论 著

手性环氧醇及其磷酸酯化物的合成及抗肿瘤活性筛选

张　迪[1]，陈　平[2]，王　舒[3]，戚仲钰[1]，詹小燕[1]，杜　曦[4]

1.西南医科大学药学院 药物化学教研室（泸州 646000）；2.遂宁市中心医院 药学部（遂宁 629000）；3.天府中药城管理委员会（彭州 611900）；4.西南医科大学基础医学院 化学教研室（泸州 646000）

【摘 要】目的 寻找基于Sharpless不对称环氧化反应的手性环氧醇及其磷酸酯化物合成的优化条件。**方法** 以烯丙基醇为起始原料，合成炔基、苯基和烷基（3b～8b）取代的手性环氧醇。再用氯磷酸二苯酯处理上述产物，得到相应的磷酸酯化物（3c～5c，8c）。采用^{1}H NMR，^{13}C NMR，^{31}P NMR和MS表征化合物结构，手性HPLC测定产物的对映异构过量（ee）值，并对所得化合物的抗肿瘤活性进行初筛。**结果** 合成了10种不同取代的手性环氧醇及其磷酸酯化物，活性实验结果显示部分化合物对Hela细胞、231细胞和HepG2细胞增殖有一定的抑制作用。**结论** 建立了优化的Sharpless不对称环氧化反应条件及手性环氧醇的磷酸酯化反应条件，对拓展Sharpless法的应用有重要参考意义。

【关键词】手性环氧醇；磷酸酯化；Hela细胞；231细胞；HepG2细胞

【中图分类号】 R914.4　　**文献标志码** A　　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.01.009

Synthesis and antitumor activity evaluation of chiral glycidyl alcohols and their phosphoester derivatives

ZHANG Di[1], CHEN Ping[2], WANG Shu[3], QI Zhongyu[1], ZHAN Xiaoyan[1], DU Xi[4]

1.*Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*; 2.*Department of Pharmacy, Suining Central Hospital, Suining 629000, China*; 3.*TianFu Natural Medicine City Management Committee, Pengzhou 611900, China*; 4. *Department of Chemistry, School of Basic Medical Science, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*

【Abstract】Objective To study the optimization conditions for Sharpless asymmetric epoxidation-based synthesis of chiral glycidyl alcohols and their phosphoester compounds. **Methods** With allyl alcohol as the starting material, we synthesized alkynyl, phenyl, and alkyl (3b ~ 8b) substituted chiral glycidyl alcohols, followed by treatment with diphenyl chlorophosphate for corresponding phosphoester derivatives (3c ~ 5c, 8c). We characterized the structures of the compounds by ^{1}H nuclear magnetic resonance (NMR), ^{13}C NMR, ^{31}P NMR, and mass spectrometry, measured their enantiomeric excess (ee) values by chiral high-performance liquid chromatography, and preliminarily evaluated their antitumor activities. **Results** Ten chiral glycidyl alcohols with different substitutions and their phosphoester derivatives were synthesized. Antitumor activity tests showed that some of the compounds had inhibitory effects on the proliferation of HeLa cells, 231 cells, and HepG2 cells. **Conclusion** We established optimization conditions for Sharpless asymmetric epoxidation and chiral glycidyl alcohol phosphoesterification, providing a reference for expanding the application of the Sharpless method.

【Key words】 Chiral glycidyl alcohol; Phosphoesterification; Hela cells; 231 cells; HepG2 cells

环氧化物，尤其是手性环氧醇，是各种活性药物的重要砌块[1-6]。例如，抗肿瘤化合物FR901464[7]、depudecin[8]和抗病毒核苷[9]都属于手性环氧化物。目前，各种手性环氧醇的制备还是以Sharpless法[10-11]为主，该法以烯丙醇为底物，Ti配合物为催化剂，可获得较高收率及对映异构过量的手性环氧醇（收率85%，ee值90% ~ 99%）（图1）。然而，Sharpless法在含苯基或炔基的烯丙醇环氧化领域应用较少，从现有研究来看，大基团芳香烯丙醇的环氧化效果较小基团取代的烯丙醇差[12]。

