

## • 实验研究 •

## 肉桂酰苯乙胺类化合物的合成及其调脂作用研究

王丹<sup>1,2</sup>, 王文倩<sup>3</sup>, 田瑜<sup>2</sup>, 吴海波<sup>1,2</sup>, 刘明玥<sup>2</sup>, 郭鹏<sup>2</sup>, 杨桂秋<sup>1\*</sup>, 许旭东<sup>2\*</sup>

1. 沈阳化工大学 制药与生物工程学院, 辽宁 沈阳 110142

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

3. 天津药物研究院, 天津 300193

**摘要:** **目的** 设计并合成肉桂酰苯乙胺类化合物, 并对其调脂作用进行研究。**方法** 以对羟基苯乙胺为起始原料, 通过一条经4步反应制得目标化合物, 并利用 HepG2 细胞株评价该类化合物的调脂作用。**结果** 设计并合成 11 个肉桂酰苯乙胺类化合物 E<sub>1</sub>~E<sub>11</sub>, 均经波谱技术确证结构。药理结果表明, 11 个化合物均对 HepG2 细胞呈现不同程度的调血脂活性, 其中化合物 E<sub>10</sub> 的调血脂活性与阳性药辛伐他汀相当。**结论** 化合物 E<sub>1</sub>~E<sub>11</sub> 均为未见文献报道的肉桂酰苯乙胺类新化合物, 具有潜在的调血脂生物活性, 值得进一步深入研究。

**关键词:** 肉桂酰苯乙胺类化合物; 对羟基苯乙胺; 合成; 调血脂活性

中图分类号: R284.3; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2016)02-0131-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.02.001

## Synthesis of phenylethyl cinnamide compounds and their lipid-regulating activities

WANG Dan<sup>1,2</sup>, WANG Wen-qian<sup>3</sup>, TIAN Yu<sup>2</sup>, WU Hai-bo<sup>1,2</sup>, LIU Ming-yue<sup>2</sup>, GUO Peng<sup>2</sup>, YANG Gui-qiu<sup>1</sup>, XU Xu-dong<sup>2</sup>

1. College of Pharmaceutical and Biological engineering, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang 110142, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To design and synthesize the phenylethyl cinnamide compounds, and to study their lipid-regulating activities. **Methods** Tyramine was used as starting material to synthesize the target compounds by four steps. The lipid-regulating activities of the compounds were tested by HepG2 cells. **Results** Eleven phenylethyl cinnamide compounds E<sub>1</sub>—E<sub>11</sub> were synthesized. The structures of the target compounds were identified by spectrum. Pharmacological results showed that all of the compounds had different extents potency of lipid-regulating effects in cells. In particular, compound E<sub>10</sub> showed equivalent lipid-regulating effects compared to positive drug simvastatin. **Conclusion** The compounds E<sub>1</sub>—E<sub>11</sub> are new phenylethyl cinnamide compounds, which have potential lipid-regulating biological activities, worthy of further development.

**Key words:** phenylethyl cinnamide compounds; tyramine; synthesis; lipid-regulating activities

3, 4-二羟基肉桂酸又名咖啡酸, 是一种天然存在的酚酸类化合物, 广泛存在于水果、谷物、蔬菜等植物界中<sup>[1-2]</sup>, 近年来逐步开始应用在食品、医药

及化妆品等领域中。作为一种天然抗氧化剂, 3, 4-二羟基肉桂酸具有很多生物活性, 如心血管保护作用、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等活性<sup>[3-6]</sup>。3, 4-二羟基

收稿日期: 2015-12-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81302656); 北京市自然科学基金资助项目(7144225)

作者简介: 王丹(1989—), 女, 辽宁人, 在读硕士研究生。

\*通信作者 杨桂秋, 女, 硕士生导师, 主要从事药学相关研究工作。

许旭东(1968—), 男, 北京人, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药及天然药物研究与开发。E-mail: xdxu@implad.ac.cn

肉桂酸的许多天然或人工合成的衍生物也具有与咖啡酸类似的药理作用,如提自蜂胶的咖啡酸苯乙酯为含有 3,4-二羟基肉桂酰基片段的天然产物,近来研究发现其具有与 3,4-二羟基肉桂酸类似甚至更强的抗炎、抗氧化、免疫调节等生物活性<sup>[7-10]</sup>。本课题组在前期研究过程中发现,3,4-二羟基肉桂酸酯类衍生物具有很好的调脂活性,且与原型天然产物 3,4-二羟基肉桂酸活性相当,说明 3,4-二羟基肉桂酰基片段具有一定的调脂活性<sup>[10]</sup>。

