

· 论 文 ·

厚朴酚与和厚朴酚衍生物的合成及其生物活性

李笑迪, 郭兴龙, 戴荣继, 吕芳*, 丛林, 邓玉林

(北京理工大学生命学院, 北京 100081)

摘 要 基于传统天然产物厚朴酚与和厚朴酚的多种药理活性, 以治疗阿尔茨海默病为方向, 设计了一系列厚朴酚与和厚朴酚衍生物, 借助分子模拟平台 Discovery Studio, 以 A β 蛋白、Tau 蛋白为靶蛋白, 筛选出 5 种衍生物 **6a~6e**。并通过化学方法对其进行合成, 用硫碘素 T 检测目标化合物的生物活性。结果显示: 化合物 **6a** 在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 对于两种靶蛋白的聚集都有抑制作用, 具有进一步研究价值。

关键词 厚朴酚; 和厚朴酚; 衍生物; 阿尔茨海默病; A β 聚集抑制剂; 合成; 活性

中图分类号 R914.2 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)05-0536-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170505

引用本文 李笑迪, 郭兴龙, 戴荣继, 等. 厚朴酚与和厚朴酚衍生物的合成及其生物活性[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(5):536-542.
Cite this article as: LI Xiaodi, GUO Xinglong, DAI Rongji, et al. Synthesis and activities of derivatives of magnolol and honokiol[J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(5):536-542.

Synthesis and activities of derivatives of magnolol and honokiol

LI Xiaodi, GUO Xinglong, DAI Rongji, LYU Fang*, CONG Lin, DENG Yulin

School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China

Abstract Based on the chemical structures of magnolol and honokiol, a series of small molecular derivatives were designed for the treatment of Alzheimer's disease. Through the Discovery Studio, five compounds (**6a-6e**) exhibited the inhibitory activity against A β and Tau proteins in all of the designed compounds. Then the five compounds are chemically synthesized and their biological activities were tested by thioflavin T. The result showed that compound **6a** had inhibitory effect on the aggregation of two kinds of target proteins at the concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$, which deserves further research.

Key words magnolol; honokiol; derivative; Alzheimer's disease; A β protein inhibitor; synthesis; activity

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81503353)

阿尔茨海默(Alzheimer's disease, AD)是由多种因素引起并涉及到多种病理机制的神经系统退行性疾病^[1-2]。AD 的发病机制目前尚不清楚, β -淀粉样蛋白(amyloid- β , A β)聚集导致的老年斑(senile plaques)以及 Tau 蛋白聚集导致的神经原纤维缠结(neurofibrillary tangles)被认为是 AD 的两个核心病理学标志^[3-4]。美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市用于治疗 AD 的仅有 5 种药

物: 乙酰胆碱酯酶抑制剂他克林(tacrine)、多奈哌齐(donepezil)、加兰他敏(galanthamine)、卡巴拉汀(rivastigmine)和 N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂美金刚^[5], 目前市场上还未出现能够有效治疗 AD 的多靶点药物。

传统中药厚朴中提取的厚朴酚与和厚朴酚(结构式见图 1), 具有抗炎^[6-8]、抗氧化^[9]、抗肿瘤^[10-12]、神经保护^[13-16]等多种生物活性作用。研

究发现,厚朴酚与和厚朴酚能够显著降低 β -淀粉样蛋白诱导的神经毒性所致的神经元的死亡^[14];并且能够通过下调 β -分泌酶的活性和保护前脑中胆碱能神经元,来预防 AD 引起的学习和记忆障碍^[17-18];因此,厚朴酚与和厚朴酚对神经变性疾病具有潜在的治疗价值。进一步分析其构效关系发现,厚朴酚的吡咯烷基化衍生物比厚朴酚具有更强的自由基清除效果^[19];和厚朴酚 5 位的烯丙基及 4 位的酚羟基是起到神经营养作用的关键^[20]。

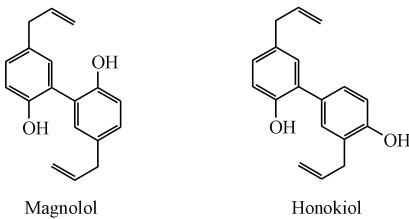


Figure 1 Structures of magnolol and honokiol

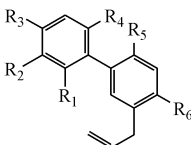
基于以上研究背景,本课题组对厚朴酚与和厚朴酚进行结构修饰,包括官能团和苯环骨架的改变,设计出 54 个小分子。借助计算机模拟,选取 118H Tau 蛋白、11YT A β 蛋白作为靶蛋白,对这一

