

· 论著 ·

五味子酮衍生物的合成与抗氧化活性研究

王鹏儒^{1,2}, 李伟^{1,2}, 彭雪米^{1,2}, 郑巍³, 郭良君³, 金永生² (1. 第二军医大学学员旅, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433; 3. 解放军 98 医院药剂科, 浙江 湖州 313000)

[摘要] 目的 设计合成五味子酮衍生物, 并测试其体内抗氧化活性。方法 采用酰化等方法合成了 10 个五味子酮衍生物, 其中 7 个为首次报道, 同时测试合成的化合物对小鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD)的影响, 分析构效关系。结果 化合物 2、3、5 和 8 可明显提高 SOD 的活力, 其中化合物 2、3、5 的作用明显优于五味子酮。结论 五味子酮衍生物具有良好的抗氧化活性。构效关系表明, 五味子酮结构中 1 位的羰基和 2 位, 3 位的甲基不影响五味子酮的抗氧化活性。

[关键词] 五味子酮; 合成; 抗氧化作用

[中图分类号] O621.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2018)02-0112-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.004

Synthesis and anti-oxidation activity of schisandrone derivatives

WANG Pengru^{1,2}, LI Wei^{1,2}, PENG Xuemi^{1,2}, ZHENG Wei³, GUO Liangjun³, JIN Yongsheng² (1. Student Brigade, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Department of Pharmacy, No. 98 Hospital of PLA, Huzhou 313000, China)

[Abstract] **Objective** To design and synthesize schisandrone derivatives for the therapy of disease like AD, and to measure their anti-oxidation activity. **Methods** Ten compounds were synthesized, and seven of them were first reported. The influence all the compounds on SOD from the mouse serum were measured to evaluate anti-oxidation activity. Structure-activity relationship (SARs) were also discussed. **Results** Compounds 2, 3, 5 and 8 could increase the activity of SOD in mouse serum. Furthermore, Compounds 2, 3 and 5 showed better activities than schisandrone. **Conclusion** Synthesized schisandrone derivatives showed anti-oxidation activity. The SARs demonstrated the carbonyl of C-1 position and the methyls of C-2 and 3 had no influences to the anti-oxidant activity.

[Key words] schisandrone; synthesis; anti-oxidation

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是目前世界上最常见的痴呆类型, 已成为继肿瘤、心脏病之后的人类第三大“杀手”。目前临床中主要应用抗氧化、抗炎通过干预 β 淀粉酶(A β)级联的神经毒性, 控制过度的氧化应激及炎症反应达到控制症状的目的, 但由于 AD 发病机制复杂, 确切病因尚未明确^[1], 同时现行治疗方案所引发的副作用较多^[2], 所以开发出新一代更安全、更有效的 AD 治疗药物已迫在眉睫。

五味子酮(schisandrone, SD)是从华中五味子

中分离得到的一种具有 4-苯代四氢萘骨架的木脂素, 体外抗氧化活性强于维生素 E^[3], 能够显著减少原代培养的大鼠海马神经元细胞中由 A β 诱导产生的活性氧浓度, 明显改善 AD 样大鼠的学习记忆能力^[4], 因此, 五味子酮可能为进一步治疗 AD 提供新的方法。但由于华中五味子中五味子酮的含量较低, 难以大量提取, 而且为进一步研究五味子酮中手性碳的手性与五味子酮活性的关系, 设计并合成出保持活性的非手性结构的五味子酮衍生物, 或者具有五味子酮基本骨架或类似结构的高活性化合物, 对进一步研究五味子酮结构化合物将起到至关重要的作用。因此, 本课题组设计合成了五味子酮衍生物, 并测试其体内抗氧化活性。

1 材料

采用 ZMD-1 型熔点测定仪测定熔点, 温度计未校正。核磁共振质谱采用 Bruker AVANCE II 300

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(20502034); 原南京军区医学创新课题重大项目(14ZD02)