苯氧乙酸类调脂药又称贝特类调脂药,用于调节脂代谢紊乱已有 50 多年的历史,贝特类药物的作用机制是通过激活过氧化物酶激活受体 PPAR  $\alpha$  亚型而达到调脂作用<sup>[11]</sup>,且苯氧乙酸是该类化合物的活性必需基团。因此本课题组以贝特类调脂药活性片段苯氧乙酸为基础,结合实验室前期研究发现的 3,4-二羟基肉桂酰基片段,通过药物设计的拼合原理及最小结构修饰原则,运用生物电子等排和前药原理,通过对苯环上的羟基用氟、氯、溴取代,以及含不同取代基的苯氧乙酸酯片段,设计合成了一系列肉桂酰苯乙胺类化合物 **E1**~**E11**,所有合成的化合物均为未见文献报道的新化合物;并采用 HepG2 为测试细胞株首次对这些化合物进行体外抗脂质代谢紊乱活性评价,并初步探讨其构效关系,以期进一步发现具有研究价值的调脂活性良好的化合物。

## 1 仪器与试剂

艾卡 (IKA) C-MAG HS 7 型磁力搅拌器; IKA RV10 基本型旋转蒸发仪; 梅特勒-托利多 AL104 电子天平; Bruker Avance III 600 型核磁共振波谱仪; 赛默飞世尔 LTQ-Orbitrap XL 液质联用仪; Analect RFX-65A 型红外光谱仪; BYLABUV-III 紫外灯 (北京炳洋科技有限公司), 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 恒温培养箱 (日本 Sanoy 公司); IX51 倒置荧光显微镜 (Olympus 公司); KC junior 微孔板分光光度计 (BioTek 公司)。

3,4-二羟基肉桂酸、3-溴肉桂酸、3-氯肉桂酸、3-氟肉桂酸、对羟基苯乙胺、二碳酸二叔丁酯 [(Boc)<sub>2</sub>O]、*N,N*-二异丙基乙胺 (DIEA)、卡特缩合剂 (BOP)、三氟乙酸 (TFA)、 $\alpha$ -溴丙酸乙酯、 $\alpha$ -溴戊酸乙酯、 $\alpha$ -溴异戊酸乙酯、 $\alpha$ -溴乙酸乙酯、 $\alpha$ -溴丁酸乙酯、 $\alpha$ -溴苯乙酸乙酯等均购于安耐吉化学公司; 辛伐他汀 (质量分数为 98%)、胰蛋白酶、四甲基氮唑蓝 (MTT)、油红 O 染料、油酸 (OA)、

青霉素、链霉素均购自 Sigma 公司; DMEM 高糖培养基购自 Gibco 公司。常规试剂为市售分析纯和化学纯。柱色谱用硅胶及薄层色谱用硅胶 G、H、GF254 均购自青岛海洋化工有限公司; 人肝癌 HepG2 细胞购自北京协和医学院基础医学研究所细胞中心。

## 2 方法与结果

### 2.1 合成部分

**2.2.1 对羟基苄氨基甲酸叔丁酯 (**B<sub>1</sub>**) 的合成** 于 250 mL 圆底烧瓶中加入对羟基苯乙胺 (4.8 g, 39 mmol), 然后加入 100 mL 甲醇搅拌溶解, 随后将碳酸氢钠 (13.2 g, 157mmol) 加入反应液中并充分搅拌。在氮气保护下, 向反应液中缓慢加入 9.8 mL (Boc)<sub>2</sub>O, 并于室温下搅拌反应 12 h。反应结束后, 抽滤, 蒸除滤液, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 石油醚-醋酸乙酯 (8:1) 洗脱得到黄色油状物 7.9 g, 收率为 91%。HR-ESI-MS *m/z*: 246.110 1 [M+Na]<sup>+</sup>。

**2.2.2 中间体 **C<sub>1</sub>**~**C<sub>6</sub>** 的合成** 于 50 mL 圆底烧瓶中加入化合物 **B<sub>1</sub>** (0.4 g, 1.8 mmol)、各种  $\alpha$  取代的溴代羧酸乙酯 ( $\alpha$ -溴丙酸乙酯、 $\alpha$ -溴戊酸乙酯、 $\alpha$ -溴异戊酸乙酯、 $\alpha$ -溴乙酸乙酯、 $\alpha$ -溴丁酸乙酯、 $\alpha$ -溴苯乙酸乙酯, 2.2 mmol) 和无水碳酸钾固体 (0.7 g, 5.4 mmol), 加入 15 mL 无水丙酮搅拌均匀。于氩气保护下回流反应, 直到 TLC 监测反应结束, 展开剂为石油醚-醋酸乙酯 (4:1), 反应冷却至室温, 抽滤, 丙酮冲洗滤饼。滤液减压蒸除, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1) 洗脱分别得到无色油状物中间体 **C<sub>1</sub>**~**C<sub>6</sub>**。

2-(4-叔丁氧羰基氨基甲基苯氧基)丙酸乙酯 (**C<sub>1</sub>**): 0.52 g, 收率 89%, HR-ESI-MS *m/z*: 346.162 8 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-叔丁氧羰基氨基甲基苯氧基)戊酸乙酯 (**C<sub>2</sub>**): 0.54 g, 收率 85%, HR-ESI-MS *m/z*: 374.194 0 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-叔丁氧羰基氨基甲基苯氧基)异戊酸乙酯 (**C<sub>3</sub>**): 0.52 g, 收率 83%, HR-ESI-MS *m/z*: 474.194 2 [M+Na]<sup>+</sup>。

