

## · 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 $\beta$  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 $\beta$  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 $\beta$  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 $\beta$  protein inhibitor; synthesis; activity

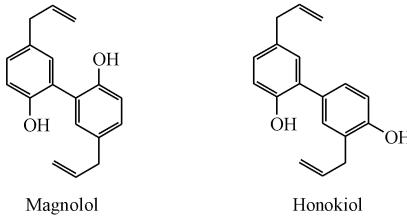
This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81503353).

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<sup>[1-2]</sup>。AD 的发病机制目前尚不清楚,  $\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid- $\beta$ , A $\beta$ ) 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<sup>[3-4]</sup>。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<sup>[5]</sup>, 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<sup>[6-8]</sup>、抗氧化<sup>[9]</sup>、抗肿瘤<sup>[10-12]</sup>、神经保护<sup>[13-16]</sup>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  $\beta$ -淀粉样蛋白诱导的神经毒性所致的神经元的死亡<sup>[14]</sup>;并且能够通过下调  $\beta$ -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<sup>[17-18]</sup>;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<sup>[19]</sup>;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<sup>[20]</sup>。



**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 1H8H Tau 蛋白、1IYT A $\beta$  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 (thioflavine T, Th T) 检测其对 Tau 蛋白和 A $\beta$  蛋白的生物活性,实验结果表明,化合物 **6a** 显示出抑制 A $\beta$  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 $\beta$ 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1I8H Tau蛋白、1IYT A $\beta$ 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 <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	LibDock Score	
								1I8H	1IYT
	<b>6e</b>	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	76.2856	44.599
	<b>6c</b>	H	H	CH <sub>2</sub> OH	H	H	OCH <sub>3</sub>	76.1316	36.8832
	<b>6d</b>	H	H	CH <sub>2</sub> OH	H	H	OH	75.627	38.117
	<b>6b</b>	H	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	H	OH	74.9655	32.8436
	<b>6a</b>	H	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	74.9218	33.5528

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  $Pd(dppf)Cl_2$  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 °C 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)Cl<sub>2</sub> 的催化下,发生 Suzuki 偶联<sup>[21]</sup>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<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C 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

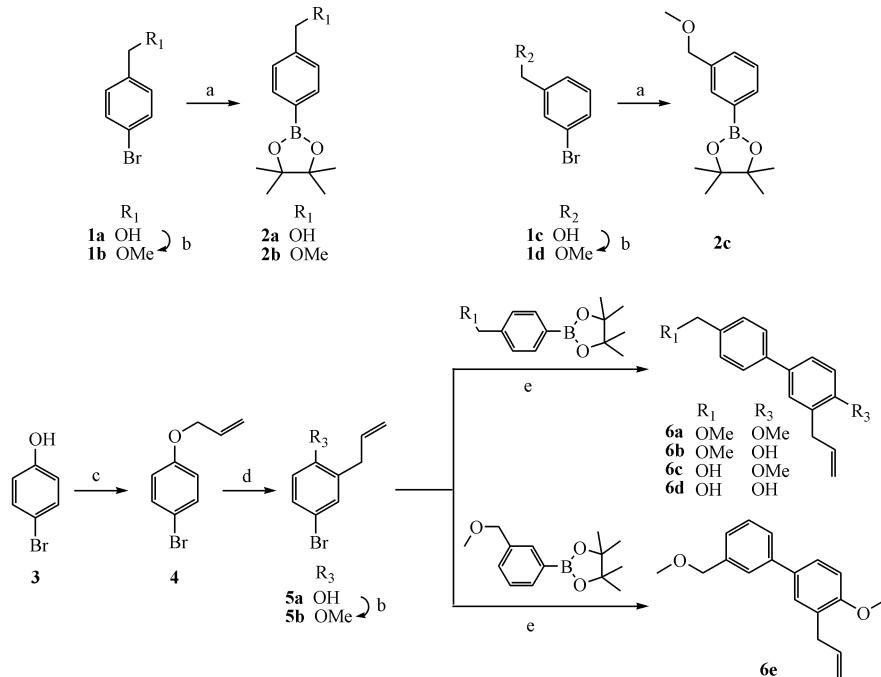
### 3.1 材料

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); GF<sub>254</sub> 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)Cl<sub>2</sub>, DMF, 0 to 80 °C; (b) CH<sub>3</sub>I, NaH, THF, ice bath; (c) allyl bromide, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, acetone, reflux, 56 °C; (d) N,N-diethylmethylamine, reflux, 200 °C; (e) K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, dioxane, Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, 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 constants and LC-MS of synthesized conjugates