[作者简介] 王鹏儒, 临床医学五年制临床本科在读, Email: wpryn@163.com

[通讯作者] 金永生, 博士, 研究方向: 药物化学, Tel: (021) 81871227, Email: ysjnsmmu@163.com; 郭良君, 硕士, 研究方向: 天然药物化学, Tel: (0572) 3269772, Email: guolj201088@aliyun.com

型核磁共振仪;Q-Tof micro (ESI-MS)或 Finingan LCQ Deca XP MAX 质谱仪。试剂均为市售分析纯或化学纯试剂。五味子酮为本课题组分离制备。

2 方法与结果

2.1 五味子酮衍生物的合成

以邻二甲氧基苯为原料,经傅克反应得到中间

体 M1,再发生克莱门森反应,在多聚磷酸(PPA)作用下环合得到 M3,再与格氏试剂反应得到化合物 1,化合物 1 与其他试剂反应得到相应的化合物 2~5。具体合成路线见图 1。

五味子酮分别与碘甲烷、溴代四乙酰葡萄糖、乙酸酐、丙酸酐等反应合成了五味子衍生物 6~10。具体合成路线见图 2。

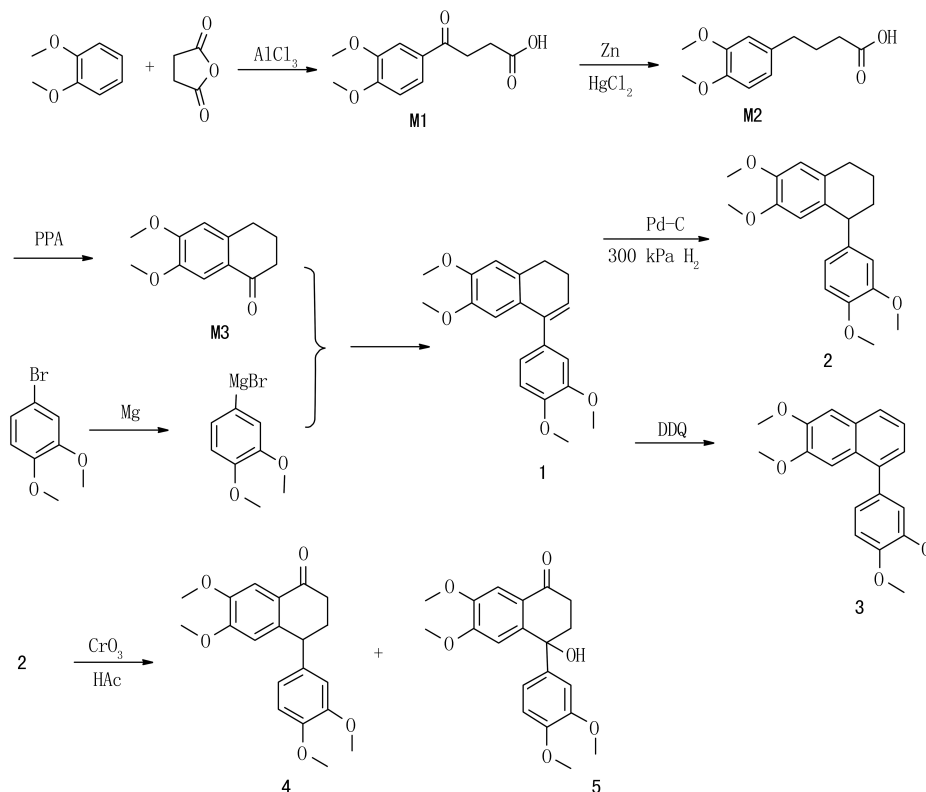


图 1 五味子酮衍生物 1~5 的合成

2.1.1 4-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-1,2-二氢萘(1)的合成

按文献方法^[5]制备 3,4-二甲氧基苯基溴化镁 500 mg,然后取化合物 6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢萘-1(2*H*)-酮 400 mg 溶于 10 ml 四氢呋喃(THF),室温下将其缓慢滴入。滴加完毕,回流反应 2 h,然后冷却至室温,冰浴下向溶液中滴加 2 mol 盐酸 50 ml。搅拌,过滤析出的固体,烘干后用乙醇重结晶,得白色晶体,收率 51%。

