

咖啡酸酰胺类衍生物的合成及调脂活性研究

季宇彬¹, 王宝琪^{1,2}, 许旭东², 郭鹏², 田瑜^{2*}, 尚海^{2*}

1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 中药(天然药物)创新药物研发北京市重点实验室, 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 国家中医药管理局中药干预糖脂代谢紊乱性疾病药效评价重点研究室, 天然药物、健康产品的研究与开发中关村开放实验室, 北京 100193

摘要:目的 设计并合成天然产物咖啡酸的酰胺类衍生物, 并对该系列化合物进行体外抗脂质代谢紊乱活性评价。方法 以咖啡酸为起始原料, 卡特缩合剂(BOP)为缩合剂, 与十四种胺依次反应制得目标产物, 利用人肝癌 HepG2 细胞评价该类衍生物的调脂活性。结果 设计并合成 14 个咖啡酸酰胺类化合物 CA1~CA14, 均经波谱技术确证结构。药理实验结果表明, 14 个化合物对 HepG2 细胞呈现不同程度的调血脂活性, 其中衍生物 CA6 的调血脂活性优于先导物咖啡酸和阳性药辛伐他汀。结论 化合物 CA6、CA7 和 CA11 均为未见文献报道的咖啡酸酰胺类新化合物, 其中 CA6 和 CA11 具有潜在的调脂生物活性, 值得进一步深入研究。

关键词: 咖啡酸酰胺; 衍生物; 合成; 调脂活性; HepG2 细胞

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)19-4507-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.007

Synthesis and lipid-regulating evaluation of caffeic acid amide derivatives

Ji Yu-bin¹, WANG Bao-qi^{1,2}, XU Xu-dong², GUO Peng², TIAN Yu², SHANG Hai²

1. Research Center of Life Sciences and Environment Sciences, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Beijing Key Laboratory of Innovative Drug Discovery of Traditional Chinese Medicine (Natural Medicine) and Translational Medicine, Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Key Laboratory of Efficacy Evaluation of Chinese Medicine against Glycolipid Metabolic Disorders of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Zhongguancun Open Laboratory of Research and Development of Natural Medicine and Health Products, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: **Objective** To evaluate the anti-lipid metabolic disorder activities of these compounds *in vitro*, the natural caffeic acid amide derivatives were designed and synthesized. **Methods** Using caffeic acid as start material, BOP as a condensing agent, and the target compounds were sequentially prepared with fourteen amines, and then the lipid-regulating effect was evaluated using HepG2 cells. **Results** Fourteen caffeic acid amide compounds CA1—CA14 were synthesized. The structures of the target compounds were identified by spectrum. Pharmacological results showed that fourteen derivatives have potency of lipid-regulating in different levels. In particular, compound CA6 showed significant lipid-regulating effects compared to the lead compounds caffeic acid and Simvastatin. **Conclusion** Compound CA6, CA7, and CA11 had not been reported in any literatures before. Among them, the novel compounds CA6 and CA11 have showed potential of lipid-regulating activities, and deserved further research.

Key words: caffeic acid amide; derivatives; synthesis; lipid-regulating effects; HepG2 cells

咖啡酸(caffeic acid, CA)又称作 3,4-二羟基苯丙烯酸, 存在于咖啡、水果、蔬菜、及谷物等食品中, 并且在多种中草药中广泛存在, 如露兜筋、升麻、麝香草及杜仲等^[1-2]。CA

收稿日期: 2018-05-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81302656); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-12M-1-012)

作者简介: 季宇彬(1956—), 男, 博士, 教授, 主要从事药理学研究。

*通信作者 田瑜(1983—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事天然产物结构改造、生物活性及靶标研究。E-mail: ytian@implad.ac.cn
尚海(1983—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事中药及天然药物的研究与开发。E-mail: hshang@implad.ac.cn

是天然的抗氧化剂,此外还具有包括心血管保护、抗炎、抗菌、抗病毒及免疫调节等多种生物活性,可用于心脑血管、白细胞减少、血小板减少及人免疫缺陷病毒(HIV)感染等疾病的防治^[3-7]。CA 的很多天然或合成的衍生物也同样具有与其相似的生物活性,如天然产物肉桂酸、对香豆酸、阿魏酸、迷迭香酸等,近年来研究发现这些化合物具有与 CA 类似的抗炎、抗氧化、抗癌和心血管保护等作用^[8-10]。

