

异斯特维醇的结构修饰及其衍生物的生物活性研究进展

赵丽君¹, 杨有福¹, 王统盛¹, 张艳丽^{1,2*}, 吴亚^{1,2*}

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046)

摘要: 异斯特维醇是天然产物甜菊糖苷在酸性条件下水解得到的四环二萜类化合物, 具有多种药理活性, 例如抗肿瘤、降糖、降脂、抗炎和抗菌等。由于异斯特维醇本身具有水溶性低、活性不高、生物利用度低等缺点, 导致了其成药性能较差。为了克服这些缺点, 学者们对其进行了大量的结构修饰与改造, 发现了许多结构新颖、活性优良的异斯特维醇衍生物。本文综述了近年来异斯特维醇的结构修饰、生物活性、构效关系及微生物转化的相关研究进展, 以为异斯特维醇及其衍生物类新药开发提供参考。

关键词: 异斯特维醇; 衍生物; 结构修饰; 微生物转化; 生物活性; 构效关系

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2025)01-0022-15

Research progress on the structural modification of isosteviol and the biological activities of its derivatives

ZHAO Li-jun¹, YANG You-fu¹, WANG Tong-sheng¹, ZHANG Yan-li^{1,2*}, WU Ya^{1,2*}

(1. College of Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Isosteviol is a tetracyclic diterpenoid compound obtained by hydrolysis of natural stevia glycoside under acidic conditions. It has many pharmacological activities, such as anti-tumor, hypoglycemic, anti-inflammatory and antibacterial. Due to its low water solubility, low activity and low bioavailability, isosteviol has poor performance. In order to overcome these shortcomings, scholars have obtained a large number of isosteviol derivatives with novel structures and excellent activity. In this paper, we review the recent progress in the research on the structure modification, biological activity, structure-activity relationship and microbial transformation of isosteviol, in order to provide a reference for the development of new drugs of isosteviol and its derivatives.

Key words: isosteviol; derivative; structural modification; microbial transformation; biological activity; structure-activity relationship

异斯特维醇 (isosteviol) 又名异甜菊醇 (图 1), 是一种由 3 个六元环和 1 个五元环稠合形成的具有对映-贝壳杉烷骨架的四环二萜类化合物, 是天然产物甜菊糖苷在酸性条件下发生 Wagner-Meerwein 重排得到的^[1,2]; 此外, 异斯特维醇还具有一定的刚性骨架和特

有的凹槽结构^[3]。近些年来, 国内外的研究人员发现异斯特维醇具有广泛的药理活性, 包括降糖^[4]、降脂^[5]、降血压^[6]、心脏保护^[7]、神经保护^[8]、抗炎^[9]、抗菌^[10]、抗肿瘤^[11]等药理活性。更深入的机制研究发现, 异斯特维醇通过降低 DNA 聚合酶的活性, 从而有效地抑制肿瘤细胞的生长; 通过降低心肌细胞 ATP 的水平, 起到抗心肌缺血的效果; 也可以通过降低细胞内钙离子的浓度, 达到降血压的作用^[12]; 通过上调和刺激单磷酸腺苷活化蛋白激酶, 起到减轻由链脲佐菌素介导的大鼠糖尿病肾病的作用^[13]。

收稿日期: 2024-05-23; 修回日期: 2024-08-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21402044); 河南省科技攻关项目 (202102310474).

*通讯作者 Tel: 13838172621, E-mail: zyl2013hnzy@163.com;

Tel: 13783569267, E-mail: wuya0723@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0491

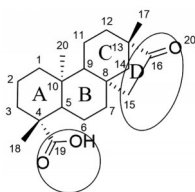


Figure 1 Structure of isosteviol and its major modification sites

虽然异斯特维醇拥有多种药理活性, 具有广阔的开发前景, 但其自身水溶性差、活性不高、生物利用度低等缺点严格限制了其在临床上的广泛应用^[14]。为了得到结构新颖、活性更好的衍生物, 近年来研究人员以异斯特维醇为先导化合物, 进行了大量的结构修饰与改造。目前对异斯特维醇的修饰主要集中在D环、C-16位羰基和C-19位羧基这3个化学活性部位。本文归纳和总结了近年来对异斯特维醇的结构修饰与生物活性研究进展, 以期为以异斯特维醇为先导结构的新药开发提供借鉴和参考。

1 C-19位羧基修饰

异斯特维醇的C-19位羧基的修饰主要是引入酯类或者碳酰胺类衍生物, 得到的大部分衍生物的生物活性都高于异斯特维醇, 例如, 当引入甲醚类、糖基、三苯基膦阳离子、芳香基及杂环类、硝酸酯类NO供体、硫脲、铵盐、酰胺等衍生物都可以提高异斯特维醇的抗肿瘤活性; 当引入胆碱基类衍生物可以提高异斯特维醇对乙酰胆碱酯酶的抑制活性; 当引入三苯基膦阳离子和含氮基团等衍生物可以提高异斯特维醇对心脏的保护作用; 当引入脂杂环、铵盐和硫脲等衍生物还可以提高异斯特维醇对金黄色葡萄球菌、MRSA菌株和乙型肝炎病毒的抑制活性; 当引入短链烷基等衍生物时提高了异斯特维醇对蛋白酪氨酸磷酸酶的抑制活性。

1.1 C-19位酯类衍生物 2012年, Korochkina等^[15]合成了一系列具有胆碱基修饰的异斯特维醇衍生物, 并测定了衍生物对乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AchE) 和丁酰胆碱酯酶 (butyrylcholinesterase, BchE) 的抑制活性。其中化合物**1** (图2) 对AchE的选择性最好, 选择性指数 > 12.5, 对人红细胞的AchE的 IC_{50} 值为 $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 而对BchE的 $IC_{50} > 1\ 000 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2014年, Malki等^[16]设计合成了新型异斯特维醇甲醚衍生物, 通过噻唑啉法 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 对合成的衍生物进行初步筛选, 发现化合物**2** (图2, $IC_{50} = 14 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和**3** (图2, $IC_{50} = 21 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对肺癌细胞H1299的抑制作用最为显著, 并且这两个化合物对p53缺陷的H1299细胞的选择性凋亡诱导作用强于具有p53功能的正常肺上皮细胞NL-20; 随后, Malki等^[17]将C-16位羰基还原成羟基后又通过酯键在

C-19位上引入烷基链得到的化合物**4** (图2, $IC_{50} = 2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 通过上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A的表达, 使人肝癌细胞HepG2阻滞在G1期, 从而诱导HepG2细胞凋亡; 此外, 蛋白印迹数据显示, 化合物**4**抑制了HepG2细胞中E-cadherin、 β -catenin、VEGF和COX-2的表达; 体内外研究表明, 化合物**4**对治疗宿主没有任何明显的毒性, 值得在临床水平上进一步研究。

2015年, Strobykina等^[18]合成了异斯特维醇与三苯基膦 (triphenylphosphonium, TPP) 阳离子的偶联物, 并在海胆胚胎实验中进行了抗有丝分裂活性评价。偶联物**5~10** (图2) 可以阻断细胞分裂, 诱导异常有丝分裂纺锤体的形成, 当作用于受精卵时, 偶联物可以诱导有丝分裂停滞, 形成异常的多极有丝分裂纺锤体, 而异斯特维醇和TPP阳离子对此都没有活性; 实验还发现偶联物可能是通过影响线粒体DNA诱导有丝分裂纺锤体缺陷和有丝分裂阻滞; 构效关系研究表明连接链的化学结构和长度只对抗有丝分裂活性有轻微影响。2019年, Strobykina等^[19]又合成了C-19位二磷酸修饰的异斯特维醇衍生物, 其中化合物**11** (图2) 对子宫颈癌细胞M-HeLa ($IC_{50} = 18.0 \pm 1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和人乳腺癌细胞MCF-7 ($IC_{50} = 15.2 \pm 1.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 具有较高的细胞毒性, 对金黄色葡萄球菌的抗菌活性 ($MIC = 3.9 \pm 0.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 是对照药物氯霉素 ($MIC = 62.5 \pm 5.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的16倍。

2017年, Testai等^[20]也合成了一些异斯特维醇与TPP阳离子的衍生物, 并研究系列衍生物在大鼠心脏和大鼠心肌细胞H9c2的线粒体效应; 发现这些衍生物表现出了与异斯特维醇相似的作用, 都具有线粒体膜电位去极化和减少线粒体吸收钙的能力, 这是线粒体钾通道开放的典型功能, 其中化合物**12** (图2) 表现出了较好的心脏保护活性。

2018年, Luan等^[21]通过酯键和酰胺键引入了1,2,3-三氮唑衍生物得到的化合物**13** (图2, $IC_{50} = 5.38 \pm 0.26 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对人结肠癌细胞HCT-116具有较强的抗增殖活性, 是阳性对照药物5-氟尿嘧啶 ($IC_{50} = 24.80 \pm 2.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 活性的4倍; 进一步研究发现, 化合物**13**是通过诱导S期阻滞来抑制HCT-116细胞的生长, 其作用机制可能与下调细胞周期蛋白A和细胞周期蛋白E1的表达及上调细胞周期蛋白B1的表达有关; 研究还发现化合物**13**是通过与CDK2/cyclin A的各种氢键和烷基相互作用而保持活性。

2018年, Sharipova等^[22]通过酯键引入了不同长度的亚甲基间隔的脂杂环, 发现化合物**14** (图2, $MIC = 31.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 对金黄色葡萄球菌ATCC-209p的抑制活

