

· 论 文 ·

硫化氢供体型 ADT-OH 衍生物的合成及其活性

李玉姚¹, 宋 恒¹, 程 坚², 敖桂珍^{1*}(苏州大学¹药学院; ²神经科学研究所, 苏州 215123)

摘要 二硫杂环化合物 5-对羟基苯基-3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮 (ADT-OH) 是一种缓释硫化氢供体, 并具有一定的神经保护作用。为了研究其构效关系, 对其芳环进行改造, 合成了 17 个 Y 类化合物 ($Y_1 \sim Y_{17}$), 其结构均经 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 和 HR-MS 确证, 其中 6 个化合物 ($Y_4, Y_{13} \sim Y_{17}$) 结构是全新的。采用 MTT 法评价了该类化合物对谷氨酸诱导损伤的 HT-22 海马神经元细胞生存率的影响, 结果发现, 这些化合物在 1~100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内具有很强的神经保护作用, 其中化合物 $Y_1 \sim Y_9, Y_{11}$ 在全部测试浓度内均能非常显著地提高受损神经元的生存率 ($P < 0.01$), 特别是化合物 $Y_1, Y_4, Y_6 \sim Y_9, Y_{11}$ 在 1~10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内活性比 ADT-OH 强, 值得进一步研究。

关键词 ADT-OH; H_2S 供体; 合成; 抗谷氨酸活性; 神经保护

中图分类号 R914 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)03-0276-06
doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170304

引用本文 李玉姚, 宋恒, 程坚, 等. 硫化氢供体型 ADT-OH 衍生物的合成及其活性 [J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(3):276-281.
Cite this article as: LI Yuyao, SONG Heng, CHENG Jian, et al. Synthesis and biological evaluation of H_2S donor ADT-OH derivatives [J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(3):276-281.

Synthesis and biological evaluation of H_2S donor ADT-OH derivativesLI Yuyao¹, SONG Heng¹, CHENG Jian², AO Guizhen^{1*}¹College of Pharmaceutical Science; ²Institute of Neuroscience, Soochow University, Suzhou 215123, China

Abstract 5-(4-Hydroxyphenyl)-3H-1,2-dithiole-3-thione (ADT-OH) is a slowly releasing H_2S donor with some neuroprotective effect. In order to study the structure-activity relationships, seventeen compounds ($Y_1 \sim Y_{17}$) were synthesized by modification of ADT-OH at the aromatic ring position, and their structures were confirmed by $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$ and HR-MS. Among them, 6 compounds ($Y_4, Y_{13} \sim Y_{17}$) were novel compounds. Their effects had been evaluated on HT-22 hippocampal neuron cells damaged by glutamate with MTT method. The pharmacological results demonstrated that all the Y compounds had potent neuroprotection at most of the tested concentrations (1-100 $\mu\text{mol/L}$). Compounds $Y_1 \sim Y_9$ and Y_{11} significantly improved the survival rates of the damaged cells at 1-100 $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$). Specially, compounds $Y_1, Y_4, Y_6 \sim Y_9, Y_{11}$ are more potent than their parent compound ADT-OH at concentration of 1-10 $\mu\text{mol/L}$, which is worthy of further study.

Key words ADT-OH; hydrogen sulfide donor; synthesis; anti-glutamic acid; neuroprotection

This work was supported by the Scientific and Technological Program of Suzhou (No. N313202713)

