

• 药理与临床 •

姜黄素类似物抑制 ERK/JNK 以及 NF- κ B 信号通路发挥抗炎活性研究

姜程曦^{1,2}, 吴亮^{1#}, 吴洁², 俞志敏^{3*}, 李校堃^{1*}

1. 温州医科大学药学院, 浙江 温州 325035

2. 池州市九华山黄精研究所, 安徽 池州 242800

3. 温州新特医药有限公司, 浙江 温州 325000

摘要: **目的** 研究单羧基姜黄素类似物 **22** 的抗炎活性及机制。**方法** 利用 MTT 实验评价化合物 **22** 的细胞毒性, 采用脂多糖 (LPS) 刺激原代腹膜巨噬细胞为模型, ELISA 和 qRT-PCR 实验检测化合物 **22** 对炎症因子蛋白和基因表达的影响, UV 吸收实验检测化合物的稳定性, 并且用 Western blotting 实验探讨化合物 **22** 的抗炎机制。**结果** 化合物 **22** 作用原代巨噬细胞 24 h 后, 没有产生明显的细胞毒性; 与姜黄素相比, 化合物 **22** 能剂量依赖性地抑制炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-6 (IL-6) 的释放, 并且体外稳定性优于姜黄素; 化合物 **22** 能够显著地抑制 LPS 诱导的炎症基因 IL-1 β 、IL-12、IL-6 和 TNF- α 的表达, 且抗炎机制与抑制 ERK 和 JNK 的磷酸化以及 I κ B 的降解有关。**结论** 姜黄素类似物 **22** 能够通过抑制 ERK 和 JNK 信号通路以及核因子- κ B (NF- κ B) 通路的激活发挥抗炎活性。

关键词: 姜黄素类似物; 姜黄素; 炎症因子; 核因子- κ B; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)16-2871-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.16.016

Curcumin analog exhibited anti-inflammatory activity through inhibiting ERK/JNK and NF- κ B signaling pathway

JIANG Cheng-xi^{1,2}, WU Liang¹, WU Jie², YU Zhi-min³, LI Xiao-kun¹

1. School of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

2. Jiuhua Mountain Research Institute of Polygonatum in Chizhou City, Chizhou 242800, China

3. Wenzhou Xinte Medicine Co., Ltd., Wenzhou 325000, China

Abstract: **Objective** To study the anti-inflammatory activity and mechanism of mono-carbonyl curcumin analog **22**. **Methods** The cell cytotoxicity of compound **22** was detected by MTT assay. LPS activated peritoneal macrophages was used as cell model. The effect of compound **22** on inflammatory cytokines protein and gene expression was detected by ELISA and RT-qPCR, respectively. UV-absorbing assay was used to determine the stability of compound **22**. The anti-inflammatory mechanism of compound **22** was detected by Western blotting assay. **Results** Compound **22** showed no cytotoxicity after incubated cells 24 h. Compared with curcumin, compound **22** dose-dependently inhibited LPS-induced production of inflammatory cytokines TNF- α and IL-6. Compound **22** showed more stability than curcumin *in vitro*. Meanwhile, compound **22** inhibited LPS-induced inflammatory gene IL-1 β , IL-12, IL-6, and TNF- α expression through qRT-PCR assay. Compound **22** inhibited the phosphorylation of ERK/JNK, also reversed the LPS-induced degradation of I κ B. **Conclusion** Compound **22** exhibits its anti-inflammatory activity through inhibiting ERK/JNK signaling pathway, as well as NF- κ B activation.

