

## 奇壬醇的结构修饰及其抗凝血因子 FXa 活性研究

陈安琪<sup>1</sup>, 陈锡庆<sup>1</sup>, 陈丽<sup>1</sup>, 庞汉青<sup>1,2</sup>, 刘量<sup>1,2</sup>, 王建斌<sup>1,2\*</sup>

1. 扬州大学医学院(转化医学院), 江苏扬州 225009

2. 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室, 江苏扬州 225009

**摘要:** 目的 研究有抗凝血因子 FXa 活性的奇壬醇衍生物, 发现具有开发价值的先导化合物。方法 通过氧化、酯化、酰胺化反应, 对奇壬醇进行结构修饰, 采用核磁和质谱数据对这些衍生物进行表征, 并通过以 FXa 为靶标的计算机辅助药物设计结合体外抗凝血因子 FXa 试验评价衍生物的活性; 结果 得到奇壬醇衍生物 15 个, 其中新化合物 14 个(化合物 2~15), 体外抗凝血因子 FXa 活性筛选得到 1 个活性较好的衍生物(化合物 12), 抑制常数(inhibitor constant,  $K_i$  值)为(589.40±80.12) nmol/L。结论 计算机辅助药物设计和体外凝血因子 FXa 试验结果显示化合物 12 的抑制活性最好, 为继续开展奇壬醇的结构修饰研究提供有益参考, 具有一定的研究价值。

**关键词:** 奇壬醇; 先导化合物; 结构修饰; 凝血因子 FXa; 计算机辅助药物设计

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)17-5498-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.17.004

## Study on structure modification of kirenol and activity of its anticoagulant factor FXa

CHEN An-qi<sup>1</sup>, CHEN Xi-qing<sup>1</sup>, CHEN Li<sup>1</sup>, PANG Han-qing<sup>1,2</sup>, LIU Liang<sup>1,2</sup>, WANG Jian-bin<sup>1,2</sup>

1. Institute of Translational Medicine, School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Senile Diseases, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

**Abstract: Objective** To study kirenol derivatives with anticoagulant factor FXa activity and identify lead compounds with developmental value. **Methods** The structural modification of kirenol was conducted through oxidation, esterification and amidation reaction. The structures of them were fully determined on the basis of NMR and MS data. The activity evaluation of kirenol and its derivatives was revealed by the virtual screening of computer-aided drug design (CADD) using FXa as target, combined with the evaluation of the inhibition on FXa *in vitro*. **Results** A total of 15 kirenol derivatives including 14 new compounds (compounds 2-15) were obtained, and the activity evaluation of them on FXa yielded an active compound (compound 12) with  $K_i$  value of (589.4±80.12) nmol/L. **Conclusion** The results of CADD and *in vitro* coagulation factor FXa assay showed the best inhibitory activity of compound 12, which is a useful reference for the continuation of the structural modification study of kirenol, and has some research value.

**Key words:** kirenol; leading compound; structural modification; anticoagulant factor FXa; computer-aided drug design

豨薟为菊科(Asteraceae)豨薟属 *Siegesbeckia* L. 一年生草本植物, 为常用中药, 始载于唐代《新修本草》。《中国药典》2020年版规定豨薟为菊科植物豨薟 *Siegesbeckia orientalis* L.、腺梗豨薟 *S.*

*pubescens* Makino 或毛梗豨薟 *S. glabrescent* Makino 的干燥地上部分<sup>[1-2]</sup>。具有祛风湿、利筋骨、清热解毒、降血压之功效, 主要用于治风湿痹痛、筋骨疼痛、腰膝无力、半身不遂、痈肿疮毒、疔疮

收稿日期: 2023-01-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81903481); 中国博士后科学基金(2019M653297); 扬州市“绿扬金凤计划”(YZLYJFJH2021YXB); 扬州大学大学生学术科技创新基金(X20220736)

作者简介: 陈安琪(2002—), 女, 本科在读。E-mail: 1355434588@qq.com

\*通信作者: 王建斌(1987—), 男, 博士, 讲师, 研究方向为活性天然产物的发现及结构修饰研究。

Tel/Fax: (0756)8135676 E-mail: 007898@yzu.edu.cn

肿毒等症。现代药理实验表明豨薟草提取物具有抗炎、抗过敏、抗血栓、抗组胺释放等活性<sup>[3-9]</sup>。

豨薟通栓胶囊是以豨薟草为君药的中药复方制剂，具有活血祛瘀、祛风化痰、舒筋活络、醒脑开窍的功效，用于缺血性中风风痰痹阻脉络证引起的半身不遂、偏身麻木、口舌歪斜、语言蹇涩等症<sup>[10-11]</sup>。王永等<sup>[11]</sup>研究发现豨薟草胶囊可以很好地对抗二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP) 诱导的血小板聚集，降低血小板聚集率、全血黏度和血浆黏度，改善血液流变学，具有抗血栓形成和改善微循环方面的作用。

豨薟草是我国传统中药，抗风湿及抗血栓疗效确切，并且其分布广泛，资源丰富，具有很大的开发研究价值。现代药理学研究表明二萜（主要包括对映-海松烷型二萜和对映-贝壳杉烷型二萜）是豨薟草抗炎和抗血栓的物质基础，而奇壬醇是豨薟草中含量最大的二萜类化合物单体（图1），在结构特征上具有典型的代表性。现代临床前研究证实奇壬醇具有多种生物学活性，包括抑制细胞生长、促凋亡、抗炎、心脏保护、抗光老化、抗脂肪生成、抗菌、改善肌肉功能、抗关节炎、促进骨折和伤口愈合等<sup>[12]</sup>。

奇壬醇是豨薟草中含量最大的二萜类化合物，

也是该药材的指标成分，近些年来对奇壬醇的研究主要集中在药理活性方面，而关于其结构修饰研究的报导相对较少，主要集中在羟基的酯化、氧化及邻二醇羟基的缩醛等，因此进一步对奇壬醇的结构修饰得到更多类型的衍生物用于活性研究具有一定的意义。

豨薟精醇和对映-16 $\beta$ ,17-二羟基-贝壳杉烷-19-酸 (DKA) 是豨薟草中的2个具有抗血栓活性的成分（结构见图1）<sup>[6-7]</sup>，但其在植物体内含量较少，限制了其开发利用，故本研究希望通过对奇壬醇进行结构改造得到具有一定抗血栓活性的化合物。结合对映-16 $\beta$ ,17-二羟基-贝壳杉烷-19-酸的结构特征，本研究对植物体内含量较大的奇壬醇进行了结构修饰研究，通过 Pinnick 氧化，得到 19-COOH 的结构，然后酯化、酰胺化等方法得到引入一些官能团，共得到奇壬醇衍生物 15 个，结构见图 1，其中新化合物 14 个（化合物 2~15）。利用计算机辅助药物设计结合体外凝血因子 FXa 抑制活性评价的方法对所得衍生物进行活性评价，得到抑制常数 (inhibitor constant,  $K_i$  值)  $< 10 \mu\text{mol/L}$  的化合物有 6 个，其中  $K_i$  值  $< 1 \mu\text{mol/L}$  的化合物 1 个（化合物 12）， $K_i$  值为  $(589.40 \pm 80.12) \text{ nmol/L}$ ，具有一定的研究价值。