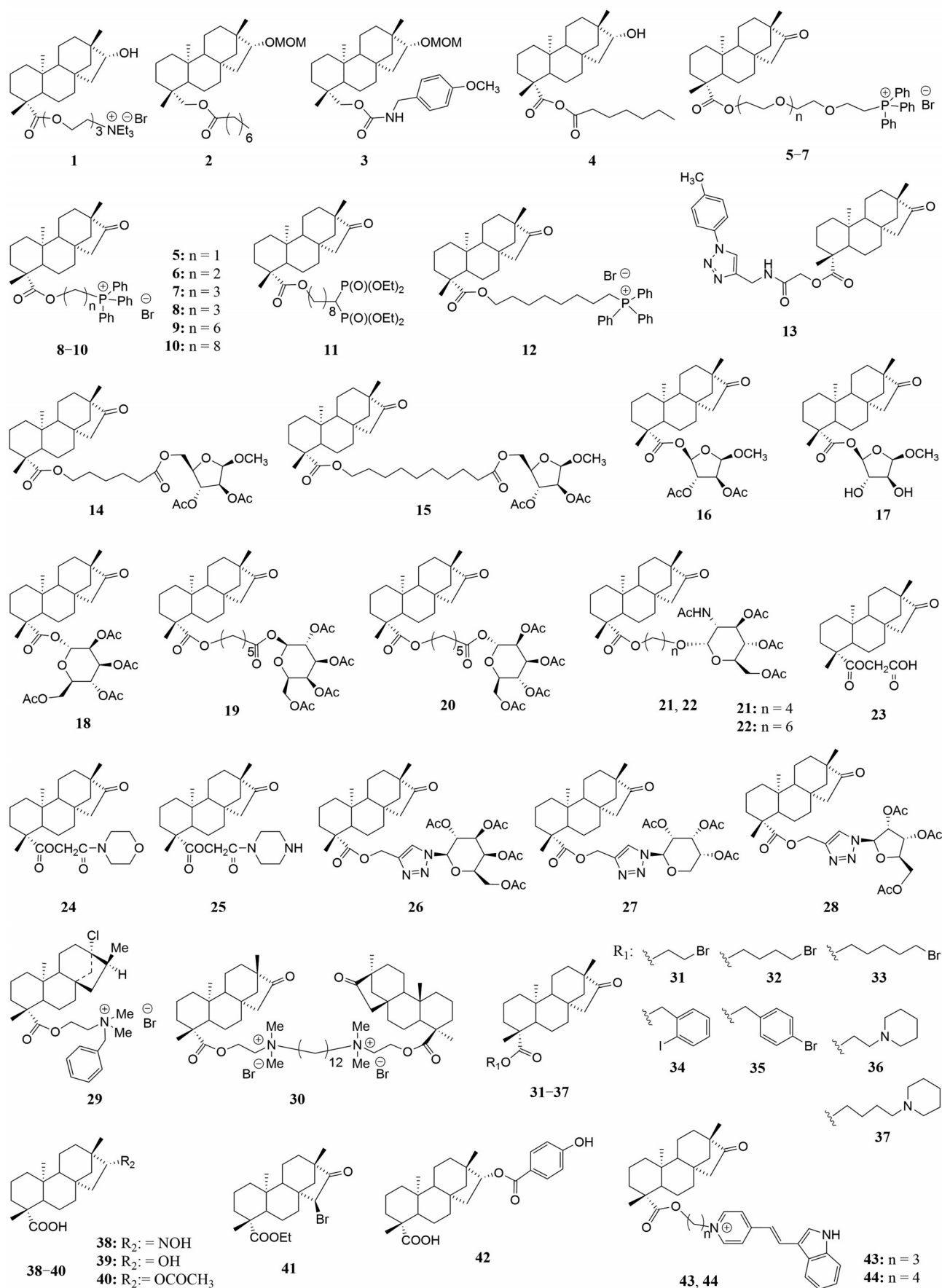


Figure 2 Structures of isosteviol derivatives 1-44

性是抗生素氯霉素 ($MIC = 62.5 \pm 5.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的两倍, 化合物 **15** 和 **16** (图2) 对结核分枝杆菌 $H_{37}R_v$ 的抑制活性与抗结核药物吡嗪酰胺 ($MIC = 12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 相当, 当移去化合物 **16** (图2) 中的乙酰基得到的化合物 **17** (图2, $MIC = 1.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的抗结核活性是吡嗪酰胺的 8 倍。2019 年, Sharipova 等^[23] 又通过酯键引入了不同间隔的单糖片段, 发现大多数衍生物对 M-HeLa 细胞和 MCF-7 细胞的细胞毒性一般; 其中化合物 **18~20** (图2) 对 M-HeLa 细胞 ($IC_{50} = 10.0 \sim 15.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的抑制活性优于抗癌药物他莫昔芬 ($IC_{50} = 28.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 并且对 Chang liver 细胞 ($IC_{50} > 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 没有细胞毒性, 而他莫昔芬对 Chang liver 细胞有细胞毒性 ($IC_{50} = 46.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。研究结果发现, 合成的衍生物的细胞毒活性很大程度上取决于单糖残基的性质及其位置, 作用机制可能与通过线粒体途径诱导细胞凋亡有关。

2019 年, Garifullin 等^[24] 通过酯键引入了 *N*-乙酰葡萄糖胺基团, 其中化合物 **21** (图2, $IC_{50} = 14.0 \pm 1.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **22** (图2, $IC_{50} = 13.0 \pm 1.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 M-HeLa 细胞的抑制活性是抗癌药物他莫昔芬 ($IC_{50} = 28 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的两倍。进一步研究机制发现, 化合物 **21** 和 **22** 对 M-HeLa 细胞的细胞毒活性是通过诱导细胞凋亡所致。

2019 年, Guo 等^[25] 以异斯特维醇为先导化合物, 在 C-19 位羧基上引入吗啉和哌嗪结构, 发现化合物 **23~25** (图2, IC_{50} 值分别为 53.03 ± 0.034 、 103.37 ± 0.132 和 110.62 ± 0.139 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对人皮肤鳞癌细胞 Colo-16 的抑制活性略优于阳性对照药物 5-氟尿嘧啶 ($IC_{50} = 117.41 \pm 0.224$ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和异斯特维醇 ($IC_{50} = 207.91 \pm 0.147$ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2020 年, Andreeva 等^[26] 在 C-19 位通过酯键引入 1,2,3-三氮唑及糖基衍生物, 大多数衍生物对 M-HeLa 细胞和 MCF-7 细胞表现出了微弱的抑制活性, 其中体外抗增殖活性表明, 化合物 **26~28** (图2, $IC_{50} = 1.7 \sim 1.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 M-HeLa 细胞的抑制活性与抗癌药物多柔比星 (doxorubicin, DOX, $IC_{50} = 3.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的活性相当, 还对 Chang liver 细胞没有细胞毒性, 而 DOX 对该细胞有细胞毒性 ($IC_{50} = 3.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。进一步研究发现, 这一系列衍生物是通过线粒体途径诱导细胞凋亡, 从而抑制 M-HeLa 细胞的生长。

2020 年, Voloshina 等^[27] 合成了一系列异斯特维醇的铵盐衍生物, 其中化合物 **29** 和 **30** (图2) 对两株 MRSA 菌株具有较高的抑菌活性。这两个化合物对 MRSA-1 菌株的抑菌活性均高于阿莫西林和环丙沙星, 对 MRSA-2 菌株的抑菌活性与环丙沙星活性相当,

但却是阿莫西林抑菌活性的 15~20 倍, 化合物 **29** 和 **30** ($IC_{50} = 5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 MCF-7 细胞的抑制活性与抗癌药物 DOX 相当, 进一步研究发现, 这两个化合物对 MCF-7 细胞的抑制作用可能是通过线粒体途径诱导细胞凋亡, 并且对人胚肺细胞 Wi38 的毒性较小, 也不会引起细胞溶血。

2023 年, Li 等^[28] 在 C-19 位羧基上通过酯键引入短链烷基合成的衍生物 **31~33** (图2) 对蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP1B) 的抑制活性优于异斯特维醇; 在 C-19 位羧基上引入苯环衍生物时, 发现在苯环邻位引入碘 (**34**, 图2) 和在苯环对位引入溴 (**35**, 图2) 都有利于提高对 PTP1B 的抑制活性, 在 C-19 位羧基上引入含有哌啶部分 (**36** 和 **37**, 图2) 也有助于提高抑制活性; 为了研究异斯特维醇 C-16 位的取代基对 PTP1B 的影响, 将羰基转化为脞 (**38**, 图2) 或转化为羟基 (**39**, 图2) 时对 PTP1B 的抑制活性略有降低, 而酰化产物 **40** (图2) 的抑制活性却有了明显的提高; 在异斯特维醇乙酯的 C-15 位引入溴原子得到的化合物 **41** (图2) 具有良好的抑制活性; 进一步研究发现, 化合物 **34**、**35**、**41**、**42** (图2) 对 PTP1B 具有显著的抑制活性 ($IC_{50} = 0.24 \sim 0.40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); 化合物 **42** ($IC_{50} = 0.24 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 在体外对 PTP1B 的抑制活性是异斯特维醇的 10 倍, 对 PTP1B 的选择性是 T 细胞蛋白酪氨酸磷酸酶的 7 倍, 是细胞分裂周期 25 同源 B 的 14 倍; 分子对接研究表明, PTP1B 与化合物 **42** 和氨基酸残基 LYS-116 之间产生的氢键作用可能是其产生抑制活性的必要条件; 综合结果推测化合物 **42** 作为治疗肥胖和 II 型糖尿病的候选药物具有巨大潜力。

2024 年, Heise 等^[29] 在 C-19 位羧基上引入了含有不同间隔长度的芳香取代基, 利用磺酰罗丹明 B 比色法测定其细胞毒性, 发现具有较高间隔长度的化合物 **43** 和 **44** (图2) 显示出有较好的抗肿瘤活性、选择性及克服耐药性, 其中化合物 **44** 对人卵巢癌细胞 A2780 的 IC_{50} 值低至 $0.18 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对该肿瘤细胞 (与人正常结肠成纤维细胞 CCD-18Co 相比) 的选择性指数为 59。

1.2 C-19 位(碳)酰胺类衍生物 2014 年, Wang 等^[30] 在 C-19 位羧基上通过酰胺和酯键引入硝酸酯类 NO 供体, 化合物 **45~52** (图3) 对小鼠皮肤黑色素瘤细胞 B16-F10 均具有抑制活性, 其中化合物 **51** ($IC_{50} = 0.02 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 B16-F10 细胞的抑制活性优于喜树碱 ($IC_{50} = 2.78 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和甲基巴多索隆 ($IC_{50} = 5.85 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。初步细胞毒性检测结果显示, 化合物 **47** ($IC_{50} = 4.24 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **49** ($IC_{50} = 2.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 HepG2 细胞的抑制活性优于阳性对照甲基巴多索隆 ($IC_{50} = 4.99 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