基金项目：泸州-西南医科大学联合项目（2018LZXNYD-ZK04）；四川大学-泸州联合项目（2018CDLZ-13）

第一作者简介：张 迪，硕士研究生。

通信作者：杜 曦，教授。E-mail:dx.d@163.com

引用本文：张迪，陈平，王舒，等.手性环氧醇及其磷酸酯化物的合成及抗肿瘤活性筛选[J].西南医科大学学报，2022，45（1）：39-43. DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.01.009

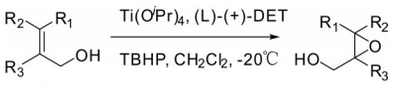


图1　Sharpless不对称环氧化

Figure 1　Sharpless asymmetric epoxidation

本研究通过对催化剂种类、催化剂-配体的摩尔比、分子筛类型、温度和时间等条件的筛选，拟建立含苯基或炔基的烯丙醇的环氧化优化反应体系，获得该类烯丙醇的环氧化产物。同时，鉴于对环氧化物的稳定性、选择性和生物利用度提高的考虑，对环氧化物分子进行修饰具有一定的必要性。文献调研发现，不少药物的磷酸酯化物均表现出不错的活性作用[13-16]，因此，磷酸酯化常作为药物设计中的重要手段[17]。由此，本研究对获得的环氧醇进行磷酸酯化修饰，并对环氧醇及其相应的磷酸酯化物进行抗肿瘤活性的评估，以期获得该类化合物的生物活性信息。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

如无特殊说明，所有溶剂经预干燥处理后使用，试剂均为分析纯。^{1}H NMR、^{13}C NMR和^{31}P NMR用Bruker AM-400型核磁共振仪测定（以TMS为内标，$CDCl_3$为溶剂）；质谱采用Finnigan LCQDECA质谱仪测定；HPLC采用岛津LC-2030测定。

1.2 化合物3b～8b的合成与表征

将活化的4 Å分子筛（60 mg）置于10 mL单颈圆底烧瓶，氮气置换后加入3 mL超干二氯甲烷，于-25 ℃下搅拌冷却15 min，再依次加入四异丙醇钛（29.12 μL，0.0984 mmol）和（L）-（+）-酒石酸二异丙酯（31.05 μL，0.1476 mmol），搅拌30～40 min，添加叔丁基过氧化氢（2.98 mL，2.98 mmol）并搅拌60 min，最后，逐滴加入2-戊基-3-苯基烯丙醇（0.38 g，2 mmol），搅拌4 h。待反应完成后，加入适量含30% 氢氧化钠的饱和氯化钠溶液，经减压蒸馏、柱层析分离得2-戊基-3-苯基-2，3-环氧丙醇（3b）。4b～8b的合成同上。产物的产率及对映异构过量（ee）值利用HPLC测定，产物结构采用NMR、MS进行表征。

1.3 3c～5c和8c的合成与表征

氮气保护下，于10 mL单颈圆底烧瓶中依次加入：2-戊基-3-苯基-2，3-环氧丙醇（3b）（1 mmol，0.206 g），新蒸二氯甲烷（20 mL），N，N-二甲基甲酰胺（0.1 mmol，12.2 mg），无水三乙胺（3 mmol，0.4 mL），25 ℃下搅拌30 min，再加入氯磷酸二苯酯并搅拌30 min。待反应完成后，加入适量冰水，经减压蒸馏、柱层析分离得2-戊基-3-苯基-2，3-环氧丙烷基磷酸二苯酯（3c）。4c～5c，8c合成方法同上。产物的产率及ee值利用HPLC测定，产物结构采用NMR、MS进行表征。

1.4 抗肿瘤活性初筛

取出冻存细胞于37 ℃水浴中快速溶解，加入RPMI1640或DMEM培养基混匀离心，弃去上清液，用培养基重悬细胞沉淀后，将重悬细胞液加入含培养基的培养瓶中，于37 ℃ 5% CO_2孵箱中培养，待细胞长至对数生长期，将其接种于96孔板上，每孔100 μL，培养24 h。先用二甲基亚砜溶解各试验样品，配成100 mmol/L的各试验样品储备溶液，然后用相应培养基稀释成浓度梯度的待测样品，以预实验确定的大致有效浓度范围及作用时间进行药物处理，每个浓度设复孔，100 μL/孔，于37 ℃ 5% CO_2的培养箱中培养1 d。药物处理结束后，加入含10% CCK8的培养基100 μL，避光培养1 h，用酶标仪（检测波长450 nm）测定吸光值，计算药物的半数抑制浓度IC_{50}值。

