7-甲氧基吲哚类化合物的设计、合成及抗炎活性评价

徐梓菡[1#], 李慧琼[1#], 沈天择[1,2], 丁 玲[1], 肖伟烈[1,2], 张兴杰[1*], 张芮菡[1*]

(1. 云南大学药学院, 化学科学与工程学院, 教育部自然资源药物化学重点实验室, 云南 昆明 650500;
2. 西南联合研究生院, 云南 昆明 650092)

摘要: 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体的异常活化与多种炎症和自身免疫疾病的发生相关。本研究发现吲哚类化合物**A-3**能够抑制NLRP3炎症小体通路的激活。对该化合物进行结构修饰, 共合成19个衍生物**I-1**～**I-4**、**II-1**～**II-6**、**III-1**～**III-3**、**IV-1**～**IV-6**, 有4个化合物**III-3**、**IV-1**、**IV-5**、**IV-6**在细胞水平能够较好地抑制炎症小体活化。初步机制研究表明, 化合物**IV-5**能够抑制J774A.1细胞的焦亡。此外, 基于3D药效团模型对该系列化合物的构效关系进行了分析。本研究为新型NLRP3炎症小体通路抑制剂的开发提供了苗头骨架。

关键词: 吲哚类化合物; NLRP3炎症小体通路; 结构修饰; 抗炎活性; 3D药效团

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)10-3111-09

Design, synthesis and anti-inflammatory activity evaluation of 7-methoxyindoles

XU Zi-han[1#], LI Hui-qiong[1#], SHEN Tian-ze[1,2], DING Ling[1], XIAO Wei-lie[1,2], ZHANG Xing-jie[1*], ZHANG Rui-han[1*]

(*1. Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resource, Ministry of Education, School of Pharmacy and School of Chemical Science and Technology, Yunnan University, Kunming 650500, China; 2. Southwest United Graduate School, Kunming 650092, China*)

Abstract: The abnormal activation of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome is related to the development of a variety of inflammatory and autoimmune diseases. In this study, the indole compound **A-3** was found to inhibit the activation of the NLRP3 inflammasome pathway. A total of 19 derivatives **I-1**−**I-4**, **II-1**−**II-6**, **III-1**−**III-3**, **IV-1**−**IV-6** were synthesized by structural modification of **A-3**, and 4 compounds **III-3**, **IV-1**, **IV-5**, **IV-6** could inhibit inflammasome activation at the cellular level. Preliminary mechanistic studies have shown that the compound **IV-5** can inhibit pyroptosis in J774A.1 cell. In addition, we analyzed the structure-activity relationship of the series of compounds based on 3D pharmacophore model. This study provides lead compounds for the development of novel NLRP3 inflammasome pathway inhibitors.

Key words: indole; NLRP3 inflammasome pathway; structural modification; anti-inflammatory activity; 3D pharmacophore

收稿日期: 2025-01-10; 修回日期: 2025-03-25.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (U24A20805, 82260694, 22467022, 22167021); 云南省基础研究计划 (202401BC070013, 202301AW070003, 202201AT070297); 云岭学者计划 (202401AT070444); 云南特色植物筛选与研发服务CXO平台项目 (2022YKZY001).

#共同第一作者.

*通讯作者 Tel: 18087353165, E-mail: zhangxj@ynu.edu.cn;
Tel: 13808730113, E-mail: zhangruihan@ynu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0030

炎症小体是先天性免疫系统的受体和传感器, 可调节半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 1 (cysteinyl aspartate specific proteinase 1, caspase-1) 的活化, 并在感染性微生物和宿主蛋白质分子的作用下诱发炎症[1]。在众多的炎症小体中, NLRP3 炎症小体是目前研究最为深入的一种, 它作为一种多蛋白复合物, 介导白细胞介素-1β (interleukin, IL-1β) 和白细胞介素-18 (IL-18) 的成熟和释放[2]。然而, 炎症小体的异常激活可能会导致炎症的放大, 从而引发一系列疾病, 包括炎症性肠病[3]、心血管疾病[4,5]、类风湿性关节炎[6]、阿尔茨海默症[7]、癌症[8]、痛风[9]等。

研究表明[10,11], MCC950 作为一种有效的 NLRP3 特异性抑制剂, 在 NACTH 结构域的 Walker B motif 处可逆地结合 NLRP3, 阻断 NLRP3 炎症小体的激活。但该分子在治疗类风湿性关节炎的 II 期临床试验中发现可能引起肝毒性, 目前研究已中止[12]。此外, 还有许多直接或间接抑制 NLRP3 炎症小体激活的小分子抑制剂例如穿心莲内酯 (andrographolide)[13]、曲尼司特 (tranilast)[14]、达潘三腈 (dapansutrile)[15]等已经开发并进入临床试验 (图 1), 但目前仍然未出现任何靶向上市药物[16], 并且大多数抑制剂存在骨架单一、同质化严重等问题。因此, 广泛开发抑制 NLRP3 炎症小体活化的新型小分子药物具有十分重要的意义。

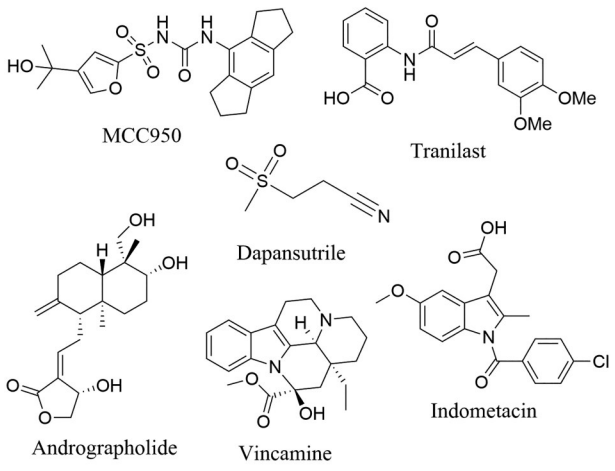


Figure 1 The structures of MCC950, andrographolide, tranilast, dapansutrile, vincamine and indometacin

