

· 论著 ·

新型丹参素衍生物的合成与抗心肌缺血活性研究

田霖^{1,2a}, 郭海霞³, 张洁⁴, 焦育强^{1,2}, 吴秋业^{2b}, 张川^{1,2a} (1. 福建中医药大学药学院, 福建福州 350122; 2. 第二军医大学药学院, 2a. 中药鉴定教研室, 2b. 有机化学教研室, 上海 200433; 3. 解放军 266 医院医务处, 河北承德 067000; 4. 国防大学第二门诊部, 北京 100039)

[摘要] **目的** 通过对丹参素进行结构改造, 以改善其稳定性和药理活性。**方法** 以中药提取的丹参素钠为起始化合物, 经酯化反应、甲氧基保护酚羟基、硝化反应等合成新型的丹参素衍生物。建立心肌细胞缺氧模型, 用 MTT 方法检测丹参素及其衍生物对缺氧 H9c2 细胞的保护作用。**结果** 合成了 15 个全新的丹参素衍生物, 并对其进行了结构验证; 药理活性实验显示, 只有少数目标化合物在浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时表现出强于丹参素的活性。**结论** 多数化合物的最大药理活性未显示在所选浓度范围内, 其活性未必低于丹参素, 尚需做进一步探讨。

[关键词] 丹参素; 结构修饰; 合成; 药理活性

[中图分类号] R285

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2015)06-0525-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.06.012

Synthesis and anti-myocardial ischemia activities of novel Danshensu derivatives

TIAN Lin^{1,2a}, GUO Haixia³, ZHANG Jie⁴, JIAO Yuqiang^{1,2}, WU Qiuye^{2b}, ZHANG Chuan^{1,2a} (1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2a. Department of Science for Identifying Chinese Materia Medica, 2b. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. No. 266 Hospital of PLA, Chengde 067000, China; 4. Second Out-patient Department, National Defence University, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective** To design and synthesize novel Danshensu derivatives in order to improve their stability and cardio-protective effect against myocardial ischemia. **Methods** Novel Danshensu derivatives were synthesized chiefly *via* esterification, methoxy phenol hydroxyl protection, nitration and amine solution reaction. All the target compounds were evaluated their biological effects on anti-myocardial ischemia with H9c2 cells *in vitro*. **Results** 15 compounds were synthesized and further confirmed by ¹H NMR and MS. Pharmacological studies showed that few synthetic derivatives at 5 $\mu\text{mol/L}$ performed a higher biological effect than Danshensu. **Conclusion** Most derivatives didn't show the best activity at the chosen concentration gradient that a further pharmacological trial need to be done.

[Key words] Danshensu; structure modification; synthesis; pharmacological activity

丹参素为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge)中的一种主要化学活性成分, 化学名为 D(+)-1-B-(3,4-二羟基苯基)乳酸, 结构式见图 1。丹参素具有抑制血小板凝集^[1]、抗凝血^[2]、降血脂^[3,4]、保肝^[5,6]、抗炎^[7]、扩张冠状动脉^[8]、抗氧化损伤^[9]、抗肿瘤^[10,11]等多种药理活性, 对心血管系统具有明显的保护作用, 临床上多用于改善心脏功能^[12,13]、抗凝血和改善微循环^[14]等, 是研究得比较深入的一种中药药效成分。

提取分离得到的丹参素水溶性强, 脂水分配系

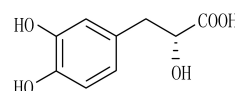


图 1 丹参素的化学结构式

数差, 结构不稳定, 活性不突出, 从而导致成药性差。因此, 前人对羟基及羧基进行了大量结构修饰。王定远等^[15]对酚羟基进行了成醚和成酯保护。Dong等^[16]分别对酚羟基进行了乙酰化和亚甲基化。张智波等^[17]保留苯基乳酸结构, 改变了苯环上的取代基, 合成了不同的丹参素衍生物。崔庆彬等^[18]在丹参素醇羟基部位进行修饰得到新衍生物。郑晓晖等^[19]将羧基成酯, 合成了丹参素冰片酯。向卓等^[20]在将酚羟基乙酰化的基础上, 将 α -羟基也乙酰化,

[作者简介] 田霖, 硕士研究生. E-mail: sdzbtlin@163.com.

[通讯作者] 张川, 博士, 教授, 博士生导师. 研究方向: 中药创新药物的研究. E-mail: zhangchuan@smmu.edu.cn.

