

· 研究报告 ·

海洋环肽 *stylissamide I* 的全合成研究陆东涛^a, 刘超^b, 秦路平^b, 邹燕^b (海军军医大学: a. 长海医院药材科, b. 药学院, 上海 200433)

[摘要] **目的** 采用固相合成/液相环化方法合成海洋环肽 *stylissamide I*。**方法** 以 2-氯三苯甲基氯树脂(简称二氯树脂)为载体, 选用 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯(HCTU)和 *N,N*-二异丙基乙胺(DIPEA)为缩合试剂依次连接 9-芴甲氧羰基保护的氨基酸, 在三氟乙醇(TFE)的作用下将直链肽从树脂上切割下来, 然后使用(3*H*-1,2,3-三唑并[4,5-*b*]吡啶-3-氧基)-3-吡咯烷基六氟磷酸盐(PyAOP), *N*-羟基-7-氮杂苯并三氮唑(HOAt)和 *N*-甲基吗啡啉(NMM)在溶液中完成环合, 最后在三氟乙酸(TFA)的处理下脱去侧链保护基, 获得环肽粗品。经反相高效液相色谱对所合成的环肽粗品进行纯化, 终产物纯度 98.9%。通过高分辨质谱、600 MHz ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 鉴定, 确定所合成环肽为目标环肽。**结果** 首次完成海洋环肽 *stylissamide I* 的全合成, 总收率为 67%。**结论** 此法具有快捷、简便、高效的特点, 较好地为 *stylissamide I* 的固相全合成提供了参考。

[关键词] *stylissamide I*; 固相合成; 环肽**[中图分类号]** R737.9**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1006-0111(2019)05-0444-06**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.011The total solid synthesis of marine cyclopeptide *stylissamide I*LU Dongtao^a, LIU Chao^b, QIN Luping^b, ZOU Yan^b (a. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, b. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** The marine cyclopeptide *stylissamide I* was synthesized through a solid phase synthesis and cyclization in solution (SPS-CS). **Methods** 2-chlorotrityl chloride resin was used as solid support for the total synthesis. Each amino acid protected by 9-fluorenylmethyloxycarbonyl (Fmoc) group was coupled with *N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA)/O-(6-chloro-1-hydrocibenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluoro-phosphat (HCTU) as condensing agents. The linear peptide was cleaved from resin by 2,2,2-trifluoroethanol (TFE) and cyclized in the presence of (7-azabenzotriazol-1-yloxy) tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (PyAOP)/1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt)/*N*-methyl morpholine (NMM). Finally, the crude cyclopeptide was obtained through global deprotection with trifluoroacetic acid (TFA). The target compound was purified by preparative RP-HPLC to 98.9% pure and its structure was identified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and Q-TOF LC/MS. **Results** The first total synthesis of the marine cyclopeptide *stylissamide I* was successfully realized with a yield of 67%. **Conclusion** A rapid, simple and high-efficient method of *stylissamide I* total synthesis was successfully established.

[Key words] *stylissamide I*; solid phase synthesis; cyclopeptide

海洋天然产物因其独特的化学结构和良好的生物活性, 许多课题组都致力于从其中寻找具有潜在药理活性的先导化合物, 迄今为止, 许多化合物已经成为药物化学研究的热点^[1-2]。在海洋天然产物中, 环肽是拥有独特药理活性和生物化学特性的一类化合物^[3-4]。这类化合物因其特殊的稳定性和选

择性, 能够有效地模仿蛋白表位来干扰蛋白-蛋白间相互作用, 体现出较高的临床治疗价值^[5]。与传统直链肽相比, 环肽类化合物具有结构稳定、脂溶性高、穿膜性强、体内半衰期长等优点^[6-8], 使其在抗结核^[9]、抗菌^[10]、抗病毒^[11-12]、抗肿瘤^[13]、抗炎^[14-15]等药物的研发中发挥着无可替代的重要作用。

Stylissamide 是从 *Stylissa* 属海绵中分离得到的一类富含脯氨酸残基的环肽化合物, 自 2007 年 Schmidt 等^[16] 从 *Stylissa caribica* 中分离得到 *stylissamide A* 以来, 已经先后从该属海绵中得到一系列类似环肽化合物, 该系列环肽表现出抗肿瘤和抗菌等多种生理活性^[17-18]。*Stylissamide I* 是由