吲哚类化合物结构复杂多样, 表现出显著的生物活性和成药性, 如抗糖尿病、抗癌、抗菌、抗炎、抗病毒等[17,18], 已成为开发新型药物的重要来源。许多吲哚类生物碱具有显著的抗炎效果, 如长春胺 (vincamine) 通过抑制核因子-κB 通路发挥抗炎作用[19], 吲哚美辛 (indometacin) 通过抑制环氧合酶活性发挥抗炎作用[20]等。目前 7-甲氧基吲哚类化合物在抗炎作用方面未见任何报道, 具有潜在的研究价值。该研究前期从课题组内吲哚生物碱化合物库筛选发现, 化合物 **A-3** 显示出良好的抗 NLRP3 炎症小体活性, 其化学名为 4-溴-7-甲氧基-1*H*-吲哚-3-甲醛 (图 2)。以 **A-3** 为苗头分子出发, 进行多个位点的结构修饰, 以此获得更好活性的抗炎化合物。

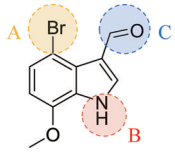


Figure 2 4-Bromo-7-methoxy-1*H*-indole-3-carboxaldehyde. The A, B, C represent the substituted sites of compound **A-3** respectively

结果

1 苗头化合物 A-3 活性的测试

利用小鼠巨噬细胞 J774A.1 评估了化合物 **A-3** 对 NLRP3 炎症小体活化的抑制能力, 结果显示其具有良好的抗炎活性, IC_{50} 为 8.3 μmol·L^{-1}。通过对该化合物的 C-1、C-3、C-4 位点进行修饰改造, 旨在发现具有更强抗炎活性的目标分子。

2 目标化合物的设计

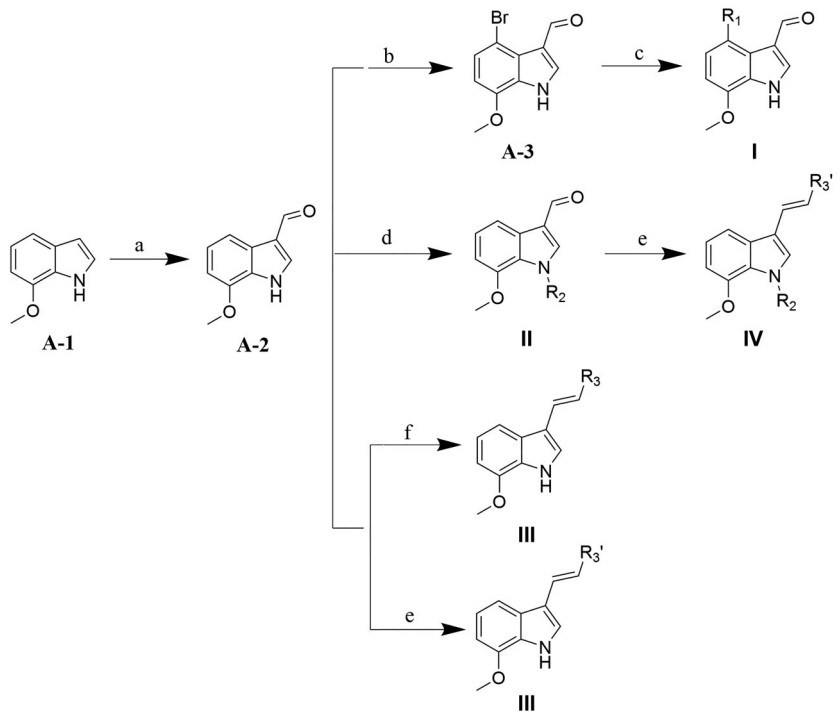
为了提高该类型化合物的生物活性, 分别对 A、B、C 3 个位点进行设计与改造 (图 2), A 部分保留 C-3 位的醛基, 在 C-4 位通过 Suzuki 反应[21]引入不同基团进行探讨; B 部分在氨基位点通过卤素取代反应引入不同基团进行探讨; C 部分在 C-3 位点通过羟醛缩合反应[22]引入不同基团进行探讨。

3 目标化合物的合成

以 7-甲氧基吲哚为原料出发, 冰浴条件下与 $POCl_3$ 和 DMF 作用得到中间体 **A-2**。**A-2** 和 NBS 反应后的中间体 **A-3** 与带有不同取代基的硼酸反应得到 I 类化合物; **A-2** 上的氨基与带有不同取代基的苄溴在碱性作用下得到 II 类化合物; **A-2** 上的醛基与带有不同取代基的酮反应得到 **III-1** 和 **III-2**, 与硝基甲烷和乙酸铵在 120 ℃ 下得到 **III-3**; 根据 **III-3** 的反应条件, II 类化合物可通过类似方法得到 IV 类化合物。所有路线 (合成路线 1) 共合成 19 个目标分子, 其中 I 类化合物 4 个, II 类化合物 6 个, III 类化合物 3 个, IV 类化合物 6 个, 目标结构上各个位点的取代基团见表 1。其结构经 ^{1}H NMR、^{13}C NMR、HR-MS 确定, 理化性质及谱图数据见表 2。

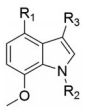
4 体外抗炎活性评价

4.1 目标化合物对 J774A.1 细胞释放乳酸脱氢酶的影响 实验中使用小鼠巨噬细胞 J774A.1 评价了目标化合物对 NLRP3 炎症小体的抑制作用, 以穿心莲内酯为



Scheme 1 Synthetic routes of 7-methoxy indoles derivatives. Reagents and conditions: a: DMF, $POCl_3$, 3 h, 0 ℃; b: DMF, NBS, 1 h, rt; c: R_1-$B(OH)_2$, 1,4-dioxane, K_2CO_3, $(dppf)_2PdCl_2$, N_2, 8 h, 90 ℃; d: R_2-Br, DMF, NaH, 6 h, 50 ℃; e: CH_3NO_2, CH_3COONH_4, 3 h, 120 ℃; f: R_3-CH_3, CH_3OH, CH_3ONa, 12 h, 50 ℃

Table 1 The 19 target compounds **I-1**–**I-4**, **II-1**–**II-6**, **III-1**–**III-3**, **IV-1**–**IV-6**



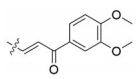
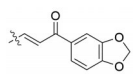
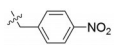
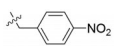
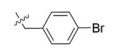
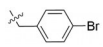
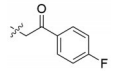
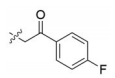
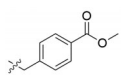
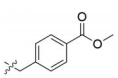
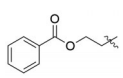
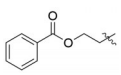
Compd.	R_1	R_2	R_3	Compd.	R_1	R_2	R_3
I-1		H	CHO	**III-1**	H	H	
I-2		H	CHO	**III-2**	H	H	
I-3		H	CHO	**III-3**	H	H	
I-4		H	CHO	**IV-1**	H		
II-1	H		CHO	**IV-2**	H		
II-2	H		CHO	**IV-3**	H		
II-3	H		CHO	**IV-4**	H		
II-4	H		CHO	**IV-5**	H		
II-5	H		CHO	**IV-6**	H		
II-6	H		CHO				

