

柚皮素-7-*O*-乙酸酯和柚皮素-7-*O*-丙酸酯的 制备及抗血小板聚集活性

薛 敏, 张 浩, 朱玉凤, 段 煜*

潍坊医学院药学院, 潍坊 261053

摘要: 为改善柚皮素的水溶性而不降低其抗血小板聚集活性, 本文以柚皮苷为原料, 经“4'位羟基苄基化-酸水解苷键-酰化-加氢脱苄基”四步反应, 合成出柚皮素-7-*O*-乙酸酯和柚皮素-7-*O*-丙酸酯。两种衍生物在水中的溶解度分别为 $637.34 \pm 53.23 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $59.74 \pm 4.81 \mu\text{g}/\text{mL}$, 均高于柚皮素的溶解度。两种衍生物均对二磷酸腺苷诱导的兔体外和大鼠体内血小板聚集有显著的抑制活性, 且抑聚率均高于柚皮素。实验结果表明, 通过选择酰化柚皮素的7位羟基, 引入含1~2个碳的短脂肪烃基链, 能显著改善水溶性, 提高抗血小板聚集活性。

关键词: 柚皮素; 区域选择性酰化; 水溶性; 抗血小板聚集

中图分类号: R914.4

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.8.018

Synthesis and Anti-Platelet Aggregation Activity of Naringenin -7-*O*-acetate and Naringenin-7-*O*-propionate

XUE Min, ZHANG Hao, ZHU Yu-feng, DUAN Yu*

Department of Pharmacy, Weifang Medical College, Weifang 261053, China

Abstract: To improve the water solubility without affecting the anti-platelet aggregation activity of naringenin, two acylated derivatives of naringenin, namely naringenin-7-*O*-acylate, naringenin-7-*O*-propionate were synthesized by a four step synthesis route, benzylation-hydrolysis-acylation-hydrogenation, with naringin as raw material. The water solubility of naringenin-7-*O*-acylate and naringenin-7-*O*-propionate were $637.34 \pm 53.23 \mu\text{g}/\text{mL}$ and $59.74 \pm 4.81 \mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, both of which were higher than that of naringenin. These two derivatives inhibited platelet aggregation induced by adenosine diphosphate both *in vitro* and *in vivo*, and both showed higher anti-platelet aggregation activity than naringenin. The results suggested that the acylation of hydroxyl group at C7 of naringenin with aliphatic acyl donors containing two or three carbons not only provided the suitable water solubility but also improved the anti-platelet aggregation activity of naringenin.

Key words: naringenin; regioselective acylation; water solubility; anti-platelet aggregation

柚皮素(naringenin)是一种广泛存在于植物和中药中的二氢黄酮类化合物, 结构式见图1, 具有抗肿瘤、抗炎、抗真菌、抗动脉粥样硬化、抗血小板聚集、降血脂、镇咳等药理活性^[1,2]。近年来, 心脑血管疾病的发生与死亡对人类的生活质量的严重影响使柚皮素的抗血小板聚集作用得到重视。廖霞^[3]等人的研究表明, 柚皮素在家兔、大鼠体内对凝血酶诱导的血小板聚集有抑制作用。但是, 大多数黄酮类化合物的脂溶性和水溶性较差, 生物利用度低, 据

文献报道^[4,5], 柚皮素在家兔体内的生物利用度以游离柚皮素计仅为4%, 以酶解后柚皮素总质量计为8%。低生物利用度限制了柚皮素的临床应用。国内外研究表明^[6-8], 通过对柚皮素或其他黄酮类化合物结构进行修饰, 引入脂溶性或水溶性基团, 可以在保证生理活性的前提下提高脂溶性或水溶性, 改善生物利用度。

目前, 关于黄酮类衍生物的合成有酶法或化学-酶结合法^[9]、传统化学酰化法。在传统化学法中通常采用“保护活性基团-衍生化-去保护基团”的合成路线^[10,11]。本文中采用传统化学酰化法合成柚皮素区域选择酰化衍生物。

