

# 松萝酸的结构修饰与生物活性研究进展

贾 妍, 邓雁如, 王莉宁\*

天津中医药大学中药学院, 天津 301617

**摘要:** 松萝酸是一种二苯并呋喃类衍生物, 为地衣植物的特有成分, 具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤等生物活性。为增强松萝酸的生物活性及溶解性, 学者们对其开展了大量的结构修饰与改造, 发现了一些更具有潜在研究价值的松萝酸衍生物。本文综述了松萝酸结构修饰、生物活性和构效关系的研究, 为松萝酸衍生物类药物的开发提供参考。

**关键词:** 松萝酸; 地衣酸; 结构修饰; 生物活性; 构效关系

中图分类号: R914

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)6-1065-13

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.6.022

## Research advances of the structural modification and biological activities of usnic acid derivatives

JIA Yan, DENG Yan-ru, WANG Li-ning\*

School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

**Abstract:** Usnic acid is a lichen-derived secondary metabolite with a unique dibenzofuran scaffold, which has antibacterial, antiviral, antitumor and other biological activities. For increasing the biological activity and solubility, various usnic acid derivatives have been synthesized through structural modifications. In this paper, their structural modification, biological activity and structure-activity relationship are reviewed in order to give some references for the further research.

**Key words:** usnic acid; lichenic acid; structural modification; biological activities; structure-activity relationship

松萝酸(usnic acid)又名地衣酸, 是地衣中分布最广泛的重要次级代谢产物之一。1844年, 德国科学家克诺普(knop)从地衣中首次分离出来。其化学名为2,6-二乙酰基-7,9-二羟基-8,9b-二甲基-1,3(2H,9bH)-二苯并呋喃二酮, 存在左旋(-)、右旋(+)两种构型(结构式见图1), 多分布于松萝属*Usnea*、树花属*Ramalina*、石蕊属*Cladonia*、树发属*Alectoria*、梅衣属*Parmelia*、茶渍属*Lecanora*等<sup>[1,2]</sup>。松萝酸或粗提物多用于护肤品、保健品、抑菌剂等; 在欧洲等地区, 已经将松萝酸作为膏剂、乳剂用于治疗创伤及化脓性伤口; 还作为膳食补充剂在美国销售; 松萝酸钠可用于治疗肺结核<sup>[3,4]</sup>; 目前, 已有一些松萝酸药物作为抗菌剂上市, 如意大利的Foot zeta、Micofoot Zeta 和 Steril Zeta, 印度尼西亚的Scabicid等, 松萝酸有着广泛的应用前景。由于其结构独

特且具有多种生物活性, 因此受到化学家及药物学家的广泛关注<sup>[5]</sup>。

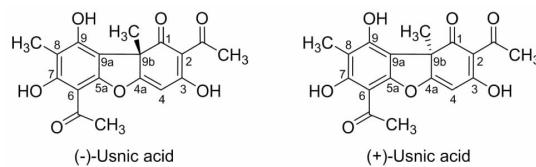


图1 松萝酸的化学结构

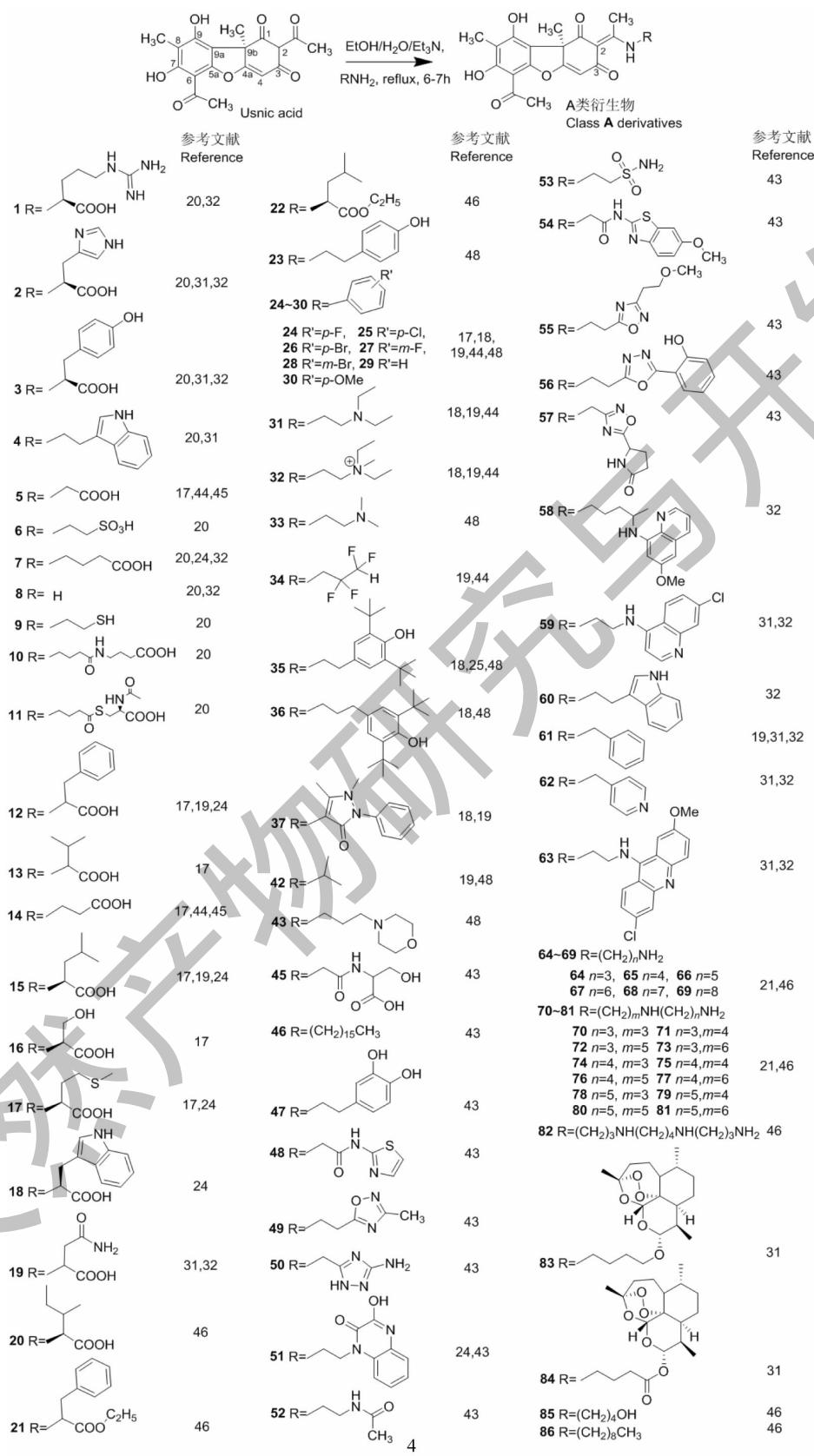
Fig. 1 The chemical structures of (-) and (+) usnic acid

研究表明, 松萝酸具有广谱生物活性, 体外实验已经证明抗菌<sup>[6-8]</sup>、抗肿瘤<sup>[9]</sup>、抗病毒、抗结核<sup>[3,10]</sup>、促进伤口愈合<sup>[11]</sup>、抗有丝分裂<sup>[12]</sup>、诱导细胞凋亡和抗增殖<sup>[13]</sup>, 还可用作昆虫病原微生物的杀虫增效剂<sup>[14]</sup>等多种生理活性。然而由于溶解度较差, 体内生物利用度低等原因<sup>[1,3,15,16]</sup>, 使得松萝酸的应用受到很大限制。为了改善溶解性并提高生物活性, 研究者对其进行结构修饰, 发现其衍生物在抗菌、抗病毒、抗肿瘤等方面具有较好的活性。结合本课题组研究方向, 现从松萝酸的结构修饰和衍生物的生

收稿日期: 2019-11-20 接受日期: 2020-04-01

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(81202444); 天津市应用基础及前沿技术研究计划面上基金(18JCYBJC28900)

\*通信作者 Tel: 86-018702291439; E-mail: liningwang@aliyun.com



续图2(Continued Fig.2)

