

新型三唑类化合物的设计、合成和抗真菌活性研究

李洋洋¹, 刘 华¹, 刘 宏¹, 张永强², 张万年², 盛春泉² (1. 江西中医学院药物化学学科组, 江西 南昌 330006; 2. 第二军医大学药学院药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 基于唑类药物合理优化的分子设计模型, 设计新型三唑类化合物, 并测试其对常见致病真菌的抑制活性。方法 采用环氧化物开环法合成目标化合物, 通过¹H NMR 和 MS 确证其化学结构, 经微量液基稀释法测试体外抗真菌活性。结果 合成了2个含三唑酮侧链的新型唑类化合物, 它们均显示了优秀的广谱抗真菌活性。结论 目标化合物对白色念珠菌的活性优于对照药氟康唑和酮康唑, 值得进一步深入构效关系研究。

[关键词] 三唑; 三唑酮侧链; 化学合成; 抗真菌活性

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)01-0027-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.01.008

Design, synthesis and antifungal activity of novel triazole derivatives

LI Yang-yang², LIU Hua², LIU Hong², ZHANG Yong-qiang¹, ZHANG Wan-nian¹, SHENG Chun-quan¹ (1. Department of Medicinal Chemistry, Jiangxi institute of traditional Chinese medicine, Nanchang 330006, China; 2. Department of Medicinal Chemistry, Second Military Medicinal University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To design the novel triazole derivatives and test their *in vitro* antifungal activities on the basis of the molecular design model for rational optimization of azole drugs. **Methods** Ring-open reaction of the oxiranes was used to synthesize the target compounds, whose chemical structures were confirmed by ¹H NMR and MS. Serial dilution method was used to determine the *in vitro* antifungal activities. **Results** Two novel azole compounds containing triazolone side chains were synthesized which showed excellent and broad-spectrum antifungal activity. **Conclusion** The targeted compounds showed better antifungal activity against *Candida albicans* than the positive drugs fluconazole and ketoconazole, which was worth to further investigate the structure-activity relationship.

[Key words] triazole; triazolone side chain; chemical synthesis; antifungal activities

近年来, 随着广谱抗菌素、抗肿瘤药、免疫抑制剂的大量应用, 放射治疗和器官移植的广泛进行, 导管和插管的普遍开展, 以及免疫缺陷患者尤其是艾滋病患者的急速增加, 深部真菌感染的发生率和死亡率大幅度上升。目前临床上应用最为广泛的唑类抗真菌药物(例如氟康唑和伊曲康唑)为真菌羊毛甾醇 14 α -去甲基化酶(CYP51)抑制剂。但是, 现有唑类药物具有一定的肝肾毒性, 而且耐药性日趋严重。因此, 临床上迫切需要研发新一代更有效的唑类抗真菌药物。目前, 三唑醇类抗真菌药物的结构优化主要集中于对 C3 侧链进行改造, 发现了多类抗真菌活性优于氟康唑的先导化合物^[1~4]。

本课题组前期针对重要致病真菌 CYP51 开展了系列同源模建工作, 得到了比较准确的重要致病真菌 CYP51 三维结构^[5~7]。在此基础上, 深入分析

了 CYP51 活性位点性质, 并采用分子对接手段研究了唑类药物与 CYP51 的相互作用模式。基于分子模拟的研究结果, 本课题组提出了唑类药物合理优化的分子设计模型^[8]。在此基础上, 本文设计并合成了含三唑酮侧链的新型三唑类化合物, 并测试其对常见致病真菌的抑制活性, 发现高活性抗真菌新化学实体。

1 仪器与试剂

红外光谱仪为 Perkin Elmer 683 型, 固体采用 KBr 压片法。核磁共振仪为 Bruker AC-300p 型, TMS 为内标, CDCl₃ 为溶剂。质谱仪为 MAT-212 型, 熔点用毛细管法测定, 温度未经校正。所有试剂皆为市售分析纯或化学纯。