露兜筋 *Pandanus tectorius* (L.) Parkins. 又名野菠萝,是海南当地民间常用于防治高血脂症的中草药。本课题组前期研究发现,露兜筋中含有的 CA 具有调血脂作用,以 CA 为先导化合物合成得到的咖啡酸酯类衍生物同样具有很好的调脂活性,且与原型天然产物 CA 活性相当^[11]。进一步研究发现,以 3,4-二羟基肉桂酰基为主要活性片段的肉桂酰苯乙胺类化合物具有很好的调脂作用,与阳性对照药辛伐他汀(simvastatin)活性相当^[12]。鉴于目前咖啡酸酰胺类衍生物的调脂活性未见报道,因此本实验设计合成了一系列咖啡酸酰胺类化合物 CA1~CA14,其中化合物 CA6、CA7、CA11 为未见文献报道的咖啡酸酰胺类新化合物,运用人肝癌 HepG2 细胞首次评价该系列衍生物体外抗脂质代谢紊乱活性^[13],初步探讨构效关系,为进一步发现调脂活性良好且具有深入研究价值的咖啡酰类化合物奠定基础。

1 仪器与试剂

艾卡(IKAOR)RCT basic 型磁力搅拌器[艾卡(广州)仪器设备有限公司];梅特勒-托利多(METTLER TOLEDO AL104)电子天平[梅特勒-托利多(北京)精密仪器有限公司];Bruker Avance III 600 型核磁共振波谱仪[布鲁克(北京)科技有限公司];赛默飞世尔(ThermoFisher)LTQ-Obitrap XL 液质联用仪(赛默飞世尔科技有限公司);37 °C、5% CO₂ 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)。

CA、三乙胺、卡特缩合剂(BOP)、苄胺、炔丙胺、癸胺、正丙胺、正己胺、辛胺、苯乙胺、苯胺、环己胺、油胺、3-(2-乙基己氧基)丙胺、异丁胺、2-呋喃甲胺、1-氨基哌啶购于 Energy Chemical 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(Sigma 公司);DMEM 高糖培养基(Gibco 公司),常规试剂市售分析纯和化学纯,

薄层色谱用硅胶板和柱色谱用硅胶(青岛海洋化工有限公司);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

2.1 目标化合物 CA1~CA14 的合成

准确称取 180 mg (1 mmol) 咖啡酸,加入到 50 mL 圆底烧瓶中。0 °C 条件下加入 2 mL DMF 溶解,滴加 0.14 mL 三乙胺,反应液呈棕黄色。准确称取 BOP 442.3 mg (1 mmol) 加入到另一个 50 mL 圆底烧瓶中。0 °C 条件下加入 2 mL 二氯甲烷溶解,加入胺 1 mmol,将该混合液 0 °C 条件下缓慢滴加到 DMF 混合液中。混合物在 0 °C 下搅拌 30 min,然后在室温下搅拌 2 h。TLC 检测反应,展开剂为二氯甲烷-甲醇(10:1)。反应结束后,蒸干二氯甲烷,并用 15 mL 水稀释。用 30 mL 醋酸乙酯萃取,醋酸乙酯层用 1 mol/L HCl 萃洗掉反应液中的三乙胺。饱和碳酸氢钠水溶液萃洗,中和上一步萃洗中过量的 HCl。饱和食盐水萃洗。然后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(30:1)洗脱得到目标化合物 CA1~CA14。具体合成路线见图 1。

2.2 调脂活性实验

细胞学实验方法参考文献的方法^[13],HepG2 细胞系用含 10% 胎牛血清和青霉素/链霉素(100 μg/mL)的 DMEM 培养基,在 37 °C,5% CO₂ 的培养箱中培养。细胞长至培养皿的 70%~80% 时,使用 100 μmol/L 油酸及棕榈酸的混合液刺激细胞 12 h,制成脂质堆积模型,作为模型组。另设含有正常细胞及培养基的对照组。随后给予各咖啡酸酰胺类衍生物(10 μmol/L)以及同等浓度的 CA 和辛伐他汀(阳性对照),均孵育 6 h。实验结束后用油红 O 染色,通过分光光度仪在 358 nm 下测吸光度(A)值。与模型组相比,实验组 A 值越小表示其抑制细胞脂质代谢紊乱活性越好。上述每个实验结果均重复 3 次。

