

· 论著 ·

红景天苷衍生物的合成及其抗疲劳活性研究

郑巍¹, 曹旭芳¹, 张开霞², 孙亮¹, 金永生², 郭良君¹ (1. 解放军98医院药械科, 浙江湖州313000; 2. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海200433)

[摘要] **目的** 设计并合成系列4-取代的新型红景天苷衍生物并研究其抗疲劳作用。**方法** 通过五乙酰基葡萄糖与不同的4-取代苄基酪醇, 经过糖苷化、脱乙酰基合成红景天苷衍生物; 采用小鼠负重游泳为实验模型, 通过观察测定小鼠的负重游泳时间研究合成衍生物的抗疲劳作用。**结果** 合成了10个新型红景天苷衍生物; 小鼠负重游泳实验显示: 阳性对照组(红景天苷)和3a-1组(苯乙基- β -D-葡萄糖苷)的小鼠游泳时间明显高于空白对照组($P < 0.05$), 差异有统计学意义; 其余组均与空白对照组小鼠负重游泳时间相近, 差异无统计学意义。**结论** 本实验设计的红景天苷衍生物合成方法简便、可行; 红景天苷及其衍生物苯环上的4位羟基可能与其抗疲劳活性密切相关。

[关键词] 红景天苷; 衍生物; 抗疲劳

[中图分类号] O629.13 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)01-0061-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.012

Studies on the synthesis and anti-fatigue activity of the salidroside derivatives

ZHENG Wei¹, CAO Xufang¹, ZHANG Kaixia², SUN Liang¹, JIN Yongsheng², GUO Liangjun¹ (1. Department of Drug and Equipment, No.98 Hospital of PLA, Huzhou 313000, China; 2. Department of Organic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** A series of 4 substituted salidroside derivatives were designed and synthesized. Their anti-fatigue effects were investigated. **Methods** With five-acetyl glucose and different 4-substituted benzyl tyrosols as the starting materials, salidroside derivatives were synthesized through glycosidation and deacetylation reactions. The exercise exhaustive mice model was used to study the anti-fatigue effects of those synthesized derivatives by comparing the loading swimming time of mice. **Results** 10 novel salidroside derivatives were synthesized. The loading swimming tests showed that the swimming time of the mice in the positive group (salidroside) and 3a-1 group (phenethyl- β -D-glucoside) was longer than that in the control group with statistically significant difference ($P < 0.05$). The swimming times for other groups were similar to control group with no statistically significant difference. **Conclusion** This synthetic method for salidroside derivatives was convenient and feasible for large production. The 4-hydroxyl groups on the benzene ring of salidroside and its derivatives may be the active site responsible for their anti-fatigue activity.

[Key words] salidroside; derivatives; anti-fatigue

红景天苷(salidroside), 化学名称为2-(4-羟基苯基)乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷, 是从我国药用植物红景天(*Rhodiolarosea L*)中分离得到的苯乙醇糖苷结构的化合物, 具有抗氧化、抗辐射、抗缺氧和抗疲劳等多方面药理作用^[1-3]。传统的红景天苷的获得方法是从植物红景天中分离纯化, 但红景天苷在植物中的含量低^[4,5]。近年来有许多学者着力于红

景天苷的合成和结构改造的研究, 以期提高红景天苷的产率、探讨构效关系^[6-13]。本实验尝试用适合工业生产的三氟化硼乙醚作为催化剂, 廉价易得的五乙酰葡萄糖和不同的4-取代苄基酪醇为原料进行糖苷化反应, 合成一系列红景天苷衍生物, 并采用小鼠负重游泳为实验模型研究其抗疲劳作用, 以期发现活性更高的红景天苷类化合物, 并探讨构效关系, 为开发新型的抗疲劳药物提供基础。

[基金项目] 浙江省湖州市公益性技术应用研究(2014GY23)