Key words: curcumin analogs; curcumin; inflammatory cytokines; NF- κ B; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6

炎症是由烧伤、病原体入侵和化学刺激物等作用于机体而引起的复杂的生物学反应, 炎症因子的过度表达往往会导致各种急性或慢性的炎症性疾病^[1-3]。炎症因子的过度表达在多种疾病(如脓毒症、

收稿日期: 2016-04-27

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2011BAI04B04); 浙江省自然科学基金资助项目(LY15H280014); 云南大理药业股份有限公司横向课题(KJHX1603)

作者简介: 姜程曦(1971—), 男, 安徽青阳人, 副研究员, 博士, 研究方向为中药学。Tel: 18969715696 E-mail: jiangchengxi@126.com

*通信作者 李校堃, 男, 陕西富平人, 博士生导师, “长江学者”特聘教授, 研究方向为基因工程蛋白药物的基础研究、工程技术和新药研发、临床应用和转化医学研究。Tel: (0577)86699891 E-mail: xiaokunli@163.net

俞志敏 Tel: 13905777266 E-mail: 2271284276@qq.com

#并列第一作者

溃疡性结肠炎、糖尿病、类风湿性关节炎)的发病过程中起重要作用^[4]。几个比较重要的炎症因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-6 (IL-6) 被认为是治疗上述疾病的重要分子靶点。在盲肠结扎穿孔手术诱导的脓毒症休克模型中,抑制炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的分泌能够缓解大鼠的脓毒性死亡^[5]。在临床上靶向抑制炎症因子 TNF- α 的表达能够缓解类风湿性关节炎^[6]。同时,炎症细胞如肥大细胞、淋巴细胞和巨噬细胞释放的炎症因子被认为是炎症性紊乱的重要介质^[7]。抑制巨噬细胞释放的炎症因子已经成为当前药物发现的焦点,并成为评价药物抗炎活性的一个重要方法。

姜黄素是一种从自然界广泛存在的姜黄的根茎中提取的天然活性酚类化合物,具有抗氧化、抗肿瘤、抗凝、抗炎、抗动脉粥样硬化、调血脂等多种生物学活性^[8]。但是姜黄素由于其结构中的 β -二酮基团导致其存在结构不稳定、生物利用度低和体内代谢快等缺点^[9-10],限制了其在临床中的进一步应用。为了获得结构稳定的姜黄素类似物,国内外学者尝试了多种方法,也得到了多个活性化合物^[11-13]。其中结构稳定的单羰基姜黄素类似物备受广大学者的青睐,Weng 等^[14]合成了一批单羰基姜黄素类似物,它们具有显著的抗肿瘤活性,其中化合物 **22** [(1*E*,4*E*)-1,5-bis[3-methoxy-4-(3-morpholinopropoxy)phenyl] penta-1,4-dien-3-one, 图 1] 表现出显著的抗炎活性。本实验利用脂多糖 (LPS) 刺激巨噬细胞释放炎症因子为细胞模型,探讨化合物 **22** 的抗炎活性,并且探讨其抗炎机制,为炎症类疾病的治疗提供候选化合物。

1 材料

1.1 药品与试剂

RPMI 1640 培养基、FBS (Gibco); 青链霉素

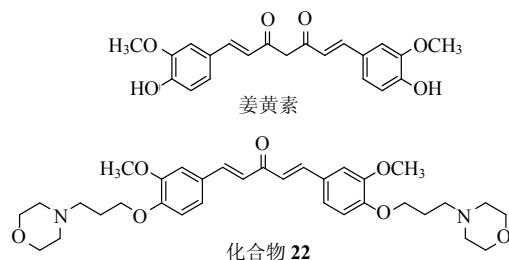


图 1 姜黄素及其单羰基姜黄素类似物 **22** 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of curcumin and its mono-carbonyl analog **22**

混合液 (Hyclone); 可溶性淀粉 (Solarbio); LPS (Sigma); MTT 粉末 (广州斯佳科技有限公司); DMSO (Solarbio); 鼠 IL-6、TNF- α ELISA 试剂盒 (eBioscience); 姜黄素 (国药集团化学试剂有限公司, F20111027, 分析纯); 姜黄素类似物化合物 **22** 由本课题组合成, HPLC 测定质量分数 99.2%; M-MLV 逆转录试剂盒、RT-qPCR 引物 (Invitrogen); SYBR Green PCR Premix HS Taq (Bio-rad); p-ERK、ERK、I κ B α 和 GAPDH (Santa Cruz); p-P38、P38、p-JNK 和 JNK (Cell Signaling Technology)。