4-叔丁氧羰基氨基甲基苯氧基乙酸乙酯 (**C<sub>4</sub>**): 0.48 g, 收率 87%, HR-ESI-MS *m/z*: 332.147 8 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-叔丁氧羰基氨基甲基苯氧基)丁酸乙酯 (**C<sub>5</sub>**): 0.50 g, 收率 83%, HR-ESI-MS *m/z*: 360.178 2 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-叔丁氧羰基氨基甲基苯氧基)苯丙酸乙酯

(C<sub>6</sub>): 0.54 g, 收率 78%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 408.178 4 [M+Na]<sup>+</sup>。

**2.2.3 中间体 D<sub>1</sub>~D<sub>6</sub> 的合成** 分别于 50 mL 圆底烧瓶中加入中间体 C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub> (1.5 mmol), 用 20 mL 二氯甲烷溶解, 于冰浴下缓慢加入三氟乙酸 (2.5 mL, 0.03 mmol), 加毕, 于室温下搅拌反应 1 h 至 Boc 保护脱掉。蒸除溶剂, 加入 20 mL 饱和碳酸钠水溶液, 60 mL 氯仿萃取, 合并有机层, 无水硫酸镁干燥, 抽滤, 滤液浓缩, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 石油醚-醋酸乙酯 (2:1) 洗脱分别得到无色油状物 D<sub>1</sub>~D<sub>6</sub>。

2-(4-氨基苯氧基)丙酸乙酯 (D<sub>1</sub>): 0.32 g, 收率 95%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 246.110 5 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-氨基苯氧基)戊酸乙酯 (D<sub>2</sub>): 0.34 g, 收率 91%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 274.141 7 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-氨基苯氧基)异戊酸乙酯 (D<sub>3</sub>): 0.33 g, 收率 90%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 274.141 5 [M+Na]<sup>+</sup>。

4-氨基苯氧基乙酸乙酯 (D<sub>4</sub>): 0.29 g, 收率 93%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 232.094 9 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-氨基苯氧基)丁酸乙酯 (D<sub>5</sub>): 0.34 g, 收率 95%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 260.126 0 [M+Na]<sup>+</sup>。

2-(4-氨基苯氧基)苯丙酸乙酯 (D<sub>6</sub>): 0.38 g, 收率 88%, HR-ESI-MS  $m/z$ : 308.126 8 [M+Na]<sup>+</sup>。

### 2.2.4 目标化合物 E<sub>I</sub>~E<sub>II</sub> 的合成

(1) 目标化合物(E)-2-[4-(3', 4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]丙酸乙酯 (E<sub>I</sub>) 的合成 于 50 mL 圆底烧瓶中加入 3, 4-二羟基肉桂酸 (0.18 g, 1.0 mmol), 加入 3 mL 无水 DMF 溶解, 并滴加入 DIEA (0.16 mL, 1.8 mmol) 充分搅拌。准确称取 BOP (0.23 g, 1.0 mmol), 并溶解于 4 mL 无水二氯甲烷中, 随后再加入化合物 D<sub>1</sub> (0.22 g, 1.0 mmol) 充分搅拌均匀。在冰浴下, 将上述含有 BOP 和 D<sub>1</sub> 的二氯甲烷溶液缓慢滴加入反应瓶中, 然后于室温下搅拌反应, TLC 监测反应结束, 展开剂为二氯甲烷-甲醇 (10:1)。蒸除溶剂, 残余物用 10 mL 蒸馏水稀释, 30 mL 醋酸乙酯萃取, 再依次用 1 mol/L HCl、饱和碳酸氢钠水溶液、饱和氯化钠水溶液洗, 合并有机层, 无水硫酸镁干燥, 抽滤, 滤液浓缩, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (50:1) 洗脱, 分别得到淡黄色粉末 0.25 g, 收率为 65%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 408.142 5 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.37 (1H, d,  $J$ =15.6 Hz, CH=CH), 7.12~7.10 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 6.95 (1H, s,

Ph-H-2), 6.75~6.70 (4H, m, Ph-H-5, 6, Ph'-H-3', 5'), 6.59 (1H, t,  $J$ =5.5 Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 6.15 (1H, d,  $J$ =15.6 Hz, CH=CH), 4.66 (1H, q,  $J$ =6.9 Hz, CHCOO), 4.33 (2H, d,  $J$ =5.5 Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 4.15 (2H, q,  $J$ =7.2 Hz, COOCH<sub>2</sub>), 1.54 (3H, d,  $J$ =6.9 Hz, CH<sub>3</sub>CHCOOEt), 1.21 (3H, t,  $J$ =7.0 Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.1, 165.2, 157.2, 139.6, 137.0, 132.4, 131.2, 130.3, 129.3, 126.6, 122.9, 122.1, 115.4, 72.7, 61.3, 43.3, 18.5, 14.1。