为改善柚皮素的水溶性而不影响其抗血小板聚

收稿日期: 2016-04-25 接受日期: 2016-06-15

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2010HQ052); 山东省医药卫生科技发展计划(2011QZ025, 2014WSB27002)

* 通讯作者 Tel: 86-536-8462493; E-mail: duanyu@wfmc.edu.cn

集活性,本文中以柚皮苷为原料,采用“苄基化-水解-酰化-加氢还原”四步化学合成法,合成了两个柚皮素酰化衍生物:柚皮素-7-*O*-乙酸酯(N-ac)和柚皮素-7-*O*-丙酸酯(N-pr),用反相液相色谱法测定了这两个衍生物的水溶性,并通过大鼠体内实验和新西兰兔体外实验初步测定了两个衍生物抑制二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集活性。

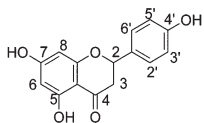


图1 柚皮素的结构式

Fig. 1 Chemical structure of naringenin

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

仪器:RE52-86A型旋转蒸发仪(北京博医康实验仪器有限公司),FD-1D-50型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司),半制备高效液相色谱仪(Agilent1200,美国Agilent公司),分析型高效液相色谱仪(LC-20AT,日本Shimadzu公司),液相色谱-质谱联用仪(Agilent 6410,美国Agilent公司),血小板聚集仪(LBY-NJ4A,北京普利生仪器有限公司),Avance III plus 600 MHz核磁共振仪(布鲁克公司)。

试剂:柚皮苷($\geq 98\%$),生化试剂,购自南京中药技术研究所;乙酸酐、丙酰氯,均为分析纯,购自阿拉丁试剂有限公司;溴化苄,化学纯,N,N-二甲基甲酰胺(DMF),分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司,临用前均重蒸;三乙胺,分析纯,购自天津科密欧化学试剂有限公司,使用前脱水处理;钯炭催化剂,10%,国药集团化学试剂有限公司;ADP,生化试剂,购自Sigma-Aldrich试剂公司,用前溶于生理盐水中;其他化学试剂购自当地化学试剂供应商。

1.2 实验动物

新西兰兔,体重2.0~3.0 Kg,雄性,由山东鲁抗制药有限公司实验动物中心提供,合格证号:鲁实动证字0017075号。Wistar大鼠,体重250~300 g,雄性,山东鲁抗制药有限公司实验动物中心提供,合格证号:鲁实动证字0010061号。

所有动物实验均获得潍坊学医学院伦理委员会批准。

1.3 N-ac和N-pr的合成

以柚皮苷为原料,采用四步合成路线“苄基化-水

解-酰化-加氢还原”制备N-ac和N-pr。

第一步,苄基化。根据Wuts报道的方法^[12],柚皮苷(17.5321 g,30.2 mmol)和无水 K_2CO_3 (10.4334 g,75.5 mmol)依次在氮气氛中加入到150 mL的DMF中,室温下搅拌1 h,之后缓慢滴加溴化苄(9.10 mL,75.5 mmol)。滴加完毕后,在氮气氛中于40℃搅拌3 h。反应完毕后,在冰浴中用10%(体积比)的乙酸溶液调pH为6.0,之后加入400 mL去离子水,离心,弃上清,沉淀即为苄基化产物。

第二步,水解。将苄基化产物溶于450 mL 95%(体积比)的乙醇中,加入36 mL 36%(质量比)的浓盐酸,70℃下回流水解2 h。过滤,滤饼用去离子水洗至中性即得水解产物。