并且将羧基与传统抗心肌缺血硝酸酯类药物单硝酸异山梨醇酯拼合,得到乙酰丹参素单硝酸异山梨醇酯。为进一步研究丹参素的构效关系,在对丹参素酚羟基进行甲基化的基础上,我们将吸电子基团硝基引入丹参素的苯环,可以降低苯环的电子云密度,以期增加目标化合物的稳定性。同时探索了羧基反应成不同酰胺键对丹参素结构和活性的影响,最后,在醇羟基部位成酯,考察醇羟基是否为活性必需基团。新型丹参素衍生物结构见图2。

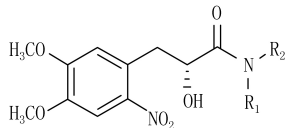


图2 新型丹参素衍生物的化学结构式

通过对丹参素的羟基和羧基进行化学结构改造,以期获得结构稳定、脂溶性好、生物利用度更高的新型丹参素衍生物。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 R-3型旋转蒸发仪(Buchi公司);DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器(上海豫康科教仪

器设备有限公司);85-1型磁力恒温搅拌器(上海志威电器有限公司);SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);JA100型精密电子天平(上海志威电器有限公司);AC-P300型核磁共振仪(Bruker Spectmspin公司);API-300型质谱仪(Agilent Technologies公司);P-1020型旋光仪(Jasco公司);YRT-3型熔点仪(天大天发科技有限公司);CO₂细胞培养箱(Thermo Fisher公司)。

1.2 试剂 层析硅胶(青岛海洋化工有限公司);无水甲醇、丙酮、浓硫酸、浓硝酸、乙酸(国药集团化学试剂有限公司);N,N-二甲基甲酰胺、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、碳酸氢钠、无水硫酸钠、氯化钠(General-reagent公司);无水碳酸钾、硫酸二甲酯(Adamas公司);DMEM、胎牛血清(Hyclone公司);大鼠H9c2细胞(中国科学院细胞所);DMSO(Amresco公司);胰蛋白酶(Gibco公司);丹参素钠(第二军医大学药学院中药鉴定教研室)。

2 方法

2.1 丹参素衍生物的合成 新型丹参素衍生物的合成路线见图3。

2.1.1 丹参素甲酯(1)的合成 在100 ml圆底烧

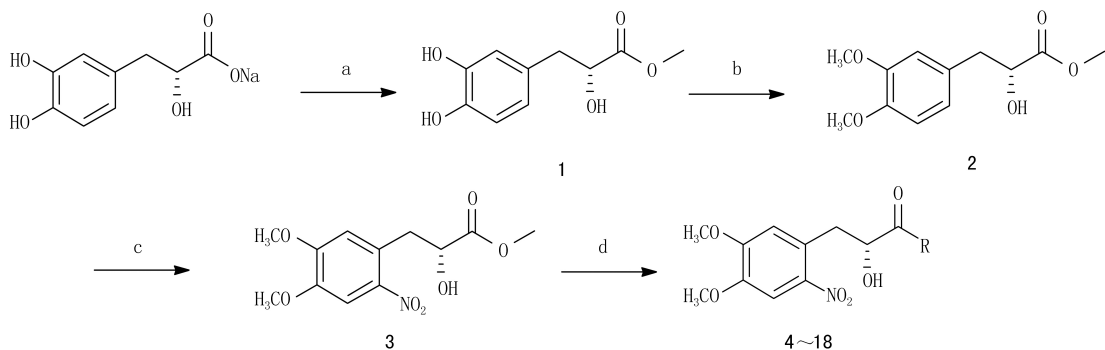


图3 新型丹参素衍生物的合成路线

条件与试剂:a):H₂SO₄,MeOH,80℃,7h,92.2%;b):K₂CO₃,丙酮,30min,(CH₃)₂SO₄,70℃,8h,67.5%;c):AcOH,40℃,HNO₃,室温,2h,78.5%;d):胺类,MeOH,60℃

瓶中加入丹参素钠3.0g(13.6mmol)和无水甲醇60ml,剧烈搅拌,边搅拌边缓慢加入浓硫酸2.0ml,加热至80℃,继续剧烈搅拌反应7h。反应结束后,冷却、抽滤、减压浓缩,得丹参素甲酯,黄色油状液体,收率92.2%。 $[\alpha]_D^{20} = +25.3^\circ (c = 0.01, CH_3OH)$ 。¹H NMR(300MHz,acetone-d₆): δ 6.67(s,1H),6.65(d,J=7.8,1H),6.52(d,J=8.1,1H),4.14~4.21(m,1H),3.68(s,3H),2.96(m,1H),2.79(m,1H)。