[基金项目] 海军军医大学军事课题(2017JS11)**[作者简介]** 陆东涛, 药师, Tel: (021)31162445, Email: 545829918@qq.com**[通讯作者]** 邹燕, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 多肽类药物研究, Tel: (021)81871226, Email: zouyan0622@126.com

Kubota 等^[19]从日本冲绳海绵 *Stylissa sp.* 样品中提取纯化得到的环七肽化合物,经过高分辨电喷雾质谱以及二维核磁等技术表征,明确其序列为 Cyclo-(Pro-Pro-Val-Pro-Tyr-Tyr-Tyr),结构如图 1 所示。进一步研究发现,stylistamide I 对 *Aspergillus niger* 显示出较好的抑制活性,是具有开发前景的抗真菌药物先导化合物。然而,单纯依靠从天然产物中分离纯化得到 stylistamide I 很难满足对其药理活性和构效关系等进一步研究的需要,并且也无法对其开展结构优化和修饰等研究。因此,一种高效简便的全合成方法是十分必要的。

以往对类似环肽化合物的固相合成/液相环合研究中,通常使用 1-羟基苯并三唑(HOBt)/*N,N*-二异丙基碳二亚胺(DIC)作为缩合剂完成直链多肽的固相合成^[20-21]。该方法氨基酸偶联形成酰胺键所需反应时间较长(2~4 h),并且在缩合过程中 DIC 所形成的副产物 *N,N*-二异丙基脲溶解性差,需要使用大量有机试剂冲洗树脂,后处理烦琐。本研究基于课题组前期研究成果,以二氯树脂为固相载体,通过缩合剂 DIPEA/HCTU 依次连接 Fmoc/tBu 保护的氨基酸,完成多肽的固相合成^[22];

随后在三氟乙醇的条件下将直链肽从树脂上切割下来,后通过环合试剂 PyAOP/HOAt/NMM 在溶液中完成环合;最后利用三氟乙酸脱去侧链保护基获得环肽粗品。经反相高效液相色谱对所合成的环肽粗品进行纯化,首次成功完成对 stylistamide I 的全合成,合成路线如图 2 所示。