3 结果与讨论

3.1 图谱数据

化合物 CA1: 白色粉末,收率为 71%。HR-ESI-MS m/z : 244.095 3 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.95 (1H, t, J = 5.5 Hz, CONH), 7.21 (1H, d, J = 15.6 Hz, CH = CH), 6.93 (1H, s, Ph-H-2), 6.82 (1H, m, Ph-H-6), 6.73 (1H, m, Ph-H-5), 6.32 (1H, d, J = 15.5 Hz, CH = CH), 3.12~3.09 (2H,

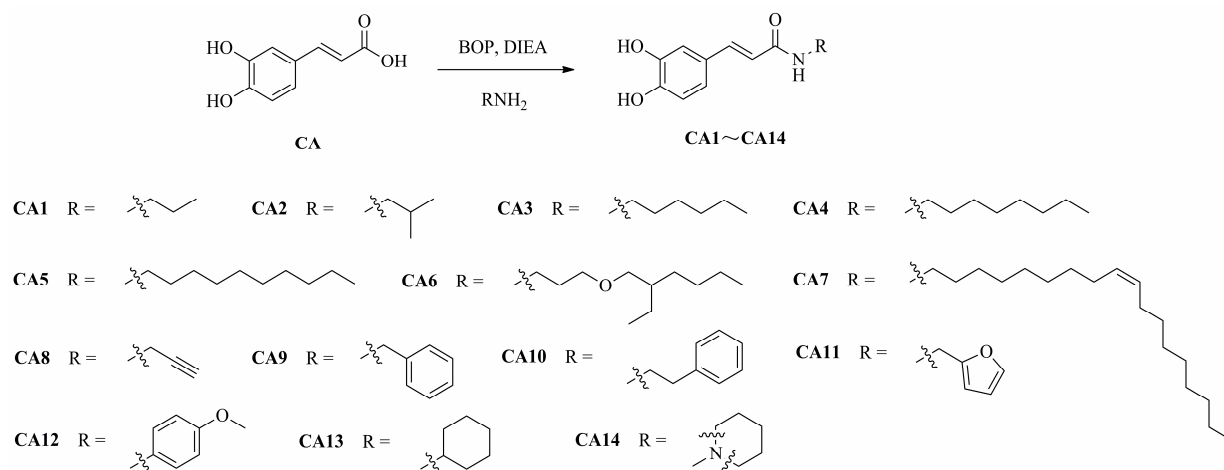


图 1 咖啡酸酰胺类化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of caffeic acid amide derivatives

m, NHCH_2), 1.47~1.43 (2H, m, CH_2CH_3), 0.87 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_2CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.3, 147.2, 145.5, 138.8, 126.5, 120.3, 118.7, 115.7, 113.8, 40.4, 22.5, 11.5.

化合物 **CA2**: 白色粉末, 收率为 68%。HR-ESI-MS m/z : 258.111 8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.97 (1H, t, $J = 5.7$ Hz, CONH), 7.22 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.94 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, Ph-H-2), 6.83 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, Ph-H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph-H-5), 6.37 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 2.99~2.97 (2H, m, NHCH_2), 1.75~1.68 [1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$], 0.86 [6H, d, $J = 6.7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]; ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.4, 147.2, 145.5, 138.9, 126.5, 120.4, 118.7, 115.8, 113.8, 38.6, 31.1, 46.2, 28.2, 20.2。

化合物 **CA3**: 淡灰色粉末, 收率为 62%。HR-ESI-MS m/z : 286.142 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.95 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, CONH), 7.21 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.93 (1H, m, Ph-H-2), 6.82 (1H, m, Ph-H-6), 6.73 (1H, m, Ph-H-5), 6.31 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 3.13~3.11 (2H, m, NHCH_2), 1.44~1.40 (2H, m, NHCH_2CH_2), 1.30~1.24 [6H, m, $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$], 0.87 (3H, m, CH_2CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.2, 147.2, 145.5, 138.8, 126.4, 120.3, 118.6, 115.7, 113.8, 38.6, 31.1, 29.2, 26.2, 22.1, 14.0。

化合物 **CA4**: 白色粉末, 收率为 65%。HR-ESI-MS m/z : 314.174 8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600

MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.95 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, CONH), 7.20 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.93 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, Ph-H-2), 6.82 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, Ph-H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, Ph-H-5), 6.31 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 3.15~3.11 (2H, m, NHCH_2), 1.43~1.41 (2H, m, NHCH_2CH_2), 1.28~1.23 [10H, m, $(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$], 0.85 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_2CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.3, 147.2, 145.5, 138.9, 126.5, 120.4, 118.6, 115.7, 113.8, 38.6, 31.3, 29.3, 28.8, 28.7, 26.6, 22.2, 14.0。

化合物 **CA5**: 白色粉末, 收率为 69%。HR-ESI-MS m/z : 342.205 3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.93 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, CONH), 7.20 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.92 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, Ph-H-2), 6.82 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, Ph-H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, Ph-H-5), 6.32 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 3.14~3.11 (2H, m, NHCH_2), 1.43~1.41 (2H, m, NHCH_2CH_2), 1.26~1.23 [14H, m, $(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$], 0.87 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_2CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 165.2, 147.2, 145.5, 138.8, 126.4, 120.3, 118.7, 115.7, 113.8, 38.9, 31.3, 29.2, 29.0, 28.5, 27.0, 26.5, 25.8, 22.1, 14.0。

化合物 **CA6**: 淡黄色油状物, 收率为 55%。HR-ESI-MS m/z : 372.216 9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.36 (1H, s, OH), 9.13 (1H, s, OH), 7.96 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, CONH), 7.21 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.93 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, Ph-H-2),

6.82 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, Ph-H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, Ph-H-5), 6.30 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, CH = CH), 3.38~3.36 (2H, m, CH₂O), 3.24~3.23 (2H, m, OCH₂), 3.20~3.17 (2H, m, NHCH₂), 1.69~1.64 (2H, m, NHCH₂CH₂), 1.44~1.41 (1H, m, OCH₂CH), 1.35~1.24 (8H, m, CH₃CH₂, CH₂CH₂CH₂CH₃), 0.87~0.82 (6H, m, CH₃CH₂, CH₂CH₂CH₂CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.3, 147.3, 145.5, 138.9, 126.4, 120.4, 118.6, 115.7, 113.8, 72.8, 68.0, 39.1, 36.0, 30.1, 29.5, 28.6, 23.5, 22.6, 14.0, 11.0.

化合物 **CA7**: 白色粉末, 收率为 43%。HR-ESI-MS m/z : 452.316 4 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.35 (1H, s, OH), 9.12 (1H, s, OH), 7.94 (1H, t, $J = 5.3$ Hz, CONH), 7.20 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, CH = CH), 6.92 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, Ph-H-2), 6.81 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, Ph-H-6), 6.73 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, Ph-H-5), 6.31 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH = CH), 5.35~5.29 (2H, m, CH₂CH = CHCH₂), 3.14~3.11 (2H, m, NHCH₂), 1.98~1.93 (4H, m, CH₂CH = CHCH₂), 1.42~1.41 (2H, m, NHCH₂CH₂), 1.32~1.19 [22H, m, (CH₂)₅CH₂CH = CHCH₂(CH₂)₆CH₃], 0.84 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, CH₂CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.2, 147.2, 145.5, 138.9, 129.7, 126.5, 120.3, 118.6, 115.7, 113.8, 38.6, 31.3, 29.3, 29.2, 29.1, 29.1, 29.1, 28.9, 28.9, 28.8, 28.8, 28.6, 26.6, 26.6, 26.5, 22.2, 14.0.

化合物 **CA8**: 白色粉末, 收率为 69%。HR-ESI-MS m/z : 240.064 1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.42 (1H, s, CONH), 7.27 (1H, m, CH = CH), 6.95 (1H, s, Ph-H-2), 6.84 (1H, m, Ph-H-5), 6.74 (1H, m, Ph-H-6), 6.32 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH = CH), 3.97 (2H, m, NHCH₂), 3.14 (1H, m, CH $\equiv$ C); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.2, 147.5, 145.6, 139.9, 126.2, 120.7, 117.6, 115.8, 113.8, 73.1, 27.9.