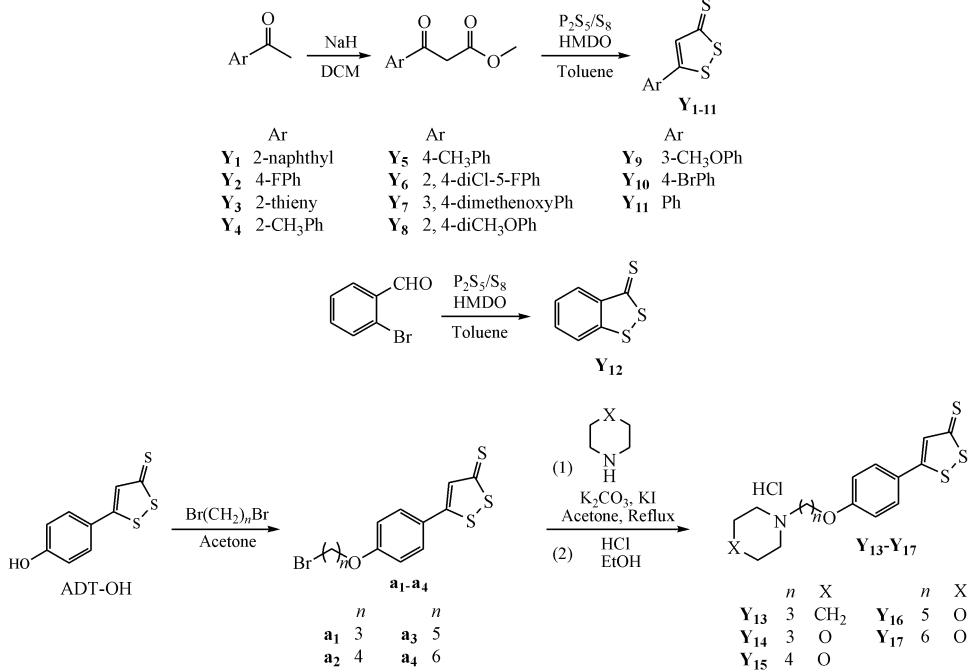
脑卒中具有高发病率、高病死率、高致残率和高复发率等特点, 是导致死亡和残疾的主要原因之一^[1-2]。缺血性脑卒中发病后脑部血管闭塞, 脑血流量下降, 一方面导致血-脑脊液屏障受损, 脑组织

水肿, 进而引发白细胞聚集, 激活环加氧酶-2 (COX-2) 和一氧化氮合成酶 (iNOS), 从而导致神经元凋亡和坏死; 另一方面, 谷氨酸激活离子型谷氨酸受体 (*N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体) 和促离子型

谷氨酸受体(α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸受体),导致胞内 Ca^{2+} 积累,扰乱胞内离子稳态,造成细胞肿胀溶解,形成大量自由基,加剧脂质过氧化损伤;谷氨酸还通过激活内切酶、钙调蛋白和钙蛋白酶从而间接诱导神经元凋亡。因此,缺血后的神经损伤是一个多途径、多环节、多因素参与的,且各因素相互触发、彼此促进的复杂病理过程^[3]。

5-对羟基苯基-3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮(ADT-OH)为硫化氢缓释供体。本课题组前期研究发现,ADT-OH 通过减少腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)的激活,减少细胞死亡;保护谷氨酸损伤

的 HT22 海马神经元细胞^[4];抑制脂多糖诱导的 BV2 小胶质细胞的炎症应答^[5];ADT-OH 羟基的甲基化产物 ADT 通过抑制烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX4)产生的自由基和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)诱导的神经炎症,保护脑缺血损伤的血-脑脊液屏障;在小鼠脑中动脉堵塞模型(MCAO)上,ADT 减少脑梗死体积,延长作用时间^[6-7]。因此,本研究保留了 ADT-OH 结构中的 3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮结构,对其芳环进行结构改造,合成了一系列化合物 $\mathbf{Y}_1 \sim \mathbf{Y}_{17}$ 。合成路线见路线 1。



Scheme 1 Synthesis route of compound $\mathbf{Y}_1 \sim \mathbf{Y}_{17}$

ADT-OH;5-(4-Hydroxyphenyl)-3H-1,2-dithiopyran-3-thione

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Varian UNTIY INOVA 400MHz 型核磁共振仪(美国 ABI 公司;TMS 为内标; D_2O 或 DMSO 为溶剂);Micromass TOF-MS 质谱仪(美国 ALT 公司);XT5 显微熔点测定仪(上海荆华分析仪器有限公司,温度未经校正);酶标仪(美国 Bio-Tek 公司)。