2 实验方法

2.1 N-甲基对硝基苄胺(2)的合成 于 1 000 ml 圆底烧瓶中加入 700 ml 饱和甲胺醇溶液和对硝基氯苄 24.0 g (0.14 mol), 60 $^{\circ}$ C 下回流反应 5 h, 反应

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30930107)。

[作者简介] 李洋洋(1985-), 男, 硕士研究生。Tel: 13681736709, E-mail: lyyska@163.com。

[通讯作者] 刘 华。Tel: 13870970900, E-mail: 904576726@qq.com。

液由绿色变为棕红色,反应结束后蒸干溶剂,残余物在稀盐酸液 300 ml 和 100 ml 无水乙醚中分散,水层用 NaOH 调至碱性,无水乙醚提取(200 ml × 3),合并提取液,无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,滤液蒸干得固体 21.9 g,产率 92.9%。

2.2 *N*-甲基-*N*-叔丁氧羰基-4-硝基苄胺(3)的合成 于 500 ml 圆底烧瓶中,加入 *N*-甲基-对硝基苄胺(2) 16.7 g(0.10 mol) 和 250 ml CH₂Cl₂,在 0 °C ~ 5 °C 下(冰浴)慢慢滴加 (BOC)₂O 22.0 g(0.10 mol) 溶于 CH₂Cl₂ 50 ml 的溶液。滴加完毕后,即有大多数产物生成。继续室温反应 10 h,反应几乎完全。加入氯仿 300 ml 稀释,水洗(200 ml × 3),饱和食盐水洗(200 ml × 3),无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,蒸干滤液得棕红色液体 25.0 g,收率 93.4%。

2.3 *N*-甲基-*N*-叔丁氧羰基-4-氨基苄胺(4)的合成 将化合物 3^[8] 24.0 g(90 mmol)、85% 水合肼 96 ml 和无水乙醇 300 ml 置于 500 ml 圆底烧瓶中,小心加入催化剂量的活性镍。75 °C 回流反应 10 h,反应结束后,过滤(用稀盐酸处理残余的镍),滤液蒸干即得黄色固体 21.3 g,收率 100.0%。mp 105 °C ~ 107 °C。无须纯化即可用于下一步反应。¹H NMR: 6.04 ~ 7.03 (4H, m, Ar-H), 4.29 (2H, s, -CH₂-Ph), 3.63 (2H, br, -NH₂), 2.78 (3H, s, N-CH₃), 1.48 (9H, s, -C(CH₃)₃)。

2.4 *N*-甲基-*N*-叔丁氧羰基-(4-苄氧羰基氨基)苄胺(5)的合成 将化合物 4 23.6 g(0.10 mol),吡啶 8.5 g(110 mmol) 和乙酸乙酯 200 ml 置于 500 ml 圆底烧瓶中,0 °C 下缓慢滴加氯甲酸苄酯 17.2 g(110 mmol),滴加完毕后室温反应 3 h,TLC 监测,反应几乎进行完全。反应液用水洗(200 ml × 3),无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,滤液蒸干得黄色液体,放置后得固体 34.8 g,收率 97.8%。mp 109 °C ~ 110 °C。¹H NMR: 7.18 ~ 7.42 (9H, m, Ar-H), 7.00 (1H, br, -NH), 4.39 (2H, s, -CH₂-Ph), 2.82 (3H, s, N-CH₃), 1.48 (9H, s, -C(CH₃)₃)。

2.5 4-(*N*-甲基-*N*-叔丁氧羰基-胺甲基)苄胺基脒(6)的合成 向 500 ml 圆底烧瓶中加入化合物 5 35.6 g(0.1 mol),85% 水合肼 10 ml 和二甲氧基乙烷 150 ml,室温搅拌 24 h。反应结束后将溶剂蒸干得淡黄色固体,用乙酸乙酯洗涤得白色固体 25.0 g,收率 85.0%。¹H NMR: 8.21 (1H, s, NHCONH), 7.16 ~ 7.42 (4H, m, ArH), 6.76 (1H, br, NH-CONH), 4.36 (2H, s, -CH₂-Ph), 3.84 (2H, br, -NH₂), 2.81 (3H, s, N-CH₃), 1.48 (9H, s, -C(CH₃)₃)。