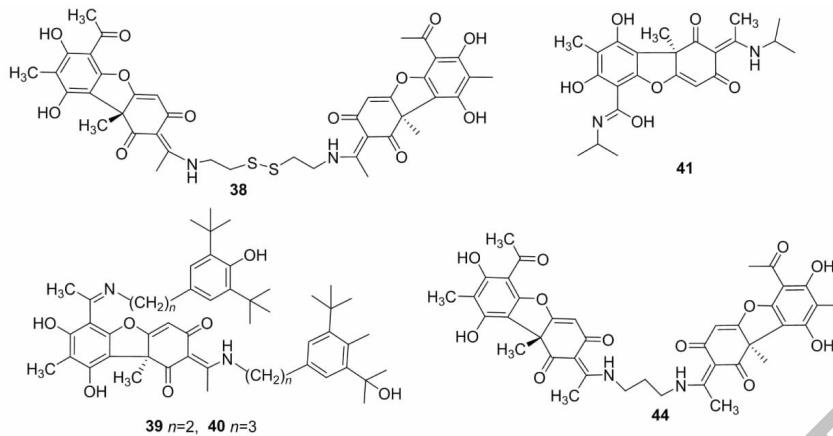


图 2 A 类衍生物的反应路线与化学结构

Fig. 2 The reaction route and chemical structures of a class A derivatives

物活性两方面进行介绍，并总结其构效关系。

## 1 松萝酸的结构修饰

目前已研究的松萝酸衍生物主要有 8 类:(1) A 类衍生物:松萝酸的烯胺衍生物 1~86; (2) B 类衍生物:松萝酸 6 位乙酰基与溴取代反应的衍生物,包括呋喃酮衍生物 87~118(B1 系列)、硫醚衍生物 119~128(B2 系列)、噻唑衍生物 129~144(B3 系列);(3) C 类衍生物:松萝酸与芳香醛的 Claisen-Schmidt 反应衍生物 145~194;(4) D 类衍生物:松萝酸与苯肼类化合物反应的衍生物,包括腙衍生物 195~201(D1 系列)、毗唑衍生物 202~242(D2 系列);(5) E 类衍生物:松萝酸的酯化衍生物 243~253;(6) F 类衍生物:松萝酸的醚化衍生物 254~258;(7) G 类衍生物:松萝酸的曼尼希衍生物 259~263;(8) 其他衍生物 264~266。具体衍生物反应路线描述如下。

### 1.1 松萝酸烯胺衍生物(A类衍生物)

在乙醇回流条件下,松萝酸的 2 位(或 6 位)乙酰羰基对伯胺、仲胺进行亲核攻击,发生烯胺反应<sup>[17,18]</sup>,生成衍生物 1~86(结构见图 2),其中 39 和 40<sup>[18]</sup>、41<sup>[19]</sup>修饰位点在 2 和 6 位,38<sup>[20]</sup>和 44<sup>[21]</sup>形成二聚体衍生物,其余修饰位点均只在 2 位。松萝酸与不同胺试剂反应,所得衍生物产率不同,丝氨酸衍生物(16)、蛋氨酸衍生物(17)衍生物产率低于 30%,其他 10 种氨基酸衍生物(1~3、5、12~15、18、20)和苯胺衍生物(24~30)产率均大于 60%;46、70~81、85 和 86 为松萝酸的长烷基链烯胺衍生物,其中只含一个氮原子的较长烷基链衍生物(46、85 和 86)产率为 70% 左右,含有三个氮原子的较长支链

衍生物(70~81)产率为 34%~49%,从反应产率来看,支链中杂原子越多,产率越低。

### 1.2 松萝酸 6 位乙酰基与溴取代反应的衍生物(B类衍生物)

松萝酸与溴在二恶烷中发生亲电取代反应生成中间体 a。a 在不同条件下与不同试剂进一步反应生成 B1、B2、B3 系列衍生物(见图 3),具体反应路线如下。

#### 1.2.1 松萝酸呋喃酮衍生物(B1 系列衍生物)

中间体 a 经过两个连续亲核取代反应,形成 6、7 位环化的呋喃酮衍生物 87(产率 90%);在碱催化条件下,87 呋喃酮环上的活泼亚甲基与适当的醛进一步缩合,得松萝酸呋喃酮衍生物 88~91<sup>[22,23]</sup>、92 和 93<sup>[23]</sup>、94 和 95<sup>[22]</sup>、96<sup>[23]</sup>、97 和 98<sup>[23,24]</sup>、99<sup>[23]</sup>、100 和 101<sup>[22]</sup>、102 和 103<sup>[23]</sup>、104<sup>[22]</sup>、105<sup>[23]</sup>、106<sup>[22,23]</sup>、107<sup>[22]</sup>、108 和 109<sup>[23]</sup>、110<sup>[22,23]</sup>、111~118<sup>[23]</sup>(B1 系列衍生物取代基 R 如图 4 所示)。取代基 R 为烷基链(100 和 101)产率较低为 10%~20%,且链越长,产率越低;取代基 R 为连有甲基或溴的 2-噻吩环(113~116)时,产率可高达 90%,其余产率均在 50%~70%。

#### 1.2.2 松萝酸硫醚衍生物(B2 系列衍生物)

在碱性条件下,中间体 a 与适当的硫醇回流得硫醚衍生物 119~123<sup>[24]</sup>、124<sup>[19,25,26]</sup>;松萝酸先经过 C7 位甲基化,再通过与 119~123 相同的合成方法得衍生物 125~128<sup>[24]</sup>(B2 系列衍生物结构如图 5 所示)。119~124 修饰位点在 6 位;125~128 在 6、7 位同时修饰。取代基 R<sub>2</sub> 为 4-氯苯基的衍生物 122 产率高达 82%,119 和 120 产率较低为 16%,其余产