Liu 等^[31,32] 合成了新型酰基硫代氨基脲修饰的异

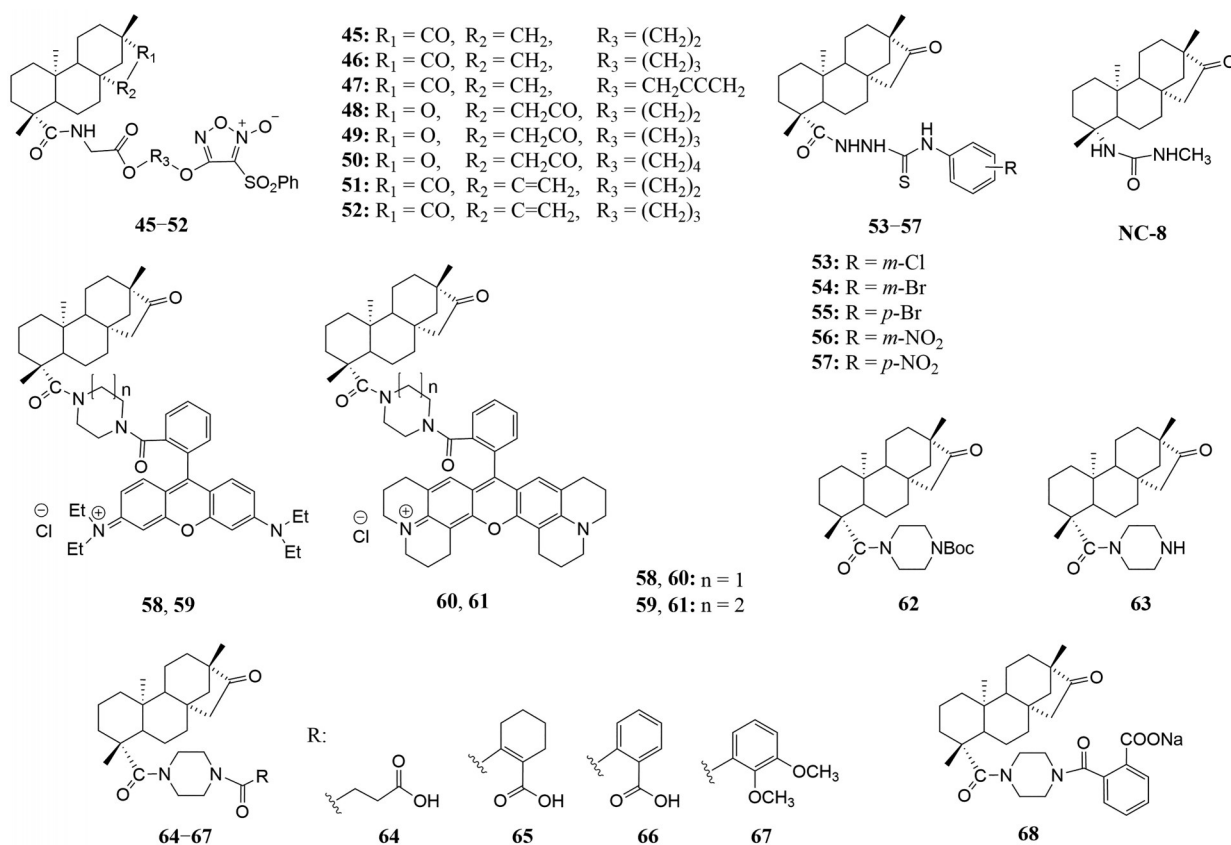


Figure 3 Structures of isosteviol derivatives 45-68

斯特维醇衍生物, 并采用MTT法测试了这一系列衍生物对3种人癌细胞株(人结肠癌细胞HCT-116、人胃癌细胞HGC-27和人套细胞淋巴瘤JEKO-1)的细胞毒活性, 体外抗增殖活性研究表明, 化合物**53**~**57**(图3)对3个细胞株均表现出了显著的抑制活性($\text{IC}_{50} = 0.95 \sim 3.36 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 发现在芳香环上引入吸电子基团对细胞毒活性有显著影响。

Huang^[33]和Kachingwe^[34]两个课题组发现在C-19位引入脲基后得到的化合物**NC-8**(图3)对HepG2细胞中的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)具有抑制作用, 进一步研究发现**NC-8**特异性地抑制了病毒基因的表达, 并降低了人肝癌细胞Huh7中的病毒DNA中间体的水平及病毒启动子活性, 但对于不含有HBV表达的细胞则没有影响; 研究还发现**NC-8**的抗病毒机制似乎是通过抑制宿主TLR2/NF- κ B信号通路来干扰HBV的复制和基因表达。Tzeng等^[35]还发现了**NC-8**通过抑制RANKL诱导ERK、p38和JNK的磷酸化来抑制巨噬细胞RAW-264.7分化, 还可以改善卵巢切除诱导的骨质疏松症。

2023年, Heisig等^[36]合成了许多酰胺修饰的异斯特维醇衍生物, 发现化合物**58**~**61**(图3)对人类肿瘤细胞株(A375、HT29、MCF7、A2780、HeLa、NIH-3T3、

HEK293)表现出了显著的细胞毒性, 其中化合物**61**(EC_{50} 值分别为 0.40 ± 0.02 、 0.47 ± 0.09 、 0.23 ± 0.02 、 0.16 ± 0.02 、 0.44 ± 0.07 、 0.08 ± 0.07 和 $0.25 \pm 0.04 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)比化合物**59**(EC_{50} 值分别为 0.94 ± 0.15 、 0.90 ± 0.06 、 0.36 ± 0.06 、 0.29 ± 0.08 、 1.34 ± 0.9 、 1.33 ± 0.09 和 $0.63 \pm 0.07 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)具有更显著的细胞毒性, 而异斯特维醇对这些肿瘤细胞株却没有任何的细胞毒性作用。

2024年, Chen等^[37]以异斯特维醇为底物, 对C-19位羧基进行含氮基团修饰得到的化合物**62**在DOX诱导的心肌病斑马鱼模型中的保护作用优于异斯特维醇, 当去除化合物**62**中的叔丁氧羰基得到的化合物**63**对心脏的保护活性增加, 在哌嗪的氮基上引入脂肪酸、环己烯羧酸、芳香酸、含甲氧基的苯衍生物得到的化合物**64**~**67**中, 环己烯羧酸和芳香酸对心脏保护活性有良好的影响; 化合物**66**的钠盐(化合物**68**, 图3)具有优越的心脏保护活性和良好的溶解度特性; 此外, 在H9c2细胞和小鼠中进行的研究发现, 化合物**68**在不影响SIRT1的情况下选择性地激活SIRT3, 从而诱导了SOD2和OPA1表达水平的上调, 进一步促进了线粒体功能的恢复, 抗氧化系统的强化, ROS过度积累的减弱, 以及对心血管损伤的保护; 因化合物**68**作为SIRT3激活剂的独特结构特征及强大的心脏保护功效, 值得

进一步探索和开发。

2 C-16位羰基修饰

异斯特维醇的C-16位羰基的修饰主要是将羰基转化为脲醚、脘、(硫)脲类衍生物或者引入杂环衍生物, 得到的大多数衍生物都具有显著的生物活性, 例如, 当引入硝酸酯类NO供体、含氮杂环等衍生物都可以提高异斯特维醇的抗肿瘤活性; 此外, C-16位硫脲类衍生物不仅具有抗凝血和抗血小板活性, 还可以作为最有潜力的FXa抑制剂; C-16位胍类衍生物和C-16位杂环类衍生物提高了异斯特维醇的抗菌和抗疟活性。

2.1 C-16位脲醚类衍生物 2017年, Liu等^[38]在C-16位通过脲基引入含有不同间隔的硝酸酯类NO供体, 结果发现, 化合物**69**(图4, IC_{50} 值分别为0.48、2.86、2.95和 $3.02 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和**70**(图4, IC_{50} 值分别为0.94、1.73、2.42和 $1.15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对HCT-116、Huh7、HepG-2和人结肠癌细胞SW620的细胞毒活性均优于舒尼替尼(IC_{50} 值分别为5.62、3.03、7.78和 $6.25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。NO释放实验表明, 这些化合物的NO释放量与其抗肿瘤活性呈正相关。

2019年, Chen等^[39]通过改造C-16位羰基获得了多个含有脲基修饰的异斯特维醇衍生物, 发现化合物**71**(图4)不仅具有良好的抗凝血和抗血小板活性($K_i = 0.015 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 还能显著抑制由ADP诱导的大鼠血小板的聚集, 在大鼠体内均表现出了较强的抗血栓活性。

2024年, Gackowski等^[40]设计了不饱和和含硫、氧及氮原子的五元环的新型脲醚异斯特维醇衍生物, 发现化合物**72~77**(图4)是其中最具有潜力的FXa抑制剂($K_i = 0.907、0.674、0.656、0.555、0.643、0.688 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 还发现卤素(特别是氟)可以增强配体-受体的结合亲和力; 随后, Gackowski等^[41]又对这些衍生物进一步深入研究, 通过分子动力学(molecular dynamics, MD)模拟发现这些衍生物与FXa相互作用的方式不仅与伊多

沙班和贝雷沙班类似, 与已上市的抗凝血剂相比还具有可溶性较低、亲脂性更强、总清除率较低及人最大推荐耐受剂量较高的特点; 其中化合物**76**与氨基酸残基G216形成氢键作用, 并且符合Lipinski规则, 生物利用度预测评分为0.55, 综合研究结果推测, 化合物**76**是作为FXa抑制剂最有潜力的候选药物。

2.2 C-16位胍类衍生物 2011年, Kataev等^[42]合成的异烟肼修饰的异斯特维醇衍生物**78~80**(图5, 化合物**78~80**的MIC值均为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对结核分枝杆菌 $H_{37}R_v$ 的抗结核活性优于抗结核药物吡扎那酰胺(MIC = $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 但低于抗结核药物异烟肼(MIC = $0.02\sim 0.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

Garifullin等^[43]合成的含有胍结构的异斯特维醇衍生物**81~85**(图5)对结核分枝杆菌 $H_{37}R_v$ 的MIC值分别为3.1、6.3、6.3、3.1、 $1.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。2012年, 该课题组^[44]又合成了异斯特维醇与二甲膦的偶联物, 其中化合物**86**(图5, MIC = $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对结核分枝杆菌 $H_{37}R_v$ 的抑制活性弱于抗结核药物异烟肼(MIC = $0.02\sim 0.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2016年, Asad等^[45]合成的异斯特维醇的硝基苯胍衍生物**87~90**(图5)具有抗疟活性(MIC = $17.50\sim 22.58 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 而异斯特维醇本身没有抗疟活性, 由实验结果可知, 硝基苯胍基团的修饰可能会提高异斯特维醇的抗疟活性。