2.6 4-(*N*-甲基-*N*-叔丁氧羰基-胺甲基)苄基-2*H*-1,

2,4-三唑-3-酮(7)的制备 将化合物 6 15.0 g(0.05 mol),甲脒醋酸盐 22.0 g(0.2 mol) 溶于 DMF 250 ml,室温搅拌反应 30 min,加入醋酸 14.0 ml,然后升温至 80 °C,继续搅拌反应 6 h。反应结束后,减压蒸去溶剂,残余物用冰水处理,过夜,过滤,得淡黄色固体 12.5 g,收率 82.2%。¹H NMR: 11.80 (1H, br, NH), 8.31 (1H, s, Triazolone, C₅H), 7.33 ~ 7.67 (4H, m, ArH), 4.40 (2H, s, benzyl), 2.74 (3H, s, N-CH₃), 1.42 (9H, s, -C(CH₃)₃)。

2.7 2-(4-三氟甲基苄基)-4-[4-(*N*-甲基-氮甲基)苄基]-2*H*-1,2,4-三唑-3-酮(8)的合成 将化合物 7 1.8 g(0.003 9 mol) 溶于乙酸乙酯 25 ml,加入 10% 盐酸 20 ml,室温搅拌反应 24 h。反应结束后,蒸干溶剂,加水 50 ml, K₂CO₃ 调 pH 至 8,过滤,得白色固体 1.1 g,收率 78.6%。¹H NMR: 8.55 (Triazolone, C₅-H), 7.53 ~ 7.80 (8H, m, ArH), 5.08 (2H, s, benzyl), 4.10 (2H, s, -CH₂-Ph), 2.50 (3H, s, N-CH₃)。

2.8 1-[2-(2,4-二氟苄基)-2,3-环氧丙基]-1*H*-1,2,4-三唑(10)的合成 将 1-(2,4-二氟苄基)-2-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)-乙酮 12.8 g(57.2 mmol), (CH₃)₃SOI 18.8 g(85.5 mmol) 和四丁基溴化铵 0.8 g(2.5 mmol) 加入到 250 ml 的圆底烧瓶中,然后依次加入 90 ml 二甲苯和 40 ml 20% NaOH 溶液剧烈搅拌,升温至 60 °C,反应 3 h,反应结束后,冷却,将反应液倒入分液漏斗,分出水层和有机层,水层用乙酸乙酯(30 ml × 3)萃取,合并有机层,依次用水洗(100 ml × 3)和饱和食盐水洗(100 ml × 3),无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,滤液蒸干,残余物溶于 30 ml 乙酸乙酯,冰浴,搅拌,缓慢滴加甲烷磺酸 4.1g(42.7 mmol),黄色沉淀析出,抽滤,乙酸乙酯洗几次,烘干,加入 50 ml 二氯甲烷中用 Na₂CO₃ 调至中性,分出有机层,旋干得白色固体 11.2 g,收率 82.4%。ESI-MS (*m/z*): 237.07 [M + 1]⁺。