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

**1-溴-4-(甲氧基甲基)苯(**1b**)** 冰浴条件下在两颈瓶中加入对溴苯醇(**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% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液100 mL, 水层用乙醚(50 mL×2)萃取, 合并有机层, 无水MgSO<sub>4</sub>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%。<sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 7.51(d, *J*=8.3 Hz, 2H), 7.25(d, *J*=8.2 Hz, 2H), 4.36(s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.28(s, 3H, CH<sub>3</sub>); IR(KBr,  $\nu$ ):

2983.1, 2924.5, 1592.6, 1487.3, 1376.4, 1193.2, 1102.0, 1070.1, 1011.9, 836.0, 803.1 cm<sup>-1</sup>。

**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-溴苯醇(**1c**)(9.3 g, 50.0 mmol)与碘甲烷反应制得。产率94%。MS m/z 201.0[M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 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, CH<sub>2</sub>), 3.28(s, 3H, CH<sub>3</sub>); IR(KBr,  $\nu$ ): 3060.0, 2986.5, 2926.0, 2854.9, 1700.5, 1596.1, 1571.4, 1472.0, 1425.8, 1377.4, 1197.4, 1106.2, 1070.5, 995.2, 925.6, 882.3, 778.3 cm<sup>-1</sup>。

**(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苯甲醇(**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)Cl<sub>2</sub> 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MgSO<sub>4</sub>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 [ $M^-$ ];<sup>1</sup>H NMR(DMSO- $d_6$ ,400 MHz)  $\delta$ :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<sub>2</sub>),1.29(s,12H,CH<sub>3</sub>);IR(KBr, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

**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%。<sup>1</sup>H NMR(DMSO- $d_6$ ,400 MHz)  $\delta$ :7.65(d, $J$ =7.9 Hz,2H),7.31(d, $J$ =7.9 Hz,2H),4.43(s,2H,CH<sub>2</sub>),3.28(s,3H,CH<sub>3</sub>),1.29(s,12H,CH<sub>3</sub>);IR(KBr, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

**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 [ $M^-$ ];<sup>1</sup>H NMR(DMSO- $d_6$ ,400 MHz)  $\delta$ :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<sub>2</sub>),3.28(s,3H,CH<sub>3</sub>),1.29(s,12H,CH<sub>3</sub>);IR(KBr, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

**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 °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<sub>4</sub>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%。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400 MHz)  $\delta$ :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<sub>2</sub>),4.50(d, $J$ =4.8 Hz,2H,CH<sub>2</sub>);IR(KBr, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

**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 °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<sub>4</sub>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 [ $M^-$ ];<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400 MHz)  $\delta$ :7.23(m,2H),6.70(d, $J$ =9.1 Hz,1H),5.92~6.02(m,1H,CH),5.17(m,2H,

CH<sub>2</sub>),4.92(s,1H,OH),3.37(d, $J$ =6.1 Hz,2H,CH<sub>2</sub>);IR(KBr, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

**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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液50 mL,反应完全,水层经乙醚萃取,合并有机层,无水MgSO<sub>4</sub>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%。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>,400 MHz)  $\delta$ :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<sub>2</sub>),3.78(s,3H,CH<sub>3</sub>),3.33(d, $J$ =6.6 Hz,2H,CH<sub>2</sub>);IR(KBr, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

### 3-烯丙基-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<sub>2</sub>(0.2 g)。冰浴下抽真空氮气置换3次,100 °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,有机层经水洗涤、饱和的氯化铵洗涤、无水MgSO<sub>4</sub>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 [ $M^-$ ];<sup>1</sup>H NMR(DMSO- $d_6$ ,400 MHz)  $\delta$ :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<sub>2</sub>),4.43(s,2H,CH<sub>2</sub>),3.82(s,3H,CH<sub>3</sub>),3.37(d, $J$ =6.6 Hz,2H,CH<sub>2</sub>),3.32(s,3H,CH<sub>3</sub>);<sup>13</sup>C NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :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, $\nu$ ):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<sup>-1</sup>。