Table 2 Physical and spectral data of compounds **I-1**−**I-4**, **II-1**−**II-6**, **III-1**−**III-3**, **IV-1**−**IV-6**

Compd.	Mp, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, HRMS-ESI
I-1	mp: 239−242 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 12.57 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.60 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.36 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.98 (s, 3H), 2.05 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 185.00, 168.90, 146.46, 142.69, 139.76, 132.68, 129.16, 127.64, 127.50, 125.26, 124.02, 123.94, 119.87, 119.00, 117.92, 103.76, 56.01, 24.53; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{18}H_{16}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 309.123 4, found 309.123 5
I-2	mp: 190−193 ℃; ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 12.58 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 9.54 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.75−7.62 (m, 2H), 7.28 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.99 (d, J = 3.2 Hz, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 189.65, 184.17, 160.96, 146.45, 137.32, 135.38, 134.69, 128.37, 127.96, 126.46, 124.57, 124.48, 123.99, 119.34, 112.82, 104.18, 56.53, 56.04; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{18}H_{15}NO_4$ $[M+H]^+$ 310.107 4, found 310.107 0
I-3	mp: 222−225 ℃; ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 12.61 (s, 1H), 9.53 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.99 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.54 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.89 (s, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 184.13, 166.73, 147.25, 146.88, 135.48, 129.75, 129.75, 129.38, 129.38, 128.24, 128.00, 126.80, 124.69, 124.24, 119.27, 104.20, 56.09, 52.57; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{18}H_{15}NO_4$ $[M+H]^+$ 310.107 4, found 310.107 4
I-4	mp: 173−175 ℃; ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 12.61 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.53 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.19 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.01 (s, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 183.72, 151.45, 149.51, 147.07, 143.21, 138.02, 137.48, 127.77, 125.45, 124.70, 124.19, 121.43, 119.90, 104.23, 56.10; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{15}H_{11}ClN_2O_2$ $[M+H]^+$ 287.058 2, found 287.058 0
II-1	mp: 155−158 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, chloroform-*d*) δ_H: 9.95 (s, 1H), 8.09 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.20−7.14 (m, 3H), 6.67 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.68 (s, 2H), 3.71 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*) δ_C: 184.70, 147.46, 147.12, 145.15, 138.85, 127.78, 127.15, 127.15, 126.65, 124.25, 124.10, 124.10, 119.02, 114.65, 105.45, 55.42, 53.08; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{17}H_{14}N_2O_4$ $[M+H]^+$ 311.102 6, found 311.102 3
II-2	mp: 103−105 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, chloroform-*d*) δ_H: 9.90 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.36 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.14 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.67 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 3.76 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*) δ_C: 184.70, 147.31, 138.90, 136.68, 131.96, 131.96, 128.58, 128.58, 127.74, 126.84, 123.97, 121.80, 118.69, 114.54, 105.34, 55.45, 53.02; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{17}H_{14}BrNO_2$ $[M+H]^+$ 344.028 1, found 344.027 6
II-3	mp: 203−206 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.94 (s, 1H), 8.28−8.06 (m, 3H), 7.73 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.48 (t, J = 8.9 Hz, 2H), 7.17 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.05 (s, 2H), 3.58 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 192.73, 185.32, 167.15, 147.47, 142.73, 131.72, 131.69, 131.57, 131.47, 127.23, 124.02, 117.96, 116.78, 116.56, 114.15, 105.77, 56.43, 56.03; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{18}H_{14}FNO_3$ $[M+H]^+$ 312.103 0, found 312.102 9
II-4	mp: 151−154 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.94 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.91 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.16 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 185.31, 166.41, 147.58, 144.36, 142.19, 129.95, 129.95, 129.13, 127.55, 127.33, 127.33, 126.62, 124.25, 118.14, 114.07, 106.01, 55.95, 52.94, 52.58; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{19}H_{17}NO_4$ $[M+H]^+$ 324.123 0, found 324.123 0
II-5	mp: 118−121 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 9.90 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.84 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.64 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.17 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.85 (t, J = 4.9 Hz, 2H), 4.66 (t, J = 4.9 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 185.14, 165.80, 147.52, 142.42, 133.91, 129.74, 129.57, 129.57, 129.15, 129.15, 127.48, 126.60, 124.03, 118.03, 114.05, 105.71, 64.82, 56.04, 49.04; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{19}H_{17}NO_4$ $[M+H]^+$ 324.123 0, found 324.122 6
II-6	mp: 159−160 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, chloroform-*d*) δ_H: 9.98 (s, 1H), 7.88 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 7.20 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.75 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.56 (t, J = 2.6 Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*) δ_C: 184.77, 147.34, 138.01, 127.67, 126.45, 123.97, 118.57, 114.59, 105.25, 77.40, 75.25, 55.64, 39.47; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{13}H_{11}NO_2$ $[M+H]^+$ 214.086 3, found 214.086 2
III-1	mp: 230−233 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, chloroform-*d*) δ_H: 8.77 (s, 1H), 8.02 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.66 (dd, J = 8.3, 1.8 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.91 (d, J = 3.6 Hz, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, chloroform-*d*) δ_C: 189.07, 152.78, 149.13, 146.38, 138.24, 132.09, 129.26, 127.73, 126.66, 122.60, 122.25, 117.56, 115.07, 113.21, 110.83, 109.98, 109.93, 103.36, 56.09, 55.46; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{20}H_{19}NO_4$ $[M+H]^+$ 338.138 7, found 338.139 1
III-2	mp: 181−184 ℃; ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 11.99 (s, 1H), 8.08−7.95 (m, 2H), 7.80 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.68−7.53 (m, 3H), 7.14 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.16 (s, 2H), 3.95 (s, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 187.14, 151.34, 148.35, 146.99, 138.98, 133.66, 133.04, 128.22, 127.38, 124.67, 122.20, 115.37, 113.79, 113.33, 108.52, 108.17, 103.77, 102.35, 55.76; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{19}H_{15}NO_4$ $[M+H]^+$ 322.107 4, found 322.107 4
III-3	mp: 140−143 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 12.45 (s, 1H), 8.41 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.98 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.17 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 3.94 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 146.99, 136.04, 135.39, 131.58, 127.96, 126.63, 123.31, 113.40, 109.21, 104.59, 55.83; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{11}H_{10}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 219.076 4, found 219.076 2
IV-1	mp: 200−203 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 8.45−8.30 (m, 2H), 8.20 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 8.01 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.19 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 3.76 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 147.81, 147.22, 146.55, 139.55, 134.17, 132.47, 128.21, 128.17, 128.17, 126.93, 124.28, 124.28, 124.04, 113.73, 108.64, 106.01, 56.02, 52.72; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{18}H_{15}N_3O_5$ $[M+H]^+$ 354.108 4, found 354.108 0