系列化合物进行虚拟筛选及分子对接,筛选出理论上最具活性的目标化合物(6a~6c)。最终通过化学方法合成目标化合物,并用硫磺素 T(thioflavin T,Th T)检测其对 Tau 蛋白和 A β 蛋白的生物活性,实验结果表明,化合物 6a 显示出抑制 A β 与 Tau 蛋白聚集的双重活性,具有进一步研究价值。

1 分子对接与虚拟筛选

根据阿尔茨海默病的病理以及治疗方法,从两个角度进行新的药物分子的设计筛选:(1) Tau 蛋白在脑组织中过度磷酸化,沉积在脑组织中导致神经纤维缠结;(2) A β 蛋白在患者脑组织中折叠沉积形成淀粉样蛋白,是 AD 病人脑内老年斑周边神经元变性和死亡的主要原因。选取蛋白质编号为 118H Tau 蛋白、11YT A β 蛋白作为与化合物结合的靶点,利用 Discovery Studio 软件对设计出的 54 个药物小分子进分子对接,该平台能够根据配体小分子和蛋白的结合能、蛋白和配体小分子的各种空间构象、疏水作用、空间位阻等给出综合评分(表 1),筛选出综合评分较高的小分子(6a~6e)。

Table 1 LibDock Score of derivatives

	Compd.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	LibDock Score	
								118H	11YT
	6e	H	CH ₂ OCH ₃	H	H	H	OCH ₃	76.285 6	44.599
	6c	H	H	CH ₂ OH	H	H	OCH ₃	76.131 6	36.883 2
	6d	H	H	CH ₂ OH	H	H	OH	75.627	38.117
	6b	H	H	CH ₂ OCH ₃	H	H	OH	74.965 5	32.843 6
	6a	H	H	CH ₂ OCH ₃	H	H	OCH ₃	74.921 8	33.552 8

从表 1 评分结果不难看出:化合物 6e 与靶蛋白都具有良好结合的潜能,化合物 6c 和 6d 次之。综合两种靶蛋白的评分结果,筛去不发生对接的小分子化合物,表明 6a~6e 5 个衍生物具有与靶蛋白反应并发生作用的潜能。

2 合成路线

合成路线如图 2,衍生物 6a~6c 的合成路线主要分为两条支路。一条分支是硼酸酯化合物和制备:化合物 1a、1b、1d 与双联频哪醇硼酸酯在无水磷酸磷的碱性条件下,经 Pd(dppf)Cl₂ 的催化,将溴取代,获得硼酸酯化合物(2a~2c)。另一条分支是:4-溴苯酚(3)在碱性条件下与烯丙基溴发生取代反应,将烯丙基链接到化合物基团上(4)。然

后在 200℃ 高温下,以 *N,N*-二乙基甲胺作为保护溶剂,使之发生 Claisen 重排反应,以获得邻位的烯丙基化合物(5a、5b)。最后烯丙基取代产物(5a、5b)与硼酸酯化合物(2a~2c)在 Pd(dppf)Cl₂ 的催化下,发生 Suzuki 偶联^[21]反应,获得目标产物。该路线克服了高温下 Claisen 重排容易碳化和聚合的问题,并通过增大配体 1,1'-双(二苯基膦)二茂铁(dppf)的用量,实现了具有活泼氢的 Suzuki 反应。目标化合物结构均经¹H NMR、¹³C NMR、IR 及 LC-MS 确证且未见文献报道,其理化性质见表 2。

3 化学实验

3.1 材 料

ARX-400 型核磁共振仪(德国布鲁克公司);

DF-101S 恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限公司); BX FT-IR 型红外光谱仪(珀金埃尔默股份有限公司); 1100 Series LC/MSD Trap 型质谱仪(安捷伦科技有限公司); SHB-III 型循环水式多用