RPMI-1640 培养基和四甲基偶氮唑蓝(MTT)(美国 Sigma 公司);二甲基亚砜(DMSO,广州化学试剂厂);胰蛋白酶(吉诺生物医药技术有限公

司);所用化学试剂均为市售分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 目标化合物的合成

1.2.1 目标化合物 $\mathbf{Y}_1 \sim \mathbf{Y}_{12}$ 的合成 β -芳基丙酮酸甲酯合成参照文献[8]。

5-(2-萘基)-3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮(\mathbf{Y}_1)的合成

将 2-萘甲酰乙酸甲酯(0.431 g, 1.89 mmol)、五硫化磷(0.42 g, 1.9 mmol)、硫(0.056 g, 0.93 mmol)和催化量的六甲基二硅氧烷(HMDO)加入到甲苯 20 mL 中,加热回流 5 h 后,反应完毕。过滤,滤液浓缩后,柱色谱洗脱(石油醚-丙酮,10:1),

得棕红色固体 **Y₁** (0.281 g), 产率 57%。

化合物 **Y₂**~**Y₁₂** 的合成参考化合物 **Y₁**。

1.2.2 目标化合物 **Y₁₃**~**Y₁₇** 的合成 化合物 **a₁**~**a₄** 的合成参考文献[9]。

5-{4-[3-(哌啶-1-基)丙氧基]}苯基-3H-1,2-二硫杂环戊烯-3-硫酮 (**Y₁₃**) 的合成

将中间体 **a₁** (0.60 g, 1.73 mmol), 哌啶 (0.15 g, 1.72 mmol), K₂CO₃ (0.72 g, 5.20 mmol), KI (0.03 g, 0.17 mmol) 加至丙酮 60 mL 中, 回流搅拌 2.5 h。反应完毕, 抽滤, 滤液旋干, 柱色谱(石油醚-乙酸乙酯-甲醇, 1:1:0.1)纯化, 得到棕红色油状物。将其加至乙醇 300 mL 中, 加热搅拌完全溶解, 冷却至室温后加入浓盐酸 40 mL, 继续搅拌至溶液呈黄色透明溶液, 快速抽滤, 旋干得到化合物 **Y₁₃** 棕黄色固体 0.24 g, 产率 23%。

按类似方法合成化合物 **Y₁₄**~**Y₁₇**。

1.2.3 MTT 法检测化合物 **Y** 类化合物对谷氨酸诱导的 HT22 细胞损伤保护作用 实验操作按照文献[10]进行。空白组只加培养基; 谷氨酸组 HT22 细胞用 5 mmol/L 谷氨酸处理; 样品测试组用 5 mmol/L 谷氨酸和浓度分别为 1, 10, 50 和 100 μmol/L 受试化合物处理。用酶联免疫测试仪在波长 570 nm 处测定每孔的吸收度, 计算细胞存活率, 细胞存活率(%) = (实验组吸收度/空白组吸收度) × 100。实验重复 3 次。采用 SPSS 进行统计。

2 结果与讨论

2.1 化合物 **Y** 的合成

合成的 17 个目标化合物的熔点、产率和外观见表 1 所示。化学结构经¹H NMR、¹³C NMR 和 HRMS 确证, 数据见表 1 和表 2。

Table 1 Structure, melting point, yield and HR-MS data of compound **Y₁**~**Y₁₇**