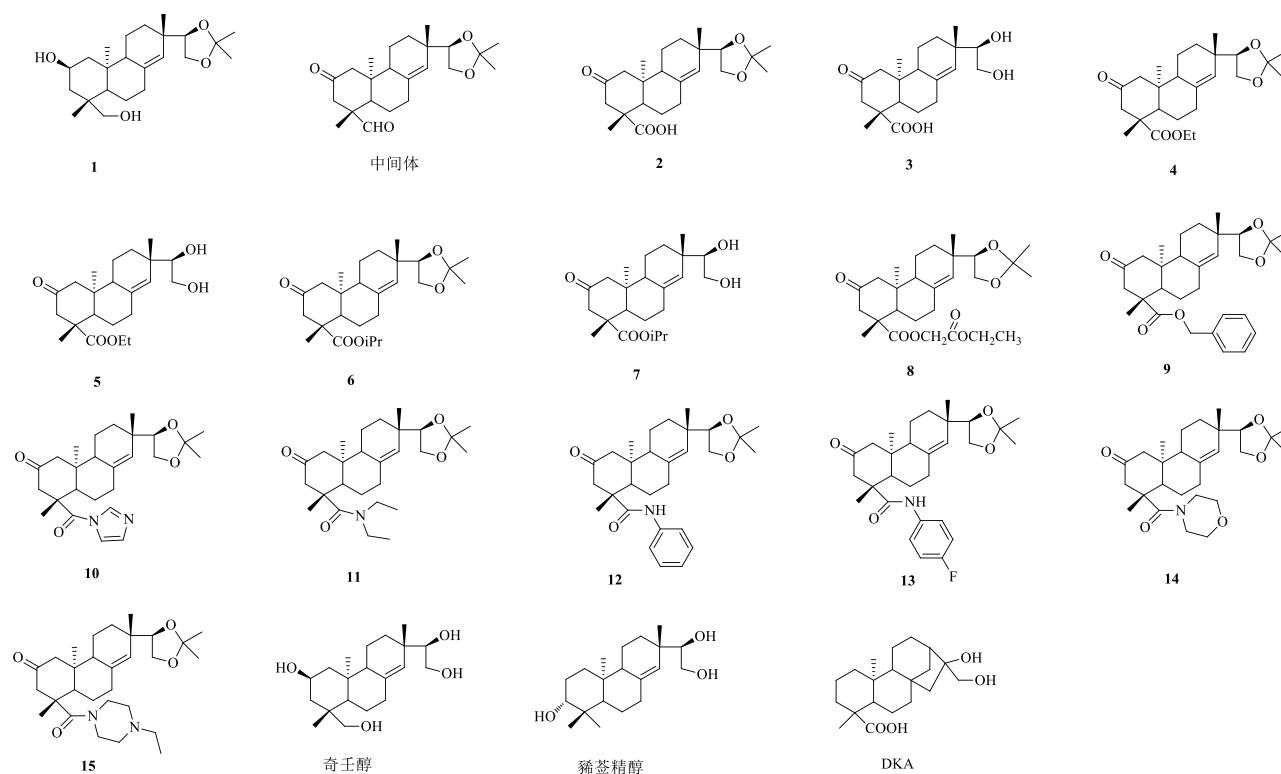


图1 奇壬醇、豨薟精醇、DKA 及化合物 1~16 的结构

Fig. 1 Structures of kirenol, darutigenol, DKA and compounds 1—16

## 1 仪器与材料

Bruker 400 MHz 核磁共振光谱仪 (德国 Bruker 公司), XEVO-G2TOF#YCA166 质谱仪 (美国沃特世公司), KQ5200B 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), PL341/343 型旋光仪 (美国珀金埃尔默公司), BP1224S 型电子天平 (万分之一, 北京赛多利斯天平有限公司), DHG-9053BS-III 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海新苗医疗器械制造有限公司), 布奇旋转蒸发仪 (瑞士布奇公司)。

甲醇、乙腈、醋酸乙酯、氯仿、石油醚、丙酮、正丁醇 (北京化工厂分析纯产品), 柱色谱用硅胶 (200~300 目, 安徽良臣硅源材料有限公司), 薄层色谱硅胶 H (青岛海洋化工厂)。合成实验涉及到的原料和试剂主要有百灵威、耦合、国药、安耐吉等试剂公司提供。反应溶剂是由北京化工厂提供的分析纯试剂, 均需进行无水处理后使用。奇壬醇为实验室自制 (HPLC 检测质量分数 >95%, <sup>1</sup>H-NMR 无杂峰)。

## 2 合成路线

### 2.1 系列 a 的合成路线

主要合成的是酯化产物, 与文献报道的 19-OH 与有机酸直接缩合成酯不同的是, 本系列设计的是将 19-OH 氧化成羧基然后与醇或者溴代物成酯。首先将邻二醇羟基与丙酮进行缩酮反应, 形成丙酮和物<sup>[13-14]</sup>, 然后通过 PCC 氧化<sup>[15-16]</sup>, 将 2 位和 19 位羟基分别氧化成酮和醛, 再通过 Pinnick 氧化<sup>[17]</sup>,

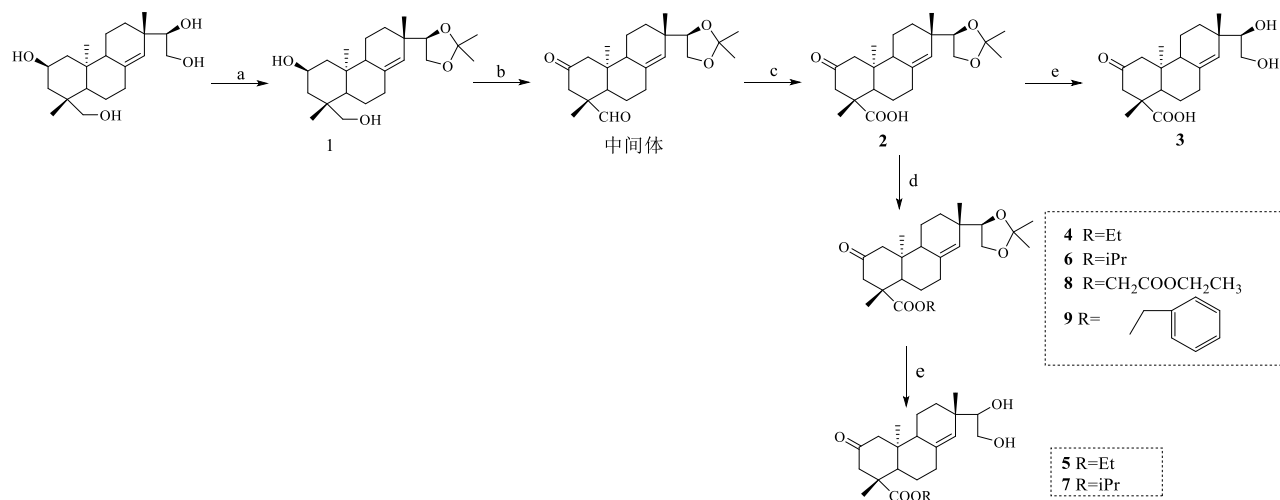
得到 19-COOH 化合物, 让后者与溴代物进行反应形成酯<sup>[18-19]</sup>, 本实验选择了 4 个溴化物底物进行反应: 分别是溴乙烷、异丙基溴、苯乙基溴和溴代醋酸乙酯, 共合成了此类化合物 6 个 (化合物 4~9), 结构见图 2。值得一提的是本研究首次将 Pinnick 氧化应用到奇壬醇的 19-OH 的氧化反应中, 获得较高的转化率。