### 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 [ $M^-$ ];<sup>1</sup>H NMR(DMSO- $d_6$ ,400 MHz)  $\delta$ :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<sub>2</sub>),4.41(s,2H,CH<sub>2</sub>),3.34(d, $J$ =6.8 Hz,2H,CH<sub>2</sub>),3.32(s,3H,CH<sub>3</sub>);<sup>13</sup>C NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :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,  $\nu$ ): 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  $\text{cm}^{-1}$ 。

#### (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 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 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<sub>2</sub>), 4.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.37 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 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,  $\nu$ ): 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  $\text{cm}^{-1}$ 。

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 [M]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 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, 1H, OH), 5.00 ~ 5.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.50 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.35 (d, *J* = 8.5, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 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,  $\nu$ ): 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  $\text{cm}^{-1}$ 。

#### 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**(0.327g)和化合物 **5b** (0.5 g)反应制得,产率 72%。MS:  $m/z$  269.2 [M]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 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<sub>2</sub>), 4.46 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.38 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 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,  $\nu$ ): 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  $\text{cm}^{-1}$ 。

## 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 $\beta$  蛋白作为受试蛋

白,对 5 种化合物抑制 A $\beta$  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 $\beta$ 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 °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  $\mu\text{L}$  加入 0.1% ThT 溶液 2  $\mu\text{L}$ , 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 $\beta$  蛋白作用后,荧光强度在 0 ~ 28 h 的变化具有显著差异。

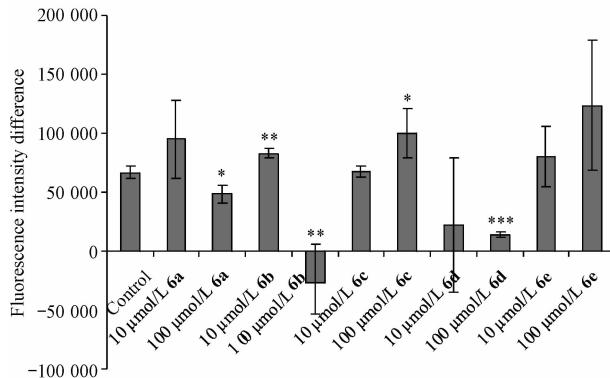


Figure 3 Significance levels of compounds **6a-6e** against A $\beta$  protein ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

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

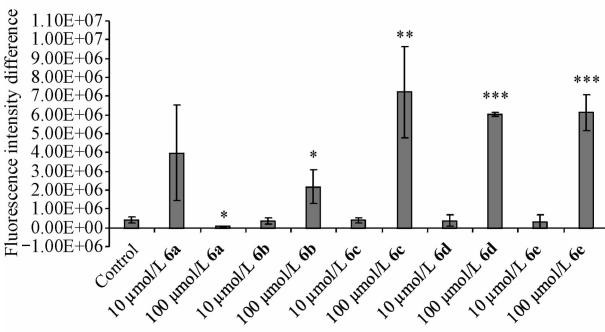
### 4.2 Th T 法检测 5 种衍生物对 Tau 蛋白聚集程度的影响

在 96 孔板加入蛋白浓度为 0.5 mg/mL 的 Tau 蛋白,在条件为 37 °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 °C 摆床孵育 4 d 进行聚集反应,每天取孵育的蛋白样品 100  $\mu\text{L}$ , 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 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 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 A $\beta$  蛋白聚集两方面,因此,化合物 **6a** 具有同时抑制 A $\beta$  蛋白聚集和 Tau 蛋白聚集的双靶点活性作用。



**Figure 4** 显著性水平化合物 **6a**~**6e** 对Tau蛋白( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

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厚朴酚衍生物进行结构修饰,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、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 A $\beta$  蛋白作为受测蛋白,对 5 种化合物抑制 Tau 蛋白和 A $\beta$  蛋白聚集的活性进行了检测,结果表明化合物 **6a** 对于 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- $\kappa$ B, 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 peroxyl 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, **28**(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- $\kappa$ B 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  $\beta$ -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, Makado 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）