

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

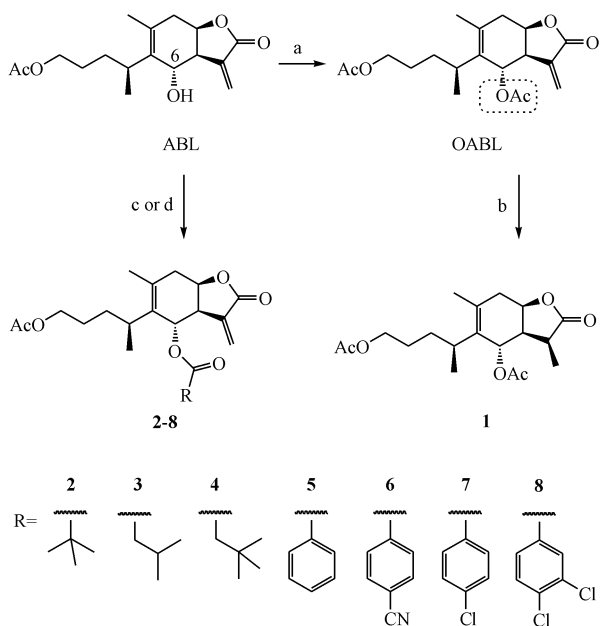
Abstract Eight 1,6-*O*,*O*-diacylbritannilactone (OABL) derivatives (compounds **1-8**) were synthesized by esterification or reduction of 1-*O*-diacylbritannilactone (ABL) isolated from *Inula japonica*. All derivatives were evaluated for their anti-inflammation activities through the determination 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、呕吐噎气、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-diacetylbritannilactone (ABL) derivatives. Reagent and condition: (a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridine}$; (b) $\text{NaBH}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (c) $\text{Acyl chloride}/\text{TEA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; (d): $\text{EDCl}/\text{DMAP}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

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(上海同田生化有效公司)。

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-11 β -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 $\mu\text{mol/L}$ 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-6 α -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-6α-*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-6α-*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-6α-*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-6α-*O*-对氰基苯甲酰基大花旋覆花内酯(化合物 6)的合成 称取 4-氰基甲酸 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]⁺。

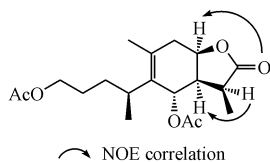
1.4 抑制 LPS 诱导的 NO 生成活性测试

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(IC₅₀)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 4*S*,6*S*-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 4*S*,6*S*-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 4*S*,6*R*-OABL 的比旋光度为 $+37.50^\circ$ ($c=0.17$ 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 (4*S*,6*S*), OABL 的立体构型也为 (4*S*,6*S*), 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 *Eriocephalus* species [J]. *Phytochemistry*, 1987, **26**(10): 2763-2775.