### 2.2 系列 b 的合成路线

根据生物电子等排体原则, 本系列化合物主要是合成比酯化产物稳定性更好的酰胺类产物<sup>[20-22]</sup>, 选择廉价易得的二乙胺、苯胺、4-氟苯胺、吗啉、N-乙基哌嗪为底物进行反应, 引入苯环、吗啉环和哌嗪环等取代基。首先将 19-COOH 化合物在干燥二氯甲烷中在二甲亚砆的催化下与草酰氯反应, 生成 19-COCl 的中间体, 然后再与胺反应, 生成目标产物, 设计的化合物设计了化合物 10~15 (图 3)。

### 3 合成方法及结构鉴定

化合物 1: 称取奇壬醇 10 g (29.6 mmol) 置于 250 mL 干燥茄形瓶中, 加入干燥丙酮 80 mL 和磷酸钼酸 2.71 g (1.48 mmol), 室温搅拌反应 4 h。减压蒸除反应液中丙酮, 残留物加醋酸乙酯 150 mL 溶解。分别用饱和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (3×150 mL) 和水 (3×150 mL) 洗, 再用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥, 抽滤除去 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 减压蒸除溶剂, 得白色产物, 纯品 10.95 g, 产率 97.9%。mp 155~156 °C。[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>-24(c 0.1, MeOH)。

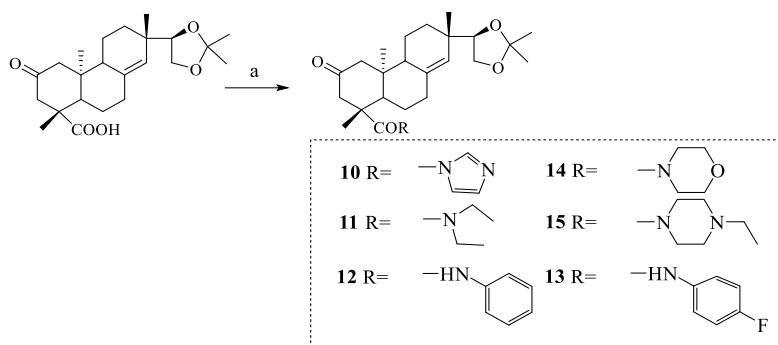


反应条件: a-丙酮、磷酸钼酸, 室温, 4 h; b-二氯甲烷、氯铬酸吡啶, 0 °C→室温, 6 h; c-次氯酸钠、磷酸二氢钠、2-甲基-2-丁烯、叔丁醇, 0 °C→室温, 过夜; d-RBr、二甲亚砆、氢氧化钾, 室温, 6 h; e-三氟乙酸、甲醇、水, 室温, 过夜

Reagents and conditions: a-acetone, phosphomolybdic acid, rt, 4h; b-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, PCC, 0 °C→rt, 6 h; c-NaClO, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2-methyl-2-butene, tert-butanol, 0 °C→rt, overnight; d-RBr, DMSO, KOH, rt, 6 h; e-CF<sub>3</sub>COOH, CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O, rt, overnight

图 2 奇壬醇衍生物 (系列 a) 的合成路线

Fig. 2 Synthesis route of derivatives of kirenol (series a)



反应条件: a-草酰氯、二甲亚砜、二氯甲烷, 0 °C, 0.5 h, 然后加三乙胺, NHR

Reagents and conditions: a-oxalyl chloride, DMSO, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C, 0.5 h; then triethylamine, NHR

图3 奇壬醇衍生物(系列b)的合成路线

Fig. 3 Synthesis route of derivatives of kirenol (series b)

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 5.24 (1H, s, H-14), 4.26 (1H, t, *J* = 6.9 Hz, H-15), 4.17 (1H, t, *J* = 7.7 Hz, H-16a), 4.01 (1H, t, *J* = 7.7 Hz, H-16b), 4.05 (1H, m, H-2), 3.89 (1H, d, *J* = 10.7 Hz, H-19a), 3.67 (1H, d, *J* = 10.7 Hz, H-19a), 2.33~2.30 (1H, m), 2.26 (1H, m), 2.07~2.06 (1H, m), 1.82~1.80 (1H, m), 1.78~1.72 (1H, m), 1.65~1.59 (1H, m), 1.41 (3H, s, CH<sub>3</sub>-23), 1.35 (3H, s, CH<sub>3</sub>-22), 1.21~1.18 (1H, m), 1.18~1.14 (1H, m), 1.05 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.02 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 0.88 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 139.8 (C-8), 127.5 (C-14), 108.8 (C-21), 80.4 (C-15), 66.1 (C-2), 65.7 (C-19), 63.0 (C-16), 55.6, 50.8, 49.5, 45.9, 41.0, 40.4, 36.9, 36.1, 32.4, 28.4 (C-18), 26.7 (C-22), 25.5 (C-23), 23.1 (C-17), 22.6, 18.9, 17.1 (C-20)。通过 TLC 检测及核磁数据, 确定该化合物为 15, 16-异丙基奇壬醇。

中间体: 称取 5 g (13.2 mmol) 化合物 1 置于干燥茄形瓶中, 加入 30 mL 二氯甲烷搅拌溶解, 反应瓶中加少量 60~100 目硅胶, 然后将反应装置转移至冰浴中。取 7.24 g (33 mmol) 氯铬酸吡啶盐 (PCC) 溶于 25 mL 二氯甲烷, 缓慢滴加至反应液中, 然后室温搅拌 6 h。反应液过 200~300 目硅胶减压柱, 二氯甲烷洗脱, 薄层鉴别合并洗脱液, 浓缩, 得产物粗品。将产物粗品进行柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (5:1) 洗脱, 得油状物 4.19 g, 收率 85%, 该产物不稳定, 长时间放置有杂点生成, 故直接用于下步反应。

