

1,6-O, O-二酰基大花旋覆花内酯衍生物的合成及其抑制NO生成活性

朱 虹^{1*}, 魏晓鹏², 金美花², 秦 楠³

(¹南京医科大学附属淮安第一医院药学部, 淮安 223300; ²天津医科大学药学院, 天津 300070;
³天津医科大学天津市基础医学研究中心, 天津 300070)

摘要 以从旋覆花中提取分离得到的1-O-乙酰基大花旋覆花内酯(ABL)为原料, 经酯化反应或还原反应制备了8个1,6-O,O-二酰基大花旋覆花内酯(OABL)衍生物(化合物1~8), 并测定其对脂多糖(LPS)诱导的巨噬细胞一氧化氮(NO)生成的抑制作用, 评价其抗炎活性。结果表明, 化合物5~8具有良好的抑制NO生成活性($IC_{50} < 2 \mu\text{mol/L}$), 其活性水平较先导化合物OABL显著提高。

关键词 1,6-O,O-二酰基大花旋覆花内酯; 衍生物; 合成; 一氧化氮; 抗炎活性

中图分类号 R914.5; R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)04-0440-05

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170408

引用本文 朱虹, 魏晓鹏, 金美花, 等. 1,6-O,O-二酰基大花旋覆花内酯衍生物的合成及其抑制NO生成活性[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(4):440-444.

Cite this article as: ZHU Hong, WEI Xiaopeng, JIN Meihua, et al. Synthesis and inhibition of NO production activities of 1,6-O,O-diacylbritannilactone derivatives[J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(4):440-444.

Synthesis and inhibition of NO production activities of 1,6-O,O-diacylbritannilactone derivatives

ZHU Hong^{1*}, WEI Xiaopeng², JIN Meihua², QIN Nan³

¹Department of Pharmacy, Huai'an First People's Hospital, Nanjing Medical University, Huai'an 223300; ²School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070; ³Research Center of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

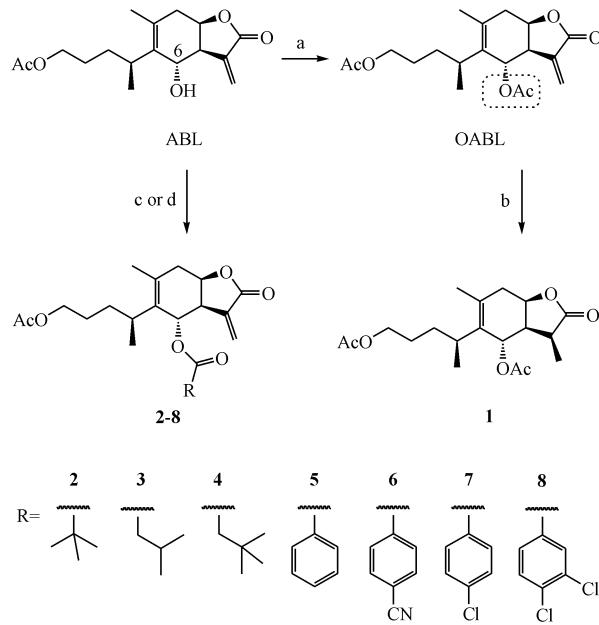
Abstract Eight 1,6-O,O-diacylbritannilactone (OABL) derivatives (compounds 1-8) were synthesized by esterification or reduction of 1-O-diacylbritannilactone (ABL) isolated from *Inula japonica*. All derivatives were evaluated for their anti-inflammation activities through the determination of inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-induced macrophages. As results, compounds 5-8 ($IC_{50} < 2 \mu\text{mol/L}$) exhibited more potent inhibition of NO production activities than the lead compound OABL.