1.2 仪器

CO₂ 细胞培养箱、细胞超净台、低温离心机、超低温冰箱 (Thermo); 酶标仪 (Spectra max M2); 电泳仪、曝光仪、RT-qPCR 仪、PCR 仪 (Bio-rad); 正置相差显微镜 (Nikon); 水浴锅 (Sumsuny)。

1.3 动物

ICR 雄性小鼠, 体质量 20~22 g, 购自上海斯莱克实验动物中心, 动物使用许可证号 SYXK (浙) 2009-0129。

2 方法

2.1 姜黄素及化合物 **22** 稳定性考察

用 DMSO 将姜黄素及化合物 **22** 配成 1 mmol/L 的母液, 然后用磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 稀释化合物 **22** 浓度到 20 μ mol/L, 取 100 μ L 加入到比色皿中, 用酶标仪在 25 $^{\circ}$ C、250~600 nm 波长处扫描化合物的吸光度 (*A*) 值, 总共检测 25 min, 每隔 5 min 检测 1 次。

2.2 淀粉肉汤的制备

按照每 100 毫升淀粉肉汤溶液中含有淀粉 0.3 g、氯化钠 1 g、蛋白胨 0.5 g、牛肉膏 6 g 的比例配制淀粉肉汤溶液 50 mL, 在 100 $^{\circ}$ C 沸水中搅拌均匀至溶液清澈透明, 后用 0.22 μ m 的微孔过滤器滤过除去不溶性颗粒。

2.3 原代巨噬细胞的提取

采用 ip 给药的方式, 每只小鼠给予 1.5~2.0 mL 配制好的淀粉肉汤溶液。普通洁净级实验室饲养 3 d 后, 处死并提取腹腔巨噬细胞。将所得腹腔巨噬细胞 1 000 r/min 离心 3 min, 更换 RPMI 1640 完全培养基均匀铺在 6 孔板中, 每孔细胞按照 5×10^5 的密度铺盘。4 h 后去除培养基以无菌的 PBS 冲洗, 去除悬浮的非贴壁细胞, 再次更换为 RPMI 1640 完全培养基, 在 37 $^{\circ}$ C CO₂ 恒温培养箱培养过夜。

2.4 MTT 实验

原代巨噬细胞按照 4 000 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 用含 10% FBS 的 RPMI 1640 完全培养基进行培养, 待细胞贴壁过夜, 换液, 实验设 DMSO 组和化合物 **22** 给药组 (浓度分别为 1.25、2.5、5、10、20 $\mu\text{mol/L}$), 药物作用 24 h 后, 观察细胞存活情况, 并在每孔中加入 25 μL MTT (5 mg/mL), 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中孵育 4 h, 吸取上清, 留下结晶, 用 DMSO 溶解结晶, 室温下避光振荡 10 min 后在酶标仪 490 nm 处测定 A 值。

2.5 酶联免疫吸附 (ELISA) 法测定细胞上清液中炎症因子水平

原代巨噬细胞按照 5.0×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 用含 10% FBS 的 RPMI 1640 完全培养基进行培养, 待细胞贴壁过夜, 换液, 设置阴性对照组 (DMSO)、模型组 (LPS 刺激) 和给药组, 给药组细胞预孵育姜黄素 (10 $\mu\text{mol/L}$) 或不同浓度 (2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$) 的化合物 **22** 30 min 后, 加入 0.5 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激细胞 24 h 后收集细胞培养基和总蛋白。用 ELISA 法检测细胞培养基中的 IL-6 和 TNF- α 的量, 并且用同一培养皿中的总蛋白质量浓度进行定量。