真空泵(北京瑞成伟业仪器设备有限公司)。

200~300 目硅胶(北京化工厂); GF₂₅₄ 型硅胶板; 合成使用试剂均为市售分析纯。

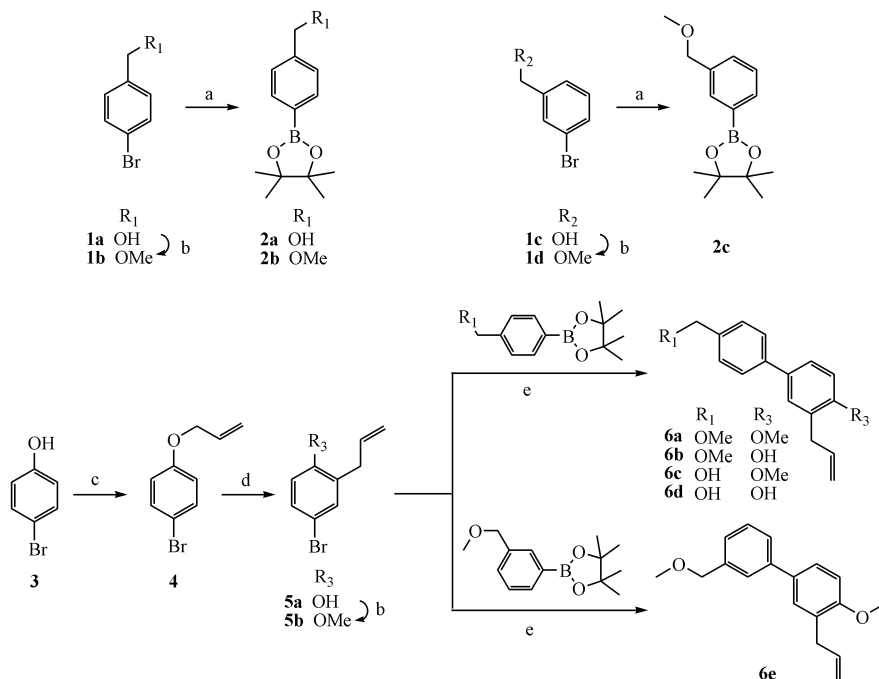


Figure 2 Synthetic route of the target compounds **6a-6e**

Reagents and conditions: (a) bis(pinacolato)diboron, Pd(dppf)Cl₂, DMF, 0 to 80 °C; (b) CH₃I, NaH, THF, ice bath; (c) allyl bromide, K₂CO₃, acetone, reflux, 56 °C; (d) *N,N*-diethylmethylamine, reflux, 200 °C; (e) K₃PO₄, dioxane, Pd(dppf)Cl₂, 0 to 100 °C

3.2 合成实验

合成的 5 个化合物产率和外观见表 2。

Table 2 Physical contents and LC-MS of synthesized conjugates

Compd.	Yield/%	Character	Formula	LC-MS <i>m/z</i>
6a	43	Light yellow liquid	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	269.2 [M] ⁺
6b	47	Red-brown liquid	C ₁₇ H ₁₈ O ₂	253.1 [M] ⁻
6c	62	Colorless oily liquid	C ₁₇ H ₁₈ O ₂	255.1 [M] ⁺
6d	52	Brown liquid	C ₁₆ H ₁₆ O ₂	239.1 [M] ⁻
6e	72	Colorless liquid	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	269.2 [M] ⁺

1-溴-4-(甲氧基甲基)苯(**1b**) 冰浴条件下在两颈瓶中加入对溴苄醇(**1a**) 9.3 g(50.0 mmol), 氢氧化钠(3.5 g, 146 mmol), 缓慢加入新制备的 THF。反应 30 min 后, 逐滴加入碘甲烷 11 mL, 室温搅拌 24 h。原料完全反应后(TLC 检验), 加入 20% K₂CO₃ 水溶液 100 mL, 水层用乙醚(50 mL × 2)萃取, 合并有机层, 无水 MgSO₄ 干燥, 减压浓缩, 残余物经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯, 9:1), 得 1-溴-4-(甲氧基甲基)苯(**1b**) (10 g, 49.7 mmol), 产率 92%。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 7.51 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 4.36 (s, 2H, CH₂), 3.28 (s, 3H, CH₃); IR (KBr, ν):

2 983.1, 2 924.5, 1 592.6, 1 487.3, 1 376.4, 1 193.2, 1 102.0, 1 070.1, 1 011.9, 836.0, 803.1 cm⁻¹。

1-溴-3-(甲氧基甲基)苯(**1d**) 参照化合物 **1b** 合成方法, 由化合物 3-溴苄醇(**1c**) (9.3 g, 50.0 mmol) 与碘甲烷反应制得。产率 94%。MS *m/z* 201.0 [M]⁺; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 7.68 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 7.6, 1H), 7.16 (dd, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.37 (s, 2H, CH₂), 3.28 (s, 3H, CH₃); IR (KBr, ν): 3 060.0, 2 986.5, 2 926.0, 2 854.9, 1 700.5, 1 596.1, 1 571.4, 1 472.0, 1 425.8, 1 377.4, 1 197.4, 1 106.2, 1 070.5, 995.2, 925.6, 882.3, 778.3 cm⁻¹。

(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)甲醇(**2a**) 向干燥的三颈瓶中加入对溴苄醇(**1a**) 0.935 g(约 5 mmol), 双联频哪醇硼酸酯 2.54 g, 乙酸钾 1.47 g, 干燥的 DMF 20 mL。将混合物在零度冰水混合物中, 氮气保护抽真空排除空气 1 次。再加入催化剂 Pd(dppf)Cl₂ 0.365 g(10% mol 当量), dppf 0.554 g(2 mol/L)。氮气保护抽真空排除空气 3 次, 在内部温度 80 °C 下, 反应过夜。终止反应, 冷却至室温。加入水 75 mL 洗涤 2 次。乙酸乙酯萃取, 饱和氯化铵洗涤。无水 MgSO₄ 干燥, 减压浓缩, 残余物