化合物 2: 取上述中间体 4.19 g (11.2 mmol), 置于茄形瓶中, 加入 40 mL 叔丁醇和 5.23 g (67.2 mmol) 2-甲基-2-丁烯, 冰浴搅拌; 取 3.78 g (33.6

mmol) 亚氯酸钠和 4.04 g (33.6 mmol) 磷酸二氢钠溶于 20 mL 水中; 缓慢将亚氯酸钠和磷酸二氢钠的水溶液滴入茄形瓶中, 冰浴反应 0.5 h 后升至室温, 搅拌过夜; 减压蒸除叔丁醇和 2-甲基-2-丁烯, 加 100 mL 水分散, 醋酸乙酯萃取 (3×100 mL), 醋酸乙酯层用饱和 NaCl 水溶液 (3×100 mL) 洗, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得产物粗品。粗品经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (3:1) 洗脱, 得油状产物纯品 4.01 g, 收率 91.8%。ESI-MS *m/z*: 389.23 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>O<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 5.29 (1H, s, H-14), 4.06 (1H, t, *J* = 6.9 Hz, H-15), 3.92 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, H-16a), 4.01 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, H-16b), 3.19 (1H, d, *J* = 13.8 Hz, H-3a), 2.61 (1H, dd, *J* = 14.0, 1.2 Hz, H-3b), 2.36~2.33 (1H, m), 2.28~2.22 (2H, m), 2.16~2.06 (3H, m), 1.93 (1H, t, *J* = 7.4 Hz, H-9), 1.87~1.84 (1H, m), 1.79~1.74 (1H, m), 1.61~1.52 (1H, m), 1.49~1.45 (1H, m), 1.42 (6H, s, CH<sub>3</sub>-22, 23), 1.34 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.17~1.10 (1H, m), 1.04 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 0.99 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, Pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 207.6 (C-2), 179.0 (C-19), 138.8 (C-8), 127.7 (C-14), 108.6 (C-21), 80.6 (C-15), 65.5 (C-16), 54.4, 54.0, 51.8, 49.4, 48.3, 43.5, 36.4, 36.2, 31.8, 28.4 (C-18), 26.5 (C-22), 25.4 (C-23), 24.5, 22.8 (C-17), 18.5, 14.7 (C-20)。

化合物 3: 取化合物 2 100 mg (0.26 mmol), 酸水解得到脱丙叉基化合物 4。得类白色粉末 81 mg, 收率 90.3%。mp 172.5~174.8 °C。[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>-28 (c 0.1, MeOH)。其核磁谱图与化合物 3 比较, 氢谱数据缺失 2 个甲基信号, C 谱中缺少位移值在 δ 108.6, 26.5 和 25.4 的碳原子, 由此便可判定化合物

**4** 为化合物 **3** 脱丙叉基的产物。ESI-MS  $m/z$  349.21  $[M-H]^-$ ,  $C_{20}H_{29}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.20 (1H, s, H-14), 3.70 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-15), 3.56~3.49 (2H, m, H-16), 2.79 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.45 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.34 (1H, m), 2.11~1.89 (6H, m), 1.81~1.65 (2H, m), 1.52~1.42 (2H, m), 1.36 (3H, s,  $CH_3$ -18), 0.96~0.91 (1H, m), 0.85 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.60 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 208.6 (C-2), 179.0 (C-19), 137.4 (C-8), 129.3 (C-14), 76.3 (C-15), 63.6 (C-16), 54.9, 53.5, 51.2, 49.9, 48.3, 43.3, 37.2, 35.7, 31.5, 27.6 (C-18), 23.6, 22.4 (C-17), 18.1, 13.5 (C-20)。

化合物 **4**: 取化合物 **2** 100 mg (0.26 mmol), 置于茄形瓶中, 加入 2 mL 的 DMSO, 搅拌溶解, 然后加入 29 mg (0.52 mmol) 的氢氧化钾和 58 mg (0.52 mmol) 的溴乙烷, 室温反应 6 h; 将反应液倒入 20 mL 冰水中, 醋酸乙酯 (3×20 mL) 萃取, 合并有机层, 用饱和食盐水 (2×60 mL) 洗, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得产物粗品。粗品经硅胶柱色谱, 石油醚:醋酸乙酯 (5:1) 洗脱, 得产物纯品 88 mg, 收率 81.0%。mp 115.5~117.2 °C。 $[\alpha]_D^{25} -24$  ( $c$  0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$  419.35  $[M+H]^+$ ,  $C_{25}H_{39}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, Pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : 5.28 (1H, s, H-14), 4.09~3.94 (4H, m, H-15, 16a,  $OCH_2CH_3$ ), 3.82 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz, H-16b), 2.98 (1H, dd,  $J = 14.0, 1.8$  Hz, H-3a), 2.53 (1H, dd,  $J = 14.0, 1.8$  Hz, H-3b), 2.32~2.29 (1H, m), 2.22~2.16 (2H, m), 2.06~1.97 (2H, m), 1.88 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-9), 1.82~1.73 (3H, m), 1.56~1.49 (1H, m), 1.44 (1H, overlapped), 1.44 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.37 (3H, s,  $CH_3$ -23), 1.28 (3H, s,  $CH_3$ -18), 1.21 (1H, m), 1.07 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz,  $-OCH_2CH_3$ ), 0.99 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.72 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, Pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : 207.0 (C-2), 175.8 (C-19), 138.5 (C-8), 127.9 (C-14), 108.7 (C-21), 80.6 (C-15), 65.6 (C-16), 60.9 (C-24), 54.5, 53.8, 51.3, 49.2, 48.1, 43.3, 36.2, 31.8, 28.0 (C-18), 26.6 (C-22), 25.4 (C-23), 24.2, 22.9 (C-17), 18.4, 14.6 (C-20), 13.9 (C-25)。

化合物 **5**: 取化合物 **4** 50 mg (0.12 mmol), 酸水解得到脱丙叉基化合物 **6**。其谱图与化合物 **5** 比较, 氢谱数据缺失 2 个甲基信号, C 谱中缺少位移值在  $\delta$  108.7, 26.6 和 25.4 的碳原子, 由此便可判定化合物 **6** 为化合物 **5** 脱丙叉基产物。 $[\alpha]_D^{25} -40$  ( $c$  0.1,

MeOH)。ESI-MS  $m/z$ : 379.28  $[M+H]^+$ ,  $C_{22}H_{35}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.21 (1H, s, H-14), 4.07~3.56 (6H, m, H-15, 16a, 16b,  $-OCH_2CH_3$ ), 2.84 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.43 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.36~2.32 (1H, m), 2.16~1.92 (5H, m), 1.79 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz, H-12b), 1.70~1.63 (1H, m), 1.58-1.45 (2H, m), 1.37 (3H, s,  $CH_3$ -18), 1.24 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz,  $-OCH_2CH_3$ ), 1.04~0.89 (1H, m), 0.89 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.64 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 208.6 (C-2), 175.4 (C-19), 137.4 (C-8), 128.7 (C-14), 76.1 (C-15), 63.0 (C-16), 60.9 ( $-O-CH_2CH_3$ ), 54.8, 53.6, 51.0, 49.6, 48.1, 43.0, 37.1, 35.7, 31.2, 28.0 (C-18), 23.6, 22.6 (C-17), 18.2, 14.0 (C-20), 13.7 ( $-OCH_2CH_3$ )。