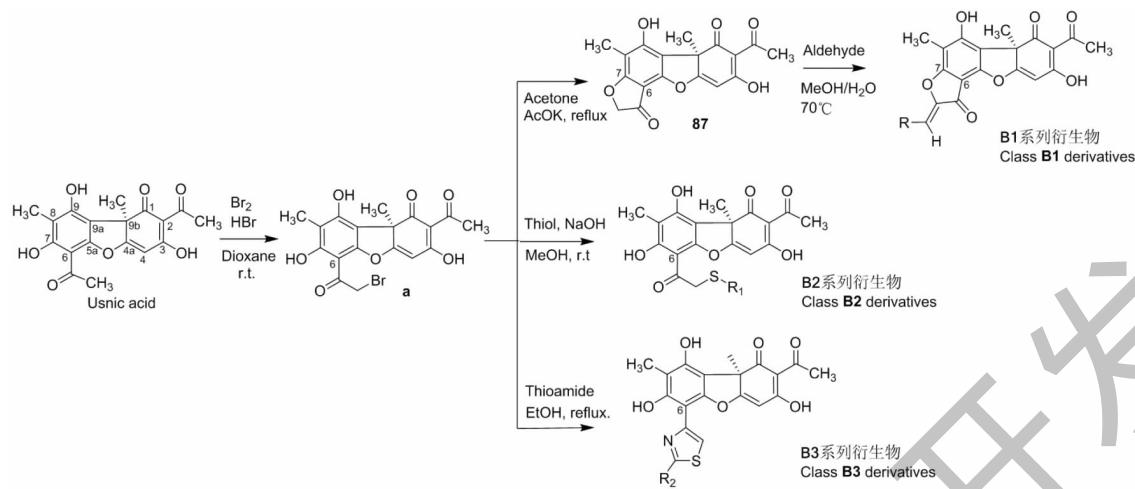


图 3 B 类衍生物的反应路线

Fig. 3 The reaction routes of a class B derivatives

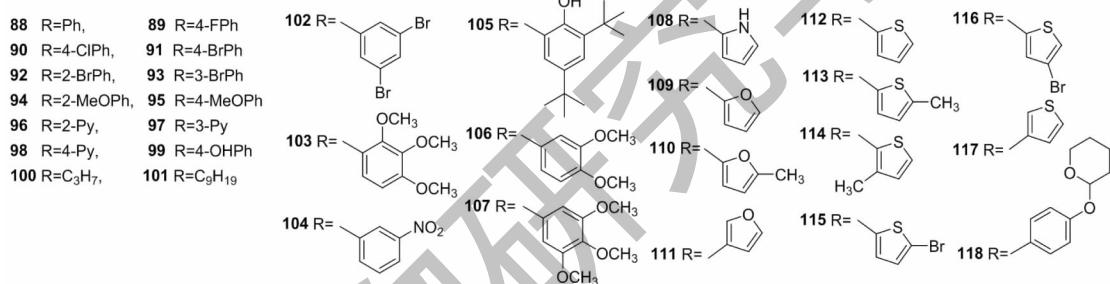


图 4 B1 系列衍生物取代基

Fig. 4 The substituents of the B1 series derivatives

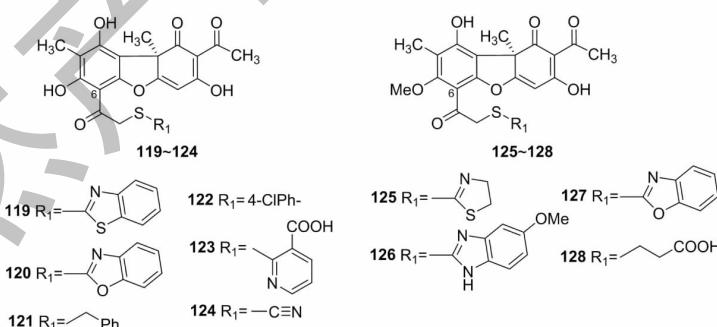


图 5 B2 系列衍生物的化学结构

Fig. 5 The chemical structures of B2 series derivatives

率均在 50% ~ 60%。

### 1.2.3 松萝酸噻唑衍生物(B3 系列衍生物)

a 与稍过量的取代硫脲回流得噻唑衍生物 129 ~ 135<sup>[25,27]</sup>、136 ~ 144<sup>[25,28]</sup> (B3 系列衍生物取代基

R<sub>2</sub> 如图 6 所示)。修饰位点均在 6 位, 噻唑衍生物 129 ~ 131、氨基噻唑衍生物 132 ~ 135 产率为 50% ~ 70%, 肽基噻唑衍生物 136 ~ 144 产率为 70% ~ 90%。

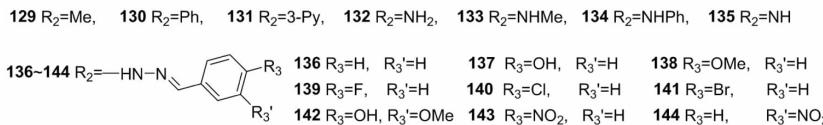


图 6 B3 系列衍生物取代基

Fig. 6 The substituents of B3 series derivatives

### 1.3 松萝酸与芳香醛的 Claisen-Schmidt 缩合反应衍生物(C类衍生物)

在碱催化条件下,松萝酸6位乙酰基与不同芳香醛在甲醇中发生缩合反应,生成苯亚甲基衍生物

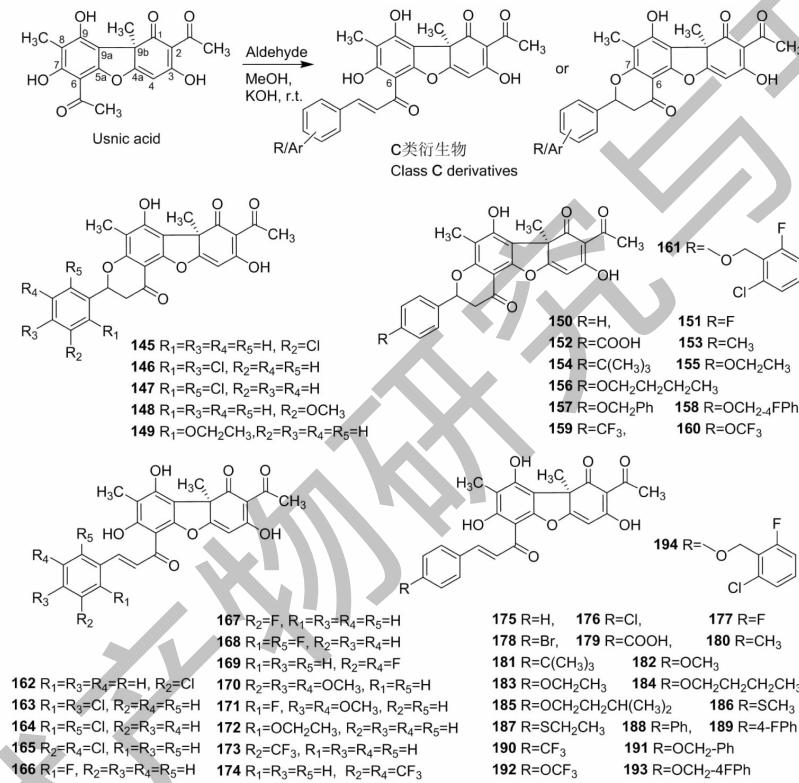


图 7 C类衍生物的反应路线与化学结构

Fig. 7 The reaction route and chemical structures of a class C derivatives

### 1.4 松萝酸与苯肼类化合物反应的衍生物(D类衍生物)

在乙醇回流条件下,松萝酸与苯肼类化合物反应,生成松萝酸的腙与吡唑衍生物,具体反应如下。

#### 1.4.1 松萝酸的腙衍生物(D1系列衍生物)

松萝酸与等摩尔量含硝基、羰基等吸电子基取代的苯肼反应,由于这些吸电子基使肼氮原子的亲核性降低,仅在C<sub>2</sub>上的乙酰基上与松萝酸反应形成腙 195 和 196<sup>[19,30]</sup>、197 和 198<sup>[31,32]</sup>、199<sup>[32]</sup>、200<sup>[31,32]</sup>、201<sup>[32]</sup>(产率 80% ~ 90%) (D1系列衍生物)

162 ~ 194, 和 6、7 位环化的吡喃酮衍生物 145 ~ 161<sup>[29]</sup> (C类衍生物反应路线与结构式见图 7), 产率均在 10% ~ 30%。

物反应路线与结构式见图 8)。

#### 1.4.2 松萝酸的吡唑衍生物(D2系列衍生物)

松萝酸与等摩尔量取代苯肼反应生成腙, 肼氮上的氢与3位羟基进一步缩合, 形成2,3位稠合的吡唑衍生物 202 ~ 207<sup>[19,30]</sup>、208<sup>[30]</sup>、209 ~ 211<sup>[19,30]</sup> (产率 80% ~ 90%); 当取代苯肼摩尔量为两倍及以上时, 第二分子取代苯肼同时在C<sub>6</sub>位的乙酰基羰基上加成形成衍生物 212 ~ 214<sup>[19,30]</sup>、215<sup>[30]</sup>、216 ~ 218<sup>[19,30]</sup> (产率 10% ~ 40%) (反应路线与化学结构见图 9)。这个过程相当缓慢, 并且在大多数情况下