经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,4:1),得化合物(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)甲醇(**2a**),产率88%。MS m/z 233.1 $[M]^-$; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.63(d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.32(d, J = 7.9 Hz, 2H), 5.23(s, 1H, OH), 4.52(s, 2H, CH_2), 1.29(s, 12H, CH_3); IR (KBr, ν): 3 368.2, 2 978.2, 2 931.8, 1 614.2, 1 517.1, 1 455.1, 1 360.1, 1 272.1, 1 143.5, 1 087.2, 1 018.4, 962.4, 858.3, 821.6 cm^{-1} 。

2-(4-(甲氧基甲基)苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(**2b**) 参照化合物**2a**合成方法,由化合物**1b**(0.95 g, 5 mmol)与双联频哪醇硼酸酯反应制得,产率90%。 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.65(d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.31(d, J = 7.9 Hz, 2H), 4.43(s, 2H, CH_2), 3.28(s, 3H, CH_3), 1.29(s, 12H, CH_3); IR (KBr, ν): 3 048.3, 2 979.8, 2 924.2, 1 613.2, 1 357.3, 1 277.3, 1 145.3, 1 094.0, 914.8, 858.8, 822.5 cm^{-1} 。

2-(3-(甲氧基甲基)苯基)-4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷(**2c**) 参照化合物**2a**合成方法,由化合物**1d**(0.95 g, 5 mmol)与双联频哪醇硼酸酯反应制得,产率90%。MS m/z 249.2 $[M]^+$; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.64(s, 1H), 7.58(d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.42(d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.36(dd, J = 7.9 Hz, J = 7.4 Hz, 1H), 4.41(s, 2H, CH_2), 3.28(s, 3H, CH_3), 1.29(s, 12H, CH_3); IR (KBr, ν): 2 979.2, 2 930.6, 2 820.1, 1 705.6, 1 607.8, 1 487.9, 1 429.1, 1 359.5, 1 273.8, 1 203.7, 1 144.4, 1 098.0, 964.3, 852.9 cm^{-1} 。

对溴苯基烯丙基醚(**4**) 在三颈瓶中加入对溴苯酚(**3**)0.2 mol,无水碳酸钾0.22 mol,丙酮50 mL,45 $^{\circ}C$ 搅拌待至完全溶解,30 min后下滴加烯丙基溴0.22 mol,并回流熟化10 min。回流反应8 h后,冷却至室温,加水(250 mL)终止反应。乙醚萃取3次(40 mL),合并有机层,10%的NaOH溶液洗涤有机相,无水 $MgSO_4$ 干燥,减压浓缩,残余物经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,9:1)得对溴苯基烯丙基醚(**4**),收率93%。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7.35(d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.80(d, J = 8.6 Hz, 2H), 5.97~6.07(m, 1H, CH), 5.37(m, 2H, CH_2), 4.50(d, J = 4.8 Hz, 2H, CH_2); IR (KBr, ν): 3 082.7, 2 919.0, 1 648.0, 1 589.7, 1 488.5, 1 242.3, 1 072.4, 1 001.0, 928.3, 821.1 cm^{-1} 。

2-烯丙基-4-溴苯酚(**5a**) 将化合物**4**(22.4 g, 0.115 mol)溶于 N,N -二乙基甲胺60 mL中,200 $^{\circ}C$ 下加热回流9 h,冷却后,缓慢加入3倍的盐酸溶液,乙酸乙酯萃取3次,有机相经水洗、饱和的NaCl溶液洗涤、无水 $MgSO_4$ 干燥,减压浓缩,经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,7:1),得化合物2-烯丙基-4-溴苯酚(**5a**),产率为43%。MS m/z 211.0 $[M]^-$; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7.23(m, 2H), 6.70(d, J = 9.1 Hz, 1H), 5.92~6.02(m, 1H, CH), 5.17(m, 2H,

CH_2), 4.92(s, 1H, OH), 3.37(d, J = 6.1 Hz, 2H, CH_2); IR (KBr, ν): 3 286.7, 2 923.5, 1 636.2, 1 489.5, 1 237.1, 1 095.4, 996.2, 917.4, 821.6 cm^{-1} 。