Compd.	mp/°C	Yield/%	Appearance	Formula	HR-MS, m/z[M + H] ⁺	
					Calcd.	Found
Y₁	137-138	57	Brown red solid	C ₁₃ H ₈ S ₃	260.986 1	259.985 2
Y₂	108-110	45	Brown red solid	C ₉ H ₅ FS ₃	228.961 0	228.961 0
Y₃	119-121	49	Brown red solid	C ₇ H ₇ S ₄	216.926 9	216.926 8
Y₄	87-89	53	Brown red solid	C ₁₀ H ₈ S ₃	223.978 8	223.978 5
Y₅	114-116	54	Brown red solid	C ₁₀ H ₈ S ₃	224.986 1	224.986 0
Y₆	158-159	56	Brown red solid	C ₉ H ₃ Cl ₂ FS ₃	296.883 1	296.884 0
Y₇	200-201	35	Brown red solid	C ₁₀ H ₆ O ₂ S ₃	254.960 3	254.960 2
Y₈	136-137	29	Brown red solid	C ₁₁ H ₁₀ O ₂ S ₃	269.984 5	269.984 3
Y₉	113-114	58	Brown red solid	C ₁₀ H ₈ OS ₃	239.973 8	239.973 7
Y₁₀	130-132	46	Brown red solid	C ₉ H ₅ BrS ₃	287.873 8	287.873 7
Y₁₁	123-124	62	Brown red solid	C ₉ H ₆ S ₃	210.970 4	210.970 4
Y₁₂	96-98	61	Brown red solid	C ₇ H ₄ S ₃	183.947 5	183.947 5
Y₁₃ *	177-179	23	Yellow solid	C ₁₇ H ₂₂ NOS ₃	352.086 4	352.084 0
Y₁₄ *	156-158	26	Yellow solid	C ₁₆ H ₂₀ NO ₂ S	354.065 6	354.064 5
Y₁₅ *	210-212	33	Yellow solid	C ₁₇ H ₂₂ NO ₂ S	368.081 3	368.080 6
Y₁₆ *	182-184	35	Yellow solid	C ₁₈ H ₂₄ NO ₂ S	382.096 9	382.096 6
Y₁₇ *	150-152	34	Yellow solid	C ₁₉ H ₂₆ NO ₂ S	396.112 6	396.113 4

* **Y₁₃**~**Y₁₇**: [M + HCl]⁺

Table 2 ¹H NMR and ¹³C NMR data of compound **Y₁**~**Y₁₇**

Compd.	¹ H NMR(400 MHz, CDCl ₃) δ	¹³ C NMR(400 MHz, CDCl ₃) δ
Y₁	8.20(1H, s, =CH ₂), 7.88-7.95(3H, m, ArH), 7.58-7.69(4H, m, ArH)	215.75, 173.25, 136.38, 135.07, 133.25, 129.94, 129.25, 129.19, 128.75, 128.28, 127.92, 127.59, 123.71
Y₂	7.66(2H, d, ArH), 7.37(1H, s, CH =), 7.18(2H, d, ArH)	215.40, 171.48, 166.62, 163.25, 135.89, 129.12, 129.01, 117.06, 116.77
Y₃	7.59(1H, s, CH =), 7.54(1H, s, ArH), 7.32(1H, s, ArH), 7.15(1H, s, ArH)	214.46, 165.13, 134.63, 133.87, 131.08, 129.25, 129.07
Y₄	7.54(1H, d, J=7.6 Hz, ArH), 7.46(1H, d, J=7.3 Hz, ArH), 7.41(2H, d, J=5.5 Hz, ArH), 7.35(1H, t, J=7.4 Hz, ArH), 2.39(s, 3H, CH ₃)	215.70, 174.09, 139.07, 135.88, 131.35, 131.04, 130.53, 129.28, 126.55, 20.05

(Continued)