2 结果

2.1 手性环氧醇及其磷酸酯化物的合成与表征

2.1.1 手性环氧醇及其磷酸酯化物的合成 试剂和条件：（i）4Å MS，Ti（O^{i}Pr）$_4$，（L）-（+）- DIPT，TBHP，DCM，-25 ℃，4 h；（ii）三氟乙醇，氯磷酸二苯酯，DMAP，r.t.，30 min（图2）。

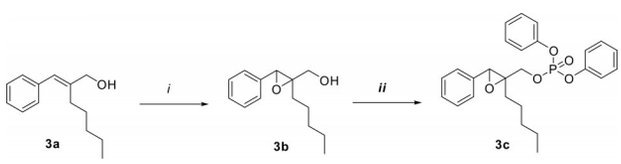


图2　环氧化物及其磷酸酯化物的合成

Figure 2　Synthesis of epoxides and their phosphate esters

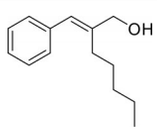
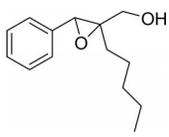
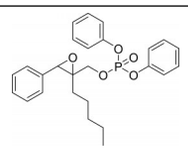
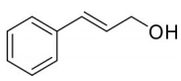
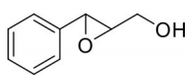
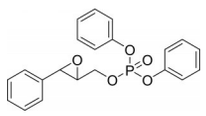
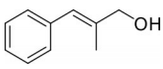
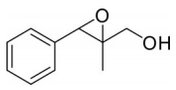
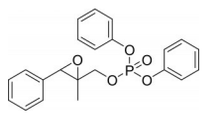
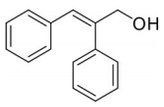
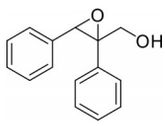
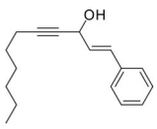
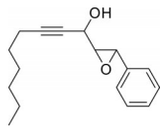
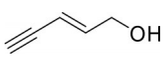
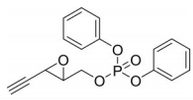
按1.2及1.3所述方法合成了多个环氧醇及其磷酸酯化物，如表1所示。

2.1.2 手性环氧醇及其磷酸酯化物的表征 2-戊基-3-苯基-2，3-环氧丙醇（3b）：^{1}H NMR（$CDCl_3$，400 MHz）：δ 7.43-7.24（m，5H），4.25（s，1H），4.00-3.90（m，1H），3.82（dd，J = 12.4，9.1 Hz，1H），1.98（dt，J = 9.4，4.7 Hz，1H），1.60-1.43（m，1H），1.41-1.00（m，8H），0.76（t，J = 6.8 Hz，3H）；^{13}C NMR（$CDCl_3$，101 MHz）：δ 135.61，128.06，127.54，126.39，66.16，62.89，60.23，31.74，27.32，24.24，22.17，13.82. HRMS（ESI）：calculated m/z $[M + Na]^+$ for $[C_{14}H_{20}NaO_2]^+$：243.1356，found：243.1326.

2-戊基-3-苯基-2，3-环氧丙烷基磷酸二苯酯（3c）：^{1}H NMR（$CDCl_3$，400 MHz）：δ 7.58-7.06（m，15H），4.38（d，J = 6.4 Hz，2H），4.08（s，J = 22.8 Hz，1H），1.47-1.35（m，2H），1.33-1.16（m，2H），1.15-1.05（m，2H），1.04（s，2H），0.73（d，J = 6.6 Hz，3H）；^{31}P NMR（$CDCl_3$，100 MHz）：δ -11.75；^{13}C NMR（$CDCl_3$，

表1　环氧醇及其磷酸酯化物的合成

Table 1　Synthesis of epoxide alcohols and their phosphate esters

	烯丙基醇(3a～8a)	环氧醇(3b～8b)	产率(%)	ee(%)	磷酸二苯酯(3c～5c，8c)	产率(%)	ee(%)
3			98	92		98	92
4			91	95		96	89
5			98	94		98	90
6			80	43	—	—	—
7			85	40	—	—	—
8			98	100		98	98

100 MHz)：δ 150.47, 134.72, 129.89, 128.10, 127.80, 126.49, 125.54, 120.10, 70.50, 63.86, 61.61, 31.64, 26.45, 24.01, 22.18, 13.83. HRMS (ESI)：calculated m/z [M + Na]$^+$ for [$C_{26}H_{29}NaO_5P$]$^+$：475.1645, found：475.1629.