2.9 2-(2,4-二氟苄基)-1-(1*H*-1,2,4-三唑-1-基)-3-(*N*-甲基-*N*-[2-(2-戊基)-2*H*-1,2,4-三唑-3-酮-4-基]苄胺基)-2-丙醇(11a)的合成 将化合物 10 0.8 g(3.3 mmol),化合物 9^[8] 1.2 g(3.3 mmol),三乙胺 2 ml 溶于无水乙醇 20 ml,升温至 80 °C,回流搅拌反应 9 h,反应结束后,蒸干溶剂,残余物溶于乙酸乙酯,依次用水洗(50 ml × 3)和饱和食盐水洗(50 ml × 3),无水 Na₂SO₄ 干燥,过滤,滤液蒸干,残余物柱层析纯化(展开剂:CH₂Cl₂:CH₃OH=98:2),得无色固体 1.4 g,收率 86.6%。mp 73 °C ~ 75 °C。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.38 (s, 1H, Triazolone-C₅H), 6.94 ~ 8.29 (9H, m, ArH), 4.54 (2H, dd, *J*₁ = 14.4 Hz, *J*₂

= 17.6 Hz, C₁H), 3.60 (1H, d, J = 13.6 Hz, NbenzylHa), 3.44 (1H, d, J = 13.6 Hz, Nbenzyl-Hb), 3.05 (1H, d, J = 13.6 Hz, C₃Ha), 2.78 (1H, d, J = 13.6 Hz, C₃Hb), 2.08 (3H, s, NCH₃), 1.73 (2H, h, CH₃CHCH₂CH₂CH₃), 1.59 (1H, p, CH₃CHCH₂CH₂CH₃), 1.29 (3H, d, CH₃CHCH₂CH₂CH₃), 1.21 (2H, q, CH₃CHCH₂CH₂CH₃), 0.85 (3H, t, CH₃CHCH₂CH₂CH₃)。IR (cm⁻¹): 3383, 3123, 3056, 1743, 1702, 1615, 1557, 1516。ESI-MS (m/z): 512.38 [M + 1]⁺。

2.10 2-(2,4-二氟苯基)-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-3-{N-甲基-N-[2-(3-戊基)-2H-1,2,4-三唑-3-酮-4-基]苄胺基}-2-丙醇(11b)的合成 合成方法同化合物 11a。收率 79.9%。mp 110 °C ~ 113 °C。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8.41 (1H, s, TriazoloneC₅H), 6.94 ~ 8.28 (9H, m, ArH), 4.56 (2H, dd, J₁ = 14.4 Hz, J₂ = 27.6 Hz, C₁H), 3.90 (1H, p, CH(CH₂)₂(CH₃)₂), 3.60 (1H, d, J = 13.2 Hz, NbenzylHa), 3.44 (1H, d, J = 13.2 Hz, Nbenzyl-Hb), 3.06 (1H, d, J = 13.6 Hz, C₃Ha), 2.78 (1H, d, J = 13.6 Hz, C₃Hb), 2.08 (3H, s, NCH₃), 1.70 (4H, h, CH(CH₂)₂(CH₃)₂), 0.79 (6H, t, CH(CH₂)₂(CH₃)₂) IR (cm⁻¹): 3128, 3066, 1690, 1614, 1554, 1508。ESI-MS (m/z): 512.26 [M + 1]⁺。

2.11 体外抗真菌活性测试方法

2.11.1 试验菌株 以下 8 种常见的人体致病真菌株作为试验菌测试所有化合物。①白色念珠菌 (*Candida albicans*, 标准株 ATCC64550); ②近平滑念珠菌 (*Candida parapsilosis*, 标准株 ATCC18062); ③热带念珠菌 (*Candida tropicalis* 标准株 ATCC12034); ④新型隐球菌 (*Cryptococcus neoformans* 标准株 ATCC32609); ⑤烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus* 临床株 0109196); ⑥裴氏着色真菌 (*Fonsecaea pedrosoi* 临床株 0208007); ⑦红色毛癣菌 (*Trichophyton rubrum* 临床株 0310404); ⑧申克氏孢子丝菌 (*Sporothrix schenckii* 临床株 9503060)。