(2) 目标化合物(E)-2-[4-(3'-溴肉桂酰基)氨基苯氧基]丙酸乙酯 (E<sub>2</sub>) 的合成 按照化合物 E<sub>I</sub> 的合成及纯化方法, 由 3-溴肉桂酸 (0.23 g, 1.0 mmol) 和化合物 D<sub>1</sub> (0.22 g, 1.0 mmol) 反应。减压蒸除溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (300:1) 洗脱得淡黄色粉末 0.32 g, 收率为 73%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 454.063 0 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.61 (1H, m, Ph-H-2), 7.55 (1H, d,  $J$ =15.8 Hz, CH=CH), 7.46~7.45 (1H, m, Ph-H-6), 7.37~7.36 (1H, m, Ph-H-4), 7.23~7.20 (3H, m, Ph-H-5, Ph'-H-2', 6'), 6.83~6.81 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.40 (1H, d,  $J$ =15.8 Hz, CH=CH), 6.15 (1H, t,  $J$ =5.8 Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 4.71 (1H, q,  $J$ =6.8 Hz, CHCOO), 4.46 (2H, d,  $J$ =5.8 Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 4.20 (2H, q,  $J$ =7.2 Hz, COOCH<sub>2</sub>), 1.60 (3H, d,  $J$ =6.8 Hz, CH<sub>3</sub>CHCOOEt), 1.25 (3H, t,  $J$ =7.1 Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.7, 167.6, 157.1, 146.9, 144.5, 142.2, 131.1, 129.9, 129.3, 127.3, 121.7, 117.5, 115.7, 115.6, 115.4, 114.7, 72.7, 61.7, 43.4, 18.6, 18.5, 14.2。

(3) 目标化合物(E)-2-[4-(3'-氯肉桂酰基)氨基苯氧基]丙酸乙酯 (E<sub>3</sub>) 的合成: 按照化合物 E<sub>I</sub> 的合成及纯化方法, 由 3-氯肉桂酸 (0.18 g, 1.0 mmol) 和化合物 D<sub>1</sub> (0.22 g, 1.0 mmol) 反应。减压蒸除溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (300:1) 洗脱得淡黄色粉末 0.29 g, 收率为 74%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 410.113 5 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.53 (1H, d,  $J$ =15.8 Hz, CH=CH), 7.42 (1H, m, Ph-H-2), 7.30~7.23 (3H, m, Ph-H-4, 5, 6), 7.19~7.17 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 6.80~6.78 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.54 (1H, m, NH), 6.45 (1H, d,  $J$ =15.8 Hz, CH=CH), 4.69 (1H, q,

$J=6.8$  Hz, CHCOO), 4.42 (2H, d,  $J=5.5$  Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 4.19 (2H, q,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>), 1.59 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>CHCOOEt), 1.24 (3H, t,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 172.2, 165.5, 157.1, 139.6, 136.9, 134.8, 131.3, 130.1, 129.5, 129.3, 127.4, 126.2, 122.4, 115.4, 72.8, 61.4, 43.3, 18.6, 14.2。

(4) 目标化合物(E)-2-[4-(3'-氟肉桂酰基)氨基苯氧基]丙酸乙酯 (**E**<sub>4</sub>) 的合成 按照化合物 **E**<sub>1</sub> 的合成及纯化方法, 由 3-氟肉桂酸 (0.17 g, 1.0 mmol) 和化合物 **D**<sub>1</sub> (0.22 g, 1.0 mmol) 反应。减压蒸除溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (300:1) 洗脱得淡黄色粉末 0.26 g, 收率为 70%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 394.143 4 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.58 (1H, d,  $J=15.4$  Hz, CH=CH), 7.46 (1H, m, Ph-H-2), 7.34~7.27 (3H, m, Ph-H-4, 5, 6), 7.22~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.84~7.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.02 (1H, m, NH-CH<sub>2</sub>), 6.39 (1H, d,  $J=15.4$  Hz, CH=CH), 4.72 (1H, q,  $J=6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>-CH-COOEt), 4.48 (2H, d,  $J=5.6$  Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 4.21 (1H, q,  $J=7.2$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.61 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, CH<sub>3</sub>-CH-COOEt), 1.25 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 172.1, 165.2, 157.2, 139.7, 136.8, 134.8, 131.1, 130.0, 129.5, 129.3, 127.4, 126.1, 122.1, 115.4, 72.7, 61.3, 43.3, 18.5, 14.1。

(5) 目标化合物(E)-2-[4-(3',4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]戊酸乙酯 (**E**<sub>5</sub>) 的合成: 按照化合物 **E**<sub>1</sub> 的合成 由 0.18 g (1.0 mmol) 3, 4-二羟基肉桂酸和化合物 **D**<sub>2</sub> (0.25 g, 1.0 mmol) 反应。减压蒸除溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (50:1) 洗脱得淡黄色粉末 0.26 g, 收率为 63%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 436.173 2 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, MeOD)  $\delta$ : 7.42 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 7.23~7.22 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.00 (1H, d,  $J=1.9$  Hz, Ph-H-2), 6.90 (1H, d,  $J=8.2, 1.9$  Hz, Ph-H-6), 6.85~6.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, Ph-H-5), 6.38 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 4.70~4.68 (1H, m, CHCOO), 4.40 (2H, s, NH-CH<sub>2</sub>), 4.18 (2H, q,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.91~1.86 (2H, m, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.56~1.49 (2H, m, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>),