3-苯基-2,3-环氧丙醇(4b)：^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)：δ 7.42-7.27 (m, 5H), 4.08 (ddd, J = 12.8, 4.9, 2.3 Hz, 1H), 3.96 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 3.87-3.78 (m, 1H), 3.34-3.13 (m, 1H), 2.06 (d, J = 7.1 Hz, 1H)；^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz)：δ 136.64, 128.53, 128.35, 125.73, 62.42, 61.23, 55.59.

3-苯基-2,3-环氧丙烷基磷酸二苯酯(4c)：^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)：δ 7.69-7.02 (m, 15H), 4.44 (dt, J = 156.7, 48.0 Hz, 2H), 3.82 (s, 1 H), 3.29 (s, 1 H)；^{31}P NMR ($CDCl_3$, 100 MHz)：δ -12.37；^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz)：δ 150.32, 135.81, 129.87, 128.57, 125.71, 125.55, 120.15, 120.10, 68.22, 59.56, 56.35. HRMS (ESI)：calculated m/z [M + Na]$^+$ for [$C_{21}H_{19}NaO_5P$]$^+$：405.0862, found：405.0838.

2-甲基-3-苯基-2,3-环氧丙醇(5b)：^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)：δ 7.42-7.25 (m, 5H), 4.25 (s, 1H), 3.89 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 3.78 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 1.32 (dd, J = 6.2, 1.6 Hz, 1H), 1.11 (s, 3H)；^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz)：δ 135.59, 128.14, 127.61, 126.43, 64.96, 63.83, 60.21, 13.48. HRMS (ESI)：calculated m/z [M + Na]$^+$ for [$C_{10}H_{12}NaO_2$]$^+$：187.0730, found：187.0724.

2-甲基-3-苯基-2,3-环氧丙烷基磷酸二苯酯(5c)：^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)：δ 7.19 (dd, J = 30.8, 24.3 Hz, 15H), 4.44-4.11 (m, 2H), 4.01 (d, J = 20.5 Hz, 1H), 1.07 (d, J = 19.9 Hz, 3H)；^{31}P NMR ($CDCl_3$, 100 MHz)：δ -11.86；^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz)：δ 149.35, 133.59, 128.74, 127.09, 126.79, 125.45, 124.42, 118.95, 71.49, 60.47, 60.17, 12.15. HRMS (ESI)：calculated m/z [M + Na]$^+$ for [$C_{22}H_{21}NaO_5P$]$^+$：419.1019, found：419.1004.

2,3-二苯基-2,3-环氧丙醇(6b)：^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)：δ 8.06-6.80 (m, 10H), 5.03 (s, 1H), 4.16 (s, 1H), 3.31 (s, 1H), 2.42 (s, 1H)；^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz)：δ 139.06, 136.45, 128.70, 128.48, 128.40, 128.31, 126.55, 125.71, 71.08, 64.92, 54.86. HRMS (ESI)：calculated m/z [M + Na]$^+$ for [$C_{15}H_{14}NaO_2$]$^+$：249.0886, found：249.0854.

1-辛炔基-3-苯基-2,3-环氧丙醇(7b)：^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz)：δ 7.49-7.29 (m, 4H), 4.74 (td, J = 4.8, 2.1 Hz, 1H), 4.07 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 3.33 (dd, J = 2.8, 2.2 Hz, 1H), 2.25 (td, J = 7.1, 2.0 Hz, 2H), 2.14 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 1.61-1.56 (m, 2H), 1.46-1.07 (m, 6H), 1.00-0.80 (m, 3H)；^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz)：δ 136.24, 131.50, 128.82, 128.58, 127.99, 127.81, 126.77, 87.61, 79.09, 78.91, 63.22, 31.33, 28.59, 28.56, 22.55, 18.82, 14.06. HRMS (ESI)：calculated m/z [M +

Na]$^+$ for $[C_{17}H_{22}NaO_2]^+$: 281.1512, found: 281.1096.