Compd.	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ	^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) δ
Y₅	7.52(2H, d, $J=8.1$ Hz, ArH), 7.39(1H, s, CH =), 7.26(2H, d, $J=7.9$ Hz, ArH), 2.48(3H, s, CH_3)	215.48, 173.46, 143.35, 135.48, 130.50, 129.02, 126.98, 21.84
Y₆	7.62(1H, d, $J=6.6$ Hz, ArH), 7.38(1H, d, $J=8.6$ Hz, ArH), 7.28(1H, s, =CH ₂)	215.49, 166.43, 158.35, 140.79, 132.98, 130.17, 128.43, 125.35, 118.78
Y₇	7.36(1H, s, CH =), 7.24(1H, dd, $J=1.8, 8.1$ Hz, ArH), 7.10(1H, d, $J=1.7$ Hz, ArH), 6.90(1H, d, $J=8.1$ Hz, ArH), 6.09(2H, s, CH_2)	215.28, 174.00, 151.45, 148.90, 135.13, 125.61, 122.93, 109.62, 107.54, 102.77
Y₈	7.66(1H, s, =CH), 7.64(1H, d, $J=1.8, 8.1$ Hz, ArH), 6.61(1H, d, $J=8.7$ Hz, ArH), 6.55(1H, s, ArH), 3.96(3H, s, CH_3), 3.89(3H, s, CH_3)	215.98, 169.18, 154.25, 139.99, 136.04, 117.81, 112.92, 104.14, 61.72, 61.08
Y₉	7.87(1H, s, CH =), 7.44(3H, t, $J=7.7$ Hz, ArH), 7.24-7.15(1H, m, ArH), 3.85(3H, s, OCH_3)	215.50, 173.56, 159.89, 135.92, 132.47, 130.89, 119.38, 118.53, 111.99, 55.60
Y₁₀	7.86(3H, d, $J=8.0$ Hz, ArH, CH =), 7.75(2H, d, $J=8.4$ Hz, ArH)	215.47, 172.10, 135.99, 132.54, 130.34, 128.98, 126.02
Y₁₁	7.67(2H, d, $J=7.3$ Hz, ArH, CH =), 7.57(1H, t, $J=7.42$ Hz, ArH), 7.50(2H, t, $J=7.72$ Hz, ArH), 7.59(1H, s, =CH)	215.89, 173.24, 136.26, 132.49, 131.94, 129.93, 127.21
Y₁₂	8.22(1H, d, $J=8.1$ Hz, ArH), 7.67-7.75(2H, m, ArH), 7.46(1H, t, $J=7.7$ Hz, ArH), 7.59(1H, s, =CH)	212.38, 148.42, 136.40, 128.33, 124.19, 121.64, 119.95
Y₁₃	7.34(2H, s, ArH), 7.20(1H, s, CH =), 6.75(2H, s, ArH), 3.90(2H, s, CH_2), 3.45(2H, s, CH_2), 3.13(2H, s, CH_2), 2.82(2H, s, CH_2), 2.09(2H, s, CH_2), 1.99-1.57(6H, m, CH_2), 1.41(1H, s, HCl)	213.33, 189.80, 173.57, 161.60, 133.76, 128.73, 123.53, 115.28, 115.25, 65.52, 54.00, 53.20, 23.49, 22.49, 21.12
Y₁₄	7.34(2H, d, $J=6.8$ Hz, ArH), 7.19(1H, s, CH =), 6.74(2H, d, $J=5.8$ Hz, ArH), 4.12-3.78(6H, m, CH_2), 3.54-3.34(2H, m, CH_2), 3.30-3.19(2H, m, CH_2), 3.17-2.98(2H, m, CH_2), 2.13(2H, s, CH_2)	215.06, 174.33, 162.08, 134.56, 129.44, 124.22, 116.02, 65.72, 63.69, 53.83, 51.57, 23.32
Y₁₅	7.84(2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 7.74(1H, s, CH =), 7.05(2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 4.06(2H, t, $J=6.4$ Hz, CH_2), 3.57-3.52(4H, m, CH_2), 2.37-2.27(6H, m, CH_2), 1.78-1.69(2H, m, CH_2), 1.60-1.51(2H, m, CH_2)	215.17, 174.28, 162.60, 134.53, 129.46, 123.96, 115.91, 68.34, 66.68, 58.17, 53.77, 26.83, 22.73
Y₁₆	7.85(2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 7.75(1H, s, CH =), 7.05(2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 4.04(2H, t, $J=6.4$ Hz, CH_2), 3.57-3.52(4H, m, CH_2), 2.31(4H, s, CH_2), 2.25(2H, t, $J=7.0$ Hz, CH_2), 1.77-1.69(2H, m, CH_2), 1.51-1.36(4H, m, CH_2)	215.18, 174.29, 162.63, 134.53, 129.46, 123.96, 115.90, 68.45, 66.67, 58.64, 53.84, 28.87, 26.08, 23.81
Y₁₇	7.86(2H, d, $J=8.9$ Hz, ArH), 7.75(1H, s, CH =), 7.06(2H, d, $J=8.9$ Hz, ArH), 4.05(2H, t, $J=6.5$ Hz, CH_2), 3.57-3.53(4H, m, CH_2), 2.32(4H, s, CH_2), 2.27-2.22(2H, m, CH_2), 1.76-1.68(2H, m, CH_2), 1.42(4H, dd, $J=14.1, 7.0$ Hz, CH_2), 1.32(2H, dd, $J=14.6, 7.8$ Hz, CH_2)	215.19, 174.29, 172.53, 162.63, 134.53, 129.46, 123.96, 115.90, 68.45, 66.62, 58.68, 53.82, 28.94, 27.08, 26.31, 25.83

