

· 论著 ·

## 1 位芳基取代的青藤碱衍生物的合成和抗炎活性研究

李修政<sup>1</sup>, 赵庆杰<sup>2</sup>, 董家潇<sup>1</sup>, 姜云云<sup>3</sup>, 叶光明<sup>1</sup> (1. 安徽医科大学解放军 98 临床学院, 浙江 湖州 230032; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 3. 解放军 101 医院, 江苏 无锡 214044)

**[摘要]** 目的 进行 1 位取代芳基的青藤碱衍生物的合成及体外抗炎活性研究。方法 以青藤碱为先导化合物, 首先 1 位溴取代反应, 然后通过 Suzuki 偶联反应对 A 环 1 位进行修饰, 制得一系列取代芳基的青藤碱衍生物, 所有化合物均经 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR、MS 结构确认; 采用报告基因法研究青藤碱衍生物对 NF- $\kappa$ B 转录活性的影响。结果 Suzuki 偶联反应得到的一系列化合物活性均优于对照药青藤碱。结论 筛选到的 **4f** 和 **4g** 可作为候选药物进行深入研究, 对研发治疗风湿性关节炎药物具有重要意义。

**[关键词]** 青藤碱; 结构修饰; 衍生物

**[中图分类号]** R914.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)05-0417-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.007

## Synthesis and anti-inflammatory activity of position 1 substituted sinomenine derivatives

LI Xiuzheng<sup>1</sup>, ZHAO Qingjie<sup>2</sup>, DONG Jiaxiao<sup>1</sup>, JIANG Yunyun<sup>3</sup>, YE Guangming<sup>3</sup> (1. Huzhou Clinical College of Anhui Medical University, No.98 Hospital of PLA, Huzhou 230032, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. No.101 Hospital of PLA, Wuxi 214044, China)

**[Abstract]** **Objective** To synthesize position 1 substituted sinomenine derivatives and study their anti-inflammatory activity *in vitro*. **Methods** A series of substituted sinomenine derivatives were prepared by bromination of sinomenine and Suzuki coupling reaction on the A ring 1. All compounds were confirmed by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and MS. The reporter gene method was used to study the effect of sinomenine derivatives on NF- $\kappa$ B transcriptional activity. **Results** All the compounds obtained with Suzuki coupling reaction exhibited better anti-inflammatory activity than the parent compound, sinomenine. **Conclusion** Two top performers, **4f** and **4g**, can be used as drug candidates. A further study on those compounds will have significant implication for the development of rheumatoid arthritis drugs.

**[Key words]** sinomenine; structural modification; derivatives

风湿性关节炎(RA)是一种慢性自身免疫性疾病,其特征在于细胞因子介导的关节滑膜的炎症和软骨、骨骼的破坏,多发于中老年人。据有关报告显示,RA在全球的患病率为1%~6%<sup>[1]</sup>。青藤碱(sinomenine)又名(9 $\alpha$ ,13 $\alpha$ ,14 $\alpha$ )-7,8-二脱氢-4-羟基-3,7-二甲氧基-17-甲基吗啡喃-6-酮,是一种经济有效的吗啡烷类生物碱。目前主要被用作免疫调节和治疗风湿性及类风湿性关节炎,已在我国和其他亚洲国家沿用千年。大量研究证明,青藤碱具有显著的抗炎活性<sup>[2]</sup>以及镇痛、免疫和抗心律失常<sup>[3,4]</sup>等

药理作用。近年来,随着研究的不断深入,人们还发现其具有抗氧化、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、戒毒<sup>[6]</sup>等作用,青藤碱的缺点在于生物半衰期较短、药用剂量大、起效缓慢<sup>[7,8]</sup>等,所以至今仅有少数药品上市,如:正清风痛宁缓释片<sup>[9]</sup>。为了改善青藤碱生物活性,科研人员尝试了对其天然骨架做多种修饰,并且在过去几十年中已经开发出相当多的衍生物。其中大多数是利用简单的天然存在的转化功能,包括苯酚官能团的乙酰化和醚化<sup>[1]</sup>、羰基的还原<sup>[10]</sup>,以及将杂环引入到C环中<sup>[11,12]</sup>。通过一系列的化学修饰已经取得了初步成功,但距离满足临床需求还有较大差距。