4-炔基-2,3-环氧丁醇(8b): ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 3.98 (s, 1H), 3.75 (s, 1H), 3.57-3.14 (m, 3H), 2.43-2.33 (m, 1H), 1.87 (d, J = 46.3 Hz, 2H), 1.33 (d, J = 3.8 Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 101 MHz): δ 79.62, 72.64, 59.94, 59.74, 42.16, 21.77. GC-MS (EI) m/z(%): 31.93(40), 27.94(100), 18.95(55), 17.94(60).

4-炔基-2,3-环氧丁烷基磷酸二苯酯(8c): ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.21 (dd, J = 50.1, 64.0 Hz, 10H), 4.34-4.15 (m, 2H), 3.35 (s, 1 H), 3.26 (s, 1 H), 2.28 (s, 1 H); ^{31}P NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ -11.75; ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ 148.91, 128.66, 124.67, 119.02, 77.84, 71.89, 65.87, 55.63, 41.70. HRMS (ESI): calculated m/z [M + Na]$^+$ for $[C_{17}H_{15}NaO_5P]^+$: 353.0549, found: 353.0526.

2.2 抗肿瘤活性初筛

上述化合物通过CCK8细胞增殖实验进行了抗肿瘤活性初筛,结果见表2。

表2　环氧醇及其磷酸酯化物的抗肿瘤活性初筛

Table 2　Preliminary screening of antitumor activity of epoxide alcohols and their phosphate esters

化合物/IC_{50}(μM)	Hela	231	HepG2
3b	320.42	—	—
3c	222.11	—	—
4c	—	—	765.20
8c	66.75	176.45	91.59

3 讨论

3.1 手性环氧醇及其磷酸酯化物的合成

如图2所示,以3a为模型底物进行环氧化反应,考察了 Ti(O^iPr)$_4$-(L)-(+)-DIPT 和 Ti(O^iPr)$_4$-(L)-(+)-DET对反应的催化作用,发现Ti(O^iPr)$_4$-(L)-(+)-DIPT的催化效果较好,当n(Ti(O^iPr)$_4$):n((L)-(+)-DIPT)= 0.65时产物3b的ee值可达92%。结果表明,不同配体及不同的配比对Ti配合物的催化效果具有较显著的影响。综合环境因素及经济因素,以n(Ti(O^iPr)$_4$):n((L)-(+)-DIPT)= 0.65作为优化条件。

从实验结果上不难发现,4 Å和3 Å均能提高ee值(ee > 90%),但前者的产率远优于后者,我们猜测可能是由于4Å分子筛的空隙相较于其他分子筛对反应体系生成的微量水有更好的吸附能力,能使因水存在而失活的催化剂再次"活化",使催化剂保持催化活性[18-20]。此外,在-15 ℃至-35 ℃范围内,ee值无明显差异,但产率先增加后递减,在-25 ℃达到最大值。在优化条件下,反应时间由8 h缩短到4 h,以保证最佳产率和ee值。

基于不同基团的活性差异以及调整溶解性的考虑,对第一步得到的环氧化合物进行了磷酸酯化反应。以2-戊基-3-苯基烯丙醇的环氧化产物3b为模型反应物,进行磷酸酯化反应,得到环氧磷酸酯化物3c。其他化合物的合成参照以上方法进行。结果表明,磷酸酯化反应迅速且彻底,产物的产率高(均大于96%),而ee值依赖于磷酸酯化反应底物环氧醇的ee值。

3.2 抗肿瘤活性初筛

在给定浓度范围(100 ~ 800 μmol/L)内,8c对Hela细胞、231细胞和HepG2细胞增殖均有良好的抑制作用,且其对三种细胞的抑制强弱依次为Hela、HepG2、231。而3b、3c则仅对Hela细胞增殖有一定的抑制活性,4c仅对HepG2细胞增殖有一定的抑制作用。