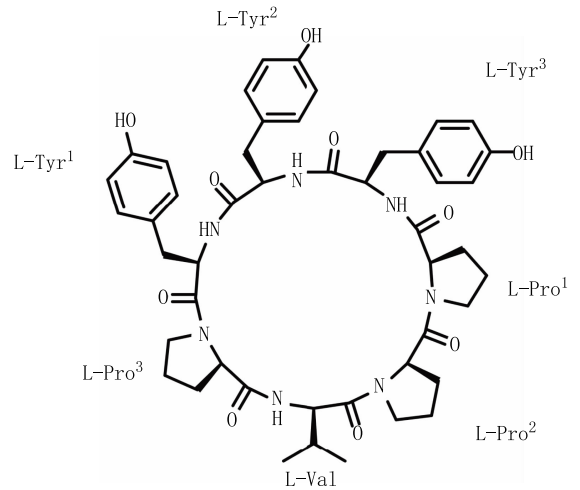


图 1 stylistamides I 的结构

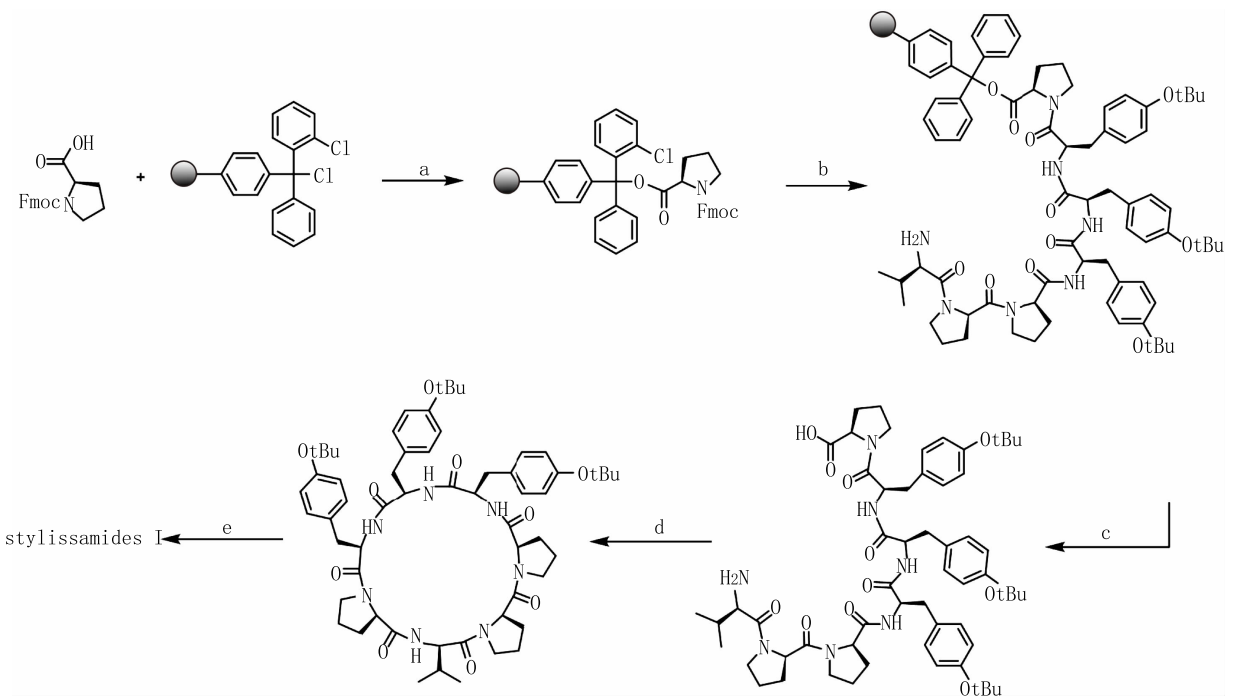


图 2 stylistamides I 的合成路线

合成试剂与条件:a. Fmoc-Pro-OH, *N,N*-二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30℃, 120 min; b. (I) 20% 哌啶/*N,N*-二异丙基乙胺, 30℃, 10 min, 重复 2 次; (II) Fmoc-Tyr(OtBu)-OH, 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯, *N,N*-

二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30℃, 40 min; (III) 20% 哌啶/*N,N*-二甲基甲酰胺, 30℃, 10 min, 重复 2 次; (IV) Fmoc-Tyr(OtBu)-OH, 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯, *N,N*-二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30℃, 40 min; (V)

20% 哌啶/*N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 10 min, 重复 2 次; (VI) Fmoc-Tyr(OtBu)-OH, 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯, *N,N*-二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 40 min; (VII) 20% 哌啶/*N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 10 min, 重复 2 次; (VIII) Fmoc-Pro-OH, 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯, *N,N*-二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 40 min; (IX) 20% 哌啶/*N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 10 min, 重复 2 次; (X) Fmoc-Pro-OH, 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯, *N,N*-二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 40 min; (XI) 20% 哌啶/*N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 10 min, 重复 2 次; (XII) Fmoc-Val-OH, 6-氯苯并三氮唑-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸酯, *N,N*-二异丙基乙胺, *N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 40 min; (XIII) 20% 哌啶/*N,N*-二甲基甲酰胺, 30°C, 10 min, 重复 2 次; c. 三氟乙醇/二氯甲烷(1:4, V/V), 30°C, 4 h; d. 六氟磷酸(7-氮杂苯并三唑-1-氧基)三吡咯烷磷, *N*-羟基-7-氮杂苯并三氮唑, *N*-甲基吗啡啉, *N,N*-二甲基甲酰胺, 二氯甲烷, 室温, 12 h; e. 三氟乙酸/二氯甲烷(1:3, V/V), 室温, 2 h。

1 材料与方法

1.1 仪器

LOOYE ZX98-1 型旋转蒸发仪、2ZX-4 型旋片真空泵、低温冷却循环泵、SHB-III A 型循环水式多用真空泵(上海豫康科教仪器设备有限公司), CHA-S 型气浴恒温振荡器(江苏金坛市国胜实验仪器厂), 高效液相色谱系统及紫外检测器(日本岛津公司), 冷冻干燥机(美国 LABCONCO 公司), 6538 UHD Accurate-Mass Q-TOF LC/MS(美国 Agilent 公司), Bruker DRX 600 MHz 型高分辨核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司)。

1.2 主要试剂

Fmoc-氨基酸、二氯树脂(吉尔生化上海有限公司); PyAOP, HCTU, HOAt, NMM(Adamas 试剂公司); DIPEA(Acros 试剂公司); TFE, TFA(百灵威科技有限公司); *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(DCM)、甲醇、哌啶(国药集团化学试剂有限公司); 乙腈(J. T. Baker 试剂公司); 双蒸水(自制)。