本课题通过计算机辅助系统模拟青藤碱与蛋白p50的活性腔的结合情况,发现青藤碱与NF- $\kappa$ B通路家族蛋白活性腔周边氨基酸的结合点为青藤碱的苯环、羰基、胺基等。笔者通过以上模拟的结合位

**[作者简介]** 李修政,硕士研究生,研究方向:药物化学,Email:1826881912@qq.com

**[通讯作者]** 叶光明,副主任药师,副教授,研究方向:药物化学, Tel:18921150010, Email:shygm98@163.com

点,以青藤碱母核为先导化合物,使 A 环 1 位与不同 R 基取代的硼酸发生 Suzuki 偶联反应,合成一系列化合物。由于分子量较小,引入苯环可能增加其脂溶性,且 C-C 键不易发生副反应,较为稳定,药物进入胃肠道内不易被消化液降解,利于药物在体内的吸收。在苯环的基础上加入药效基团,可以达到增强活性的目的。在后续的实验,发现青藤碱与溴代肉桂酸进行酯化反应得到化合物 C-1-22,通过生物活性实验发现其有较好的抗炎活性,值得深入研究,本研究探讨该类化合物抗炎活性与侧链取代基之间的构效关系。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

DFY-5L/40 低温恒温反应浴(巩义市安宇仪器有限公司),2XZ-2 型旋片式真空泵(上海维奇真空泵厂有限公司),98-2 磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司),R-3 旋转蒸发器(BUCHI);ME203/02 电子天平(上海阿达玛斯有限公司),KY2360 型精密电子天平(上海良平仪器有限公司);85-2 型磁力恒温搅拌器(上海志成电器有限公司);分析液相色谱(SHIMADZU CORPORATION,RESERVOIR TRAY L20304301732 SL);OSB-2100 水浴锅(上海豫康科教仪器设备有限公司);半制备液相色谱(SHIMADZU USA MANUFACTURING INC,SPD-10R VP,C2099 42 71354 US);DLSB-H 低温冷却循环泵(-40~-70 °C,上海豫康科教仪器设备有限公司);LABCONCO 冷冻干燥器(上海实维实验仪器技术有限公司);超声波清洗器(上海超声波仪器厂,AS30600BDT);AC-

P600 型核磁共振仪(Bruker Spectmspin),ZF-I 型三用紫外分析仪,循环水式多用真空泵 SHZ-III A(上海豫康科教仪器设备有限公司)。

### 1.2 材料

盐酸青藤碱(陕西海强植物化工有限公司,批号:20140926),无水  $K_2CO_3$ (AR,上海沪上试剂有限公司,批号:20131206),薄层层析硅胶(化学纯,探索平台),薄层层析硅胶板(烟台新诺化工有限公司),二氯甲烷(上海沃化化工有限公司,批号:20170105),甲苯(国药集团化学试剂有限公司,批号:10022818),四三苯基磷钼钨(damas-beta),取代苯硼酸(damas-beta,P1076906),甲醇(AR,国药集团化学试剂有限公司,批号:20151225),乙醇,石油醚(AR,GENERAL-REAGENT,批号:1177673),乙酸乙酯(AR,上海沃化化工有限公司)

## 2 目标化合物的合成

合成路线如图 1 所示。

### 2.1 中间体 2 的制备

取盐酸青藤碱 10 mmol(3.3 g)置于 250 ml 分液漏斗中,加入 60 ml 二氯甲烷(DCM)使之溶解,然后加入氨水 40 ml,反复萃取 3 次,将有机相合并、干燥、浓缩,得到青藤碱中间体 2,产率为 97%。

### 2.2 关键中间体 3 的制备

将青藤碱(990 mg,3 mmol)和 N-溴代丁二酰亚胺(1.65 mmol)加入到 20 ml 氯仿中。所得混合物在室温下搅拌 2~4 h,然后再加入 1.65 mmol 的 N-溴代丁二酰亚胺。将反应液再搅拌 6 h,然后加入 20 ml 水。水层用氯仿(20 ml×3)萃取,用盐水(20 ml)洗涤,将有机层合并,进一步通过无水硫酸