4 结论

本文研究了以烯丙醇为起始原料的Sharpless不对称环氧化反应以及环氧醇磷酸酯化反应。优化的反应条件适用于含苯基或炔基的烯丙醇类化合物,有较高产率和ee值。对合成的环氧醇及其相应的磷酸酯化物进行抗肿瘤活性初筛,其中部分化合物对肿瘤细胞增殖有一定的抑制作用。

(利益冲突:无)

参 考 文 献

[1] VILOTIJEVIC I, JAMISON TF. ChemInform abstract: synthesis of marine polycyclic polyethers via Endo-selective epoxide opening cascades[J]. Cheminform, 2011, 42(21): 763-809.

[2] SHAW J, FISHWICK CWG, HARRIS M. Epoxide based inhibitors of the hepatitis C virus non-structural 2 autoprotease[J]. Antiviral Res, 2015, 117: 20-26.

[3] SOUZA-SILVA F, BOURGUIGNON SC, PEREIRA BAS, *et al*. Epoxy-α -lapachone has in vitro and in vivo anti-Leishmania (Leishmania) amazonensis effects and inhibits serine proteinase activity in this parasite[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(4): 1910-1918.

[4] GHOSH AK, KULKARNI S. Enantioselective total synthesis of (+)-largazole, a potent inhibitor of histone deacetylase[J]. Org Lett, 2008, 10(17): 3907-3909.

[5] KUMAR VP, CHANDRASEKHAR S. Enantioselective synthesis of pladienolide B and truncated analogues as new anticancer agents[J]. Org Lett, 2013, 15(14): 3610-3613.

[6] 李世学,刘建利,何伟. 核苷类药物对HBV复制的抑制机制和HBV对核苷类药物的耐药机制[J]. 中国抗生素杂志, 2009, 34(4): 193-199.

[7] GHOSH AK, CHEN ZH. Enantioselective syntheses of FR901464 and spliceostatin A: potent inhibitors of spliceosome[J]. Org Lett, 2013, 15(19): 5088-5091.

[8] GARCÍA-RUIZ C, CHENG-SÁNCHEZ I, SARABIA F. Stereoselective total synthesis of (-)-depudecin[J]. Org Lett, 2015, 17(22): 5558-5561.

[9] RIERA A, MORENO M. Synthetic applications of chiral unsaturated epoxy alcohols prepared by sharpless asymmetric epoxidation[J]. Molecules, 2010, 15(2): 1041-1073.

[10] KATSUKI T, MARTIN V. Asymmetric epoxidation of allylic al-

cohols: the Katsuki Sharpless epoxidation reaction[M]. Organic Reactions. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2004: 1-299.
[11] REDDY BN, SING RP. A facile stereoselective total synthesis of (S)-N-(5-chlorothiophene-2-sulfonyl)-b,b-diethylalaninol[J]. Der Pharma Chemica, 2015, 7(1): 201-205.
[12] KNOCHEL P, SKOTNITZKI J. The Sharpless epoxidation[J]. Synfacts, 2019, 15(3): 253.
[13] PIRES RA, ABUL-HAIJA YM, COSTA DS, *et al*. Controlling cancer cell fate using localized biocatalytic self-assembly of an aromatic carbohydrate amphiphile[J]. J Am Chem Soc, 2015, 137(2): 576-579.
[14] WANG JM, SU HX, ZHANG T, *et al*. Inhibition of enterovirus 71 replication by 7-hydroxyflavone and diisopropyl-flavon7-yl phosphate[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92565.
[15] ONG V, FLANAGAN S, FANG E, *et al*. Absorption, distribution, metabolism, and excretion of the novel antibacterial prodrug tedizolid phosphate[J]. Drug Metab Dispos, 2014, 42(8): 1275-1284.
[16] GOUY MH, JORDHEIM LP, LEFEBVRE I, *et al*. Special feature of mixed phosphotriester derivatives of cytarabine[J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(17): 6340-6347.
[17] 杜国新, 彭彩云, 方渡. 磷酸酯类前药设计及其合成方法研究进展[J]. 中南药学, 2008, 6(1): 82-85.
[18] 杨上闰, 徐军, 王爱军. NaA沸石分子筛吸水性能的研究[J]. 石油化工, 1992, 21(10): 667-670.
[19] HANSON RM, SHARPLESS KB. Procedure for the catalytic asymmetric epoxidation of allylic alcohols in the presence of molecular sieves[J]. J Org Chem, 1986, 51(10): 1922-1925.
[20] BLANCO-URGOITI J, CASARRUBIOS L, DOMI NGUEZ G, *et al*. New protocol for the catalytic Pauson Khand reaction induced by molecular sieves [J]. Tetrahedron Lett, 2002, 43(33): 5763-5765.