2.3 C-16位硫脲类衍生物 2020年, Shi等^[46]通过硫脲基团引入了不同取代的苯环衍生物, 发现在苯基上引入供电子基团会导致对FXa抑制活性降低, 如异斯特维醇($IC_{50} = 0.64 \pm 0.01 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的抑制活性是对甲基苯基取代的化合物**91**(图6, $IC_{50} = 57.73 \pm 0.32 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的90倍, 而在苯基上引入氯原子, 特别是对氯苯基取代的化合物**92**(图6, $IC_{50} = 0.15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)会导致抑制活性增强; 在体外抗凝活性试验中, 化合物**92**具有高度的抗凝活性, 其凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间的敏感性相似。

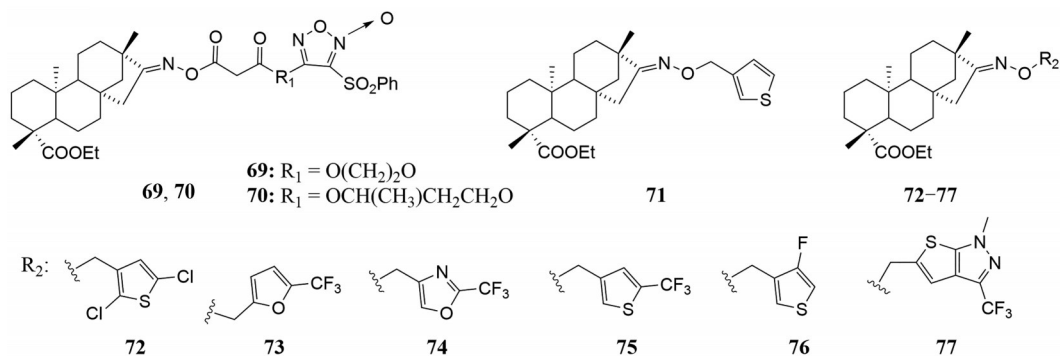


Figure 4 Structures of isosteviol derivatives 69-77

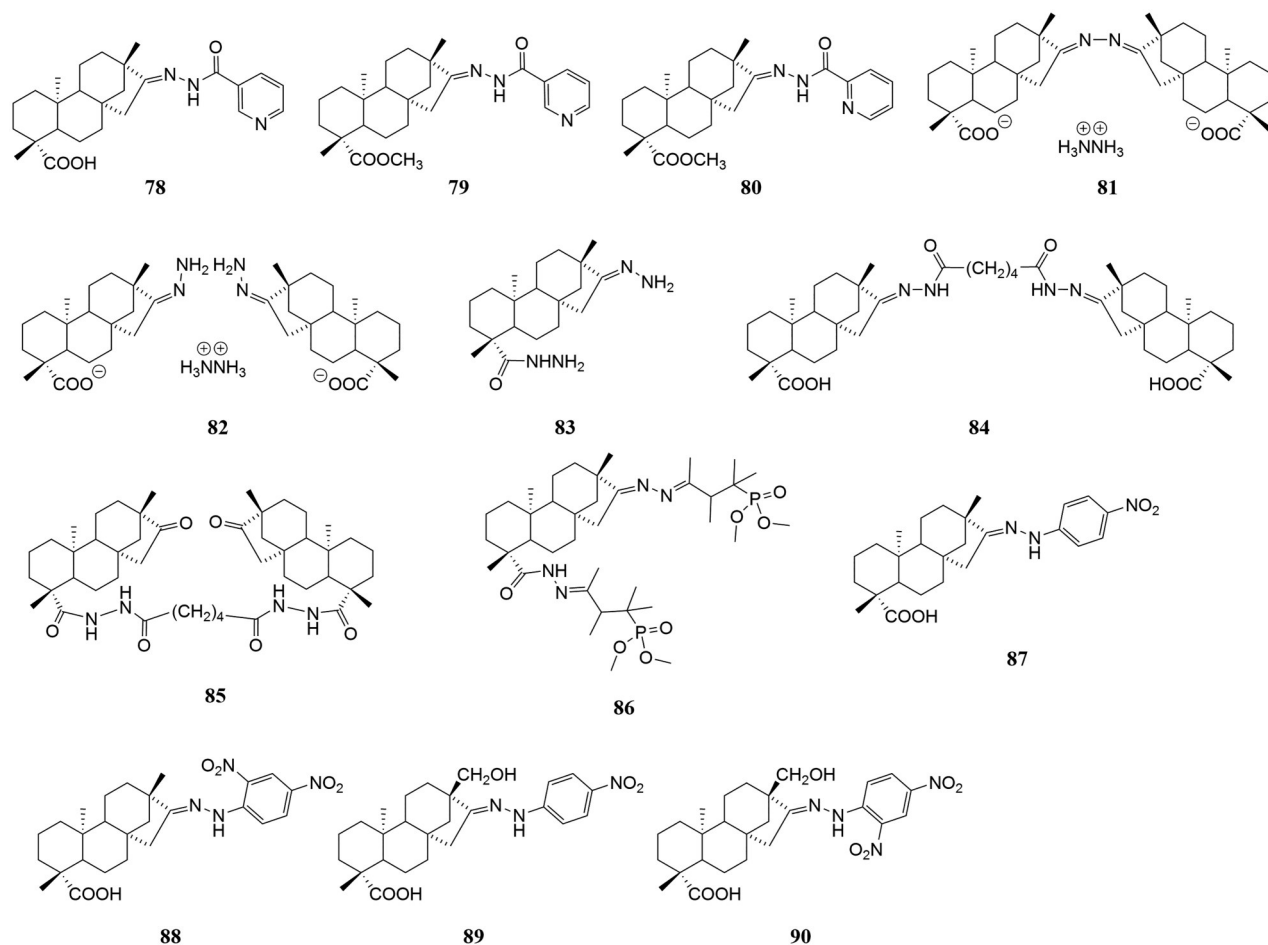


Figure 5 Structures of isosteviol derivatives 78-90

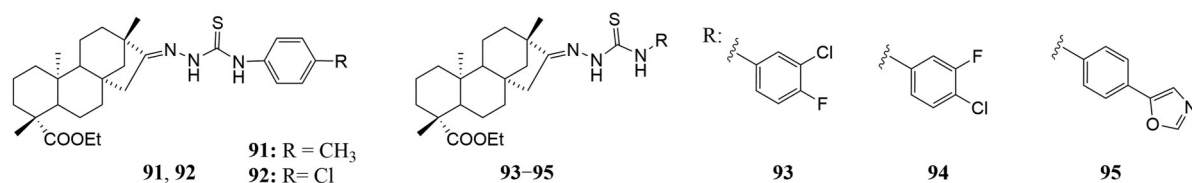


Figure 6 Structures of isosteviol derivatives 91-95

2023年, Gackowski等^[47]利用分子建模和分子对接方法设计了新型硫脲异斯特维醇衍生物,发现3-氯-4-氟苯基(93)、3-氟-4-氯苯基(94)及4-恶唑-苯基(95)(图6)取代的硫脲异斯特维醇衍生物可能是很有潜力的FXa抑制剂(K_i 分别为0.180、0.179和0.415 mmol·L⁻¹)。

2.4 C-16位杂环类衍生物 Khaybullin等^[48,49]在C-19位和C-16位分别引入了1,2,3-三氮唑及其衍生物,发现化合物96a~96c(图7, IC_{50} 值分别为39.2 ± 5.23、38.1 ± 1.82和50.1 ± 3.08 μmol·L⁻¹)和97a~97c(图7, IC_{50} 值分别为41.9 ± 0.69、35.3 ± 2.29和47.4 ± 0.78 μmol·L⁻¹)对人乳腺癌细胞MDA-231的抑制活性优于98a~98c(图7, IC_{50} 值分别为69.2 ± 5.23、38.12 ± 1.82和50.13 ± 3.08 μmol·L⁻¹),化合物97a~97c(IC_{50} 值分别为25.6 ±

0.51、29.0 ± 0.58和31.5 ± 0.60 μmol·L⁻¹)对人急性白血病细胞HL-60的抑制活性优于化合物96a~96c(IC_{50} 值分别为28.8 ± 0.63、35.7 ± 1.08和46.8 ± 1.47 μmol·L⁻¹)和98a~98c(IC_{50} 值分别为29.62 ± 1.52、30.72 ± 0.62和40.57 ± 2.81 μmol·L⁻¹),这可能是因为化合物97a~97c具有 α,β -不饱和键的迈克尔型受体。

2021年, Liu等^[50]合成了一种新型的1,2,3,4-四氮唑-5-硫醇修饰的异斯特维醇衍生物,发现化合物99(图7)不仅对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性较好(MIC = 1 μg·mL⁻¹),还对HCT-116细胞具有较好的抑制活性(IC_{50} = 40.98 ± 1.9 μmol·L⁻¹),但对大肠杆菌O157:H7没有抗菌活性,化合物99对革兰阳性菌比革兰阴性菌更敏感,而异斯特维醇对这些菌株均