第三步,酰化。水解产物5.0014 g即13.8 mmol溶于500 mL的二氯甲烷中,加入乙酸酐(3.30 mL,35.0 mmol)或丙酰氯(3.00 mL,34.5 mmol)和三乙胺(4.80 mL,34.5 mmol),室温下搅拌反应。用硅胶薄层板监测反应进程,展开剂,乙酸乙酯:丙酮:冰醋酸=65:15:1(体积比),紫外检测波长370 nm,至原料点消失停止反应。将反应液倒入分液漏斗,依次用1 mol/L盐酸、碳酸氢钠饱和溶液、水洗涤,收集氯仿层。加入无水硫酸钠至不再结块,放置过夜。抽滤得滤液,滤液真空脱溶剂即得酰化产物。

第四步,加氢还原。酰化产物1.9894 g溶解于500 mL的乙醇/二氧六环(1:1,体积比)的混合溶剂中,加入1.9927 g的钯炭催化剂,在氢气氛中于室温搅拌反应2 h。过滤除去催化剂,滤液真空脱溶剂即得N-ac或N-pr的粗品。

1.4 N-ac和N-pr的纯化

Agilent 1200半制备高效液相色谱仪用于纯化得到N-ac和N-pr的纯品。色谱柱:Agilent ZORB-AX-SB C_{18} 半制备柱(250×9.4 mm,5 μm)。色谱条件:上样量200 μL ;流速5 mL/min;柱温室温;流动相组成,N-ac,乙腈/水(60:40,体积比),N-pr,乙腈/水(50:50,体积比);254 nm紫外检测。

1.5 N-ac和N-pr水溶性的测定

柚皮素、N-ac和N-pr的水溶性测定依据Bonina等采用的方法^[13]。具体为,过量的化合物溶解于含2 mL去离子水的玻璃瓶中,聚四氟乙烯塞子密封,室温下磁力搅拌24 h,过滤。滤液为化合物的饱和水溶液,其浓度用Shimadzu LC-20AT高效液相色谱仪测定,检测重复10次。色谱柱:Shimadzu Shim-pack VP-ODS C_{18} 色谱柱(250×4.6 mm,5 μm)。色

谱条件:上样量 20 μL ;流速 1 mL/min;柱温室温;流动相组成,乙腈/水(40:60,体积比);372 nm 紫外检测。

1.6 抗血小板聚集活性的测定

1.6.1 兔体外实验

富血小板血浆 (PRP) 和贫血小板血浆 (PPP) 的制备依据文献^[14],具体为,新西兰兔颈总动脉取血,以 3.8% 枸橼酸钠抗凝(血与抗凝剂的体积比为 9:1),收集于塑料离心管中,室温下以 1400 rpm 离心 8 min,取上层液即为 PRP,剩余血液继续以 4000 rpm 离心 15 min,取上层液即为 PPP。测定时,用 PPP 调 PRP 中的血小板数约为 5×10^8 cell/mL。

比浊法测定血小板聚集率^[14]。首先用 300 μL PPP 调零,之后于比浊管中加入 300 μL PRP。药物组分别加入不同浓度的柚皮素、N-ac 或 N-pr 的二甲基亚砜 (DMSO) 溶液各 3 μL (DMSO 的终体积不得超过 1.0%,防止引起假阳性结果)。阴性对照组加入 3 μL DMSO。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min 后,加入 ADP 溶液,使其终浓度为 7 $\mu\text{mol/L}$,记录 5 min 内的最大聚集率。血小板聚集抑制率按下式计算:抑聚率 (%) = $[(1 - \text{药物组聚集率} / \text{阴性对照组聚集率})] \times 100\%$ 。

1.6.2 大鼠体内实验

柚皮素、N-ac 和 N-pr 分别溶解于 30% 的丙二醇水溶液中。

Wistar 大鼠随机分为 4 组,每组 8 只。N-ac 组、N-pr 组、柚皮素组分别尾静脉注射给药,剂量参照文献^[15],均为 30 $\mu\text{mol/kg}$ 。阴性对照组,尾静脉注射 0.5 mL 30% 的丙二醇水溶液。给药 30 min 后,心脏取血。血样处理和血浆制备与体外实验相同。