2.1.2 1-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢萘(2)的合成

取化合物 4-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-1,2-二氢萘(1) 300 mg,加入 20 ml 乙醇中,取适量 Pd-C,于 Parr 氢化釜 60 °C 300 kPa 下氢化反应 24 h。反应结束后滤出 Pd-C,滤液减压回收乙醇,将所得固体用甲苯重结晶,得白色固体,收率 67%。

2.1.3 1-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-甲氧基萘(3)的

合成

取化合物 4-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-1,2-二氢萘(1) 100 mg,加入 20 ml 二氯甲烷中,加入 2,3-二氯-5,6-二氧基-1,4-苯醌(DDQ)200 mg 加热回流反应 6 h。反应结束后减压蒸干溶剂,将所得产物经固体柱层析,得到目标化合物 60 mg,收率 63%。

2.1.4 1-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-3,4-二氢萘-1(2*H*)-酮(4)的合成

取化合物 1-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢萘(2)300 mg,加入 15 ml 乙酸中,冰浴降温至 5~10 °C,然后向其中滴加含 60 mg CrO₃的 2 ml 乙酸和 5 ml 水的溶液。滴毕,保持该温度继续反应 1~2 h。然后将反应液倒入 100 ml 的冰水中,用 CH₂Cl₂ 萃取,合并 CH₂Cl₂ 液,再用水将 CH₂Cl₂ 液洗一遍。然后用 Na₂SO₄ 干燥过夜,次日除去 Na₂SO₄ 后,旋蒸除去 CH₂Cl₂,柱层析分离

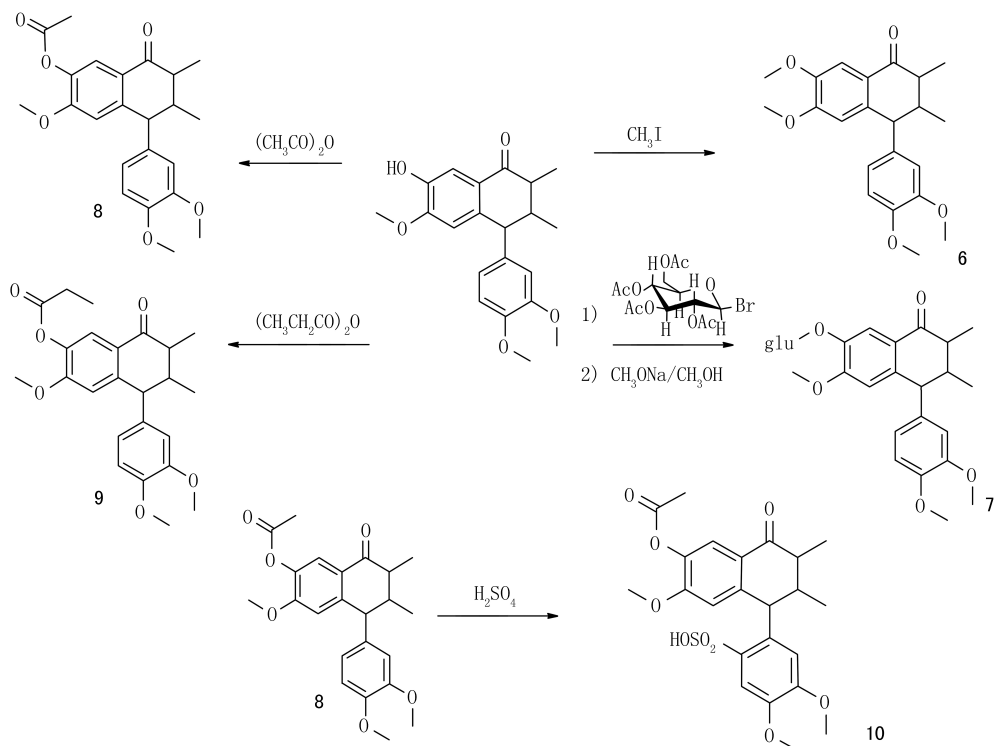


图2 五味子酮衍生物6~10的合成

(石油醚:乙酸乙酯=8:1~3:1),分离得到化合物4,收率23%。

2.1.5 1-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-4-羟基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮(5)的合成