化合物 **6**: 按照化合物 **4** 的制备方法, 得产物纯品 67 mg, 收率 76.1%。mp 126.7~127.5 °C。 $[\alpha]_D^{25} -34$  ( $c$  0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$  433.29  $[M+H]^+$   $C_{26}H_{41}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.18 (1H, s, H-14), 4.91 (1H, m, H-24), 3.95 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 3.88 (1H, dd,  $J = 7.6, 6.8$  Hz, H-16a), 3.73 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-16b), 2.83 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.46 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.36~2.33 (1H, m), 2.16~2.10 (2H, m), 2.06~2.01 (2H, m), 1.93 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 1.80~1.67 (3H, m), 1.58~1.55 (2H, m), 1.40 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.35 (3H, s,  $CH_3$ -23), 1.33 (3H, s,  $CH_3$ -18), 1.27 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz,  $-CH-CH_3$ ), 1.23~1.12 (1H, m), 1.20 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz,  $-CH-CH_3$ ), 0.92 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.68 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 207.8 (C-2), 174.7 (C-19), 137.8 (C-8), 127.6 (C-14), 108.4 (C-21), 79.9 (C-15), 68.4 (C-24), 65.1 (C-16), 54.7, 53.7, 51.1, 49.2, 48.0, 43.1, 35.8, 35.7, 31.3, 28.1 (C-18), 26.0 (C-22), 25.0 (C-23), 23.6, 22.3 (C-17), 21.6 (C-25), 21.1 (C-26), 18.1, 14.4 (C-20)。

化合物 **7**: 取化合物 **6** 30 mg (0.09 mmol), 酸水解得到油状脱丙叉基化合物 **7**。其谱图与化合物 **6** 比较, 氢谱数据缺失 2 个甲基信号,  $^{13}C$  谱中缺少位移值在  $\delta$  108.4, 26.0 和 25.0 的碳原子, 由此便可判定 **7** 为 **6** 脱丙叉基的产物。 $[\alpha]_D^{25} -32$  ( $c$  0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$ : 393.26  $[M+H]^+$ ,  $C_{23}H_{37}O_5$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.15 (1H, s, H-14), 4.84 (1H, m, H-24), 3.64 (1H, m, H-15), 3.48 (2H, m, H-16a, 16b), 2.79 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.37

(1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.30~2.26 (1H, m), 2.10~1.85 (7H, m), 1.72 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz), 1.47 (2H, m), 1.28 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.16 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, -CH-CH<sub>3</sub>), 1.13 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, -CH-CH<sub>3</sub>), 0.98~0.91 (1H, m), 0.83 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 0.61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 208.6 (C-2), 174.9 (C-19), 137.4 (C-8), 128.8 (C-14), 76.2 (C-15), 68.6 (C-24), 63.1 (C-16), 54.7, 53.6, 51.2, 49.7, 48.2, 43.0, 37.1, 28.1 (C-18), 23.6, 22.7 (C-17), 21.6 (C-25), 21.2 (C-26), 18.2, 14.2 (C-20)。

化合物 8: 按照化合物 4 的制备方法, 得油状产物纯品 101 mg, 收率 81.3%。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -92 (c 0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$  483.35 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>O<sub>7</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 5.19 (1H, s, H-14), 4.55 (2H, m), 4.20 (2H, m), 3.95 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz), 3.88 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz), 3.72 (1H, m), 2.92 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.47 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.35 (1H, d,  $J = 14.2$  Hz, H-12a), 2.21~2.15 (2H, m), 2.06~2.03 (2H, m), 1.95 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-9), 1.87~1.66 (3H, m), 1.58~1.56 (2H, m), 1.45 (3H, s, CH<sub>3</sub>-22), 1.39 (3H, s, CH<sub>3</sub>-23), 1.32 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.18-1.13 (1H, m), 0.92 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 0.69 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.27 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 207.7 (C-2), 174.8 (C-19), 167.1 (C-2'), 137.5 (C-8), 127.6 (C-14), 79.8 (C-15), 65.0 (C-16), 61.1 (C-1'), 60.6 (C-3'), 54.5, 53.5, 50.8, 49.0, 48.1, 43.1, 35.7, 35.6, 31.1, 28.0 (C-18), 25.9 (C-22), 24.8 (C-23), 23.5, 22.2 (C-17), 18.0, 14.3 (C-20), 13.8 (C-4')。

化合物 9: 按照化合物 4 的制备方法, 得油状产物纯品 90 mg, 收率 72.3%。ESI-MS  $m/z$ : 481.29 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>30</sub>H<sub>41</sub>O<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.40~7.29 (5H, m, Ar-H), 5.18 (1H, s, H-14), 5.01 (2H, m, -O-CH<sub>2</sub>-Ar), 3.93~3.84 (2H, m, H-15, 16a), 3.69 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-16b), 2.90 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.46 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.32 (1H, d,  $J = 12.2$  Hz, H-12a), 2.22~2.00 (4H, m), 1.91 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-9), 1.79~1.76 (1H, m), 1.67~1.50 (3H, m), 1.40 (3H, s, CH<sub>3</sub>-22), 1.38 (3H, s, CH<sub>3</sub>-23), 1.33 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.16~1.13 (1H, m), 0.98 (1H, m), 0.92 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 0.54 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 208.2 (C-2), 175.1 (C-19), 137.7 (C-8), 127.7 (C-14), 108.4 (C-21), 80.1 (C-15), 66.6

(C-24), 65.2 (C-16), 55.0, 53.7, 51.1, 49.1, 48.2, 43.2, 35.9, 35.8, 31.2, 28.1 (C-18), 26.1 (C-22), 25.0 (C-23), 23.7, 22.4 (C-17), 18.1, 14.3 (C-20); Ar-C:  $\delta$ : 135.2, 128.4, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1。

化合物 10: 取化合物 2 100 mg (0.26 mmol), 置于茄形瓶中, 加入 2 mL 的干燥二氯甲烷, 冰浴下搅拌溶解, 然后加入 42.2 mg (0.26 mmol) *N,N'*-羰基二咪唑 (CDI), 氮气保护下反应 6 h; 减压蒸除溶剂, 加入 20 mL 冰水分散, 醋酸乙酯 (3×20 mL) 萃取, 合并有机层, 再用饱和食盐水 (2×60 mL) 洗, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得产物粗品。粗品经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (5:1) 洗脱, 得产物纯品 82 mg, 收率 65.6%。mp 182.2~184.2 °C。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -72 (c 0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$  441.34 [M+H]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>5</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : imidazole group [ $\delta$ <sub>H</sub> 7.74 (1H, s, H-2'), 7.13 (2H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-4', 5')], 5.17 (1H, s, H-14), 4.00 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 3.90 (1H, dd,  $J = 7.6$ , 6.8 Hz, H-16a), 3.75 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-16b), 2.60 (1H, d,  $J = 11.0$  Hz, H-3a), 2.46~2.34 (3H, m), 2.14~2.11 (1H, m), 2.06 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-12a), 1.93 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-9), 1.86 (1H, brd,  $J = 13.8$  Hz, H-12b), 1.78~1.69 (2H, m), 1.57 (2H, m), 1.48~1.25 (2H, m), 1.40 (3H, s, CH<sub>3</sub>-22), 1.34 (3H, s, CH<sub>3</sub>-23), 1.29 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1.14~1.07 (1H, m), 1.02 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 0.91 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 207.4 (C-2), 176.3 (C-19), 137.4 (C-8), 134.0, 130.0, 116.1, 129.8 (C-14), 108.6 (C-21), 79.4 (C-15), 65.2 (C-16), 55.1, 52.2, 51.7, 48.0, 46.6, 38.5, 36.0, 34.7, 31.4, 26.2 (C-22), 25.1 (C-23), 22.7 (C-17), 21.6, 19.0, 18.7 (C-18), 18.5 (C-20)。