比浊法测定血小板聚集率^[14]。首先用 300 μL PPP 调零,之后于比浊管中加入 300 μL PRP,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min 后,加入 ADP 溶液,使其终浓度为 7 $\mu\text{mol/L}$,记录 5 min 内的最大聚集率。血小板聚集抑制率按下式计算:抑聚率 (%) = $[(1 - \text{药物组聚集率} / \text{阴性对照组聚集率})] \times 100\%$ 。

2 结果与讨论

2.1 柚皮素的区域选择性酰化

对黄酮类化合物构效关系的研究表明,柚皮素 B 环的 4' 位羟基活性最强,对其发挥生物活性具有非常重要的作用^[16,17]。为了确保酰化过程中保留柚皮素的 4' 位羟基,我们选用柚皮苷为原料,采用了“保护活性基团-酰化-去保护基团”的合成策略。合成路线包括四个步骤,见图 2。

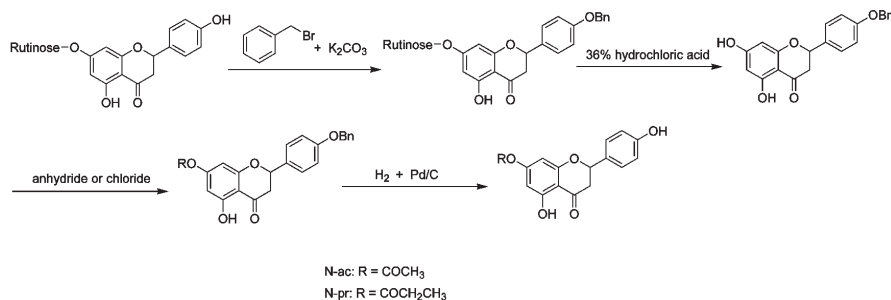


图 2 柚皮素 7-O-酰化衍生物合成路线

Fig. 2 The four step synthetic route of naringenin acylated derivatives

第一步,苯化。加入 2.5 倍摩尔量的无水 K_2CO_3 作为催化剂,使柚皮苷的 4' 位羟基形成氧负离子,5 位羟基与 4 位羰基形成分子内氢键无法形成氧负离子^[18]。加入 2.5 倍摩尔量的苯化溴,使氧负离子形成苯氧基,生成 4'-O-苄基柚皮苷,从而保护 4' 位的活性羟基。为了避免产生 C-烷基化的衍生物,非质子溶剂 DMF 作为反应溶剂。第二步,水解 4'-O-苄基柚皮苷的苷键,暴露 7 位羟基。第三

步,酰化。5 位羟基容易与 4 位羰基形成分子内氢键而呈现反应惰性^[19]。加入过量即 2.5 倍摩尔量的三乙胺作为碱性催化剂和 2.5 倍摩尔量的乙酸酐或丙酰氯,仅 7 位羟基发生酰化,生成 4'-O-苄基-7-O-酰化柚皮素。第四步,加氢还原反应脱去 4' 位的苄基,生成 N-ac 和 N-pr 的粗产物。