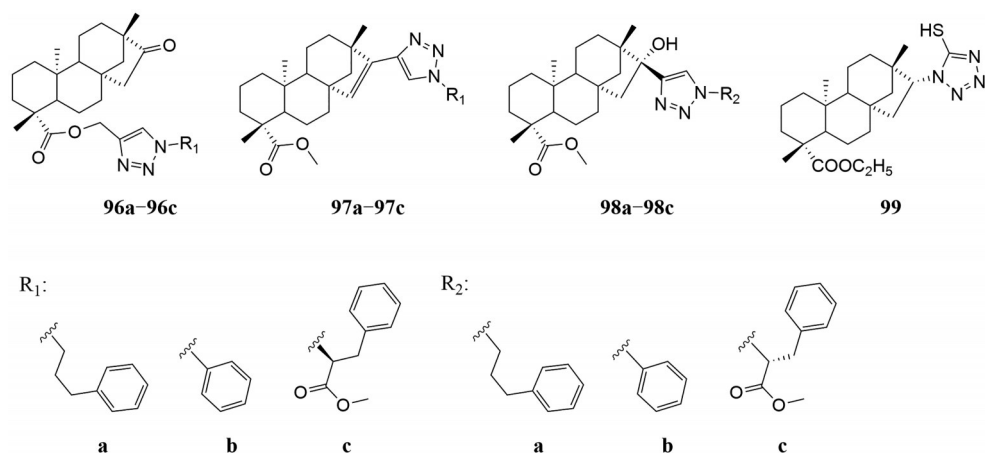


Figure 7 Structures of isosteviol derivatives 96-99

没有抑制作用,由此可见,1,2,3,4-四氮唑-5-硫醇的修饰可以提高异斯特维醇的抑菌活性。

3 D环修饰

异斯特维醇的D环修饰主要是引入活性基团或者杂环衍生物,得到的大多数衍生物都具有显著的生物活性,例如,当引入 α,β -环外不饱和酮、氨基醇类、糖基及杂环类等衍生物都可以提高异斯特维醇的抗肿瘤活性;当引入苯并五元氮杂环类衍生物可以提高异斯特维醇对体外 α -葡萄糖苷酶的抑制活性;当引入烯醇醚类衍生物可以提高异斯特维醇对枯草芽孢杆菌的抑制作用;此外,对D环进行结构修饰还可以提高异斯特维醇对心脏的保护作用及对 γ -氨基丁酸-氨基转移酶的抑制活性。

2008年,Wu等^[51]对D环进行修饰,合成了四氢异恶唑环衍生物,发现化合物**100**(图8, $IC_{50} = 15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对B16-F10细胞具有显著的抑制活性。2009年,该课题组^[52]又合成了一系列苯并五元氮杂环修饰的异斯特维醇衍生物,结果发现合成的衍生物对体外 α -葡萄糖苷酶具有良好的抑制活性,其中化合物**101**(图8)对体外 α -葡萄糖苷酶具有较好的活性。

2013年,Zhu等^[53,54]通过分子内1,3-偶极环加成和缩合反应在D环上引入不同类型的杂环衍生物,体外抗增殖活性研究表明,碳硫酰胺取代的异恶唑环衍生物**102a~102u**(图8)的细胞毒性弱于碳硫酰胺取代的吡唑衍生物**103a~103u**(图8),吡唑衍生物**104a~104ad**(图8)的细胞毒性优于吡唑啉衍生物**105a~105ad**(图8),吡唑类衍生物(**103a~103u**和**105a~105ad**)对Raji细胞的细胞毒活性均优于异斯特维醇和顺铂,说明吡唑杂环片段的引入可以提高异斯特维醇的细胞毒活性;对这4个系列衍生物来说,含有对甲基取代基的化合物的活性优于其他单取代化合物,化合

物**102m**和**103m**及化合物**104l**和**105l**对人胃癌细胞SGC-7901、人非小细胞肺癌细胞A549和淋巴瘤细胞Raji的 IC_{50} 值分别为7.21、45.76、27.64和9.65、17.73、6.51及29.39、13.67、3.91和13.55、12.36、4.84 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;在双取代吡唑啉衍生物(**105q~105ad**)中,化合物**105t**对SGC-7901、A549、Raji和HeLa细胞(IC_{50} 值分别为2.71、3.18、1.09和13.52 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的抑制活性优于顺铂(IC_{50} 值分别为7.56、17.78、17.32和14.31 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$);表明D环融合吡唑类的衍生物值得进一步探究其细胞毒活性。

Li等^[55]合成了 α,β -环外不饱和酮衍生物,发现化合物**106**(图8)对人乳腺癌细胞MDA-MB-231和人胃癌细胞MGC-803(IC_{50} 分别为1.58和2.22 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的抑制活性优于DOX(IC_{50} 分别为2.26和2.53 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和冬凌草甲素(IC_{50} 分别为2.38和3.57 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2012年,Zhang等^[56]对D环进行修饰,合成了一系列氨基醇衍生物;体外抗增殖活性研究表明,不含羟基或氨基的异斯特维醇衍生物**107**和**108**(图8)对4种肿瘤细胞株(人食管癌细胞EC9706、人前列腺癌细胞PC-3、HCT-116和人食管癌细胞ECA109)均无抑制作用,但当在C-15位引入羟基得到的化合物**109**、**110**(图8, IC_{50} 值均 $> 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对EC9706细胞和PC-3细胞的抑制活性弱于化合物**111**、**112**和**113**(图8, IC_{50} 值分别为91.63和43.33、24.42和26.52、56.64和17.87 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),15- α -氨基甲基-16- β -羟基化合物**114**(图8, IC_{50} 分别是4.01、15.31、12.25和5.02 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对这4个细胞株的抑制活性优于阳性对照顺铂(IC_{50} 分别是6.12、21.02、62.03和4.02 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和含1,2-氨基醇亚基的化合物**115**(图8, IC_{50} 值分别为19.33、41.32、25.38和20.13 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)以及化合物**116**(图8, IC_{50} 值

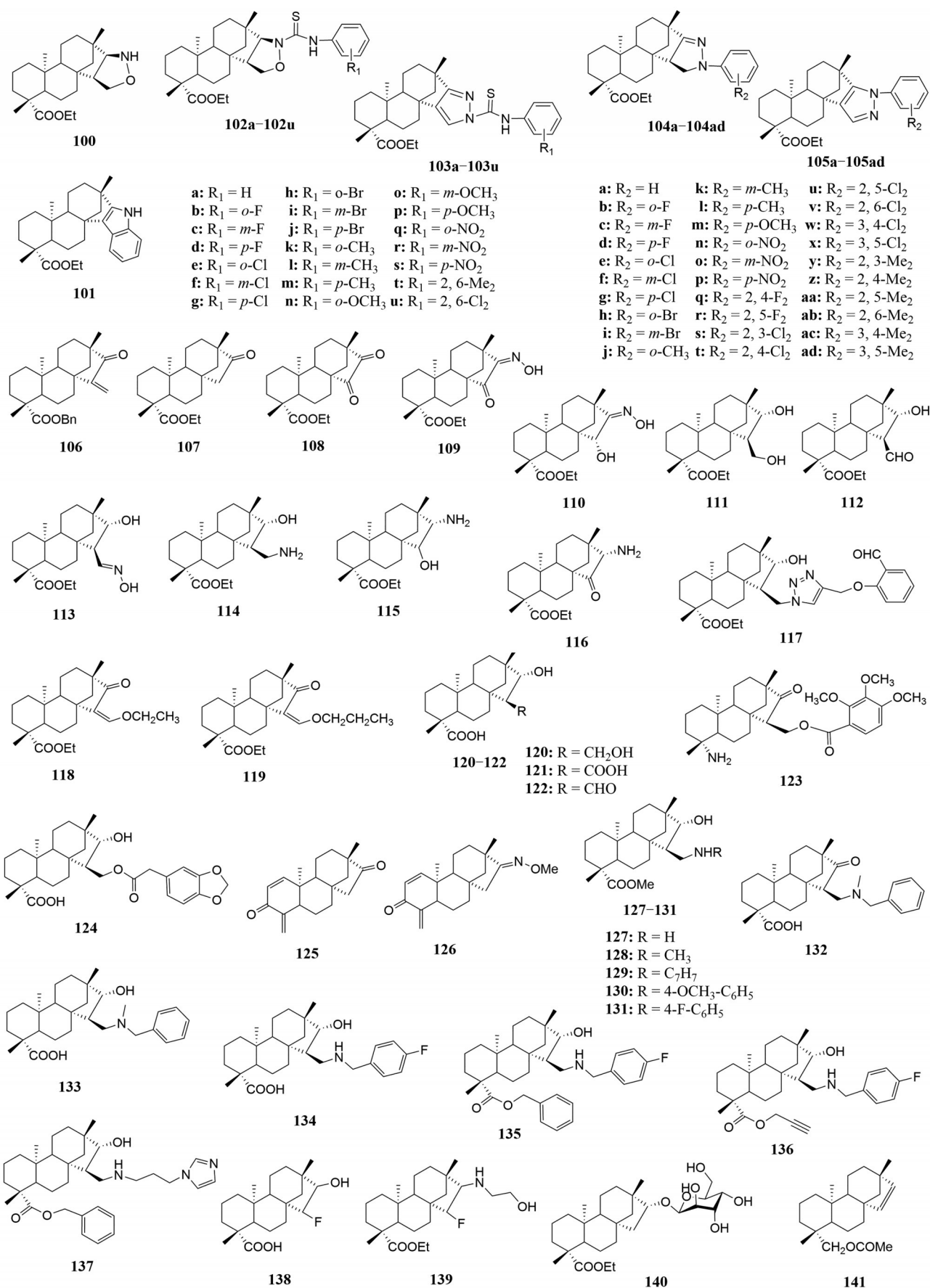


Figure 8 Structures of isosteviol derivatives 100-141

均 $> 90 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2016年, Liu等^[57]在C-15位引入了1,2,3-三氮唑衍生物, 体外抗增殖活性研究表明, 大多数化合物表现出了显著的细胞毒活性, 尤其是16-羟基修饰的1,2,3-三氮唑衍生物**117**(图8, $\text{IC}_{50} = 2.987 \pm 0.098 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对HCT-116细胞的抑制活性优于顺铂($\text{IC}_{50} = 3.906 \pm 0.261 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。随后, 该课题组^[58]又合成了烯醇醚修饰的异斯特维醇衍生物, 其中化合物**118**和**119**(图8, MIC值分别是4.98和2.40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)对枯草芽孢杆菌的抑制作用较好。

2019年, Jayachandra等^[59]对D环进行结构修饰改造, 其中化合物**120**(图8, $\text{LC}_{50} = 68.50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对DOX($\text{LC}_{50} = 51.56 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)诱导的心脏毒性具有较好的保护活性, 将化合物**120**的C-15位羟基氧化为羰基和醛基得到的化合物**121**(图8, $\text{LC}_{50} = 66.62 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和**122**(图8, $\text{LC}_{50} = 92.61 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对DOX诱导的心脏毒性也具有较好的保护活性。Mohammed Abdul等^[60]进一步研究了化合物**122**的心肌保护作用, 发现化合物**122**通过在缺氧-复氧过程中选择性激活ERK1/2来保护H9c2细胞免受缺氧-复氧的影响, 而不影响正常氧条件下的ERK1/2信号通路。