2-烯丙基-4-溴-1-甲氧基苯(**5b**) 冰浴条件下在两颈瓶中加入化合物**5a**(5.32 g, 25.0 mmol),氢氧化钠(1.75 g, 73 mmol),缓慢加入新制的THF,反应30 min。滴加入碘甲烷5.5 mL,撤去冰浴,室温搅拌24 h。待底物完全反应后(TLC检验),加入20% K_2CO_3 水溶液50 mL,反应完全,水层经乙醚萃取,合并有机层,无水 $MgSO_4$ 干燥,减压浓缩,除去溶剂,残余物经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,25:1)分离得化合物2-烯丙基-4-溴-1-甲氧基苯(**5b**)5 g(24.0 mmol),总收率94%。 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 7.23~7.28(m, 2H), 6.70(d, J = 8.6 Hz, 1H), 5.88~5.96(m, 1H, CH), 5.03(m, 2H, CH_2), 3.78(s, 3H, CH_3), 3.33(d, J = 6.6 Hz, 2H, CH_2); IR (KBr, ν): 3 077.5, 2 937.3, 2 835.7, 1 638.2, 1 487.4, 1 247.2, 1 076.1, 996.0, 916.7, 804.4 cm^{-1} 。

3-烯丙基-4-甲氧基-4'-(甲氧基甲基)-1,1'-联苯(**6a**)

向三颈瓶中加入化合物**2b**(1.15 g),无水磷酸钾2.8 g,新制备的除去氧化物的二氧六环-水(5:1)20 mL,搅拌下氮气保护抽真空排除空气1次。迅速加入化合物**5b**(0.756 g),催化剂 $Pd(dppf)Cl_2$ (0.2 g)。冰浴下抽真空氮气置换3次,100 $^{\circ}C$ 下回流反应24 h,冷却至室温。加入水30 mL,乙酸乙酯萃取3次,有机层经水洗、饱和的氯化铵洗涤、无水 $MgSO_4$ 干燥后,硅胶柱分离(石油醚-丙酮,7:1),得化合物**6a**,产率43%。MS: m/z 269.2 $[M]^+$; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.65(d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.50(s, 1H), 7.41(d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.36(d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.05(d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.94~6.04(m, 1H, CH), 5.01~5.09(m, 2H, CH_2), 4.43(s, 2H, CH_2), 3.82(s, 3H, CH_3), 3.37(d, J = 6.6 Hz, 2H, CH_2), 3.32(s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 156.56, 139.12, 136.81, 136.65, 134.41, 132.03, 128.18, 128.09, 127.79, 126.68, 125.98, 125.55, 115.66, 111.13, 73.33, 57.43, 55.47, 33.87; IR (KBr, ν): 2 974.9, 2 928.0, 2 835.6, 1 638.6, 1 608.0, 1 493.9, 1 360.1, 1 275.4, 1 247.9, 1 099.4, 914.5, 806.5 cm^{-1} 。

3-烯丙基-4'-(甲氧基甲基)-[1,1'-联苯]-4-醇(**6b**)

参照化合物**6a**合成方法,由化合物**2b**(0.18 g)和化合物**5a**(0.106 g)反应制得,产率47%。MS: m/z 253.1 $[M]^-$; 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.49(s, 1H, OH), 7.52(d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.32~7.34(m, 4H), 6.87(d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.97~6.04(m, 1H, CH), 5.00~5.10(m, 2H, CH_2), 4.41(s, 2H, CH_2), 3.34(d, J = 6.8 Hz, 2H, CH_2), 3.32(s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 154.77, 153.90, 139.53, 139.46, 137.08, 136.37, 136.26, 130.87, 130.71, 128.09, 128.06, 125.88, 125.77, 125.32, 115.42, 73.38, 57.43,

33.92; IR (KBr, ν): 3 304.6, 2 982.6, 2 930.9, 1 636.7, 1 607.4, 1 491.8, 1 361.0, 1 271.7, 1 082.9, 968.1, 909.0, 810.4 cm^{-1} 。

(3'-烯丙基-4'-甲氧基-[1,1'-联苯]-4-基) 甲醇 (**6c**)

参照化合物 **6a** 合成方法, 由化合物 **2a** (0.5 g) 和化合物 **5b** (0.6 g) 反应制得, 产率 62%。MS: m/z 255.1 $[\text{M}]^+$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.60 (s, 1H), 7.54 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 5.94 ~ 6.04 (m, 1H, CH), 5.18 (t, J = 5.2 Hz, 1H, OH), 5.01 ~ 5.09 (m, 2H, CH_2), 4.52 (s, 2H, CH_2), 3.81 (s, 3H, CH_3), 3.37 (d, J = 6.6 Hz, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 156.49, 140.98, 138.40, 136.88, 132.29, 128.18, 128.05, 127.77, 127.1, 125.86, 125.50, 115.68, 114.79, 111.17, 107.02, 28.92, 23.59; IR (KBr, ν): 3 305.8, 2 960.1, 2 885.9, 1 636.7, 1 607.9, 1 518.8, 1 494.1, 1 456.0, 1 368.1, 1 279.2, 1 248.1, 1 065.4, 964.2, 848.5 cm^{-1} 。