1.23 (3H, t,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.97 (3H, t,  $J=7.5$  Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, MeOD)  $\delta$ : 173.6, 169.1, 158.7, 148.8, 146.7, 142.5, 133.1, 130.0, 128.4, 122.1, 118.4, 116.5, 116.3, 115.2, 77.6, 62.3, 43.7, 35.9, 19.4, 14.4, 14.0。

(6) 目标化合物(E)-2-[4-(3',4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]异戊酸乙酯 (**E**<sub>6</sub>) 的合成 按照化合物 **E**<sub>1</sub> 的合成及纯化方法, 由 3, 4-二羟基肉桂酸 (0.18 g, 1.0 mmol) 和化合物 **D**<sub>3</sub> (0.25 g, 1.0 mmol) 反应。减压蒸除溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (50:1) 洗脱得淡黄色粉末 0.27 g, 收率为 65%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 436.172 8 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, MeOD)  $\delta$ : 7.42 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 7.23~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.00 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, Ph-H-2), 6.90 (1H, d,  $J=8.2, 1.9$  Hz, Ph-H-6), 6.85~6.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, Ph-H-5), 6.39 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, CH=CH), 4.45 (1H, d,  $J=5.4$  Hz, CHCOO), 4.40 (2H, s, NH-CH<sub>2</sub>), 4.18 (2H, q,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.27~2.21 [1H, m, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH], 1.23 (3H, t,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.07~1.05 [6H, m, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH]。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 171.8, 167.7, 157.6, 148.8, 146.9, 144.6, 142.1, 130.9, 129.2, 127.2, 121.7, 117.4, 115.7, 115.3, 114.6, 81.6, 61.3, 60.5, 43.3, 31.7, 18.6, 17.8, 14.2。

(7) 目标化合物(E)-2-[4-(3'-溴肉桂酰基)氨基苯氧基]异戊酸乙酯 (**E**<sub>7</sub>) 的合成 按照化合物 **E**<sub>1</sub> 的合成及纯化方法, 由 3-溴肉桂酸 (0.23 g, 1.0 mmol) 和化合物 **D**<sub>3</sub> (0.25 g, 1.0 mmol) 反应。减压蒸除溶剂, 残余物通过硅胶柱色谱纯化, 二氯甲烷-甲醇 (300:1) 洗脱得淡黄色粉末 0.34 g, 收率为 73%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 482.093 8 [M+Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.62 (1H, m, Ph-H-2), 7.56 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, CH=CH), 7.46~7.45 (1H, m, Ph-H-6), 7.38~7.37 (1H, m, Ph-H-4), 7.23~7.20 (3H, m, Ph-H-5, Ph'-H-2', 6'), 6.85~6.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.38 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 6.01 (1H, t,  $J=5.5$  Hz, NH), 4.47 [1H, d,  $J=5.7$  Hz, CHCOO], 4.34 (2H, d,  $J=5.5$  Hz, NH-CH<sub>2</sub>), 4.21 (2H, q,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.30~2.25 [1H, m, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH], 1.25 (3H, t,  $J=7.1$  Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.09~1.05 [6H, m, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH]。

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 172.9, 167.5, 157.1, 146.9, 144.4, 142.2, 131.0, 129.9, 129.4, 127.3, 121.6, 117.6, 115.7, 115.6, 115.3, 114.8, 81.5, 61.4, 60.6, 43.4, 31.7, 18.7, 17.6, 14.1。

(8) 目标化合物(*E*)-2-[4-(3',4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]乙酸乙酯(**E<sub>8</sub>**)的合成 按照化合物**E<sub>1</sub>**的合成及纯化方法,由3,4-二羟基肉桂酸(0.18 g, 1.0 mmol)和化合物**D<sub>4</sub>**(0.21 g, 1.0 mmol)反应。减压蒸除溶剂,残余物通过硅胶柱色谱纯化,二氯甲烷-甲醇(50:1)洗脱得淡黄色粉末0.25 g,收率为69%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 394.126 3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, MeOD)  $\delta$ : 7.42 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, CH=CH), 7.25~7.24 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.01 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, Ph-H-2), 6.91~6.88 (3H, m, Ph-H-6, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, Ph-H-5), 6.39 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 4.67 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 4.41 (2H, s, NH- $\text{CH}_2$ ), 4.23 (2H, q,  $J=7.2$  Hz,  $\text{COOCH}_2$ ), 1.27 (3H, t,  $J=7.2$  Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ )。  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 171.1, 169.2, 158.8, 148.8, 146.8, 142.6, 133.3, 130.1, 128.5, 122.2, 118.5, 116.6, 115.9, 115.3, 66.4, 62.4, 43.8, 14.5。