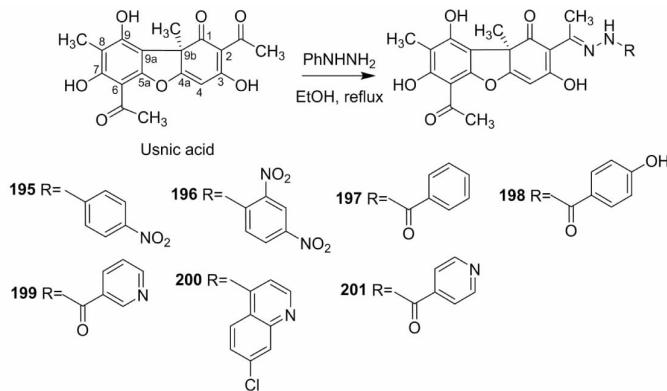


图 8 D1 系列衍生物反应路线与化学结构

Fig. 8 The reaction route and chemical structures of D1 series derivatives

会相互转化,即使将松萝酸加入到大量的取代苯肼中,反应也不会只生成两分子肼的衍生物。但是,松萝酸与过量的甲氧基和乙氧基取代的苯肼在长时间

加热条件下,只生成单一的衍生物 207 与 208,且产率分别高达 98% 和 96%。

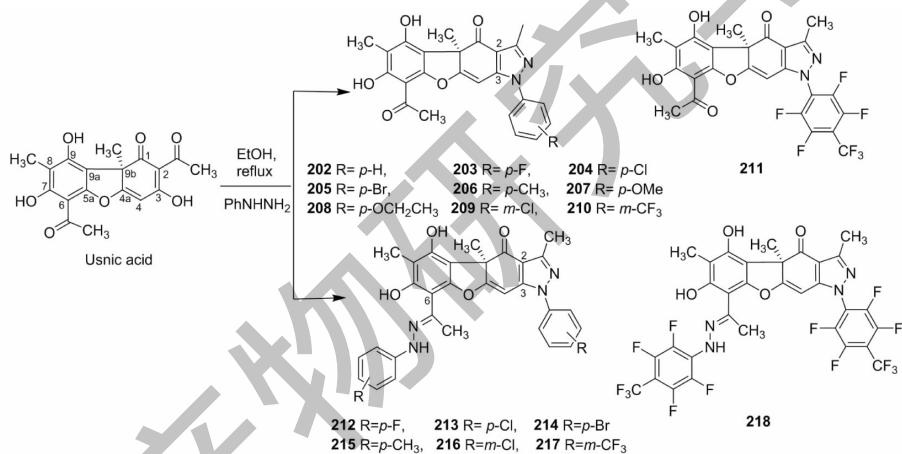


图 9 D2 系列衍生物反应路线与化学结构

Fig. 9 The reaction route and chemical structures of D2 series derivatives

其中松萝酸与苯肼反应生成的产物 202(产率 96%),1 位羰基经 NaBH<sub>4</sub> 进一步还原生成 219<sup>[33,34]</sup>(产率 94%);重氮甲烷对中间体化合物 219 甲基化,生成 9 位甲基化的 220<sup>[35]</sup>(产率为 80%);220 与取代的苯甲醛在 C<sub>6</sub> 位乙酰基上缩合,生成松萝酸的查尔酮类衍生物 221 和 222<sup>[24,35]</sup>, 223<sup>[35]</sup>, 224<sup>[35,36]</sup>, 225<sup>[24]</sup>, 226<sup>[24,35]</sup>, 227 和 228<sup>[24]</sup>, 229<sup>[24,35]</sup>, 230 ~ 232<sup>[24]</sup>, 233 ~ 235<sup>[24,35]</sup>(反应路线与化学结构见图 10)。此类化合物均在 1 位还原,2、3 位稠合形成吡唑环,6 位乙酰基缩合,9 位甲基化。硝基取代的苯甲醛衍生物 235 产率为 40%,其余衍生物产率均为 60% ~ 80%。

224 与水合肼在乙醇中回流生成 236 和

237<sup>[36]</sup>, 227 与叔丁基氢过氧化物在无水甲苯中反应生成 238<sup>[24]</sup>。202 氧化生成吡唑氧化产物 239<sup>[37]</sup>。202 还可直接与重氮甲烷反应得中间体 240<sup>[33,35]</sup>(产率 55%),与取代苯甲醛进一步反应生成 241<sup>[24,35]</sup>, 242<sup>[35]</sup>(产率为 20% ~ 30%)。

## 1.5 松萝酸酯化衍生物(E 类衍生物)

松萝酸与支链酰氯混溶于硫酸乙醚中,加入三乙胺和五甲基氨基吡啶做催化剂反应;或在氯仿、吡啶同时存在下反应得 7,9-二酯衍生物 243 和 244<sup>[19]</sup>, 245<sup>[19,24]</sup>, 246 ~ 248<sup>[38]</sup>, 产率为 60% ~ 80%。在氯仿中,用吡啶催化,松萝酸与芳酰氯反应得 2,3-二酯衍生物 249 ~ 251<sup>[38,39]</sup>, 产率在 40% 左右,反应过程中还会得到少量的四酯衍生物 252<sup>[38]</sup>(产率

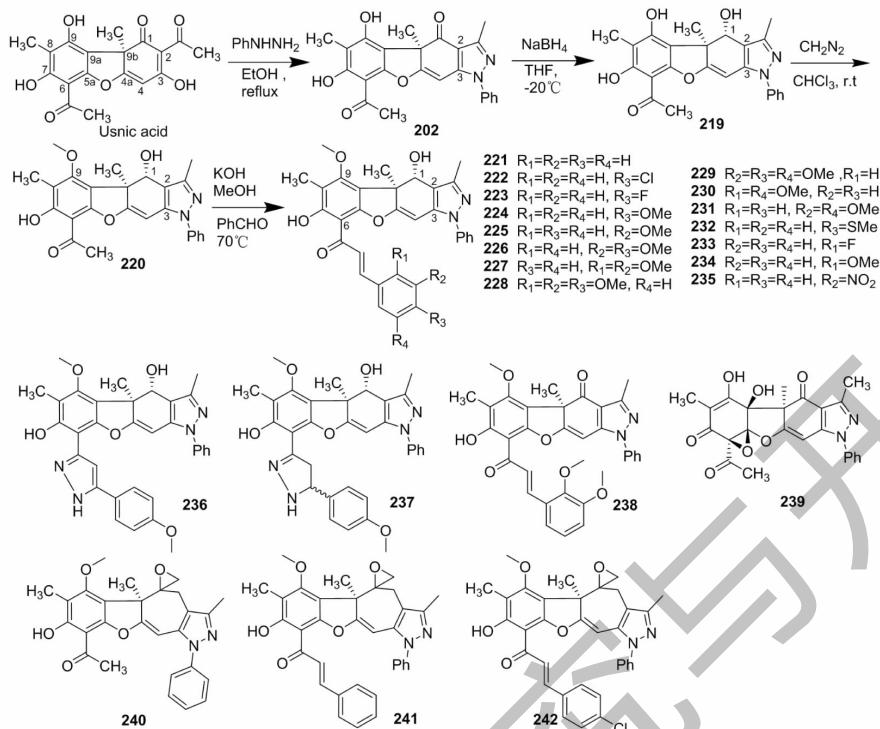


图 10 D2 系列衍生物的反应路线与化学结构

Fig. 10 The reaction routes and chemical structures of D2 series derivatives

31%), 246 与苯甲酰氯反应得四酯衍生物 253 (产率 35%)。松萝酸与支链酰氯反应产物为 7,9-二酯衍生物;与芳酰氯的产物,则是 2,3-二酯衍生物,同

时还有少量四酯(E类衍生物反应路线与结构式见图 11)。

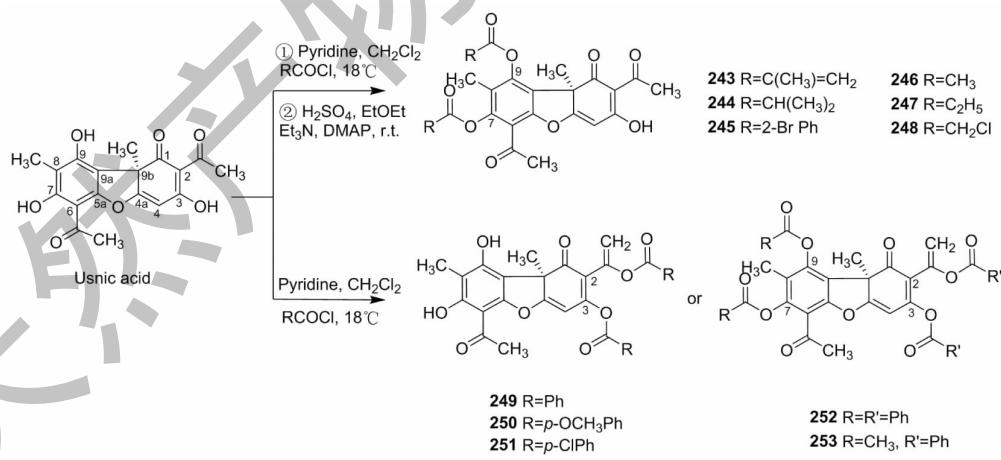


图 11 E 类衍生物的反应路线与化学结构

Fig. 11 The reaction route and chemical structures of a class E derivatives

## 1.6 松萝酸醚化衍生物(F类衍生物)

在松萝酸的无水 DMF 溶液中,加入 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 与等摩尔量的多氟芳族化合物反应得 7 位醚化的松萝酸衍生物 254<sup>[19]</sup>、255<sup>[19,40]</sup>、256<sup>[19]</sup>、257<sup>[19,24,40]</sup>、

258<sup>[19]</sup> (F类衍生物反应路线与结构式见图 12)。除 255 和 256(产率为 34% ~ 55%)外,其余衍生物产率为 80% ~ 90%。

