 mL二颈瓶中分别加入化合物**4**(1eq,50 mg,0.12 mmol)、丁二酸酐(一定量)、DMAP(一定量)、吡啶10 mL,加热保温反应,TLC检测原料消失后,减压蒸干吡啶后,加入30 mL水后用乙酸乙酯萃取(100 mL×3),合并萃取液,用10%盐酸洗3次、饱和食盐水洗3次,无水Na_2SO_4干燥,过滤,滤液浓缩,柱色谱纯化得化合物**8**。白色粉末,收率20.1%;^{1}H NMR(400 MHz,$CDCl_3$) δ:1.17(3H,s,H-18),1.20(3H,s,H-19),1.22(3H,s,H-27),1.29(3H,s,H-25),2.00(3H,s,H-26),2.12(3H,s,H-21),2.56-2.60(4H,m,2 × $COCH_2$),4.05-4.11(1H,m,3-CH);^{13}C NMR($CDCl_3$,100 MHz) δ:210.5(s,C-12),176.9(s,C-24),172.4(s,C-4′),171.0(s,C-1′),88.7(s,C-20),60.3(d,C-3),56.7(d,C-13),56.3(d,C-5),55.8(s,C-14),54.0(d,C-9),42.6(d,C-17),39.4(s,C-8),39.0(t,C-1),38.9(t,C-11),37.8(s,C-4),37.4(s,C-10),34.0(t,C-7),32.3(t,C-22),30.4(t,C-3′),29.6(t,C-15),29.4(t,C-2′),28.8(t,C-23),28.3(q,C-21),24.8(t,C-16),22.6(q,C-25),20.9(t,C-2),19.3(t,C-6),16.2(q,C-26),15.8(q,C-27),15.6(q,C-18),14.1(q,C-19);ESI-MS(m/z):529.3 [M+H]$^+$。

2.7 MTS法抗肿瘤活性筛选

采用MTS法对其中6个化合物进行体外抗肿瘤细胞株人白血病细胞株(HL-60)、肝癌细胞株(SMMC-7721)、肺癌细胞株(A-549)、乳腺癌细胞株(MCF-7)、结肠癌细胞株(SW480)的生物活性筛选,以顺铂和紫杉醇作为阳性对照(实验结果见表1)。

实验方法:用含10%胎牛血清的培养液(DMEM或者RMPI1640)配成单个细胞悬液,以每孔5000~10000个细胞接种到96孔板,每孔体积100 μL,贴壁细胞提前12 h接种培养;加入待测化合物溶液(固定浓度40 μM初筛,在该浓度对肿瘤细胞生长抑制达到50%的化合物设5个浓度进入梯度复筛),每孔终体积200 μL,每种处理均设3个复孔;37 ℃培养48 h后,小心吸弃孔内培养上清液,每孔加MTS溶液20 μL以及培养液100 μL,继续孵育4 h,使反应充分进行;选择490 nm波长,酶联免疫检测仪(Bio-Rad 680)读取各孔光吸收值,记录结果,以浓度为横坐标,细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线,应用两点法(Reed and Muench法)计算化合物的IC_{50}值。

表 1　化合物 1 ~ 7 对人肿瘤细胞的半数抑制浓度 IC_{50}(μM)

Table 1　The IC_{50} values of compounds **1-7** on human cancer cell lines(μM)

化合物 Compound	细胞株 Strain				
	HL-60	SMMC-7721	A-549	MCF-7	SW480
1	>40	>40	>40	>40	>40
2	>40	>40	>40	>40	>40
3	>40	21.88	17.03	22.44	18.33
4	>40	>40	>40	>40	>40
6	>40	>40	>40	>40	>40
7	>40	>40	>40	>40	>40
Cisplatin	3.08	10.2	9.08	17.48	11.99
Taxol	<0.008	<0.008	<0.008	<0.008	<0.008

3　讨论

本研究对三七二醇型皂苷氧化降解产物进行结构修饰,经三种类型的反应得到一系列降解人参二醇衍生物。细胞毒性实验结果表明,所得化合物 **3** 对 SMMC-7721、A-549、MCF-7、SW480 等肿瘤细胞增殖有一定的抑制活性,可能与分子中含有硝基有关。有文献报道高浓度的一氧化氮(NO)能够抑制肿瘤细胞的生长[10],而硝基是一类 NO 供体基团;化合物 1 与经转化成氨基后的化合物 **2** 显示无活性,可能与人参二醇的六元醚环被破坏,变成五元内酯环有关,与我们之前报道的试验数据类似。此外在活性筛选过程中我们发现化合物 **5** 和 **8** 很难溶于 DMSO,有待进一步解决。

参考文献

1　Liu XK, Ye BJ, Wu Y, *et al*. Synthesis and anti-tumor evaluation of panaxadiol derivatives. *Eur J Med Chem*, 2011, 46: 1997-2002.

2　Zhang CH(张春红), Zhang LX(张连学), Li XG(李向高), *et al*. Primary research on antitumor activity of panaxadiol fatty acid esters. *J Chin Med Mater*(中药材), 2006, 11:1200-1203.

3　Wei Y, Ma CM, Hattori M. Synthesis of dammarane-type triterpene derivatives and their ability to inhibit HIV and HCV proteases. *Bioorgan Med Chem*, 2009, 17:3003-3010.

4　Zhang CH(张春红), Li XG(李向高), Zhang LX(张连学), *et al*. Preliminary results of anti-cancer activity comparison of panaxadiol derivatives. *Chin J Nat Med*(中国天然药物), 2004, 6:369-371.

5　Bi Y, Tian JW, Wang L, *et al*. Synthesis, structural determination and protective effects on cultured anoxia reoxygen injury myocardiocytes of ocotillol-type derivatives. *J Med Plant Res*, 2011, 11:2424-2429.

6　Pu H(蒲洪), Dong CM(董成梅), Zou C(邹澄), *et al*. Synthesis and anti-tumor activity of sulfonamide derivatives of panaxadiol sapogenin. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2014, 26:1739-1744.

7　Tang M(唐敏). Study on the synthesis of 2-pyrrolidone derivates. Zhongshan: Guangdong Pharmaceutical University(广东药学院), MSc. 2010.

8　Zou HB(邹怀波), Ding W(丁伟), Zhou G(周刚). Synthesis of a dinitrophenyl-hydrazine derivative from curcumin and pre-evaluation of it's activity. *J Southwest Agric Univ, Nat Sci*(西南农业大学学报,自科版), 2006, 1:58-60.

9　Shen LH(申利红), Zhang YH(张奕华), Lai YS(赖宜生), *et al*. Synthesis and antitumor activity of nitric oxide-donating glycyrrhetinic acid derivatives coupled with nitrate moiety. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2011, 42:34-38.

10　Xie KP, Huang SY. Contribution of nitric oxide-mediated apoptosis to cancer metastasis inefficiency. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34:969-986.