化合物 11: 取化合物 2 100 mg (0.26 mmol), 置于茄形瓶中, 加入 2 mL 干燥的二氯甲烷, 搅拌溶解, 然后加入 0.027 mL (0.312 mmol) 的草酰氯和催化剂量的干燥 DMF, 室温反应 2 h; 将 0.032 mL (0.312 mmol) 的二乙胺和 0.043 mL (0.312 mmol) 的干燥三乙胺加入 1 mL 的二氯甲烷中, 然后将上述混合溶液缓慢滴加到反应体系中, 室温反应 1 h 后; 加入 20 mL 二氯甲烷至反应液中, 然后用水 (2×20 mL) 和饱和食盐水 (2×20 mL) 洗, 再用无水硫酸钠干燥, 过滤浓缩得产物粗品。粗品经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (5:1) 洗脱, 得油状物 68 mg, 收率 58.6%。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -20 (c 0.1, MeOH)。

ESI-MS  $m/z$  446.37  $[M+H]^+$ ,  $C_{23}H_{44}NO_4$ .  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.17 (1H, s, H-14), 3.98 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 3.89 (1H, m, H-16a), 3.75 (1H, m, H-16b), 3.43 (2H, m,  $N-CH_2$ ), 3.29 (2H, m,  $N-CH_2$ ), 2.93 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz), 2.56 (1H, d,  $J = 16.4$  Hz), 2.37~2.34 (1H, m), 2.12~1.76 (7H, m), 1.57 (2H, m), 1.47 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.40 (3H, s,  $CH_3$ -23), 1.25~1.16 (1H, m), 1.34 (3H, s,  $CH_3$ -18), 1.13 (6H, m,  $N$ -ethyl), 0.92 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.81 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 207.8 (C-2), 174.5 (C-19), 137.9 (C-8), 128.2 (C-14), 108.7 (C-21), 79.9 (C-15), 65.3 (C-16), 56.1, 55.4, 52.7, 51.2, 50.7, 42.3 (C-24, 26), 41.2, 38.3, 36.0, 35.9, 31.6, 26.7 (C-22), 26.2 (C-23), 25.1, 22.6 (C-17), 18.4, 15.6 (C-25, 27), 14.0 (C-18), 12.5 (C-20).

化合物 12: 按照化合物 11 的制备方法, 得白色粉末 88 mg, 收率 73.1%。mp 194.6~195.7 °C。  $[\alpha]_D^{25}$  -12 ( $c$  0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$  466.29  $[M+H]^+$ ,  $C_{23}H_{35}O_5$ .  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : Ar-H [ $\delta_H$  7.51 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz), 7.34 (2H, dd,  $J = 7.8, 7.2$  Hz), 7.14 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz)], 5.07 (1H, s, H-14), 3.98 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 3.83 (1H, dd,  $J = 7.7, 6.8$  Hz, H-16a), 3.73 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz, H-16b), 2.46 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz), 2.28~2.25 (1H, m), 2.06~1.83 (6H, m), 1.73~1.61 (2H, m), 1.57~1.51 (2H, m), 1.48~1.44 (2H, m), 1.37 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.31 (3H, s,  $CH_3$ -23), 1.23 (3H, s,  $CH_3$ -18), 0.89 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.72 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 207.2 (C-2), 174.7 (C-19), 138.6 (C-8), 128.9 (C-14), 108.6 (C-21), 79.2 (C-15), 65.2 (C-16), 56.3, 53.6, 52.1, 47.2, 46.4, 38.5, 36.1, 35.2, 32.0, 26.2 (C-22), 25.2 (C-23), 22.4 (C-17), 21.5, 19.5, 18.9 (C-18), 17.7 (C-20); Ar-C: 136.4, 124.8, 128.5, 128.5, 122.9, 122.9.

化合物 13: 按照化合物 11 的制备方法, 得白色粉末 108 mg, 收率 86.0%。mp 166.8~168.9 °C。  $[\alpha]_D^{25}$  -20 ( $c$  0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$  484.34  $[M+H]^+$ ,  $C_{29}H_{38}FNO_4$ .  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : phenyl group [ $\delta_H$  7.43 (2H, m), 6.98 (2H, t,  $J = 8.2$  Hz)], 5.07 (1H, s, H-14), 3.98 (1H, t,  $J = 6.6$  Hz, H-15), 3.83 (1H, dd,  $J = 7.5, 6.5$  Hz, H-16a), 3.72 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-16b), 2.36 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-3a), 2.23 (1H, brd,  $J = 13.8$  Hz, H-3b), 2.06~2.04

(2H, m), 2.06~2.04 (2H, m), 1.92~1.80 (4H, m), 1.57 (2H, m), 1.50~1.40 (2H, m), 1.36 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.30 (3H, s,  $CH_3$ -23), 1.14 (3H, s,  $CH_3$ -18), 0.89 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.60 (3H, s,  $CH_3$ -20);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 209.5 (C-2), 175.0 (C-19), 138.6 (C-8), 128.9 (C-14), 108.6 (C-21), 79.9 (C-15), 65.1 (C-16), 55.9, 53.4, 52.0, 47.0, 46.3, 38.4, 36.0, 35.2, 31.8, 26.2 (C-22), 25.2 (C-23), 24.9 (C-18), 22.4 (C-17), 21.5, 19.4, 18.9, 17.8 (C-20); phenyl group: 160.1, 132.4, 124.6, 124.5, 115.2, 114.9.

化合物 14: 按照化合物 11 的制备方法, 得油状物 50 mg, 收率 41.6%。  $[\alpha]_D^{25}$  -96 ( $c$  0.1, MeOH)。ESI-MS  $m/z$ : 460.30  $[M+H]^+$ ,  $C_{27}H_{42}NO_5$ .  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.20 (1H, s, H-14), 3.98 (1H, t,  $J = 6.5$  Hz, H-15), 3.91 (1H, dd,  $J = 7.5, 6.5$  Hz, H-16a), 3.73 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-16b), 3.66 (8H, m, morpholinyl-H), 2.93 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz), 2.56 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz), 2.38 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz), 2.15~2.08 (2H, m), 1.99~1.95 (2H, m), 1.88 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 1.81 (1H, d,  $J = 12.6$  Hz), 1.76~1.72 (2H, m), 1.60~1.56 (3H, m), 1.34 (3H, s,  $CH_3$ -18), 0.93 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.80 (3H, s,  $CH_3$ -20), 1.47 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.41 (3H, s,  $CH_3$ -23);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 207.2 (C-2), 174.7 (C-19), 137.5 (C-8), 128.4 (C-14), 108.6 (C-21), 79.9 (C-15), 66.9 (2×C), 65.3 (C-16), 56.3, 55.0, 52.9, 51.1, 50.7, 46.4, 41.5, 36.0, 35.8, 31.4, 26.2 (C-22), 24.9 (C-18), 25.9, 25.0 (C-23), 24.9, 22.5 (C-17), 18.3, 15.2 (C-20).