1.3 方法

1.3.1 树脂的活化

将二氯树脂 1.0 g(载量 0.3 mmol/g)加入到固相反应器中, 加入 DCM 与 DMF 各 5 ml 浸泡

10 min后抽滤, 使树脂充分膨胀。

1.3.2 Fmoc-氨基酸与树脂的连接

将 Fmoc-Pro-OH(337.0 mg, 1.0 mmol, 3.3 倍当量), DIPEA(387.6 mg, 3.0 mmol, 10.0 倍当量)的 DMF 溶液加入到固相反应器中, 于气浴恒温振荡器中 30°C 反应 120 min。反应结束后, 用 DCM 与 DMF 洗涤树脂各 5 遍。

1.3.3 Fmoc 的脱除

每一步生成肽键反应之前, 均需脱除 Fmoc 保护。向固相反应器中加入 6 ml 20% 的哌啶/DMF 溶液, 于气浴恒温振荡器中 30°C 反应 10 min, 抽滤后再次加入 6 ml 20% 的哌啶/DMF 溶液反应 10 min。反应结束后, 用 DCM 与 DMF 洗涤树脂各 5 遍。

1.3.4 肽键的生成

所有后续 Fmoc 保护的氨基酸采用活化酯方法缩合。向连接在树脂上脱去末端 Fmoc 保护的直链肽中加入 Fmoc-氨基酸(1.0 mmol, 3.3 倍当量), HCTU(413.7 mg, 1.0 mmol, 3 倍当量), DIPEA(387.6 mg, 3.0 mmol, 10.0 倍当量)的 DMF 溶液, 于气浴恒温振荡器中 30°C 反应 40 min, 反应完毕后, 用 DCM 与 DMF 洗涤树脂各 5 遍。重复此过程以及脱保护过程直至所有氨基酸全部接入。

1.3.5 多肽的切割

向固相反应器中加入 TFE/DCM(1:4, V/V) 混合溶液 10 ml, 于气浴恒温反应器中 30°C 反应 4 h。抽滤收集滤液, 于旋转蒸发仪蒸干溶剂, 乙醚打浆后真空泵干燥, 获得直链肽粗品 273.1 mg。

1.3.6 直链肽的环合与凝胶柱纯化

将直链肽粗品溶于 DCM 溶液(290.0 ml), 于 0°C 缓慢滴加至含有 PyAOP(783.0 mg, 1.5 mmol, 5.0 倍当量), HOAt(204.2 mg, 1.5 mmol, 5 倍当量), NMM(303.5 mg, 3.0 mmol, 10 倍当量)的 DMF 溶液(10 ml)中。滴加完毕后于室温反应 12 h, 反应结束后蒸干溶剂, 得到淡黄色油状液体。将其用甲醇溶解后, 采用葡聚糖凝胶 LH-20 柱对其进行初步纯化, 获得带侧链保护基的环肽粗品 243.4 mg。

1.3.7 侧链保护基的脱除和纯化

将带侧链保护基的环肽粗品溶解于 TFA/DCM(1:3, V/V) 的混合溶液中, 于室温反应 2 h 后旋干溶剂。采用反相高效液相色谱对其进行纯化。色谱条件: SHIMADZU PRC-ODS 柱(50 mm × 250 mm, 15 μm); 流动相 A: 乙腈+0.1% TFA, 流动相 B: 水+0.1% TFA, 线性洗脱梯度 B: 100%~

10%，洗脱时间 30 min，流速 6.0 ml/min；紫外检测器检测波长 214 nm。获得纯品 176.7 mg，总收率 67%。

2 结果与讨论

2.1 stylissamide I 的 HPLC 表征

本研究以水和乙腈为流动相进行梯度洗脱，对 stylissamide I 粗品进行纯化。粗品 HPLC 图中峰数较多，主峰物质含量为 63.5%。通过制备色谱对主峰进行纯化，色谱图中主峰明显，含量为 98.9% (图 3)。