(9) 目标化合物(*E*)-2-[4-(3',4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]乙酸乙酯(**E<sub>9</sub>**)的合成 按照化合物**E<sub>1</sub>**的合成及纯化方法,由3-溴肉桂酸(0.23 g, 1.0 mmol)和化合物**D<sub>4</sub>**(0.21 g, 1.0 mmol)反应。减压蒸除溶剂,残余物通过硅胶柱色谱纯化,二氯甲烷-甲醇(300:1)洗脱得淡黄色粉末0.32 g,收率为77%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 440.047 1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.61 (1H, m, Ph-H-2), 7.55 (1H, d,  $J=15.5$  Hz, CH=CH), 7.46~7.44 (1H, m, Ph-H-6), 7.37~7.36 (1H, m, Ph-H-4), 7.23~7.20 (3H, m, Ph-H-5, Ph'-H-2', 6'), 6.86~6.84 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.41 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, CH=CH), 6.24 (1H, t,  $J=5.6$  Hz, NH), 4.58 (2H, d,  $J=5.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 4.46 (2H, d,  $J=5.6$  Hz, NH- $\text{CH}_2$ ), 4.26 (2H, q,  $J=7.1$  Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.29 (3H, t,  $J=7.1$  Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ )。  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.0, 165.4, 157.5, 139.7, 137.2, 132.5, 131.5, 130.4, 129.4, 126.7, 123.1, 122.3, 115.1, 65.6, 61.5, 43.4, 14.3。

(10) 目标化合物(*E*)-2-[4-(3',4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]丁酸乙酯(**E<sub>10</sub>**)的合成 按照化

合物**E<sub>1</sub>**的合成及纯化方法,由3,4-二羟基肉桂酸(0.18 g, 1.0 mmol)和化合物**D<sub>5</sub>**(0.24 g, 1.0 mmol)反应。减压蒸除溶剂,残余物通过硅胶柱色谱纯化,二氯甲烷-甲醇(50:1)洗脱得淡黄色粉末0.24 g,收率为61%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 422.157 7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, MeOD)  $\delta$ : 7.43 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, CH=CH), 7.23~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.01 (1H, d,  $J=1.9$  Hz, Ph-H-2), 6.90 (1H, dd,  $J=8.2, 2.0$  Hz, Ph-H-6), 6.84~6.83 (2H, m, Ph'-H-3', 5'), 6.77 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, Ph-H-5), 6.40 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 4.64~4.62 (1H, m,  $\text{CHCOO}$ ), 4.39 (2H, s, NH- $\text{CH}_2$ ), 4.17 (2H, q,  $J=7.1$  Hz,  $\text{COOCH}_2$ ), 1.98~1.88 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CHCOO}$ ), 1.22 (3H, t,  $J=7.1$  Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.04 (3H, t,  $J=7.5$  Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCOO}$ )。  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 173.3, 169.0, 158.6, 148.6, 146.6, 142.4, 133.0, 130.0, 128.3, 122.1, 118.4, 116.5, 116.3, 115.2, 78.8, 62.3, 27.0, 14.4, 9.7。

(11) 目标化合物(*E*)-2-[4-(3',4'-二羟基肉桂酰基)氨基苯氧基]苯丙酸乙酯(**E<sub>11</sub>**)的合成 按照化合物**E<sub>1</sub>**的合成及纯化方法,由3,4-二羟基肉桂酸(0.18 g, 1.0 mmol)和化合物**D<sub>6</sub>**(0.29 g, 1.0 mmol)反应。减压蒸除溶剂,残余物通过硅胶柱色谱纯化,二氯甲烷-甲醇(50:1)洗脱得淡黄色粉末0.26 g,收率为58%。HR-ESI-MS  $m/z$ : 470.157 9  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, MeOD)  $\delta$ : 7.55~7.54 (2H, m, Ph''-H-3'', 5''), 7.42 (1H, d,  $J=15.7$  Hz, CH=CH), 7.39~7.34 (3H, m, Ph''-H-2'', 4'', 6''), 7.23~7.21 (2H, m, Ph'-H-2', 6'), 7.01 (1H, d,  $J=1.9$  Hz, Ph-H-2), 6.93~6.89 (3H, m, Ph-H-6, Ph'-H-3', 5'), 6.76 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, Ph-H-5), 6.38 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, CH=CH), 5.75 (1H, s,  $\text{CHCOO}$ ), 4.39 (2H, s, NH- $\text{CH}_2$ ), 4.19~4.11 (2H, m,  $\text{COOCH}_2$ ), 1.22 (3H, t,  $J=7.1$  Hz,  $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ )。  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 171.7, 169.1, 157.9, 148.7, 146.7, 142.5, 137.1, 133.4, 130.0, 129.9, 129.7, 128.4, 128.3, 122.1, 118.4, 116.7, 116.5, 115.2, 79.7, 62.7, 43.7, 14.3。

肉桂酰苯乙胺类化合物的合成路线见图1。

## 2.2 调脂作用研究

参考文献的方法<sup>[12]</sup>,人肝 HepG2 细胞系采用含10%胎牛血清和青霉素/链霉素(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的DMEM培养基,于37  $^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 的培养箱中培养。