2.6 qRT-PCR 检测原代巨噬细胞中炎症基因表达

原代巨噬细胞按照 5.0×10^5 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 用含 10% FBS 的 RPMI 1640 完全培养基进行培养, 待细胞贴壁过夜, 换液, 设置阴性对照组 (DMSO)、模型组 (LPS 刺激) 和化合物 **22** 给药组, 给药组细胞预孵育 10 $\mu\text{mol/L}$ 的化合物 **22** 30 min 后, 加入 0.5 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激细胞 6 h 后收集细胞总 RNA, 采用 qRT-PCR 实验技术检测细胞中的炎症基因 IL-1 β 、IL-6、IL-12 和 TNF- α 表达, 并且以 β -actin 基因为管家基因。各引物的序列如下: IL-1 β 正向引物 5'-ACTCCTTAGTCCTCGGCCA-3', 反向引物 5'-CCATCAGAGGCAAGGAGGAA-3'; IL-6 正向引物 5'-GAGGATACCACTCCCAACAGACC-3', 反向引物 5'-AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA-3'; IL-12 正向引物 5'-GGAAGCACGGCAGCAGAATA-3', 反向引物 5'-AACTTGAGGGAGAA GTAGGAATGG-3'; TNF- α 正向引物 5'-TGGAACTGGCAGAAGAGG-3', 反向引物 5'-AGACAG AAGAGCGTGGTG-3'; β -actin 正向引物 5'-TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC-3', 反向引物 5'-TAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG-3'。

2.7 Western blotting 法检测原代巨噬细胞中 ERK/JNK 及 NF- κB 信号通路相关蛋白

原代巨噬细胞按照 1.0×10^6 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 用含 10% FBS 的 RPMI 1640 完全培养基进行培养, 待细胞贴壁过夜, 换液, 细胞预孵育不同浓度 (2.5、5、10、20 $\mu\text{mol/L}$) 的化合物 **22** 30 min 后, 加入 0.5 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激细胞 20 min 后收集细胞总蛋白, 采用 Western blotting 实验技术检测细胞中 ERK、P38 和 JNK 的磷酸化以及 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的降解。

2.8 统计学方法

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 GraphPad Prism 6.0 进行作图, 用 Student's t test 进行统计学分析。

3 结果

3.1 化合物 **22** 的稳定性

由于天然产物姜黄素的化学结构不稳定及体内代谢快等缺点限制了其临床应用, 因此在体外条件下研究了姜黄素及化合物 **22** 的稳定性, 实验结果见图 2。从图中可以看出在最大吸收峰处姜黄素在 25 min 内随着时间的增加, A 值逐渐下降, 说明姜黄素不稳定易降解; 化合物 **22** 在 25 min 内最大吸收峰处的 A 值没有发生变化, 这说明化合物 **22** 在检测时间内没有发生降解。表明化合物 **22** 比姜黄素要稳定。

3.2 化合物 **22** 的细胞毒性

在进行细胞实验之前, 首先对化合物的细胞毒性进行检测, 实验结果见图 3, 与对照组 (DMSO)

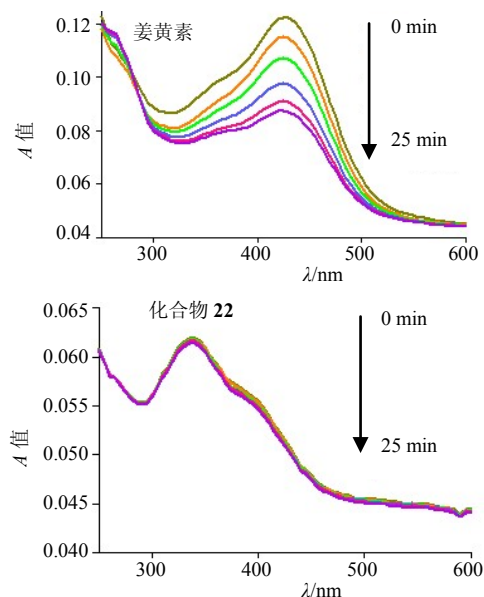
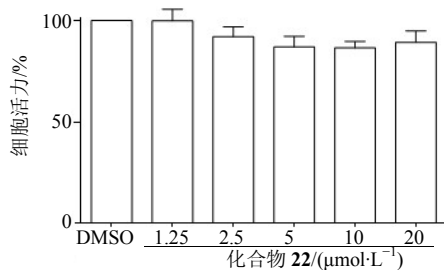
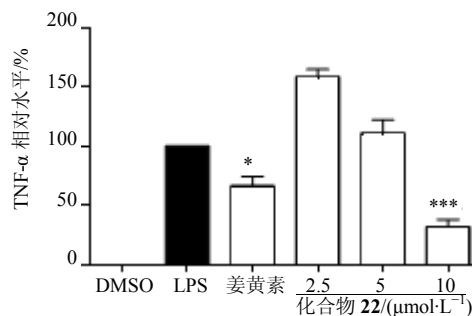
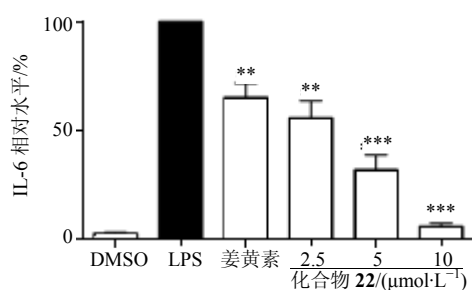