化合物 **CA9**: 白色粉末, 收率为 74%。HR-ESI-MS m/z : 292.095 6 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.50 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, CONH), 7.37 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, CH = CH), 7.33~7.24 (5H, m, Ph-H-1'~5'), 6.95 (1H, s, Ph-H-2), 6.84 (1H, m, Ph-H-6), 6.75 (1H, m, Ph-H-5), 6.40 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, CH = CH), 4.38 (2H, d, $J = 5.6$ Hz, NHCH₂);

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.5, 147.4, 145.5, 139.6, 139.5, 128.7, 128.3, 127.7, 127.4, 126.8, 126.4, 120.5, 118.3, 115.8, 113.8, 42.3.

化合物 **CA10**: 白色粉末, 收率为 70%。HR-ESI-MS m/z : 306.112 2 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.08 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, CONH), 7.31~7.19 (6H, m, CH = CH, Ph-H-1'~5'), 6.94 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, Ph-H-2), 6.83 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, Ph-H-6), 6.74 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ph-H-5), 6.32 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, CH = CH), 3.40~3.37 (2H, m, NHCH₂), 2.76 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, NHCH₂CH₂); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.4, 147.3, 145.6, 139.6, 139.1, 2 $\times$ 128.7, 2 $\times$ 128.4, 126.4, 126.1, 120.4, 118.5, 115.8, 113.8, 40.4, 35.3.

化合物 **CA11**: 白色粉末, 收率为 35%。HR-ESI-MS m/z : 282.075 3 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.44 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, CONH), 7.59 (1H, m, furan-H-4'), 7.27 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH = CH), 6.95 (1H, s, Ph-H-2), 6.83 (1H, m, Ph-H-5), 6.74 (1H, m, Ph-H-6), 6.40~6.35 (2H, m, CH = CH, furan-H-3'), 6.27 (1H, m, furan-H-2'), 4.37 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, NHCH₂); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.3, 152.3, 147.4, 145.6, 142.2, 139.7, 126.3, 120.6, 118.1, 115.8, 113.8, 110.9, 110.8, 110.5, 109.2, 108.9, 107.0, 35.5.

化合物 **CA12**: 淡黄色粉末, 收率为 45%。HR-ESI-MS m/z : 308.090 5 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.93 (1H, s, CONH), 7.60 (2H, m, Ph-H-1', 5'), 7.37 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, CH = CH), 7.00 (1H, s, Ph-H-2), 6.90 (3H, m, Ph-H-6, Ph-H-2', 4'), 6.77 (1H, m, Ph-H-5), 6.50 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, CH = CH), 3.72 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 163.6, 155.1, 147.6, 145.6, 140.2, 132.7, 126.3, 120.7, 2 $\times$ 120.6, 118.6, 115.8, 3 $\times$ 113.9, 55.2.

化合物 **CA13**: 淡黄色粉末, 收率为 52%。HR-ESI-MS m/z : 284.126 8 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.83 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, CONH), 7.20 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH = CH), 6.92 (1H, s, Ph-H-2), 6.82 (1H, m, Ph-H-6), 6.73 (1H, m, Ph-H-5), 6.33 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, CH = CH), 3.63 (1H, m, NHCH), 1.78~1.68 (4H, m, 2 $\times$ CH₂), 1.29~1.16 (6H, m, 3 $\times$ CH₂); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.4, 147.2, 145.5, 138.8, 126.5, 120.3, 118.9, 115.7,

113.8, 47.4, 32.9, 32.6, 25.3, 24.6, 24.5。

化合物 **CA14**: 白色粉末, 收率为 46%。HR-ESI-MS m/z : 270.111 1 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.29 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $CH = CH$), 7.07 (1H, s, Ph-H-2), 6.97 (1H, m, Ph-H-5), 6.92 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, $CH = CH$), 6.73 (1H, m, Ph-H-6), 3.59~3.51 (4H, m, CH_2NCH_2), 1.60~1.46 (6H, m, $3 \times CH_2$); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.6,

147.3, 145.4, 141.9, 126.8, 120.5, 115.6, 114.8, 114.6, 46.1, 42.6, 26.6, 25.5, 24.3。

3.2 调脂活性结果

以原型化合物 CA 和调脂药物辛伐他汀为阳性对照, 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下, 通过体外细胞学实验考察了咖啡酸的酰胺类衍生物 **CA1~CA14** 对 HepG2 细胞脂质代谢紊乱的抑制作用。结果见图 2。