2.1.2 3-(3,4-二甲氧基苯基)-2-羟基丙酸甲酯(2)的合成 在100ml圆底烧瓶中加入丹参素甲酯

2.0g(10.3mmol)和无水碳酸钾2.7g(20.2mmol),加入丙酮40ml,剧烈搅拌30min,然后边搅拌边缓慢滴加硫酸二甲酯2.0ml(20.2mmol),滴完加热至70℃,反应8h。反应结束后,将反应液倒入冰水中,乙酸乙酯萃取(100ml×3),饱和食盐水洗涤有机层,无水硫酸钠干燥,减压浓缩除去溶剂,硅胶拌样过层析柱(洗脱剂为石油醚:乙酸乙酯=2:1),得3-(3,4-二甲氧基苯基)-2-羟基丙酸甲酯,黄色油状液体,收率67.5%。 $[\alpha]_D^{20} = +14.3^\circ (c = 0.01, CH_3OH)$ 。¹H NMR(300MHz,CDCl₃): δ 7.56(s,1H),6.88(s,

1H), 6.67 (s, 1H), 4.46 (dd, $J=7.1, 3.5$ Hz, 1H), 3.97 (d, $J=6.3$ Hz, 6H), 3.62 (dd, $J=13.8, 3.4$ Hz, 1H), 3.19 (dd, $J=13.8, 7.3$ Hz, 1H), 2.88 (d, $J=4.8$ Hz, 3H)。

2.1.3 3-(2-硝基-4,5-二甲氧基苯基)-2-羟基丙酸甲酯(3)的合成 在50 ml 圆底烧瓶中加入3-(3,4-二甲氧基苯基)-2-羟基丙酸甲酯1.0 g (4.1 mmol), 加入冰乙酸22 ml 并加热至40 °C 溶解, 边搅拌边缓慢滴加浓硝酸1.5 ml (23.4 mmol), 然后室温搅拌2 h。反应结束后, 将反应液倒入冰水中, 二氯甲烷萃取(100 ml×3), 饱和碳酸氢钠溶液洗至中性, 饱和食盐水洗涤有机层, 无水硫酸钠干燥, 减压浓缩除去溶剂, 得3-(2-硝基-4,5-二甲氧基苯基)-2-羟基丙酸甲酯, 黄色固体, 收率78.5%。mp 142.2 ~ 143.3 °C, $[\alpha]_D^{20} = +16.8^\circ (c=0.01, CH_3OH)$ 。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.63 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.57 (dd, $J=8.5, 4.1$ Hz, 1H), 3.98 (d, $J=7.5$ Hz, 6H), 3.84 (s, 3H), 3.63 (dd, $J=13.7, 4.2$ Hz, 2H), 3.19 (dd, $J=13.7, 8.5$ Hz, 1H)。

2.1.4 3-(2-硝基-4,5-二甲氧基苯基)-2-羟基丙酸甲酰胺(4)的合成 在50 ml 茄形瓶中加入中间体(3)0.3 g、甲胺(胺类或胺醇类)和甲醇20 ml, 加热回流反应, 薄层色谱监测。反应结束后, 减压除去溶剂, 硅胶拌样过层析柱, 得目标化合物4, 收率73.1%。mp 176.3~177.1 °C, $[\alpha]_D^{20} = -12.1^\circ (c=0.01, CH_3OH)$ 。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.56 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.46

(dd, $J=7.1, 3.5$ Hz, 1H), 3.97 (d, $J=6.3$ Hz, 6H), 3.62 (dd, $J=13.8, 3.4$ Hz, 1H), 3.19 (dd, $J=13.8, 7.3$ Hz, 1H), 2.88 (d, $J=4.8$ Hz, 3H)。

2.2 化合物体外抗心肌缺血活性测定 通过体外缺氧模型诱导 H9c2 心肌细胞缺氧, 提前用丹参素及其衍生物作用于细胞, 观察丹参素及其衍生物在不同浓度下对心肌细胞的保护效应。实验随机分为对照组(阳性药组)、丹参素衍生物组(给药组)和模型组。