Key words 1,6-O,O-diacylbritannilactone; derivatives; synthesis; nitrogen monoxide; anti-inflammation activities

旋覆花(*Inula japonica* Thunb/*Inula britannica* L.)为菊科(Compositae)植物旋覆花属的一味传统中草药, 收载于中国药典旋覆花项下, 以干燥头状花序入药; 性味苦、辛、咸, 微温; 归肺、脾、胃、大肠经; 具有降气、消痰、行水、止呕的功效; 主治风寒咳嗽、痰饮蓄结、胸膈痞闷、喘咳痰多、呕吐噫气、心下痞硬^[1]。目前, 已经报道的从旋覆花属药用植物

中分离得到的化学成分有百余种, 主要为黄酮、倍半萜、甾醇以及多糖类化合物^[2-3]。本课题组前期研究结果显示, 旋覆花中分离得到的天然产物1,6-O,O-二酰基大花旋覆花内酯(OABL)具有良好抗炎活性, 可以抑制LPS诱导的巨噬细胞一氧化氮(NO)生成, 其 IC_{50} 为 $13.8 \mu\text{mol/L}$ ^[4-5]。其类似物1-O-乙酰基大花旋覆花内酯(ABL)没有明显的

抗炎活性,这提示OABL的6位酯基会影响化合物的活性。另外,OABL含有不饱和内酯环,该片段往往也是活性天然产物维持药效的必需片段。本研究首先将OABL的不饱和内酯环还原以验证该片段的必要性,同时以分离得到的ABL为原料制备OABL的衍生物(路线1)并研究各衍生物对LPS诱导的巨噬细胞NO生成抑制作用。



Scheme 1 Synthesis of 1,6-O,O-diacetylbrannilactone (ABL) derivatives. Reagent and condition: (a) Ac_2O /Pyridine; (b) $\text{NaBH}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (c) Acyl chloride/TEA/ CH_2Cl_2 ; (d) EDCl/DMAP/ CH_2Cl_2

1 实验部分

1.1 材料与仪器

AV400核磁共振波谱仪(德国Bruker公司,TMS内标);MicroTOF-Q II型高性能电喷雾-四极杆-飞行时间LC-MS串联质谱仪(美国Agilent公司);ETS-D5加热磁力搅拌器(德国IKA公司);JASCO P-2000全自动数字旋光仪(日本分光公司);高速逆流色谱仪(上海同田生化有限公司)。

旋覆花乙醇提取物(购自陕西四叶草生物科技有限公司);小鼠单核巨噬细胞RAW264.7细胞(韩国细胞株银行);所有试剂与溶剂均为市售分析纯。

1.2 ABL的提取分离

旋覆花干燥头状花序(100 kg)经75%乙醇加热回流提取3次,每次回流2 h,浓缩后得旋覆花乙

醇提取物15 kg。提取物经水充分混悬后用乙酸乙酯萃取5次,每次用乙酸乙酯2.0 kg,合并乙酸乙酯层浓缩后得乙酸乙酯萃取物1.2 kg。乙酸乙酯提取物经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,5:1,4:1,3:1,1:2,每个梯度洗脱5个柱体积)分离,高速逆流分配色谱(石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水,1:1:1:1,上相作固定相,下相作流动相,转速500 r/min)及甲醇重结晶分离纯化后得到ABL纯品16 g用作合成原料。分离得到的ABL,其氢谱、碳谱、比旋光度数据与文献报道一致^[6-7]。

1.3 化学合成

1.3.1 1,6-O,O-二乙酰基-11β-甲基大花旋覆花内酯(化合物1)的合成 称取OABL 35.0 mg(0.1 mmol)于反应瓶中,加入二氯甲烷1 mL使其溶解,向反应瓶中加入0.12 mmol硼氢化钠,室温搅拌过夜。薄层色谱(TLC)监测反应完全,向反应液中加入0.1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 盐酸调节pH到中性,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,8:1,4:1,2:1,1:1,每个梯度洗脱3个柱体积)纯化得无色油状物18.1 mg,产率51.3%。¹H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 5.38 (s, 1H), 4.85 ~ 4.82 (m, 1H), 4.04 ~ 3.97 (m, 1H), 2.98 ~ 2.89 (m, 1H), 2.79 ~ 2.70 (m, 2H), 2.63 ~ 2.59 (m, 1H), 2.51 (dd, J = 16.4, 3.0 Hz), 2.04 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.55 ~ 1.40 (m, 2H), 1.37 (d, J = 7.5 Hz, 3H), 1.34 ~ 1.19 (m, 4H), 0.91 (d, J = 6.9 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ : 177.96, 171.25, 170.90, 134.51, 131.51, 75.94, 64.58, 64.33, 44.82, 38.41, 34.36, 34.31, 32.13, 26.64, 21.36, 20.97, 20.92, 18.71, 9.84; ESI-MS m/z : 353 [M + H]⁺。