Continued

Compd.	Mp, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, HRMS-ESI
IV-2	mp: 193−195 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 8.35 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.99 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 7.53 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 7.18 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.85 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.61 (s, 2H), 3.82 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 147.86, 139.48, 138.21, 134.28, 132.22, 131.95, 131.95, 129.52, 129.52, 128.18, 126.89, 123.94, 121.09, 113.66, 108.49, 105.92, 56.02, 52.54; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{18}H_{15}BrN_2O_3$ $[M+H]^+$ 387.033 9, found 387.033 7
IV-3	mp: 209−212 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, methanol-d_4) δ_H: 9.20 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 8.98 (dd, J = 8.8, 5.5 Hz, 2H), 8.90 (s, 1H), 8.80 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.28 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 8.00 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.84 (s, 2H), 4.39 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, methanol-d_4) δ_C: 193.49, 148.57, 141.28, 135.37, 132.86, 132.55, 132.52, 132.39, 132.29, 128.63, 128.49, 124.61, 117.55, 117.34, 114.68, 109.07, 106.63, 57.27, 56.90; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{19}H_{15}FN_2O_4$ $[M+H]^+$ 355.108 9, found 355.108 7
IV-4	mp: 220−222 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 8.44−8.27 (m, 2H), 8.00 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.18 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.73 (s, 2H), 3.79 (d, J = 22.2 Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 166.39, 147.88, 144.26, 139.61, 134.24, 132.31, 129.97, 129.97, 129.15, 128.20, 127.32, 127.32, 127.02, 123.95, 113.69, 108.51, 105.98, 56.01, 52.97, 52.58; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{20}H_{18}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 367.128 8, found 367.128 6
IV-5	mp: 134−136 ℃; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 8.36−8.24 (m, 2H), 7.95 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.62 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (dt, J = 15.5, 7.8 Hz, 3H), 7.17 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.81 (t, J = 4.7 Hz, 2H), 4.62 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 165.82, 147.83, 139.88, 134.31, 133.92, 132.00, 129.69, 129.60, 129.60, 129.14, 129.14, 128.14, 126.99, 123.77, 113.64, 108.28, 105.69, 64.81, 56.09, 49.12; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{20}H_{18}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 367.128 8, found 367.129 0
IV-6	mp: 163−166 ℃; ^{1}H NMR (600 MHz, chloroform-*d*) δ_H: 8.15 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 11.7 Hz, 2H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.23 (d, J = 2.5 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 2.47 (t, J = 2.5 Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, chloroform-*d*) δ_C: 147.95, 135.08, 133.21, 132.55, 128.09, 126.98, 123.58, 113.18, 108.82, 105.21, 77.45, 75.11, 55.74, 39.42; HRMS-ESI: *m/z* Calcd. for $C_{14}H_{12}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 257.092 1, found 257.091 8

阳性对照, 实验结果如图3所示。化合物**II-2**、**III-3**、**IV-1**、**IV-5**、**IV-6**在浓度为10 μmol·L^{-1}时对乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 的释放表现出良好的抑制作用, 其中化合物**III-3**、**IV-1**、**IV-5**、**IV-6**以剂量依赖性的方式降低LDH水平, IC_{50}值分别为2.00 ± 0.49、3.22 ± 0.57、2.49 ± 0.43、2.36 ± 0.66 μmol·L^{-1}, 均优于阳性对照穿心莲内酯 (IC_{50}值为10.47 ± 0.78 μmol·L^{-1})。

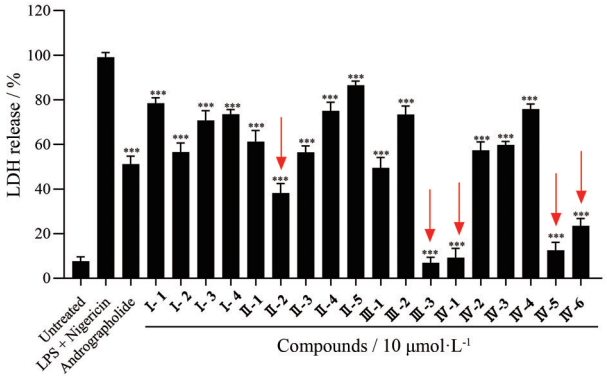


Figure 3 Evaluation of the effect of 19 target compounds on NLRP3 inflammasome activity. Inhibition rate of target compounds on LDH release. LDH: Lactate dehydrogenase; LPS: Lipopolysaccharides. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{***}P < 0.001$ *vs* LPS + Nigericin group

4.2 目标化合物抑制NLRP3炎症小体的激活 NLRP3炎症小体激活后, 活化的caspase-1将白细胞介素-1β前体 (pro-IL-1β) 转化为IL-1β, 释放到胞外。为了进一步研究化合物的抗炎活性, 本研究利用蛋白免疫印迹 (Western blot, WB) 检测了化合物**III-3**、**IV-1**、**IV-5**、**IV-6**对炎性蛋白Caspase-1、IL-1β表达的影响, 实验结果如图4所示。当使用LPS + Nigericin激活NLRP3炎症小体后, caspase-1和IL-1β蛋白大量表达, 而目标化合物能明显抑制caspase-1和IL-1β的成熟和释放。

4.3 目标化合物IV-5抑制J774A.1细胞焦亡 NLRP3炎症小体活化后激活caspase-1, 活化的caspase-1还会剪切Gasdermin D (GSDMD) 蛋白, 使其N端活化, 活化后的GSDMD-NT会在细胞膜上打孔使细胞焦亡。碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染料是一种细胞核染色试剂, 当细胞焦亡时其膜通透性发生改变, PI染料可以透过细胞膜, 特异性的与细胞内的DNA结合, 使焦亡细胞释放红色荧光。用化合物**IV-5**处理LPS + Nigericin刺激的J774A.1细胞, PI/Hoechst 33342染料进行染色, 使用倒置荧光显微镜观察。结果表明 (图5A、B), 化合物**IV-5**能剂量依赖性的减少PI阳性细胞的数量。WB的结果显示 (图5C、D), 化合物**III-3**、**IV-1**、**IV-5**、**IV-6**能剂量依赖的抑制GSDMD-NT的产生, 表明目标化合物能抑制nigericin诱导的J774A.1巨噬细胞焦亡。