化合物 15: 按照化合物 11 的制备方法, 得油状物 39 mg, 收率 31.2%。ESI-MS  $m/z$  487.35  $[M+H]^+$ ,  $C_{29}H_{47}N_2O_4$ .  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.18 (1H, s, H-14), 3.98 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 3.90 (1H, dd,  $J = 7.7, 6.8$  Hz, H-16a), 3.73 (1H, t,  $J = 7.7$  Hz, H-16b), 3.66 (4H, m, H-2', 6'), 2.91 (1H, d,  $J = 14.4$  Hz, H-3a), 2.55 (1H, d,  $J = 16.2$  Hz), 2.46~2.44 (6H, m, H-3', 5',  $N$ -ethyl), 2.38 (1H, d,  $J = 13.8$  Hz), 2.15~2.07 (2H, m), 2.00~1.93 (2H, m), 1.87 (1H, t,  $J = 7.4$  Hz), 1.81 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz), 1.76~1.70 (2H, m), 1.62~1.52 (3H, m), 1.33 (3H, s,  $CH_3$ -18), 1.10 (3H, t,  $J = 6.8$  Hz,  $N$ -ethyl), 0.92 (3H, s,  $CH_3$ -17), 0.78 (3H, s,  $CH_3$ -20), 1.45 (3H, s,  $CH_3$ -22), 1.40 (3H, s,  $CH_3$ -23);  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 207.3 (C-2), 174.4 (C-19), 137.6 (C-8), 128.3 (C-14), 108.6

(C-21), 79.9 (C-15), 65.3 (C-16), 56.4, 55.0, 52.8, 52.7 52.0, 51.1, 50.7, 45.4, 41.4, 35.9, 35.8, 31.4, 29.6, 26.1 (C-18), 26.0 (C-22), 25.0 (C-23), 24.8, 22.5 (C-17), 18.3, 15.3 (C-20), 11.8 (-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。

#### 4 活性评价

采用显色法对化合物的凝血因子FXa抑制活性进行评价。采用牛血清白蛋白缓冲液(0.05 mol/L Tris-0.1 mol/L NaCl-0.1%BSA 缓冲液, pH=7.4)。根据初筛结果将待测化合物浓度设置为1、10、100、1000、10 000 nmol/L。在96孔板中,每孔加入10 μL上述已配好的不同浓度的药液(空白对照组中加0.1% DMSO 10 μL)和25 μL、0.003 IU/mL的human FXa,以40 μL的BSA缓冲液(pH 7.4)混合均匀。37 °C下孵育15 min。之后加入40 μL显色底物S-2765,震荡10 s后,于室温下孵育1 h。酶标仪下测定各孔在405 nm的吸光度(A)。计算抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{样品}} / A_{\text{空白对照}}$$

通过SPSS19.0软件计算分析得出K<sub>i</sub>值,得到的活性较好的化合物6个(K<sub>i</sub><10 μmol/L)分别是奇壬醇及化合物1、4、6、12和13,见表1。

#### 5 分子对接

为了阐明化合物与FXa的作用方式,采用计算机辅助药物设计进行了进一步的研究。本次对接的FXa受体其晶体结构来源于蛋白质数据库(Protein Data Bank, ID: 4Y76)<sup>[2]</sup>。使用Maestro.10.6软件的Protein Preparation Wizard模块对蛋白进行键级及其他化学键的生成、电荷矫正、加氢、去水、能量最小化处理,然后根据PDB原配体定义口袋的大小及中心。利用ChemDraw 2014的Chem 3D绘制小分子的三维立体结构,能量最小化处理,另存为MOL格式文件,导入Maestro.10.6软件,使用LigPrep

表1 化合物对凝血因子FXa的活性评价结果

Table 1 Inhibitory effects of compounds on blood coagulation factor FXa

化合物	K <sub>i</sub> /(nmol·L <sup>-1</sup> )
奇壬醇	2 568.0±231.8
1	7 165.0±822.5
4	3 495.0±412.6
6	2 798.0±308.9
12	589.4±80.1
13	8 738.0±925.1
edoxaban	3.4±0.4

模块处理, OPLS3 立场对分子构象进行优化。利用Maestro.10.6软件中的Glide对接模块进行模拟计算,以G-score作为对接结果评价得分,以Glide的默认的标准方法进行对接。以原始配体为中心,生成长度为1.5 nm的workspace ligand,选择精度精度为XP(Extra precision)。分别对奇壬醇和化合物12进行了分子对接结果见图4、5。

可知,奇壬醇结构中的16-OH作为氢键供体,与Glu 216上的侧链上的氧原子形成氢键;2-OH作为氢键供体,与Gly 97上的侧链羧基上的氧原子形成氢键相互作用;19-OH作为氢键供体与THR-98侧链上的羧基上的氧形成氢键相互作用。化合物12结构中2-羰基上的氧原子作为氢键受体与Gly 216上的-NH发生氢键相互作用;苯环与TRY-99上的苯环形成π-π键相互作用。

#### 6 讨论

本研究对豨薟草含量较大的活性二萜类化合物奇壬醇进行了结构修饰的研究。根据化合物的结构特征,首次高转化率地把奇壬醇的19-OH氧化成羧基,并在此基础上进一步修饰得到奇壬醇的衍生物15个,丰富了具有奇壬醇衍生物的种类。基于豨薟

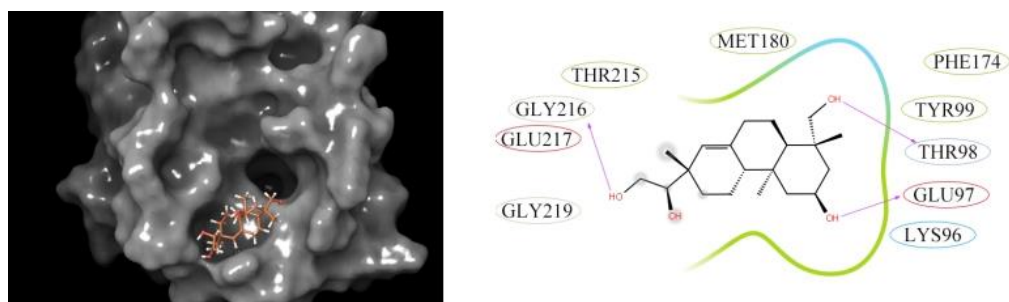


图4 奇壬醇与4Y76分子对接结果

Fig. 4 Molecular docking results of kirenol with 4Y76.