图 2 姜黄素和化合物 **22** 的稳定性

Fig. 2 Stability of curcumin and compound **22**

图 3 化合物 22 的细胞毒性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 3 Cytotoxicity of compound 22 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

与 LPS 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs LPS group, same as below

图 4 化合物 22 对 LPS 诱导的小鼠原代巨噬细胞 IL-6 和 TNF- α 释放的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Effect of compound 22 on LPS-induced production of IL-6 and TNF- α in peritoneal macrophages of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

在较低浓度 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 时就能表现出比先导物姜黄素更强的抑制活性; 对于 LPS 诱导的 TNF- α 释放, 化合物 22 在低浓度时没有表现出抑制 TNF- α 释放的活性, 但是在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时对 TNF- α 释放的抑制活性明显优于先导物姜黄素。表明化合物 22 具有显著的抗炎活性。

3.4 化合物 22 抑制 LPS 诱导的炎症基因表达

除了上述实验中检测的 IL-6 和 TNF- α , 在炎症相关性疾病中炎症因子 IL-1 β 和 IL-12 也同样起重要的作用。从表 1 可以看出, LPS 能显著地诱导炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-12 和 TNF- α 的基因表达, 预孵育化合物 22 以后, 能明显抑制 LPS 诱导的炎症基因表达, 且具有统计学差异 ($P < 0.05, 0.01$), 说明化合物 22 能够抑制 LPS 诱导的炎症基因表达。

3.5 化合物 22 的抗炎机制

LPS 作用于机体后, 与细胞膜上的 TLR4 受体结合, 启动 TLR4 下游的信号通路, 其中 MAPK 和核因子- κB (NF- κB) 是 2 条比较经典的 TLR4 下游信号通路, 调控 LPS 诱导的炎症反应^[15]。因此本实验在细胞层面上研究化合物 22 对 MAPK 信号通路磷酸化和 NF- κB 激活的影响, 实验结果见图 5。从图中可以看出, 加入 LPS 刺激后能明显诱导 MAPK 3 个亚基 ERK、P38 和 JNK 的磷酸化以及 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的降解, 预孵育不同浓度的化合物 22 后, 能剂量依赖性地抑制 ERK 和 JNK 的磷酸化以及 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的降解, 但是对 LPS 诱导的 P38 的磷酸化没有抑制活性。表明化合物 22 是通过影响 ERK、JNK 和 NF- κB 信号通路发挥抗炎活性的。

表 1 化合物 22 对 LPS 诱导的小鼠原代巨噬细胞炎症基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Effect of compound 22 on LPS-induced expression of inflammatory gene in peritoneal macrophages of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	基因相对表达量/%			
	IL-1 β	IL-6	IL-12	TNF- α
DMSO	0.35 $\pm$ 0.30	0.30 $\pm$ 0.10	0.43 $\pm$ 0.40	1.79 $\pm$ 1.30
LPS	100.00	100.00	100.00	100.00
LPS+化合物 22 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	71.80 $\pm$ 5.60*	42.29 $\pm$ 8.40*	53.99 $\pm$ 5.50*	12.62 $\pm$ 5.60**