2.11.2 试验方法

2.11.2.1 菌悬液配制 a. 球菌经 YEPD 液体培养基 35 °C 培养 16 h, 两次活化, 用血细胞计数板计数, 以 RPM1640 液体培养基调整浓度至 1 × 10⁴ ~ 1 × 10⁵ 个/ml。b. 丝菌经 SDA 斜面培养 (35 °C) 一周, 两次活化, 加 RPM1640 液体培养基并用吸管吹打, 经四层纱布过滤, 使孢子游离于 RPM1640 液中, 计数, 调整 1 × 10⁴ ~ 1 × 10⁵ 孢子/ml。

2.11.2.2 药液配制 取 8.0 mg/ml 的 DMSO 药物

储存液, 实验前用 RPM1640 稀释成 640 μg/ml。

2.11.2.3 接种 96 孔板 1 号孔加 RPM1640 100 μl 作空白对照, 3 ~ 12 号孔各加菌悬液 100 μl, 2 号孔加菌悬液 180 μl 和药液 20 μl, 2 ~ 11 号孔 10 级倍比稀释, 各孔药物浓度分别为 64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25、0.125 μg/ml。12 号孔不加药液, 作阳性对照。

2.11.2.4 培养及检测 念珠菌属真菌培养 24 h 后测定结果, 新隐球菌培养 72 h 后测定结果, 丝状真菌培养 7 d 后测定结果。设阳性对照孔光密度值 (OD 值) 为 100%, 以光密度值比阳性对照孔低 80% 以上的最低药物浓度为最小抑菌浓度值 (MIC)。

3 结果与讨论

3.1 设计思想 目前绝大多数唑类药物的结构优化均集中在改造 C3 侧链, 本研究前期建立的分子设计模型提出了“连接子-芳环-氢键受体-疏水基团”策略(图 1)。根据该模型, 本文设计了 1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-2-(2,4-二氟苯基)-3-{N-甲基-N-[(2-取代-2H-1,2,4-三唑-3-酮-4-基)苄胺基]}-2-丙醇类化合物。在该类化合物结构中, 苯环可以和 Tyr118 形成 π-π 相互作用, 三唑酮基即可作为氢键受体与 Ser378 形成氢键, 又可以起到提高分子的水溶性, 改善分子的理化性质的作用。三唑酮上引入戊基, 可以和 CYP51 底物进出通道 2 的 Ala61, Leu87, Leu88, Ile231 和 Phe233 等残基形成疏水和范德华相互作用。

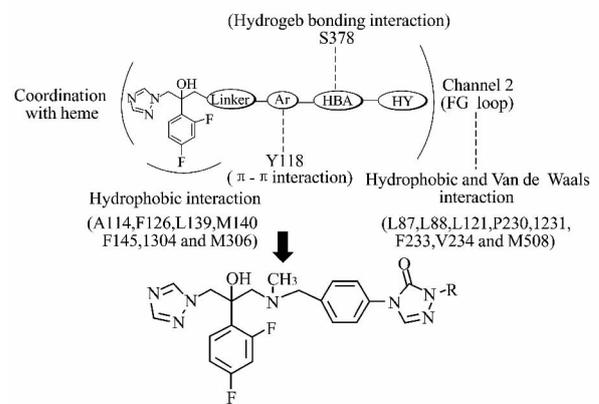


图 1 唑类药物合理优化设计模型

3.2 化学合成 目标化合物经过 9 步反应得到, 合成路线见图 2。以 1-(2,4-二氟苯基)-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)-乙酮原料, 经过环氧化, 得到关键中间体 1-[2-(2,4-二氟苯基)-2,3-环氧丙基]-1H-1,2,4-三唑。取代三唑酮苄胺侧链通过 8 步反应制得, 首

先 4-硝基溴苄与甲胺醇溶液反应生成 *N*-甲基-4-硝基苄胺, 然后用 Boc 保护胺基后通过镍和水合肼将硝基还原为氨基, 氨基经过酰胺化, 肼解和环合生成三唑酮环。三唑酮基的 4 位与氯代戊基发生取代反