方法同“2.1.4”项,分离得到化合物5,收率32%。

2.1.6 4-(3,4-二甲氧基苯基)-6,7-二甲氧基-2,3-二甲基-3,4-二氢萘-1(2H)-酮(6)的合成

取五味子酮100 mg,碘甲烷5 ml,碳酸钾100 mg,加入乙醇中回流反应8 h,反应结束后将反应液倒入到50 ml冰水中,并用4 mol 盐酸将pH调至2~3。过滤析出的固体,用少量乙醇重结晶。收率52%。

2.1.7 五味子酮7-O-β-D-葡萄糖苷(7)的合成

按参考文献[6]所示方法进行合成。无结晶,熔点不定,收率62%。

2.1.8 乙酰五味子酮(8)的合成

取五味子酮100 mg,乙酸酐2 ml,吡啶5 ml,回流反应2 h,反应结束后将反应液倒入到50 ml冰水中,并用4 mol 盐酸将pH调至2~3。过滤析出的固体,用少量乙醇重结晶。收率76%。

2.1.9 丙酰五味子酮(9)的合成

合成方法同“2.1.8”项。收率73%。

2.1.10 2-(6-乙酰氧基-7-甲氧基-2,3-二甲基-4-氧-

1,2,3,4-四氢萘-1-基)-4,5-二甲氧基苯磺酸(10)的合成

取乙酰五味子酮50 mg,向其中滴入8.85 g 浓硫酸,室温搅拌反应1 h,向其中加入冰水50 ml,析出固体过滤,然后柱层析(石油醚:乙酸乙酯=5:1)纯化。收率61.3%。

2.2 合成实验结果

共合成五味子酮衍生物10个,其中7个为首次报道。合成的化合物经¹HNMR或(和)MS确证了结构,物理性质和光谱数据见表1。

2.3 五味子酮衍生物对小鼠体内超氧化物歧化酶(SOD)的影响

2.3.1 实验方法

分组及给药:昆明种小鼠130只,适应性喂养4 d后,称重,随机分为13组:空白组、Vc组、药物组(化合物1~10)、五味子酮(SD)组,每组10只。空白组灌胃0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液;Vc组灌胃Vc-CMC-Na混悬液,灌胃剂量为20 mg/(kg·d);所有待试药物组和SD组均灌胃化合物CMC-Na混悬液,灌胃剂量为20 mg/(kg·d)。各组按设定剂量连续给药10 d后,从小鼠眼眶静脉丛取血,检测各组小鼠血清。