3-烯丙基-4'-(羟甲基)-[1,1'-联苯]-4-醇 (**6d**) 参照化合物 **6a** 合成方法, 由化合物 **2a** (0.5 g) 和化合物 **5a** (0.6 g) 反应制得, 产率 52%。MS: m/z 239.1 $[\text{M}]^-$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.47 (s, 1H, OH), 7.50 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.33 (m, 4H), 6.87 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 5.95 ~ 6.05 (m, 1H, CH), 5.16 (t, J = 5.7 Hz, 1H, OH), 5.00 ~ 5.10 (m, 2H, CH_2), 4.50 (d, J = 6.4 Hz, 2H, CH_2), 3.35 (d, J = 8.5 Hz, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 154.64, 153.79, 140.69, 140.58, 138.80, 138.72, 137.13, 126.98, 126.96, 126.44, 124.61, 115.43, 62.71, 33.96; IR (KBr, ν): 3 262.0, 3 029.0, 2 928.4, 1 704.3, 1 634.8, 1 606.8, 1 487.9, 1 372.0, 1 270.6, 1 115.0, 1 037.7, 996.7, 846.4, 808.6 cm^{-1} 。

3-烯丙基-4-甲氧基-3'-(甲氧基甲基)-1,1'-联苯 (**6e**)

参照化合物 **6a** 合成方法, 由化合物 **2c** (0.327 g) 和化合物 **5b** (0.5 g) 反应制得, 产率 72%。MS: m/z 269.2 $[\text{M}]^+$; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 7.50 (m, 3H), 7.40 (m, 2H), 7.25 (dd, J = 5.7 Hz, J = 7.3 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.94 ~ 6.04 (m, 1H), 5.01 ~ 5.09 (m, 2H, CH_2), 4.46 (s, 2H, CH_2), 3.82 (s, 3H, CH_3), 3.38 (d, J = 6.6 Hz, 2H, CH_2), 3.32 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 156.61, 139.97, 138.88, 136.83, 132.20, 128.76, 128.19, 127.88, 125.82, 125.66, 125.29, 125.25, 115.63, 111.12, 73.64, 57.53, 55.47, 33.88; IR (KBr, ν): 3 060.0, 3 029.0, 278.2, 2 930.2, 1 638.1, 1 607.6, 1 504.1, 1 482.2, 1 356.5, 1 246.6, 1 194.9, 1 105.4, 996.5, 967.8, 914.5, 816.3 cm^{-1} 。

4 目标化合物的生物活性

基于 AD 的两个主要病理学特点, 通过硫磺素 T (Th T) 法, 选取 Tau 蛋白和 A β 蛋白作为受试蛋

白, 对 5 种化合物抑制 A β 蛋白和 Tau 蛋白聚集的活性进行了检测。

4.1 Th T 法检测 5 种衍生物对 A β 蛋白聚集程度的影响

在 96 孔板加入蛋白浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ Abeta42 单体, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下摇床孵育。设置 3 组药物浓度: 0, 10, 100 $\mu\text{mol/L}$, 将相应浓度的衍生物分别加入对应的孔中; 设置 5 个时间点: 0, 7, 14, 21, 28 h, 在每个时间点取样品 98 μL 加入 0.1% ThT 溶液 2 μL , 混合均匀; 使用荧光分光光度计检测蛋白吸收度, 激发波长为 450 nm, 发射波长为 485 nm。

图 3 表示 5 种衍生物与 A β 蛋白作用后, 荧光强度在 0 ~ 28 h 的变化具有显著差异。

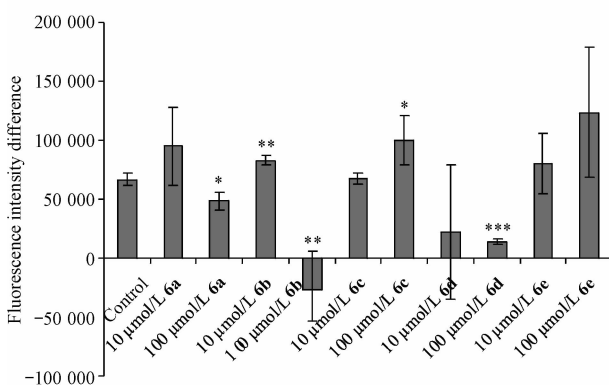


Figure 3 Significance levels of compounds **6a-6e** against A β protein ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