2021年, Zhang等^[61]对C-19位和D环进行修饰改造得到了一系列化合物, 发现化合物**123**(图8)可以有效预防DOX诱导的斑马鱼形态扭曲和心功能障碍, 其心脏保护作用明显优于异斯特维醇和阳性药物左西孟旦, 进一步研究发现化合物**123**是通过抑制ROS的过度产生、恢复线粒体的膜电位和维持线粒体的形态来防止心肌细胞的死亡和损伤。

2023年, Chen等^[62]对D环进行结构修饰, 其中化合物**124**(图8)对斑马鱼心肌病模型表现出了最有效的心脏保护作用, 活性优于异斯特维醇和阳性药物左西孟旦; 深入研究发现, 化合物**124**是通过抑制ROS的过度积累、恢复MDA的水平和LDH的释放、增强抗氧化系统及增加SOD2的表达来保护H9c2细胞。

Liu等^[63]将亲电性的 α,β -不饱和酮引入异斯特维醇的A环后得到的化合物**125**(图8)对A549、MCF-7、HepG2、人乳腺癌细胞HCC1428、人脐静脉内皮细胞HUVEC和人慢性髓系白血病细胞K562的 IC_{50} 值分别为 3.2 ± 0.28 、 11 ± 0.91 、 2.1 ± 0.11 、 5.7 ± 0.37 、 15 ± 1.2 和 $10 \pm 1.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 继续对化合物**125**的D环进行含氮修饰得到的化合物**126**(图8)对以上细胞株的 IC_{50} 值分别为 0.41 ± 0.12 、 0.29 ± 0.017 、 0.92 ± 0.067 、 0.51 ± 0.056 、 0.39 ± 0.042 、 $2.9 \pm 0.27 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 证实了 α,β -不饱和酮和对D-环进行的含氮修饰都可以提高异斯特维醇的抗肿瘤活性, 进一步研究发现化合物**126**

是进入溶酶体后并破坏溶酶体从而导致细胞死亡。

2021年, Ozsvár等^[64]对D环进行修饰, 立体选择性合成了1,3-氨基醇修饰的异斯特维醇衍生物, 其中化合物**127~131**(图8)对HeLa细胞的抑制活性(IC_{50} 值分别是4.11、11.66、5.47、2.55和2.75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)优于顺铂($\text{IC}_{50} = 12.43 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而化合物**132**和**133**(图8)对HeLa细胞的抑制活性(IC_{50} 值分别是34.61、13.65 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)弱于顺铂。2023年, Ozsvár等^[65]又合成了同类型的衍生物, 并对C-19位羧基进行不同的取代, 发现化合物**134**(图8)对4种人肿瘤细胞株(HeLa、A2780、MCF-7和MDA-MB-231)的细胞毒活性弱于化合物**135**和**136**(图8), 而化合物**137**(图8, $\text{IC}_{50} = 1.37 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对MCF-7细胞的抑制活性优于顺铂($\text{IC}_{50} = 16.01 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); 根据构效关系可以解释为氨基功能上的N-苄基取代基的引入可以增强抗肿瘤活性, π - π 键合性质和亲脂性的增加, 使甲酯与丙炔基的引入也增加了抗肿瘤活性, 而苄基酯的取代没有明显的优势。

2023年, Salaria等^[66]在C-15位上引入氟元素, 对C-16位进行还原反应引入羟基(**138**)和氨基乙醇(**139**)(图8)后, 通过分子对接和MD模拟方法研究其与 γ -氨基丁酸-氨基转移酶(γ -aminobutyric acid-aminotransferase, GABA-AT)的相互作用, 发现衍生物不仅与氨基丁酸(vigabatrin)有相同的结合位点, 而且结合亲和力均高于vigabatrin和GABA-AT抑制剂CPP-115; 此外, MD模拟表明, 化合物**138**和**139**可以与GABA-AT形成稳定的配合物; 进一步研究发现它们还可以穿过血脑屏障, 并符合Lipinski法则, 具有类药性, 无毒, 吸收率 $> 80\%$; 此外, 体内外试验证实了它们对GABA-AT的抑制活性, 这些结果的发现有助于开发异斯特维醇衍生物作为癫痫治疗药物。

2024年, Qi等^[67]以异斯特维醇为先导化合物, 在C-16位上引入糖基得到的化合物**140**(图8, $\text{IC}_{50} = 7.84 \pm 0.84 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和在D环引入双键得到的化合物**141**(图8, $\text{IC}_{50} = 6.89 \pm 0.33 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对A549细胞的细胞毒性明显优于吉非替尼($\text{IC}_{50} = 11.02 \pm 3.27 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 进一步研究还发现C-16位糖基化修饰可以提高衍生物的溶解度、稳定性和生物利用度, 在D环引入双键可以提高异斯特维醇的抑制活性。

4 异斯特维醇的微生物转化

化学合成方法是获取药用天然产物的一种重要途径, 然而这种方法有时成本太高, 还容易造成环境污染, 并且一些结构复杂的化合物也很难通过化学合成方法获得。而利用微生物转化不仅可以提高生产效率, 降低生产成本, 还可以确保生产过程对环境友

好^[68]。目前, 研究人员利用各种微生物对异斯特维醇及其衍生物进行微生物转化, 获得了多种异斯特维醇衍生物。

2009年, Chang等^[69]利用黑曲霉BCRC-32720和犁头霉菌ATCC-24169对异斯特维醇内酰胺(142, 图9)进行微生物转化, 分离出7个化合物, 并利用X-射线晶体学、一维和二维核磁共振对化合物进行了结构鉴定, 证实得到了4个羟基化合物143~146、1个贝克曼重排化合物147和两个异常的贝克曼重排化合物148和149(图9)。此外, 还评估了这些化合物对脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)刺激的RAW-264.7细胞中NF- κ B和AP-1活化的抑制作用, 发现化合物145和149显著抑制了NF- κ B的激活, 化合物145的抑制活性和地塞米松相

当, 化合物143和146~148显著抑制了AP-1的激活, 特别是化合物147的抑制活性优于地塞米松。

2009年, Chou等^[70]利用黑曲霉BCRC-31130和犁头霉菌ATCC-24169对化合物150(图9)进行微生物转化, 分离出6个化合物151~156(图9), 通过高场核磁共振技术和X-射线晶体学推导并证实了这些化合物的结构, 其中化合物152~154的抑制活性优于地塞米松。2011年, 该课题组^[71]利用黑曲霉BCRC-32720和犁头霉菌ATCC-24169对异斯特维醇内酰胺(149)进行微生物转化, 分离出了化合物148及157~163(图9); 此外, 通过实时荧光定量方法(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测发现这些化合物可以抑制LPS诱导的iNOS-mRNA的表达, 其中化合物158的

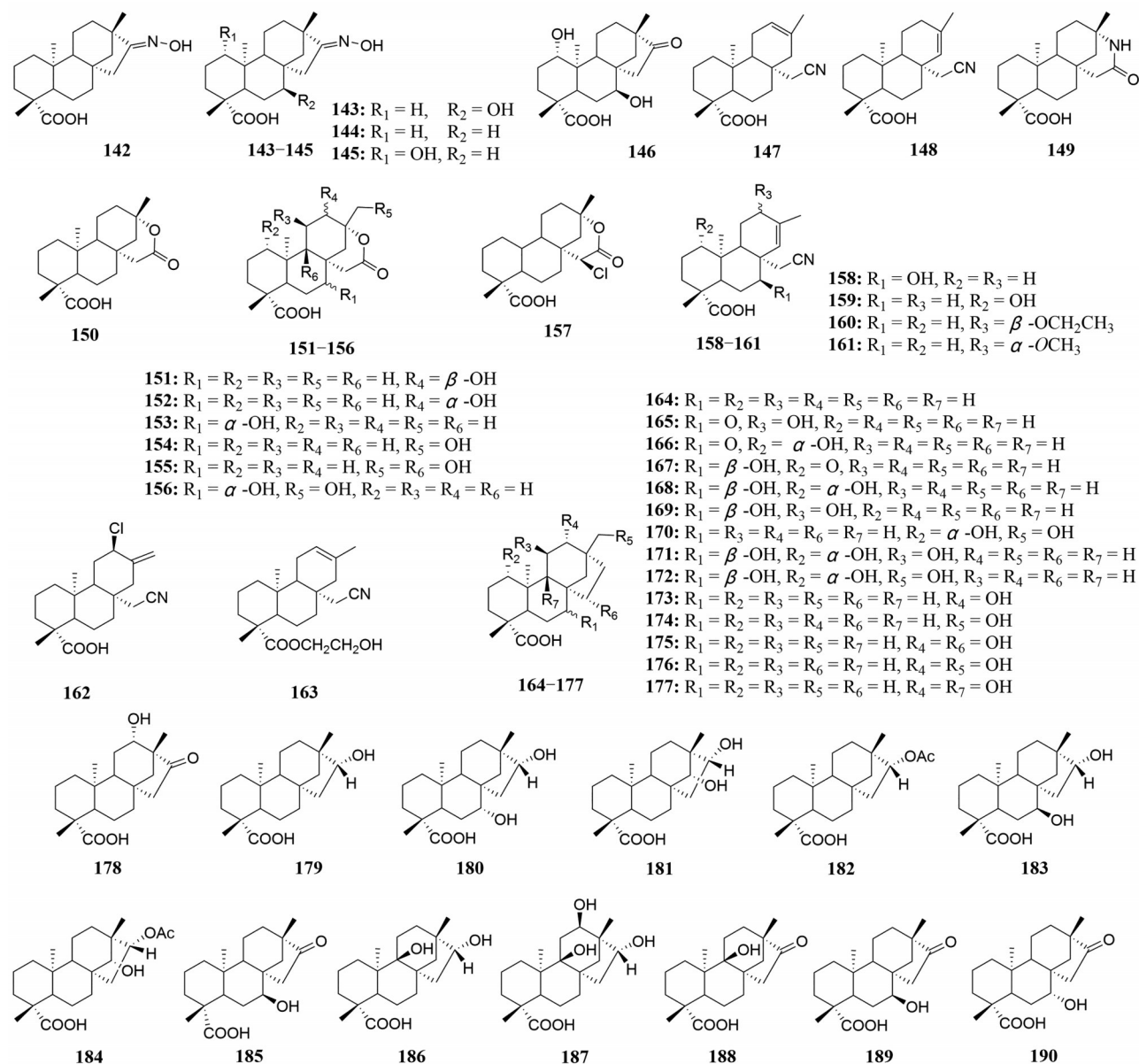


Figure 9 Structures of isosteviol derivatives 142-190

抑制活性优于地塞米松。

2012年, Yang等^[72]对化合物**164**(图9)进行微生物转化, 其中化合物**165~172**(图9)是**164**利用黑曲霉 BCRC-32720 转化得到的, 化合物**173~176**(图9)是**164**利用巨大芽孢杆菌 ATCC-14581 转化得到的, 化合物**175~178**(图9)是**164**利用长孢被孢菌 ATCC-38063 转化得到的; 通过 RT-PCR 检测可知, 化合物**164~178**均可以显著抑制 TNF- α 和 COX-2 mRNA 的表达, 化合物**170**对 TNF- α mRNA 表达的抑制活性与地塞米松相当, 然而, 除化合物**166**和**178**外, 所测化合物对 COX-2 mRNA 表达的抑制活性均优于地塞米松。