（2020-11-20 收稿；2021-11-07 修回）

（上接第28页）

[3] MACK CL, ADAMS D, ASSIS DN, *et al*. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis in adults and children: 2019 practice guidance and guidelines from the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. Hepatology, 2020, 72(2): 671-722.
[4] WANG GQ, TANAKA A, ZHAO H, *et al*. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver clinical practice guidance: the diagnosis and management of patients with autoimmune hepatitis[J]. Hepatol Int, 2021, 15(2): 223-257.
[5] GALOOSIAN A, HANLON C, ZHANG JL, *et al*. Clinical updates in primary biliary cholangitis: trends, epidemiology, diagnostics, and new therapeutic approaches[J]. J Clin Transl Hepatol, 2020, 8(1): 49-60.
[6] HIRSCHFIELD GM, DYSON JK, ALEXANDER GJM, *et al*. The British Society of Gastroenterology/UK-PBC primary biliary cholangitis treatment and management guidelines[J]. Gut, 2018, 67(9): 1568-1594.
[7] NEVENS F, ANDREONE P, MAZZELLA G, *et al*. A placebo-controlled trial of obeticholic acid in primary biliary cholangitis[J]. N Engl J Med, 2016, 375(7): 631-643.
[8] TANAKA A. Current understanding of primary biliary cholangitis[J]. Clin Mol Hepatol, 2021, 27(1): 1-21.
[9] TAYLOR SA, ASSIS DN, MACK CL. The contribution of B cells in autoimmune liver diseases[J]. Semin Liver Dis, 2019, 39(4): 422-431.
[10] LEE DSW, ROJAS OL, GOMMERMAN JL. B cell depletion therapies in autoimmune disease: advances and mechanistic insights[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(3): 179-199.
[11] BERGHEN N, VULSTEKE JB, WESTHOVENS R, *et al*. Rituximab in systemic autoimmune rheumatic diseases: indications and practical use[J]. Acta Clin Belg, 2019, 74(4): 272-279.
[12] PIERPONT TM, LIMPER CB, RICHARDS KL. Past, present, and future of rituximab-the world's first oncology monoclonal antibody therapy[J]. Front Oncol, 2018, 8: 163.
[13] THAN NN, HODSON J, SCHMIDT-MARTIN D, *et al*. Efficacy of rituximab in difficult-to-manage autoimmune hepatitis: results from the international autoimmune hepatitis group[J]. JHEP Rep, 2019, 1(6): 437-445.
[14] BURAK KW, SWAIN MG, SANTODOMINGO-GARZON T, *et al*. Rituximab for the treatment of patients with autoimmune hepatitis who are refractory or intolerant to standard therapy[J]. Can J Gastroenterol, 2013, 27(5): 273-280.
[15] TAN YG, WANG YQ, ZHANG M, *et al*. Clonal characteristics of circulating B lymphocyte repertoire in primary biliary cholangitis[J]. J Immunol, 2016, 197(5): 1609-1620.
[16] TSUDA M, MORITOKI Y, LIAN ZX, *et al*. Biochemical and immunologic effects of rituximab in patients with primary biliary cirrhosis and an incomplete response to ursodeoxycholic acid[J]. Hepatology, 2012, 55(2): 512-521.
[17] THOMPSON JS, BIXLER SA, QIAN F, *et al*. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF[J]. Science, 2001, 293(5537): 2108-2111.
[18] ARVANITI P, GIANNOULIS G, GABETA S, *et al*. Belimumab is a promising third-line treatment option for refractory autoimmune hepatitis[J]. JHEP Rep, 2020, 2(4): 100123.

（2021-10-01 收稿；2021-11-27 修回）