将 H9c2 细胞接种于 96 孔板中, 1×10^5 个/ml, 每孔 100 μ l, 使用含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养 20~24 h 后, 加药孵育 12 h, 同时模型组换低糖无酚红 DMEM 培养基, 对照组换完全培养基。给药组每个浓度设 3 个复孔(包括阳性药), 模型组设 6 个复孔, 每块 96 孔板均设阳性药组和模型组。缺氧 5 h, 复氧 1 h, 之后加入 MTT 继续培养 4 h, 最后吸除上清液, 每孔加入 150 μ l DMSO 置于摇床, 至结晶完全溶解, 使用酶标仪在 490 nm 波长条件下测定 OD 值。

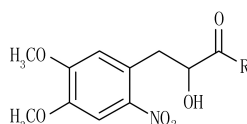
采用 Graph Pad Prism 5 软件进行处理, 实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 *t* 检验分析组间差异。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

$$\text{细胞活力改变率(\%)} = \frac{\text{给药组 OD 值} - \text{模型组 OD 值}}{\text{模型组 OD 值}} \times 100\%$$

3 结果

3.1 目标化合物的波谱数据 详见表 1。

表 1 目标化合物的波谱数据



化合物	R	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃ , TMS, ppm)
5		δ 7.66 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 4.90 (d, $J=6.3$ Hz, 2H), 4.11~3.74 (m, 18 h), 3.71~3.50 (m, 7H), 2.92 (dd, $J=13.1, 9.2$ Hz, 2H)。收率 55.6%。mp 48.1~59.9 °C, $[\alpha]_D^{20} = -36.0^\circ (c=0.01, CH_3OH)$ 。MS (ESI): m/z 359.18[M+H] ⁺
6		δ 7.56 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.98 (d, $J=9.6$ Hz, 6H), 3.74 (s, 2H), 3.65 (d, $J=13.0$ Hz, 1H), 3.48 (s, 2H), 3.23 (dd, $J=13.5, 6.4$ Hz, 1H)。收率 59.2%。mp 133.0~134.1 °C, $[\alpha]_D^{20} = -17.1^\circ (c=0.01, CH_3OH)$ 。MS (ESI): m/z 315.03[M+H] ⁺
7		δ 7.64 (d, $J=5.8$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 4.99~4.76 (m, 1H), 3.96 (dd, $J=10.3, 2.4$ Hz, 6H), 3.82 (t, $J=5.3$ Hz, 3H), 3.67~3.46 (m, 3H), 3.23 (s, 2H), 3.05 (s, 1H), 2.95~2.83 (m, 1H)。收率 71.1%。 $[\alpha]_D^{20} = -50.5^\circ (c=0.01, CH_3OH)$ 。MS (ESI): m/z 329.23[M+H] ⁺
8		δ 7.55 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.48~4.35 (m, 1H), 3.96 (d, $J=11.4$ Hz, 6H), 3.64 (dd, $J=13.9, 4.1$ Hz, 1H), 3.56 (s, 2H), 3.22 (dd, $J=13.9, 6.6$ Hz, 1H), 1.71 (s, 1H), 1.34~1.20 (m, 7H)。收率 64.6%。mp 47.2~54.6 °C, $[\alpha]_D^{20} = +12.3^\circ (c=0.01, CH_3OH)$ 。MS (ESI): m/z 343.30[M+H] ⁺

(续表 1)