5 构效关系研究

I和II类化合物的抗炎活性并不理想 (表3), 只有化合物**II-2**的活性达到10 μmol·L^{-1}以下。而在III类化合物中, **III-3**的抗炎活性得到明显提升, 可能是因为化合物上的硝基对活性的影响较大。为了进一步验证硝基对化合物活性的提升作用, 作者在II类化合物

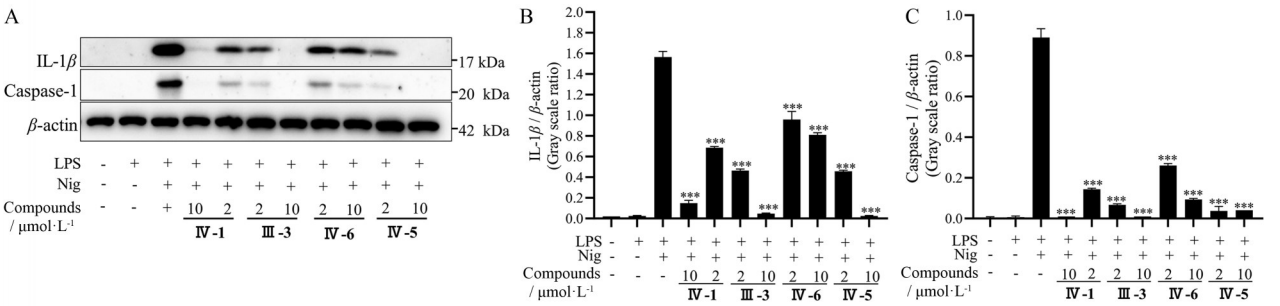


Figure 4 Effects of compounds **III-3**, **IV-1**, **IV-5**, **IV-6** on LPS + Nigericin induced caspase-1 and IL-1β protein expression in J774A.1 cell. A: Western blot (WB) detection of caspase-1 and IL-1β protein expression levels; B: Quantitative grayscale analysis of IL-1β protein expression; C: Quantitative grayscale analysis of caspase-1 protein expression. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{***}P < 0.001$ *vs* LPS + Nig group. Nig: Nigericin

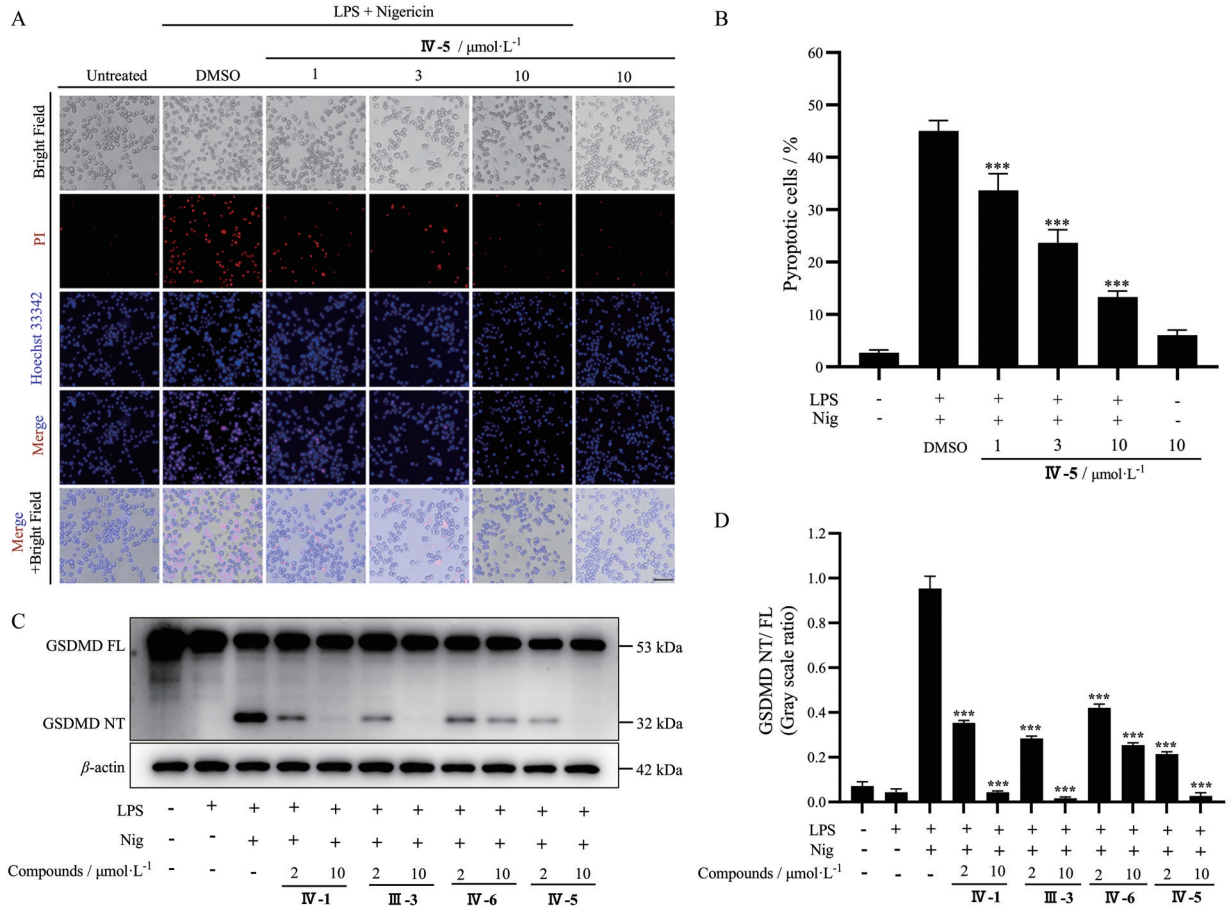


Figure 5 Target compounds inhibit pyroptosis in J774A.1 cell. A: Immunofluorescence staining of PI and Hoechst 33342 staining detected typical cell death, scale bar: 100 μm; B: Quantitative analysis of pyroptosis cells; C: After treating cells with the target compounds, the expression level of GSDMD-NT was detected by Western blot; D: Quantitative grayscale analysis of GSDMD-NT protein expression. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{***}P < 0.001$ *vs* LPS + Nig group