1.3.2 1-O-乙酰基-6α-O-特戊酰基大花旋覆花内酯(化合物2)的合成 称取ABL 30.8 mg(0.1 mmol)于反应瓶中,加入无水二氯甲烷1 mL使其溶解,向反应瓶中加入三乙胺0.2 mmol,然后加入特戊酰氯0.2 mmol,室温搅拌过夜。TLC监测反应完全,向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液调节pH到中性,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,8:1,4:1,2:1,1:1,每个梯度洗脱3个柱体积)纯化得无色油状物20.9 mg,产率

53.2%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 6.29 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 5.86 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.10 (s, 1H), 4.87 ~ 4.85 (m, 1H), 3.92 ~ 3.80 (m, 2H), 3.37 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 2.64 (br s, 1H), 2.60 (s, 1H), 2.42 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 2.00 (s, 3H), 1.74 (s, 3H), 1.89 ~ 1.37 (m, 4H), 1.11 (s, 9H), 1.00 ~ 0.93 (m, 1H), 0.79 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 177.18, 170.14, 168.52, 135.30, 132.56, 131.31, 123.84, 73.89, 68.13, 63.23, 41.87, 37.94, 33.68, 32.06, 29.99, 25.94, 25.46, 19.93, 19.46, 17.67; ESI-MS *m/z*: 393 [M + H]⁺。

1.3.3 1-*O*-乙酰基-6 α -*O*-异戊酰基大花旋覆花内酯(化合物3)的合成 称取 ABL 30.8 mg (0.1 mmol)于反应瓶中,加入无水二氯甲烷 1 mL 使其溶解,向反应瓶中加入三乙胺 0.2 mmol,然后加入 3-甲基丁酰氯 0.2 mmol,室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全,向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 到中性,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,8:1,4:1,2:1,1:1,每个梯度洗脱 3 个柱体积)纯化得无色油状物 19.0 mg,产率 48.5%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 6.30 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.15 (s, 1H), 4.86 (br s, 1H), 3.89 ~ 3.85 (m, 2H), 3.40 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 2.64 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 2.62 (s, 1H), 2.42 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 2.10 ~ 2.09 (m, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.34 ~ 1.19 (m, 4H), 0.88 (d, *J* = 5.6 Hz, 6H), 0.81 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 171.96, 170.15, 168.50, 135.28, 132.71, 131.15, 123.91, 73.93, 67.98, 63.22, 42.63, 41.93, 33.62, 32.09, 30.10, 25.51, 24.76, 21.40, 21.34, 19.94, 19.48, 17.54; ESI-MS *m/z*: 393 [M + H]⁺。

1.3.4 1-*O*-乙酰基-6 α -*O*-(3,3-二甲基丁酰基)大花旋覆花内酯(化合物4)的合成 称取 30.8 mg (0.1 mmol)的 ABL 于反应瓶中,加入无水二氯甲烷 1 mL 使其溶解,向反应瓶中加入三乙胺 0.2 mmol,然后加入 3,3-二甲基丁酰氯 0.2 mmol,室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全,向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 到中性,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,8:1,4:1,2:1,1:1,

每个梯度洗脱 3 个柱体积)纯化得无色油状物 18.9 mg,产率 46.5%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 6.32 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.87 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 5.23 (s, 2H), 5.16 (s, 1H), 4.86 ~ 4.84 (m, 1H), 3.82 ~ 3.93 (m, 2H), 3.42 ~ 3.40 (m, 1H), 2.66 (br s, 1H), 2.62 (s, 1H), 2.41 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 2.11 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 1.39 ~ 1.19 (m, 4H), 0.96 (s, 9H), 0.82 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 171.20, 170.13, 168.48, 135.25, 132.67, 131.23, 123.90, 73.92, 67.79, 63.22, 47.08, 41.93, 33.67, 32.13, 33.12, 29.96, 28.65, 25.52, 19.94, 19.48, 17.66; ESI-MS *m/z*: 407 [M + H]⁺。