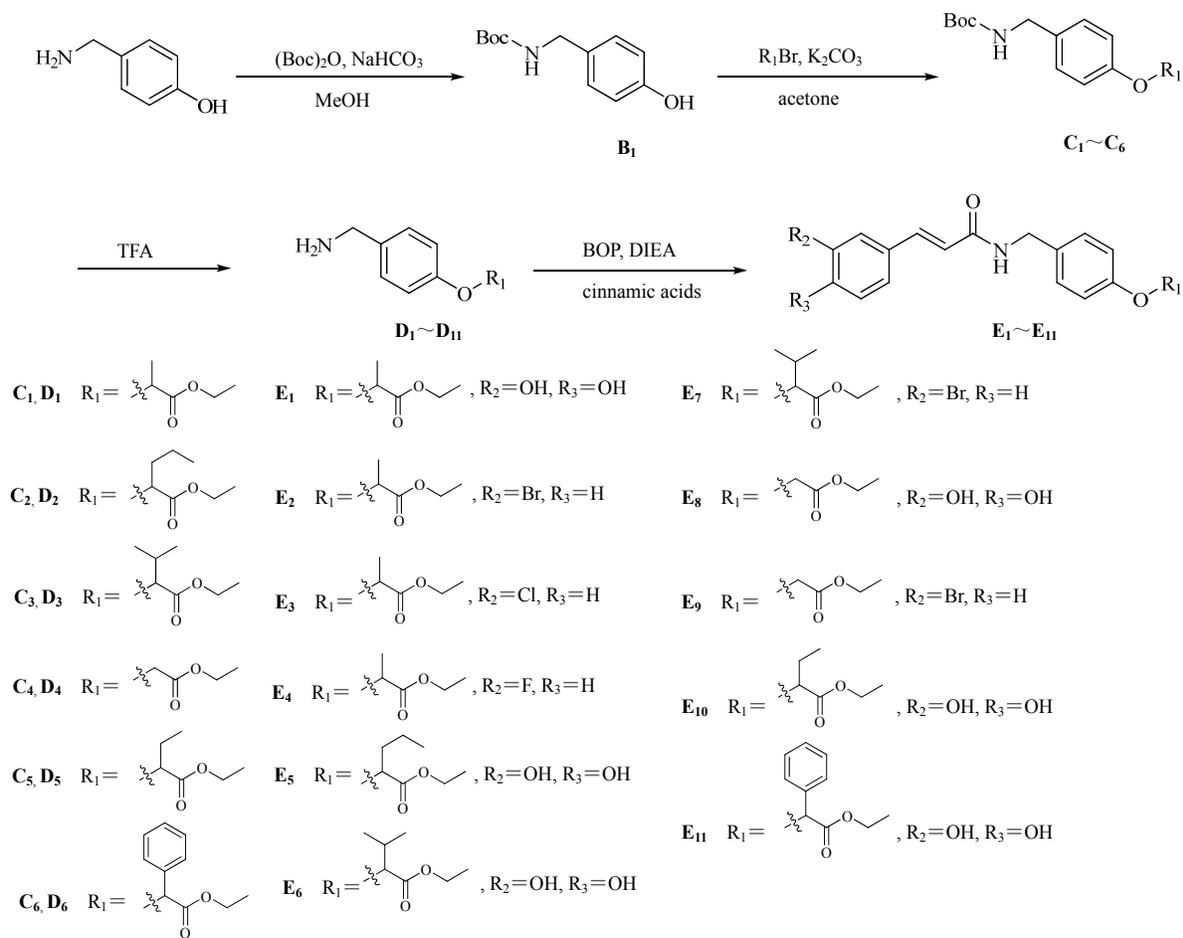


图 1 肉桂酰苯乙胺类化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic routes of phenylethyl cinnamide compounds

细胞长至培养皿 70%~80%时, 使用 100 μmol/L 油酸和棕榈酸混合液刺激细胞 12 h, 制成脂质堆积模型; 随后给予不同的肉桂酰苯乙胺类化合物 (10 μmol/L) 以及同等浓度的辛伐他汀阳性对照, 外加 1 个对照组, 均孵育 6 h。实验结束后使用油红 O 染色, 通过分光光度仪在 358 nm 下测定吸光度 (A) 值, 与模型组相比, 各试验组的 A 值越小, 其抑制细胞脂质代谢紊乱活性越好, 因此通过测定各组的 A 值, 用以观察肉桂酰苯乙胺类化合物中具有抑制脂质堆积的有效化合物。每个实验均重复 3 次。

以调脂药物辛伐他汀为阳性对照, 在 10 μmol/L 的浓度下, 通过细胞学实验考察了化合物 E<sub>1</sub>~E<sub>11</sub> 对 HepG2 细胞脂质代谢紊乱的抑制作用, 见表 1。

### 3 讨论

#### 3.1 合成部分

本实验首先将原料对羟基苯乙胺 A<sub>1</sub> 的氨基进行 Boc 保护得到中间体 B<sub>1</sub>; 中间体 B<sub>1</sub> 在缚酸剂碳