化合物	R	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃ , TMS, ppm)
9		δ 7.63 (d, <i>J</i> = 5.1 Hz, 1H), 7.41~7.28 (m, 3H), 7.25~7.16 (m, 2H), 6.86 (d, <i>J</i> = 11.3 Hz, 1H), 5.11~4.76 (m, 2H), 4.71~4.42 (m, 1H), 3.95 (dd, <i>J</i> = 10.3, 3.5 Hz, 7H), 3.86~3.60 (m, 5H), 3.59~3.26 (m, 2H), 2.90 (ddd, <i>J</i> = 23.3, 13.3, 9.5 Hz, 2H)。收率 73.5%。mp 52.1~63.5 °C, $[\alpha]_D^{20} = -29.0^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 405.30[M+H] ⁺
10		δ 7.60 (d, <i>J</i> = 6.2 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.88 (d, <i>J</i> = 13.7 Hz, 6H), 3.75 (s, 1H), 3.62~3.09 (m, 6H), 3.03 (dd, <i>J</i> = 13.1, 8.7 Hz, 1H)。收率 77.0%。mp 100.2~101.9 °C, $[\alpha]_D^{20} = +0.8^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 345.30[M+H] ⁺
11		δ 8.16 (s, 1H), 7.54 (s, 2H), 7.17 (ddd, <i>J</i> = 9.5, 5.1, 1.0 Hz, 3H), 6.95 (ddd, <i>J</i> = 8.5, 5.1, 3.5 Hz, 3H), 6.86 (s, 3H), 4.51~4.34 (m, 2H), 3.95 (d, <i>J</i> = 5.0 Hz, 13H), 3.80 (d, <i>J</i> = 3.6 Hz, 2H), 3.68~3.46 (m, 9H), 3.23~2.96 (m, 9H)。收率 50.7%。mp 117.1~121.5 °C, $[\alpha]_D^{20} = +9.9^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 381.34[M+H] ⁺
12		δ 7.54 (s, 1H), 7.37~7.28 (m, 3H), 7.23~7.15 (m, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.52 (dd, <i>J</i> = 6.3, 3.1 Hz, 1H), 4.48 (dd, <i>J</i> = 6.1, 3.2 Hz, 2H), 3.91 (d, <i>J</i> = 20.9 Hz, 6H), 3.67 (dd, <i>J</i> = 13.9, 3.9 Hz, 1H), 3.23 (dd, <i>J</i> = 13.9, 7.0 Hz, 1H)。收率 83.1%。mp 126.3~128.6 °C, $[\alpha]_D^{20} = +37.4^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 361.37[M+H] ⁺
13		δ 7.54 (s, 1H), 7.18 (dd, <i>J</i> = 8.5, 5.4 Hz, 2H), 7.00 (t, <i>J</i> = 8.7 Hz, 3H), 6.85 (s, 1H), 5.35 (s, 1H), 4.50 (dd, <i>J</i> = 7.1, 3.8 Hz, 1H), 4.44 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz, 2H), 3.92 (d, <i>J</i> = 13.6 Hz, 6H), 3.65 (dd, <i>J</i> = 13.9, 3.8 Hz, 1H), 3.22 (dd, <i>J</i> = 13.9, 7.1 Hz, 1H)。收率 74.7%。mp 173.9~175.8 °C, $[\alpha]_D^{20} = +32.8^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 379.28[M+H] ⁺
14		δ 7.54 (s, 1H), 7.07 (d, <i>J</i> = 6.0 Hz, 1H), 6.96 (dt, <i>J</i> = 7.6, 3.9 Hz, 2H), 6.91~6.80 (m, 2H), 4.53 (dd, <i>J</i> = 6.9, 4.0 Hz, 1H), 4.50~4.43 (m, 2H), 3.91 (d, <i>J</i> = 22.4 Hz, 6H), 3.66 (dt, <i>J</i> = 9.5, 4.7 Hz, 1H), 3.24 (dd, <i>J</i> = 13.9, 7.0 Hz, 1H)。收率 69.4%。mp 115.8~118.6 °C, $[\alpha]_D^{20} = +29.0^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 379.32[M+H] ⁺
15		δ 7.57 (s, 1H), 7.20~6.90 (m, 4H), 6.87 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.54 (dd, <i>J</i> = 7.0, 3.8 Hz, 1H), 4.45 (d, <i>J</i> = 6.2 Hz, 2H), 3.95 (d, <i>J</i> = 14.6 Hz, 6H), 3.69 (dd, <i>J</i> = 13.9, 3.8 Hz, 1H), 3.26 (dd, <i>J</i> = 13.9, 7.1 Hz, 1H)。收率 84.6%。mp 164.5~169.5 °C, $[\alpha]_D^{20} = +16.1^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 397.35[M+H] ⁺
16		δ 7.53 (s, 1H), 7.31 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz, 1H), 7.25~7.12 (m, 3H), 6.85 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 4.39 (dd, <i>J</i> = 7.5, 3.6 Hz, 1H), 3.94 (d, <i>J</i> = 4.2 Hz, 6H), 3.67~3.39 (m, 3H), 3.12 (dd, <i>J</i> = 13.8, 7.5 Hz, 1H), 2.81 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 2H)。收率 76.3%。mp 111.2~116.3 °C, $[\alpha]_D^{20} = +20.9^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 375.34[M+H] ⁺
17		δ 7.57 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 4.44 (dd, <i>J</i> = 8.6, 3.8 Hz, 1H), 3.97 (d, <i>J</i> = 10.6 Hz, 6H), 3.65 (dd, <i>J</i> = 13.8, 3.7 Hz, 1H), 3.52 (dd, <i>J</i> = 11.1, 5.7 Hz, 2H), 3.21 (dd, <i>J</i> = 13.8, 8.6 Hz, 5H), 2.99~2.73 (m, 6H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 5H)。收率 68.7%。 $[\alpha]_D^{20} = +6.7^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 370.3[M+H] ⁺
18		δ 7.55 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 4.42 (dd, <i>J</i> = 8.2, 4.0 Hz, 1H), 3.95 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 6H), 3.61 (dd, <i>J</i> = 13.8, 4.0 Hz, 1H), 3.50~3.41 (m, 2H), 3.21 (dd, <i>J</i> = 13.7, 8.2 Hz, 2H), 2.63 (t, <i>J</i> = 5.9 Hz, 2H), 2.37 (s, 5H)。收率 77.3%。mp 55.2~63.5 °C, $[\alpha]_D^{20} = +4.8^\circ$ (<i>c</i> = 0.01, CH ₃ OH)。MS (ESI): <i>m/z</i> 342.38[M+H] ⁺