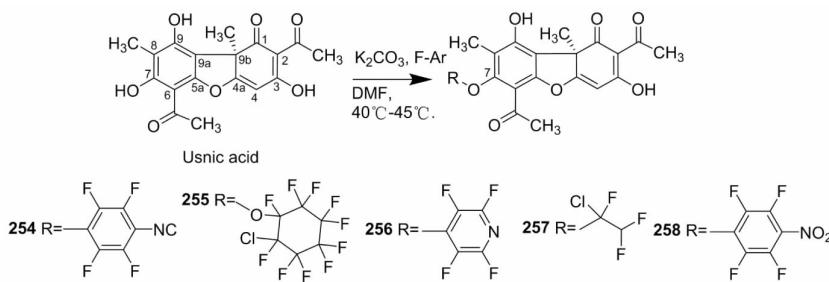


图 12 F 类衍生物的反应路线与化学结构

Fig. 12 The reaction route and chemical structure of a class F derivative

### 1.7 松萝酸的曼尼希碱衍生物(G类衍生物)

松萝酸与仲胺、甲醛在甲醇溶液中发生 Mannich 反应, 得到 C<sub>2</sub> 位脱乙酰基的曼尼希衍生物 **259**

~**263**<sup>[41]</sup> (G类衍生物反应路线与结构式见图 13) 产率为 60% ~ 70%。

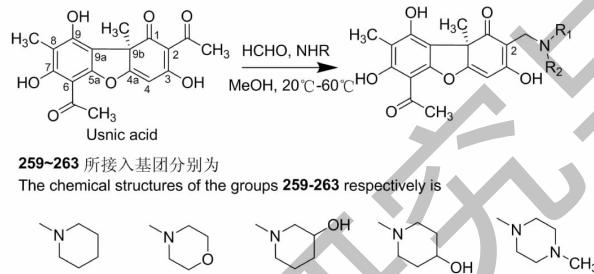


图 13 G类衍生物反应路线与结构式

Fig. 13 The reaction route and chemical structures of a class G derivatives

### 1.8 其他

此外, 还有松萝酸的氧化产物 **264** 和 **265**<sup>[37]</sup>,

**266**<sup>[19]</sup>, 分解产物 **267**<sup>[42]</sup> (结构式见图 14)。

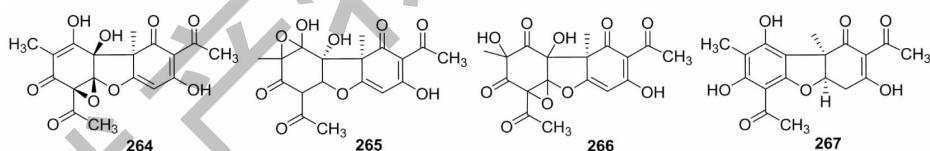


图 14 松萝酸其他衍生物的化学结构

Fig. 14 The chemical structures of other derivatives of usnic acid

研究报道的对松萝酸的修饰主要有上述 8 类, 以右旋为主, 大部分衍生物的改造是在松萝酸的 2 位或 6 位乙酰基以及羟基上。其中烯胺衍生物、腙类衍生物、曼尼希类衍生物主要发生在 2 位乙酰基上; B 系列衍生物以及 Claisen-Schmidt 缩合反应主要在 6 位乙酰基上; 酰化和酯化发生在不同的羟基上, 形成不同的取代衍生物。这对研究松萝酸衍生物的合成路线、工艺优化及探讨新的修饰路线, 具有一定的参考价值。文献也报道了这些化合物的生物活性, 下面将介绍这些衍生物的生物活性。

## 2 松萝酸衍生物的活性研究

研究表明, 松萝酸衍生物具有多种生物活性, 如抗菌<sup>[32,43]</sup>、抗病毒<sup>[24,44,45]</sup>、抗肿瘤<sup>[23,25,29,46-48]</sup>、抗疟疾<sup>[31]</sup>、促进伤口愈合<sup>[20]</sup>等。由于反应类型、修饰位点、接入的取代基不同, 其生物活性也不同, 目前主要研究了抗菌、抗病毒、抗肿瘤活性, 下面将分别进行介绍。

### 2.1 松萝酸衍生物抗菌活性

松萝酸具有广泛的抗菌活性, 有研究发现, 松萝酸可以通过抑制 RNA 和 DNA 的合成, 从而达到抑

制革兰氏阳性菌的作用<sup>[49]</sup>;或通过抑制细菌生物膜,发挥抑菌作用等<sup>[50,51]</sup>。

松萝酸衍生物则对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)、结核分枝杆菌 *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuber*) 等细菌<sup>[6,52]</sup> 和致病真菌<sup>[24,53]</sup> 具有良好的活性。

抗 *S. aureus* 活性方面,A类烯胺衍生物 **64, 70, 74** 和 **78**<sup>[21]</sup> 活性优于松萝酸,**45 ~ 57** 活性低于松萝酸<sup>[43]</sup>,由此可知,通过烯胺反应在 2 位引入多胺链可增强其活性;另外 E 类酯化衍生物 **249**<sup>[39]</sup> 活性优于松萝酸。

抗 MRSA 活性方面,A类衍生物 **45 ~ 57** 中,除 **53** ( $\text{MIC} = 2.22 \times 10^{-2} \text{ mmol/mL}$ ) 优于松萝酸 ( $\text{MIC} = 4.28 \times 10^{-2} \text{ mmol/mL}$ ) 外,其余活性均低于松萝酸<sup>[43]</sup>。

抗 *M. tuber* 活性方面,A类烯胺衍生物 **3, 5, 60** 与松萝酸活性相当 ( $\text{MIC}$  值均为  $32 \mu\text{g/mL}$ );A类烯胺衍生物 **59, 61, 63** 与 D1 系列腙衍生物 **199 ~ 201** 活性高于松萝酸,其中 **63** 与 **200** 活性最好 ( $\text{MIC}$  值均为  $8 \mu\text{g/mL}$ ),表明氯取代喹啉(**59, 200**)与氯取代吖啶(**63**)基团的引入,可增强活性,然而,通过长链(4个C原子)间隔连接喹啉的衍生物 **58** ( $\text{MIC} = 64 \mu\text{g/mL}$ ),活性显著降低<sup>[32]</sup>。

A类衍生物 **45 ~ 57** 对革兰氏阴性菌大肠杆菌 *Escherichia coli*、阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae*、铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 的活性均低于松萝酸;除 **55** ( $\text{MIC} = 0.20 \times 10^{-2} \text{ mmol/mL}$ ) 抗蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 活性优于松萝酸 ( $\text{MIC} = 1.07 \times 10^{-2} \text{ mmol/mL}$ ) 外,其余活性均低于松萝酸<sup>[43]</sup>。此外,衍生物 **45 ~ 57** 还对曲霉菌、木霉菌、青霉菌等真菌具有非常强的活性(尤其是曲霉菌)  $\text{MIC}$  为  $0.35 \sim 7.53 \times 10^{-2} \text{ mmol/mL}$ ,其中,**46** 活性最佳 ( $\text{MIC} = 0.35 \sim 0.70 \times 10^{-2} \text{ mmol/mL}$ ),其次是 **57** 和 **56**<sup>[43]</sup>。

E类衍生物 **249** 对 *P. aeruginosa* 的活性高于松萝酸,对弗氏志贺氏菌 *Shigella flexneri* 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 活性均低于松萝酸<sup>[39]</sup>。

综上,部分 A类烯胺衍生物对革兰氏阳性菌具有较好的活性,对革兰氏阴性菌活性差;2位引入十六烷基或多个杂原子取代基的烯胺衍生物具有良好的抗真菌活性;引入芳基喹啉的腙衍生物,抗结核分