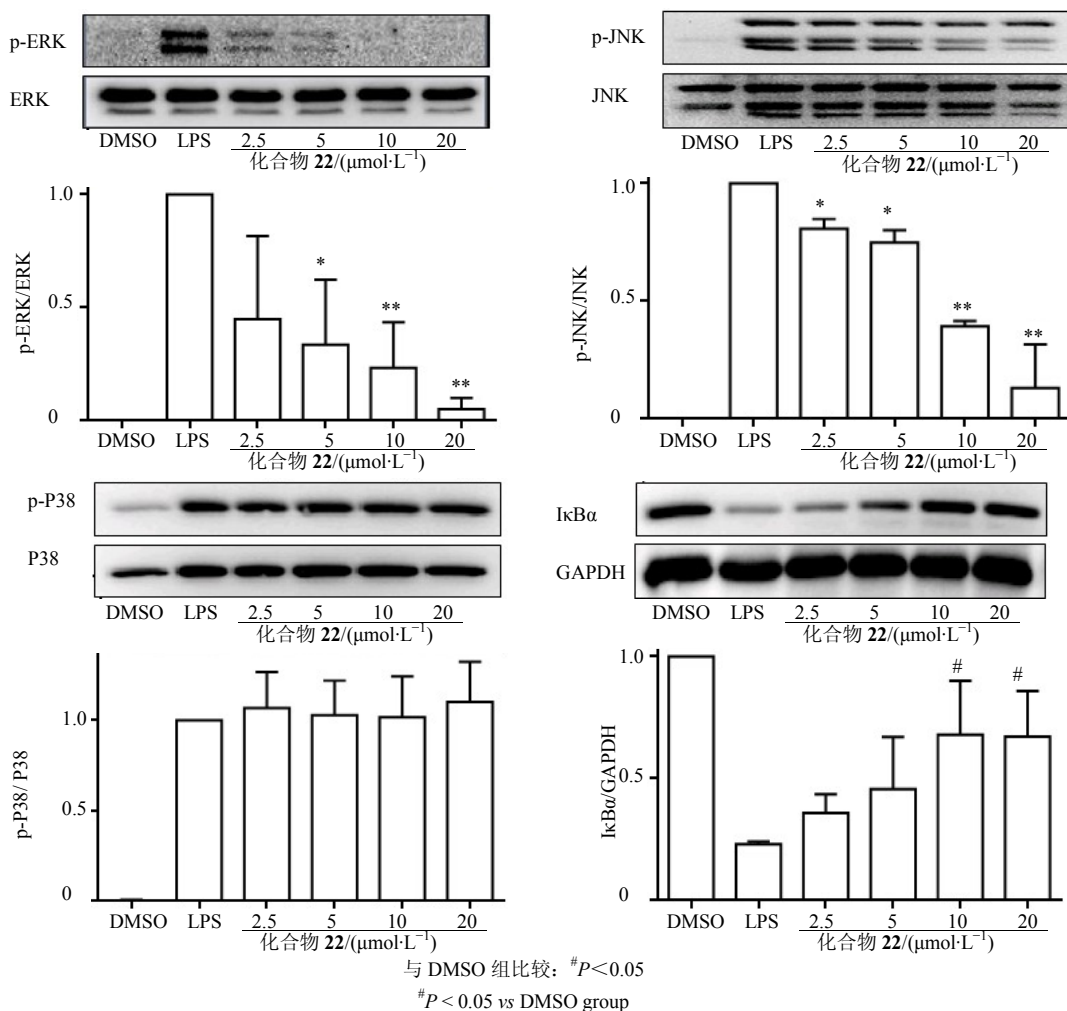


图 5 化合物 22 的抗炎机制 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Anti-inflammatory mechanism of compound 22 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