应, 最后在稀盐酸作用下脱去 Boc 保护基, 生成取代三唑酮苄胺侧链。环氧化物与在碱性条件下与不同的取代三唑酮苄胺侧链开环反应生成目标化合物 11a 和 11b, 均系首次报道。

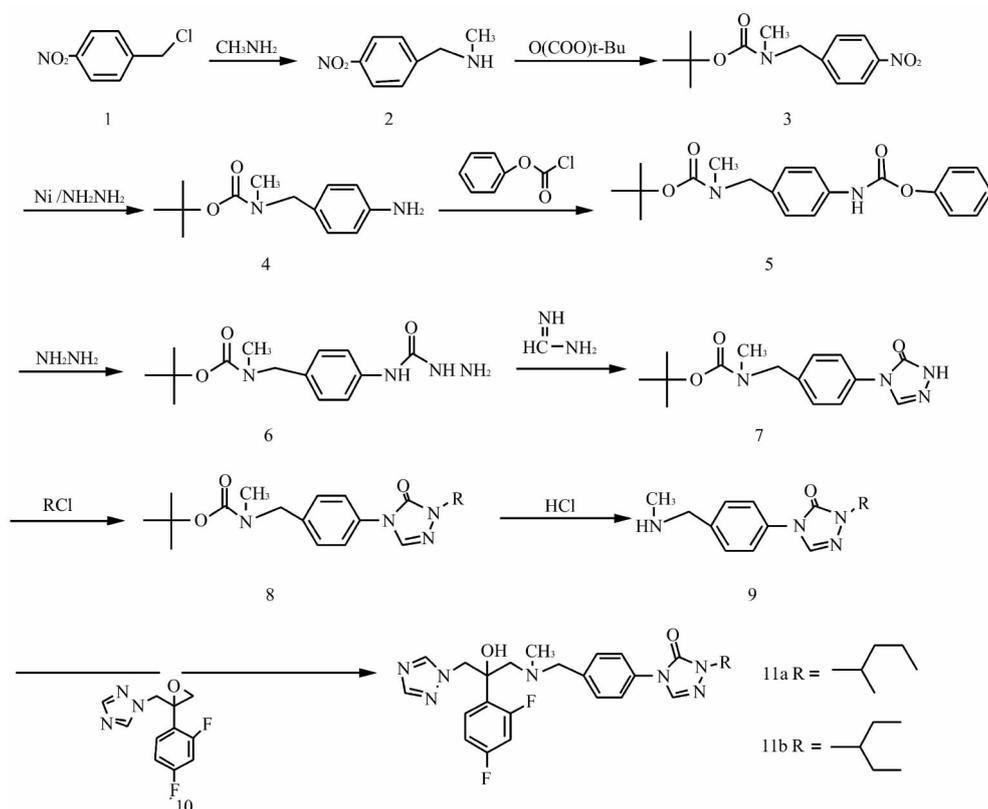


图 2 目标化合物的合成路线

3.3 体外抗真菌活性和构效关系 体外抗真菌活性结果显示(表 1), 化合物 11a 和 11b 具有很好的广谱抗真菌活性。白色念珠菌是临床上感染率最高的致病真菌, 化合物 11a 对白色念珠菌 MIC₈₀ 值为 0.002 μg/ml, 活性是氟康唑的 125 倍, 是酮康唑的 32 倍。化合物对近平滑念珠菌和热带念珠菌也具有很好的抑制活性, MIC 范围为 0.5 ~ 0.031 μg/ml, 活性优于氟康唑, 与酮康唑基本相当。对于新型隐球菌, 化合物 11a 和 11b 对的 MIC 值分别为 0.5 μg/ml 和 4 μg/ml, 活性强于氟康唑和特比萘芬, 但比酮康唑弱。烟曲霉菌是临床上致死率最高的致病