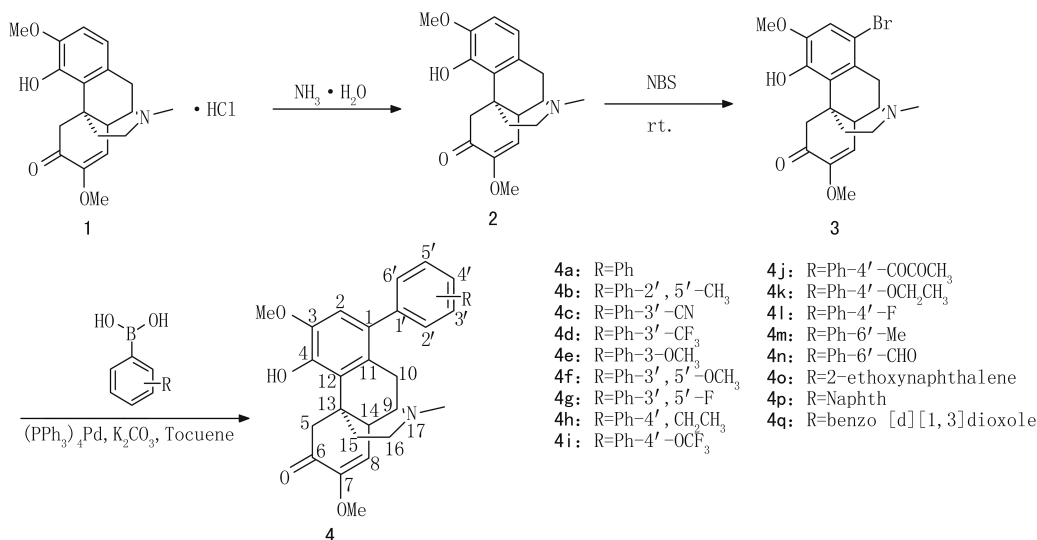


图 1 目标化合物的合成路线

钠干燥,并真空浓缩。将褐红色的残余物溶于DCM中并通过硅胶柱纯化,用二氯甲烷-甲醇(30:1)作为洗脱剂,得到关键中间体**3**,为深黄色粉末,产率为60%<sup>[13]</sup>。

### 2.3 目标化合物**4a~4q**的合成

1-苯乙醚青藤碱(**4l**)的制备:称取溴代青藤碱200 mg(0.5 mmol)和四三苯基磷钼 58 mg(0.05 mmol)溶于甲苯(14 ml)中,然后加入到4-乙氧基苯硼酸99.6 mg(0.6 mmol)的乙醇(12 ml)溶液中,然后加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 150 mg(1.1 mmol)回流20 h,氮气保护。加入饱和NaHCO<sub>3</sub>,DCM萃取,有机层用无水硫酸钠干燥,减压浓缩后通过硅胶柱层析,洗脱剂二氯甲烷-甲醇(50:1),得淡黄色固体

209 mg,产率为93.1%。

目标化合物**4a~4k,4m~4q**按同法制备。最终合成17个目标化合物(该合成方法不限于上述17个化合物),化学结构式见图2,经光谱确认结构,收率、MS和<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR数据见表1。