3.2 丹参素衍生物的抗心肌缺血活性 丹参素衍生物的药活性测定结果显示,在实验设定的浓度梯度下,大部分化合物均表现出抗缺氧活性,或随着浓度升高活性增大(化合物 4、7、9、17),或随着浓度升高活性降低(化合物 10、12~16、18),少数出现不规律性(化合物 5、6),除化合物 5、6、12、13、14、15 在浓度为 5 μmol/L 时表现出高于丹参素的活性,其余化合物的活性均低于母药丹参素,化合物 8、11、16 则活性较弱或没有活性。结果见表 2。

4 讨论

考虑到酚羟基的不稳定性,笔者通过合成空间位阻较小的-OCH₃来保护酚羟基。在构思如何修饰

羧基的问题上,笔者参考了 Wang^[21]的实验结果,在丹参素羧基部位进行酰胺键修饰能够保持化合物的抗氧化活性,硝基的引入意在降低苯环的电子云密度,以期增加目标化合物的稳定性。起初在进行硝化反应时,采用混酸体系(HNO₃-H₂SO₄)^[22]对化合物进行硝化,不仅反应条件需要冰浴,而且产率较低,仅为 28.0% 左右。查阅相关文献后,改用 HNO₃-乙酸体系,只需在室温即可反应,后处理简单,且产率提高到 78.0%。经过反复实验,硝化反应中反应物的最佳比例为:1.0 g 化合物 2 溶于 22 ml 乙酸,同时加入 1.5 ml HNO₃。

从药理实验整体结果看,除化合物 8、11、16 活

(下转第 535 页)

Mass Spectrom, 1997, 8(6): 671-672.

[7] Swigar AA, Silverstein RM, Monoterpenes. Monoterpenes infra-red, mass, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectra and Kovats indices [M].

Milwaukee; Aldrich Chemical Company Inc., 1981; 299-300.

[收稿日期] 2015-01-29 [修回日期] 2015-09-15
[本文编辑] 李睿晔

(上接第528页)

表2 丹参素衍生物对H9c2细胞活性的影响

编号	浓度 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞活 力改变 率(%)	浓度 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞活 力改变 率(%)	浓度 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞活 力改变 率(%)
4	5	1.189	50	3.569	100	5.839
5	5	10.703	50	6.318	100	12.440
6	5	7.238	50	0.648	100	8.784
7	5	-2.815	50	0.719	100	1.702
8	5	-0.527	50	-4.234	100	-2.495
9	5	1.262	50	2.528	100	6.639
10	5	0.855	50	-0.765	100	-1.849
11	5	-0.894	50	-1.511	100	-0.984
12	5	10.055	50	1.628	100	-3.466
13	5	7.592	50	7.545	100	4.678
14	5	16.598	50	13.909	100	13.871
15	5	10.366	50	6.115	100	2.316
16	—	—	25	-2.559	100	-13.116
17	5	-0.967	50	1.592	100	5.539
18	5	1.024	50	-2.395	100	-6.279
丹参素钠	5	1.236	50	13.649	100	20.062