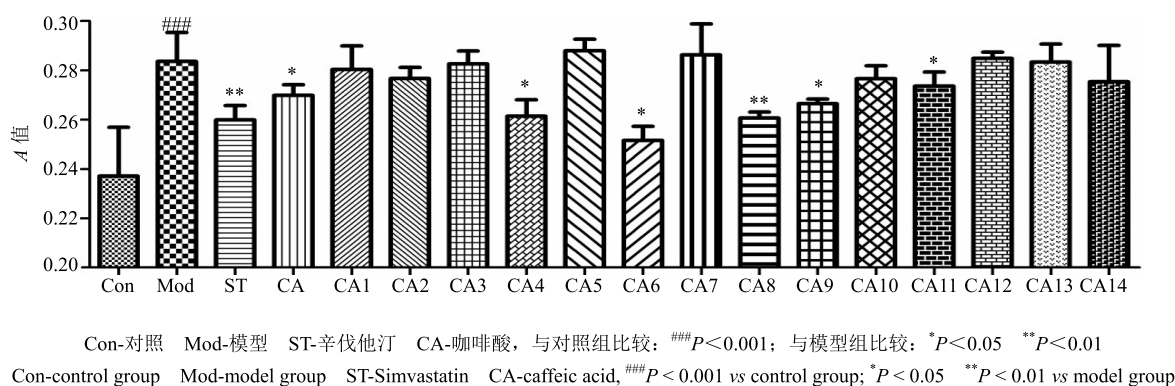


图 2 咖啡酸酰胺类衍生物的体外调脂生物活性

Fig. 2 Evaluation of *in vitro* lipid-regulating effects of caffeic acid amide derivatives

3.3 初步构效关系总结

体外抗脂质堆积细胞学实验结果表明, 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 的测试浓度下, 14 个咖啡酸酰胺类衍生物呈现出不同程度的体外调脂生物活性, 化合物 **CA4**、**CA6**、**CA8** 及 **CA9** 表现出优于原型化合物 CA 的活性, 其中化合物 **CA6** 优于阳性对照辛伐他汀。初步的构效关系研究表明: (1) CA 发挥调脂活性, 结构中的羧基不是活性必需基团, 改造为酰胺或酯都可能提高其调脂活性。(2) CA 的羧基改造为酰胺基团后, 胺基种类的不同对调脂活性影响较大, 其中将羧基与含有杂原子的中长支链胺基 [3-(2-乙基己氧基) 丙胺] 酰胺化后, 调脂活性最好, 如化合物 **CA6**; 而小短烃链及特长烃链的脂肪胺基则活性较差, 如化合物 **CA1**、**CA2** 及 **CA5**、**CA7**。(3) 部分含有不饱和烃的胺基以及含有芳基的脂肪胺基有助于调脂活性, 如化合物 **CA8**、**CA9** 及 **CA11**。(4) 化合物 **CA6** 表现出较好的活性, 且为未见文献报道的化合物, 具有深入研究的价值。

参考文献

[1] Yang S Y, Hong C O, Lee G, *et al.* The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of

Perilla frutescens, against t-B HP-induced oxidative liver damage [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 55(3): 92-99.

- [2] 孙皓熠, 郝宝燕, 张浩超, 等. 咖啡酸研究概况 [J]. 食品与药品, 2017, 19(2): 151-152.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Gülçin I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) [J]. *Toxicology*, 2006, 217(2): 213-220.
- [6] 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.
- [7] Grunberger D, Banerjee R, Eisinger K, *et al.* Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid henethyl ester isolated from roopolis [J]. *Experientia*, 1988, 44(3): 230-232.
- [8] Guo W, Kong E H, Meydani M. Dietary polyphenols, inflammation, and cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2009, 61(6): 807.

- [9] Wongcharoen W, Phrommintikul A. The protective role of curcumin in cardiovascular diseases [J]. *Inter J Cardiol*, 2009, 133(2): 145-151.
- [10] Hwang J T, Kwon D Y, Yoon S H. AMP-activated protein kinase: A potential target for the diseases prevention by natural occurring polyphenols [J]. *New Biotechnol*, 2009, 26(1/2): 17-22.
- [11] 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): 3538-542.
- [12] 王 丹, 王文倩, 田 瑜, 等. 肉桂酰苯乙胺类化合物的合成及其调脂作用研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(2): 131-137.
- [13] Zhang X, Wu C M, Wu H F, *et al*. Anti-hyperlipidemic effects and otential 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.