The graph shows the difference in fluorescence intensity between 28 h and 0 h

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group

4.2 Th T 法检测 5 种衍生物对 Tau 蛋白聚集程度的影响

在 96 孔板加入蛋白浓度为 0.5 mg/mL 的 Tau 蛋白, 在条件为 37 $^{\circ}\text{C}$ 下摇床孵育。设置 3 组药物浓度: 0, 10, 100 $\mu\text{mol/L}$, 对照组为不添加药物的空白实验; 在 96 孔板中各个孔中加入终浓度 0.04 mg/mL heparin 和 5 $\mu\text{mol/L}$ DTT 以及蛋白酶抑制剂 cocktails。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育 4 d 进行聚集反应, 每天取孵育的蛋白样品 100 μL , 加入终浓度为 0.002% 的 Th T 溶液, 充分混合后, 加入至石英比色皿中; 使用荧光分光光度计检测蛋白吸收度, 激发波长为 450 nm, 发射波长为 485 nm。

图 4 显示 5 种衍生物与 Tau 蛋白作用后, 荧光强度在 0 h 至 1 d 的变化具有显著差异。

5 结果与讨论

研究结果表明,与对照组相比,在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下,化合物 **6a**、**6b**、**6d** 对 $\text{A}\beta$ 蛋白聚集的抑制作用具有显著性差异,化合物 **6c** 和 **6e** 对 $\text{A}\beta$ 蛋白聚集没有抑制作用;化合物 **6a** 在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对 Tau 蛋白的聚集具有显著性抑制作用,而化合物 **6b**、**6c**、**6d**、**6e** 均显著地促进 Tau 蛋白的聚集。由于阿尔茨海默病的病因同时包括 Tau 蛋白聚集和 $\text{A}\beta$ 蛋白聚集两方面,因此,化合物 **6a** 具有同时抑制 $\text{A}\beta$ 蛋白聚集和 Tau 蛋白聚集的双靶点活性作用。

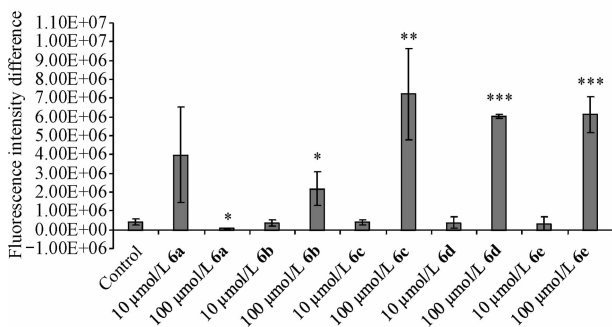


Figure 4 Significance levels of compounds **6a-6e** against Tau protein ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

The graph shows the difference in fluorescence intensity between day 1 and day 0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group

本实验通过对厚朴酚与和厚朴酚进行结构修饰,设计了 54 个小分子衍生物,以 Discovery Studio 分子模拟软件作为一种筛选手段,选取 Tau 的蛋白、 $\text{A}\beta$ 蛋白作为小分子作用的靶点,通过 Discovery Studio 平台,筛选出 5 种衍生物。通过常规化学手段,对筛选出的化合物进行化学合成,并克服了高温下 Claisen 重排容易碳化和聚合的问题,实现了具有酚羟基和苄醇的化合物的硼酸酯化的合成,成功完成具有活泼氢的 Suzuki 反应并分离获得了目标化合物。通过硫磺素法,选取 Tau 蛋白和 $\text{A}\beta$ 蛋白作为受测蛋白,对 5 种化合物抑制 Tau 蛋白和 $\text{A}\beta$ 蛋白聚集的活性进行了检测,结果表明化合物 **6a** 对于 $\text{A}\beta$ 蛋白和 Tau 蛋白的聚集均具有抑制作用,具有进一步研究的价值。

参考文献

[1] Bothwell M, Giniger E. Alzheimer's disease: neurodevelopment

converges with neurodegeneration [J]. *Cell*, 2000, **102** (3): 271 - 273.