枝杆菌活性增强,这为进一步开发优良的抗菌类药物奠定了良好的基础。

## 2.2 松萝酸衍生物抗病毒活性

松萝酸具有抗疱疹病毒<sup>[54,55]</sup>、沙粒病毒<sup>[56]</sup>、人乳头瘤病毒<sup>[57]</sup>和多瘤病毒<sup>[58]</sup>的作用。松萝酸衍生物主要是针对甲型 H1N1 流感病毒 pdm09 的研究。所研究的松萝酸衍生物中,大部分活性强于松萝酸 ( $\text{ED}_{50} = 51.7 \mu\text{M}$ ),其中 A类烯胺衍生物除 **7** ( $\text{ED}_{50} = 35.0 \mu\text{M}$ ) 外,**5, 12, 14** 和 **15, 17, 24, 27** 和 **28, 32, 34** 和 B1 呋喃酮衍生物 **91, 94, 97** 和 **98** 活性明显增强 ( $\text{ED}_{50}$  为  $4.2 \sim 11.2 \mu\text{M}$ );B2 硫醚衍生物 **119 ~ 128** 活性普遍增强;**120 ~ 122** 活性最强 ( $\text{ED}_{50}$  最低为  $2.0 \mu\text{M}$ ),且 7 位甲醚化的化合物较未甲醚化的化合物活性低,而 6 位接入含有 COOH 基团的衍生物 **128**,活性明显降低 ( $\text{ED}_{50} = 160.7 \mu\text{M}$ );D2 系列衍生物 **202, 210, 221, 222, 225 ~ 232, 236, 238 ~ 240** 中,**219** ( $\text{ED}_{50} = 2.4 \mu\text{M}$ ) 活性明显优于 **202** ( $\text{ED}_{50} = 69.5 \mu\text{M}$ ) 表明 1 位碳基还原为羟基的重要性,除衍生物 **238** ( $\text{ED}_{50} = 8.7 \mu\text{M}$ )、**239** ( $\text{ED}_{50} = 13.4 \mu\text{M}$ )、**241** ( $\text{ED}_{50} = 5.5 \mu\text{M}$ ) 活性明显增强而 **240** ( $\text{ED}_{50} = 262 \mu\text{M}$ ) 显著降低外,其余化合物活性均在  $25.9 \sim 82.7 \mu\text{M}$ ;E类酯化双取代衍生物 **245** ( $\text{ED}_{50} = 7.8 \mu\text{M}$ ),F类醚化衍生物 **257** ( $\text{ED}_{50} = 7.2 \mu\text{M}$ ),氧化衍生物 **264** ( $\text{ED}_{50} = 10.6 \mu\text{M}$ ) 活性均增强。此外,本节所涉及衍生物的对映异构体活性研究表明,(-)-松萝酸比 (+)-松萝酸抗病毒活性强,经结构修饰后,(+)-松萝酸衍生物(烯胺、吡唑)活性更强<sup>[24,44]</sup>。

衍生物 **13, 202, 238, 264** 对不同流感病毒 A/*California/7/09* (H1N1pdm)、A/*Aichi/2/68* (H3N2)、A/*Vladivostok/2/09* (H1N1)、A/*PR/8/34* (H1N1) 的活性无明显差别。其中,**13** 活性明显增加,且不会引起抗性菌株的出现,同时还可降低肝毒性<sup>[45]</sup>,有希望成为抗流感新药的候选化合物。

基于上述研究可知,松萝酸经结构修饰,如引入小支链的氨基酸、硫原子或酯化、氧化产物等能够增强其抗病毒活性,可促进开发具有病毒抑制作用的替代靶标新型抗流感化合物。

## 2.3 松萝酸衍生物抗肿瘤活性

松萝酸具有抗肿瘤作用,其作用机制与抑制酪氨酸酶-DNA 磷酸二酯酶 1 (Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1, Tdp1, PBD code: 1MU7) 有关<sup>[23,25,48]</sup>。Tdp1 是用于停滞的 DNA-拓扑异构酶 1 (Top1) 切割复合

物和其他 3'-末端 DNA 损伤的修复酶,是抗肿瘤治疗的有希望的靶标<sup>[48]</sup>。松萝酸衍生物对 Tdp1 的研究也成为近几年的热点之一。

文献对 A 类烯胺衍生物 23~29、35 和 36、42 和 43、B1 系列呋喃酮衍生物 88~118、B3 系列噻唑衍生物 129~144 对 Tdp1 抑制活性进行了研究。除 33、43 外,活性都比松萝酸( $IC_{50} > 50 \mu\text{M}$ )强,39 个衍生物强于阳性对照药呋喃二脒( $IC_{50} = 1.23 \mu\text{M}$ )。**105、115、139、143、138、144** 抑制酶的浓度在纳摩尔范围内( $IC_{50}$  为 25~86 nM),其中,**105** 活性最好( $IC_{50} = 25 \text{ nM}$ ),**139** 次之( $IC_{50} = 26 \text{ nM}$ )。**105** 和 **115** 的对应异构体活性相似,表明松萝酸衍生物中不对称中心的绝对构型不影响化合物对 Tdp1 的抑制活性。

松萝酸 B3 系列噻唑衍生物 129~135 ( $IC_{50}$  为 0.61~5.9  $\mu\text{M}$ )与肼基噻唑衍生物 136~144 ( $IC_{50}$  为 0.026~0.457  $\mu\text{M}$ )相比,后者活性提高 1~2 个数量级,表明腙片段的重要性<sup>[25]</sup>。

松萝酸的 B1 系列呋喃酮衍生物 88~118(除 **105** 与 **115** 在纳摩尔范围内抑制),在 0.16~6.73  $\mu\text{M}$  范围显示出较好的活性。与 **88** ( $IC_{50} = 0.72 \mu\text{M}$ )相比,溴原子(**91~93、102**, $IC_{50}$  为 0.15~0.53  $\mu\text{M}$ )的加入会增强其活性,且取代位置影响不明显,而 F,Cl 原子则会降低其抑制活性;甲氨基取代苯基衍生物(**94、95、103**)活性增强两倍左右<sup>[23]</sup>。

松萝酸 A 类衍生物除 **33、43** 活性低于松萝酸外,**23~29、35** 和 **36、42** 和 **43** 活性较好( $IC_{50}$  为 0.16~2.0  $\mu\text{M}$ ),且对人 MCF-7 和 A-549 肿瘤细胞均具有低毒性。**35** ( $IC_{50} = 0.19 \mu\text{M}$ )和 **36** ( $IC_{50} = 0.16 \mu\text{M}$ )在高纳摩尔浓度范围内显示出抑制活性,表明叔丁基在抑制 Tdp1 中的重要作用。引入卤代苯胺基团,活性增强,且位置影响不大,溴取代最有效(衍生物 **26**  $IC_{50} = 0.26 \mu\text{M}$ );甲基取代没有明显影响,而芳香取代基比较重要,无环取代的 **33** 与吗啉取代 **43** 在研究浓度范围不能抑制 Tdp1<sup>[48]</sup>。

松萝酸在人类乳腺癌细胞系中诱导自噬,显示出较高抗增殖活性,可作为一种新型的潜在大分子靶标雷帕霉素 (Mammalian target of rapamycin, mTOR, PDB code: 4JT5) 抑制剂<sup>[29]</sup>,且研究表明,松萝酸 C 类衍生物 **145~194** 对 mTOR 失调的人类乳腺癌细胞系 MCF-7 和 MDAMB-231 表现出类似的活性:**192** 活性最强, $IC_{50}$  分别为 0.28  $\mu\text{M}$  和 0.32  $\mu\text{M}$ ;对位单取代的苯亚甲基衍生物 **175~194** 与其

他位置取代或多取代的衍生物相比,活性普遍较好;**145~161** 的活性都低于相应的亚苄基对应物 **162~194**,这表明了亚苄基和二苯并呋喃部分在维持 mTOR 相互作用和细胞效力方面的重要性;由于疏水性差异,对-溴亚苄基类似物 **178**,氯化物 **176**,氟化物 **177** 活性依次减弱;**181**(异叔丁基取代)比 **180**(甲基取代)活性更强,烷基硫代亚苄基类似物活性强于烷氧基对应物,说明增加苄基取代基的疏水性可以增强抗增殖活性;衍生物 **182、183、184、185** 活性依次增强,表明增加烷氧基侧链的长度可以提高抗增殖活性。衍生物 **192** 能够显著抑制裸鼠乳腺癌模型中肿瘤的生长,是潜在的先导 mTOR 抑制剂。

A 类衍生物 **69** 对小鼠淋巴细胞白血病 L1210、中国仓鼠卵巢 CHO、鼠 Lewis 肺癌 3LL、人前列腺癌脑转移瘤 DU145、人乳腺腺癌 MCF7、人类慢性粒细胞性白血病 K-562、人类慢性粒细胞性白血病 K-562 与人胶质母细胞瘤 U251 的活性( $IC_{50}$  为 3~14  $\mu\text{M}$ )均强于松萝酸( $IC_{50}$  为 19.5~105.4  $\mu\text{M}$ ),**65、71、82** 对上述 8 种癌细胞也具有较好活性( $IC_{50}$  为 4.4~15.3  $\mu\text{M}$ )<sup>[46]</sup>。与 **69** 相比,**71** 的活性较低,表明了长亲脂性烷基链的重要性,疏水链可以促进穿过细胞膜;对小鼠淋巴细胞白血病 L1210 来说,**86** 与链长相等的 **69** 相比,活性显著降低( $IC_{50} > 500 \mu\text{M}$ ),表明了烷基链末端存在伯氨基的重要性。证明了松萝酸对癌细胞系的细胞毒活性可以通过与多胺链的缀合来改善,二氨基辛烷链是改善松萝酸细胞毒性的良好载体,可作为抗癌前提药物进一步开发。