性低或不具活性外,其余化合物均表现出或多或少的抗心肌缺血活性,其中化合物5、6、12~15均在浓度为5 $\mu\text{mol/L}$ 展现出强于丹参素的活性,而且化合物4、7、9、10、12~16、17、18随着浓度升高活性增大或减小,均未表现出最适药效浓度时的药理活性大小,需要适当扩大浓度范围做更为全面的测定。此外,硝基的选用可能也有不当,以何种取代基替换,则仍需继续合成大量化合物进行更深一步的研究。

【参考文献】

[1] 李承珠,嘉宝,杨诗春,等.丹参素对血小板释放血管收缩物质的影响[J].中西医结合杂志,1984,4(9):532-565.
[2] 顾扬洪,张彩英,黄桂秋,等.丹参和丹参素对牛内皮细胞抗凝和纤溶功能的影响[J].第二军医大学学报,1990,10(3):208-212.
[3] 孙锡铭,蔡海江,宋素云,等.丹参素的新药理作用[J].中草药,1991,21(1):20-23.
[4] 王南,蔡海江,朱宇,等.丹参素对牛主动脉平滑肌细胞氧化修饰LDL的抑制作用[J].南京医科大学学报,1994,14(4):529-531.
[5] 蒋莉,李跃华,戚晓红,等.丹参素对内毒素性肝损伤的防护作用及其机制[J].中西医结合肝病杂志,1999,9(2):30-32.
[6] 郑元义,戴立里,王文兵,等.丹参素治疗肝纤维化及其作用机

制研究[J].中华肝脏病杂志,2003,11(5):288-290.
[7] 王文俊,吴咸中,姚智,等.大黄素、丹参素对单核细胞分泌炎性细胞因子的调节[J].中国免疫学杂志,1995,11(6):370-372.
[8] Lam FFY, Yeung JHK, Chan KM, et al. Relaxant effects of danshen aqueous extract and its constituent Danshensu on rat coronary artery are mediated by inhibition of calcium channels [J]. Vascul Pharmacol, 2007, 46(4): 271-277.
[9] Zhao GR, Zhang HM, Ye TX, et al. Characterization of the radical scavenging and antioxidant activities of Danshensu and salvianolic acid B [J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(1): 73-81.
[10] 睦建,林枫.丹参素对胃腺癌MGC细胞株的作用[J].镇江医学院学报,1997,7(4):384-285.
[11] 方杰.丹参素对乳腺癌MCF细胞株的作用[J].中国老年学杂志,2003,3(23):168-169.
[12] 方芳,王平珍,邱芸.中药丹参的临床研究进展[J].内蒙古中医药,2012,19:81-82.
[13] 权伟,周丹,郭超,等.丹参素钠通过抑制炎症反应对心肌缺血-再灌注损伤的保护作用[J].中南药学,2012,10(12):885-888.
[14] 程彰华,楼亚平,戴华娟,等.丹参素对微循环障碍和血浆乳酸含量影响的实验研究[J].上海医科大学学报,1987,14(1):25-29.
[15] 王定远.新型丹参素衍生物的合成及初步活性研究[D].广州:广州大学,2011.
[16] Dong CN, Wang Y, Zhu YZ. Asymmetric synthesis and biological evaluation of Danshensu derivatives as anti-myocardial ischemia drug candidates [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17: 3499-3507.
[17] 张智波,董纪昌,金昔陆,等.八种丹参素衍生物的合成[J].上海医科大学学报,1996,23(增刊):26-28.
[18] 崔庆彬,单璐琛,朱华,等.丹参素结构中醇羟基的修饰与初步活性评价[J].国际药学研究杂志,2013,40(6):795-800.
[19] 郑晓辉,张群正,王世祥,等. β -(3,4-二羟基苯基)- α -羟基丙酸异丙酯、其合成方法和用途:中国,CN200610042787.3[P].2006-05-15.
[20] 向卓,景临林,刘文中,等.乙酰丹参素单硝酸异山梨醇酯的合成及对心肌缺血/再灌注大鼠心肌的保护作用[J].第四军医大学学报,2009,30(14):1257-1261.
[21] Wang TF, Shu JJ. Synthesis and biological activities of novel Danshensu amide derivatives as anti-myocardial ischemia agents [J]. Lat Am J Pharm, 2011, 30(7): 1355-1359.
[22] 朱依淳,王洋,董村南,等.一种丹参素衍生物及其制备方法和在药学上的应用:中国,CN200810039162.0[P].2008-06-18.

[收稿日期] 2015-01-23 [修回日期] 2015-04-02
[本文编辑] 顾文华