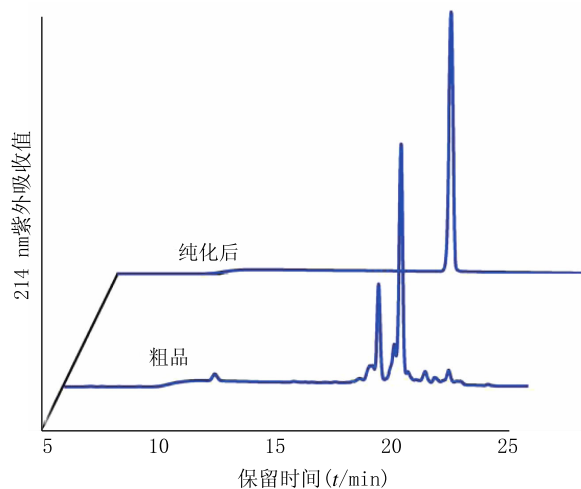


图 3 stylissamide I 粗品与纯品的 HPLC 图谱

2.2 stylissamide I 的高分辨质谱表征

通过 Q-TOF LC/MS 分析，质谱图中 880.426 4 对应 $[M+H]^+$ 峰，902.402 4 对应 $[M+Na]^+$ 峰 (图 4)，与 stylissamide I 理论分子量 879.416 7 相比，误差值为 1.1×10^{-5} ，显示主峰物质分子量与 stylissamide I 相符。随后，采用 MassHunter Workstation (Agilent Tech) 质谱工作站对分子式进行匹配，分子式为 $C_{47}H_{57}N_7O_{10}$ ，与理论分子式相符。

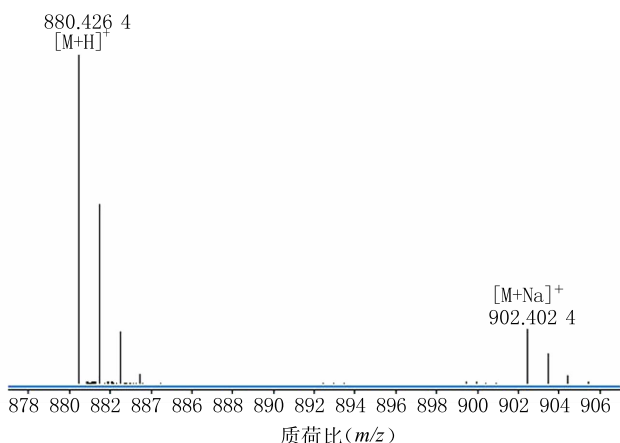


图 4 stylissamide I 纯化后的高分辨质谱图

2.3 stylissamide I 的核磁共振氢谱与碳谱表征

本研究通过 600 MHz 核磁共振氢谱与碳谱对所合成环肽进行进一步表征。

1H -NMR (600 MHz, *d*-DMSO): δ 9.01 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 8.61 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.92 (s, 3H), 7.81 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.07-7.00 (m, 6H), 6.71-6.62 (m, 6H), 4.22-4.20 (m, 1H), 3.89 (s, 1H), 3.56-3.36 (m, 11H), 3.01-2.98 (m, 1H), 2.89-2.84 (m, 2H), 2.73-2.65 (m, 3H), 2.17-2.07 (m, 2H), 1.99-1.80 (m, 11H), 0.92-0.78 (m, 6H)。

^{13}C -NMR (600 MHz, *d*-DMSO): δ 173.7, 171.7, 170.6, 170.5, 170.1, 169.3, 168.4, 158.5, 158.3, 157.0, 156.4, 156.2, 131.1, 131.0, 130.6, 130.6, 130.5, 128.0, 127.7, 125.1, 118.5, 116.5, 115.8, 115.6, 115.4, 115.3, 59.5, 58.9, 57.9, 55.7, 54.8, 53.9, 52.6, 47.1, 37.3, 36.7, 36.5, 30.7, 29.1, 29.0, 28.5, 25.0, 24.9, 24.9, 19.5, 18.4, 18.2。

2.4 环合反应的策略

2.4.1 环合方式的选择

目前公认的多肽环合策略可分为液相环合与固相环合两种。液相环合策略在氨基酸连接完毕后，在弱酸的条件下将带有保护基的多肽切下，在溶液中进行环合后利用强酸切除侧链保护基团，需要进行反复的纯化并且可能产生二聚体或多聚体等副产物，使得其合成效率和合成总收率都较低。固相环合策略则是在树脂上完成直链多肽连接后，直接利用环合试剂在固相载体上进行环合，经过强酸切割后直接得到目标产物，无需反复的纯化步骤，同时树脂的假稀释作用避免了二聚体与多聚体的生成，是目前公认的优于液相环合的一种环合策略^[23]。然而，固相环合条件较为苛刻，需要氨基酸残基侧链提供额外的羧基用于偶联树脂 (如天冬氨酸或谷氨酸)。本研究中的 stylissamide I 并不符合固相环合的条件，因此，课题组选择液相环合策略对其进行全合成。