[作者简介] 郑巍, 本科, 工程师, 研究方向: 植物化学基础研究, Email: 279493365@qq.com

[通讯作者] 郭良君, 本科, 副主任药师, 研究方向: 药学服务研究, Email: glj201088@aliyun.com

1 材料

1.1 试剂与仪器

2-苯乙醇、苄基酪醇、对氟苯乙醇、对溴苯乙醇、对氯苯乙醇(Sigma公司); 其他试剂均为分析纯, 购

自上海国药试剂有限公司;旋转蒸发器(杭州惠创设备有限公司);78HW-1 磁力搅拌器(杭州仪表电机有限公司);BS124S 精密电子天平(北京赛多利斯科科学仪器有限公司);Bruker-Spectrospin AC-P300 型核磁共振仪;VGZAB-HS 型质谱仪。

1.2 实验药品与动物

红景天苷对照品为实验室自制(纯度 98%);ICR 清洁级小鼠 60 只,雄性,体重 18~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,实验动物许可证号:SCXK(沪)2016-0009。

2 方法和结果

2.1 化合物 2a 的合成方法

合成路线见图 1。将五乙酰基葡萄糖 1a (0.008 mol)和 4-取代苄基醇(0.004 mol)溶于二氯甲烷中,滴加 3 ml $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.002 5 mol)溶液,最后加入 2.28 g 无水硫酸钙。室温(25 °C)搅

拌 4 h。停止反应后,抽滤(滤出无水硫酸钙),滤液用饱和氯化钠溶液洗涤至中性,再用二氯甲烷萃取,最后二氯甲烷萃取液经减压旋转蒸发后获得淡黄色油状物,加入少量乙醚,搅拌后放置,可析出白色固体 2a(图 2)。

2.2 化合物 3a 的合成方法

合成路线见图 1。前面得到的白色固体 2a 用 10 ml 甲醇溶解,再缓慢滴加含甲醇钠(2.43 g)的甲醇(20 ml)溶液。室温(25 °C)搅拌反应 2 h 后,将反应液倒入 100 ml 冰水中,用冰醋酸调至 pH=6,室温搅拌 30~60 min,再用 50、30、20 ml 乙酸乙酯萃取 3 次,分出有机层,乙酸乙酯萃取液经减压旋转蒸发后获得淡黄色油状物,淡黄色油状物再经硅胶分离[洗脱剂:氯仿-甲醇(20:1、10:1);乙酸乙酯-甲醇-水(30:3.4:2.7)],在乙酸乙酯-甲醇-水(30:3.4:2.7)洗脱部位获得白色油状物/固体 3a(图 3)。

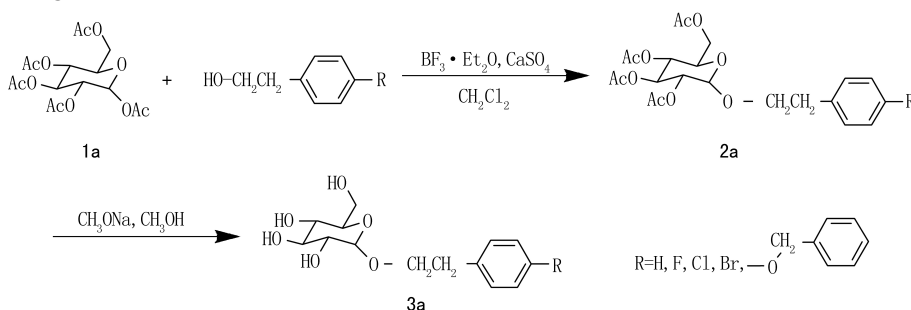
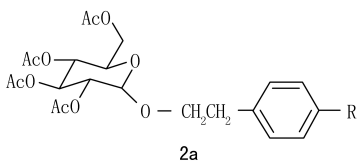
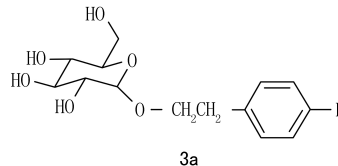


图 1 化合物 2a、3a 的合成反应路线



- 2a-1: R=H (苄基-β-D-四乙酰基葡萄糖苷);
- 2a-2: R=O-CH₂-C₆H₅ (苄氧基苄基-β-D-四乙酰基葡萄糖苷);
- 2a-3: R=F (对氟苄基-β-D-四乙酰基葡萄糖苷);
- 2a-4: R=Cl (对氯苄基-β-D-四乙酰基葡萄糖苷);
- 2a-5: R=Br (对溴苄基-β-D-四乙酰基葡萄糖苷)