半制备型高效液相色谱纯化粗产物,得到的 N-ac 和 N-pr 纯品,其产率分别为 65%、72%,均为白

色粉末。

2.2 酰化衍生物的结构表征

酰化衍生物中脂肪酰基的数量和位置由¹H NMR、¹³C NMR 和 MS 谱进行了表征。

¹H NMR 谱中,两个酰化衍生物 7 位羟基中的活泼质子都消失了,这是 7-取代柚皮素的显著特征。酰化后,7 位的羟基变成酰基,基团的吸电性增强,对邻位 8 位和 6 位的质子起到去屏蔽效应,因此其位移均向低场移动;对于 N-ac,由原来的 5.89 ppm 分别移动到 6.22 ppm 和 6.12 ppm;对于 N-pr,移动到 6.26 ppm 和 6.15 ppm。酰化反应引入了短脂肪碳链,N-ac 中的 2.20 ppm 处的峰为一个甲基的质子峰,积分面积位 3,符合质子数目;N-pr 中 2.62 ppm 和 1.14 ppm 处的峰分别为一个亚甲基和一个甲基的质子峰,积分面积分别为 2 和 3,符合质子数目。酰化衍生物的其他质子位移与其改性前体柚皮素的基本一致。¹³C NMR 谱中,N-ac 和 N-pr 的酯羰基碳的化学位移分别在 169.11 ppm 和 172.39 ppm,这表明成功将脂肪酰基引入柚皮素。柚皮素 7 位碳的化学位移在 167.12 ppm,而 N-ac 和 N-pr 7 位碳的化学位移均向高场移动,分别在 155.19 ppm 和 152.23 ppm,表明酰化发生在 7 位。由于 7 位酰基的去屏蔽作用,邻位 6 位和 8 位碳的化学位移分别向低场移动;柚皮素 6 位和 8 位碳的位移分别在 96.29 ppm 和 95.46 ppm,N-ac 的分别向低场移动至 101.34 ppm 和 101.34 ppm;N-pr 的分别向低场移动至 105.66 ppm 和 100.96 ppm。衍生物和柚皮素的其它碳的化学位移相同。上述核磁分析表明,酰化选择性地发生在柚皮素的 7 位羟基,保留了 4'位的活性羟基。

酰化衍生物的 MS 谱进一步证实了其分子结构。对于 N-ac,315.09 *m/z* 分子离子峰[M+1]⁺与 N-ac 的分子量 314.25 一致;对于 N-pr,327.09 *m/z* 分子离子峰[M-1]⁻与 N-pr 分子量 328.25 相一致。

柚皮素,¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 12.16 (1H, s, 5-OH), 10.80 (1H, s, 7-OH), 9.60 (1H, s, 4'-OH), 7.33 (2H, d, H-2', H-6'), 6.80 (2H, d, H-3', H-5'), 5.89 (2H, s, H-8, H-6), 5.46 (1H, dd, H-2), 3.26 (1H, dd, H-3_{trans}), 2.67 (1H, dd, H-3_{cis}); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz): δ 196.8 (C-4), 167.1 (C-7), 164.0 (C-5), 163.4 (C-9), 158.2 (C-4'), 129.3 (C-1), 128.9 (C-2'), 128.8 (C-6'), 115.7 (C-3', C-5'), 102.3 (C-10),

96.3 (C-6), 95.5 (C-8), 78.9 (C-2), 42.5 (C-3)。

N-ac, ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600MHz): δ 9.58 (1H, s, 4'-OH), 7.28 (2H, d, H-2', H-6'), 6.74 (2H, d, H-3', H-5'), 6.22 (1H, d, H-8), 6.12 (1H, d, H-6), 5.34 (1H, dd, H-2), 3.02 (1H, dd, H-3_{trans}), 2.50 (1H, dd, H-3_{cis}), 2.20 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz): δ 189.0 (C-4), 169.1 (C=O), 164.7 (C-5), 164.3 (C-9), 158.2 (C-4'), 152.2 (C-7), 129.4 (C-1), 128.8 (C-2', 6'), 115.6 (C-3'), 107.0 (C-5'), 105.4 (C-10), 101.3 (C-6, C-8), 79.0 (C-2), 44.4 (C-3), 19.5 (CH₃). ESI-MS *m/z* 315.09 [M+1]⁺ (calcd for C₁₇H₁₄O₆, 314.25)。