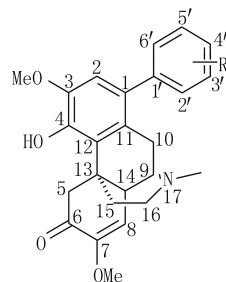


图2 目标产物的结构通式

表1 目标化合物**4a~4q**的收率、MS和<sup>1</sup>H-NMR数据

化合物	收率 (%)	LC-MS (M+H <sup>+</sup> )	<sup>1</sup> H-NMR(CDCl <sub>3</sub> , TMS)δ
<b>4a</b>	62.2	406.67	300 MHz, 9.58(s, 1H), 7.42-7.38(m, 3H), 7.16(dd, J=7.9, 1.5 Hz, 2H), 6.60(s, 1H), 5.45(d, J=1.7 Hz, 1H), 4.43(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.80(s, 3H), 3.54(s, 3H), 3.46(dd, J=9.0, 6.0 Hz, 2H), 3.05-2.85(m, 1H), 2.72(d, J=3.4 Hz, 2H), 2.56(d, J=15.6 Hz, 1H), 2.49(s, 3H), 2.34(td, J=11.9, 3.8 Hz, 1H), 2.18(m, J=24.7, 16.8, 8.7 Hz, 2H)
<b>4b</b>	65.0	434.64	600 MHz, 13.24(s, 1H), 7.19(dd, J=27.4, 7.8 Hz, 1H), 7.13(d, J=7.7 Hz, 1H), 6.81(d, J=73.2 Hz, 1H), 6.55(s, 1H), 5.35(s, 1H), 4.44(dd, J=15.6, 7.3 Hz, 1H), 3.81(d, J=4.7 Hz, 3H), 3.54(s, 1H), 3.50(s, 3H), 3.35(d, J=9.2 Hz, 1H), 2.76(dd, J=19.6, 5.7 Hz, 1H), 2.69(d, J=8.5 Hz, 3H), 2.64-2.57(m, 3H), 2.45(d, J=19.6 Hz, 1H), 2.35(d, J=12.3 Hz, 3H), 2.31-2.25(m, 2H), 2.22(d, J=14.8 Hz, 1H), 2.03(s, 1H), 1.87(s, 2H)
<b>4c</b>	66.0	431.72	400 MHz, 10.59(s, 1H), 7.66(d, J=7.7 Hz, 1H), 7.50-7.55(m, J=15.8, 8.1 Hz, 2H), 7.43-7.45(d, J=7.7 Hz, 1H), 6.52(s, 1H), 5.46(d, J=1.5 Hz, 1H), 4.42(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.82(s, 3H), 3.56(s, 3H), 3.20(d, J=32.0 Hz, 3H), 2.71-2.62(m, 1H), 2.59-2.49(m, 2H), 2.35(s, 3H), 2.19-2.08(m, 1H), 2.07-1.98(m, 2H)
<b>4d</b>	87.3	474.78	600 MHz, 12.85(s, 1H), 7.28-7.26(m, 2H), 7.06(d, J=7.9 Hz, 2H), 6.64(s, 1H), 5.40(s, 1H), 4.43-4.45(m, J=44.3, 15.6 Hz, 1H), 3.88(s, 1H), 3.82(s, 3H), 3.55(s, 3H), 3.46(s, 1H), 3.34(d, J=11.4 Hz, 1H), 2.98-3.02(m, J=19.5, 5.6 Hz, 1H), 2.75(d, J=21.3 Hz, 1H), 2.70(dd, J=13.0, 5.3 Hz, 2H), 2.68(s, 3H), 2.56(t, J=15.8 Hz, 2H), 2.25-2.21(m, 2H), 1.31-1.26(m, 3H)
<b>4e</b>	73.9	436.70	400 MHz, 12.95(s, 1H), 7.36(t, J=7.9 Hz, 1H), 6.93(dd, J=8.3, 2.2 Hz, 1H), 6.74-6.70(m, 2H), 6.65(s, 1H), 5.44(s, 1H), 4.44(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.89(s, 1H), 3.84(s, 3H), 3.81(s, 3H), 3.55(s, 3H), 3.48(s, 1H), 3.33(d, J=11.7 Hz, 1H), 3.03(dd, J=19.6, 5.6 Hz, 1H), 2.77(d, J=19.6 Hz, 1H), 2.67(d, J=19.1 Hz, 4H), 2.55(d, J=13.5 Hz, 2H), 2.25-2.19(m, 2H)