图 2 化合物 2a 的结构式



- 3a-1: R=H (苄基-β-D-葡萄糖苷);
- 3a-2: R=O-CH₂-C₆H₅ (苄氧基苄基-β-D-葡萄糖苷);
- 3a-3: R=F (对氟苄基-β-D-葡萄糖苷);
- 3a-4: R=Cl (对氯苄基-β-D-葡萄糖苷);
- 3a-5: R=Br (对溴苄基-β-D-葡萄糖苷)

图 3 化合物 3a 的结构式

2.3 抗疲劳活性筛选

2.3.1 小鼠负重游泳实验

ICR 小鼠 60 只,随机分为 12 组:空白对照组、阳性对照组(红景天苷)、药物组(10 个红景天苷衍生物),每组 5 只,组间小鼠体重无差异。10 个药物组和阳性对照组以 200 mg/(kg·d)的剂量灌胃给药;空白对照组以同样体积灌胃 0.02 ml/(g·d)蒸馏水,连续 15 d。末次灌胃 30 min 后,各组小鼠负

重 5% 铅丝,放入水温(25±2) °C 的游泳箱中(50 cm×30 cm×22 cm)进行常温负重游泳测试。以小鼠鼻孔连续 3 次没入水面呛水为止,用秒表记录游泳持续时间^[14,15]。

2.3.2 统计学分析

统计学处理所得数据,用 SAS 统计软件进行分析,药物组与对照组之间采用 t 检验进行比较。

2.4 结果

2.4.1 化学合成数据及分析

本实验通过 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 催化合成了 5 个乙酰基红景天苷类似物 **2a-1**~**2a-5**; 并通过脱乙酰基的

方法成功获得了 5 个 4-取代的新型红景天苷类似物 **3a-1**~**3a-5**, 光谱数据及产率见表 1。

本研究所选用的合成方法步骤少, 产率较高, 试

表 1 目标化合物的产率、MS ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 及 ¹H-NMR 数据

编号	名称	产率 (%)	MS ($\text{M}+\text{H}$) ⁺ 分子式	¹ H-NMR(300 MHz)
3a-1	苯乙基-β-D-葡萄糖苷	40.2	285.13 C ₁₄ H ₂₀ O ₆	δ2.810 (t, 2H, -CH ₂ -), 3.085 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 3.446 (m, H, H-6), 3.938 (m, H, H-6), 3.755 (m, 2H, -OCH ₂ -), 4.170-4.955 (m, 4H, -OH×4), 4.980 (d, J=5.4 Hz, 1H, H-1), 7.275 (dd, J=3.5 Hz, 8.3 Hz, H, Ph-H'), 7.295 (t, J=6.3 Hz, 2H, Ph-H'), 7.450 (d, J=7.6 Hz, 2H, Ph-H')
3a-2	苄氧基苯乙基-β-D-葡萄糖苷	43.5	391.17 C ₂₁ H ₂₆ O ₇	δ2.840 (t, 2H, -CH ₂ -), 3.100 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 3.463 (m, H, H-6), 3.679 (m, H, H-6), 3.688 (m, H, -OCH ₂ -), 3.915 (m, H, -OCH ₂ -), 4.238-4.932 (m, 4H, -OH 4), 5.038 (d, J=5.4 Hz, 1H, H-1), 5.024 (m, 2H, -OCH ₂ -Ph), 7.015 (d, J=5.9 Hz, 2H, Ph-H'), 7.118 (d, J=8.6 Hz, 2H, Ph-H'), 7.228 (m, 2H, -OCH ₂ -Ph-H'), 7.368 (m, 3H, -OCH ₂ -Ph-H')
3a-3	对氟苯乙基-β-D-葡萄糖苷	38.9	303.11 C ₁₄ H ₁₉ FO ₆	δ2.841 (t, 2H, -CH ₂ -), 3.102 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 3.525 (m, H, H-6), 3.783 (m, H, H-6), 3.702 (m, H, -OCH ₂ -), 3.951 (m, H, -OCH ₂ -), 4.172-4.875 (m, 4H, -OH×4), 4.995 (d, J=5.4 Hz, 1H, H-1), 7.261 (d, J=5.9 Hz, 2H, Ph-H'), 7.538 (d, J=8.6 Hz, 2H, Ph-H')
3a-4	对氯苯乙基-β-D-葡萄糖苷	37.4	319.09 C ₁₄ H ₁₉ ClO ₆	δ2.834 (t, 2H, -CH ₂ -), 3.083 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 3.525 (m, H, H-6), 3.783 (m, H, H-6), 3.692 (m, H, -OCH ₂ -), 3.951 (m, H, -OCH ₂ -), 4.181-4.781 (m, 4H, -OH×4), 4.983 (d, J=5.4 Hz, 1H, H-1), 7.228 (d, J=5.9 Hz, 2H, Ph-H'), 7.551 (d, J=8.6 Hz, 2H, Ph-H')
3a-5	对溴苯乙基-β-D-葡萄糖苷	40.9	363.04 C ₁₄ H ₁₉ BrO ₆	δ2.834 (t, 2H, -CH ₂ -), 3.083 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 3.416 (m, H, H-6), 3.656 (m, H, H-6), 3.703 (m, H, -OCH ₂ -), 3.934 (m, H, -OCH ₂ -), 4.181-4.516 (m, 4H, -OH×4), 4.998 (d, J=5.4 Hz, 1H, H-1), 7.181 (d, J=5.9 Hz, 2H, Ph-H'), 7.926 (d, J=8.6 Hz, 2H, Ph-H')