为了增加目标化合物的水溶性,将 ADT-OH 苯环的羟基用叔胺取代,进一步提高纯度,分别再与 HCl 成盐,制备目标产物 **Y₁₃** ~ **Y₁₇**。由于生成的叔胺化合物在热乙醇中溶解度好,故先将其溶于热的无水乙醇中,再通入 HCl 气体,冷却,希望其盐酸盐从乙醇溶液中析出,但多次试验均未成功。后来改为向叔胺化合物的乙醇溶液中加入浓盐酸,室温下搅拌,发现乙醇溶液从最初的黄色混悬液逐渐澄清,并伴随有少量黑色油状物附于瓶壁。经抽滤处理后,向澄清的乙醇溶液中加入大量无水乙醇,通过共沸脱水方式除去浓盐酸带来的水,再旋干乙醇,即得目标产物 **Y₁₃** ~ **Y₁₇** 的黄色固体。

2.2 目标化合物对谷氨酸诱导损伤的 HT-22 细胞的保护作用

谷氨酸兴奋毒性是脑缺血神经损伤的病理机制之一。采用谷氨酸诱导损伤的海马神经 HT22 细胞模型筛选神经保护剂,是当前研发脑卒中治疗和预防药物的重要方法。在此模型中,HT22 细胞虽然缺乏功能性谷氨酸受体,但是谷氨酸仍然诱导 HT22 细胞产生神经毒性,其原因在于氧化应激作用^[11]。利用 MTT 法在谷氨酸诱导损伤的小鼠海马神经 HT22 细胞模型上评价目标化合物对受损的神经细胞的保护作用,结果见表 3。