血清SOD的检测:采用南京建成生物工程研究所的SOD试剂盒检测。

表1 目标化合物的熔点、¹H NMR和MS数据

| 化合物 | 熔点 (t/°C) | ¹ H NMR (δ, ×10 ⁻⁶ , CDCl ₃) | MS (ESI) |
|-----|--------------|--|-----------------------------|
| 1 | 131~133 | 2.34~2.41(2H, m, -CH ₂ -); 2.76~2.81(2H, m, -CH ₂ -); 3.69(3H, s, -OCH ₃); 3.87(3H, s, -OCH ₃); 3.91~3.93(6H, d, -OCH ₃); 5.97~6.00(1H, m, =CH-); 6.65(1H, s, Ar-H); 6.77(1H, s, Ar-H); 6.88~6.96(3H, m, Ar-H) | M ⁺ = 327.1 |
| 2 | 134~136 | 1.71~1.92(3H, m, -CH ₂ CH ₂ -); 2.08~2.16(1H, m, -CH ₂ -); 2.73~2.88(2H, m, -CH ₂ -); 3.67(3H, s, -OCH ₃); 3.82(3H, s, -OCH ₃); 3.88~3.88(6H, d, -OCH ₃); 3.98~4.02(1H, m, CH-); 6.37(1H, s, Ar-H); 6.62~6.64(3H, m, Ar-H); 6.78~6.80(1H, d, J = 8.4, Ar-H) | M ⁺ = 329.3 |
| 3 | 142~144 | 3.84(3H, s, OCH ₃); 3.91(3H, s, OCH ₃); 3.98(3H, s, OCH ₃); 4.02(3H, s, OCH ₃); 6.99~7.02(1H, d, Ar-H); 7.07~7.10(2H, m, Ar-H); 7.19(1H, s, Ar-H); 7.28~7.731(2H, m, Ar-H); 7.35~7.41(1H, t, Ar-H); 7.68~7.701(1H, d, Ar-H) | M ⁺ = 325.4 |
| 4 | 145~147 | 2.53~2.64(1H, m, br, HCH); 2.74~2.83(1H, m, br, HCH); 2.85~2.90(2H, m, br, CH ₂); 3.79(3H, s, -OCH ₃); 3.85(3H, s, -OCH ₃); 3.91(3H, s, -OCH ₃); 3.93(3H, s, -OCH ₃); 6.51~6.55(1H, dd, Ar-H); 6.66(1H, d, Ar-H); 6.71~6.77(2H, t, Ar-H); 7.43(1H, s, Ar-H) | M ⁺ = 343.2 |
| 5 | 167~169 | 2.55~2.63(1H, m, br, HCH); 2.73~2.83(1H, m, br, HCH); 2.88~2.92(2H, m, br, CH ₂); 3.75(3H, s, -OCH ₃); 3.84(3H, s, -OCH ₃); 3.90(3H, s, -OCH ₃); 3.95(3H, s, -OCH ₃); 6.49~6.52(1H, dd, Ar-H); 6.64~6.65(1H, d, Ar-H); 6.71~6.76(2H, t, Ar-H); 7.23(1H, s, Ar-H) | M + Na ⁺ = 381.4 |
| 6 | 157~160 | 0.99~1.01(3H, d, J = 6.9 Hz, 3-CH ₃); 1.12~1.14(3H, d, J = 6.9 Hz, 2-CH ₃); 2.36~2.46(1H, m, 3-H); 2.76~2.79(1H, m, 2-H); 3.78(3H, s, OCH ₃); 3.81(3H × 2, s, OCH ₃); 3.87(3H, s, OCH ₃); 3.97~3.99(1H, d, J = 5.7 Hz, 4-H); 6.53(1H, s, 5-H); 6.54~6.62(2H, m, 2', 6'-H); 6.77~6.80(1H, d, J = 8.4 Hz, 5'-H); 7.75(1H, s, 8-H) | M ⁺ = 371.1 |
| 7 | 201~203 | 0.84~0.88(3H, m, -CH ₃); 1.05~1.07(3H, m, -CH ₃); 2.27~2.36(1H, m, br, CH); 2.72~2.74(1H, m, br, CH); 3.30~3.93(17H, m, br, OCH ₃ , glu-H, glu-OH); 5.00(1H, s, CH); 6.14(1H, s, CH); 6.42~6.56(1H, m, Ar-H); 6.63~6.68(1H, m, Ar-H); 6.71~6.76(1H, m, Ar-H); 6.82~6.85(1H, d, Ar-H); 7.23~7.67(1H, d, Ar-H) | M + Na ⁺ = 541.5 |
| 8 | 165~167 | 0.98~1.00(3H, d, J = 6, -CH ₃); 1.12~1.14(3H, d, J = 6, -CH ₃); 2.10~2.30(1H, m, br, CH); 2.35(3H, s, COCH ₃); 2.80(1H, m, br, CH); 3.70(3H, s, OCH ₃); 3.83(3H, s, OCH ₃); 4.00(3H, s, OCH ₃); 6.51~6.57(1H, m, Ar-H); 6.60~6.61(1H, m, Ar-H); 6.75~6.76(1H, d, Ar-H); 6.86~6.89(1H, d, Ar-H); 7.76(1H, s, Ar-H) | M ⁺ = 399.3 |
| 9 | 158~160 | 0.92~0.95(3H, m, -CH ₃); 0.99~1.02(3H, d, -CH ₃); 1.14~1.26(3H, d, -CH ₃); 2.10~2.30(1H, m, br, CH); 2.34~2.41(1H, m, CH); 2.56~2.64(2H, q, CH ₂); 2.76~2.80(1H, m, br, CH); 3.71(3H, s, OCH ₃); 3.83(3H, s, OCH ₃); 3.91(3H, s, OCH ₃); 6.54~6.57(1H, m, Ar-H); 6.60~6.61(1H, m, Ar-H); 6.75~6.76(1H, d, Ar-H); 6.86~6.89(1H, d, Ar-H); 7.76(1H, s, Ar-H) | M ⁺ = 413.2 |
| 10 | 185~188 | 0.86~0.88(3H, d, J = 6, -CH ₃); 1.03~1.05(3H, d, J = 6, -CH ₃); 2.22~2.25(1H, m, br, CH); 2.53(3H, s, COCH ₃); 2.81(1H, m, br, CH); 3.65(3H, s, OCH ₃); 3.69(3H, s, OCH ₃); 3.74(3H, s, OCH ₃); 6.37(1H, s, Ar-H); 6.42(1H, s, Ar-H); 7.56(1H, s, Ar-H); 7.69(1H, s, Ar-H) | M ⁺ = 479.1 |