1.3.5 1-*O*-乙酰基-6 α -*O*-苯甲酰基大花旋覆花内酯(化合物5)的合成 称取 ABL 30.8 mg (0.1 mmol)于反应瓶中,加入无水二氯甲烷 1 mL 使其溶解,向反应瓶中加入三乙胺 0.2 mmol,然后加入苯甲酰氯 0.2 mmol,室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全,向反应液中加入饱和碳酸氢钠水溶液调节 pH 到中性,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,8:1,4:1,2:1,1:1,每个梯度洗脱 3 个柱体积)纯化得无色油状物 20.1 mg,产率 48.6%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 7.92 (s, 1H), 7.90 (s, 2H), 7.52 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.38 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.35 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 5.96 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 5.39 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 4.92 ~ 4.89 (m, 1H), 3.83 ~ 3.95 (m, 2H), 3.59 ~ 3.56 (m, 1H), 2.77 (q, *J* = 16.1, 2.6 Hz, 1H), 2.69 ~ 2.63 (m, 1H), 2.50 (q, *J* = 16.1, 2.0 Hz, 1H), 1.80 (br s, 3H), 1.36 ~ 1.16 (m, 4H), 0.83 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 170.16, 168.49, 165.33, 135.32, 132.97, 132.31, 131.32, 129.04, 128.52, 127.52, 124.04, 73.92, 68.87, 63.23, 52.39, 41.92, 33.77, 32.19, 30.10, 25.57, 19.95, 19.59, 17.64; ESI-MS *m/z*: 413 [M + H]⁺。

1.3.6 1-*O*-乙酰基-6 α -*O*-对氯基苯甲酰基大花旋覆花内酯(化合物6)的合成 称取 4-氯基甲酸 11.8 mg (0.08 mmol), EDCI 15.3 mg (0.08 mmol) 和 DMAP 9.78 mg (0.08 mmol) 于反应瓶中,加入无水二氯甲烷 1 mL 使其溶解,室温搅拌 30 min 后向反应瓶中加入 ABL 30.8 mg (0.1 mmol),室温搅

拌过夜。TLC 监测反应完全,向反应液中加入饱和食盐水淬灭反应,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,8:1,4:1,2:1,1:1,每个梯度洗脱3个柱体积)纯化得无色油状物17.5 mg,产率50.2%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.08 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.76 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.45 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.04 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.47 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.00 ~ 4.96 (m, 1H), 4.02 ~ 3.90 (m, 2H), 3.65 ~ 3.62 (m, 1H), 2.81 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 2.77 ~ 2.72 (m, 1H), 2.60 (q, J = 16.1, 2.0 Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.88 (br. s, 3H), 1.47 ~ 1.26 (m, 3H), 1.12 ~ 1.04 (m, 1H), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 171.18, 169.27, 164.79, 136.05, 134.67, 133.76, 132.38, 131.88, 130.04, 125.35, 117.80, 116.82, 74.61, 70.80, 64.16, 42.88, 34.75, 33.14, 31.11, 26.55, 20.98, 20.69, 18.70; ESI-MS m/z : 438 [M + H]⁺。

1.3.7 1-O-乙酰基-6 α -O-对氯苯甲酰基大花旋覆花内酯(化合物7)的合成 称取4-氯苯甲酸12.5 mg(0.08 mmol), EDCI 15.3 mg(0.08 mmol)和DMAP 9.78 mg(0.08 mmol)于反应瓶中,加入无水二氯甲烷1 mL使其溶解,室温搅拌30 min后向反应瓶中加入ABL 30.8 mg(0.1 mmol),室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全,向反应液中加入饱和食盐水淬灭反应,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,10:1,8:1,4:1,2:1,每个梯度洗脱3个柱体积)纯化得无色油状物20.3 mg,产率56.8%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 7.91 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.43 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.43 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.44 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.99 ~ 4.96 (m, 1H), 4.01 ~ 3.90 (m, 2H), 3.64 ~ 3.62 (m, 1H), 2.80 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 2.75 ~ 2.70 (m, 1H), 2.57 (q, J = 16.1, 2.0 Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.87 (br. s, 3H), 1.46 ~ 1.26 (m, 3H), 1.12 ~ 1.04 (m, 1H), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 171.20, 169.44, 165.54, 139.90, 136.21, 134.21, 132.14, 130.91, 128.92, 128.42, 125.18, 74.82, 70.16, 64.22, 42.89, 34.75, 33.16, 31.09, 26.56, 20.99, 20.65, 18.67; ESI-MS m/z : 447 [M + H]⁺。