Table 3 Effects against glutamic acid induced injure of compounds **Y₁**~**Y₁₇** ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compd.	Glutamate	Cell viability/%			
		1	10	50	100 $\mu\text{mol/L}$
Y₁	26.10 \pm 0.07	94.17 \pm 0.67 **	65.64 \pm 0.30 **	50.96 \pm 0.23 **	46.39 \pm 0.12 *
Y₂	20.77 \pm 0.05	31.54 \pm 0.17 **	82.64 \pm 0.11 **	75.88 \pm 0.29 **	93.76 \pm 1.49 **
Y₃	20.10 \pm 0.06	31.22 \pm 0.15 **	85.92 \pm 0.01 **	114.74 \pm 0.63 **	92.45 \pm 0.28 **
Y₄	37.69 \pm 4.80	74.96 \pm 8.09 **	80.67 \pm 9.40 **	80.88 \pm 9.69 **	82.48 \pm 2.09 *
Y₅	18.77 \pm 0.06	30.96 \pm 0.16 **	68.69 \pm 1.55 **	64.02 \pm 0.88 **	56.53 \pm 1.71 *
Y₆	39.64 \pm 0.35	72.87 \pm 0.31 **	109.46 \pm 1.04 **	93.90 \pm 0.48 **	91.18 \pm 0.47 **
Y₇	39.64 \pm 0.35	50.32 \pm 0.04 **	106.33 \pm 1.41 **	95.65 \pm 0.58 **	87.55 \pm 1.02 **
Y₈	39.64 \pm 0.35	55.44 \pm 1.04 **	89.40 \pm 0.10 **	116.37 \pm 0.13 **	85.74 \pm 1.04 **
Y₉	35.05 \pm 8.60	72.34 \pm 5.48 **	73.71 \pm 2.81 **	63.57 \pm 1.94 **	56.47 \pm 6.09 **
Y₁₀	35.97 \pm 7.21	62.49 \pm 1.97 **	55.84 \pm 7.79 *	43.21 \pm 2.03	31.09 \pm 3.89
Y₁₁	39.64 \pm 0.35	76.39 \pm 0.72 **	103.29 \pm 1.01 **	99.34 \pm 0.02 **	133.81 \pm 0.95 *
Y₁₂	33.77 \pm 0.78	42.18 \pm 1.04	79.17 \pm 0.58 **	90.30 \pm 1.03 **	80.48 \pm 1.12 **
Y₁₃	27.76 \pm 4.60	72.70 \pm 26.36 **	107.93 \pm 5.71 **	21.79 \pm 12.19	8.25 \pm 3.68
Y₁₄	26.71 \pm 5.31	33.38 \pm 3.75	75.56 \pm 1.82 **	74.72 \pm 2.80 **	67.61 \pm 1.42 **
Y₁₅	42.63 \pm 6.32	93.19 \pm 12.82 **	74.59 \pm 22.40	40.80 \pm 9.91	35.02 \pm 5.05
Y₁₆	40.68 \pm 7.52	91.95 \pm 25.56 **	96.50 \pm 25.47 **	46.67 \pm 4.03	35.92 \pm 4.23
Y₁₇	42.56 \pm 4.25	102.25 \pm 15.46 **	82.67 \pm 5.68	46.24 \pm 5.63	42.48 \pm 16.20
ADT-OH	20.69 \pm 1.25	33.42 \pm 2.23	52.18 \pm 3.48 *	103.99 \pm 4.62 **	76.43 \pm 2.78 **

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Glutamate group

实验每组数据平行测3次,空白对照组细胞存活率为100%。HT-22海马神经元细胞单独使用5 mmol/L谷氨酸处理后,其存活率均低于42%,与空白对照组相比显著下降,说明5 mmol/L谷氨酸已造成了HT-22细胞的损伤。HT-22细胞经5 mmol/L谷氨酸和不同浓度的目标化合物处理后,所有化合物在大部分实验浓度(1~100 $\mu\text{mol/L}$)下,均能够明显增加受损HT-22细胞的存活率,说明目标化合物可以保护谷氨酸诱导损伤的HT-22神经细胞。其中10个化合物(**Y₁**~**Y₉**,**Y₁₁**)在全部实验浓度1~100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内均明显提高谷氨酸诱导损伤的HT-22细胞生存率($P < 0.01$),而且化合物**Y₈**的生物活性比ADT-OH强($P < 0.01$);化合物(**Y₁₂**,**Y₁₄**)在10~100 $\mu\text{mol/L}$ 时显著地提高受损神经元的生存率($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。化合物**Y₁**,**Y₄**,**Y₆**~**Y₁₁**,**Y₁₃**~**Y₁₇**在1 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞生存率均大于50.32%,与谷氨酸组比较具有显著差异($P < 0.01$);而ADT-OH组在此浓度细胞生存率为33.42%,与谷氨酸组没有显著差异。这个结果说明在1 $\mu\text{mol/L}$ 时化合物**Y₁**,**Y₄**,**Y₆**~**Y₁₁**,**Y₁₃**~**Y₁₇**对谷氨酸损伤的HT-22神经元细胞具有很好的保护作用,生物活性比ADT-OH强。通过比较**Y₆**(Ar=2,4-diCl-5-FPh)与**Y₂**(Ar=4-FPh)和**Y₁₀**(Ar=4-BrPh)的生物活性,**Y₄**(Ar=