总结上述研究发现,无论是呋喃酮衍生物还是烯胺衍生物,取代基中含有 3,5-二叔丁基-4-羟基苯基时,活性显著增强;噻唑衍生物、呋喃酮衍生物、烯胺衍生物中溴取代均会增强活性;整体来看,肼基噻唑衍生物对 Tdp1 活性最好,呋喃酮衍生物次之,烯胺衍生物较差。松萝酸亚苄基衍生物中,亚苄基和二苯并呋喃部分对 mTOR 有重要作用;增加苄基取代基的疏水性与烷氧基侧链的长度可以增强抗增殖活性。烯胺反应引入长亲脂性末端存在伯氨基的烷基链,抗癌活性明显增强。

## 2.4 松萝酸衍生物其他活性的研究

此外,还有文献研究表明,松萝酸衍生物 **63、84** 和 **83** 在抗疟疾方面活性明显增强<sup>[31,59]</sup>。改变结构以增加水溶性进而改善衍生物的抗寄生虫作用,这为开发新的抗疟疾药物提供了研究思路。化合物 **9** 和 **7** 具有低细胞毒性和高伤口愈合性能<sup>[20]</sup>,可能与

溶解度的增加有关。松萝酸部分衍生物还有PARP1抑制<sup>[19]</sup>与抗炎<sup>[60]</sup>等作用。

### 3 总结与展望

松萝酸是来源于地衣中的一种天然产物,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤等生物活性,研究人员希望将其开发为一种药物。目前,已报道的松萝酸的结构修饰主要有上述8类,大部分衍生物的改造是在松萝酸的2位或6位乙酰基以及羟基上。其中,烯胺衍生物结构最为丰富。在活性方面,抗菌活性研究

主要涉及烯胺衍生物;抗病毒活性涉及多类型的衍生物,但是化合物数量较少,可进一步研究多数量的不同衍生物类型,更加准确的总结其抗病毒规律,以发现更有效的抗病毒药物;在抗肿瘤方面,主要研究有呋喃酮衍生物、噻唑衍生物和烯胺衍生物对Tdp1的抑制作用,其中肼基噻唑衍生物活性最好;还有亚苄基衍生物对mTOR失调的人类乳腺癌细胞系作用的研究。现对松萝酸衍生物的主要构效关系总结如图15所示。

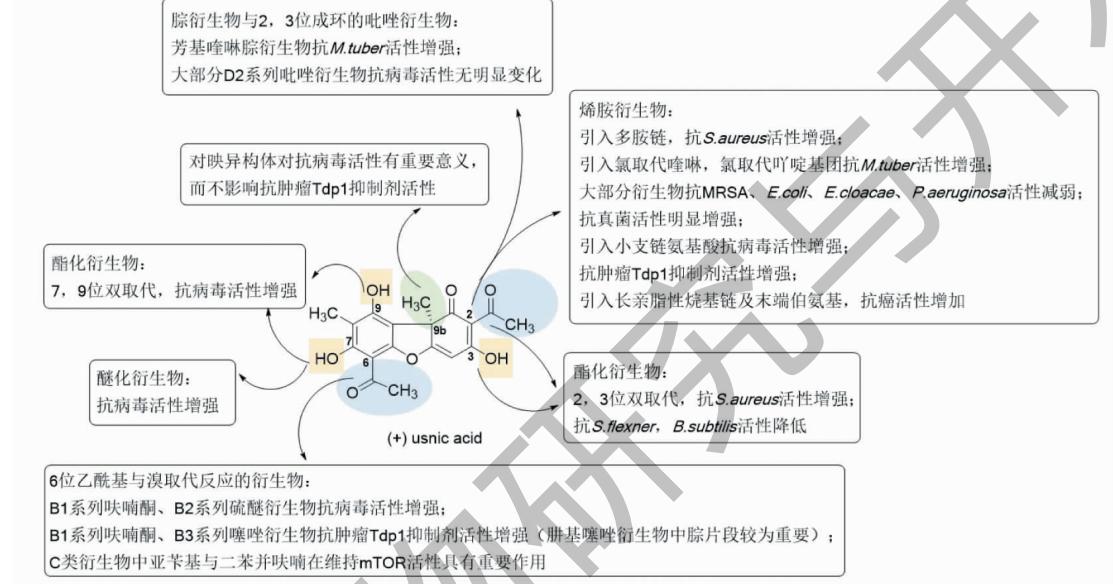


图15 松萝酸衍生物的构效关系

Fig. 15 The structure-activity relationship of usnic acid derivatives

这些研究结果为松萝酸的结构修饰积累了一定的经验,在今后的开发中可以摒弃一些活性差的基团或修饰方案,朝着活性好的方面去开发此类化合物。进一步研究其作用机制,以及结合计算机辅助药物设计等手段去更好的开发松萝酸衍生物类药物。

### 参考文献

- Reyim M, et al. Extraction technology of usnic acid from *Cladonia cornuta* (L.) Hoffm and content determination [J]. China Brewing (中国酿造), 2010, 11:122-124.
- Bjerke JW, et al. Seasonal trends in usnic acid concentrations of arctic, alpine and patagonian populations of the lichen *flavocetraria nivalis* [J]. Phytochem, 2005, 66:337-344.
- Luzina OA, et al. Usnic acid and its derivatives for pharmaceutical use: a patent review (2000-2017) [J]. Expert Opin Ther Pat, 2018, 28:477-491.

- Lin Y. Research status of usnea [J]. China Pharm (中国药业), 2011, 20(19):84-86.
- Niu DL, et al. Secondary metabolites and bioactivities of lichens [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2007, 19:1079-1086.
- Daniela FR, et al. Antimycobacterial activity of usnic acid against resistant and susceptible strains of mycobacterium tuberculosis and non-tuberculous mycobacteria [J]. Pharm Biol, 2010, 48:260-263.
- König GM, et al. Assessment of antimycobacterial activity of a series of mainly marine derived natural products [J]. Planta Med, 2000, 66:337-342.
- Cansaran D, et al. Identification and quantitation of usnic acid from the lichen *Usnea* species of anatolia and antimicrobial activity [J]. Z Naturforsch C, 2006, 61:773-776.
- Takai M, et al. Usnic acid derivatives as potential antineoplastic agents [J]. J Med Chem, 1979, 22:1380-1384.
- Cocchietto M, et al. A review on usnic acid, an interesting