的C-3位点引入硝基后得到Ⅳ类化合物, 并将Ⅳ类化合物与Ⅱ类化合物进行分析比较: **IV-1**、**IV-5**、**IV-6** 与 **II-1**、**II-5**、**II-6** 相比, 在C-3位点引入硝基后, 化合物的活性得到明显提升, 进一步论证硝基对化合物活性的影响较大; 与 **IV-2** 相比, **IV-3** 和 **IV-4** 没有活性可能是由于体积过大的R_2基团严重影响这类化合物的活性, 因而在引入硝基后化合物活性并未发生明显变化; 与 **IV-3** 和 **IV-4** 相比, **IV-5** 的活性有明显提升可能是由于R_2基团的链长增加, 导致化合物的柔性增大, 更有利于活性的提升。

由于该类化合物的靶标尚未明确, 作者利用3D药效团模型 (3D pharmacophore) 方法[23]对该类化合物的

Table 3 The data on the anti-inflammatory activity of the target compounds

Compd.	IC_{50}/μmol·L^{-1}	Compd.	IC_{50}/μmol·L^{-1}
I-1	36.0	**III-1**	33.3
I-2	27.4	**III-2**	47.3
I-3	> 50	**III-3**	2.0
I-4	34.1	**IV-1**	3.2
II-1	27.6	**IV-2**	10.0
II-2	8.1	**IV-3**	> 50
II-3	> 50	**IV-4**	> 50
II-4	> 50	**IV-5**	2.5
II-5	> 50	**IV-6**	2.4
II-6	20.5		

构效关系进行了定性研究。理想的药效团模型应该与活性好 (IC_{50}较小) 的化合物有较高的匹配值 (FitValue较大), 而对活性差的化合物有较低的匹配值。采用包含12个化合物的训练集生成了9个候选药效团, 然后用由5个化合物组成的测试集对候选药效团的性能进行评价, pharmacophore 3和9能够较好地区分活性与非活性化合物 (图6A)。

由于药效团3与9的特征基本一致, 均包含两个氢键受体和一个疏水中心。以药效团9为例, 与活性较好的化合物 **IV-6** (2.4 μmol·L^{-1}) 进行叠合 (图6B、C), **IV-6**上的硝基和甲氧基分别作为氢键受体, 而吲哚上的苯环作为疏水中心。

6 小结

通过筛选组内化合物库的方法鉴定出一种有效抑制NLRP3炎症小体活化的化合物 **A-3**, 设计并合成了19个7-甲氧基吲哚类衍生物的目标分子, 其中有18个化合物为新化合物 (化合物 **III-3** 除外)。体外活性实验表明, 化合物 **III-3**、**IV-1**、**IV-5** 和 **IV-6** 对NLRP3炎症小体显示出良好的抑制活性。进一步的WB和PI染色实验显示化合物 **IV-5** 能够抑制J774A.1细胞的焦亡。此外, 利用3D药效团方法进行初步研究, 为进一步基于该苗头骨架开发炎症小体通路抑制剂奠定基础。

实验部分

1 主要仪器与试剂

所涉及化学试剂均为分析纯规格, 其中有机溶剂均通过3A分子筛进行脱水处理。针对需隔绝空气的反应体系均采取氮气保护措施。反应进程采用薄层色谱法 (TLC) 进行监测, 使用青岛海洋化工厂生产的GF25429硅胶板完成。分离纯化采用200～300目硅胶进行柱层析。化合物的结构表征依托Bruker AM-400 MHz或600 MHz核磁共振波谱仪完成并选用DMSO-d_6或$CDCl_3$作为氘代溶剂, 化学位移值以δ (ppm) 相对于内参比四甲基硅烷作为单位报告。化合物的相对分子质量通过Agilent LC/MSD TOF飞行时间质谱仪完成。化合物的熔点测定均使用SGW®X-4显微熔点仪。小鼠单核巨噬细胞J774A.1购自昆明动物研究所。细胞检测使用荧光显微镜 (Axio Observer 3, 德国Zeiss公司) 观察。

2 化学合成

2.1 I类化合物的合成步骤 以*N*-(3-(3-醛基-7-甲氧基-1*H*-吲哚-4-基)苯基)乙酰胺 (**I-1**) 为例, 向市售的7-甲氧基吲哚 (1 mmol, 131 μL) 加入2 mL DMF溶液稀释, 冰浴下倒入盛有350 μL $POCl_3$的DMF (12 mol·L^{-1}) 溶液中, 常温搅拌3 h, TLC监测反应完全, 用2 mol·L^{-1}的NaOH溶液调节反应液的pH值, 乙酸乙酯萃取, 饱和NaCl溶液洗涤3次, 无水硫酸钠干燥, 旋干, 得到乳白色固体粉末, 为中间体 **A-2**, 产率94.2%。

将中间体 **A-2** (1 mmol, 175 mg) 溶解在5 mL DMF溶液中, 冰浴下缓慢加入NBS (1.2 mmol, 214 mg), 常温搅拌1 h, TLC监测反应完全, 倒入30 mL水, 乙酸乙

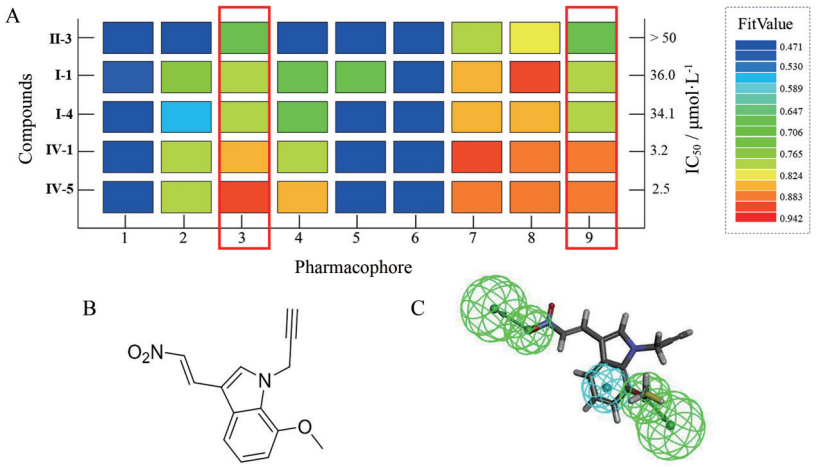


Figure 6 The 3D pharmacophore analysis of target compounds. A: The evaluation of 3D pharmacophore model; B: The structure of compound **IV-6**; C: Superimposed of compound **IV-6** and pharmacophore 9. Green sphere: Hydrogen bond acceptor; Blue sphere: Hydrophobic center