2013年, Wanganan等^[73]利用刺孢小克银汉霉 NRRL-1386 对化合物**179**(图9)进行微生物转化, 生成了**180**和**181**(图9), 以化合物**182**(图9)为底物时转化生成了**183**和**184**(图9), 以异斯特维醇为底物时转化生成了**185**(图9), 进一步研究化合物**185**($EC_{50} = 3.46 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)对体外大鼠主动脉血管松弛活性最强, 是异斯特维醇($EC_{50} = 57.41 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的血管松弛活性的17倍。

2020年, Gao等^[74]利用刺孢小克银汉霉 ATCC-8688a 对化合物**179**进行微生物转化, 获得了两个羟基化合物**186**和**187**(图9), 利用刺孢小克银汉霉 ATCC-8688a 对异斯特维醇进行微生物转化, 获得了化合物**188~190**(图9); 此外, 对所有化合物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制、神经营养、抗炎和植物毒活性的检测, 仅在神经营养活性检测中发现, 化合物**179**和**189**在大鼠嗜铬细胞瘤细胞 PC-12 中显示出对神经生长因子介导的神经突起具有促进作用, 其他化合物则没有活性。

5 前景与展望

天然产物是大自然亿万年来进化的结果, 为有机化学的研究提供了不可或缺的素材, 目前, 天然产物依然是重要的药物来源^[75]。然而, 未经修饰的天然产物往往存在活性不足、结构复杂、不良反应大等明显缺陷, 很难直接成药, 因而需要进行药物结构修饰以提升其成药性、改善理化性质^[76]。异斯特维醇本身由于其分子骨架的局限导致其水溶性差、活性低、生物利用度低等缺点进而导致了其成药性能差^[14]。因此, 对异斯特维醇进行结构修饰已成为天然药物开发领域的一个热点研究。

综上所述, 对异斯特维醇结构修饰已开展了大量的工作, 尤其是利用化学合成及微生物转化方法, 对异斯特维醇的 D 环、C-16 位羰基和 C-19 位羧基进行结构修饰, 引入胆碱基、三苯基膦阳离子、短链烷基、硝酸酯类 NO 供体、硝基苯肼基团、氨基醇、硫脲、 α, β -环外不饱和酮、糖基及杂环等活性结构单元, 并对其衍生物进

行了药理活性测试, 得到的大部分衍生物都具有较好的生物活性。但对异斯特维醇的结构改造主要集中在 D 环、C-16 位羰基和 C-19 位羧基上, 对 A、B 和 C 环区域的结构修饰相对较少; 并且大多数衍生物的具体构效关系、作用机制和临床应用领域的的数据相对较少, 使得异斯特维醇及其衍生物类新药开发具有一定的局限性。

因此, 对异斯特维醇的结构修饰进行更广泛的研究, 获得更多结构新颖、高效低毒、成药性更好的化合物, 并进一步研究其构效关系, 从而深入开展作用机制及临床试验研究, 将为新药开发提供更可靠的理论依据。

作者贡献: 赵丽君、杨有福、王统盛负责综述的撰写及修改; 张艳丽、吴亚负责论文的指导和审阅。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

- [1] Holth TAD, Walters MA, Hutt OE, et al. Diversity-oriented library synthesis from steviol and isosteviol-derived scaffolds [J]. ACS Comb Sci, 2020, 22: 150-155.
- [2] Ullah A, Munir S, Mabkhot Y, et al. Bioactivity profile of the diterpene isosteviol and its derivatives [J]. Molecules, 2019, 24: 678.
- [3] Liu GJ, Shi H. Progress in application of stevioside [J]. Zhejiang Chem Ind (浙江化工), 2016, 47: 34-41.
- [4] Gu WQ, Rebsdorf A, Hermansen K, et al. The dynamic effects of isosteviol on insulin secretion and its inability to counteract the impaired β -cell function during gluco-, lipo-, and aminoacidotoxicity: studies *in vitro* [J]. Nutrients, 2018, 10: 127.
- [5] Xu DY, Xu M, Lin L, et al. The effect of isosteviol on hyperglycemia and dyslipidemia induced by lipotoxicity in rats fed with high-fat emulsion [J]. Life Sci, 2012, 90: 30-38.
- [6] Wong KL, Chan P, Yang HY, et al. Isosteviol acts on potassium channels to relax isolated aortic strips of Wistar rat [J]. Life Sci, 2004, 74: 2379-2387.
- [7] Liu F, Song LS, Lu ZQ, et al. Isosteviol improves cardiac function and promotes angiogenesis after myocardial infarction in rats [J]. Cell Tissue Res, 2022, 387: 275-285.
- [8] Xu DY, Li YF, Wang JP, et al. The cardioprotective effect of isosteviol on rats with heart ischemia-reperfusion injury [J]. Life Sci, 2007, 80: 269-274.
- [9] Yao LY, Chen XL, Shen ML, et al. Isosteviol attenuates DSS-induced colitis by maintaining intestinal barrier function through PDK1/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 114: 109532.
- [10] Abdullah Al-Dhabi N, Valan Arasu M, Rejiniemon TS. *In vitro* antibacterial, antifungal, antibiofilm, antioxidant, and anticancer

- properties of isosteviol isolated from endangered medicinal plant *Pittosporum tetraspermum* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 164261.
- [11] Wang XX, Zhang J, Li J, et al. The effect of isosteviol on growth of human osteosarcoma cells lines U-2OS [J]. *China Oncol (中国癌症杂志)*, 2016, 26: 230-237.
- [12] Liu CJ, Liu PP, Ke M. Progress on antitumor activity of isosteviol and derivatives [J]. *J Zhongzhou Univ (中州大学学报)*, 2020, 37: 119-124.
- [13] Altamimi JZ, Alfaris NA, Alshammari GM, et al. Isosteviol attenuates streptozotocin-mediated diabetic nephropathy in rats by upregulating and stimulating adenosine monophosphate-activated protein kinase [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2023, 74: 313-323.
- [14] Wang D, Peng WL, Wang Y. Research progress on pharmacological activity of isosteviol [J]. *Shandong Chem Ind (山东化工)*, 2021, 50: 70-72.
- [15] Korochkina GM, Nikitashina DA, Khaybullin NR, et al. Unfolded and macrocyclic ammonium derivatives of diterpenoids steviol and isosteviol having choline moieties. Synthesis and inhibitory activities toward acetylcholine- and butyrylcholinesterases [J]. *MedChemComm*, 2012, 3: 1449-1454.
- [16] Malki A, Laha R, Bergmeier SC. Synthesis and cytotoxic activity of MOM-ether analogs of isosteviol [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 1184-1187.
- [17] Malki A, El-Sharkawy A, El Syaed M, et al. Antitumor activities of the novel isosteviol derivative 10C against liver cancer [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37: 1591-1601.
- [18] Strobykina IY, Belenok MG, Semenova MN, et al. Triphenylphosphonium cations of the diterpenoid isosteviol: synthesis and antimetabolic activity in a sea urchin embryo model [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78: 1300-1308.
- [19] Strobykina IY, Nemtarev AV, Garifullin BF, et al. Synthesis and biological activity of alkane-1,1-diylbis (phosphonates) of diterpenoid isosteviol [J]. *Russ J Org Chem*, 2019, 55: 17-24.
- [20] Testai L, Strobykina I, Semenov VV, et al. Mitochondriotropic and cardioprotective effects of triphenylphosphonium-conjugated derivatives of the diterpenoid isosteviol [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 2060.
- [21] Luan T, Cao LH, Deng H, et al. Design and synthesis of C-19 isosteviol derivatives as potent and highly selective antiproliferative agents [J]. *Molecules*, 2018, 24: 121.
- [22] Sharipova RR, Andreeva OV, Garifullin BF, et al. Synthesis and antimicrobial and antituberculosis activity of the first conjugates of the diterpenoid isosteviol and D-arabinofuranose [J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54: 92-97.
- [23] Sharipova RR, Belenok MG, Garifullin BF, et al. Synthesis and anti-cancer activities of glycosides and glycoconjugates of diterpenoid isosteviol [J]. *MedChemComm*, 2019, 10: 1488-1498.
- [24] Garifullin BF, Strobykina IY, Khabibulina LR, et al. Synthesis and cytotoxicity of the conjugates of diterpenoid isosteviol and *N*-acetyl-D-glucosamine [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35: 1372-1378.
- [25] Guo YT, Hou XY, Zheng CJ, et al. Synthesis, characteristics and bioactivities of novel isosteviol derivatives [J]. *Chin J Org Chem (有机化学)*, 2019, 39: 3532-3541.
- [26] Andreeva OV, Garifullin BF, Sharipova RR, et al. Glycosides and glycoconjugates of the diterpenoid isosteviol with a 1,2,3-triazolyl moiety: synthesis and cytotoxicity evaluation [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83: 2367-2380.
- [27] Voloshina AD, Sapunova AS, Kulik NV, et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of ammonium derivatives of diterpenoids steviol and isosteviol [J]. *Bioorg Med Chem*, 2021, 32: 115974.
- [28] Li N, Li XY, Deng MD, et al. Isosteviol derivatives as protein tyrosine phosphatase-1B inhibitors: synthesis, biological evaluation and molecular docking [J]. *Bioorg Med Chem*, 2023, 83: 117240.
- [29] Heise NV, Heisig J, Meier K, et al. F16 hybrids derived from steviol or isosteviol are accumulated in the mitochondria of tumor cells and overcome drug resistance [J]. *Molecules*, 2024, 29: 381.
- [30] Wang TT, Liu Y, Chen L. Synthesis and cytotoxic activity of nitric oxide-releasing isosteviol derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 2202-2205.
- [31] Liu CJ, Yu SL, Liu YP, et al. Synthesis, cytotoxic activity evaluation and HQSAR study of novel isosteviol derivatives as potential anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 115: 26-40.
- [32] Liu CJ, Zhang T, Yu SL, et al. Synthesis, cytotoxic activity, and 2D- and 3D-QSAR studies of 19-carboxyl-modified novel isosteviol derivatives as potential anticancer agents [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2017, 89: 870-887.
- [33] Huang TJ, Chou BH, Lin CW, et al. Synthesis and antiviral effects of isosteviol-derived analogues against the hepatitis B virus [J]. *Phytochemistry*, 2014, 99: 107-114.
- [34] Kachingwe BH, Wang LH, Uang YS, et al. Dose-dependent pharmacokinetics and tentative identification of urine metabolites from an isosteviol derivative with anti-hepatitis B activity in rats [J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32: e4266.
- [35] Tzeng HE, Huang PH, Tsai CH, et al. Isosteviol derivative inhibits osteoclast differentiation and ameliorates ovariectomy-induced osteoporosis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 11190.
- [36] Heisig J, Heise NV, Hoenke S, et al. The finally rewarding search for a cytotoxic isosteviol derivative [J]. *Molecules*, 2023, 28: 4951.
- [37] Chen ZY, Li ZY, Xu RL, et al. Design, synthesis, and *in vivo* evaluation of isosteviol derivatives as new SIRT3 activators with highly potent cardioprotective effects [J]. *J Med Chem*, 2024, 67: 6749-6768.
- [38] Liu Y, Wang TT, Ling Y, et al. Design, synthesis and cytotoxic evaluation of nitric oxide-releasing derivatives of isosteviol [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2017, 90: 473-477.