<b>4f</b>	72.4	466.69	300 MHz, 9.59(s, 1H), 6.59(s, 1H), 6.46(t, J=2.3 Hz, 1H), 6.32(d, J=2.3 Hz, 2H), 5.44(d, J=2.0 Hz, 1H), 4.42(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.81(d, J=4.5 Hz, 9H), 3.50(d, J=15.1 Hz, 3H), 3.28-3.20(m, 2H), 2.77(t, J=17.2 Hz, 2H), 2.63-2.57(m, 1H), 2.53(d, J=15.5 Hz, 1H), 2.40(s, 3H), 2.26-2.16(m, 1H), 2.07-2.02(m, 2H)
<b>4g</b>	63.0	442.70	400 MHz, 13.15(s, 1H), 6.86(t, J=8.9 Hz, 1H), 6.69(d, J=5.6 Hz, 2H), 6.62(s, 1H), 5.36(d, J=11.5 Hz, 1H), 4.43(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.85(s, 3H), 3.56(d, J=9.8 Hz, 3H), 3.49(s, 1H), 3.36(d, J=11.7 Hz, 1H), 3.00(dd, J=19.5, 5.7 Hz, 1H), 2.70(d, 3H), 2.61(d, J=15.6 Hz, 1H), 2.50(d, J=12.9 Hz, 1H), 2.27(s, 2H), 1.27(s, 2H)
<b>4h</b>	85.5	434.65	600 MHz, 12.85(s, 1H), 7.28-7.26(m, 2H), 7.06(d, J=7.9 Hz, 2H), 6.64(s, 1H), 5.40(s, 1H), 4.43-4.45(m, J=44.3, 15.6 Hz, 1H), 3.88(s, 1H), 3.82(s, 3H), 3.55(s, 3H), 3.46(s, 1H), 3.34(d, J=11.4 Hz, 1H), 2.98-3.02(m, J=19.5, 5.6 Hz, 1H), 2.75(d, J=21.3 Hz, 1H), 2.70(dd, J=13.0, 5.3 Hz, 2H), 2.68(s, 3H), 2.56(t, J=15.8 Hz, 2H), 2.25-2.21(m, 2H), 1.31-1.26(m, 3H)
<b>4i</b>	81.1	490.53	400 MHz, 10.57(s, 1H), 7.28-7.25(m, 2H), 7.20(d, J=8.5 Hz, 1H), 6.54(s, 1H), 5.46(s, 1H), 4.42(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.81(s, 3H), 3.54(s, 3H), 3.21(d, J=36.2 Hz, 2H), 2.64-2.69(m, J=22.5, 16.1 Hz, 2H), 2.55-2.45(m, 2H), 2.37(s, 3H), 2.17-2.13(m, 1H), 2.0-1.92(m, 2H)
<b>4j</b>	56.2	464.24	400 MHz, 12.66(s, 1H), 8.12(d, J=8.1 Hz, 2H), 7.25(d, J=8.1 Hz, 2H), 6.65(s, 1H), 5.44(s, 1H), 4.46-4.39(m, 3H), 3.84(s, 3H), 3.54(s, 3H), 3.47(s, 1H), 3.35(d, J=12.0 Hz, 1H), 3.03(dd, J=19.5, 5.6 Hz, 1H), 2.67(d, J=7.8 Hz, 3H), 2.57(t, J=12.5 Hz, 2H), 2.29-2.23(m, 2H), 1.42(t, J=7.1 Hz, 3H)
<b>4k</b>	93.1	450.63	400 MHz, 13.10(s, 1H), 7.06(d, J=8.5 Hz, 2H), 6.95(d, J=8.5 Hz, 2H), 6.64(s, 1H), 5.42(s, 1H), 4.44(d, J=15.6 Hz, 1H), 4.06-4.11(m, J=7.0 Hz, 2H), 3.88(s, 1H), 3.82(s, 3H), 3.56(s, 3H), 3.48(s, 1H), 3.32(d, J=11.6 Hz, 1H), 3.00(dd, J=19.5, 5.5 Hz, 1H), 2.74(d, J=19.7 Hz, 1H), 2.67(s, 3H), 2.57(d, J=15.6 Hz, 2H), 2.22(dd, J=20.2, 8.4 Hz, 2H), 1.46(t, J=7.0 Hz, 3H)