剂便宜, 可行性强。合成的衍生物中, 对氟苯乙基-β-D-葡萄糖苷和对溴苯乙基-β-D-葡萄糖苷未见文献报道。

2.4.2 小鼠常温负重游泳时间

3a-1 组小鼠负重游泳时间是空白对照组的 1.32 倍 ($P<0.05$), 阳性对照组小鼠负重游泳时间是空白对照组的 1.68 倍 ($P<0.05$), 差异有统计学意义。其余组均与空白对照组小鼠负重游泳时间相近, 差异无统计学意义。实验结果见表 2。

3 讨论

本实验所用合成方法直接选择五乙酰基葡萄糖作为原料, 并用三氟化硼乙醚作为催化剂, 较之采用碳酸银催化溴代四乙酰基葡萄糖的方法^[6], 本法无需充入氮气, 不用遮光处理, 操作简便, 试剂便宜, 成本低; 较之采用四氯化锡催化五乙酰基葡萄糖的方法^[8], 本法除了具有与之相同的反应时间少、五乙酰葡萄糖稳定易保存、试剂成本低、反应温和的特点外, 还具有三氟化硼安全稳定、无四氯化锡入药可能存在重金属残留问题的优势。本方法工艺简单、生产成本低、产率较高、污染少, 是一种适合红景天苷

衍生物工业化生产的方法。

衍生物的合成是对红景天苷苯环 4 位取代基的修饰, 从去掉羟基, 接入苄氧基、卤素的角度验证衍生物的抗疲劳作用。实验结果表明, 红景天苷苯环上 4 位取代基接入苄氧基、卤素及 4 位无取代的活性都弱于红景天苷。这一结果也与张俊^[15]报道的

表 2 红景天苷衍生物对小鼠常温负重游泳时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	负重游泳时间 (t/s)
空白对照组	5	699.3±77.2
阳性对照组	5	1177.5±90.5
2a-1 组	5	702.6±29.6
2a-2 组	5	679.8±43.2
2a-3 组	5	708.5±65.9
2a-4 组	5	660.2±80.0
2a-5 组	5	634.8±23.9
3a-1 组	5	926.9±83.1
3a-2 组	5	709.5±16.0
3a-3 组	5	729.2±28.3
3a-4 组	5	699.3±67.2
3a-5 组	5	714.0±70.1

3 讨论

本研究表明,不同类型的啤酒花之间总黄酮含量和黄腐酚含量存在很大差异。总黄酮含量最高者为德国的赫兹布鲁克(Hersbrucker, 3.10%),最低者为新疆的野生啤酒花(1.07%),相差近3倍。黄腐酚含量最高者为德国的北极星(Polaris)和英国的北酿(Northern Brewer),含量均为0.64%,最低者为广西的青岛大花(0.07%),最高者与最低者相差了近10倍,与文献报道结果具有一致性^[5]。国外栽培的啤酒花品种中的总黄酮和黄腐酚含量普遍优于国产品种^[6]。目前,我国的啤酒花产业存在品种少、花色单一、根系老化等问题,与国外还存在一定差距。为了丰富我国啤酒花市场,推动我国啤酒花产业的发展,利用我国丰富的野生啤酒花种质资源^[7],培育适合我国生态条件、丰产优质的新品种啤酒花是当务之急。