2.3.2 实验结果

从实验结果可以看出,化合物 2、3、5 和 8 组 SOD 的活力均明显高于空白组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 其中化合物 2、3、5 组的作用明显优于 SD 组 ($P < 0.01$) 且与 Vc 组相当 ($P > 0.05$)。而 SD 组的活性与空白组比较没有显著差异 ($P > 0.05$), 与 Vc 组比较明显低于其活性 ($P < 0.01$)。Vc 组明显高于空白组 ($P < 0.01$), 除化合物 2、3、5 组外, 其余组活性均低于 VC 组 ($P < 0.01$), 详见表 2。

3 讨论

本研究中五味子酮衍生物的合成收率除个别化

合物外均比较好, 有利于大量生产和制备。化合物 10 引入的磺酸基位置是在 2' 位, 可以通过¹H NMR 图谱得到确证。在化合物 10 的¹H NMR 图谱中, 所有芳氢均表现为单峰, 因此磺酸基的位置应为 2' 位。初步的构效关系表明, 五味子酮的 2, 3 位手性甲基和羰基不是活性基团, 可以去掉。通过测定血清的抗氧化酶系的活性来反应化合物的抗氧化作用是一种直观、确切的实验方法。小鼠血清 SOD 活力测定实验结果表明, 五味子酮衍生物比五味子酮显示出更好的抗氧化作用。由于五味子酮在华中五味子中的含量相对偏低, 分离制备成本高, 因此可以通

(下转第 135 页)