(续表 1)

化合物	收率 (%)	LC-MS (M+H <sup>+</sup> )	<sup>1</sup> H-NMR(CDCl <sub>3</sub> , TMS)δ
4l	77.3	424.54	400 MHz, 13.39(s, 1H), 7.16-7.09(m, 3H), 6.62(s, 1H), 6.20(s, 1H), 5.36(s, 1H), 4.44(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.86(d, J=12.8 Hz, 3H), 3.56(s, 3H), 3.49(s, 1H), 3.34(d, J=11.7 Hz, 1H), 2.95(dd, J=19.4, 5.7 Hz, 1H), 2.69(d, J=15.6 Hz, 3H), 2.64-2.58(m, 1H), 2.55-2.49(m, 1H), 2.18-2.31(m, J=26.3, 17.8, 9.4 Hz, 2H), 1.86(s, 2H)
4m	76.0	420.59	300 MHz, 9.57(s, 1H), 7.31-7.19(m, 3H), 7.08-6.89(m, 1H), 6.49-6.48(d, 1H), 5.40(dd, J=14.5, 12.4 Hz, 1H), 4.39-4.45(m, J=15.6, 2.3 Hz, 1H), 3.77(d, J=1.8 Hz, 3H), 3.47(d, J=10.2 Hz, 3H), 3.44-3.31(m, 2H), 2.83-2.90(m, J=10.4 Hz, 1H), 2.51-2.60(m, J=17.4, 10.8 Hz, 2H), 2.44(d, J=6.7 Hz, 3H), 2.38-2.27(m, 2H), 2.22-2.08(m, 3H), 1.91(s, 2H)
4n	78.4	434.54	300 MHz, 9.67(d, J=102.1 Hz, 1H), 7.95-8.03(m, J=13.1, 7.7, 1.2 Hz, 1H), 7.72-7.62(m, 1H), 7.57-7.49(m, 1H), 7.33-7.11(m, 1H), 6.54(dd, J=21.1, 15.3 Hz, 1H), 5.40(dd, J=9.5, 1.8 Hz, 1H), 4.41(dd, J=15.6, 9.9 Hz, 1H), 3.80(d, J=10.9 Hz, 3H), 3.52(dd, J=15.3, 10.3 Hz, 3H), 3.25-3.11(m, 2H), 2.71(dd, J=28.1, 11.7 Hz, 1H), 2.43-2.53(m, J=18.2, 14.5, 6.1 Hz, 2H), 2.35-2.20(m, 3H), 2.24-2.13(m, 2H), 2.10-1.96(m, 2H)
4o	48.7	500.70	400 MHz, 12.77(s, 1H), 7.75(d, J=8.3 Hz, 2H), 7.57(s, 1H), 7.27-7.24(m, 1H), 7.20-7.18(m, 2H), 6.65(s, 1H), 5.47(s, 1H), 4.45(d, J=15.5 Hz, 1H), 4.18(q, J=6.9 Hz, 2H), 3.81(s, 3H), 3.56(s, 3H), 3.17(d, J=20.7 Hz, 2H), 2.71(dd, J=26.6, 15.1 Hz, 2H), 2.55(t, J=15.9 Hz, 2H), 2.32(s, 3H), 2.16-2.23(m, J=12.0, 3.4 Hz, 1H), 1.99-2.08(m, J=12.5, 7.9 Hz, 2H), 1.50(t, J=7.0 Hz, 3H)
4p	73.7	456.75	500 MHz, 12.78(s, 1H), 7.96-7.89(m, 2H), 7.58-7.47(m, 2H), 7.41-7.27(m, 2H), 7.18-7.21(m, J=12.4, 5.2 Hz, 1H), 6.66(d, J=4.7 Hz, 1H), 5.36(dd, J=17.0, 2.0 Hz, 1H), 4.48(dd, J=15.5, 5.0 Hz, 1H), 3.80(d, J=4.9 Hz, 3H), 3.57(d, J=29.5 Hz, 3H), 3.35-3.22(m, 2H), 2.85(d, J=12.0 Hz, 1H), 2.58(t, J=9.8 Hz, 1H), 2.44-2.47(m, J=11.3, 3.8 Hz, 1H), 2.40-2.30(m, 3H), 2.25(s, 1H), 2.21-2.13(m, 2H)
4q	93.3	450.72	400 MHz, 10.41(s, 1H), 6.86(d, J=7.9 Hz, 1H), 6.64-6.60(m, 2H), 6.56(s, 1H), 6.01(s, 2H), 5.45(d, J=1.7 Hz, 1H), 4.42(d, J=15.5 Hz, 1H), 3.80(s, 3H), 3.54(s, 3H), 3.31(d, J=29.7 Hz, 2H), 2.77(d, J=14.6 Hz, 1H), 2.71(s, 1H), 2.62(dd, J=18.8, 5.2 Hz, 1H), 2.54(d, J=15.6 Hz, 1H), 2.43(s, 3H), 2.23-2.18(m, 1H), 2.14-2.00(m, 2H)

### 3 药理实验

#### 3.1 实验方法

采用报告基因法研究青藤碱衍生物对 NF-κB 转录活性的影响。

#### 3.2 仪器、试剂及检测方法

##### 3.2.1 仪器和试剂

青藤碱标准品(上海微晶生物试剂有限公司), 小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞(第二军医大学免疫研究所), DMEM 培养基、pGL3.5XκB-Luciferase、pRL-TK-Renilla-Luciferase 质粒、脂多糖 LPS 均购自 Sigma-Aldrich(中国)。