真菌, 化合物 11a 对其活性强于氟康唑, 化合物 11a 与氟康唑相当, 但两者均低于酮康唑。此外, 化合物对浅部真菌也具有较强活性。化合物 14a 对裴氏着色真菌和红色毛癣菌的 MIC 值分别为 0.062 5 μg/ml 和 0.5 μg/ml, 强于氟康唑, 与酮康唑相当。构效关系显示 2-戊基取代时的抗真菌活性总体优于 3-戊基取代, 推测 2-戊基的立体形状能更好地与靶酶 CYP51 活性位点相匹配。但是, 化合物 11b 对近平滑念珠菌的活性优于 14a, 对热带念珠菌的活性与 11a 相当。这说明不同种属 CYP51 活性位点存在有一定的差异。

表 1 化合物体外抗真菌活性(MIC, μg/ml)

化合物	<i>C. alb.</i>	<i>C. par.</i>	<i>C. tro.</i>	<i>C. neo.</i>	<i>A. fum.</i>	<i>F. ped.</i>	<i>T. rub.</i>	<i>S. sch.</i>
11a	0.002	0.5	0.062 5	0.5	2	0.062 5	0.5	64
11b	0.008	0.031	0.062 5	4	32	0.25	4	64
氟康唑	0.25	0.5	0.5	16	32	64	8	>64
酮康唑	0.062 5	0.031	0.062 5	0.031	1	0.062 5	0.062 5	0.5

C. alb. 白念珠菌; *C. par.* 近平滑念珠菌; *C. tro.* 热带念珠菌; *C. neo.* 新型隐球菌; *A. fum.* 烟曲霉菌; *F. ped.* 裴氏着色真菌; *T. rub.* 红色毛癣菌; *S. sch.* *S* 申克氏孢子丝菌

4 结论

基于前期提出的唑类药物合理优化设计模型,合理设计并合成了 2 个含三唑酮侧链的新型唑类化合物,并测试其抗真菌活性。目标化合物均显示了优良的广谱抗真菌活性,尤其对白色念珠菌的活性优于对照药氟康唑和酮康唑,值得进一步深入构效关系研究。