2.4.2 环合位点的选择

在环肽的合成中，环合位点的确定决定着合成的成败。环合位点选择不当会导致关环速率减慢，产生二聚化、低聚化以及差向异构化等副产物。一般来说，环合位点的确定应遵循 4 个原则^[24]：①在通常情况下，应避免在 N-烷基、 α 、 α -二取代、 β -取代等空间位阻大的氨基酸，如缬氨酸和异亮氨酸之间环合。然而，脯氨酸是一个特例，选择脯氨酸为关环

位点也可以获得较好的环合效果。②应尽量选择在 *L* 构型和 *D* 构型的氨基酸之间环合,不同构型的氨基酸之间发生的环合反应速率比相同构型氨基酸之间更快。③可借助 X-晶体衍射或分子模型来确定能促进环合反应的分子内氢键的位置,并选择此处为环合位点。④能引起分子骨架扭转的结构有利于环合,例如甘氨酸。综上所述,考虑到环合未知空间位阻对环合速率及产率的影响,本研究选择在脯氨酸之间进行环合。

2.4.3 环合条件的确定

较为常用的环合试剂主要有 HOAt、HOBt、PyAOP、PyBOP 等。本研究选择 PyAOP/HOAt 为环合试剂对,选用 NMM 提供碱性环境,室温反应 12 h,成功完成环合反应^[25]。

液相环合策略的一个主要问题是环合过程容易形成分子间的二聚体和多聚体副产物,影响合成产率。我们通过高度稀释的方法,将直链肽溶液浓度控制在约 1 mg/ml,并在低温条件下向环合试剂溶液中缓慢滴加,明显减少了线性或环状二聚体和多聚体的产生^[26]。

3 结论

本研究使用二氯树脂为载体固相合成了直链七肽,而后将其从树脂上切下,利用环合试剂在溶液中完成环合,最后在酸性条件下脱除全部侧链保护基团,成功获得环肽粗品。经反相高效液相色谱纯化得到目标环肽 *stylissamide I*,产物纯度达到 98.9%,合成总收率为 67%。通过高分辨质谱、核磁共振氢谱与碳谱分析,确定合成产物为目标环肽 *stylissamide I*。本研究首次完成了环肽 *stylissamide I* 的化学全合成,合成方法具有快捷、简便、高效的特点,为该环肽及其他类似环肽类化合物的固相全合成提供了参考。

【参考文献】

[1] NORO J C, KALAITZIS J A, NEILAN B A. Bioactive natural products from Papua New Guinea marine sponges[J]. *Chem Biodivers*, 2012, 9(10): 2077-2095.

[2] PROKSCH P, EBEL R, EDRADA R A, et al. Bioactive natural products from marine invertebrates and associated fungi [J]. *Prog Mol Subcell Biol*, 2003, 37: 117-142.

[3] ANDAVAN G S, LEMMENS-GRUBER R. Cyclodepsipeptides from marine sponges: Natural agents for drug research[J]. *Mar Drugs*, 2010, 8(3): 810-834.

[4] PIFFERI C, BERTHET N, RENAUDET O. Cyclopeptide scaffolds in carbohydrate-based synthetic vaccines [J]. *Biomater Sci*, 2017, 5(5): 953-965.

[5] KURANAGA T, SESOKO Y, INOUE M. Cu-mediated enamide formation in the total synthesis of complex peptide natural products[J]. *Nat Prod Rep*, 2014, 31(4): 514-532.

[6] RUSSO A, AIELLO C, GRIECO P, et al. Targeting "undrug-gable" proteins: design of synthetic cyclopeptides [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(8): 748-762.

[7] DAHIYA R, GAUTAM H. Toward the synthesis and biological screening of a cyclotetrapeptide from marine bacteria[J]. *Mar Drugs*, 2010, 9(1): 71-81.