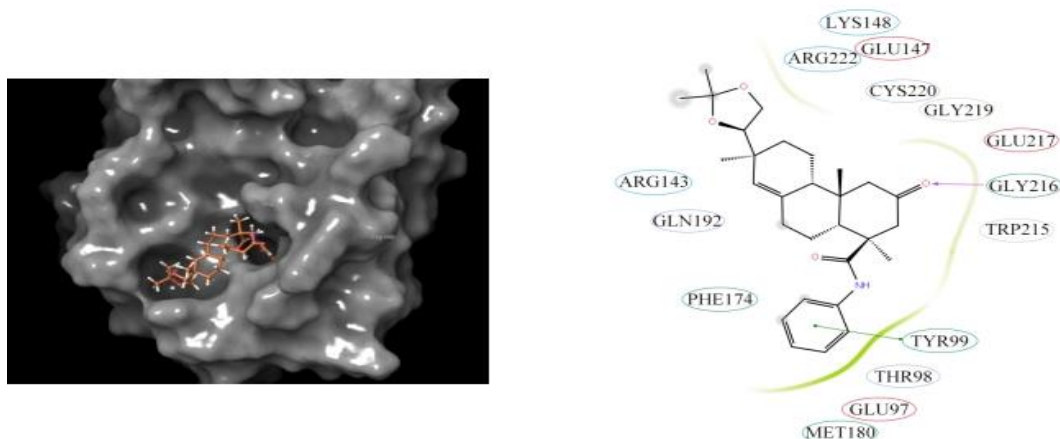


图5 化合物12与4Y76分子对接结果

Fig. 5 Docking model of compound 12 with 4Y76

草良好的抗血栓活性，也为了探索奇壬醇及其衍生物新的药理活性，本研究对奇壬醇及其衍生物进行了体外凝血因子 FXa 抑制试验，得到  $K_i$  值  $>10 \mu\text{mol/L}$  的化合物有 11 个， $K_i$  值  $<10 \mu\text{mol/L}$  的化合物有 6 个，其中  $K_i$  值  $<1 \mu\text{mol/L}$  的化合物 1 个，为化合物 12 [(589.4 $\pm$ 80.12) nmol/L]，效果明显优于奇壬醇。通过分子对接模拟了奇壬醇和化合物 12 与 FXa 受体的互作图，推测苯环与 TRY-99 上的苯环形成  $\pi$ - $\pi$  键相互作用可能是化合物 12 的活性优于奇壬醇的原因。与阳性对照相比，奇壬醇及其衍生物的活性还有一定的差距，还需要对奇壬醇及其衍生物的结构邻二醇羟基部位进一步的优化。同时，将开展衍生物对其他凝血因子的作用以及抗凝血以外的其他药理活性研究，以期得到活性更好的先导化合物分子。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 384-385.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志-第六卷, 第一分册-蕨类植物门 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 338-342.
- [3] 范帅帅, 高乐, 田伟, 等. 豨薟草化学成分和药理作用及质量标志物(Q-Marker)的预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7389-7400.
- [4] Ibrahim S R M, Altyar A E, Sindi I A, *et al.* Kirenol: A promising bioactive metabolite from siegesbeckia species: A detailed review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 281: 114552.
- [5] Wang J P, Xu H X, Wu Y X, *et al.* Ent-16 $\beta$ , 17-dihydroxy-kauran-19-oic acid, a kaurane diterpene acid from *Siegesbeckia pubescens*, presents antiplatelet and antithrombotic effects in rats [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(10): 873-878.
- [6] Lu Y, Xiao J, Wu Z W, *et al.* Kirenol exerts a potent anti-arthritic effect in collagen-induced arthritis by modifying the T cells balance [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(10): 882-889.
- [7] 张殿文, 李木石, 王清, 等. 豨薟精醇对大鼠的抗栓作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(17): 4157-4158.
- [8] 白云绮, 李慧, 高照, 等. 酒制豨薟草和生豨薟草对缺氧损伤的 H9c2 心肌细胞保护作用的比较研究 [J]. 世界中医药, 2022, 17(6): 779-783.
- [9] 王文杰, 徐煜彬, 徐珊珊. 基于 PI3K/Akt 通路豨薟草抗脑缺血再灌注损伤作用机制研究 [J]. 中国现代医生, 2022, 60(18): 28-31.
- [10] 闫峰, 田悦, 黄语悠, 等. 豨薟通栓胶囊减轻慢性脑缺血大鼠认知功能损伤的机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 47-52.
- [11] 王永, 厉保秋, 周莉, 等. 豨薟草胶囊对比格犬凝血功能及血液流变学的影响 [J]. 亚太传统医药, 2012, 8(3): 6-7.
- [12] 张梦, 沈小芳, 翟立红, 等. 奇壬醇的功能及抗炎作用机制研究进展 [J]. 生命科学, 2022, 34(12): 1550-1558.
- [13] Kim H S, Park H, Lim J, *et al.* Collective syntheses of guaiane sesquiterpenes: Stereoselective syntheses of (+)-dysodensiol F, (+)-10 $\beta$ , 14-dihydroxy-*allo*-aromadendrane, and (-)-dendroside C aglycon [J]. *J Org Chem*, 2020, 85(21): 13779-13792.
- [14] George J H, McArdle M, Baldwin J E, *et al.* Biomimetic rearrangements of simplified labdane diterpenoids [J]. *Tetrahedron*, 2010, 66(33): 6321-6330.
- [15] Yang Z X, Shan Y J, Yu J T, *et al.* Metal-free hydroxyalkylative radical addition/cyclization of unactivated alkenes for the synthesis of hydroxyalkylated ring-fused quinazolinones [J]. *Eur J Org Chem*, 2021, 2021(38): 5382-5385.

- [16] Ghosh R, Malhotra M, Sathe R R, *et al.* Biodegradable polymer theranostic fluorescent nanoprobe for direct visualization and quantitative determination of antimicrobial activity [J]. *Biomacromolecules*, 2020, 21(7): 2896-2912.
- [17] Harty M, Nagar M, Atkinson L, *et al.* Inhibition of serine and proline racemases by substrate-product analogues [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(1): 390-393.
- [18] Guo Q H, Ren X, Lu Z. Controllable intramolecular unactivated C(sp<sup>3</sup>)-H amination and oxygenation of carbamates [J]. *Org Lett*, 2019, 21(4): 880-884.
- [19] Zhang T, Lu L H, Wang J W, *et al.* D-ring modified novel isosteviol derivatives: Design, synthesis and cytotoxic activity evaluation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(18): 5827-5832.
- [20] 王建成, 张英勋, 阳传文, 等. 吡咯酰胺类化合物的制备: 中国, CN115246785 A [P]. 2022-10-28.
- [21] Wilkinson S M, Gunosewoyo H, Barron M L, *et al.* The first CNS-active carborane: A novel P2X7 receptor antagonist with antidepressant activity [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2014, 5(5): 335-339.
- [22] Greszler S N, Zhao G, Shelat B, *et al.* Enabling asymmetric synthesis of ABBV-3748, a corrector compound for the treatment of cystic fibrosis [J]. *Org Lett*, 2022, 24(40): 7305-7308.
- [23] Chan C, Borthwick A D, Brown D. *et al.* Factor Xa inhibitors: S1 binding interactions of a series of *N*-{(3*S*)-1-[(1*S*)-1-methyl-2-morpholin-4-yl-2-oxoethyl]-2-oxopyrrolidin-3-yl}sulfonamides [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(7): 1546-1557.

[责任编辑 王文倩]

• 公益广告 •



天津市精神文明建设委员会办公室