【参考文献】

- [1] Sheng C ,Zhang W. New Lead Structures in Antifungal Drug Discovery[J]. *Curr Med Chem* 2011 ,18(5) : 733.
- [2] Borate HB ,Maujan SR ,Sawargave SP , *et al.* Fluconazole analogues containing 2H-1,4-benzothiazin-3(4H)-one or 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one moieties , a novel class of anti-Candida agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett* 2010 ,20(2) :722.
- [3] Guillon R ,Pagniez F ,Rambaud C , *et al.* Design , synthesis , and biological evaluation of 1-[[biaryl(methyl) methylamino]-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols as potent antifungal agents: new insights into structure-activity relationships [J]. *Chem Med Chem* 2011 ,6(10) :1806.
- [4] Guillon R ,Pagniez F ,Giraud F , *et al.* Design , synthesis , and in vitro antifungal activity of 1-[[4-substituted-benzyl) methylamino]-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols[J]. *Chem Med Chem* 2011 ,6(5) :816.
- [5] Sheng C ,Zhang W ,Zhang M , *et al.* Homology Modeling of Lanosterol 14-Demethylase of *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* and Insights into the Enzyme-Substrate Interactions[J]. *J Biomol Struct & Dyn* ,2004 ,22(1) :91.
- [6] Sheng C ,Wang W ,Che X , *et al.* Improved Model of Lanosterol 14alpha-Demethylase by LigandSupported Homology Modeling: Validation by Virtual Screening and Azole Optimization [J]. *Chem Med Chem* 2010 ,5(3) : 390.
- [7] Sheng C ,Miao Z ,Ji H ,Threedimensional model of lanosterol 14 alpha-demethylase from *Cryptococcus neoformans*: activesite characterization and insights into azole binding. *Antimicrob Agents*[J]. *Chemother* 2009 ,53(8) :3487.
- [8] Sheng C ,Zhang W ,Ji H , *et al.* Structure-based Optimization of Azole Antifungal Agents by CoMFA , CoMSIA and Molecular Docking[J]. *J Med Chem* ,2006 ,49(8) :2512.
- [收稿日期]2012-06-01
[修回日期]2012-09-21
- (上接第 13 页)
- [15] Ji KT ,Chai JD ,Cheng X , *et al.* Danshen protects endothelial progenitor cells from oxidized low-density lipoprotein induced impairment [J]. *Zhejiang Univ-SciB (Biomed & Biotechnol)* , 2010 ,11(8) : 618.
- [16] Ridker PM ,Glynn RJ ,Henneken CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol In determining risk of first myocardial infarction [J]. *Circulation* , 1998 , 97(20) : 2007.
- [17] 崔斌,黄岚,宋耀明,等.冠心病患者高敏 C 反应蛋白与循环内皮祖细胞的关系及临床意义[J]. *重庆医学*,2005 ,34(9) : 1344.
- [18] 崔斌,黄岚,谭虎. C 反应蛋白对内皮祖细胞部分生物学功能的影响及其机制的实验研究[J]. *中华心血管病杂志*,2008 ,36(5) : 435.
- [19] 南景龙,李建军. C 反应蛋白通过 CD32 影响人内皮祖细胞分泌白细胞介素 8 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*,2009 ,11(10) : 795.
- [20] Henrich D ,Seebach C ,Wilhelm K *et al.* High dosage of simvastatin reduces TNF-alpha-induced apoptosis of endothelial progenitor cells but fails to prevent apoptosis induced by IL-1beta in vitro [J]. *Surg Res* ,2007 ,142(1) : 13.
- [21] 薛亮,范英昌,李庆雯,等.丹酚酸 B 对离体培养内皮祖细胞 VEGF、bEGF mRNA 表达及抗氧化酶活性的影响[J]. *中国老年学杂志*,2011 ,31(2) : 236.
- [22] 李大勇,陈文娜,谷峰,等.疏肝活血方含药血清对大鼠骨髓源性内皮祖细胞血管新生相关基因表达的影响[J]. *中国现代中药* 2010 ,12(3) :30.
- [23] 张喜成,何延政,李跃武,等.补肾生血胶囊动员骨髓内皮祖细胞促进缺血肢体血管新生的研究[J]. *江苏中医药* ,2006 ,27(3) :57.
- [24] George J ,Goldstein E ,Abashidze S , *et al.* Circulating endothelial progenitor cells in patients with unstable angina: association with systemic inflammation [J]. *Eur Heart J* ,2004 ,25(12) : 1003.
- [25] 宫建芳,马华,申静,等.芪红合剂含药血清对体外培养人外周血内皮祖细胞 NO 及 NOS 的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*,2010 ,8(3) : 312.
- [26] Guo WX ,Yang QD ,Liu YH , *et al.* Palmitic and linoleic acids impair endothelial progenitor cells by inhibition of akt/eNOS pathway [J]. *Archives of Medical Research* 2008 ,39(4) : 434.
- [27] 陈图刚,李鸣媛,谭维玲,等.灯盏花素对内皮祖细胞数量、功能及 iNOS 的影响[J]. *实用中西医结合杂志*,2010 ,10(4) : 1.
- [28] 陈图刚,谢旭东,陈红娟. 黄芪对内皮祖细胞数量与功能及其 iNOS 的影响[J]. *中药药理与临床*,2007 ,23(6) : 47.
- [29] 顾俊,王长谦,范华骅,等.白藜芦醇对外周血内皮祖细胞功能的影响[J]. *心脏杂志* 2006 ,18(6) :617.
- [30] 陈琴,王铭涵,江时森,等.丹参多酚酸盐修复糖基化终产物引起的晚期 EPCs 功能障碍及其分子机制[J]. *中国中西医结合杂志* 2010 ,30(6) :630.
- [收稿日期]2012-02-13
[修回日期]2012-05-27