1.3.8 1-O-乙酰基-6 α -O-(3,4-二氯苯甲酰基)大花旋覆花内酯(化合物8)的合成 称取3,4-二氯苯甲酸15.2 mg(0.08 mmol), EDCI 15.3 mg(0.08 mmol)和DMAP 9.78 mg(0.08 mmol)于反应瓶中,加入无水二氯甲烷1 mL使其溶解,室温搅拌30 min后向反应瓶中加入ABL 30.8 mg(0.1 mmol),室温搅拌过夜。TLC 监测反应完全,向反应液中加入饱和食盐水淬灭反应,二氯甲烷萃取,收集有机相,干燥,过滤,浓缩得粗品。粗品经硅胶柱色谱纯化(石油醚-乙酸乙酯,10:1,8:1,4:1,2:1,每个梯度洗脱3个柱体积)得无色油状物21.9 mg,产率57.1%。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.02 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.80 (q, J = 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.43 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.03 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 5.44 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.00 ~ 4.96 (m, 1H), 4.01 ~ 3.90 (m, 2H), 3.63 ~ 3.60 (m, 1H), 2.79 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 2.76 ~ 2.71 (m, 1H), 2.59 (q, J = 16.1, 2.0 Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.88 (br. s, 3H), 1.46 ~ 1.26 (m, 3H), 1.12 ~ 1.04 (m, 1H), 0.88 (d, J = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 171.18, 169.32, 164.57, 138.10, 136.12, 134.55, 133.17, 131.92, 131.35, 130.73, 129.80, 128.60, 74.70, 70.58, 64.19, 42.90, 34.76, 33.14, 31.12, 26.55, 20.98, 20.70, 18.67; ESI-MS m/z : 481 [M + H]⁺。

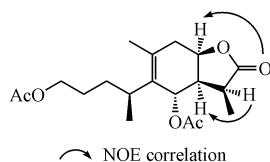
1.4 抑制LPS诱导的NO生成活性测试

利用MTT法测试各化合物对巨噬细胞RAW264.7的细胞毒作用,确定非细胞毒浓度。利用Griess法测定RAW264.7细胞NO的释放量,在非细胞毒浓度下检测各化合物对NO释放的抑制作用^[4]。以L-N6-(1-iminoethyl)lysine(L-NIL)dihydrochloride(诱导型一氧化氮合酶特异性抑制剂)作为阳性对照。以半数抑制浓度(IC_{50})评价测试化合物对LPS诱导的RAW264.7细胞NO生成的抑制作用。

2 结果与讨论

文献[6]报道了ABL的6位立体构型与比旋光度的关系,并通过单晶衍射技术确定了4S,6S-ABL的立体构型,其比旋光度为+103.50°(c =0.52 in CDCl₃)。本研究分离得到的ABL比旋光度为+107.20°(c =0.50 in CDCl₃)。Merten等^[7]