- natural compound [ J ]. Naturwissenschaften, 2002, 89 : 137-146.
- 11 Nunes PS, et al. Collagen-based films containing liposome-loaded usnic acid as dressing for dermal burn healing [ J ]. J Biomed Biotechnol, 2011, 2011 : 761593.
- 12 Cardarelli M, et al. Antimitotic effects of usnic acid on different biological systems [ J ]. Cell Mol Life Sci, 1997, 53 : 667-672.
- 13 Singh N, et al. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells [ J ]. Nutr Cancer, 2013, 65 ( 1 ) : 36-43.
- 14 Pavlovna PM, et al. Application of usnic acid as synergist of insecticides on basis of entomopathogenic microorganisms : RU20070100482 [ P ]. 2007-01-09.
- 15 Leiguo, et al. Review of usnic acid and usnea barbata toxicity [ J ]. J Environ Sci Heal C, 2008, 26 : 317-338.
- 16 Neff GW, et al. Severe hepatotoxicity associated with the use of weight loss diet supplements containing ma huang or usnic acid [ J ]. J Hepatol, 2004, 41 : 1062-1064.
- 17 Luzina OA, et al. Chemical modification of usnic acid 2. Reactions of ( + )-usnic acid with amino acids [ J ]. Russ Chem B + , 2007, 56 : 1249-1251.
- 18 Tazetdinova AA, et al. Amino-derivatives of usninic acid [ J ]. Chem Nat Compd + , 2009, 45 : 800-804.
- 19 Zakharenko A, et al. Influence of usnic acid and its derivatives on the activity of mammalian poly ( ADP-ribose ) polymerase 1 and DNA polymerase  $\beta$  [ J ]. Med Chem, 2012, 8 : 883-893.
- 20 Bruno M, et al. ( + )-Usnic acid enamines with remarkable cicatrizing properties [ J ]. Bioorgan Med Chem, 2013, 21 : 1834-1843.
- 21 Tomasi S, et al. Solid-Phase Synthesis of polyfunctionalized natural products: application to usnic acid, a bioactive lichen compound [ J ]. J Comb Chem, 2006, 8 ( 1 ) : 11-14.
- 22 Luzina OA, et al. Synthesis of aurones based on usninic acid [ J ]. Chem Nat Compd + , 2012, 48 : 385-391.
- 23 Zakharova O, et al. Synthesis and evaluation of arylidene-and hetarylidenefuranone derivatives of usnic acid as highly potent Tdp1 inhibitors [ J ]. Bioorgan Med Chem, 2018, 26 : 4470-4480.
- 24 Shtro AA, et al. Novel derivatives of usnic acid effectively inhibiting reproduction of influenza A virus [ J ]. Bioorgan Med Chem, 2014, 22 : 6826-6836.
- 25 Zakharenko AL, et al. Novel tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors enhance the therapeutic impact of topotecan on *in vivo* tumor models [ J ]. Eur J Med Chem, 2019, 161 : 581-593.
- 26 Zakharenko AL, et al. Usnic acid derivatives are effective inhibitors of tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 [ J ]. Russ J Bioorg Chem + , 2017, 43 ( 1 ) : 84-90.
- 27 Bekker OB, et al. Synthesis and activity of ( + )-usnic acid and ( - )-usnic acid derivatives containing 1,3-thiazole cycle against mycobacterium tuberculosis [ J ]. Med Chem Res, 2015, 24 : 2926-2938.
- 28 Jatav V, et al. Synthesis and CNS depressant activity of some novel 3-[ 5-substituted 1, 3, 4-thiadiazole-2-yl ]-2-styryl quinazoline-4 ( 3H )-ones [ J ]. Eur J Med Chem, 2008, 43 : 135-141.
- 29 Ebrahim HY, et al. Usnic acid benzylidene analogues as potent mechanistic target of rapamycin inhibitors for the control of breast malignancies [ J ]. J Nat Prod, 2017, 80 : 932-952.
- 30 Luzina OA, et al. Chemical modification of usnic acid : III. \* Reaction of ( + )-usnic acid with substituted phenylhydrazines [ J ]. Russ J Org Chem + , 2009, 45 : 1783-1789.
- 31 Bruno M, et al. Synthesis of a potent antimalarial agent through natural products conjugation [ J ]. Chem Med Chem, 2013, 8, 221-225.
- 32 Cirillo D, et al. Synthesis and antimycobacterial activity of ( + )-usnic acid conjugates [ J ]. Arch Pharm, 2018, 351 : 1800177.
- 33 Sokolov DN, et al. Reaction of ( + )-usninic acid and several of its derivatives with diazomethane [ J ]. Chem Nat Compd + , 2011, 47 : 708-712.
- 34 Sokolov DN, et al. Reduction of ( + )-usninic acid and its pyrazole derivative by sodium borohydride [ J ]. Chem Nat Compd + , 2011, 47 : 203-205.
- 35 Sokolov DN, et al. Synthesis of chalcones derived from ( + )- and ( - )-usnic acids [ J ]. Russ Chem B + , 2011, 60 : 2406-2411.
- 36 Sokolov DN, et al. Synthesis of new ( + )-usnic acid derivatives with the flavone structure [ J ]. Russ Chem B + , 2013, 62 : 212-216.
- 37 Sokolov DN, et al. Oxidation of usninic acid [ J ]. Chem Nat Compd + , 2010, 46 : 730-733.
- 38 Erba E, et al. New esters of R-( + )-usnic acid [ J ]. IL Farmaco, 1998, 53 : 718-720.
- 39 Melgarejo M, et al. More investigations in potent activity and relationship structure of the lichen antibiotic ( + )-usnic acid and its derivate dibenzoylusnic acid [ J ]. Revista Boliviana De Quimica, 2008, 25 ( 1 ) : 24-29.
- 40 Furin GG, et al. Chemical modification of usnic acid 1. Reaction of ( + )-usnic acid with perfluorolefins [ J ]. Russ Chem B + , 2007, 56 : 1244-1248.
- 41 Nguyen HGT, et al. Structure of a new usnic acid derivative

- from a deacylating manni<sup>ch</sup> reaction. NMR studies supported by theoretical calculations of chemical shifts [J]. *Magn Reson Chem*, 2018, 56: 1094-1100.
- 42 Shibata S, et al. Decomposition of usnic acid. V. pyrolysis of dihydrousnic acid. (2). some observations on dihydrousnic acid [J]. *Pharm Bull*, 1956, 4(1): 65-67.
- 43 Kartsev V, et al. Design, synthesis and antimicrobial activity of usnic acid derivatives [J]. *Med Chem Comm*, 2018, 9: 870-882.
- 44 Sokolov DN, et al. Anti-viral activity of (-)-and (+)-usnic acids and their derivatives against influenza virus A (H1N1) 2009 [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 7060-7064.
- 45 Shtro AA, et al. Derivatives of usnic acid inhibit broad range of influenza viruses and protect mice from lethal influenza infection [J]. *Antivir Chem Chemoth*, 2016, 24(3-4): 92-98.
- 46 Bazin MA, et al. Synthesis and cytotoxic activities of usnic acid derivatives [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 6860-6866.
- 47 Rakhmanova ME, et al. Synthesis and cytotoxic activity of usnic acid cyanoethyl derivatives [J]. *Russ Chem B+*, 2016, 65: 566-569.
- 48 Zakharenko A, et al. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibitors: usnic acid enamines enhance the cytotoxic effect of camptothecin [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79: 2961-2967.
- 49 Monika MD, et al. Antibacterial activity of lichen secondary metabolite usnic acid is primarily caused by inhibition of RNA and DNA synthesis [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2014, 353(1): 57-62.
- 50 Niu DL, et al. Review on bioactivity mechanism and species resources of usnic acid [J]. *Guighua (广西植物)*, 2019, 39: 136-142.
- 51 Yuan ZW, et al. Antibacterial mechanism of usnic acid on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *J Gansu Agric Univ (甘肃农业大学学报)*, 2019, 54(4): 22-29.
- 52 Lauterwein M, et al. *In vitro* activities of the lichen secondary metabolites vulpinic acid, (+)-usnic acid, and (-)-usnic acid against aerobic and anaerobic microorganisms [J]. *Antimicrob Agents Ch*, 1995, 39: 2541.
- 53 Regina HP, et al. Effect of usnic acid on *Candida orthopsis* and *C. parapsilosis* [J]. *Antimicrob Agents Ch*, 2012, 56: 595-597.
- 54 Perry N B, et al. Antimicrobial, antiviral and cytotoxic activity of New Zealand lichens [J]. *Lichenologist*, 1999, 31: 627-636.
- 55 Yamamoto Y, et al. Screening of tissue cultures and thalli of lichens and some of their active constituents for inhibition of tumor promoter-induced Epstein-Barr virus activation [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43: 1388-1390.
- 56 Fazio A, et al. Lichen secondary metabolites from the cultured lichen mycobionts of *teloschistes chrysophthalmus* and *ramalina celastri* and their antiviral activities [J]. *Z Naturforsch C*, 2007, 62: 543-549.
- 57 Scirpa P, et al. A zinc sulfate and usnic acid preparation used as post-surgical adjuvant therapy in genital lesions by human papillomavirus [J]. *Minerva Ginecol*, 1999, 51: 255-260.
- 58 Campanella L, et al. Molecular characterization and action of usnic acid: a drug that inhibits proliferation of mouse polyomavirus *in vitro* and whose main target is RNA transcription [J]. *Biochimie*, 2002, 84: 329-334.
- 59 Verotta L, et al. Compounds with antimalarial activity: WO2010034512 (A1) [P]. 2010-04-01.
- 60 Vanga NR, et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel triazole hybrids of (+)-usnic acid, the major dibenzofuran metabolite of the lichen *Usnea longissima* [J]. *Mol Divers*, 2017, 21: 273-282.

**致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!**

广西壮族自治区药用植物园

昆明医科大学药学院

西南交通大学生命科学与工程学院

西南交通大学期刊社