[8] CHANDRA K, ROY T K, SHALEV D E, et al. A tandem in situ peptide cyclization through trifluoroacetic acid cleavage [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(36): 9450-9455.

[9] DALETOS G, KALSCHUEER R, KOLIWER-BRANDL H, et al. Callyaerins from the marine sponge *Callyspongia aerizusa*: Cyclic peptides with antitubercular activity [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(8): 1910-1925.

[10] ZHOU X, HUANG H, CHEN Y, et al. Marthiapeptide A, an anti-infective and cytotoxic polythiazole cyclopeptide from a 60 L scale fermentation of the deep sea-derived *Marinactinospira thermotolerans* SCSIO 00652 [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(12): 2251-2255.

[11] KANG K B, MING G, KIM G J, et al. Jubanines F-J, cyclopeptide alkaloids from the roots of *Ziziphus jujuba* [J]. *Phytochemistry*, 2015, 119: 90-95.

[12] ESMAEILI M A, ABAGHERI-MAHABADI N, HASHEMPOUR H, et al. Viola plant cyclotide vigno 5 induces mitochondria-mediated apoptosis via cytochrome C release and caspases activation in cervical cancer cells [J]. *Fitoterapia*, 2016, 109: 162-168.

[13] THEVENARD J, RAMONT L, DEVY J, et al. The YSNSG cyclopeptide derived from tumstatin inhibits tumor angiogenesis by down-regulating endothelial cell migration [J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(5): 1055-1066.

[14] FESTA C, DE MARINO S, SEPE V, et al. Solomonamides A and B, new anti-inflammatory peptides from *Theonella swinhoei* [J]. *Org Lett*, 2011, 13(6): 1532-1535.

[15] SONG L, WANG Z, WANG Y, et al. Natural Cyclopeptide RA-XII, a new autophagy inhibitor, suppresses protective autophagy for enhancing apoptosis through AMPK/mTOR/P70S6K pathways in HepG2 cells [J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 1934.

[16] SCHMIDT G, GRUBE A, KÖCK M. *Stylissamides A-D* new proline-containing cyclic heptapeptides from the marine sponge *Stylissa caribica* [J]. *Eur J Org Chem*, 2007, 2007(24): 4103-4110.

[17] CYCHON C, KÖCK M. *Stylissamides E and F*, cyclic heptapeptides from the caribbean sponge *Stylissa caribica* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(4): 738-742.

[18] CYCHON C, SCHMIDT G, KÖCK M. Sequencing of cyclic peptides by NMR and MS techniques demonstrated on *stylissamides A-F* [J]. *Phytochem Rev*, 2013, 12(3): 495-505.

[19] KUBOTA T, KOBAYASHI J, NAKAMURA K, et al. *stylissamide I*, a new cyclic heptapeptide from an okinawan marine

sponge *Stylissa sp.* [J]. *Heterocycles*, 2017, 95(2): 799-806.

[20] 刘雷明, 王国亮, 王建华, 等. AoGDW 肽固相合成工艺研究 [J]. *化学试剂*, 2009, 31(11): 871-874.

[21] RIJKERS D T S, KRUIJTZER J A W, KILLIAN J A, et al. A convenient solid phase synthesis of S-palmitoyl transmembrane peptides [J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, 46 (19): 3341-3345.

[22] CHEN Y, LIU C, LIU N, et al. Total synthesis and antibacterial study of cyclohexapeptides desotamide B, wollamide B and their analogs [J]. *Chem Biodivers*, 2017, 15(1): e1700414.

[23] LIU C, ZOU Y, SONG H, et al. Arylboronate ester protected amino acids as orthogonal building blocks for fmoc solid phase peptide synthesis [J]. *Eur J Org Chem*, 2017, 2017 (39): 5916-5920.

[24] HUMPHREY J M, CHAMBERLIN A R. Chemical synthesis of natural product peptides: coupling methods for the incorporation of non-coded amino acids into peptides [J]. *Chem Rev*, 1997, 97(6): 2243-2266.

[25] LIU C, CHEN X, ZHI X, et al. Structure-based development of an osteoprotegerin-like glycopeptide that blocks RANKL/RANK interactions and reduces ovariectomy-induced bone loss in mice [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 145: 661-672.

[26] HU H, XUE J, SWARTS B M, et al. Synthesis and antibacterial activities of N-glycosylated derivatives of tyrocidine A, a macrocyclic peptide antibiotic [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(7): 2052-2059.