姜黄素是从姜黄的根茎中提取的天然活性酚类化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种生物学活性, 尤其具有较强的抗炎活性^[8]。报道指出, 在小鼠巨噬细胞中姜黄素能够剂量依赖性地抑制 LPS 诱导的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的释放^[16]。然而姜黄素的代谢缺陷使得国内外学者对其结构进行改造, 得到了很多具有抗炎活性的姜黄素类似物。在所有的姜黄素类似物中, 单羧基姜黄素类似物具有比姜黄素更好的代谢稳定性和生物利用度且无毒副作用^[13,17-20]。本研究中化合物 22 具有比姜黄素更强的稳定性, 且与姜黄素相比在相同浓度下对炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的抑制活性更强。

LPS 是革兰阴性菌细胞壁的主要活性成分, 能够与细胞膜表面的 TLR4 受体结合启动下游的信号通路^[21]。MAPK 信号通路由丝/苏氨酸蛋白激酶组成, 包括 3 个具有不同亚型的独立家庭成员, 它们

分别是 ERK、P38 和 JNK, 当 LPS 刺激细胞后触发 TLR4 信号通路, 进而活化 MAPK 信号通路的 3 个成员, 发生磷酸化作用^[15]。姜黄素能够通过抑制 ERK1/2 和 P38 信号通路降低 A β 诱导的小胶质神经炎症反应^[22]。姜黄素类似物 22 能够显著地抑制 LPS 诱导的 ERK 和 JNK 磷酸化, 但是对 P38 的磷酸化没有抑制活性。表明姜黄素类似物 22 发挥抗炎活性的机制涉及 ERK 和 JNK 信号通路。

NF- κ B 是一种重要的多效性转录因子, 可与多种基因启动子部位的 κ B 位点发生特异性结合而促进其转录表达^[23]。在正常状态下 NF- κ B 与 I κ B 以复合物的形式存在于细胞质中, 当受到外来刺激如病原体 LPS 入侵后, I κ B 发生磷酸化作用, 进而 I κ B 发生泛素化被蛋白酶体降解, 从而释放 NF- κ B 使其由细胞质进入到细胞核内, 与细胞核内的 DNA 结合启动基因的转录诱导炎症介质的释放^[23]。Poylin 等^[24]报道指出姜黄素作为 NF- κ B 的抑制剂能够抑制

脓毒症诱导的肌肉蛋白酶水解。本实验中发现姜黄素类似物 **22** 能够抑制 LPS 诱导的 IkB 蛋白的降解作用,表明姜黄素类似物 **22** 能够通过抑制 LPS 诱导 IkB 降解,阻断 NF- κ B 信号通路发挥抗炎活性。

综上,本实验证实了单羰基姜黄素类似物 **22** 较姜黄素具有更稳定的性质并且能够有效抑制炎症反应。本研究还阐明了化合物 **22** 通过抑制 ERK 和 JNK 磷酸化和阻断 NF- κ B 信号通路从而抑制炎症反应的分子机制。由于化合物 **22** 具有稳定的结构、较高的安全性能,良好的抗炎效果,因此单羰基姜黄素类似物 **22** 具有很好的开发前景。