N-pr, ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 9.63 (1H, s, 4'-OH), 7.32 (2H, d, H-2', H-6'), 6.78 (2H, d, H-3', H-5'), 6.26 (1H, s, H-8), 6.15 (1H, s, H-6), 5.39 (1H, d, H-2), 3.08 (1H, m, H-3_{trans}), 2.62 (2H, q, CH₂), 2.54 (1H, m, H-3_{cis}), 1.14 (3H, t, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 150 MHz): δ 189.0 (C-4), 172.4 (C=O), 165.0 (C-5), 164.1 (C-9), 158.2 (C-4'), 152.2 (C-7), 129.9 (C-1'), 128.3 (C-2'), 122.6 (C-6'), 115.6 (C-3'), 106.6 (C-10), 105.7 (C-6), 101.0 (C-8), 79.1 (C-2), 44.0 (C-3), 27.4 (CH₂), 9.1 (CH₃). ESI-MS *m/z* 327.09 [M-1]⁻ (calcd for C₁₈H₁₆O₆, 328.25)。

2.3 N-ac、N-pr 的水溶性

N-ac、N-pr 和柚皮素的色谱保留时间分别为 4.18、5.86 min 和 3.61 min。见图 3。

经测定,N-ac、N-pr 和柚皮素在水中的溶解度分别为 637.34 ± 53.23、59.74 ± 4.81 μg/mL 和 16.78 ± 1.23 μg/mL。两个衍生物的水溶性均远大于柚皮素,且具有显著性差异(*P* < 0.001)。从分子角度解释,柚皮素的 7 位被乙酰基或丙酰基取代后,分子间由整齐排列转为参差不齐的排列,水分子更容易进入分子间的空隙,增大水化程度,从而增大水溶性。对比 N-ac 和 N-pr 的水溶性,N-ac 的溶解度是 N-pr 的 10.7 倍,具有显著性差异(*P* < 0.001)。这是由于引入柚皮素分子中的碳链越长,疏水作用越强,衍生物的水溶性降低。Saija 等^[20]和 Montenegro 等^[21]测定了含 2、3、4、6、12、14 个碳的槲皮素 3 位羟基酰化衍生物的溶解度,含 2、3、4 个碳的短碳链衍生物的水溶性大于其前体槲皮素,且随碳链增长溶解度降低;而含 12、14 个碳的长碳链衍生物,其

水溶性反而低于槲皮素。结果表明,在黄酮类化合物分子中引入短脂肪烃链能显著增加水溶性。

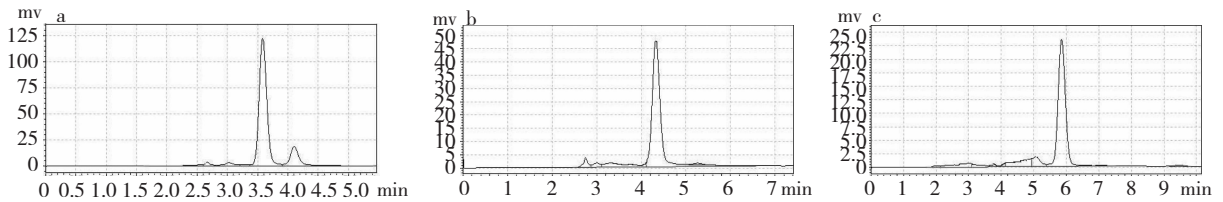


图3 柚皮素(a)、N-ac(b)和N-pr(c)的高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of naringenin (a), N-ac (b) and N-pr (c)

2.4 N-ac、N-pr 抗血小板聚集活性

通过体内和体外动物实验初步评价了 N-ac、N-pr 和柚皮素抗 ADP 诱导的血小板聚集,结果见图 4 和图 5。

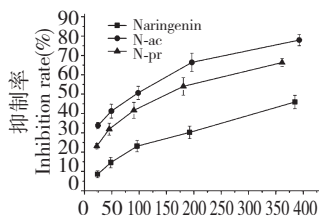


图4 柚皮素、N-ac 和 N-pr 体外抗 ADP 诱导的血小板聚集 ($n=6$)

Fig. 4 Naringenin, N-ac and N-pr inhibited platelet aggregation induced by ADP *in vitro* ($n=6$)