2-CH₃Ph)与**Y₅**(Ar=4-CH₃Ph)的生物活性,发现目标化合物苯环的取代基在2位时,其活性强于相同或相似取代基在苯环对位取代的化合物。这可能是由于当苯环在2位有取代基时,苯环和在二硫杂环两个平面的绕轴旋转受到阻碍,产生轴手性,因而产生了更好的神经保护作用。为了改善目标化合物的水溶性,将化合物**Y₁₃**~**Y₁₇**制成叔胺盐酸盐。化合物**Y₁₃**,**Y₁₅**~**Y₁₇**在1和10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内为生物活性($P < 0.01$)比ADT-OH强,但是在50~100 $\mu\text{mol/L}$ 时生物活性明显低于ADT-OH。

综上所述,本文所合成的ADT-OH衍生物或类似物能够提高谷氨酸诱导损伤的海马神经细胞生存率,改善谷氨酸对其损伤程度,是一类具有良好开发前景的抗谷氨酸作用的神经保护剂,可进行进一步研究。

参考文献

- [1] Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: an overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis [J]. *Pathophysiology*, 2010, 17(3):197~218.
- [2] Viscoli CM, Brass LM, Carolei A, et al. Pioglitazone for secondary prevention after ischemic stroke and transient ischemic attack: rationale and design of the insulin resistance intervention after stroke trial [J]. *Am Heart J*, 2014, 168(6):823~829.
- [3] Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: overview of

- major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia [J]. *Pharm Biochem Behav*, 2007, **87** (1): 179–197.
- [4] Cheng J, Ao GZ, Jia J, et al. Differential mechanisms underlying neuroprotection of hydrogen sulfide donors against oxidative stress [J]. *Neurochem Int*, 2013, **62**(8): 1072–1078.
- [5] Ao GZ, Jia J, Cheng J, et al. CaMKK β -dependent activation of AMP-activated protein kinase is critical to suppressive effects of hydrogen sulfide on neuroinflammation [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, **21**(12): 1741–1758.
- [6] Wang Y, Jia J, Ao GZ, et al. Hydrogen sulfide protects blood-brain barrier integrity following cerebral ischemia [J]. *J Neurochem*, 2014, **129**(5): 827–838.
- [7] Sun YX, Wu Y, Song H, et al. Synthesis and biological evaluation of H₂S donor memantine derivatives [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, **47**(5): 543–547.
- [8] Borowiecki P, Bretner M. Studies on the chemo enzymatic synthesis of (R)- and (S)-methyl 3-aryl-3-hydroxypropionates: the influence of toluene-pretreatment of lipase preparations on enantioselective transesterifications [J]. *Tetrahedron Asymmetry*, 2013, **24**(15/16): 925–936.
- [9] Wang X, Wang L, Sheng X, et al. Design, synthesis and biological evaluation of hydrogen sulfide releasing derivatives of 3-n-butylphthalide as potential antiplatelet and antithrombotic agents [J]. *Org Biomol Chem*, 2014, **12**(31): 5995–6004.
- [10] Rothman SM, Olney JW. Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage [J]. *Ann Neurol*, 1986, **19**(2): 105–110.
- [11] Van LK, Siddiq A, Ratan RR, et al. Proteasome inhibition protects HT22 neuronal cells from oxidative glutamate toxicity [J]. *J Neurochem*, 2005, **92**(4): 824–830.



中國藥科大學 學報

中国精品科技期刊 中国高校精品科技期刊
中国中文核心期刊 中国科学引文数据库核心期刊

传播医药科技创新研究成果的优秀媒体

药学前沿

提供药学领域的前沿信息 反映最新的药学研究进展

创新成果

展示医药科技最新成果 构建学术交流的平台

研究论文

科学研究原创论文 国家重大药学研究基金产出论文

邮发代号: 28-115, 欢迎订阅, 欢迎投稿!