- [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(5):e0127071.
- [9] Shen JI, Saxena AB, Vangala S, *et al.* Renin-angiotensin system blockers and residual kidney function loss in patients initiating peritoneal dialysis: an observational cohort study [J]. *BMC Nephrol*, 2017, 18(1):196.
- [10] Ma TK, Kam K, Yan BP, *et al.* Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(6):1273-1292.
- [11] Kobayashi M, Hirooka K, Ono A, *et al.* The Relationship Between the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and NMDA Receptor-Mediated Signal and the Prevention of Retinal Ganglion Cell Death [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(3):1397-1403.
- [12] Liu L, Xu B, Ju Y. Addition of spironolactone in patients with resistant hypertension: A meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Clin Exp Hypertens*, 2017, 39(3):257-263.
- [13] Ching KC, Cohen DL, Fraker DL, *et al.* Adrenal vein sampling for primary aldosteronism: a 2-week protocol for withdrawal of renin-stimulating antihypertensives [J]. *Cardiovascular & Interventional Radiology*, 2016, 27(3):1-5.
- [14] Kim JS, Kim MK, Lee JY, *et al.* The effects of proteinuria on urinary cystatin-C and glomerular filtration rate calculated by serum cystatin-C [J]. *Ren Fail*, 2012, 34(6):676-684.
- [15] 陈冬莲, 郑身宏, 刘首明, 等. Cys-C、HbA1c、GA 和 U-mAlb/Cr 检测对 2 型糖尿病早期肾损伤的诊断价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(6):677-679.
- [16] 刘建. 重视微量白蛋白尿的筛查-早期发现慢性肾脏病 [C]. *中华医学会肾脏病学分会 2006 年学术年会专题讲座*, 2006: 156-167.
- [17] Svenningsen P, Andersen H, Nielsen LH, *et al.* Urinary serine proteases and activation of ENaC in kidney-implications for physiological renal salt handling and hypertensive disorders with albuminuria [J]. *Pflügers Archiv: Eur J Physiol*, 2015, 467(3):531-542.
- [收稿日期] 2017-11-05 [修回日期] 2017-12-25
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 115 页)

过合成五味子酮衍生物代替五味子酮, 简便易得, 本实验为进一步深入研究抗氧化和抗 AD 作用提供了

基础。

【参考文献】

- [1] Williams SC. Alzheimer's disease: Mapping the brain's decline [J]. *Nature*, 2013, 502(7473): S84-S85.
- [2] Hane F T, Robinson M, Lee B Y, *et al.* Recent progress in Alzheimer's disease research, Part 3: diagnosis and treatment. [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57(3):645-665.
- [3] 黄诒森, 何燕, 张均. 五味子三种成分的抗氧化作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 1990, 4(4):275-277.
- [4] 贾丽艳, 拓西平, 朱嘉琦, 等. 华中五味子酮对阿尔茨海默病样大鼠海马内 IL-1 β 及 iNOS 表达的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 2005, 26(2):161-163.
- [5] Van der Mey M, Hatzelmann A, Van der Laan IJ, *et al.* Novel selective PDE4 inhibitors. 1. Synthesis, structure-activity relationships, and molecular modeling of 4-(3,4-dimethoxyphenyl)-2H-phthalazin-1-ones and analogues [J]. *J Med Chem*, 2001, 44(16): 2511-2522.
- [6] 陈志卫, 胡永洲. 四种天然槲皮素-3-糖苷的合成 [J]. *有机化学*, 2006, 26(6): 813-816.

[收稿日期] 2017-09-29 [修回日期] 2017-10-19
[本文编辑] 李睿旻

表 2 目标化合物对小鼠血清 SOD 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | SOD ($Z_B/U \cdot ml^{-1}$) |
|--------|----|-------------------------------------|
| 空白组 | 10 | 80.88 \pm 6.88 |
| Vc 组 | 10 | 153.63 \pm 18.05** |
| 药物组 | | |
| 化合物 1 | 10 | 90.64 \pm 20.14## |
| 化合物 2 | 10 | 131.15 \pm 39.61** $\Delta\Delta$ |
| 化合物 3 | 10 | 157.57 \pm 17.45** $\Delta\Delta$ |
| 化合物 4 | 10 | 87.22 \pm 9.88## |
| 化合物 5 | 10 | 156.08 \pm 13.82** $\Delta\Delta$ |
| 化合物 6 | 10 | 85.72 \pm 6.98## |
| 化合物 7 | 10 | 85.72 \pm 6.98## |
| 化合物 8 | 10 | 95.62 \pm 15.86**## |
| 化合物 9 | 10 | 83.02 \pm 11.21## |
| 化合物 10 | 10 | 82.15 \pm 9.25## |
| SD 组 | 10 | 86.01 \pm 9.62## |

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与空白组比较; ## $P < 0.01$, 与 Vc 组比较; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$, 与 SD 组比较