酯萃取, 饱和NaCl溶液洗涤3次, 无水硫酸钠干燥, 旋干, 得到黄色油状物, 为中间体**A-3**, 产率88.5%。

将中间体**A-3** (1 mmol, 254 mg)、3-乙酰氨基苯硼酸 (1.2 mmol, 215 mg) 溶解在8 mL 1,4-二氧六环中, 再加入3 mol·L^{-1} K_2CO_3溶液2 mL, 氮气保护下加入$(dppf)_2PdCl_2$催化剂 (0.15 mmol, 110 mg), 90 ℃下回流7～8 h, TLC监测反应完全, 乙酸乙酯萃取, 饱和NaCl溶液洗涤3次, 无水硫酸钠干燥, 旋干, 使用PE∶EtOAc = 1∶1硅胶柱层析, 得到灰色固体粉末, 为目标化合物**I-1**, 产率78.7%。

类似方法制备**I-2**～**I-4**。

2.2 II类化合物的合成步骤 以7-甲氧基-1-(4-硝基苄基)-1*H*-吲哚-3-甲醛 (**II-1**) 为例, 将中间体**A-2** (1 mmol, 175 mg) 溶解在5 mL DMF中, 冰浴下缓慢加入NaH (1.5 mmol, 36 mg), 常温搅拌0.5 h后, 加入4-硝基苄溴 (2 mmol, 432 mg), 50 ℃搅拌6 h, TLC监测反应完全, 倒入30 mL水, 乙酸乙酯萃取, 饱和NaCl溶液洗涤3次, 无水硫酸钠干燥, 旋干, 使用PE∶EtOAc = 3∶1硅胶柱层析, 得到淡黄色固体粉末, 为目标化合物**II-1**, 产率85.7%。

类似方法制备**II-2**～**II-6**。

2.3 III类化合物的合成步骤 以 (*E*)-1-(3,4-二甲氧基苯基)-3-(7-甲氧基-1*H*-吲哚-3-基)丙-2-烯-1-酮 (**III-1**) 为例, 将中间体**A-2** (1 mmol, 175 mg)、3,4-二甲氧基苯乙酮 (1.2 mmol, 216 mg) 和甲醇钠 (3 mmol, 540 μL) 溶解在8 mL甲醇溶液中, 50 ℃下回流7～8 h, TLC监测反应结束, 旋干, 使用PE∶EtOAc = 2∶1硅胶柱层析, 得到橙红色固体粉末, 产率54.8%。

类似方法制备**III-2**。

将化合物**A-2** (1 mmol, 175 mg)、乙酸铵 (3 mmol, 230 mg) 溶解在硝基甲烷 (100 mmol, 5.4 mL) 中, 120 ℃下回流2～3 h, TLC监测反应完全, 倒入30 mL水, 抽滤, 得到红色固体, 为目标化合物**III-3**, 产率91.4%。

2.4 IV类化合物的合成步骤 以 (*E*)-7-甲氧基-1-(4-硝基苄基)-3-(2-硝基乙烯基)-1*H*-吲哚 (**IV-1**) 为例, 将化合物**II-1** (0.5 mmol, 107 mg)、乙酸铵 (1.5 mmol, 115 mg) 溶解在硝基甲烷 (50 mmol, 2.7 mL) 中, 120 ℃下回流2～3 h, TLC监测反应完全, 倒入10 mL水, 抽滤, 得到橙红色固体粉末, 为目标化合物**IV-1**, 产率86.9%。

类似方法制备**IV-2**～**IV-6**。

3 生物活性实验

3.1 NLRP3炎症小体的激活 将培养瓶中生长密度为80%～90%的细胞以每孔2×10^{5}个细胞接种于24孔板中, 放置于37 ℃, 含5% CO_2的培养箱中孵育过夜, 第二天弃去上清, 加入Ultra-Fectin培养基配置的脂多糖 (LPS, 200 ng·mL^{-1}) 培养3～3.5 h, 再加入穿心莲内酯 (30 μmol·L^{-1}) 或化合物 (10 μmol·L^{-1}) 孵育30 min, 最后使用浓度为10 μmol·L^{-1}的Nigericin刺激1 h, 激活NLRP3炎症小体。

3.2 LDH测定 NLRP3炎症小体激活后, 收集细胞上清液, 用LDH检测试剂盒测定J774A.1细胞上清液中LDH的释放率。实验设置空白组、模型组、样品组。

3.3 细胞焦亡的检测 激活NLRP3炎症小体后, 弃去上清液, 37 ℃下, 每孔加入3 μg·mL^{-1} PI和0.5 μg·mL^{-1} Hoechst 33342混合液200 μL对细胞染色15 min。立即用倒置荧光显微镜观察, 随机选择5个不同的视野来计算焦亡细胞的比例[24]。

3.4 WB检测 激活NLRP3炎症小体后, 收集细胞上清液和细胞RIPA裂解物。细胞裂解物中加入6倍蛋白上样缓冲液, 并在沸水中加热10 min。上清液蛋白沉淀加入2倍蛋白上样缓冲液, 沸水浴10 min, −20 ℃保存。在10%或12% SDS-PAGE凝胶上分离蛋白质样品, 并使用湿式转印系统将蛋白质转印到硝酸纤维素膜上。在室温下将膜在5%脱脂牛奶中封闭1 h。然后, 将其与在5%脱脂牛奶中稀释的一抗在4 ℃下孵育过夜, TBST中洗涤3次, 将膜加入由5%脱脂牛奶制备的HRP偶联的二抗中, 并在室温下摇床孵育1 h, 再用TBST洗涤3次。使用增强化学发光试剂盒检测蛋白质条带, 并使用Tanon-5200Multi自动化学发光图像分析系统成像[25]。

3.5 统计学方法 采用GraphPad Prism 10软件对各实验结果进行统计分析, 并作图。所有结果均以3个独立实验的平均值 ± 标准差 (SD) 值表示。对于多组间的数据比较, 采用单因素方差分析方法进行差异分析。当$P < 0.05$时, 认为具有统计学意义。