- [39] Chen P, Zhang DW, Li M, et al. Discovery of novel, potent, isosteviol-based antithrombotic agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 183: 111722.
- [40] Gackowski M, Madriwala B, Studzińska R, et al. Novel isosteviol-based FXa inhibitors: molecular modeling, *in silico* design and docking simulation [J]. *Molecules*, 2023, 28: 4977.
- [41] Gackowski M, Jędrzejewski M, Medicharla SS, et al. Novel thiourea and oxime ether isosteviol-based anticoagulants: MD simulation and ADMET prediction [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17: 163.
- [42] Kataev VE, Strobykina IY, Andreeva OV, et al. Synthesis and antituberculosis activity of derivatives of *Stevia rebaudiana* glycoside steviolbioside and diterpenoid isosteviol containing hydrazone, hydrazide, and pyridinoyl moieties [J]. *Bioorg Khim*, 2011, 37: 542-551.
- [43] Garifullin BF, Strobykina IY, Mordovskoi GG, et al. Synthesis and antituberculosis activity of derivatives of the diterpenoid isosteviol with azine, hydrazide, and hydrazone moieties [J]. *Chem Nat Compd*, 2011, 47: 55-58.
- [44] Garifullin BF, Chestnova RV, Mironov VF, et al. Synthesis and antituberculosis activity of conjugates of the diterpenoid isosteviol and the drug dimephosphon [J]. *Chem Nat Compd*, 2012, 48: 794-798.
- [45] Asad U, Baratto LC, Paula RC, et al. Preparation of derivatives of betulinic acid, steviol and isosteviol and evaluation of antitrypanosomal and antimalarial activities [J]. *J Braz Chem Soc*, 2016, 27: 1245-1253.
- [46] Shi Y, Pan BW, Li WC, et al. Synthesis and biological evaluation of isosteviol derivatives as FXa inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30: 126585.
- [47] Gackowski M, Madriwala B, Koba M. *In silico* design, docking simulation, and ANN-QSAR model for predicting the anticoagulant activity of thiourea isosteviol compounds as FXa inhibitors [J]. *Chem Pap*, 2023, 77: 7027-7044.
- [48] Khaybullin RN, Zhang M, Fu JJ, et al. Design and synthesis of isosteviol triazole conjugates for cancer therapy [J]. *Molecules*, 2014, 19: 18676-18689.
- [49] Khaybullin RN, Liang X, Cisneros K, et al. Synthesis and anticancer evaluation of complex unsaturated isosteviol-derived triazole conjugates [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7: 2419-2428.
- [50] Liu CJ, Wang YF, Yao JH, et al. Synthesis and bioactivities of derivatives of the diterpenoid isosteviol with 1,2,3,4-tetrazole-5-thiol moiety [J]. *Chem Nat Compd*, 2021, 57: 88-90.
- [51] Wu Y, Dai GF, Yang JH, et al. Stereoselective synthesis of 15- and 16-substituted isosteviol derivatives and their cytotoxic activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 19: 1818-1821.
- [52] Wu Y, Yang JH, Dai GF, et al. Stereoselective synthesis of bioactive isosteviol derivatives as α -glucosidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 17: 1464-1473.
- [53] Zhu SL, Wu Y, Liu CJ, et al. Synthesis and *in vitro* cytotoxic activity evaluation of novel heterocycle bridged carbothioamide type isosteviol derivatives as antitumor agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23: 1343-1346.
- [54] Zhu SL, Wu Y, Liu CJ, et al. Design and stereoselective synthesis of novel isosteviol-fused pyrazolines and pyrazoles as potential anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2013, 65: 70-82.
- [55] Li J, Zhang DY, Wu XM. Synthesis and biological evaluation of novel exomethylene cyclopentanone tetracyclic diterpenoids as antitumor agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 130-132.
- [56] Zhang T, Lu LH, Liu H, et al. D-ring modified novel isosteviol derivatives: design, synthesis and cytotoxic activity evaluation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 5827-5832.
- [57] Liu CJ, Liu YP, Yu SL, et al. Syntheses, cytotoxic activity evaluation and HQSAR study of 1,2,3-triazole-linked isosteviol derivatives as potential anticancer agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 5455-5461.
- [58] Liu CJ, Yu ZY, Min YT, et al. Synthesis, structure, and antibacterial activities of diterpenoid isosteviol-derived alkenyl ethers [J]. *Chem Nat Compd*, 2022, 58: 857-861.
- [59] Jayachandra R, Zhao HS, Cheng ZC, et al. Synthesis of isosteviol analogues as potential protective agents against doxorubicin-induced cardiomyopathy in zebrafish embryos [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29: 1705-1709.
- [60] Mohammed Abdul KS, Rayadurgam J, Faiz N, et al. Cardioprotection by isosteviol derivate JC105: a unique drug property to activate ERK1/2 only when cells are exposed to hypoxia-reoxygenation [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 10924-10934.
- [61] Zhang HY, Liu B, Xu G, et al. Synthesis and *in vivo* screening of isosteviol derivatives as new cardioprotective agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 219: 113396.
- [62] Chen ZY, Xu RL, Jia Q, et al. Discovery of new D-ring modified isosteviol derivatives as potent cardioprotective agents against oxidative stress-triggered damage [J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20: e202300085.
- [63] Liu J, Li L, Li XB, et al. Discovery of lysosome-targeted covalent anticancer agents based on isosteviol skeleton [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 209: 112896.
- [64] Ozsvár D, Nagy V, Zupkó I, et al. Synthesis and biological application of isosteviol-based 1,3-aminoalcohols [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 11232.
- [65] Ozsvár D, Bózsity N, Zupkó I, et al. Synthesis and study of the structure-activity relationship of antiproliferative *N*-substituted isosteviol-based 1,3-aminoalcohols [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17: 262.
- [66] Salaria P, Akshinthala P, Kapavarapu R, et al. Identification of novel C-15 fluoro isosteviol derivatives for GABA-AT inhibition by *in silico* investigations [J]. *J Mol Model*, 2023, 29: 76.
- [67] Qi XX, Wang PP, Cui LT, et al. Synthesis, characterization and *in vitro* antiproliferative effects of isosteviol derivatives [J]. *J*

- Asian Nat Prod Res, 2024, 26: 812-823.
- [68] Sun XY, Chen JJ, Chen TJ, et al. Research progress on protein engineering technology and its application in the synthesis biology of medicinal natural products [J]. Acta Pharm Sin (药 学 学 报), 2024, 59: 1601-1605.
- [69] Chang SF, Chou BH, Yang LM, et al. Microbial transformation of isosteviol oxime and the inhibitory effects on NF-kappaB and AP-1 activation in LPS-stimulated macrophages [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17: 6348-6353.
- [70] Chou BH, Yang LM, Chang SF, et al. Fungal transformation of isosteviol lactone and its biological evaluation for inhibiting the AP-1 transcription factor [J]. Phytochemistry, 2009, 70: 759-764.
- [71] Chou BH, Yang LM, Chang SF, et al. Transformation of isosteviol lactam by fungi and the suppressive effects of its transformed products on LPS-induced iNOS expression in macrophages [J]. J Nat Prod, 2011, 74: 1379-1385.
- [72] Yang LM, Chang SF, Lin WK, et al. Oxygenated compounds from the bioconversion of isostevic acid and their inhibition of TNF- α and COX-2 expressions in LPS-stimulated RAW 264.7 cells [J]. Phytochemistry, 2012, 75: 90-98.
- [73] Wonganan O, Tocharus C, Pudsing C, et al. Potent vasorelaxant analogs from chemical modification and biotransformation of isosteviol [J]. Eur J Med Chem, 2013, 62: 771-776.
- [74] Gao YQ, Li RX, Wang WW, et al. Microbial transformations of two beyerane-type diterpenes by *cunninghamella echinulate* [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68: 4624-4631.
- [75] Zhang XP, Shao JJ, Ma DL, et al. Research on antitumor active components and mechanisms of natural products [J]. Acta Pharm Sin (药 学 学 报), 2019, 54: 1949-1957.
- [76] Xia ZW, Sun YH, Huang TL, et al. Research progress of natural product evodipine-based antitumor drug design strategies [J]. Acta Pharm Sin (药 学 学 报), 2024, 59: 532-542.