表 1 肉桂酰苯乙胺类化合物的调脂活性

Table 1 Lipid-regulating activities of phenylethyl cinnamide compounds

化合物	A 值
对照	0.211 ± 0.005
模型	0.255 ± 0.007 <sup>##</sup>
辛伐他汀	0.238 ± 0.004 <sup>***</sup>
E <sub>1</sub>	0.245 ± 0.008 <sup>*</sup>
E <sub>2</sub>	0.249 ± 0.003
E <sub>3</sub>	0.248 ± 0.012
E <sub>4</sub>	0.254 ± 0.011
E <sub>5</sub>	0.240 ± 0.007
E <sub>6</sub>	0.238 ± 0.010 <sup>*</sup>
E <sub>7</sub>	0.248 ± 0.007
E <sub>8</sub>	0.246 ± 0.012
E <sub>9</sub>	0.249 ± 0.003
E <sub>10</sub>	0.232 ± 0.003 <sup>*</sup>
E <sub>11</sub>	0.250 ± 0.005

与对照组比较: <sup>##</sup>P<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*\*</sup>P<0.001  
<sup>##</sup>P<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>P<0.05 <sup>\*\*\*</sup>P<0.001 vs model group

酸钾的作用下与各种  $\alpha$  取代的溴代羧酸乙酯 ( $\alpha$ -溴丙酸乙酯、 $\alpha$ -溴戊酸乙酯、 $\alpha$ -溴异戊酸乙酯、 $\alpha$ -溴乙酸乙酯、 $\alpha$ -溴丁酸乙酯、 $\alpha$ -溴苯乙酸乙酯) 进行羟化反应得到中间体  $C_1 \sim C_6$ ; 在三氟乙酸的有机酸条件下, 中间体  $C_1 \sim C_6$  分别脱去 Boc 保护基后得到中间体  $D_1 \sim D_6$ ; 再在缩合剂 BOP 和 DIEA 条件下, 分别与各种取代的肉桂酸进行缩合反应得到目标化合物  $E_1 \sim E_{11}$ 。

### 3.2 调脂作用研究

在设计合成出的 11 个肉桂酰苯乙胺类化合物中, 所有化合物均呈现出了不同程度的调脂作用, 其中, 化合物  $E_{10}$  表现出与阳性对照药辛伐他汀相当的调脂活性, 值得深入研究。

初步的构效关系总结如下: (1) 连接片段  $D_1 \sim D_6$  中取代基  $R_1$  对活性具有较大的影响,  $R_1$  基团为  $\alpha$ -溴异戊酸乙酯和  $\alpha$ -溴丁酸乙酯时活性较好,  $R_1$  基团为  $\alpha$ -溴苯乙酸乙酯时活性较差, 如化合物  $E_6$ 、 $E_{10}$  和  $E_{11}$ ; (2) 肉桂酰基芳环上的取代基对活性具有一定的影响, 当肉桂酰基片段为 3, 4-二羟基肉桂酰基时, 活性整体优于含有其他取代基如溴、氯、氟等的肉桂酰苯乙胺类化合物, 如化合物  $E_1$ 、 $E_5$ 、 $E_6$ 、 $E_{10}$ 。且氟取代的肉桂酰苯乙胺类化合物活性较弱, 如化合物  $E_{11}$ 。本研究为深入开展肉桂酰苯乙胺类化合物的抗脂质代谢紊乱活性研究奠定基础。

#### 参考文献

[1] 刘伟, 韩立亚, 毕艳兰. 咖啡酸衍生物的合成研究进展 [J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2014, 35(3): 98-104.  
 [2] Yang S Y, Hong C O, Lee G P, et al. The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of *Perilla frutescens*, against t-BHP-induced oxidative liver damage [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 55: 92-99.

[3] Gülçin I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) [J]. *Toxicology*, 2006, 217(2/3): 213-220.  
 [4] Prasad N R, Jeyanthimala K, Ramachandran S. Caffeic acid modulates ultraviolet radiation-B induced oxidative damage in human blood lymphocytes [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2009, 95(3): 196-203.  
 [5] Lafay S, Gueux E, Rayssiguier Y, et al. Caffeic acid inhibits oxidative stress and reduces hypercholesterolemia induced by iron overload in rats [J]. *Int J Vitam Nutr Res*, 2005, 75(2): 119-125.  
 [6] Cárdenas M, Marder M, Blank V C, et al. Antitumor activity of some natural flavonoids and synthetic derivatives on various human and murine cancer cell lines [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14(9): 2966-2971.  
 [7] 张翠平, 王凯, 胡福良. 蜂胶中的酚酸类化合物 [J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(1): 102-105.  
 [8] Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, et al. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid henethyl ester isolated from ropolis [J]. *Experientia*, 1988, 44(3): 230-232.  
 [9] Marquez N, Sancho R, Macho A, et al. Caffeic acid henethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF- $\kappa$ B transcription factors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 308(3): 993-1001.  
 [10] 李永胜, 田瑜, 郭鹏, 等. 咖啡酸酯类衍生物的合成及其生物活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(24): 3538-3542.  
 [11] 吴洁, 倪沛洲, 江振洲, 等. 苯氧乙酸类化合物的合成及其降脂活性 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(6): 478-482.  
 [12] Zhang X, Wu C M, Wu H, et al. Anti-hyperlipidemic effects and potential mechanisms of action of the caffeoylquinic acid-rich *Pandanus tectorius* fruit extract in hamsters fed a high fat-diet [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61922.