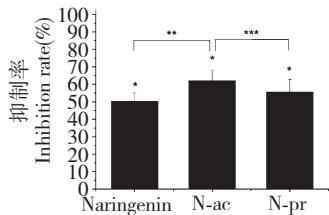


图5 柚皮素、N-ac 和 N-pr 体内抗 ADP 诱导的血小板聚集 ($n=8$)

Fig. 5 Naringenin, N-ac and N-pr inhibited platelet aggregation induced by ADP *in vivo* ($n=8$)

注:与阴性对照组的抑聚率比较,* $P < 0.001$; ** $P < 0.001$; *** $P < 0.01$

Note: Compared with the solubility of quercetin, * $P < 0.001$; ** $P < 0.001$; *** $P < 0.01$

结果表明,两个酯化衍生物 N-ac 和 N-pr 的体外、体内均具有抗血小板聚集活性,且活性均高于其改性前体柚皮素。说明通过酯化将短脂肪碳链引入柚皮素的 7 位,没有破坏柚皮素的活性基团。N-ac 的活性最大,其体内活性与柚皮素有显著差异 ($P < 0.001$),说明由于溶解性增大,抗血小板聚集活性

也随之增强。N-ac 与 N-pr 比,其体内活性也有显著差异 ($P < 0.01$),这与其在水中的溶解度最大是密切相关的。适宜的水溶性利于化合物在体液中达到适宜的浓度,增大生物利用度和活性。这可以从 Saija 等^[20]对槲皮素-3-O-脂肪酸酯与磷脂膜相互作用的研究中得到证明,他们认为,引入短脂肪烃基链使黄酮化合物衍生物具有了适宜的物化性质,能够迁移通过水性环境,并与双层膜发生相互作用。

课题组曾对槲皮素选择性酯化的衍生物进行了抗血小板聚集的研究,发现在槲皮素的非活性基团处酯化生成的衍生物,具有更好的水溶性和抗血小板聚集活性^[22]。这与本论文的结果一致。进一步说明,通过选择性酯化反应,将短脂肪碳链引入黄酮类化合物的非活性基团,而保留其活性结构,能改善其水溶性,保留甚至增强生物活性。

3 结论

柚皮素具有显著的抗血小板聚集活性,本研究用含有短脂肪烃基链的酰基供体选择性酰化槲皮素的 7 位羟基,生成的衍生物 N-ac 和 N-pr 具有更高的水溶性和更强的抗血小板聚集活性,对开发柚皮素为防治心血管疾病的功能性食品和药物具有研究和应用意义。

参考文献

- Mir IA, Tiku AB. Chemopreventive and therapeutic potential of "naringenin", a flavanone present in citrus fruits. *Nutr Cancer*, 2015, 67:27-42.
- Ji P, Zhao WM, Yu T. Recent research progress of naringenin. *Chin J New Drugs*, 2015, 24:1382-1392.
- Liao X, Liu W, Ding H. Effect of naringenin on rabbit platelet aggregation induced by thrombin. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2010, 21:2909-2910.
- Ma Y, Lin BQ, Li WZ, et al. Absorption kinetics of naringenin in rat intestines. *Chin Tradit Patent Med*, 2012, 34:

- 1487-1491.
- 5 Hsiu SL, Huang TY, Hou YC, *et al.* Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life Sci*, 2002, 70:1481-1489.
 - 6 Guo GC, Wang YH, Zhang F, *et al.* Synthesis and anti-tumor activity of naringenin derivatives. *J Henan Univ*, 2010, 29: 110-112.
 - 7 Li TJ, Lu B, Qiu Y, *et al.* Naringenin and derivatives use for the preparation of anti-cardiovascular and cerebrovascular disease. CN, ZL200610023756. 3, 2006-02-06.
 - 8 Lee SK, Lee CH, Moon SS, *et al.* Naringenin derivative as anti-atherogenic agents. *Biol Med Chem Lett*, 2003, 13: 3901-3903.
 - 9 Duan Y, Du ZL, Yao YY, *et al.* Effect of molecular sieves on lipase-catalyzed esterification of rutin with stearic acid. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 6219-6225.
 - 10 Thapa M, Kim Y, Desper J, *et al.* Synthesis and antiviral activity of substituted quercetins. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 353-356.
 - 11 Madhukar M, Sawraj S, Sharam PD. Design, synthesis and evaluation of mutual prodrug of 4-biphenylacetic acid and quercetin tetramethyl ether (BPA-QTME) as gastroprotecting NSAID. *Eur J Med Chem*, 2010, 45: 2591-2596.
 - 12 Wuts PGM, Greene TW. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4 ed. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2007. 370-406.
 - 13 Bonina FP, Montenegro L, Capraris PD, *et al.* 1-Alkylazacycloalkane-2-one esters as prodrugs of indomethacin for improved delivery through human skin. *Int J Pharm*, 1991, 77: 21-29.
 - 14 Chen P(陈鹏), Yang LC(杨丽川), Lei WY(雷伟亚), *et al.* Effects of polydatin on platelet aggregation and cytosolic calcium. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2005, 17: 21-25.
 - 15 Mosawy S, Jackson DE, Woodman OL, *et al.* Treatment with quercetin and 3',4'-dihydroxyflavonol inhibits platelet function and reduces thrombus formation *in vivo*. *J Thromb Thrombolysis*, 2013, 36: 50-57.
 - 16 Zhang HY(张红雨). Flavonoids Antioxidants structure-activity relationship of theory to explain. *Sci China: B* (中国科学: B 辑), 1999, 29: 91-96.
 - 17 Foti M, Piattelli M, Tiziana BM, *et al.* Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system, Structure-activity relationship. *J Agric Food Chem*, 1996, 44: 497-501.
 - 18 Li HJ(李化军). Studies on the synthesis of the 3-substituted quercetin. Beijing: Academy of Military Medical Sciences(军事医学科学院), MsD. 2004.
 - 19 Wang KJ(王克军), Li HJ(李华军), Zhao YM(赵毅民). Phase-transfer-catalyzed synthesis of hirsutrin and hyperin. *Pharm. J Chin PLA* (解放军药学报), 2005, 21: 85-87.
 - 20 Saija A, Tomaino A, Trombetta D, *et al.* "In vitro" antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. *Eur J Pharm Biopharm*, 2003, 56: 167-174.
 - 21 Montenegro L, Carbone C, Maniscalco C, *et al.* In vitro evaluation of quercetin-3-O-acyl esters as topical prodrugs. *Int J Pharm*, 2007, 336: 257-262.
 - 22 Zhu YF(朱玉凤), Xue M(薛敏), Duan Y(段煜). Synthesis and anti-platelet aggregation activity of quercetin-3-O-acetate and quercetin-3-O-propionate. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1346-1351.

(上接第 1265 页)

- 5 Qu W(曲伟), Wang MJ(王孟君), Yu HY(于海燕), *et al.* Study on the antioxidant activity of Maojian tea polysaccharides and its conjugate. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 210-213.
- 6 Bai DS(白娣斯), Zhang J(张静). Study on comparison of two derivatization methods of polysaccharides by GC. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2011, 32: 322-324.
- 7 Wu YJ(吴玉娟), Wang YP(王懿萍), Jiang YW(姜延伟), *et al.* Determination and antioxidant activity analysis of *Coptis chinensis* polysaccharide. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2008, 19: 1906-1908.
- 8 Cai HL(蔡海兰), Huang XJ(黄晓君), Nie SP(聂少平), *et al.* Effects of polysaccharides from *Dendrobium officinale* on the production of TNF- α by RAW264.7 cells. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2012, 28: 1553-1556.
- 9 Wu JH(武俊华), Luo C(罗成). Effect of Viili Exopolysaccharides on the activation, cell proliferation and cytokine production of murine macrophage cell line RAW264.7. *Curr Immunol* (现代免疫学), 2013, 33: 113-118.