##### 3.2.2 检测方法

将小鼠巨噬 RAW264.7 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔的密度铺 96 孔板, 培养 24 h 后, 将 300 ng pGL3.5XκB-Luciferase 和 30 ng pRL-TK-Renilla-Luciferase 质粒用 25 μl 的 DMEM 培养基稀释。用 25 μl 的 DMEM 稀释转染试剂 LipofectamineTM2000, 轻柔混合并在室温下孵育 5 min, 然后将质粒稀释液与转染试剂稀释液混匀, 并在室温下孵育 20 min; 将每孔细胞用 PBS 清洗, 每孔加入 50 μl 的 DMEM 培养基, 孵箱孵育 2 h 后再将 50 μl 转染试剂和质粒的混合液加入孔内; 将细胞重新放入孵箱中培养 6 h 后, 换完全培养基过夜; 预先加入药物青藤碱及其衍生物 (5、10 μl/ml) 处理 3 h 后, 加入脂多糖 LPS (1 μl/ml) 刺激 6 h, 同时设立空白组和只加入脂多糖

(LPS) 的模型组。在检测前先裂解细胞蛋白, 将 Promrga 公司的检测试剂和底物混匀, 每孔细胞加入 100 μl 检测试剂, 室温孵育 5 min, 然后用荧光素酶检测法 (Luciferase Assay) 进行检测, 记录并分析数据。最后用 TK 报告基因校正, 进行数据处理(表 2)。

表 2 目标化合物初步活性研究

组别	相关活性 (NF-κB/TKFold)
空白组	1.18±0.22
模型组(LPS)	5.18±0.98
青藤碱组	4.41±1.55
化合物 4a	1.08±0.08
化合物 4b	1.39±0.20
化合物 4c	0.86±0.60
化合物 4d	1.23±0.67
化合物 4e	2.13±3.06
化合物 4f	0.59±0.14 *
化合物 4g	0.44±0.38 *
化合物 4h	0.96±0.58
化合物 4i	1.32±0.45
化合物 4j	0.74±0.58
化合物 4k	1.48±0.12
化合物 4l	2.28±0.83
化合物 4m	1.19±2.07
化合物 4n	0.61±0.08
化合物 4o	1.04±0.89
化合物 4p	1.17±0.40
化合物 4q	1.17±0.40
化合物 C-1-22	0.46±0.20

注: “\*”表示活性较好的两组数据

## 4 讨论

初步的体外抗炎活性实验结果表明: 17 个青藤碱衍生物对炎症均有一定的抑制作用, 其活性均优于青藤碱, 化合物 **4f** 和 **4g** 效果最佳, 可作为候选药物, 进一步开展深入研究, 对开发 RA 药物具有重要意义。17 个青藤碱衍生物均引入疏水基团苯环, 并在苯环上引入了新的官能团, 进一步改善了分子的脂溶性, 同时新引入的基团可能成为参与抗炎活性的药效基团, 观察其中 2 个活性最好的化合物, 可以发现均为间位取代产物, 可能间位构象与抗炎作用靶点更容易结合或结合更为稳定, 有利于发挥抗炎作用。化合物 **4f** 的甲氧基与苯环相连为供电子基团, 能改善脂水分配系数、增加脂溶性而有利于药物透膜。化合物 **4g** 的氟取代基为吸电子基, 其基团空间较小, 且易于与靶蛋白形成分子间氢键, 有利于与靶点结合, 由于化合物数量有限, 构效关系的深入探讨有待于进一步的研究。

## 【参考文献】

[1] ZHAO ZJ, ZHAO C, XIAO J, *et al.* Transdermal permeation and anti-inflammation activities of novel sinomenine derivatives[J]. *Molecules*, 2016, 21(11):1520.  
[2] 高晨鑫, 张湛明, 陈继红, 等. 青藤碱对类风湿关节炎因子影响的研究进展[J]. *风湿病与关节炎*, 2017, 6(2):72-75.  
[3] ZHAO XX, PENG C, ZHANG H, *et al.* Sinomenium acutum: A review of chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use[J]. *Pharm Biol*, 2012, 50(8):1053-1061.