[收稿日期] 2018-10-31 [修回日期] 2019-02-13

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 443 页)

本次研究表明, TFOFB 溶液的亲脂性强于亲水性, 且在弱酸及中性条件下的溶解度较好; 其单体成分 2', 4'-二羟基查尔酮也具有较好的亲脂性。有研究报道, 若化合物的 $\log P$ 值过低 ($\log P < -2$) 则无法穿过脂质膜, $\log P$ 值过高 ($\log P > 3$) 则会因为脂溶性强而难以从细胞另一侧的膜释放出来, 最适宜经皮吸收的 $\log P$ 值为 2.6^[10]。本研究中, TFOFB 的 $\log P$ 值在 0.38~1.34 之间, 表明其具有一定的皮肤透过性, 但透过性不高, 无法实现最适宜经皮吸收的目标。而其单体成分 2', 4'-二羟基查尔酮的 $\log P$ 值为 2.24, 表明透皮吸收性较好。此外, 体外透皮实验得出 TFOFB 累积透过率较低, 且有一定的时滞, 表明 TFOFB 经皮渗透性能差。

综上所述, 若将 TFOFB 开发成经皮给药制剂, 必须综合考察药效成分特点、制剂剂型及制备工艺等进行系统研究。比如, 可加入一定量的表面活性剂、增溶剂、透皮促进剂或物理方法来增强药物的经皮吸收, 也可考虑脂质体、微乳、纳米粒等经皮给药新型载体。其中, 脂质体具有类脂双分子层结构, 可携带药物渗透进入不规则的脂质双分子层, 促进药物透过皮肤, 增加药物的经皮渗透量; 微乳是一种胶体分散体系, 可增加药物溶解度, 提高药物浓度梯度, 促进角质层脂质双层的流动性, 并且其分散相可作为药物储库; 纳米粒是用适宜的高分子材料制成的固态胶体分散系统, 除了可在皮肤形成储库外, 还可通过改变药物在载体-皮肤中的分配系数调控药物的透皮吸收过程。总之, 新型载体可增加药物溶解性, 促进药物的透皮吸收, 同时具有药物储库功

能, 有助于活性成分透过表皮层, 滞留于真皮层, 进而提高制剂的生物利用度。

【参考文献】

[1] 魏学红, 金莉. 藏药镰形棘豆的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(11): 1535-1538.

[2] 陈锦珊, 杨钦磊, 刘晓玲, 等. 藏药镰形棘豆的化学成分、药理作用及毒理学研究进展 [J]. *中国药房*, 2016, 27(28): 3945-3948.

[3] 钱江, 陈锦珊, 胡永狮, 等. 镰形棘豆防晒霜对海训官兵日晒伤防护研究 [J]. *东南国防医药*, 2012, 14(2): 105-107.

[4] LOU C H, YANG G M, CAI H, et al. 2', 4'-Dihydroxychalcone-induced apoptosis of human gastric cancer MGC-803 cells via down-regulation of survivin mRNA [J]. *Toxicol In Vitro*, 2010, 24(5): 1333-1337.

[5] LIN X F, CHEN K J, SHI H K, et al. Therapeutic effect and mechanism of *Oxytropis falcata* gel on deep second-degree burn in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 3729547.

[6] 王艺红, 蔡小辉, 曾棋平, 等. 藏药镰形棘豆抗深 II 度烧伤活性部位筛选 [J]. *解放军药学报*, 2018, 34(1): 11-14.

[7] 曾棋平, 王艺红, 蔡小辉, 等. 星点设计-效应面法优化镰形棘豆总黄酮的提取工艺 [J]. *中国药师*, 2017, 20(5): 801-804.

[8] 蔡小辉, 曾棋平, 杨丽娜, 等. 正交法优化大孔树脂纯化镰形棘豆中总黄酮的工艺 [J]. *解放军药学报*, 2018, 34(5): 387-389.

[9] 李俊生, 吕佳佳, 王兴慧, 等. 黄芩总黄酮及其单体的溶解性及体外经皮渗透性能研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(2): 200-207.

[10] 乔建卫, 裴广庆, 刘向东, 等. 黄芩总黄酮溶解度和表观油水分配系数的测定 [J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(24): 2026-2028.

[收稿日期] 2018-12-27 [修回日期] 2019-06-12

[本文编辑] 李睿旻