通过不对称全合成策略制备了4S,6S-OABL通过单晶衍射技术确定了立体构型,其比旋光度为-38.40($c=0.50$ in CHCl_3);另有文献[8]报道了4S,6R-OABL的比旋光度为+37.50°($c=0.17$ in CHCl_3)。本研究合成的OABL的比旋光度为-39.10°($c=0.50$ in CHCl_3)。通过与文献报道的ABL和OABL的6位异构体的比旋光度相比,本研究分离得到的ABL的立体构型为(4S,6S),OABL的立体构型也为(4S,6S),乙酰化反应并未使得ABL的6位手性碳发生构型变化。OABL经硼氢化钠还原后得到化合物1,该反应并不影响6位碳原子手性。另有文献[9]报道含有7 α -H的倍半萜内酯环端烯经硼氢化钠还原后通常得到11 β -甲基衍生物,这主要和六元环对11位造成的空间位阻,使得硼氢化钠从小位阻方向进攻内酯环最终得到11 β -甲基衍生物。本研究利用核磁共振光谱技术对化合物1进行了二维NOE实验,实验结果如路线2所示,11-H与7 α -H和8 α -H存在NOE相关,这也与文献报道的类似结构相一致。基于核磁共振光谱NOE实验与硼氢化钠还原反应机制,本研究确定了化合物1的立体构型。



Scheme 2 NOE correlation of 1,6-O,O-diacetyl-11 β -methylbritannilactone (compound 1)

细胞毒实验结果表明,化合物2~4在2~10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下显示出细胞毒作用,因此未对这3个化合物进行NO抑制活性评价。化合物5~7的活性较OABL明显提高(表1),OABL的双键还原产物(化合物1)未显示出明显的NO抑制活性。综合分析活性结果可知,OABL的不饱和内酯是维持活性的必需基团,该基团作为迈克尔加成反应受体可能与蛋白质中的巯基发生反应,这可能是OABL及其衍生物发挥生物活性的关键机制之一。当OABL的6位引入柔性亲脂基团时带来细胞毒作用;引入芳香亲脂基团时活性得到增强。由此可见,化合物的脂溶性是影响其生物活性与细胞毒性的重要因素。

Table 1 Inhibition of OABL derivatives on NO production in LPS-induced RAW264.7 cells

Compound	IC ₅₀ /($\mu\text{mol/L}$)	Compound	IC ₅₀ /($\mu\text{mol/L}$)
1	>25	6	1.15
2	Toxicity	7	1.62
3	Toxicity	8	1.98
4	Toxicity	OABL	13.76
5	1.5	L-NIL	15.99

OABL: O-diacetylbritannilactone; L-NIL: L-N6-(1-iminoethyl)lysine

3 结 论

本研究以1-O-乙酰基大花旋覆花内酯为原料,制备了1,6-O,O-二酰基大花旋覆花内酯衍生物,并评价各衍生物对LPS诱导的巨噬细胞RAW264.7一氧化氮生成的抑制作用。研究表明,1,6-O,O-二酰基大花旋覆花内酯衍生物的6位引入芳香亲脂取代基后活性显著提高。

参 考 文 献

- [1] National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of People's Republic of China [M]. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 2015:325~326.
- [2] Wang GW, Qin JJ, Cheng XR, et al. Inula sesquiterpenoids: structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2014, 23(3):317~345.
- [3] Zhu H, Tang SA, Qin N, et al. Anti-inflammatory constituents from *Inula japonica* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, 39(1):83~88.
- [4] Tang SA, Zhu H, Qin N, et al. Anti-inflammatory terpenes from flowers of *Inula japonica* [J]. *Planta Med*, 2014, 80(7):583~589.
- [5] Han YW, Zhang YY, Lai XY, et al. Advances of regulatory effects of traditional Chinese medicine on NOS/NO system [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2017, 48(1):8~15.
- [6] Dong S, Tang JJ, Zhang CC, et al. Semisynthesis and *in vitro* cytotoxic evaluation of new analogues of 1-O-acetylbritannilactone, a sesquiterpene from *Inula britannica* [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 80:71~82.
- [7] Merten J, Wang Y, Krause T, et al. Total synthesis of the cytotoxic 1, 10-seco-eudesmanolides britannilactone and 1, 6-O, O-diacetylbritannilactone [J]. *Chemistry*, 2011, 17(12):3332~3334.
- [8] Zhou BN, Bai NS, Lin LZ, et al. Sesquiterpene lactones from *Inula britannica* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(1):249~252.
- [9] Zdero C, Bohlmann F, Müller M. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Eriocaulaceae* species [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(10):2763~2775.