【参考文献】

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志第二十三卷第一分册[M].北京:科学出版社,1998,221.
- [2] 徐基平,张霞,刘海英,等.啤酒花的地理分布与中国的野生啤酒花资源[J].干旱区研究,2008,22(1):179-183.
- [3] Zanolli P, Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L[J]. J Ethnopharmacol, 2008, 116(3):383-396.
- [4] 李隽,崔承彬,蔡兵,等.啤酒花黄酮的研究进展[J].中草药,2008,39(7):1110-1114.
- [5] 朱晓建,段开红,张五九,等.不同种类啤酒花中黄腐酚含量的研究[J].食品与发酵工业,2008,34(10):137-140.
- [6] 再生斌.甘肃省啤酒花产业发展现状、存在问题及发展对策[J].浙江农业科学,2013,(11):1532-1535.
- [7] 王仿,张霞,刘海英,等.新疆野生啤酒花总黄酮含量的比较研究[J].酿酒科技,2008,(12):27-29.

【收稿日期】 2017-08-14 【修回日期】 2017-10-30

【本文编辑】 李睿旻

(上接第63页)

系列苯环无羟基红景天苷衍生物的抗疲劳活性结果一致。综合以上结果提示,红景天苷及其衍生物苯环4位羟基与其抗疲劳活性可能密切相关。

【参考文献】

- [1] 肖妤,李绍平,王一涛.红景天苷药理研究进展[J].实用医院临床杂志,2006,3(3):98-99.
- [2] 张文生,朱陵群,牛福玲,等.红景天苷对缺氧/缺糖损伤神经细胞的保护作用[J].中国中药杂志,2004,29(5):459-462.
- [3] 宋月英,齐刚,李亚萍,等.红景天苷对全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织肿瘤坏死因子- α 表达的影响[J].中草药,2006,37(6):907-908.
- [4] 盛长忠,元英进,姜燕.库页红景天的研究进展[J].中草药,2004,35(6):699-702.
- [5] 许建峰,应佩青.高山红景天资源应用与开发研究进展[J].中草药,1998,29(3):202-205.
- [6] 纪淑芳,周亚青.红景天甙的合成[J].沈阳药学院学报,1987,3(4):192-194.
- [7] 郭益冰,郑成,孟颖,等.红景天苷及其类似物的合成[J].南通大学学报(自然科学版),2009,8(4):29-35.

- [8] 徐利锋,曹迪,姜帆,等.红景天苷合成工艺[J].辽宁大学学报(自然科学版),2014,41(1):71-75.
- [9] 张翼轩,张昌浩,赵春晖,等.红景天苷的全合成[J].合成化学,2014,22(6):813-816.
- [10] 陈辉,崔颖,李灵芝.红景天苷类似物的合成[J].第三军医大学学报,2012,34(11):1057-1061.
- [11] 邓梅,吴振刚,刘雪英,等.红景天苷及其类似物的合成[J].第四军医大学学报,2007,28(16):1501-1502.
- [12] Li H, Li Q, Cai MS, et al. Synthesis of galactosyl and lactosyl derivatives as potential anti-metastasis compounds[J]. Carbohydr Res, 2000, 328(4): 611-615.
- [13] Kanth J V B, Periasamy M. Selective reduction of carboxylic acids into alcohols using sodium borohydride and iodine[J]. J Organ Chem, 1991, 56(20): 5964-5965.
- [14] 谭兴起,郭良君,孔飞飞,等.络石藤三萜总皂苷抗疲劳作用的实验研究[J].解放军药学报,2011,27(2):128-131.
- [15] 张俊,吴振刚,王庆伟,等.红景天苷系列类似物的设计合成及抗疲劳活性初筛[J].第四军医大学学报,2009,30(19):1916-1918.

【收稿日期】 2017-06-14 【修回日期】 2017-07-17

【本文编辑】 李睿旻