- [2] Cummings JL. The Neuropsychiatric inventory: assessing psychopathology in dementia patients [J]. *Neurology*, 1997, **48** (6): 10 - 16.
- [3] Ballard C, Gauthier S, Corbett A, et al. Alzheimer's disease [J]. *Lancet*, 2011, **377**: 1019 - 1031.
- [4] Torreilles F, Touchon J. Pathogenic theories and intrathecal analysis of sporadic form of Alzheimer's disease [J]. *Prog Neurobiol*, 2002, **66** (3): 191 - 203.
- [5] Schneider LS, Mangialasche F, Andreasen N, et al. Clinical trials and late-stage drug development for Alzheimer's disease: an appraisal from 1984 to 2014 [J]. *J Intern Med*, 2014, **275** (3): 251 - 283.
- [6] Lin YR, Chen HH, Ko CH, et al. Effects of honokiol and magnolol on acute and inflammatory pain models in mice [J]. *Life Sci*, 2007, **81** (13): 1071 - 1078.
- [7] Munroe ME, Arbiser JL, Bishop GA, et al. Honokiol, a natural plant product, inhibits inflammatory signals and alleviates inflammatory arthritis [J]. *J Immunol*, 2007, **179** (2): 753 - 763.
- [8] Zhou HY, Shin EM, Guo LY, et al. Anti-inflammatory activity of 4-methoxyhonokiol is a function of the inhibition of iNOS and COX-2 expression in RAW 264.7 macrophages via NF-kappaB, JNK and p38MAPK inactivation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, **586** (1/2/3): 340 - 349.
- [9] Dikalov S, Losik T, Arbiser JL. Honokiol is a potent scavenger of superoxide and peroxy radicals [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, **76** (5): 589 - 596.
- [10] Park EJ, Min HY, Chung HJ, et al. Down-regulation of c-Src/EGFR-mediated signaling activation is involved in the honokiol-induced cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, **277** (2): 133 - 140.
- [11] Han LL, Xie LP, Li LH, et al. Reactive oxygen species production and Bax/Bcl-2 regulation in honokiol-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2009, **281** (1): 97 - 103.
- [12] Fried LE, Arbiser JL. Honokiol, a multifunctional antiangiogenic and antitumor agent [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, **11** (5): 1139 - 1148.
- [13] Harada S, Kishimoto M, Kobayashi M, et al. Honokiol suppresses the development of post-ischemic glucose intolerance and neuronal damage in mice [J]. *J Nat Med*, 2012, **66** (4): 591 - 599.
- [14] Hoi CP, Ho YP, Baum L, et al. Neuroprotective effect of honokiol and magnolol, compounds from *Magnolia officinalis*, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells [J]. *Phytother Res*, 2010, **24** (10): 1538 - 1542.
- [15] Hu Z, Bian X, Liu X, et al. Honokiol protects brain against ischemia-reperfusion injury in rats through disrupting PSD95-nNOS interaction [J]. *Brain Res*, 2013, **1491**: 204 - 212.
- [16] Zhang P, Liu X, Zhu Y, et al. Honokiol inhibits the inflammatory

reaction during cerebral ischemia reperfusion by suppressing NF-kappaB activation and cytokine production of glial cells[J]. *Neurosci Lett*, 2013, **534**: 123–127.

- [17] Lee YJ, Choi DY, Han SB, *et al.* Inhibitory effect of ethanol extract of *Magnolia officinalis* on memory impairment and amyloidogenesis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via regulating β -secretase activity[J]. *Phytother Res*, 2012, **26**(12): 1884–1892.
- [18] Matsui N, Takahashi K, Takeichi M, *et al.* Magnolol and honokiol prevent learning and memory impairment and cholinergic deficit in SAMP8 mice[J]. *Brain Res*, 2009, **1305**(11): 108–117.

[19] Fujita S, Taira J. Biphenyl compounds are hydroxyl radical scavengers; their effective inhibition for UV-induced mutation in *Salmonella typhimurium* TA102 [J]. *Free Radical Bio Med*, 1994, **17**(3): 273–277.

[20] Esumia T, Makadoa G, Zhaia H, *et al.* Efficient synthesis and structure-activity relationship of honokiol, a neurotrophic biphenyl-type neolignan[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, **14**(10): 2621–2625.

[21] Matos K, Soderquist JA. Alkylboranes in the Suzuki-Miyaura coupling; stereochemical and mechanistic [J]. *J Org Chem*, 1998, **63**(3): 461–470.

· 本刊讯 ·

《中国药科大学学报》荣获第六届华东地区优秀期刊称号

第六届华东地区优秀期刊评选结果于 2017 年 10 月 13 日揭晓。评审委员会严格按照《华东地区优秀期刊评选办法》和《华东地区优秀期刊评选标准》，经过充分讨论和严格把关，最终以无记名投票方式，共评出 234 种优秀期刊，其中江苏省获此荣誉的期刊有 56 种，《中国药科大学学报》名列其中。

开展华东地区优秀期刊评选工作，是为了推动华东地区期刊提高质量，加强期刊出版队伍建设，促进华东地区期刊业大发展大繁荣。《中国药科大学学报》编辑部将再接再厉，戒骄戒躁，牢牢把握为我国药学事业服务这一宗旨，继续加强内容建设，传播先进文化和科学知识；树立精品意识，充分发挥品牌示范引领作用，提高药学科科技期刊的传播力、影响力；推动期刊转型升级，促进与新兴媒体的融合发展，为华东地区期刊业繁荣发展不断做出新的贡献。

(本刊编辑部)