4 3D药效团的生成与分析

采用软件Discovery Studio 2019 (DS) 进行药效团模型的生成与构效关系分析。选择12个化合物**I-2**、**I-3**、**II-1**、**II-4**、**II-5**、**II-6**、**III-1**、**III-3**、**IV-2**、**IV-3**、**IV-4**、**IV-6**作为训练集, 5个化合物**I-1**、**I-4**、**II-3**、**IV-1**、**IV-5**作为测试集。采用DS中Pharmacophore-3D QSAR Pharmacophore Generation模块进行药效团的建立。针对抑制活性较低 (IC_{50}值大于50 μmol·L^{-1}) 的化合物, 设置活性阈值为100, 作为非抑制活性判断标准。基于高活性化合物的结构特点, 在Feature Mapping模块中选择3种化学特征: 分别为氢键受体、氢键供体、疏水作用。在构象分析阶段采用BEST方法使化合物生成不超过200的能量优化构象。经训练集数据建模共生成9个候选药效团模型, 并通过Ligand Profiler模块将测试集数据绘入药效团模型进行验证评估, 并以实验测定的化合物活性数据与预测FitValue的相关性为评价

指标, 比较不同的药效团模型的预测性能, 最终筛选出最优药效团模型。

作者贡献: 徐梓菡负责化合物的设计合成、数据整理及论文撰写; 李慧琼负责生物活性测试及数据分析; 沈天择负责实验技术指导; 丁玲负责部分生物活性测试; 张兴杰负责生物实验指导; 张芮菡和肖伟烈负责课题指导及论文指导。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Guo HT, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics [J]. Nat Med, 2015, 21: 677-687.

[2] Liu W, Guo WJ, Xu Q, et al. Advances in mechanisms for NLRP3 inflammasomes regulation [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2016, 51: 1505-1512.

[3] Zhu Y, Guo Y, Guo P, et al. Estrogen receptor *β* activation alleviates inflammatory bowel disease by suppressing NLRP3-dependent IL-1*β* production in macrophages *via* downregulation of intracellular calcium level [J]. J Adv Res, 2024. DOI: 10.1016/j.jare.2024.06.004.

[4] Van Linthout S. Shared mechanisms in cancer and cardiovascular disease: S100A8/9 and the NLRP3 inflammasome: JACC: cardiooncology state-of-the-art review [J]. JACC CardioOncol, 2024. DOI: 10.1016/j.jaccao.2024.10.010.

[5] Toldo S, Mezzaroma E, Buckley LF, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases [J]. Pharmacol Ther, 2022, 236: 108053.

[6] Li BY, Li P, Wei LY, et al. Discovery and development of NLRP3 inhibitors targeting the LRR domain to disrupt NLRP3-NEK7 interaction for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. J Med Chem, 2024, 67: 9869-9895.

[7] McManus RM, Latz E. NLRP3 inflammasome signalling in Alzheimer's disease [J]. Neuropharmacology, 2024, 252: 109941.

[8] Dahiya R, Sutariya VB, Gupta SV, et al. Harnessing pyroptosis for lung cancer therapy: the impact of NLRP3 inflammasome activation [J]. Pathol Res Pract, 2024, 260: 155444.

[9] Wang ZQ, Zhang ZJ, Liu XY, et al. Research progress of anti-gout small molecules targeting the NLRP3 inflammasome [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 543-553.

[10] Coll RC, Hill JR, Day CJ, et al. MCC950 directly targets the NLRP3 ATP-hydrolysis motif for inflammasome inhibition [J]. Nat Chem Biol, 2019, 15: 556-559.

[11] Coll RC, Robertson AA, Chae JJ, et al. A small-molecule inhibitor of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases [J]. Nat Med, 2015, 21: 248-255.

[12] Albanese V, Missiroli S, Perrone M, et al. Novel aryl sulfonamide derivatives as NLRP3 inflammasome inhibitors for the potential treatment of cancer [J]. J Med Chem, 2023, 66: 5223-5241.

[13] Özenver N, Efferth T. Phytochemical inhibitors of the NLRP3 inflammasome for the treatment of inflammatory diseases [J]. Pharmacol Res, 2021, 170: 105710.

[14] Chen X, Zhang P, Zhang Y, et al. The research progression of direct NLRP3 inhibitors to treat inflammatory disorders [J]. Cell Immunol, 2024, 397-398: 104810.

[15] Marchetti C, Swartzwelter B, Gamboni F, et al. OLT1177, a *β*-sulfonyl nitrile compound, safe in humans, inhibits the NLRP3 inflammasome and reverses the metabolic cost of inflammation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115: E1530-E1539.

[16] Li N, Zhang R, Tang M, et al. Recent progress and prospects of small molecules for NLRP3 inflammasome inhibition [J]. J Med Chem, 2023, 66: 14447-14473.

[17] Hu W, Yan G, Ding Q, et al. Update of indoles: promising molecules for ameliorating metabolic diseases [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 150: 112957.

[18] Pravin NJ, Kavalapure RS, Alegaon SG, et al. Indoles as promising therapeutics: a review of recent drug discovery efforts [J]. Bioorg Chem, 2025, 154: 108092.

[19] Patangrao Renushe A, Kumar Banothu A, Kumar Bharani K, et al. Vincamine, an active constituent of vinca rosea ameliorates experimentally induced acute lung injury in Swiss albino mice through modulation of Nrf-2/NF-*κ*B signaling cascade [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 108: 108773.

[20] Levin G, Kariv NA, Khomiak E, et al. Indomethacin inhibits the accumulation of tumor cells in mouse lungs and subsequent growth of lung metastases [J]. Chemotherapy, 2000, 46: 429-437.

[21] Ye TN, Lu YF, Xiao ZW, et al. Palladium-bearing intermetallic electride as an efficient and stable catalyst for Suzuki cross-coupling reactions [J]. Nat Commun, 2019, 10: 5653.

[22] Mellado M, González C, Mella J, et al. Combined 3D-QSAR and docking analysis for the design and synthesis of chalcones as potent and selective monoamine oxidase B inhibitors [J]. Bioorg Chem, 2021, 108: 104689.

[23] Khamouli S, Tabish Rehman M, Zegheb N, et al. Comprehensive *in silico* discovery of c-Src tyrosine kinase inhibitors in cancer treatment: a unified approach combining pharmacophore modeling, 3D QSAR, DFT, and molecular dynamics simulation [J]. J King Saud Univ Sci, 2024, 36: 103076.

[24] Li R, Sun XR, He XT, et al. 16,17-*dinor*-Abietane diterpenoids from *Casearia kurzii* [J]. Fitoterapia, 2023, 168: 105519.

[25] Zhang XJ, Pu YK, Yang PY, et al. Isolicoflavonol ameliorates acute liver injury *via* inhibiting NLRP3 inflammasome activation through boosting Nrf2 signaling *in vitro* and *in vivo* [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 143: 113233.