参考文献

- [1] Bone R C, Balk R A, Cerra F B, *et al.* Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis [J]. *Chest*, 1992, 101(6): 1644-1655.
- [2] Annane D, Bellissant E, Cavaillon J M. Septic shock [J]. *Lancet*, 2005, 365(9453): 63-78.
- [3] Dellinger R P, Levy M M, Carlet J M, *et al.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008 [J]. *Intens Care Med*, 2008, 34(1): 17-60.
- [4] Calixto J B, Campos M M, Otuki M F, *et al.* Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules [J]. *Planta Med*, 2004, 70(2): 93-103.
- [5] Maciel M C, Fialho E M, Guerra R N, *et al.* Tityus serrulatus scorpion venom improves survival and lung inflammation in lethal sepsis induced by CLP in mice [J]. *Toxicon: Offic J Int Soc Toxinol*, 2014, 89: 1-8.
- [6] Saraux A, Benichou J, Guillevin L, *et al.* Which patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthritis, or juvenile idiopathic arthritis receive TNF- α antagonists in France? The CORPUS cohort study [J]. *Clin Exper Rheumatol*, 2015, 33(5): 602-610.
- [7] Ghaffar O, Lavigne F, Kamil A, *et al.* Interleukin-6 expression in chronic sinusitis: colocalization of gene transcripts to eosinophils, macrophages, T lymphocytes, and mast cells [J]. *Otolaryngol-head Neck Surg*, 1998, 118(4): 504-511.
- [8] Hu J, Zhang Y, Dong L, *et al.* Design, synthesis, and biological evaluation of novel quinazoline derivatives as anti-inflammatory agents against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2015, 85(6): 672-684.
- [9] Grogan G. Emergent mechanistic diversity of enzyme-catalysed beta-diketone cleavage [J]. *Biochem J*, 2005, 388(3): 721-730.
- [10] 刘 佳, 黄宇虹, 王保和, 等. 姜黄素类化合物体内代谢途径及其代谢产物的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(12): 1553-1557.
- [11] Zhang Y, Jiang X, Peng K, *et al.* Discovery and evaluation of novel anti-inflammatory derivatives of natural bioactive curcumin [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2014, 8: 2161-2171.
- [12] Liang G, Yang S, Zhou H, *et al.* Synthesis, crystal structure and anti-inflammatory properties of curcumin analogues [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44(2): 915-919.
- [13] Patwardhan R S, Checker R, Sharma D, *et al.* Dimethoxycurcumin, a metabolically stable analogue of curcumin, exhibits anti-inflammatory activities in murine and human lymphocytes [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(6): 642-657.
- [14] Weng Q, Fu L, Chen G, *et al.* Design, synthesis, and anticancer evaluation of long-chain alkoxyated mono-carbonyl analogues of curcumin [J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 103: 44-55.
- [15] Byun E B, Sung N Y, Park J N, *et al.* Gamma-irradiated resveratrol negatively regulates LPS-induced MAPK and NF- κ B signaling through TLR4 in macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 25(2): 249-259.
- [16] Guimaraes M R, Leite F R, Spolidorio L C, *et al.* Curcumin abrogates LPS-induced pro-inflammatory cytokines in RAW 264.7 macrophages. Evidence for novel mechanisms involving SOCS-1, -3 and p38 MAPK [J]. *Arch Oral Biol*, 2013, 58(10): 1309-1317.
- [17] Zhao C, Liu Z, Liang G. Promising curcumin-based drug design: mono-carbonyl analogues of curcumin (MACs) [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(11): 2114-2135.
- [18] Selvam C, Jachak S M, Thilagavathi R, *et al.* Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of curcumin analogues as antioxidant, cyclooxygenase inhibitory and anti-inflammatory agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(7): 1793-1797.
- [19] 姜程曦, 林良义, 宋 娇, 等. 姜黄素类似物抑制炎症反应缓解 1 型糖尿病肾损伤实验研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(12): 1785-1790.
- [20] 王敏娜, 姜程曦, 张亚利. 含氮杂环的单羰基姜黄素类似物的合成及抗炎活性 [J]. *中草药*, 2014, 45(24): 3532-3537.
- [21] Raetz C R, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins [J]. *Ann Rev Biochem*, 2002, 71: 635-700.
- [22] Lee H S, Jung K K, Cho J Y, *et al.* Neuroprotective effect of curcumin is mainly mediated by blockade of microglial cell activation [J]. *Die Pharmazie*, 2007, 62(12): 937-942.
- [23] Baldwin A S. The NF- κ B and I κ B proteins: new discoveries and insights [J]. *Ann Rev Immunol*, 1996, 14: 649-683.
- [24] Poylin V, Fareed M U, O'Neal P, *et al.* The NF- κ B inhibitor curcumin blocks sepsis-induced muscle proteolysis [J]. *Mediat Inflamm*, 2008, 2008: 317851.