[4] 吴娟, 李燕红. 正清风痛宁药物治疗的副作用及防治[J]. *中国医药导刊*, 2012, 14(2):250-252.  
[5] 游素芬, 戈萌. 青藤碱的医药新用途: CN1679574 [P]. 2005-10-12.  
[6] CHEN C, XU HQ, ZHONG J. New use of sinomenine: 1149456 [P]. 1997-05-14.  
[7] 秦峰, 蔡辉. 青藤碱药理作用研究进展[J]. *现代中药研究与实践*, 2016(4):81-86.  
[8] HE L, DUAN H, LI X, *et al.* Sinomenine down-regulates TLR4/TRAF6 expression and attenuates lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis and osteolysis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 779:66-79.  
[9] HUANG L, LI T, ZHOU H, *et al.* Sinomenine potentiates degranulation of RBL-2H3 basophils via up-regulation of phospholipase A2 phosphorylation by Annexin A1 cleavage and ERK phosphorylation without influencing on calcium mobilization[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(2):945-951.  
[10] LOU YT, ZHOU HB, ZOU J, *et al.* Modification of poorly bioactive sinomenine into more potent immunosuppressive agents by embedding of drug-like fragments[J]. *Tetrahedron Lett*, 2010, 51(3):485-488.  
[11] 姚祝军, 周海滨. C 环连接有吡嗪环的青藤碱衍生物、合成方法及其用途: 1687065 A [P]. 2005-10-26.  
[12] 姚祝军, 周海滨. C 环连接有五元杂环的青藤碱衍生物和合成方法: 1687070 A [P]. 2007-10-26.  
[13] TANG J, ZHANG R, XU XQ, *et al.* Synthesis, characterization, and NF-kappa B pathway inhibition of 1-halogenated sinomenine derivatives [J]. *Chem Nat Comp*, 2013, 48(6):1031-1034.

[收稿日期] 2018-01-26 [修回日期] 2018-05-03  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 402 页)

[7] KONG D, YAMORI T, KOBAYASHI M, *et al.* Antiproliferative and antiangiogenic activities of smenospongine, a marine sponge sesquiterpene aminoquinone [J]. *Mar Drugs*, 2011, 9(2):154-161.  
[8] SMITH RA, COKKINIDES V, BROOKS D, *et al.* Cancer screening in the United States, 2010: a review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening[J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(2):99-119.  
[9] QUEIROZ EA, PUUKILA S, EICHLER R, *et al.* Metformin induces apoptosis and cell cycle arrest mediated by oxidative stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 breast cancer cells[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(5):e98207.  
[10] KONDRACKI ML, GUYOT M. Smenospongine: a cytotoxic and antimicrobial aminoquinone isolated from *ja:math sp*[J]. *Tetrahedron Letters*, 1987, 28(47):5815-5818.  
[11] LOPEZ J, TAIT SW. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within[J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(6):957-962.  
[12] HUANG HL, CHAO MW, LI YC, *et al.* MPT0G066, a novel anti-mitotic drug, induces JNK-independent mitotic ar-

rest, JNK-mediated apoptosis, and potentiates antineoplastic effect of cisplatin in ovarian cancer [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:31664.  
[13] ROOVERS K, ASSOIAN RK. Integrating the MAP kinase signal into the G1 phase cell cycle machinery [J]. *Bioessays*, 2000, 22(9):818-826.  
[14] ZHANG X, WANG X, WU T, *et al.* Isoliensinine induces apoptosis in triple-negative human breast cancer cells through ROS generation and p38 MAPK/JNK activation[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:12579.  
[15] JUNTILLA MR, LI SP, WESTERMARCK J. Phosphatase-mediated crosstalk between MAPK signaling pathways in the regulation of cell survival [J]. *FASEB J*, 2008, 22(4):954-965.  
[16] SCHROETER H, BOYD CS, AHMED R, *et al.* c-Jun N-terminal kinase (JNK)-mediated modulation of brain mitochondria function: new target proteins for JNK signalling in mitochondrion-dependent apoptosis[J]. *Biochem J*, 2003, 372(Pt 2):359-369.

[收稿日期] 2018-03-28 [修回日期] 2018-05-11  
[本文编辑] 李睿旻